

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS
DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie - Ecologie

Spécialité/Option : Microbiologie de l'environnement; Santé, Eau et Environnement

Thème : Les cyanobactéries peuplant le Barrage Bouhamdane Wilaya de Guelma

Isolément, culture et essai toxicologique sur un modèle animal

Présenté par : - Adjeroud Sarra

- Chiheb Sarra

- Ferdés Soumia

Devant le jury composé de :

Président : M ^{lle} HAMDIKANE M.	M.A.A	Université de Guelma
Examinatrice : Mme. IBNCHERIF H.	M.A.A	Université de Guelma
Examinatrice : Mme. BEDIOL S.	M.A.A	Université de Guelma
Encadreur : M ^{lle} BOUSSADIA M. I.	M.A.A	Université de Guelma

Juin 2012

« La recherche procède par des moments distincts et durables, intuition, aveuglement, exaltation et fièvre. Elle aboutit un jour à cette joie, et connaît cette joie celui qui a vécu des moments singuliers. »

Albert Einstein

Produced with ScantOPDF

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude, avant tout à Dieu le tout puissant qui nous a donné le courage et la force pour mener a bout ce modeste travail.

Nos sincères remerciements et nos respects vont à notre encadreur Melle BOUSSADIA Meriem Imen, qui nous a donné l'opportunité de réaliser ce travail. nous la remercions chaleureusement pour sa patience et sa confiance qu'elle nous a toujours accordée durant ces moins. Nous la remercions également pour sa disponibilité sans faille, ses précieux conseils scientifiques et ses encouragements qui nous ont indiscutablement permis d'évoluer.

Nous remercions aussi le Monsieur Mourad BENSOUILAH pour m'avoir accueillie et ouvert les portes de leur laboratoire

Nos remerciements vont également à Melle BOUZITOUNA Amina pour sa gentillesse et pour son aide précieuse durant notre travail.

On tien à exprimer toute gratitude à Melle FATMA à son aide compréhensive pour l'accomplir dans de bonne condition.

Sans oublier de conférer nos plus sincères remerciements à tous le personnels de la station de hammam Debagh surtout CHIEB Saliha et KHERCHICHE Messaoud.

Nous tiens à adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui ont accepté de juger ce travail.

Nous remercions vont également à tous les professeurs et les enseignants qui nous beaucoup encouragé et soutenu depuis début de nos premier cycle d'étude jusqu'à la fin de cinquième année universitaire.

Nous sincères gratitudes vont également à tous nos collègues et amis (es) de la promotion 2011-2012 surtout KHERCHICHE Fouzya.

A tous ceux qui nous contribués de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

Je voudrais tout d'abord, remercier le Dieu de m'avoir donné le courage pour accomplir ce modeste travail, que je dédie :

A mon très cher père « Mostepha » et ma très chère mère « Sabiha » qui m'a assuré un soutien inconditionnel sans lequel je n'aurais jamais pu terminer mes années d'études pour ces conseils et son encouragement.

Pour m'avoir donné la possibilité de faire ce que je voulais et à leur affection, leur patience et leur compréhension.

Merci à mes proches pour m'avoir soutenu par leur présence dans les bons comme dans les mauvais moments : ma sœur Nadjette mes frère Billel et Saïf el dine.

Je dédie :

A mes oncles , mes tantes, mes cousins et mes cousines et toutes ma grande famille pour leurs encouragements

A mes partenaires dans ce travail, Sarra, soumia

Je voudrais aussi plus spécialement dédier et remercier toutes mes très chères amies : Karima, Amel, Meriem, Nabila, Kenza, Widad, Sarra.

Pour finir, je voudrais aussi dédier A tous mes collègues de promotion avec qui j'ai passé des moments inoubliables, merci pour tous les souvenirs que je garderai à jamais A tous ceux qui m'ont enseigné un jour



Dédicaces

Louange à Dieu le tout puissant pour avoir guidé nos facultés intellectuelles dans le bon sens.

A toi maman, la fleur de ma vie et le symbole de tendresse et du courage qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite.

A toi papa, qui m'a toujours encouragé à terminer mes études

A mes très chères frangins : khayrou, Bourhan

Au chouchou : Nadjeh

A mes partenaires dans ce travail : Sarra, Soumia

A mes intimes : Souhila, Kamila

A mes proches : Rayhana, Chahra

A tout que J'aime et qui m'aime

A tous ceux qui m'ont enseigné un jour

A tous ceux qui me sont chers...



Dédicaces

Je dédie ce travail à mes plus chers êtres au monde :

A la plus adorable et merveilleuse mère, que j'aime du fond du cœur qui m'a tout donné depuis mon enfance, que dieu miséricordieux la garde pour nous.

De tous les sacrifices rien au monde ne vaudrait les efforts fournis jours et nuit pour mon éducation et mon bien être ce travail est le fruit de vos sacrifices.

A mes chers frères : Billel, Nacer

A ma chère sœur : Wissem

A mes merveilleuses amies : Aïda, Amina, Hadjar, Sarra, Sarra, Selma,

A une personne de spécial

A tous ceux qui m'ont enseigné un jour

A tous ceux qui me sont chers...



Liste des abréviations
Liste des figures
Liste des tableaux
Introduction

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Généralité.....1
2. Diversité morphologique 1
3. Classification3
4. Cytologie6
5. Physiologie7
6. Ecologie des cyanobactéries8
7. Phylogénie des cyanobactéries 10
8. Multiplication..... 10
9. Proliférations des cyanobactéries..... 11
10. Condition favorisant la prolifération des cyanobactéries 12
11. Conséquences de la prolifération des cyanobactéries 13
12. Toxicité des cyanobactéries..... 14
12.1. Les espèces toxiques..... 14
12.2. Les cyanotoxines 20
12.2.1. Facteurs influençant la production des toxines 20
12.2.2 Classification des toxines 21
12.3. La gestion du risque sanitaire 28
12.4. Méthodes de détection des toxines de cyanobactéries..... 29
12.4.1. Méthodes physico-chimiques 29
12.4.2. Les méthodes Biologiques, biochimiques et immunologiques..... 29

Chapitre II : Matériel et Méthodes

1. Description de la zone d'étude..... 33
1.1. Situation géographique..... 33

1.2. Caractéristiques de barrage Bouhamdane.....	34
1.3. Rôle du barrage	36
1.4. Aperçu géologiques.....	36
1.5. Réseau hydrographique.....	36
1.6. Climatologie	36
1.6.1. La température	37
1.6.2. La pluviométrie.....	37
1.7. Cadre biotique.....	38
2. Prélèvement.....	38
2.1. Stratégie d'échantillonnage.....	39
3. Étude des cyanobactéries.....	40
3.1. Identification des cyanobactéries.....	40
3.2. Isolement et culture des cyanobactéries.....	40
3.3. Dénombrement des cellules de cyanobactéries.....	40
4. Matériel biologique et conditions d'élevage.....	41
5. Dosage des paramètres biochimiques	45
5.1. Dosage de l'urée	45
5.2. Dosage de la créatinine.....	47
5.3. Dosage de l'Aspartateaminotransférase.....	48
5.4. Dosage de l'Alanine amino transférase	49
5.5. Dosage de la glutathion hépatique (GSH).....	51
5.6. Dosage des protéines hépatique.....	52

Chapitre III : Résultats et Discussion

1. Physico-chimie de l'eau du barrage.....	54
2. Étude des cyanobactéries du barrage Bouhamdane.....	55
2.1. Étude qualitative.....	55
2.2. Isolement et culture des cyanobactéries.....	57
3. Essai toxicologique.....	59
3.1 Action sur la croissance corporelle.....	59
3.2. Étude des paramètres biochimiques.....	60

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Produced with ScanTOPDF

Liste des abréviations

- **A** : Absorbance
- **ADDA** : Acide 3-amino-9-méthoxy-2-6,8-triméthyl-10-phényldéca-4,6-dinéoïque
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- **BG11** : Bleu-green 11
- **C** : Cytosine
- **°C** : Degré Celsius
- **Cell** : Cellule
- **cm** : Centimètre
- **CO₂** : Dioxyde de carbone
- **CPG** : Chromatographie en phase gazeuse
- **CPL** : Chromatographie en phase liquide
- **DL₅₀** : Dose létale 50
- **dl** : Décilitre
- **DO** : Densité optique
- **DTNB** : Acide dithionitrobenzoïque
- **ELISA** : Enzyme linked immunosorbent assay
- **EDTA** : Acide éthylène diamine tétra acétique
- **Fig.** : Figure
- **G** : Guanine
- **GSH** : Glutathion hépatique
- **h** : Heure
- **HCl** : Acide chlorhydrique
- **HPLC** : Chromatographie en phase liquide à haute performance
- **IP** : Intrapéritonéale
- **kg** : Kilogramme
- **Km** : Kilomètre
- **L** : Litre
- **M** : Mètre
- **Microcystine (MC-LR)** : Microcystine- leucine et l'arginine
- **Microcystine (MC-RR)** : Microcystine- arginine et arginine

- **min** : Minute
- **mg** : milligramme
- **ml** : Millilitre
- **NADH** : Nicotinamide adenine dinucleotide hydrogénée
- **NB** : Note bien
- **N₂** : Azote atmosphérique
- **NH₃** : Ammonium
- **Nm** : Nanomètre
- **nmol** : Nano -mole
- **NTU** : Nephelometric turbidity unit
- **OMS** : Organisation mondiale de santé
- **PP1** : Protéines phosphatases de type I
- **PP2A** : Protéines phosphatases de type 2A
- **pH** : Potentiel hydrogène
- **Prot** : Protéine
- **S** : Souris
- **Sp** : Espèce
- **STX** : Saxitoxine
- **T** : Température
- **Tab.** : Tableau
- **TGO** : Oxaloacétate de glutamate transférase
- **TGP** : Glutamate pyruvate transaminase
- **U/I** : Unité internationale
- **µl** : Microlitre
- **µm** : Micromètre
- **UV** : Ultra-violet

Liste des figures

Numéro	Titre de la figure	Page
01	Cyanobactéries unicellulaire coloniale du genre <i>Woronichinia</i>	02
02	Cyanobactérie organisée en trichomes. Genre <i>Aphanizomenon</i> .	02
03	Cyanobactérie organisée en filament. Genre <i>Phormidium</i>	02
04	Trichome de cyanobactérie (genre <i>Anabaena</i>) présentant un hétérocyste (H) et un akinète (A).	03
05	Différents types de cellules chez les cyanobactérie H : hétérocyses, A : akinète, CV: cellule végétative	03
06	Différents types de ramification chez les cyanobactéries. Ramification en Y à gauche et géminées à droite: en formation (1) et formée (2). l'hormogonie (H)	03
07	L'ultrastructure d'une cyanobactérie	07
08	Vertécume des cyanobactéries	09
09	Tapis de cyanobactéries d'une plaque de neige	09
10	Cyanobactéries autour de sources chaudes	10
11	Division binaire d'une cellule de cyanobactérie	11
12	Prolifération de <i>Planktothrix</i>	12
13	La variation de conductivité	12
14	Photographie de <i>Microcystisaeruginosa</i>	15
15	Photographie de <i>Cylindrospermopsisrubicorskii</i>	15
16	Photographie de <i>Planktothrix</i>	16
17	Photographie d' <i>Anabaenasp</i>	16
18	Photographie du <i>Lyngbyasp</i>	17
19	Photographie <i>Aphanizomenonflos-aquae</i>	18
20	Photographie d' <i>Oscillatoriasp</i>	18
21	Structure chimique de microcystine	22
22	Structure chimique de nodularine	23
23	Structure chimique de cylindrospermopsine	23
24	Fixation de la microcystine LR sur la protéine phosphatase	24
25	Structure chimique des anatoxines	25
26	Structure chimique de saxitoxin	26
27	Structure chimique de Lyngbyatoxine	27
28	Structure chimique de Aplysiatoxines	28
29	La recommandation de l'OMS pour les seuils d'alerte	29
30	Situation du barrage Hammam Debagh	33
31	Localisation géographique du barrage de Bouhamdane	34
32	Photographie du filet à plancton	39
33	Photographie représentant une cage d'élevage des souris	42
34	Photographie représentant la voie d'injection	42

35	Photographie représentant une récupération du sang dans un tube hépariné	43
36	Photographie représentant le foie mis dans l'eau physiologique	43
37	Schéma récapitulatif du Protocole expérimental	44
38	Photographie du genre <i>Planktothrix</i>	55
39	Filaments de <i>Planktothrix</i>	55
40	Photographie d'une culture de cyanobactéries sur milieu BG11 liquide après 7 jours d'incubation	57
41	Culture de cyanobactéries sur milieu BG11 liquide après 14 jours d'incubation	58
42	Observation microscopique d'un état frais de cyanobactéries ensemencée sur milieu BG 11 liquide	58
43	Le gain du poids corporel des souris témoins et traitées par les différentes doses de cyanobactéries	69
44	Variation des concentrations de l'urée des souris témoins et traitées par différentes doses cellulaires de cyanobactéries	61
45	Variation des concentrations de la créatinine des souris témoins et traitées par Différentes doses cellulaires de cyanobactéries	61
46	Variation de l'activité enzymatique TGO des souris témoins et traitées par des cellules de cyanobactéries	63
47	Variation de l'activité enzymatique TGP des souris témoins et traitées par des cellules de cyanobactéries	63
48	Variation de La glutathion hepatic des souris témoins et traitées par des cellules de cyanobactéries	64

Produced with

Liste des tableaux

Numéro	Titre du tableau	Page
01	Classification des cyanobactéries selon le Manuel de Bergey	04
02	Classification botanique des cyanobactéries	05
03	Liste non exhaustive des espèces de cyanobactéries potentiellement toxiques et des toxines ayant déjà été associées à ces espèces en France ou hors de France (N.I.= toxine présente mais non identifiée). Les espèces ayant déjà été observées en France apparaissent en caractères gras	19
04	Principales caractéristiques du barrage Bouhamdane	35
05	Variations mensuelles de la température (mars, avril)	37
06	Variations mensuelles de la précipitation (mars, avril)	37
07	Résultats des mesures des paramètres physico-chimiques	54
08	Qualité des eaux de surface selon l'Agence Algérienne des bassins versants	55
09	Caractéristiques du genre <i>Planktothrix</i>	56
10	Résultats du Gain de poids corporel (g)	59
11	Résultats des concentrations des paramètres rénaux de souris témoins et traitées par des cellules de cyanobactéries	60
12	: Résultats des paramètres enzymatiques des souris témoins et traitées par des Cellules de cyanobactéries	62
13	Résultats du glutathion hépatique des souris témoins et traitées par des Cellules de cyanobactéries	64

INTRODUCTION

Produced with ScanTOPDF

Introduction

L'eau est indispensable pour la vie mais peut comporter des risques pour notre santé. L'eau qu'elle soit douce, salée, eau de pluie, ou souterraine, superficielle peut être souillée par des matières organiques ou inorganiques (physique, chimiques, biologiques); ces dernières rendent l'eau nocive pour la santé (UNESCO, 2006).

Les besoins en eau de l'homme augmentent considérablement dans le temps et touchent à des domaines de plus en plus nombreux pour satisfaire ses exigences de confort et d'agrément et pour répondre à une demande économique croissante (Eric *et al.*, 2008).

Le phénomène d'eutrophisation des eaux provoquée par l'apport important de phosphore et d'azote dans des eaux à des périodes de fort ensoleillement est un problème mondialement connu.

A l'origine c'est un phénomène naturel s'autorégulant et sans réel danger dans un milieu en équilibre. Ses manifestations se sont accélérées depuis un demi-siècle et les secteurs touchés se sont étendus. Son augmentation est due à l'intensification des activités humaines (rejet d'eaux usées, diffusion d'engrais azotés...) (Bertrand, 2005).

Ses manifestations les plus graves dans les écosystèmes aquatiques en sont des proliférations massives des producteurs primaires et en particulier des cyanobactéries appelées aussi algues bleues-vert et cyanoprocaroyotes formant ainsi des blooms, encore appelés fleurs d'eau ou efflorescences (Briand *et al.*, 2003).

Leur présence dans les plans d'eau destinés à l'abreuvement du bétail constitue un danger potentiel et une menace sérieuse pour la santé à la fois humaine et animale, vue la capacité de nombreux genres à produire une série de composés biologiquement actifs révélés d'être très toxique pour une variété d'organismes, y compris l'homme. Ces toxines peuvent agir sur plusieurs fonctions du corps humain, telles que le système nerveux, le foie, la peau et le système digestif (Marion, 2009).

Vu le grand danger que peut subir l'homme ainsi que les autres êtres vivant en consommant de l'eau qui véhicule ces micro-organismes et par conséquent leurs toxines, nous nous sommes intéressés à isoler, cultiver des cyanobactéries ainsi qu'expérimenter leur toxicité sur un modèle animal (souris).

En effet, notre travail est structuré en trois parties : la première est une synthèse bibliographique englobant des généralités sur les cyanobactéries ainsi que les paramètres de stress, la deuxième est consacrée à la description du site de prélèvement, présentation du matériel ainsi que les méthodes utilisées pour réaliser cette étude. La troisième relate nos résultats avec leur discussion, et enfin nous terminerons par une conclusion.

Produced with ScanTOPDF

CHAPITRE I
Synthèse Bibliographique

Produced with ScanTOPDF

1. Généralité

Depuis des millions d'années, les cyanobactéries ont été intimement associées au développement de la vie sur la Terre et ont contribué à enrichir l'atmosphère terrestre en oxygène dont certains sont capables de fixer l'azote atmosphérique (Anonyme 6).

Ces micro-organismes sont classés du point de vue systématique dans le règne des Eubactéries mais ont longtemps fait parties du règne végétal car elles possèdent à la fois des caractéristiques : algues et /ou aux bactéries.

Comme les algues, les cyanobactéries possèdent de la chlorophylle a, et non de la bactériochlorophylle, ainsi que deux photosystèmes.

Les caractéristiques communes des cyanobactéries et des bactéries sont l'absence de membrane nucléaire et plastidiale, de mitochondries de réticulum endoplasmique et de dictyosome, ainsi la présence d'une paroi cellulaire caractéristique des bactéries Gram négatif (Frémy et Lassus, 2001).

La couleur des cyanobactéries est due à la présence de pigments (chlorophylle verte, carotène rouge et orange, xanthophylle jaune, phycocyanine bleue et phycoérythrine rouge) et de mucilage (Anonyme 6).

De nombreuses cyanobactéries peuvent se déplacer par glissement (*gliding mobility*) par contre, un vrai flagelle rotatif n'a jamais été observé, ce glissement se produit seulement lorsque la cellule ou le filament est en contact avec une surface solide ou bien avec une autre cellule ou un autre filament, chez certaines cyanobactéries, le glissement n'est pas un simple mouvement de translation mais il est accompagné par des rotations, des changements de directions et des courbures de filaments.

La plupart des espèces mobiles se déplacent vers la lumière (phototactisme), le chimiotactisme peut aussi se produire (Madigan et Martnko, 2007).

2. Diversité morphologique

Les cyanobactéries présentent une diversité morphologique importante. En effet on les retrouve :

- Soit sous forme unicellulaires sphériques, ellipsoïdales, cylindriques, ovoïdes ou piriformes, isolées ou en colonies de formes très variées (Fig. 1).
- Soit sous forme de trichome qui correspond à un enchaînement de cellules (thalle) sans gaine (Fig. 2).

- Soit sous forme de filament qui est un thalle avec gaine (Fig. 3) (Anonyme 3).

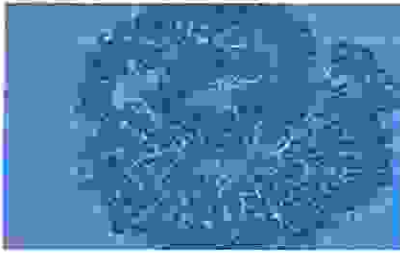


Figure 1: Cyanobactéries unicellulaire coloniale du genre *Woronichinia*.
Photos de Luc Brient Université

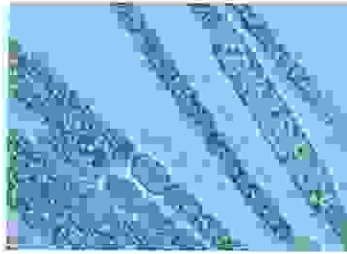


Figure 2: Cyanobactérie organisée en trichomes. Genre *Aphanizomenon*.
Photos de Luc Brient Université

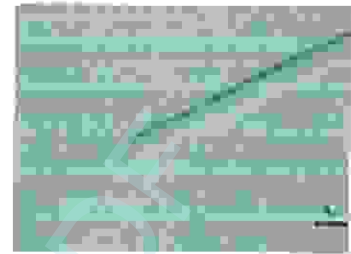


Figure 3: Cyanobactérie organisée en filament. Genre *Phormidium*.

Les formes les plus complexes possèdent trois types de cellules (Fig. 3) :

• La cellule végétative (CV)

De type procaryote, le plasma périphérique (chloroplasme) est habituellement plus fortement pigmenté que le centroplasme et contient des pigments qui sont concentrés dans des phycobilisomes situés sur la surface de lamelles photosynthétiques (thylakoïdes) (fig.5) (Anonyme 6).

• L'hétérocyste (H)

Les hétérocystes (fig. 4) proviennent de la différenciation de cellules végétatives et sont les seuls sites de fixation de l'azote (réduction de N_2 en NH_3), chez les cyanobactéries hétérocystées, il y a un échange mutuel de composés entre les cellules végétatives adjacentes (les produits de la photosynthèse) et ces dernières (les produits de la fixation de l'azote), (Madigan et Martnko ,2007).

• Les spores ou akinètes (A)

Sont produites chez les formes hétérocystées. Ce sont des cellules de grande taille, à paroi épaisse et riche en réserves nutritionnelles (fig.5). Les akinètes sont des formes de résistance qui permettent la survie des cyanobactéries sur les sédiments lorsque les conditions environnementales sont défavorables à leur maintien dans la colonne d'eau (Madigan et Martnko ,2007).

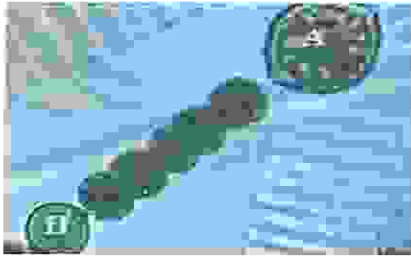


Figure 4 : Trichome de cyanobactérie (genre *Anabaena*) présentant un hétérocyste (H) et un akinète (A). (Anonyme3)



Figure 5 : Différents types de cellules chez les cyanobactérie
H : hétérocystes, A : akinète, CV : cellule végétative
(Anonyme1)

Les autres caractères morphologiques principaux qui ont été utilisés pour caractériser et décrire les souches sont :

- Les ramifications présentes chez certains groupes et qui peuvent être fausses ou vraies (Fig. 6).
- La gaine mucilagineuse présente chez certains groupes qui peut être parfois très épaisse, ou structurée, ou colorée.

La présence ou l'absence d'hormogonies (Fig. 6), groupes de quelques cellules, mobiles ou immobiles qui se détachent des filaments et permettent une multiplication végétative (Anonyme 6).

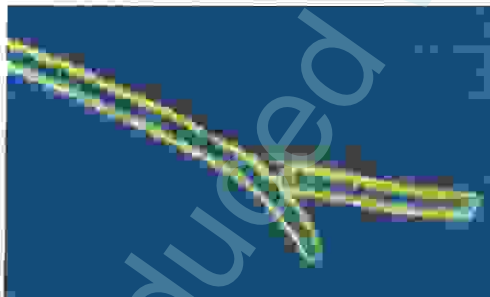


Figure 6: Différents types de ramification chez les cyanobactéries. Ramification en Y à gauche et gémées à droite: en formation (1) et formée (2). l'hormogonie (H) (Anonyme 21)

3. Classification

A ce jour, la classification de ces organismes selon le Code International de Nomenclature Botanique (tab.2) et le Code International de Nomenclature des Bactéries dépend à la fois de la composition en pigments, la présence de vésicules à gaz, la composition

En substances de réserve, la paroi cellulaire ou encore la présence de cellules différenciées (hétérocystes et/ou akinètes) et le mode de multiplication. Dans tous les cas, les noms de genres et d'espèces actuellement utilisés pour l'identification et la systématique sont ceux empruntés à la botanique.

Le code de nomenclature bactériologique (tab.1) est basé sur des études comparatives entre souches axéniques en culture. Cette classification prend en compte la morphologie mais aussi les caractéristiques physiologiques, biochimiques et génétiques.

Pour les bactériologistes, ces microorganismes sont des bactéries photo - autotrophes et elles sont appelées cyanobactéries dans le Manuel de Bergey. Les apports de la biologie moléculaire à la systématique et à la phylogénie devraient permettre à terme la définition d'une taxinomie des cyanobactéries stable et universelle (Briand, 2008).

Tableau 1 : Classification des cyanobactéries selon le Manuel de Bergey (Boussadia, 2008)

Classe	Sous - section	Genres
Cyanobactéries	I	<i>Chamaesiphon, Chroococcus, Gloeotheca, Cyanotheca, Gloebacter, Gloeocapsa, Microcystis, Dactylococcopsis, Synechococcus,</i>
	II	<i>Dermocarpella, Myxosarcina, Xenococcus Pleurocapsa, Chroococcidiopsis.</i>
	III	<i>Arthrospira, Oscillatoria, Planktothrix, Starria, Pseudoanabaena, Spirulina, Crinalium, Lyngbya</i>
	IV	<i>Anabaena, Anabaenopsis, Aphanizomenon, Nostoc, Cylindrospermum, Nodularia.</i>
	V	<i>Chlorogloeopsis, Fisherella, Nostocopsis, Geitleria</i>

Tableau 2 : Classification botanique des cyanobactéries (Boussadia, 2008).

Ordre	Famille	Genre
Gloeobacterales	Gloeobacteraceae	<i>Gloeobacter</i>
Synechococcales (Coccoïde)	Synechococcaceae	<i>Synechococcus</i>
	Merismopediaceae	<i>Aphanocapsa, Synechocystis</i>
Pseudoanabaenales (Trichome)	Pseudoanabaenaceae	<i>Geitlerinema, Pseudoanabaena</i>
	Schizorichaceae	<i>Schizothrix</i>
Chroococcales (Coccoïde / Trichome)	Microcystaceae (coccoïde)	<i>Microcystis</i>
	Gomphosphaeriaceae (coccoïde)	<i>Snowella, Woronichinia</i>
	Chroococcaceae (coccoïde)	<i>Chroococcus</i>
	Dermocarpellaceae	<i>Dermocarpella, Cyanocystis</i>
	Xenococcaceae	<i>Xenococcus, Myxosarcina</i>
	Hydrococaceae	<i>Hyella, Pleurocapsa</i>
	Spirulinaceae (trichome)	<i>Spirulina</i>
Oscillatoriales (Trichome)	Phormidiaceae (necridies+)	<i>Arthrospira, Phormidium, Planktothrix, Trichodesmium</i>
	Oscillatoriaceae (necridies+)	<i>Lyngbya, Oscillatoria</i>
	Gomontiellaceae (necridies+)	<i>Crinalium, Starria</i>
Nostocales (hétérocystés)	Scytonemataceae (fausses ramifications)	<i>Scytonema</i>
	Rivulariaceae	<i>Calothrix, Gloeotrichia, Rivularia</i>
	Nostocaceae (sans ramifications)	<i>Anabaena, Anabaenopsis, Nostoc, Aphanizomenon, Cyndrospermum, Nodularia, Cyndrospermopsis</i>
	Haplosiphonaceae (vraies ramifications)	<i>Fisherella, Mastigocladus</i>
	Loriellaceae	<i>Loriella</i>
	Stigonemataceae (vraies ramifications, trichomes multisériés)	<i>Stigonema</i>

4. Cytologie

Les cellules des Cyanobactéries montrent une coloration homogène car elles n'ont pas de plastides individualisés. Au microscope optique, on distingue cependant une zone périphérique colorée le chromoplasma, et une partie centrale plus claire le centroplasma (Anonyme 20).

En microscopie électronique (fig.7) :

❖ Le chromoplasma renferme de nombreuses inclusions :

• Les thylakoïdes

Sont des lamelles doubles sorte de sacs écrasés, ceux-ci rappellent par leur structure les plastides des algues bien qu'ils ne soient pas entourés par une membrane spécialisée. Ce sont les organites photosynthétiques ; ils portent des granules de chlorophylle et des grains de phycobilines. Outre la photosynthèse, ils assurent deux autres fonctions : la respiration et, chez certaines espèces, la fixation de l'azote atmosphérique (Anonyme 2).

• Les granules de réserves

➤ Cyanophycines

Sont composés de grands polypeptides constitués d'une plus ou moins égale d'acide aspartique et d'arginine et servent de réserve d'azote (Pelmont ,2005).

➤ Carboxysomes

Aussi appelle corps poly hydrique, elle renferme principalement la ribulose – biphosphate carboxylase, enzyme responsable de la fixation du dioxyde de carbone (Pelmont ,2005).

➤ Polyphosphates

Les phosphates sont stockés sous forme de polyphosphates aussi appelés granules de volutine (Pelmont ,2005).

➤ Vacuoles gazeuses

Leur présence dans les cellules végétatives permet à ces microorganismes de se positionner à différents niveaux dans la colonne d'eau, voire de s'accumuler à la surface des

Plans d'eau, selon leurs besoins en lumière et en nutriments (Madigan et Martnko ,2007).

- ❖ Le centroplasma ou nucléoplasme qui fait fonction de noyau reste diffus et sans membrane limitante, il renferme cependant de l'acide désoxyribonucléique, colorable par les réactifs histologiques classiques (Feulgen, hématoxyline, etc.) et visible au microscope électronique sous forme de fines aiguilles de 250 nm.

Les ribosomes présent dans toute la cellule mais sont plus nombreux dans le centroplasme que dans le chromatoplasme et riches en acide ribonucléique (Anonyme 9).

Leur paroi peut être entourée d'une enveloppe mucilagineuse qui relie des cellules ou des filaments ensemble.

La taille des cellules de cyanobactéries varie entre la taille typique pour les bactéries (0,5 à 1µm de diamètre) jusqu' à 40µm de diamètre (chez l'espèce *Oscillatoria princeps*) et Certaines d'autres forment des filaments dépassant un mètre de long (Madigan et Martnko ,2007).

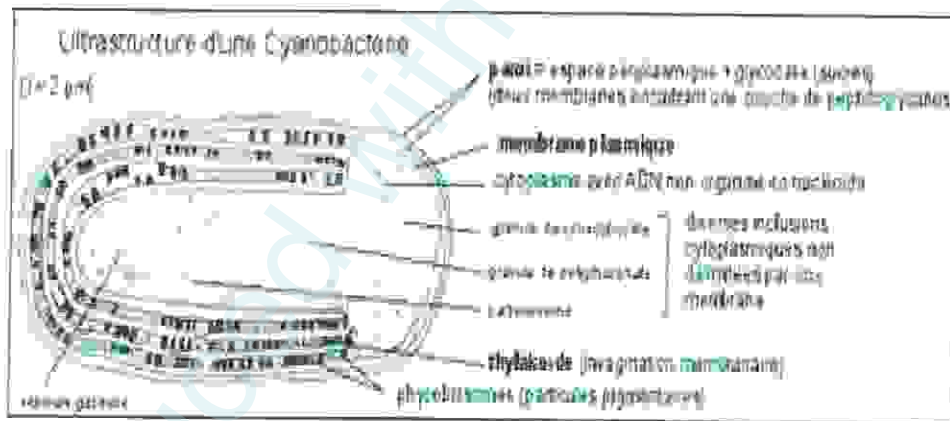


Figure 7 : L'ultrastructure d'une cyanobactérie (Selosse, 1996) (Boussadia, 2008)

5. Physiologie

La majorité des cyanobactéries sont photo-autotrophe c'est-à-dire qu'elles produisent leurs propres matières organiques en utilisant la lumière comme source d'énergie et le CO2 comme source de carbone (Anonyme7).

La photosynthèse oxygénique est leur principale méthode de nutrition (anonyme 1) au cours de laquelle de l'oxygène est formé à partir d'eau par « photolyse de l'eau », un

processus caractéristique de tous les organismes à photosynthèse oxygénique, incluant les plantes et les algues car tous les organismes pratiquant la photosynthèse II et de la chlorophylle a (Jerom *et al.*, 2004). Cependant, en présence de substrats organiques et de CO₂, certaines espèces utilisent le carbone organique pour leurs synthèses cellulaires. Quelques espèces peuvent croître à l'obscurité en hétérotrophie.

La vie hétérotrophe en présence d'oxygène est possible chez certaines espèces, mais ne donne lieu qu'à une croissance lente, à quelques exceptions près comme *Oscillatoria terebriformis*, une espèce thermophile qui peut survivre sans oxygène et à l'obscurité en faisant une fermentation lactique du glucose ou du fructose, l'hétérotrophie des cyanobactéries repose généralement sur l'utilisation des réserves internes (Anonyme 18).

Dans des conditions anaérobies, *Oscillatoria limnetica* oxyde le sulfure d'hydrogène au lieu de l'eau et réalise une photosynthèse anoxygénique comme les bactéries vertes photosynthétiques. Ces exemples montrent combien les cyanobactéries ont une variabilité considérable dans leur métabolisme (Lansing *et al.*, 2007).

Les cyanobactéries utilisent l'azote minéral des nitrates, nitrites et les sels ammoniacaux. L'azote nitrique est la source d'azote préférée dans la plupart des milieux de culture. En l'absence d'azote minéral, de nombreuses formes de cyanobactéries peuvent réduire l'azote atmosphérique et libèrent de l'hydrogène par la nitrogénase (Anonyme 1).

Les cyanobactéries dans leur ensemble fabriquent une variété considérable de produit secondaire comme les toxines ou des terpènes volatils comme la géosmine et le 2-méthyl-isobornéol qui sont connus pour donner à dose infime un mauvais goût à l'eau (Madigan et Martnko ,2007).

6. Ecologie des cyanobactéries

Les cyanobactéries sont présentes sur terre depuis au moins trois milliards d'années, elles sont largement distribuées dans les habitats naturels terrestres, dulçaquicoles et marins (Madigan et Martnko ,2007).

Ces micro-organismes se développent dans les eaux peu profondes, tièdes, calmes ou immobiles et riches en nutriment (azote, phosphore...) comme certains milieux aquatiques

dégradés par les activités humaines comme exemple les formes filamenteuses sont abondantes en zone littorale et dans les mers peu profondes (Anonyme1).

En général, les cyanobactéries résistent mieux aux conditions environnementales extrêmes (pôles, sources d'eaux ferrugineuses, geysers, etc.) (fig.9) que les algues et sont souvent les organismes phototrophes dominant ou même uniques dans les sources chaudes (Madigan et Martnko ,2007), (fig. 10) comme *Cyanidium caldarium* qui peut se développer à plus de 60 - 70°C ; ainsi les lacs salés (Pelmont ,1993).

Aussi on trouve beaucoup d'espèces à la surface des rochers ou des sols, et même dans certains cas à l'intérieur des rochers, dans les sols désertiques, soumis à une lumière solaire intense, les cyanobactéries forment souvent des croûtes superficielles étendues, restant en dormance la plupart de l'année et ne poussant que pendant le bref hiver et les pluies printanières (Madigan et Martnko ,2007).

Beaucoup vivent aussi en association avec d'autre être vivant, étant alors endozoïques (avec des animaux comme des protozoaires, des éponges, des ascidies ...), endophytiques (avec des végétaux comme des fougères aquatiques, des angiospermes...) ou encore symbiotiques (avec champignons, constituant les lichens).

Lorsqu'elles sont strictement aquatiques, elles peuvent être planctonique, vivent alors dans la colonne d'eau, ou benthique, étant, dans ce cas fixées ou très proches des divers substrats (roches, coraux, algues, animaux...), (fig.8) ou se développant même à l'intérieur des sédiments (Frémy et lassus, 2001).

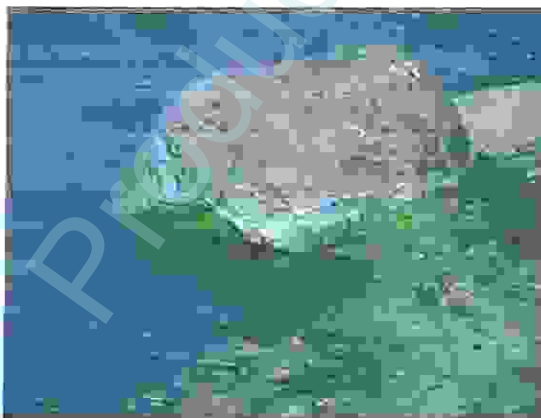


Figure 8 : Vert écume des cyanobactéries

(Anonyme 22)

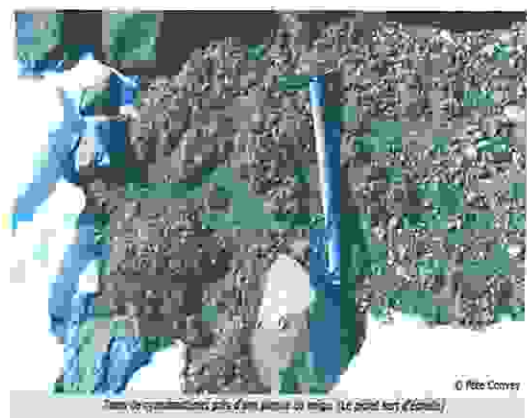


Figure 9 : Tapis de cyanobactéries

d'une plaque de neige (Anonyme 22)

© Pite Cover

Tapis de cyanobactéries près d'un lac au pôle (Le point vert d'été)

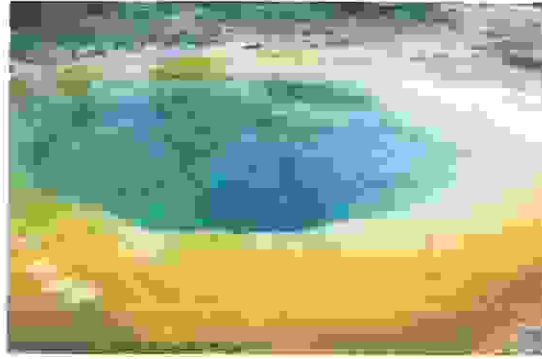


Figure 10 : Cyanobactéries autour de sources chaudes (Anonyme 23)

7. Phylogénie des cyanobactéries

La composition en base de l'ADN génomique d'une variété de cyanobactéries a été déterminée, pour les formes unicellulaires, elle varie entre 35 et 71% de G+C, une plage si étendue que cela suggère que beaucoup de ces organismes sont très éloignés génétiquement. Par contre, les valeurs pour les cyanobactéries à hétérocystes varient beaucoup moins de 38 à 46 % de G+C.

Le regroupement phylogénétique des cyanobactéries est en général cohérent avec leur morphologie, les cyanobactéries filamenteuses avec et sans hétérocystes forment des groupes distincts, de même que les formes ramifiées. Par contre, les cyanobactéries unicellulaires sont phylogénétiquement très diversifiées, leurs représentants ayant des relations phylogénétiques avec des groupes morphologiquement différents.

De nombreuses cyanobactéries contiennent des plasmides (petites molécules d'ADN) où ont été caractérisés des gènes responsables de fonctions importantes pour la cellule (Madigan et Martnko ,2007).

8. Multiplication

La multiplication des cyanobactéries est végétative, c'est-à-dire asexuée, et s'effectue par :

Division binaire d'une cellule mère en deux cellules filles (fig.11), c'est le mécanisme courant chez cet embranchement qui assure la multiplication (végétative ou asexuée) dans les conditions optimales, sa durée varie entre 30 minutes et 1 heure, par bourgeonnement ou par divisions multiples (Briand, 2008).

Chez les formes filamenteuses, les trichomes se brisent, soit à partir des hétérocystes, soit à partir de cellules spécialisées appelées nécridies (cellules en cours de dégradation), soit

encore en formant des éléments intercalaires ou terminaux, pluricellulaires qualifiés d'hormogonies.

Chez les genres unicellulaires, le contenu des cellules peut se diviser pour donner naissance à des spores, lorsque celles-ci sont formées à l'extérieur de la paroi maternelle et libérées à partir d'un des apex de la cellule mère (souvent hétéropolaire et fixée au substrat) et en une série unique, elles sont nommées exocytes. Quand elles sont élaborées au sein de la cellule maternelle, de très petite taille, très nombreuses et sans mucilage, elles portent le nom de nanocytes ou baeocytes (Frémy et Lassus, 2001).

Selon les espèces et les conditions environnementales, les temps de doublement des populations varient de quelques heures à plusieurs jours (Briand, 2008).

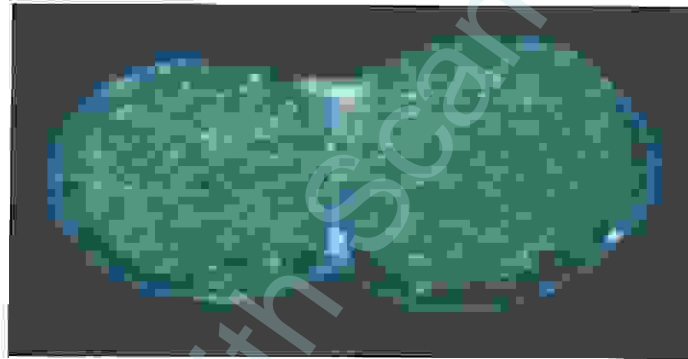


Figure 11: Division binaire d'une cellule de cyanobactérie (Anonyme 24)

9. Proliférations des cyanobactéries

Dans les conditions environnementales qui leur sont favorables, les cyanobactéries connaissent des phases de prolifération massive qualifiée d'efflorescence ou de bloom (fig.12).

Ces proliférations se traduisent par la production, sur une courte période de temps (quelques jours), d'une biomasse importante et par une forte diminution de la diversité spécifique dans le compartiment phytoplanctonique puisqu'une ou deux espèces deviennent alors très largement dominantes (fig.13).

Les espèces planctoniques se développent dans l'ensemble de la colonne d'eau ou à un niveau bien précis.

Dans ce dernier cas, les proliférations sont le plus souvent observées à la surface où elles forment des agrégats flottants appelés « fleurs d'eau », « écumes » ou « mousses » moins fréquente, ces phénomènes surviennent en profondeur (entre 10 et 15 mètres) en fonction des

disponibilités en nutriments et en énergie lumineuse (Bertrand *et al.*, 2005).

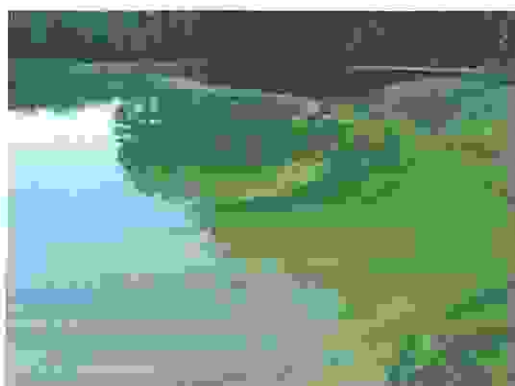


Figure 12 : Bloom d'*Anabaena* dans un milieu continental (Anonyme 12)

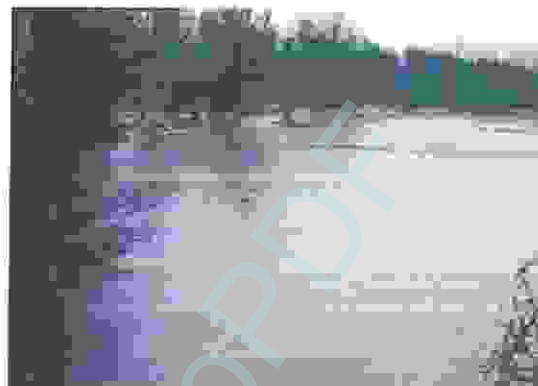


Figure 13 : Prolifération de *Planktothrix rubescens* (Région parisienne) (Anonyme 13)

10. Condition favorisant la prolifération des cyanobactéries

Le milieu environnant peut également présence de nutriment, des conditions climatiques et une Circulation d'eau faible:

❖ Nutriments

La présence de phosphore est essentielle pour la croissance et la prolifération des cyanobactéries, alors que la présence d'azote est facultative (certaine cyanobactérie étant capables de fixer l'azote atmosphérique), (Briand, 2008).

❖ Conditions climatiques

• Luminosité modérée

Bien que la lumière soit essentielle pour les organismes photosynthétiques, de trop fortes intensités lumineuses peuvent dégrader l'appareil photosynthétique des cyanobactéries (photo inhibition), entraînant ainsi leur dégénérescence. La croissance de la plupart des cyanobactéries est inhibée quand elles sont soumises en permanence à une intensité lumineuse supérieure à 3 200 Lux mais certaines cyanobactéries, comme le filamenteuse *Anabaena sp.* Préfèrent des intensités lumineuses, et *Planktothrix* sera former des bandes denses juste en dessous de la surface de l'eau.

Toutefois, lorsque l'intensité lumineuse en surface s'avère trop élevée, les cyanobactéries possèdent des vésicules gazeuses ajustant ainsi leur position dans la colonne d'eau (Antonie, 2009).

- **Température**

Bien que la température optimale de prolifération des cyanobactéries se situe généralement entre 20 et 25 °C leur taux de croissance peut augmenter jusqu'à 35 °C, il est souvent fait référence à une saisonnalité caractéristique des prolifération dans les régions tempérées la période de mai à septembre étant considérée comme la plus favorable au développement des cyanobactérie, cependant un phénomène récent est à noter : dans certains sites, des cyanobactérie peuvent encore être observées en quantité importante en automne et parfois même pendant la période hivernale .

Différentes genres de cyanobactéries tolèrent des températures minimales différentes Ainsi certaines cyanobactéries peuvent croître dans des milieux où la température est de l'ordre de 10°C (Ibrahim *et al.*, 2010).

- **Le pH du milieu**

Les cyanobactéries prolifèrent plutôt dans les milieux alcalins de pH compris entre 6 et 9, (Ibrahim *et al.*, 2010).

- **La turbidité**

La turbidité qui est la réduction de la transparence d'un liquide due à la présence de matières non dissoutes présente elle aussi un facteur limitant de cette prolifération microbienne. Le rejet des substances nutritives inorganique, provenant de stations d'épuration d'eaux usées municipales ou d'activités agricoles, est susceptible de favoriser la prolifération des algues microscopiques et celle des cyanobactéries.

- ❖ **Circulation d'eau faible**

(Eau calme, peu de ventée) en raison d'un temps de division relativement long, les efflorescences de cyanobactérie ne peuvent se produire que dans des milieux où le temps de séjour de l'eau est long (Antonie, 2009).

11. Conséquences de la prolifération des cyanobactéries

Une coloration inhabituelle de l'eau qui dépendra des pigments majoritairement présents dans l'espèce dominante avec un dégagement olfactif important.

Une perturbation de l'écosystème à plusieurs niveaux :

- ❖ Déséquilibre entre les différentes communautés de phytoplancton.

- ❖ Mortalité des poissons à cause de leur toxine, de la diminution en oxygène du milieu et de la hausse du pH. Ces mêmes toxines sont responsables de la mortalité d'oiseaux et d'animaux domestiques ou sauvages par abreuvement dans une eau contaminée ou par consommation d'aliments contaminés (mollusques, poissons) (Anonyme 3).

Ces proliférations ont également un impact sur la santé humaine. En effet, une exposition aux efflorescences de cyanobactéries peut entraîner des troubles cutanés ou des muqueuses et un risque sanitaire important en cas d'ingestion, inhalation ou exposition par dialyse aux toxines. Ainsi il a été décrit :

- Des cas de gastroentérites, affections hépatiques, des troubles rénaux et une augmentation de l'incidence de cancers colorectaux et hépatiques lors d'une exposition par l'eau de boisson.
- Des cas d'éruption cutanée, d'allergies, de nausées, vomissements, diarrhées, de douleurs musculaires, maux de tête, pneumonie et conjonctivites lors d'une exposition à l'occasion de baignades ou d'activités nautiques (Anonyme 3).

Enfin, ces proliférations entraînent des difficultés dans le traitement de potabilisation de l'eau contaminée (colmatage des filtres, élimination des toxines).

12. Toxicité des cyanobactéries

12.1. Les espèces toxiques

Au moins 46 espèces ont été montrées pour causer des effets toxiques chez les vertébrés (Anonyme 9).

Les cyanobactéries toxiques les plus fréquents en eau douce sont *Microcystis sp*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Planktothrix rubescens*, *Anabaena sp*, *Lyngbya sp*, *Aphanizomenon sp*, certains *sp Oscillatoria* (tab.3) (Anonyme 19).

Microcystis aeruginosa

Ces cellules (colonies) sont soit sphérique, lobé, ou une masse réticulée vaste. Les colonies en suspension apparaissent souvent comme des petits bleu-vert "caillots". Les cellules individuelles sont très petites (3-5 µm de diamètre). Les akinètes et hétérocystes sont absents (fig. 14), (Anonyme 4).

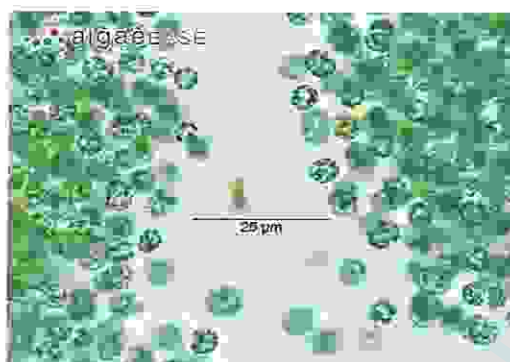


Figure 14 : Photographie de *Microcystis aeruginosa* (Anonyme 25)

Cylindrospermopsis raciborskii

Les cellules de *Cylindrospermopsis raciborskii* sont très petites en comparaison avec d'autres algues. Les Filaments sont généralement de 2 à 3 μm de large et sont de longueur variable (10 - 120 μm de long) et sont soit linéaire ou enroulé et composée de cellules rectangulaires avec hétérocystes basales.

Il produit une teinte brune à l'eau qui ne peut pas être aisément distinguées des sédiments en suspension ou d'autres types d'algues. Une autre difficulté dans l'observation de cette espèce dans un lac ou un étang est qu'il n'y a pas de goût ou d'odeur associée à *Cylindrospermopsis* ou de ses toxines (fig.15), (Anonyme 4).



Figure 15: Photographie de *Cylindrospermopsis raciborskii* (Anonyme 4)

Planktothrix

Planktothrix pousse généralement sous forme de filaments rectilignes et solitaire. Ce genre n'a pas une enveloppe mucilagineuse et se développe le plus souvent sans une gaine. Les cellules cylindriques sont légèrement resserrées à des murs de refend, et leur diamètre varie de cellule de 3,5 à 10 μm (fig.16), (Anonyme 4).

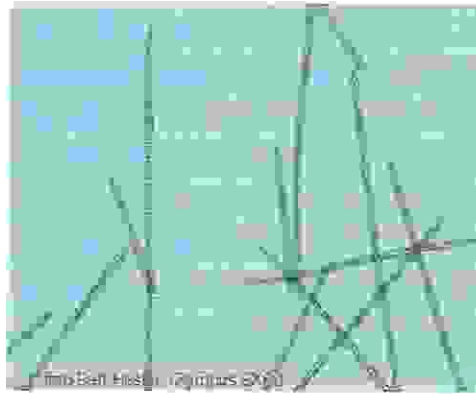


Figure 16: Photographie du *Planktothrix* (Anonyme 5)

Anabaena sp

Les cellules sont fixées pour former des filaments non ramifiés (comme un collier de perles) qui peuvent être tordus et enroulés de façon aléatoire, parfois comme des ressorts, ou enchevêtré avec de nombreux autres filaments. Les cellules végétatives peuvent être sphériques ou oblongues (4 à 14 μ m de diamètre, 6 à 12 μ m de long) avec un contenu granuleux.

Deux types de cellules spécialisées peuvent être présents en nombre différents dans un filament de cellules végétatives. Les akinètes sont plus grandes que les cellules végétatives et peut apparaître sphérique de 6 à 13 μ m de diamètre, de 20 à 50 μ m de long). Les hétérocystes sont un peu sphérique de 7 à 9 μ m de diamètre, 6 à 10 μ m de long), (fig.17) (Anonyme 4).



Figure 17 : Photographie d'*Anabaena* sp (Anonyme 1)

Lyngbya sp

Des filaments non ramifiés, droits, courbés, spirales ou réguliers. En général, ils forment de grands tapis de couches d'épaisseur variée. Les trichomes sont la plupart du temps arrondi ou conique au sommet. Une gaine cabinet définitive mucilage est caractéristique et est toujours présente, qui permet de distinguer ce genre d'*Oscillatoria*.

La muqueuse est parfois stratifiée, mince ou épaisse, incolore, légèrement rouge, ou jaune-brun (fig.18) (Anonyme 4).

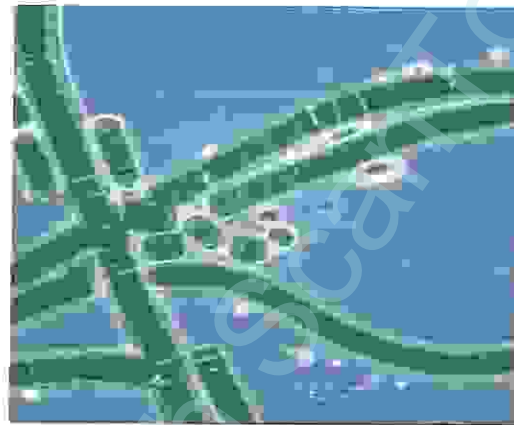


Figure18 . Photographie du *Lyngbya sp* (Anonyme 25)

Aphanizomenon flos-aquae

Ces cellules s'unissent pour former une ligne droite, le filament est non ramifié, qui se rétrécit légèrement vers les deux extrémités. Les filaments sont généralement regroupés pour former un faisceau de filaments parallèles (ressemblant à une botte de paille) qui est flottante.

Les akinètes sont de 8 μm de diamètre, et 60 à 75 μm de long) et situé près du centre d'un filament, les hétérocystes sont oblongues à cylindrique (7 μm de diamètre, de 12 à 20 μm de long) et situé dans la région médiane, mais non adjacent à l'akinète. Akinètes et / ou hétérocystes peut être absent à certains moments (fig.19) (Anonyme 4).

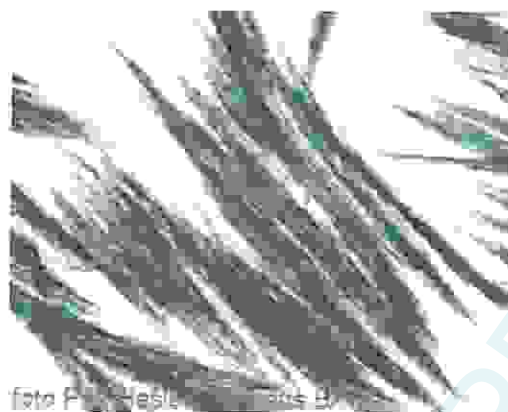


Figure 19: Photographie *Aphanizomenon flos-aquae* (Anonyme 26)

Oscillatoria sp

Les cellules d'*Oscillatoria* sp sont attachés pour former de longues, droites, non ramifiées filaments qui peuvent être intriqués pour former une masse sur des substrats ou se trouvent parfois flottant.

Les filaments sont droits sur toute leur longueur, sauf pour un faible possible s'effilant dans les dernières cellules peu près du sommet.

La taille de la cellule est très variable entre les espèces. Les cellules peuvent être fortement compressées les unes contre les autres donnant l'impression de "pièces de monnaie empilées" ou présentent une petite échancrure à la jonction de cellule à cellule.

Ce genre n'a pas d'akinètes ou des hétérocystes. Les filaments présentent couramment oscillants, sporadiques mouvements de flexion ou de glisser sous le microscope, en particulier près des extrémités antérieures (fig.20) (Anonyme 4).

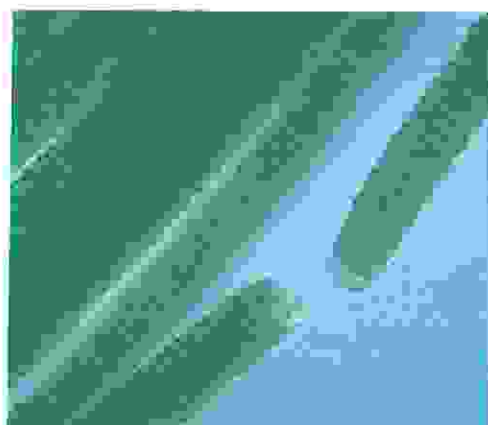


Figure 20: Photographie d'*Oscillatoria* sp (Anonyme 24)

Tableau 3: Liste non exhaustive des espèces de cyanobactéries potentiellement toxiques et des toxines ayant déjà été associées à ces espèces en France ou hors de France (N.I.= toxine présente mais non identifiée). Les espèces ayant déjà été observées en France apparaissent en caractères gras (Boussadia, 2008)

Cyanobactéries toxiques	Toxines
<i>Anabaena affinis</i>	N.I
<i>Anabaena circinalis</i>	Anatoxine-a, Saxitoxines, Microcystines
<i>Anabaena flos aquae</i>	Anatoxine (-a, a-(s), -b, -b(s), -c, -d), microcystines
<i>Anabaena hassaltii</i>	N.I
<i>Anabaena lemmermanii</i>	Microcystines, Anatoxine-a(s)
<i>Anabaena planctonica</i>	Anatoxine-a
<i>Anabaena spiroides</i>	Anatoxine-a, Microcystines
<i>Anabaena sp</i>	Anatoxine-a
<i>Aphanizomenon flos aquae</i>	Anatoxine-a, Saxitoxines
<i>Aphanizomenon ovalisporum</i>	Cylindrospermopsine
<i>Aphanizomenon sp</i>	Cylindrospermopsine
<i>Coelosphaerium naegelianum</i>	Hepatotoxines,
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	Cylindrospermopsine
<i>Cylindrospermum sp</i>	Anatoxine-a
<i>Lyngbya gracilis</i>	Lyngbyatoxines-a
<i>Lyngbya wollei</i>	Saxitoxines
<i>Microcystis auruginosa</i>	Microcystines
<i>Microcystis botrys</i>	Microcystines
<i>Microcystis flos-aquae</i>	Microcystines
<i>Microcystis panniformis</i>	Microcystines
Cyanobactéries toxiques	Toxines
<i>Microcystis toxica</i>	N.I
<i>Microcystis viridis</i>	Microcystines, microviridine
<i>Microcystis wesenbergii</i>	Microcystines
<i>Microcystis sp</i>	Anatoxine-a
<i>Nostoc sp</i>	Microcystines
<i>Oscillatoria formosa</i>	Homoanatoxine-a
<i>Oscillatoria limosa</i>	Microcystines
<i>Oscillatoria tenuis</i>	Microcystines
<i>Oscillatoria nigroviridis</i>	Oscillatoxines-a
<i>Oscillatoria sp</i>	Anatoxine-a
<i>Phormidium favosum</i>	Anatoxine-a
<i>Planktothrix agardhii</i>	Microcystines
<i>Planktothrix mougeotii</i>	Microcystines
<i>Planktothrix rubescens</i>	Microcystines
<i>Planktothrix sp</i>	Anatoxine-a
Cyanobactéries toxiques	Toxines
<i>Pseudanabaena sp</i>	Neurotoxine
<i>Synechococcus sp</i>	N.I
<i>Woronichinia naegeliana anciennement Gomphosphaeria naegelianum</i>	Anatoxine-a

12.2. Les cyanotoxines

Les cyanobactéries se révèlent être une source d'un grand nombre de nouveaux composés organiques avec l'activité biologique. Parmi les nombreux composés trouvés et caractérisés à ce jour, beaucoup sont toxiques et ont été la cause présumée du décès chez les humains (Anonyme 4).

Les cyanotoxines sont des molécules intracellulaires, de structures variées. Elles sont synthétisées par des cyanobactéries en phase de croissance et se retrouvent dans l'eau à l'occasion de la sénescence de la mort ou de la lyse cellulaire. Une même toxine peut être produite par des espèces différentes et une même espèce peut produire des toxines différentes.

De plus la quantité de toxines produite est très variable au sein d'une espèce et est fonction des conditions environnementales (Anonyme 3).

12.2.1. Facteurs influençant la production des toxines

Parmi les facteurs qui influencent la production des cyanotoxines on peut citer :

- **La croissance cellulaire** Il semble qu'il y ait une corrélation linéaire entre le taux de division cellulaire et la concentration intracellulaire en microcystine chez *M. aeruginosa*. Le taux de microcystine serait maximal durant la phase exponentielle de croissance et diminuerait à la fin de celle-ci (Lavoie *et al.*, 2007).
- **L'intensité lumineuse** Il existe une corrélation positive entre la lumière et la production de toxine. Tant que la lumière n'est pas en excès, elle stimule la croissance et donc la production de toxines jusqu'à un certain niveau d'éclairement. En effet, lorsque la lumière devient en excès cette production diminue. Une augmentation de l'intensité lumineuse peut également induire des changements dans la composition des microcystines. Ainsi il a été démontré que la variante la plus toxique (MC-LR) était produite en plus grande quantité par *Planktothrix agardhii* sous de fortes intensités lumineuses. Ces résultats pourraient être expliqués par le fait que la lumière contrôle la transcription du gène *mcy*, responsable de la production de toxines (Msagati *et al.*, 2006).

- **Les nutriments** Le contenu cellulaire en microcystine serait plus fortement corrélé à la quantité d'azote total que de phosphore total. Une augmentation d'azote entraîne une augmentation de la concentration en microcystine ainsi qu'une augmentation du nombre de cyanobactéries toxiques. Le phosphore aurait donc une influence négligeable sur le contrôle des microcystines par les cellules (Anonyme 3).
- **Effet du zooplancton** Il a été observé une augmentation de la production de microcystine par *Microcystis* lors d'une exposition directe au zooplancton (Lavoie *et al.*, 2007).
- **Température** La température optimale de production de toxines s'étend de 15 à 25 °C, selon les espèces. Par exemple à des températures inférieures à 25°C, *Anabaena* sp. produit de la microcystine LR plutôt que de la microcystine RR, qui est préférentiellement produite à des températures supérieures (Anonyme 3).

12.2.2 Classification des toxines

Les cyanobactéries peuvent produire plusieurs types de toxines, ces toxines recourent une grande variété de structures chimiques et de mécanismes de toxicités (Antonie, 2009).

Elles sont classées selon leur structure chimique en trois familles (les peptides cycliques, les alcaloïdes et les lipopolysaccharides) ou selon leur mode d'action comme suit : les hépatotoxines (agissant sur le foie), les neurotoxines (agissant sur le système nerveux) et les dermatotoxines (agissant sur la peau), (Bertrand, 2005).

➤ Les hépatotoxines

Ce sont les toxines de cyanobactéries qui sont le plus fréquemment rencontrées lors de proliférations. Elles sont impliquées dans de nombreux épisodes d'intoxication. Chez les vertébrés, l'organe cible est essentiellement le foie (Anonyme 4). On distingue 3 grandes familles qui sont:

❖ Microcystines

Les microcystines est une hépatotoxine produite par un certain nombre de genres de cyanobactéries, le plus notable est le *Microcystis* répandue à partir de laquelle les toxines tirent le nom. Les Microcystines ont été rapportées dans cet organisme dans le monde entier. Il ya eu environ 60 microcystines différentes identifiées à ce jour.

Ces toxines se composent d'un anneau de peptide de sept chaînons, qui est composé de cinq membres non-acides aminés des protéines et de deux acides aminés des protéines. Ce sont ces deux acides aminés des protéines qui permettent de distinguer les uns des autres microcystines, tandis que les autres acides aminés sont plus ou moins constants entre microcystines variante. Chaque microcystine est désigner d'un nom en fonction de la variable d'acides aminés qui complète leur structure.

La plus courante et puissamment toxiques microcystine-LR contient les acides aminés: leucine (L) et l'arginine (R) dans ces positions variables.

Ci-dessous la structure générale des microcystines montrant les positions des acides aminés variables "X" et "Z". Les acides aminés sont définis dans ce schéma et numérotés selon la nomenclature microcystine standard. (fig.21) (Anonyme 9).

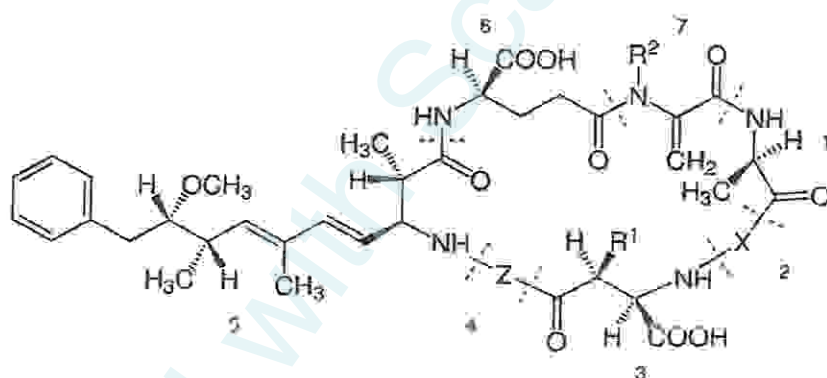


Figure 21: Structure chimique de microcystine (Anonyme 9)

❖ Nodularine

La structure de nodularine est liée à la puissante hépatotoxine heptapeptide cyclique, la microcystines mais, composé de seulement 5 acides aminés dans le cycle peptidique.

Non seulement la structure de ces deux toxines de cyanobactéries sont similaires, mais elles montrent toutes deux le même effet hépatotoxique par la puissante inhibition de protéines phosphatases (fig.22) (Anonyme 9).

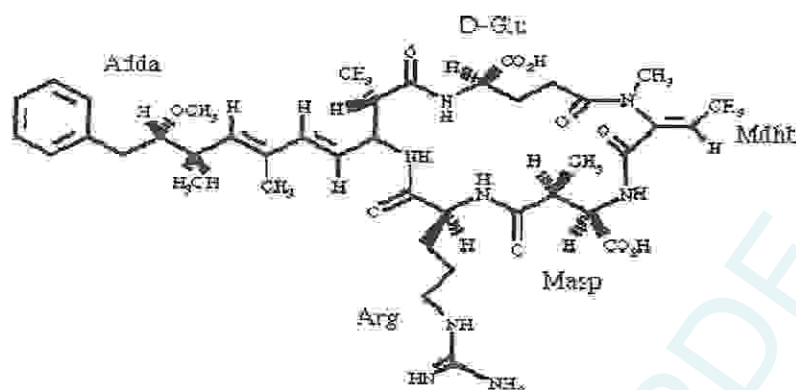


Figure 22: Structure chimique de nodularine (Anonyme 9)

❖ Cylindrospermopsine

Bien que décrit à l'origine du *Cylindrospermopsis raciborskii*, cylindrospermopsine peut être trouvée aussi dans *Aphanizomenon ovalisporum*. La toxine est un alcaloïde cyclique et, comme les microcystines, affecte principalement le foie, bien que les causes des dommages considérables à d'autres organes majeurs (fig.23) (Anonyme 9).



Figure 23: Structure chimique de cylindrospermopsine (Anonyme 9)

- Mécanisme de toxicité

La toxicité des hépatotoxines peut s'expliquer selon le mécanisme suivant : Les microcystines et la nodularine une fois ingérées se retrouvent concentrées dans les hépatocytes par un mécanisme de transport d'anions organiques comme les acides biliaires.

En effet les microcystines possèdent des propriétés physico-chimiques peu favorables à la diffusion passive à travers les membranes cellulaires, celle-ci étant possible mais assez faible. Après une administration orale, l'absorption des microcystines se fait surtout au niveau

de l'iléon, partie du tube digestif riche en transporteurs d'anions organiques.

Une fois dans la cellule les hépatotoxines se lient aux protéines phosphatases 1 et 2a entraînant leur inhibition. La fixation des microcystines sur les protéines phosphatases se fait en 2 étapes. Tout d'abord il y a formation d'interactions de faible énergie type Van der Waals et électrostatiques ce qui permet un rapprochement entre l'acide aminé Mdha (méthyl-déhydro-alanine) de la toxine et la cystéine 273 de la PP1 ou 266 de PP2A. Ceux-ci vont alors réagir et former une liaison covalente. Suite à cette liaison l'acide aminé Adda (acide 3-amino-9-méthoxy-2-6,8-triméthyl-10-phényldéca-4,6-dinéoïque) se retrouve dans un sillon hydrophobe de la partie catalytique de l'enzyme de qui entraîne son inactivation (fig.24).



Figure 24: Fixation de la microcystine LR sur la protéine phosphatase (Anonyme 1)

Les conséquences de cette inhibition sont nombreuses, car les PP1 et PP2A déphosphorylent des résidus sérine ou thréonine de nombreuses protéines dont l'actine et la cytokératine, protéines du cytosquelette de la cellule. L'hyperphosphorylation des protéines cellulaires entraîne donc la désorganisation du cytosquelette et la disparition des jonctions cellulaires ce qui se traduit au niveau macroscopique par :

- La destruction progressive de la structure des hépatocytes et du parenchyme hépatique conduisant à la nécrose
- Des hémorragies (Anonyme 9)

➤ Neurotoxines

Les neurotoxines sont l'un des composés les plus toxiques produit par les cyanobactéries.

Les espèces productrices sont *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Nostoc* et *Oscillatoria*.

Ces toxines agissent sur le système nerveux et paralysent les muscles respiratoires.

À l'heure actuelle, trois groupes de neurotoxines ont été bien décrites: l'anatoxine-a, l'anatoxine-a (s), la saxitoxine (Anonyme10). On distingue 2 grandes familles qui sont :

❖ Les anatoxines

Un groupe d'alcaloïdes neurotoxiques produits par un certain nombre de genres de cyanobactéries dont *Anabaena*, *Oscillatoria* et *Aphanizomenon*. La toxicité de ces composés (DL_{50}) varie de 20 mg kg^{-1} (poids, souris IP) pour l'anatoxine-a (S) à $200\text{-}250 \text{ mg kg}^{-1}$ (fig.25) (Anonyme 10).

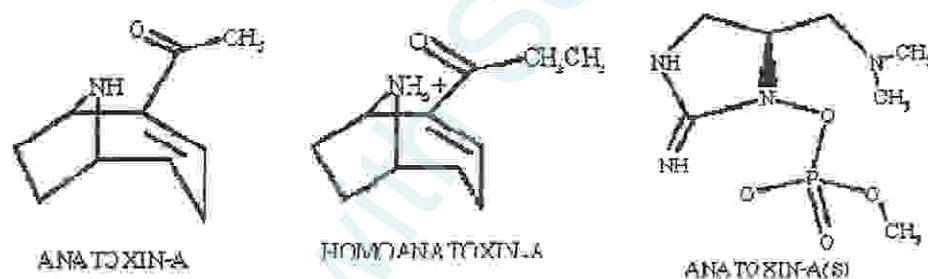


Figure 25: Structure chimique des anatoxines (Anonyme 9)

❖ Saxitoxines

Des alcaloïdes neurotoxiques également connue sous le nom de la PSP (poisons crustacés paralytique) en raison de leur présence et leur association avec des fruits de mer. Ils bloquent les canaux sodium dans les cellules nerveuses, ce qui cause des effets neurotoxiques. Il ya un certain nombre de variantes STX généralement divisés en groupes selon leur structure ou organisme d'origine. La seule sulfatées STX sont connus comme gonyautoxines (GTX) et le doublement sulfatées STX sont connus comme C-toxines. Il ya aussi decarbamyl STX (dcSTX) et un groupe de variantes STX, jusqu'à présent trouvé seulement dans *Lyngbya wollei*, connu sous le nom *Lyngbya-wollei-toxines* (LWTX).

Les STX (fig. 26) sont hautement toxiques avec LD_{50} 's aussi bas que 10 mg kg^{-1} (ip) chez la souris (Anonyme 4).

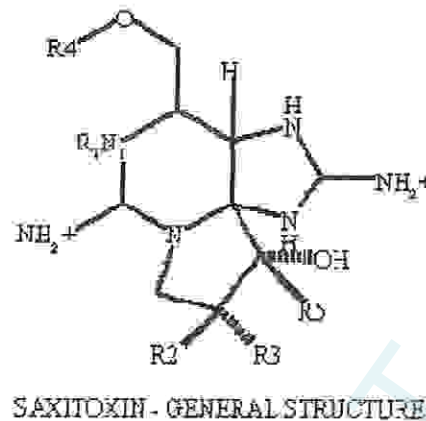


Figure 26: Structure chimique de saxitoxin (Anonyme 9)

- Mécanisme de toxicité

Les neurotoxines ciblent la jonction neuromusculaire avec un mode d'action spécifique à chaque famille. L'anatoxine a est un agoniste des récepteurs à l'acétylcholine. L'acétylcholine étant le neurotransmetteur principal de la jonction neuromusculaire, l'anatoxine entraîne donc une dépolarisation de la jonction neuromusculaire qui se traduit par des fasciculations musculaires, des convulsions et l'apparition d'une détresse respiratoire. L'acétylcholine intervient également dans la transmission de l'influx nerveux au niveau de synapses du système nerveux central et périphérique. Elle subit normalement une dégradation permanente par l'acétylcholinestérase qui ne peut en revanche dégrader l'anatoxine a, entraînant alors son accumulation. Ceci a pour conséquence l'apparition d'un syndrome cholinergique et en particulier des troubles psychiques, une faiblesse musculaire et une activité sécrétoire excessive.

L'anatoxine a(s) quant à elle inhibe spécifiquement l'acétylcholinestérase. L'acétylcholine n'est alors plus suffisamment dégradée. Elle s'accumule et provoque une stimulation excessive des récepteurs cholinergiques. Les effets induits sont similaires à ceux qui sont observés avec l'anatoxine a (syndrome cholinergique). L'anatoxine a(s) est cependant dix fois plus toxique pour l'animal que l'anatoxine a.

Les anatoxines n'ont pas montré d'effet embryotoxique lors d'étude sur la reproduction excepté aux doses entraînant une toxicité sévère chez la mère (retard de croissance et malformations).

Pour ce qui est des saxitoxines, celles-ci inhibent la transmission nerveuse en bloquant les canaux sodiques. Ce qui a pour conséquences un syndrome PSP (Paralytic Shellfish Poison). Les symptômes observés chez un animal intoxiqué sont des tremblements, une suffocation, des convulsions et un opisthotonos (Anonyme 4).

➤ Dermatotoxines

Les dermatotoxines, toxines les moins étudiées à ce jour, sont également des alcaloïdes. Dans ce groupe, les lyngbyatoxines-a et aplysiatoxines peuvent occasionner des dermatites par irritation cutanée, oculaire et respiratoire, tandis que d'autres toxines (debromoaplysiatoxines et aplysiatoxines) sont potentiellement promotrices de tumeurs, les dermatotoxines n'ont été détectées qu'en milieu marin (Ibrahim *et al.*, 2010).

Elles sont produites par *Lyngbya*, *Oscillatoria* et *Schizothrix*. On distingue 2 grandes familles qui sont :

❖ Lyngbyatoxine

Cette toxine alcaloïde indole est produite par *Lyngbya majuscula*. La toxine est très inflammatoire et vésicatoire. C'est l'agent causal de la dermatite, aussi un promoteur de tumeur suite à l'activation de la protéine kinase C (fig.27) (Anonyme 4)

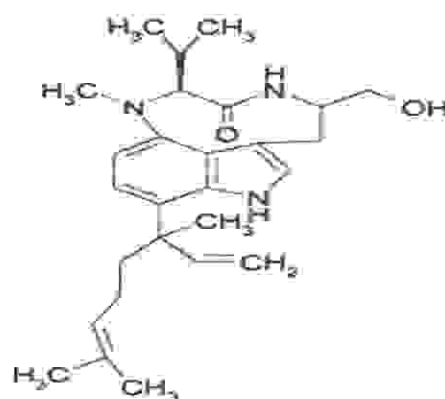


Figure 27: Structure chimique de Lyngbyatoxine (Anonyme 9)

❖ **Aplysiatoxines**

Produites par les cyanobactéries marines telles que *Lyngbya*, ces toxines sont généralement connues pour leur activité inflammatoire de la peau. Ils sont également de puissants promoteurs de tumeurs. Aplysiatoxines et debromoaplysiatoxines ont été trouvés associés à des espèces filamenteuses de cyanobactéries dont *Schizothrix calcicola* et *Oscillatoria nigroviridis* (fig.28) (Anonyme 5).

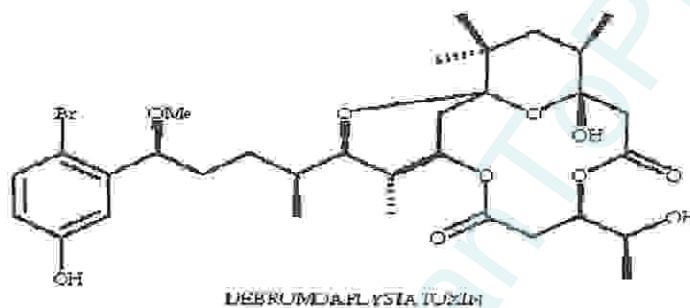


Figure 28: Structure chimique d'Aplysiatoxines (Anonyme 9)

12.3. La gestion du risque sanitaire : les seuils d'alerte

La toxicité des cyanobactéries n'est pas systématique mais l'éventualité doit être envisagée et la recherche de toxines est donc nécessaire, dans certaines conditions.

Il n'existe pas actuellement de normes sanitaires réglementaires française ou européenne pour les eaux de baignade et de loisirs concernant la présence de cyanobactéries ou de leurs toxines. En 1999, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a émis des recommandations de seuils d'alerte pour les eaux de baignade et des zones de loisirs nautiques, s'appuyant sur 2 paramètres (fig.29) :

- le nombre de cyanobactéries et la concentration en toxine ;
- les concentrations en chlorophylle a (Anonyme 4).

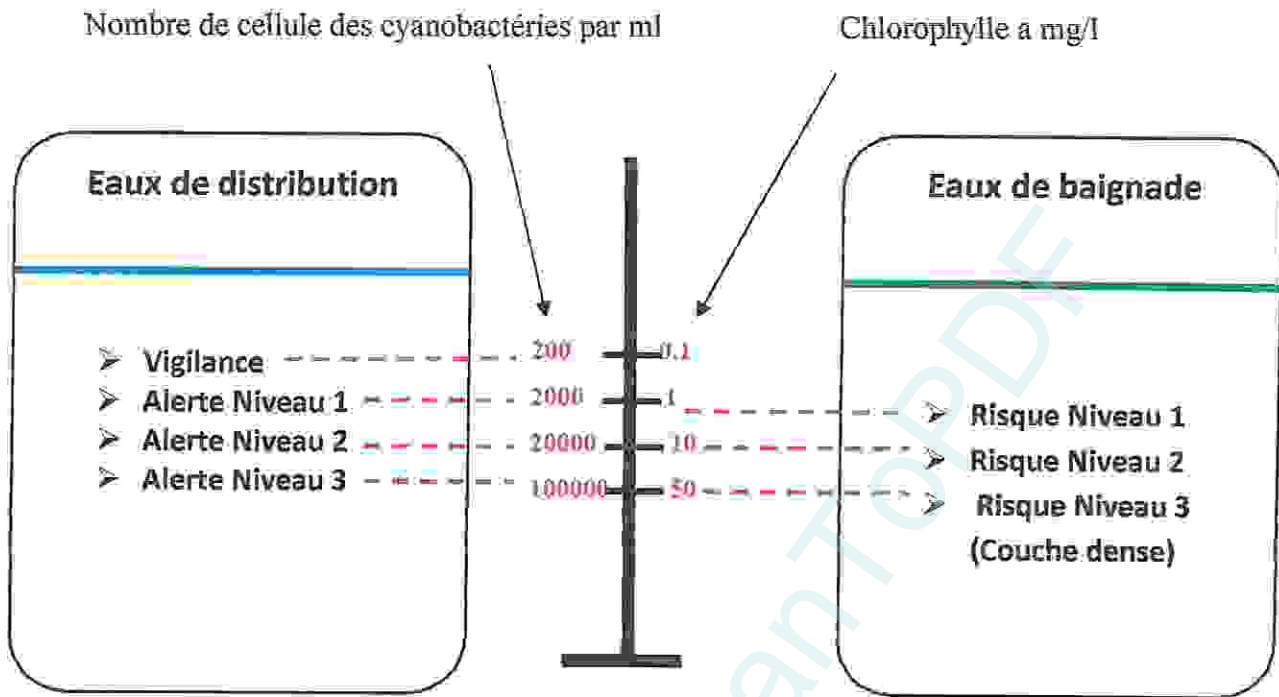


Figure 29 : La recommandation de l'organisation mondiale de santé pour les seuils d'alerte (brient *et al.*, 2001)

12.4. Méthodes de détection des toxines de cyanobactéries

❖ Méthodes physico-chimiques

Les méthodes chromatographiques sont incontournables pour la séparation des toxines dans un extrait naturel, leur application aux microcystines et nodularines dans des buts analytiques et préparatifs. La chromatographie sur couche mince fut la première employée mais reste qualitative surtout quand on ne dispose pas des standard la chromatographie en phase gazeuse (CPG) est peu adaptée à l'analyse des microcystines non volatiles et nécessite des réactions de dérivation pour les autres toxines. Cependant, son couplage aisé avec la spectrophotométrie de masse en fait un outil performant.

L'analyse par chromatographie en phase liquide est de loin la méthode prédominante, surtout à l'heure actuelle où le couplage avec la spectrophotométrie de masse devient accessible à de nombreux laboratoires pour des analyses de routine.

L'électrophorèse capillaire couplée à la détection UV à barrette de diodes ou à la spectrophotométrie de masse a été appliquée à l'analyse des microcystines et des saxitoxines ont montré que l'électrophorèse capillaire couplée à la spectrophotométrie de masse en tandem et permettrait d'identifier les isomères de position des microcystines plus facilement que la

CPL. Cependant malgré ses bonnes performances et son potentiel, il faut noter que cette méthode reste encore au stade de développement pour l'analyse des toxines, en comparaison avec les techniques de CPL (Frémy et Lassus, 2001).

❖ Les méthodes Biologiques, biochimiques et immunologiques

Plusieurs méthodes biologiques peuvent être envisagées, basées sur la potentielle bioactivité des toxines, telles que l'hépatotoxicité, la neurotoxicité, la cytotoxicité, l'activité enzymatique et les interactions immunologiques (Frémy et Lassus, 2001).

• Essai biologique

Cependant, depuis de nombreuses années, le seul essai biologique sur souris a été utilisé pour déterminer la toxicité des floraisons.

Bien que ce bio-essai fournisse une mesure de la toxicité totale (réponse) en quelques heures, il est généralement pas très sensible ou spécifique. Les efforts de recherche considérables ont été accomplis de trouver des méthodes appropriées de substitution à l'essai biologique sur souris comme un test de contrôle de routine pour les cyanotoxines. Toutefois, aucune méthode unique n'est actuellement disponible pour remplacer la souris pour la validation de détection de tous les cyanotoxines en utilisant un seul essai, et plus loin et de comparaison des méthodes est nécessaire avant que des recommandations générales relatives à leur application ne peut être donné (Anonyme 11).

• Immunoessais (tests ELISA)

Ces tests sont basés sur une reconnaissance antigène- anticorps, l'antigène étant la ou les molécules à détecter (Frémy et Lassus, 2001). Des anticorps dirigés contre les microcystines et les saxitoxines ont été développées et les résultats montrent une bonne corrélation avec les méthodes traditionnelles d'analyse telles que l'HPLC. Comme les toxines de cyanobactéries ont un poids moléculaire inférieur à environ 1000 Daltons, ces composés sont connus comme des haptènes, en ce qu'ils sont incapables d'invoquer une réponse immunitaire. Il est nécessaire de lier ces haptènes à des molécules plus grosses pour faire un complexe qui invoquent une réponse immunitaire à produire des anticorps spécifiques contre ces composés et également de réduire considérablement leur toxicité avant la vaccination.

La réactivité croisée des toxines connues cyanobactéries avec des anti-cyanobactéries anticorps toxine a été montré à varier, dépendant de la variante de toxine testés, avec des différences potentiellement large dans le degré de détection entre les variantes.

Cependant, bien qu'immunoessais offrent le potentiel de la haute spécificité et la sensibilité et la nature de la réaction est basée sur la reconnaissance structurale, une Inconvénient est qu'ils ne fournissent pas une indication directe de la toxicité d'un Échantillons de cyanobactéries ou de l'eau (Anonyme 12).

- **Antioxydants enzymatique :**

Un certain nombre de substances s'opposent à la propagation des réactions radicalaires, très souvent en formant à partir d'un radical très réactif un autre radical beaucoup moins réactif. On les appelle antioxydants (Anonyme 17).

Le glutathion

Le glutathion est une petite molécule se trouve tout d'abord dans le foie, l'organe responsable de l'élimination des substances toxiques, puis dans les reins, le pancréas, le cerveau et le cristallin de l'œil, ces molécule présente presque dans chaque cellule du corps. Il est synthétisé dans l'organisme à partir de trois acides aminés : la glutamine, la glycine et la cystéine. Cette dernière contient du soufre qui donne à la molécule de glutathion son « activité biochimique ». Le glutathion est le thiol (acide aminé contenant du soufre) le plus important dans les organismes vivants.

Dans l'alimentation, le glutathion est présent dans les fruits et légumes, les poissons et les viandes. Les asperges, l'avocat, et les noix en sont de bonnes sources.

Sans le glutathion, nos cellules seraient désintégrées sous l'action d'une oxydation non maîtrisée, notre organisme peinerait à résister à l'attaque des bactéries, des virus ou du cancer et notre foie mourrait d'une accumulation de toxines (Anonyme 15).

Il existe deux formes qui sont :

Le glutathion réduit (GSH)

Est une molécule très active. Il piège les substances toxiques, provoque leur transformation, puis les élimine par les voies naturelles (bile ou urine). Lors de son action purifiante, le glutathion réduit se convertit en glutathion oxydée. Il doit être ensuite régénéré

plus rapidement possible grâce à l'intervention d'une enzyme spécifique (glutathion réductase). La répétition constante de ce cycle joue un rôle primordial dans notre organisme. Certains suppléments peuvent accélérer ce processus et rehausser naturellement les niveaux sanguins de glutathion. Par exemple, la vitamine C, la N-acétylcystéine, la méthionine, le sélénium et le zinc participent étroitement à sa fabrication et sa régénération (Anonyme 15).

Glutathion S-Transférase

Les glutathion S-transférases (GSTs) sont une superfamille d'enzymes catalysant la conjugaison entre le glutathion réduit et des xénobiotiques électrophiles (Anonyme 15).

Les glutathion S-transférases constituent une famille de protéines jouant un rôle clé dans la détoxification de plusieurs composés hydrophobes et électrophiles endogènes. Tous les eucaryotes expriment plusieurs isoenzymes cytosoliques et membranaires. Elles constituent des enzymes métaboliques de phase II, puisqu'elles catalysent la conjugaison de leurs substrats, et particulièrement les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), à un groupement glutathion réduit menant à la formation de métabolites hydrophiles excrétables. Cette réaction de "détoxification" sert à la protection des cellules contre les agents cytotoxiques, différents polluants environnementaux, les produits du stress oxydatif et divers carcinogènes. In vivo, les groupes réactifs de l'oxygène ou *reactive oxygen species* – ROS – constitueraient les principaux inducteurs de ces enzymes. Toutefois, il est rapporté dans certains cas que la conjugaison au groupe glutathion peut entraîner la formation de produits intermédiaires réactifs (Anonyme 14).

Catalase

La catalase (CAT), une enzyme ubiquitaire tétramérique encodée sur le locus 11p13, est un important facteur antioxydant de l'organisme humain et se retrouve en abondance dans le foie, les reins et les érythrocytes. Elle catalyse la réaction de réduction de la molécule de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en molécules d'oxygène (O_2) et d'eau (H_2O). Elle permet donc de limiter l'effet délétère du H_2O_2 (un important groupe réactif de l'oxygène associé aux maladies dégénératives et au vieillissement) dans l'endothélium vasculaire. Sur ce point, la catalase, de concert avec les enzymes superoxydes dismutases et glutathion peroxydases, constitue donc la première ligne de défense de l'organisme face au stress oxydatif (Anonyme 14).

CHAPITRE II
Matériel et Méthodes

Produced with ScanTopDF

1. Description de la zone d'étude

1.1. Situation géographique

Le barrage Hammam Debagh, est situé dans la Wilaya de Guelma à 25 km à l'Ouest du chef-lieu, il dépend administrativement de la Daïra de Hammam Debagh et de la Commune de Bouhamdane, occupant une superficie totale de 700 hectares. Il est alimenté principalement par Oued Bouhamdane (fig.30) (ANB).

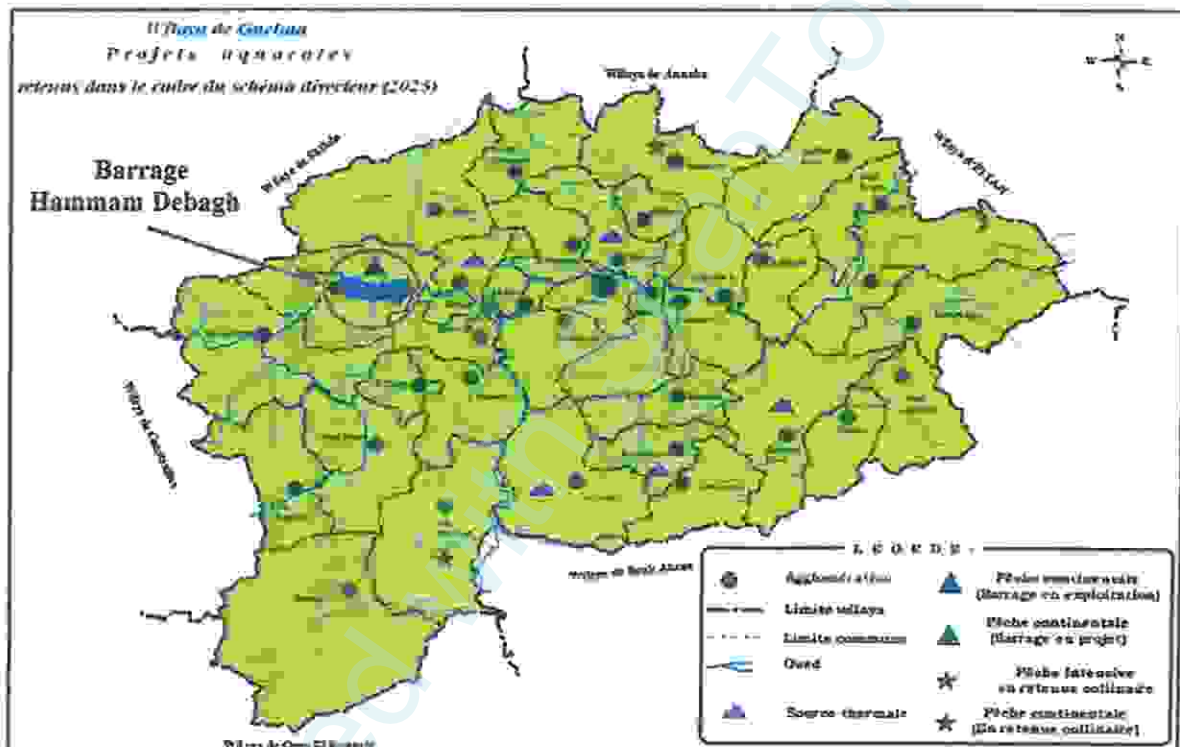


Figure30: Situation du barrage Hammam Debagh (ANB, 2008).

Ses coordonnées géographiques (fig.31) sont :

Latitude : $36^{\circ} 27' N$

Longitude : $7^{\circ} 14' E$

Élévation : 418,31m

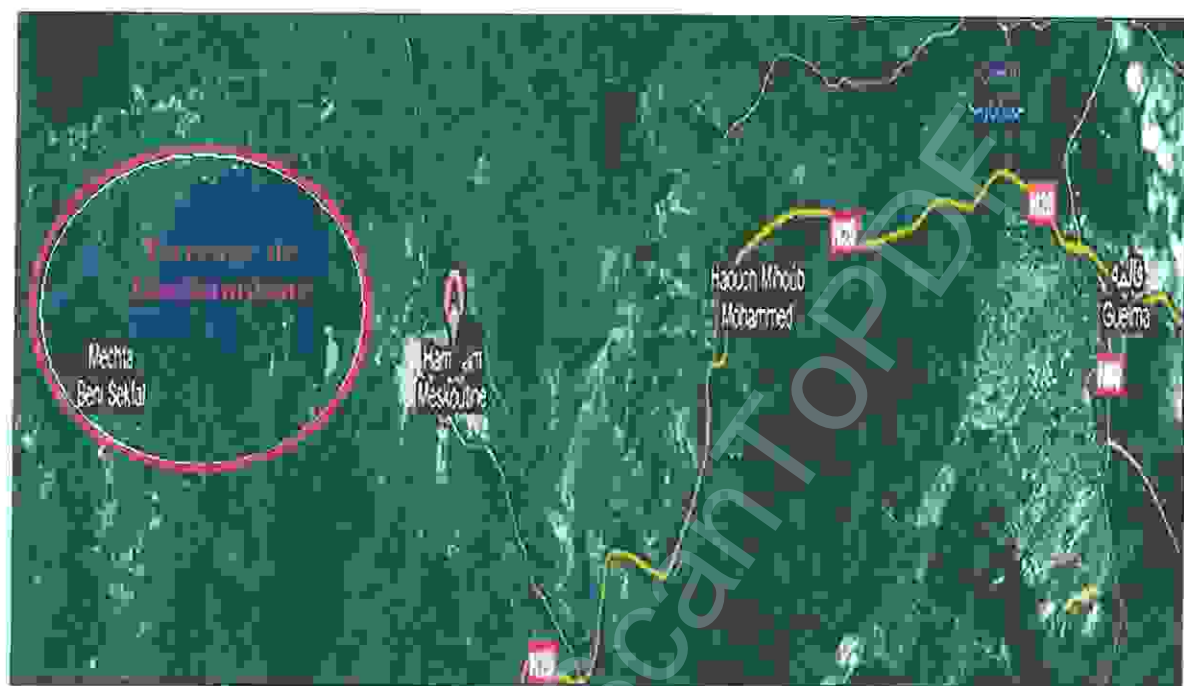


Figure 31: Localisation géographique du barrage de Bouhamdane (Google map, 2012)

1.2. Caractéristiques de barrage Bouhamdane

Les principales caractéristiques de barrage Bouhamdane sont représentées dans le tableau suivant (Tab.4) (ANB).

Tableau 4 : Principales caractéristiques du barrage Bouhamdane (ANB).

Début du travaux	Octobre 1980
Achèvement du travaux	Decembre 1987
Effluents	OuedBouhamdane
Type	En terre avec noyau central
Capacitéhydrique	200 hm ³ (1988) 184,347 hm ³ (2004)
Volume regularize	Après levée bathymétrique
Superficiés du bassin versant	1070 Km ²
Apportannuelmoyen	63 hm ³
Profondeurmaximale	93 m
Hauteur de l'eau	Maximal : 60m –minimal: 5m
Énvasementmoyenannuel	0,53 hm ³
Sources d'approvisionnement en eau	Oued Bouhamdane et s'affluents
Longueur en crête	340 m
Largeur en crête	9 m
Volume de la digue	6500000 m ³
Largeur à la base	516 m
Longueur de couronnement	430 m
Excavations	1.700.000 m ³
Coffrages	130.000 m ²
Remblais	6.500.000 m ³
Aciers	6.000 T
Béton	198.000 m ³
Forages et injections	39.0

1.3. Rôle du barrage

Le plan de l'eau du barrage de Bouhamdane est un grand lac ayant son rôle à jouer dans le souci de sauvegarder l'environnement, en plus de finalités pour lesquelles il a été construit à l'origine, à savoir :

- L'alimentation en eau potable d'une partie de la population de la wilaya, dont les communes de Guelma : Hammam Debagh, Mdjez Amar, Ain Hssainya.
- L'ouvrage contribue à l'irrigation d'une superficie de plus de 9.500 hectares de terres du périmètre agricole Guelma-Boucheouf (Lassoued et Touhami, 2008).

1.4. Aperçu géologiques

La région de Hammam Debagh appartient aux nappes épi telliennes qui résultent d'une poussée vers le sud de la chaîne du Djebel Debagh du Grar et du Kef-Hahouner, où affleure un substratum formé de calcaires Crétacés. C'est sur celui-ci qu'ont été charriées les nappes dites telliennes, constituées de marnes noires ou grises intercalées de bancs calcaires appartenant au Crétacé et au Tertiaire.

Une autre nappe dite du Flysch Crétacé, recouvre indifféremment les nappes Telliennes ou le crétacé « autochtone ». Elle est composée de schistes noirs et de puissants bancs de grés, localement de poudingues.

Le site du barrage est implanté dans un resserrement de la vallée d'oued Bouhamdane qui correspond à un lambeau de la nappe du Flysch Crétacé, alors que la cuvette se développe dans sa quasi-totalité dans les marnes telliennes et le Crétacé autochtone (Chaouch *et al.*, 2009).

1.5. Réseau hydrographique

Notre source d'approvisionnement en eaux de barrage Hammam Debagh est d'origines pluviales véhiculées principalement par Oued Bouhamdane et ses affluents, qui sont lui-même un affluent principal de l'oued Seybouse (la rencontre de l'oued Bouhamdane avec l'oued Charef forme la Seybouse) (Chaouch *et al.*, 2009).

1.6. Climatologie

Le climat est un facteur abiotique important dans l'étude de la typologie et le fonctionnement d'un milieu naturel, il nous permet de déterminer les composants et les caractéristiques de ce dernier.

Les caractéristiques climatiques sont prises en considération afin de mieux prendre connaissance des conditions naturelles de la région d'étude (Fustec et Lefeuvre, 2000).

1.6.1. La température

La température est l'un des plus importants de l'étude du climat, elle est à l'origine du bon fonctionnement du cycle de l'eau.

Les données récoltées sont représentées dans le tableau 5.

Tableau 5 : Variations mensuelles de la température (Mars, Avril). (ANB).

	Températures (°C)		
	Mini	Max	Moy
Mars	6,77	18,38	12,57
Avril	9,36	19,57	14,46

1.6.2. La pluviométrie

Les précipitations sont un facteur essentiel jouant un rôle très important dans le conditionnement de l'écoulement saisonnier et par conséquent le régime des cours d'eau ainsi que celui des nappes aquifères. C'est un des éléments fondamentaux du bilan hydriques.

Les précipitations enregistrées dans la zone d'étude sont représentées dans le tableau 6.

Tableau 6 : Variations mensuelles de la précipitation (Mars, Avril), (ANB).

	Précipitations (mm)
Mars	13,43
Avril	4,86

1.7. Cadre biotique

Au niveau de barrage Hammam Debagh s'est formé un microclimat avec une faune et une flore assez abondante. Selon l'administration des forêts et la direction de l'environnement il existe beaucoup d'espèces végétales et animales, on peut citer quelques une :

- **La faune** on note la présence d'une pléthore d'oiseaux: la cigogne blanche (*Ciconiaciconia*), le canard colvert (*Anas platyrhynchos*), la poule d'eau (*Gallinulachloropus*), l'heron blanc (*Bubulcus ibis*), l'épervier (*Accipiternisus*), le pigeon (*Columbaoenas*), le corbeau (*Curvusecorax*), la perdrix (*Alectorisbarbara*), le merle de rocher (*Monticolasaxactilis*).
- **La faune aquatique** la carpe argentée (*Hypophthalmichtysmalitrix*), la carpe a grande bouche (*Aristichthysnobilis*), sandre (*Stizostedionlucio-perca*), le barbeau (*Barbus, Barbus*), anguilles européenne (*Anguilla anguilla*), ablette (*Alburnusalburnus*), carpe herbivore (*Ctenopharyngodonidella*), carpe commune (*Cyprimusecarpio*), crabes (*Carcinusmaenas*), tortues aquatiques (*EmyduraSubglobosa*).
- **Les reptiles** La couleuvre (*Natrixtessellata*), la vipère (*Viperaursini*), le lézard (*Lacertalepida*).
- **La flore** on peut enregistrer les espèces telles que le pin d'Alep (*Pinushalpensis*), le pin maritime (*Pinusmaritima*), l'eucalyptus (*Eucalyptus australis*), l'oléastre (*Oleariaarborescens*), le chêne liège (*Quercus suber*), le chêne zen (*Quercus faginea*), le frêne oxyphylle (*Fraxinusoxyphylla*), le peuplier noir (*Populusnigra*). (Lassoued et Touhami ,2008).

2. Prélèvement

Le prélèvement d'un échantillon d'eau est une opération délicate à laquelle le plus grand soin doit être apporté ; il conditionne les résultats analytiques et l'interprétation qui en sera donnée (Rodier *et al.*, 2009), la raison pour laquelle nous avons insisté sur les points suivants :

- Les flacons en verre destinés à la culture des cyanobactéries ont été stérilisés au préalable.
- Sur chaque flacon des étiquettes comportant la codification suivante :
 - Date et heure du prélèvement.
 - Motif de la demande d'analyse.
 - Nom du point d'eau et localisation.
 - Origine de l'eau (source, puits, forage, rivière, lac, barrage, citerne...etc.).
- Les échantillons sont transportés jusqu'au laboratoire dans une glacière (ce qui permet une conservation satisfaisante).

2.1. Stratégie d'échantillonnage

❖ Sur terrain

Plusieurs prélèvements d'eau à partir du barrage sont effectués le mois de mars à l'aide d'un filet à plancton de 20 μ m de vide de maille muni d'un collecteur (fig. 32). L'opération consiste à filtrer 50L d'eau de surface afin de concentrer la population de cyanobactéries.

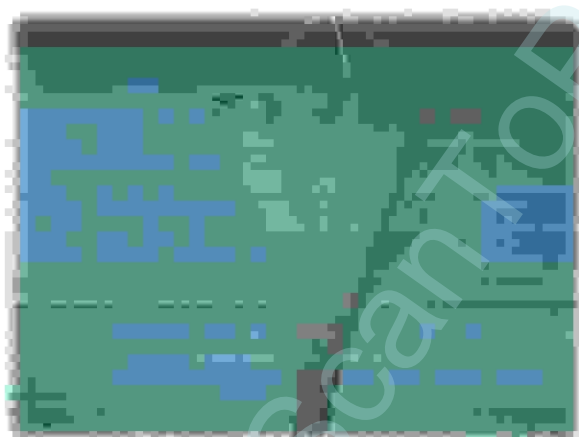


Figure 32 : Photographie du filet à plancton (prise le 17 /03 /2012 par Adjeroud).

❖ Au laboratoire

- **Echantillons pour l'identification:** la moitié du filtrat est transféré dans un flacon contenant un conservateur (0.5 ml de formaldéhyde à 37 %) (Brient, 2001 ; Leitão et Couté, 2005 ; Treytur *et al.*, 2007).
- **Echantillon pour l'isolement et la culture des cyanobactéries** L'autre moitié du filtrat est transférée dans un flacon en verre stérile, il faudrait fermer rapidement afin d'éviter toute contamination.

NB : les cyanobactéries, grâce à leurs vacuoles gazeuses, se déplacent dans la colonne d'eau en fonction de l'éclairement. Au matin, elles recouvrent la surface, et vers midi elles s'enfoncent légèrement en dessous de la surface, de ce fait tous les prélèvements ont été réalisés dans la matinée (Boussadia, 2008).

Les mesures des températures et du pH ainsi que les teneurs en éléments azotés des eaux du barrage ont été recueillis à partir de la station du traitement des eaux (A.D.E – barrage Buohamdane – Guelma)

3. Etude des cyanobactéries

3.1. Identification des cyanobactéries

La détermination des genres récoltés est réalisée à partir de l'observation microscopiques des caractères morpho-anatomiques représentant les clés d'identification universellement acceptées (Bourrelly, 1985; Bergey, 1994).

❖ Les principaux critères retenus sont :

- La structure micro-algale (cellulaire ou filamenteuse), ainsi que la couleur.
- La forme de la colonie (trouée, aplatie, lobée, composée de sous-colonies compactes) ou du trichome.
- La taille des cellules.
- La présence ou l'absence de: gaine gélatineuse (couleur, aspect et taille), akinètes, hétérocystes, vacuoles à gaz (pseudovacuoles).

3.2. Isolement et culture des cyanobactéries

❖ Ensemencement

Un aliquote de 100µl d'échantillon a été ensemencé sur milieu BG11 liquide en triplicata.

Les inocula du milieu liquide ont été cultivés dans des Erlenmeyer.

❖ Incubation

Les Erlenmeyer ont été placés sous lumière continue «cool day - light L36W/765» pendant 3 semaines à une distance de 20 cm ; la température d'incubation étant de 25°C.

❖ Lecture

La prolifération des cyanobactéries n'étant pas rapide, la lecture se fait après 7 jours d'incubation jusqu'à la 3^{ème} semaine (Guellati, 2011).

3.3. Dénombrement des cellules de cyanobactéries :

Le comptage des cyanobactéries est réalisé à l'aide de la cellule hématimétrique « Nageotte ». Il s'agit d'une lame spéciale formée de 40 bandes correspondant à une surface donnée et un volume de 50µl.

Le dénombrement des cellules des cyanobactéries présentes sur un certain nombre de bandes, correspond donc à un certain volume permet une estimation par millilitre (Briand *et al.*, 2001).

La méthode consiste à :

- Prendre un sous échantillon de 1ml.
- Prélever 50µl du sous l'échantillon à l'aide d'une micropipette.
- Injecter l'échantillon sous la lamelle fixée préalablement sur la cellule de comptage après humidification des surfaces rodées.
- Observation (sous les objectifs: 10x, 40x) et comptage des cyanobactéries rencontrées sur les 20 bandes horizontales de la cellule Nageotte, cette opération est répétée plusieurs fois (3 à 5 observations).

La détermination de la densité algale de l'échantillon s'effectue selon la formule suivante :

$$\text{Nombre de cellules /50}\mu\text{L} = \frac{[(\text{Moy des cellules dénombrées /20}) \times 40]}{50}$$

$$\text{Nombre de cellules /ml} = \frac{\text{Nombre de cellules / 50}\mu\text{L}}{V}$$

Moy : la moyenne des cellules dénombrées.

20 : les 20 bandes sur lesquelles on a effectué le dénombrement.

40 : les 40 bandes qui correspondent à la grille de la cellule de comptage.

50 : volume de la cellule de Nageotte (µL).

V: volume du sous échantillon (lml).

4. Matériel biologique et conditions d'élevage

Notre étude a été réalisée sur 06 souris (males), adultes, pesant entre (27 et 33g) provenant de l'institut Pasteur d' Alger.

Les souris sont élevées dans des cages en plastique grillagées. Ces cages sont tapissées d'une litière composée de copeaux de bois (fig.33). Le nettoyage des cages et le changement de la litière sont réalisés quotidiennement. Les souris se sont acclimatées aux conditions de notre animalerie (l'animalerie du département de biochimie, université Badji

Mokhtar, Annaba), pendant un mois (Mars, Avril 2012), à une température de $27 \pm 2^\circ\text{C}$, une photopériode de (12h / 12h), avec un apport quotidien en eau et nourriture.

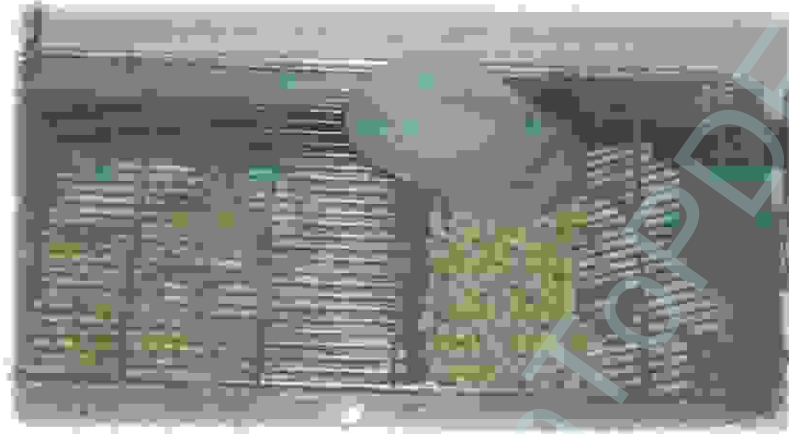


Figure 33 : Photographie représentant une cage d'élevage des souris (prise le 22/04/2012 par ferdes).

❖ Traitement des animaux

Les 06 souris ont été répartir en 03 lots égaux (2 souris/lot) (fig.36).

1^{er} lot: témoin reçoit de l'eau physiologique.

2^{ème} Lot: souris traitées par une dose cellulaire de cyanobactéries (50 000 cellule /kg)

3^{ème} Lot: souris traitées par une dose cellulaire de cyanobactéries (200 000 cellule /kg).

Le traitement des souris par les doses choisies (Lance, 2008) est effectué par voie intrapéritonéale (fig.34) 4 fois par semaine durant une période de 14 jours.

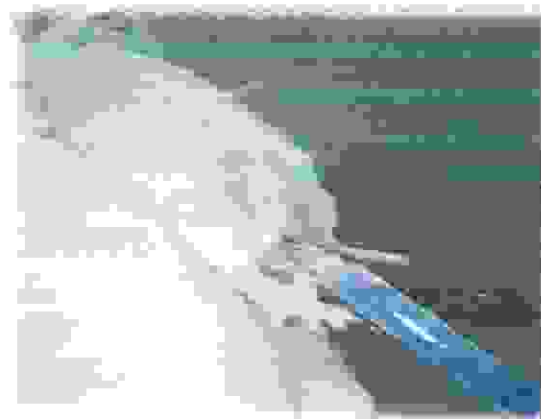


Figure 34: Photographie représentant la voie d'injection (prise le 30/04/2012 par chiheb).

❖ Prélèvements sanguin

Les prélèvements sanguins se font par sacrifice à la fin du traitement, les échantillons sanguins sont recueillis dans des tubes héparinés (fig.35), puis centrifugés à 3000 tours / min pendant 15 min, le plasma obtenu est aliquoté et conservé à une température de (-20°C) jusqu'au moment du dosage.

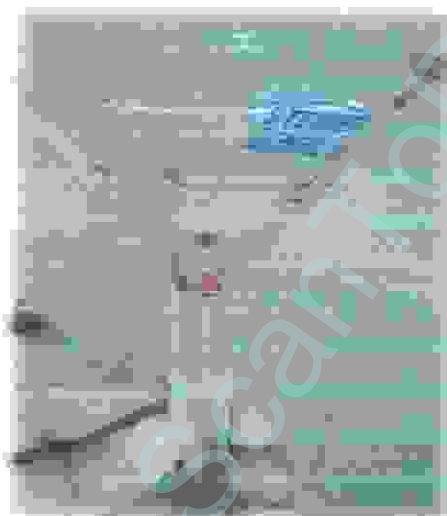


Figure 35: Photographie représentant la récupération du sang dans un tube hépariné (prise le 07/05/2012 par chihab).

❖ Prélèvement des organes

Après décapitation et dissection des souris, le foie prélevé (fig.36) est maintenu à (-20°C) pour le dosage du glutathion (GSH).

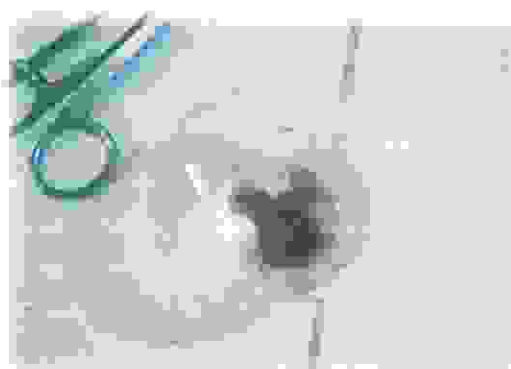


Figure 36: Photographie représentant le foie mis dans l'eau physiologique (prise le 07/05/2012 par Adejrout).

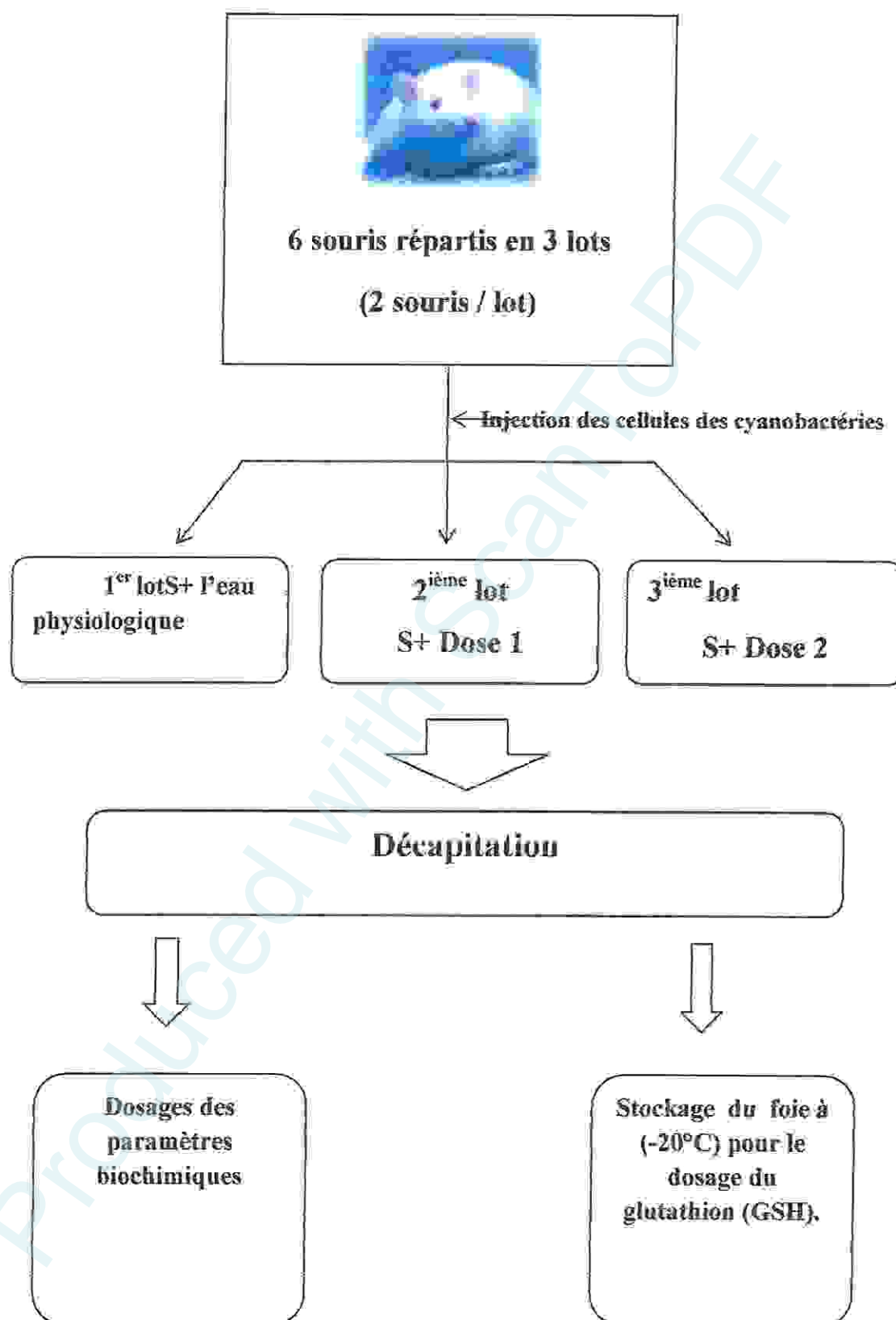


Figure 37: Schéma récapitulatif du Protocole expérimental

5. Dosage des paramètres biochimiques

Les paramètres biochimiques sont dosés au niveau du laboratoire EMMAL Ecobiologie des Milieux Marins Aquacoles et Littoraux (Université Badji - Mohtar Annaba), selon les fiche techniques suivantes :

5.1. Dosage de l'urée (kaplan, 1984) selon la fiche technique Spinréact

❖ Principe

L'urée est hydrolysée à l'aide d'enzymes dans l'ammoniaque (NH_4^+) et le dioxyde de carbone (CO_2). Les ions ammoniacs ainsi formés réagissent avec du salicylate et l'hypochlorite (NaClO), en présence d'un catalyseur nitroprusside, pour former un indophénol



❖ Echantillon Plasma

❖ Réactifs utilisés

Réactifs	Composition	Concentration
(R1) Tampon	Phosphate pH 6.7	50 mmol/L
	EDTA	2 mmol/L
	Salicylate de sodium	400 mmol/L
	Nitroprusside de sodium	10 mmol/L
(R2) NaClO	Hypochlorite de sodium (NaClO)	140 mmol/L
	Hydroxyde de sodium	150 mmol/L
(R3) Enzymes	Urease	30000 U/L
Calibrant	Solution standard d'Urée	50mg/dl

❖ Préparation de réactif du travail (RT)

Dissoudre un comprimé de R3 dans un flacon de R1. Ce réactif doit rester stable 4 semaines à 2-8°C ou 7 jours à 15-25°C.

❖ Mode opératoire

	Blanc	Standard	Echantillon
Réactif (ml)	1	1	1
Etalon (µl)	-	10	-
Echantillon (µl)	-	-	10

On mélange à l'aide d'un agitateur et on laisse incuber pendant 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à 25°C.

	Blanc	Standard	Echantillon
R2 (ml)	1	1	1

On mélange à l'aide d'un agitateur et on laisse incuber pendant 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à 25°C puis on lit la densité optique DO à 580 nm contre le blanc réactif. La coloration est stable pendant 30 minutes à l'abri de la lumière.

❖ Calcul de la concentration

La concentration de l'urée plasmatique est calculée par la formule suivante :

$$\text{Urée (mg / dl)} = \frac{\text{Do échantillon}}{\text{Do étalon}} \times 50 \text{ (concentration de l'étalon)}$$

5.2. Dosage de la créatinine (Murray, 1984), selon la fiche technique Spinréact

❖ Échantillon Plasma

❖ Réactifs utilisés

Réactif	Composition	Concentration
(R1) Réactif picrique	Acide picrique	17.5 mol/L
(R2) Réactif alcaline	Hydroxyde de sodium	0.29 mol/L
Calibrant de Créatinine	Solution standard de créatinine	2 mg/dl

❖ Préparation de réactif du travail (RT)

Dissoudre un volume de R1 dans un même volume de R2.

Ce réactif est stabilisé 10 jours à 15-25°C.

❖ Mode opératoire

	Blanc	Standard	Echantillon
Réactif (ml)	1	1	1
Etalon (µl)	-	100	-
Echantillon (µl)	-	-	100

On mélange puis on lit la densité optique DO à 492 nm contre le blanc réactif. (A1) après 30 secondes puis (A2) après 90 secondes de l'addition de sérum..

❖ Calcul de la concentration

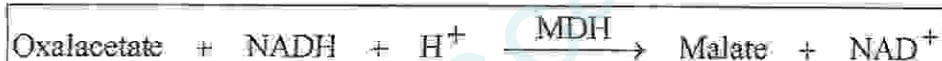
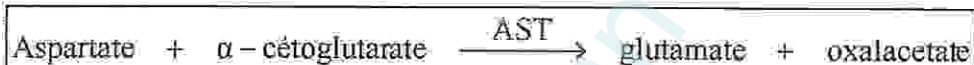
La concentration de la créatinine plasmatique est calculée par la formule suivante :

$$\text{Créatinine (mg l dl)} = \frac{\Delta A \text{ échantillon} - \Delta A \text{ blanc}}{\Delta A \text{ étalon} - \Delta A \text{ blanc}} \times 2 \text{ (concentration de l'étalon)}$$

5.3. Dosage de l'Aspartate amino transférase (Murray, 1984) selon la fiche technique Spinréact.

❖ Principe

L'aspartate amino transférase (AST) appelée aussi l'oxaloacétate de glutamate transférase (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amine à partir de l'aspartate au α -cétoglutarate formant le glutamate et l'oxalacetate. L'oxalacetate produit est réduit en malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH (Murray, 1984):



❖ Echantillon Plasma

❖ Réactifs utilisés

Réactif	Composition	Concentration
(R1) Tampon	TRIS pH 7.8	80 mmol/L
	L- Aspartate	200 mmol/L
(R2) Substrat.	NADH	0.18 mmol/L
	Lactate déshydrogénase (LDH)	800 U/L
	Malate déshydrogénase (MDH)	600 U/L
	α -cétoglutarate	12 mmol/L

❖ Préparation de réactif du travail (RL)

Dissoudre un comprimé de R2 dans un flacon de R1. Ce réactif est stabilisé 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à 15-25°C.

❖ Mode opératoire

Réactif (ml)	1
Echantillon (μl)	100

On mélange et/ou incube pendant 1 minute puis on lit l'absorbance (A), la densité optique DO à 340 nm contre le blanc réactif. Avec trois répétitions (à chaque fois 1 min d'incubation).

❖ Calcul de la concentration

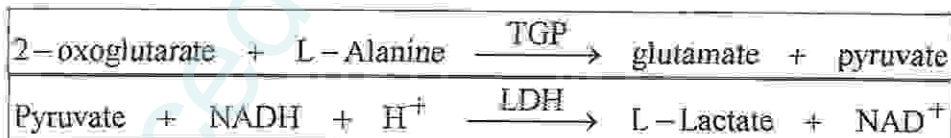
La concentration d'aspartate amino transférase plasmatique est calculée par la formule suivante :

$$\text{AST U/L} = \Delta A/\text{min} \times 1750$$

5.4. Dosage de l'Alanine amino transférase (Murray,1984) selon la fiche technique Spinréact.

❖ Principe

Le principe est présenté par le schéma réactionnel suivant



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité de l'alanine amino transférase dans l'échantillon

❖ Echantillon Plasma

Réactifs utilisés

Réactif	Composition	Concentration
(R1) Tampon	TRIS pH 7.8	100 mmol/L
	L- Alanine	500 mmol/L
(R2) Substrat	NADH	0.18 mmol/L
	Lactate déshydrogenase (LDH)	1200 U/L
	Oxoglutarate	15 mmol/L

❖ **Préparation de réactif de travail (RL)**

Dissoudre le contenu de R2 dans le flacon R1. Ce réactif est stable 2 semaines à 2-8°C.

❖ **Mode opératoire**

Réactif (ml)	1
Echantillon (µl)	100

Mélanger, incuber les tubes préparés pendant une minute à température ambiante et lire l'absorbance (A) à 340 nm avec trois répétitions (à chaque fois 1 min d'incubation).

❖ **Calcul de la concentration**

La concentration d'alanine aminotransférase plasmatique est calculée par la formule suivante :

$$\text{ALAT U/L} = \Delta A/\text{min} \times 1750$$

5.5. Dosage de la glutathion hépatique (GSH)

❖ Principe

Le dosage du glutathion est réalisé selon le procédé de Weckbeker et Cory. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro-5-mercapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5' -dithio-bis-2- nitrobenzoïque (réactif d'Elleman) par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois préparé, l'homogénat doit subir une déprotéinisation (par l'acide sulfosalicylique 0,25%) afin de protéger les groupements -SH du glutathion.

❖ Echantillon le foie

❖ Les réactifs utilisés et leur préparation

• Tampon (Tris-EDTA): pH=9.6

Dissoudre 19.382 g de Tris (0,4) et 2.976g d'EDTA (0,02M) dans 400ml d'eau distillée.

• Solution de l'Acide sulfosalicylique 0.25%

Dissoudre 0,063 g de la poudre dans 25 ml d'eau distillée.

• Solution de DTNB (0.01 M)

Dissoudre 0,0549 g de la poudre dans 15 ml de méthanol absolu 99%.

• Solution d'EDTA (0.02M)

Dissoudre 2.976 g de la poudre dans 400 ml d'eau distillée.

❖ Protocole expérimental

Les échantillons (200mg de foie de chaque animal) sont mis séparément en présence de 8 ml de solution d'EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique) à 0,02 M. Le mélange est mis alors dans des glaçons et broyé à l'aide d'un pilon en porcelaine.

Une fois préparé, l'homogénat doit subir une déprotéinisation, en prélevant 0,8 ml de ce dernier auquel on ajoute 0,2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0,25% :

- Agiter le mélange et laisser pendant 15 min dans un bain de glace.

Centrifuger pendant 5 min à 1000 t/min.

- Prélever 0,5 ml du surnageant.

- Ajouter 1 ml du tampon tris-HCl + EDTA (0,02M), pH=9.6.

- Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01 M dissous dans le méthanol absolu.
- Laisser pendant 5 min à température ambiante.
- Mesuré l'absorbance (A) à 412 nm.

❖ Calcul

La concentration en glutathion hépatique (GSH) est obtenue par la formule suivante :

$$[GSH] = \frac{Do \times 1 \times 1,525}{131000 \times 0,8 \times 0,5 \text{ mg Pr } t} \text{ nM GSH / mg Pr } t$$

DO : Densité optique.

1 : Volume total des solutions utilisées de la déprotéinisation (0.8 ml homogénat + 0.2 ml SSA).

1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant + 1 ml Tris -EDTA + 0.025 ml DTNB)

13100 : Coefficient d'absorbance (contenant le groupement SH à 412 nm).

0.8: Volume de l'homogénat après déprotéinisation trouvé dans un 1 ml.

0.5 : Volume du surnageant trouvé dans un 1.525 ml.

On note que la concentration de GSH est mesurée par apport à 1 mg de protéine. C'est pour cela que ce dosage doit être accompagné par le dosage des protéines.

5.6. Dosage des protéines hépatiques

❖ Principe

Les protéines réagissent avec un réactif coloré contenant de l'acide orthophosphorique, de l'éthanol ainsi que le bleu de coomassie (BBC). Ce réactif réagit avec le groupement (-NH₂) des protéines. L'intensité de la couleur reflète la concentration des protéines qui est réalisée selon la méthode de Bradford (Bradford,1976).

❖ Echantillon le foie

❖ Préparation de réactif de Bradford

- Dissoudre 100 mg de poudre de bleu de coomassie dans 50 ml d'éthanol (95%).
- Agiter le mélange pendant 2 heures avec un agitateur.
- Ajouter 100 ml de l'acide orthophosphorique (H_3PO_4) 85%.
- Compléter le volume jusqu'à 1 litre avec l'eau distillée.
- Filtrer la solution obtenue avec un papier filtre.

Ce réactif est stable pendant 2 semaines 4°C.

❖ Mode opératoire

	Blanc	Homogénat
Homogénat	-	50
L'eau (µl)	50	-
BBC (ml)	2.5	2.5

- Agiter et attendre 5 min pour la stabilisation de la couleur.
- Mesurer l'absorbance optique à 595nm contre le blanc. La densité optique obtenue est rapportée sur la courbe d'étalonnage préalablement tracé (0→1mg/ml de sérum albumine de bovin).

CHAPITRE III
Résultats et Discussion

Produced with ScanTOPDF

1. Physico-chimie de l'eau du barrage

La compréhension des facteurs menant à la formation de floraisons de cyanobactéries est primordiale, aussi bien pour une question de santé publique, que pour un maintien de l'équilibre écologique d'un plan d'eau. Le pré-requis des floraisons étant la présence d'une population importante de cyanobactéries, il importe de s'intéresser aux facteurs permettant le développement de ces micro-organismes. De ce fait, les mesures des températures et du pH ainsi que les teneurs en éléments azotés des eaux du barrage recueillis à partir de la station du traitement des eaux (A.D.E - barrage Bouhamdane - Guelma) sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 7 : Résultats des mesures des paramètres physico-chimiques

Paramètres	Température (°C)	pH	Turbidité (NTU)	Nitrite (mg/l)	Nitrate (mg/l)	Ammonium (mg/l)
Eau brute	12,4	8,3	17,3	0,009	0,99	0,027

- De faible température est relevée, étroitement liée à la température de l'air relative au mois du prélèvement (mars).
- Le pH de l'eau du barrage est alcalin, cette alcalinité dépend des mécanismes chimiques (dégradation...) et biologiques (photosynthèse...).
- La turbidité de l'eau est liée à plusieurs facteurs : ruissellements, précipitations, poussées planctoniques... etc.

En se référant aux valeurs guides des éléments azotés dans l'eau (admises par le Ministère Algérien de l'hydraulique (tab.8), les eaux barrage relevées le mois de mars sont de qualité excellente.

Les teneurs en eau de ces éléments dépendent des apports, de l'assimilation des producteurs primaire, du processus de minéralisation et des biodégradations... etc.

Tableau 8 : Qualité des eaux de surface selon l'Agence Algérienne des bassins versants (1999).

Classe de qualité	Excellente	Bonne	Passable	Médiocre	Pollution excessive
NH ₄ ⁺ (mg/l)	< 0.1	0.1 à 0.5	0.5 à 2	2 à 8	> 8
NO ₃ ⁻ (mg/l)	< 5	5 à 25	25 à 50	50 à 80	>80
NO ₂ ⁻ (mg/l)	< 0.1	0.1 à 0.3	0.3 à 1	1 à 2	>2

2. Etude des cyanobactéries du barrage Bouhamdane

2.1. Etude qualitative

L'observation des caractères morpho-anatomiques des cyanobactéries récoltées dans le barrage Bouhamdane au cours de ce travail, nous a permis d'identifier uniquement le genre potentiellement toxique : *Planktothrix* (fig.38 et fig.39). En se basant sur les critères proposés par Komarek et Komarkova (2004) (tab.9). Néanmoins, la détermination de l'espèce doit être confirmée par le biais de la biologie moléculaire (Otsuka ,2001).

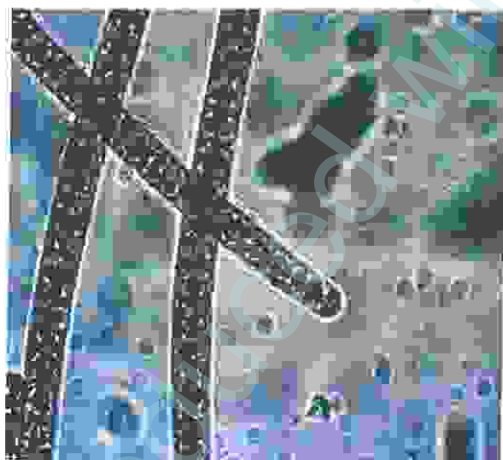


Figure 38: Photographie du genre *Planktothrix*

Gr : x 40 (Mars 2012).

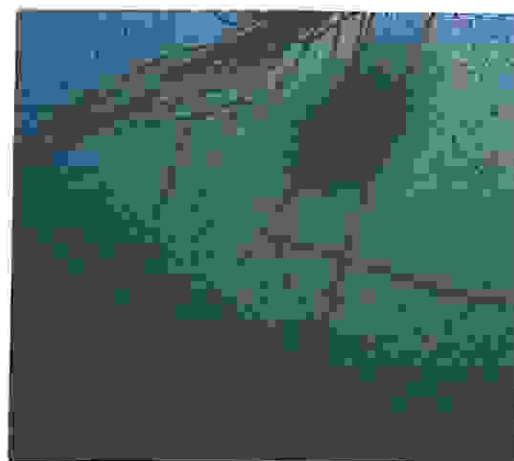


Figure 39: Filaments de *Planktothrix*

Gr : x 10 (Mars 2012).

Tableau 9 : Caractéristiques du genre *Planktothrix*

Caractère	Description
Couleur	Bleu-vert mais également il possède des pigments rouge
Forme de cellule	Cylindrique, cellule apicale ronde, conique
Forme de trichome	Libre, solitaire, rectilignes ou légèrement incurvés
Taille	Diamètre cellulaire de 4 - 6µm et une longueur de 2,5-4 µm.
Gaine	Pas de gaine
Pseudovacuoles	Nombreuses
Mobilité	Glissement

Certaines conditions environnementales conduisent à des situations de fortes compétitions entre micro-organismes. Ces situations provoquent, par exclusion compétitive, la sélection de l'espèce la plus performante dans les conditions du milieu. La prédominance du *Planktothrix* s'expliquerait par ses différentes capacités d'adaptation :

Ce genre filamenteux peut être assemblé en faisceau, producteur de ce qui le rend plus difficiles à consommer par la plupart des organismes brouteurs du zooplancton (Couté & Bernard, 2001 ; Rabouille, 2002).

Par ailleurs, sa capacité à contrôler la flottaison grâce aux vacuoles à gaz lui permet de se déplacer entre les deux extrémités de la colonne d'eau (énergie lumineuse en surface et les nutriments au fond), tout en limitant sa sédimentation (Affsa et Affset, 2006).

Selon Jacket *et al.*, 2003 le genre *Planktothrix* domine le lac Bourget grâce à adaptation aux faibles concentrations d'éléments nutritifs et à une faible luminosité, sa capacité de réserve et d'une photo-hétérotrophie en plus d'être moins affecté par la lyse virale. Sarazin *et al.*, 2002 rajoutent que ce genre a une nette préférence pour les eaux froides.

2.2. Isolement et culture des cyanobactéries

Puisqu'elles sont photo-autotrophes les cyanobactéries peuvent croître sur un milieu minéral simple. Ce milieu doit être supplémenté en nutriments essentiels pour la croissance cellulaire incluant les sources d'azote, de phosphore et d'oligoéléments. Ces bactéries présentent une croissance lente. (Rippka.1988 ; Chorus & Bartram, 1999).

➤ Examen macroscopique

L'examen macroscopique et microscopique des différents échantillons ensemencés sur milieu BG11 liquide a été fait régulièrement après 7, 15 et 21 jours d'incubation à 25 °C en lumière continue.

➤ Observation

L'observation des échantillons ensemencés sur milieu BG 11 liquide, montre un changement de couleur du milieu (incolore au départ), qui se colore au fur et à mesure que les semaines passe jusqu'à devenir brun foncé après 21 jours d'incubation, ceci témoigne la prolifération des cyanobactéries (fig.40 et fig.41).



Figure 40 : Photographie d'une culture de cyanobactéries sur milieu BG11 liquide après 7 jours d'incubation (Avril 2012) (prise par ferdes).

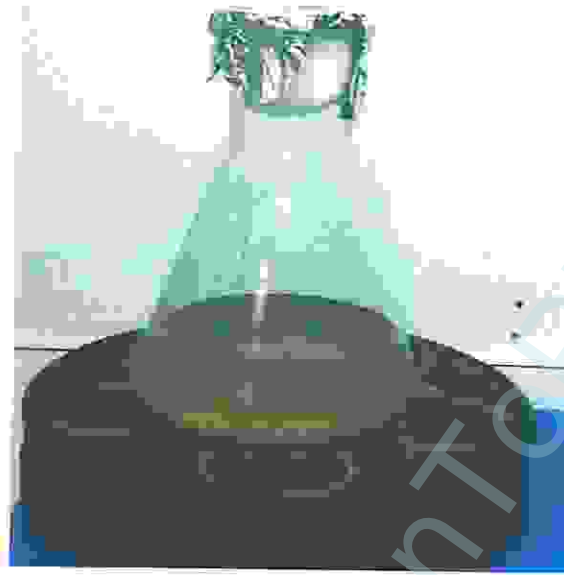


Figure 41 : Culture de cyanobactéries sur milieu BG11 liquide après 14 jours d'incubation (Mars 2012) (prise par Adejroud).

❖ Examen microscopique

L'observation microscopique des cultures liquides révèle la présence seule du genre *Planktothrix* (fig.42).

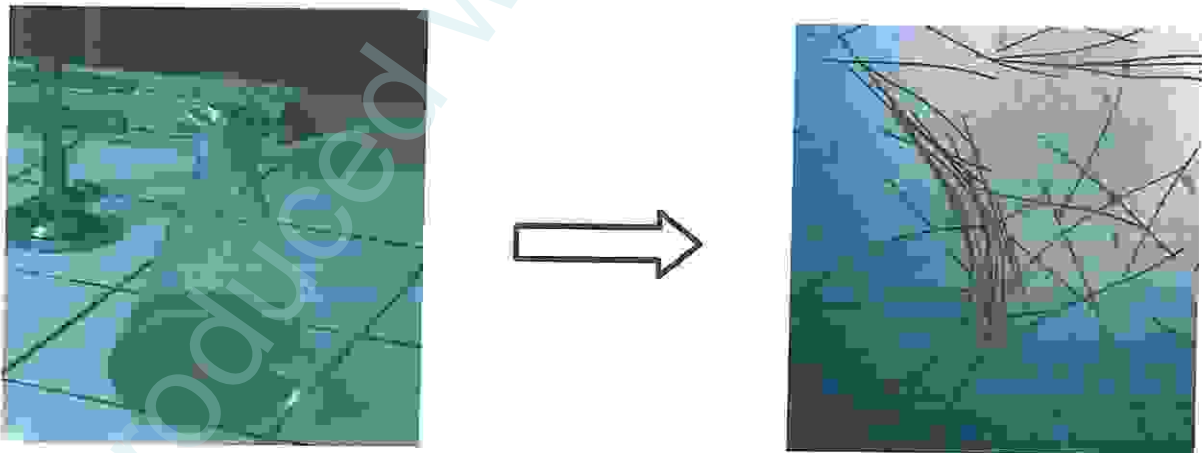


Figure 42 : Observation microscopique d'un état frais de cyanobactériesensemencée sur milieu BG 11 liquide, Gr : x 10 (Mars 2012).

3. Essai toxicologique

Après avoir identifié, cultivé les cyanobactéries (*Planktothrix*) sur milieu G11 liquide, un dénombrement cellulaire sur la cellule de Nageotte a été fait afin d'aboutir les doses sélectionnées pour voir l'effet toxique ou non de la souche récoltée sur les souris élevées.

3.1 Action sur la croissance corporelle

Nos résultats montrent une baisse du gain du poids corporel chez les lots traités par les 2 doses cellulaires de cyanobactéries testées par rapport au groupe témoin, cette perte est aussi significative pour la dose 1 (50 000 cellule/ml) en comparaison avec la deuxième (200 000 cell/ml) (tab. 10 et fig.43).

Tableau 10 : Résultats du Gain de poids corporel (g).

	Témoin	Dose 1	Dose 2
Gain de poids	+3.2	-2.61	-1.69

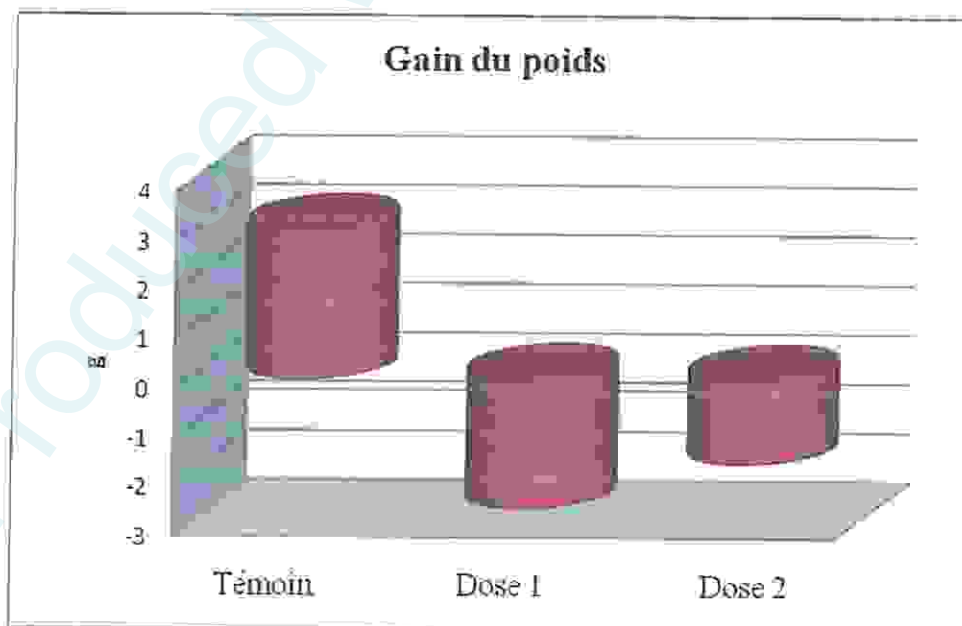


Figure 43 : Le gain du poids corporel des souris témoins et traitées par les différentes doses de cyanobactéries.

Les résultats de notre expérimentation suggèrent que l'administration des cellules du *Planktothrix* genre producteur de microcystines (les plus étudiées, car elles sont les plus toxiques et responsables de la plupart des incidents toxiques recensés (F.Nakache 2001)). Connus pour son effet stressant, fait diminuer la croissance corporelle par rapport à celle des témoins.

D'après Gérard (2005), l'exposition aux cyanobactéries ainsi qu'à leurs toxines et particulièrement l'hépatotoxine MC-LR de certaines espèces de gastéropodes a un impact sur les traits de vie (survie, croissance et fécondité).

La baisse du poids corporelle ne peut être expliquée que par l'augmentation de la dégradation des lipides et des protéines cellulaires. Des résultats similaires (Klibet, 2009 ; Khiari, 2009) sur l'effet des agents de stress (pesticides, métaux, ... montrent la diminution significative du gain du poids corporel des rats traités par l'arsenic et le Nickel respectivement.

3.2. Étude des paramètres biochimiques

- L'urée et la créatinine

Ces deux paramètres sont considérés comme des marqueurs significatifs du fonctionnement rénal, les résultats relatifs sont représentés dans le tableau 11 et les figure 44 et 45 (urée, créatinine respectivement).

Tableau 11: Résultats des concentrations des paramètres rénales des souris témoins et traitées par des cellules de cyanobactéries (mg/dl).

	Témoin	Dose 1	Dose 2
Urée	15.5	38.5	44
Créatinine	1.05	1.5	1.2

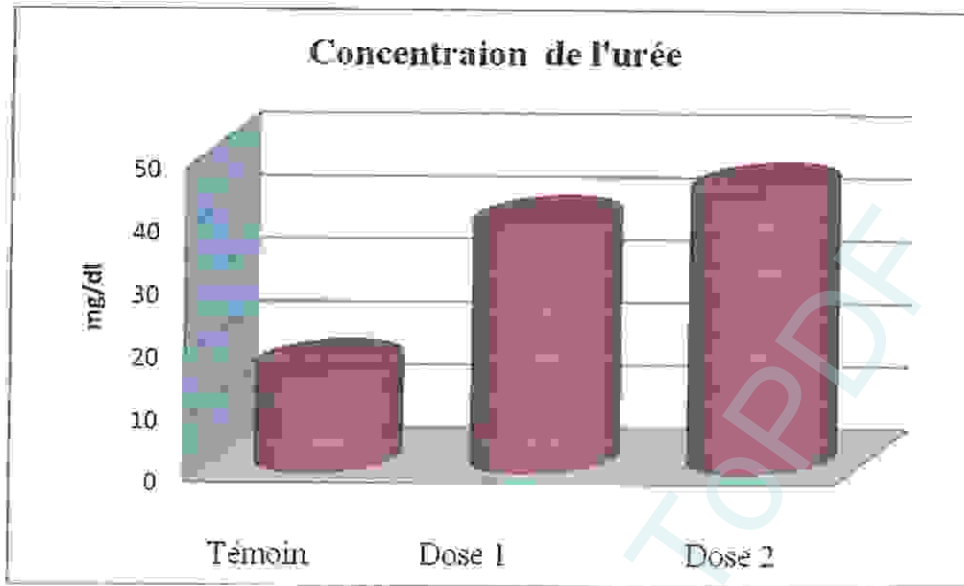


Figure 44 : Variation des concentrations de l'urée des souris témoins et traitées par différentes doses cellulaires de cyanobactéries

Nos résultats montrent une augmentation considérable des concentrations de l'urée et la créatinine dans le plasma des souris traitées par les deux doses cellulaires de cyanobactéries en comparaison avec le groupe témoin (fig.44 et 45).

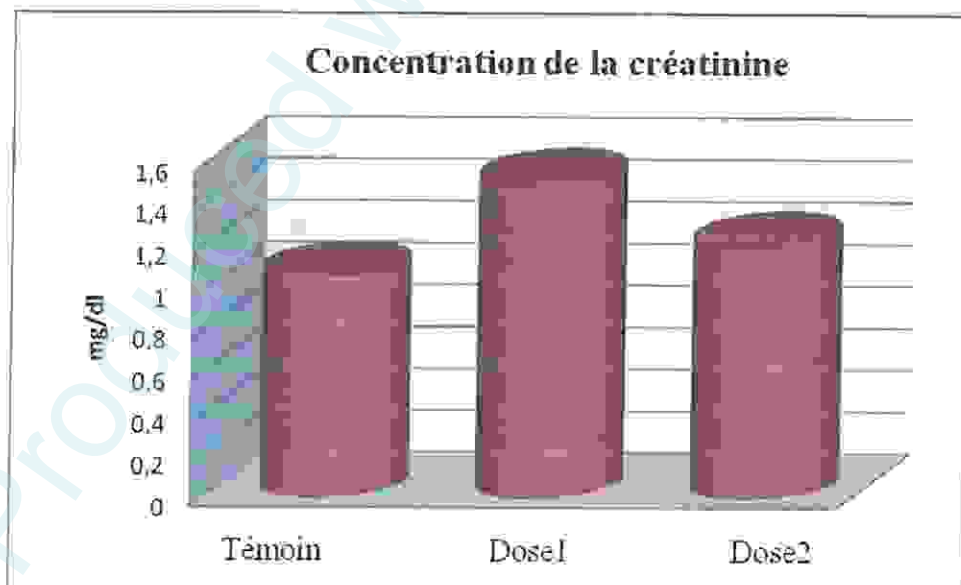


Figure 45 : Variation des concentrations de la créatinine des souris témoins et traitées par différentes doses cellulaires de cyanobactéries.

L'augmentation des taux sériques en l'urée et créatinine chez les souris traitées est considérée comme un bio-marqueur de dysfonctionnement rénale et les dommages rénaux provoqués par la toxine associée au genre *Planktothrix*.

L'urée et la créatinine ce sont des paramètres essentiels pour évaluer la fonction rénale et la filtration glomérulaire (Finco, 1997). De plus, l'augmentation de l'urée et créatinine dans le sérum est corrélée avec l'augmentation du catabolisme protéique, les protéines peuvent être dégradées en acides aminés puis en urée et créatinine (L'urée est le produit final de dégradation des protéines). Donc l'augmentation de l'urée et de la créatinine chez les souris traitées par les cellules de cyanobactéries est due à l'effet néphrotoxique même résultat confirmé par Rosario (2005) suite au traitement des souris par des souches de cyanobactéries marines. Nos résultats sont corroborés avec ceux de Smaoui et al., 2000; Stengel, 1996; Bouhalit, 2009; Klibet, 2009 qui ont observé que l'intoxication par de nombreux xénobiotiques induit une néphropathie et conduit à une insuffisance rénale.

-Activité enzymatique

Les résultats des paramètres enzymatiques (TGO/ TGP) sont représentés dans le tableau 12 et les figures 46 et 47.

Tableau 12 : Résultats des paramètres enzymatiques des souris témoins et traitées par des cellules de cyanobactéries (U/I).

	Témoin	Dose 1	Dose 2
TGO	171.2	391	333
TGP	31.9	49	76.5

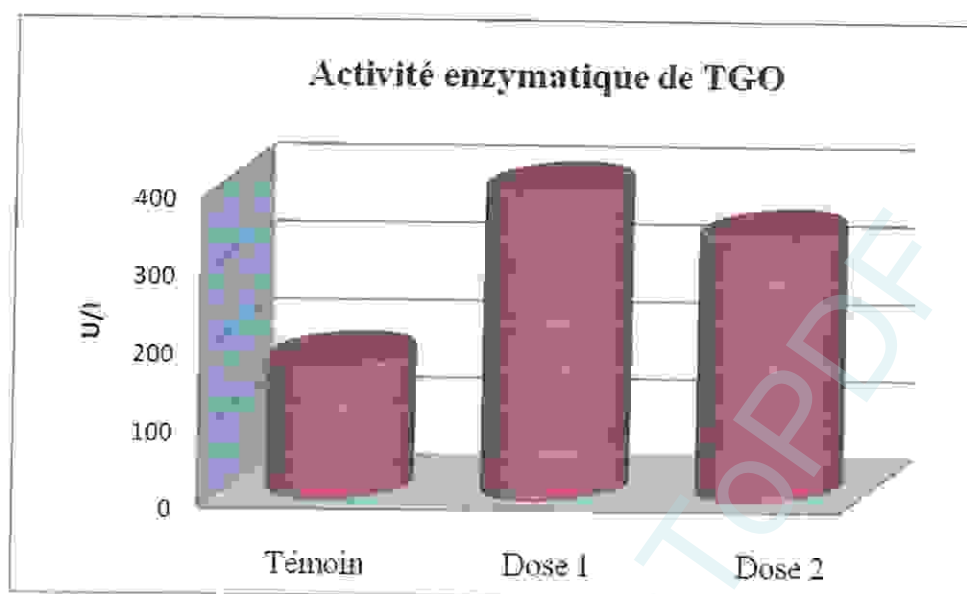


Figure 46: Variation de l'activité enzymatique TGO des souris témoins et traitées par des cellules de cyanobactéries.

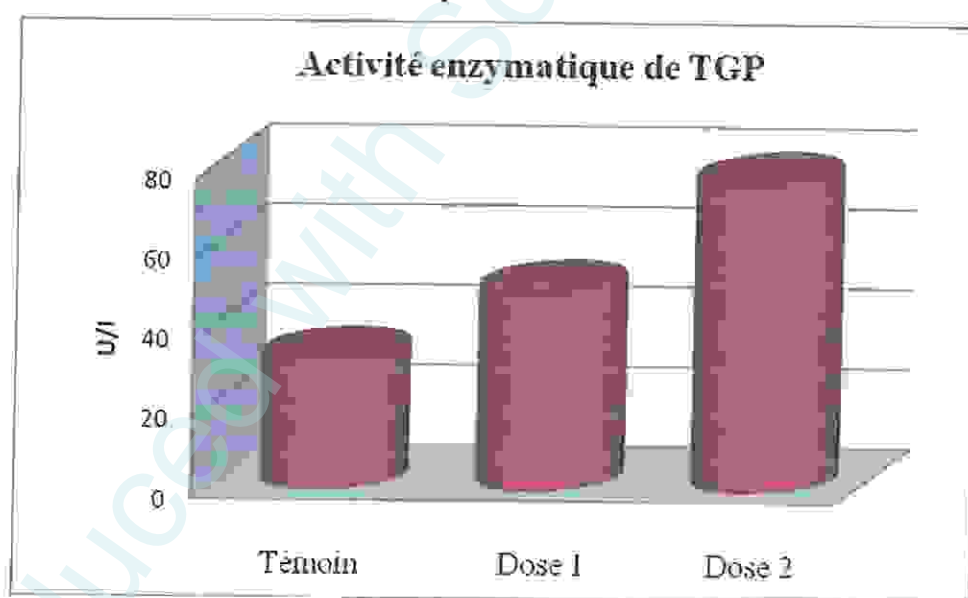


Figure 47 : Variation de l'activité enzymatique TGP des souris témoins et traitées par des cellules de cyanobactéries

Les résultats obtenus pour l'ensemble des 2 paramètres en enzymatiques mesurés (TGO/TGP) montre une augmentation de l'activité de ces enzymes chez les souris traitées par les doses de 50 000 et 200 000 cellules de cyanobactéries par rapport aux souris témoins ne recevant que de l'eau physiologique.

Les transaminases sont des bio marqueurs de la fonction hépatique (Klaassen et Watkin, 1984; Ronald et Koretz, 1992) et d'après nos résultats l'augmentation de l'activité enzymatique des transaminases (TGO, TGP) chez les souris traitées est liée à l'effet hépatotoxique du genre *Planktothrix* donc les toxines de ce dernier entraînent une lésion des hépatocytes qui déversent leur contenu dans le sang.

L'altération des cellules hépatiques et la libération de ces enzymes suite aux tests de différentes doses de toxines cyanobactériennes a été démontré par Rosario (2005), Tencalla *et al.*, 1994.

• Glutathion hépatique (GSH)

Les résultats du glutathion hépatique sont représentés dans le tableau 13 et la figure 48.

Tableau 13: Résultats du glutathion hépatique des souris témoins et traitées par des cellules de cyanobactéries (nmol/mg prot).

	Témoin	Dose 1	Dose 2
Glutathion hépatique	200	60	132

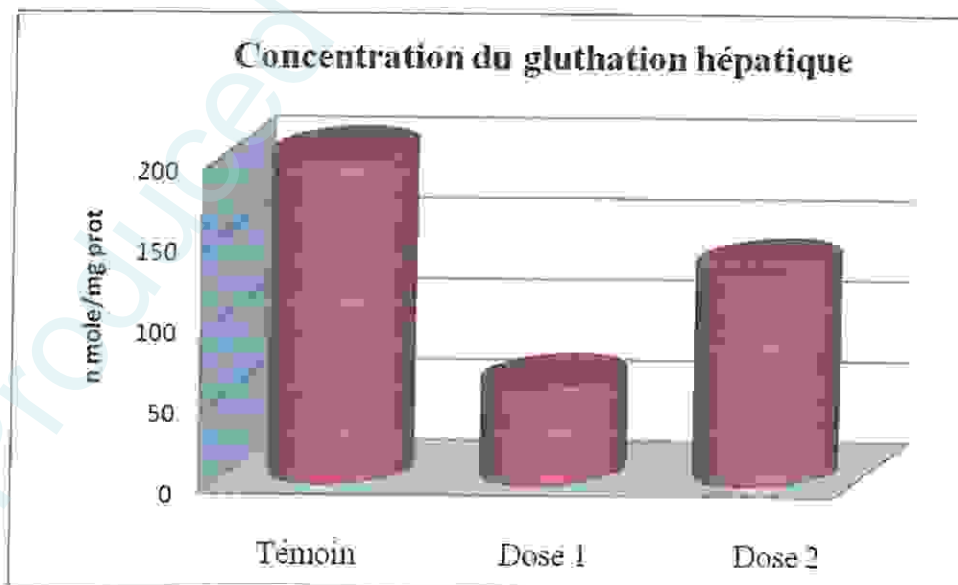


Figure 48: Variation de La glutathion hépatique des souris témoins et traitées par des cellules de cyanobactéries

Le traitement des souris par les différentes doses de cyanobactéries entraîne une diminution de la teneur cellulaire en glutathion dans le foie en comparaison avec celle des souris témoins.

Par définition, le glutathion ou γ -glutamyl-cystéinyl-glycine, le plus abondant thiol libre non protéique dans les cellules, constitue un acteur essentiel de la défense antioxydante dans la lutte contre le stress oxydant.

La liaison γ -glutamyl ainsi que la fonction thiol du GSH lui confèrent un grand nombre de fonctions : le transport des acides aminés, la synthèse des œstrogènes, des prostaglandines, et des leucotriènes, la détoxification des métaux lourds et autres xénobiotiques (microcystines) par action directe ou indirecte. La forme réduite (GSH) rentre dans la détoxification en réagissant avec le (H_2O_2), ($ROOH$), et le radical hydroxyle ($\cdot OH$) grâce à son pouvoir réducteur (Griffith et Mulcahy, 1999).

De nombreuses études montrent que les microcystines induisent aussi un stress oxydatif à l'intérieur des cellules (Ding, 1998 et 2001) entraînant par conséquent :

- une diminution du glutathion réduit dans la cellule,
- une peroxydation des lipides
- des cassures de l'ADN Bouaicha *et al.*, 2004 ; Yin *et al.*, 2005 et Zegura, 2004

Ce phénomène a été observé chez les poissons et les rongeurs (Guehriger *et al.*, 2004 ; Moreno *et al.*, 2005) et son intensité varie en fonction de la dose mais aussi de la nature de la Microcystine. Malbrouk *et al.*, 2004 confirment le changement significatif des niveaux de GSH dans le foie des poissons traitées avec différentes doses de microcystines.

De même Montagnolli *et al.*, 2004 montrent que l'exposition des crustacées à des microcystines hépatotoxiques entraîne l'altération du niveau du glycogène suite à l'inhibition des phosphatases alcalines.

***CONCLUSION ET
PERSPECTIVES***

Produced with ScanTOPDF

Conclusion

La prolifération massive des cyanobactéries qualifiée d'efflorescence ou de bloom, favorisées par l'eutrophisation des eaux, posent divers problèmes : obstruction des dispositifs de filtration, coloration et quelque fois une dystrophisation des eaux ou une anoxie, de plus de l'élaboration de métabolites secondaires donnant un mauvais goût à l'eau (géosmine, 2-méthylisobornéol, p-cyclocitral.) (Lance, 2005).

Un des problèmes qui attire particulièrement l'attention envers ces micro-organismes est leur capacité à produire des biotoxines à multiple effet selon l'organe cible (neurotoxines, hépatotoxines et des dermatotoxines) dont une quarantaine d'espèce sont connues comme étant potentiellement toxique pouvant affecter mortellement divers animaux et l'homme.

D'après nos résultats tirés suite à l'étude des cyanobactéries peuplant le barrage Bouhamdane wilaya de Guelma on peut conclure :

La présence d'un seul genre filamenteux qui est le *Planktothrix* tout en se basant sur les clés proposées par Komarek et komarkova (2004), ce dernier est considéré comme potentiellement hépatotoxique sécrétant des toxines de type microcystine affectant essentiellement le foie, et également responsable de l'apparition d'un stress à l'intérieur des cellules.

La culture des cyanobactéries récoltées a montré une adaptation aux conditions du laboratoire (BG11 liquide et sous une lumière continue).

L'étude de la toxicité ou pas de nos micro-organismes testés sur des souris révèle l'effet toxique du genre cultivé traduit par des perturbations de paramètres de croissance (diminution du gain du poids corporel des souris) et biochimiques (augmentation de l'urée et la créatinine signe de dysfonction rénale, accompagné d'une même évolution pour ce qui concerne le TGO et le TGP indice d'altération hépatique, en plus de la diminution de l'activité du glutathion hépatique paramètre reflétant le stress oxydatif des cellules).

La dose cellulaire de la dose de 50 000 cellules est plus toxique que la dose de 200 000 cellules résultat dépendant de la toxicité de la souche elle-même au sein d'une population.

Perspectives

À la lumière des résultats obtenus nous recommandons :

- ✓ Faire des tests toxicologiques sur un nombre élevé de souris.
- ✓ Prolonger la durée du traitement.
- ✓ Doser plusieurs paramètres reflétant le stress oxydatif.
- ✓ Doser les toxines des souches cultivées avant le test souris.
- ✓ Compléter le travail toxicologique par une étude histologique.
- ✓ Travailler avec des lyophilisats des souches toxiques cultivées au laboratoire.
- ✓ Faire des tests toxicologiques sur d'autres modèles (poissons, bivalves).

Produced with ScanTopDF

***Références
Bibliographiques***

Produced with ScantOPDF

Références bibliographiques

- **Aberkane M. ,Harkat R. ,Mekhalfi M. ,2011.**Evaluation de la qualité Physico-Chimique et Bactériologique des eaux d'un système lacustre cas de Garaet Hadj Tahar (Skikda). *Mémoire de Master en Santé, Eau et Environnement .Université 8 Mai 45 Guelma ,88p.*
- **Afssa/ Afsset, 2006, Agence française de sécurité sanitaire des aliments /de l'environnement et du travail, Yves Levi, Mathilde Harvey, Paulina Cervantès.** Rapport sur l'évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et de leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives,194p.
- **Agence Algérienne des bassins versants ,1999.**Le cahier de l'agence : bassin hydrologique constantinois –Seybousse –Mellduge .Le bassin du kebir Rhumel n°2C,pp :33.
- **Agence Nationale des Barrages « ANB »,Barrage de Hammam Debagh.**Document dactylographié ,18p .
- **Bertrand E. .2005.**Est il possible d'améliorer le processus d'anticipation des risques sanitaires potentiellement induits par les cyanobactéries pour des plans d'eau douce à usage récréatif cas du morbihan . *Mémoire de Fin d'études Ecole Nationale de la Santé Publique Ingénieur du Génie Sanitaire , Université de Rennes1,79p.*
- **Bouhalit S. ,2009.** Etude de l'effet du zinc sur la toxicité du nickel chez des rats albinowistar (aspect biochimiquehématologique et histologique). *Mémoire de magister biochimie appliqué, universitebadjimokhtar-annaba ,151p.*
- **Bourrelly P., 1985 .** Les algues d'eau douce. *Initiation à la systématique. Tome III : Les algues bleues et rouges. Eugléniens, Péridiniens et cryptomonadines. Société. NouvellesEditionsBoubée, 607pp.*
- **Boussadia M. I. ,2008.**Les cyanobactéries peuplant les lacs Tonga et Oubeira « Parc National d' El Kala » . *Inventaire et distribution spatio-temporelle .Mémoire de magistère en microbiologie appliquée ,Université d'annaba ,105p.*

- Briand J.-F., Jacquet S., Bernard C., Humbert J.F., (2003). Health hazards for terrestrial vertebrates from toxic cyanobacteria in surface water ecosystems. *Vet. Res.* 34, 361-377.
- Briand E., 2008. Contribution à la compréhension du déterminisme de la mise en place et de la prolifération de cyanobactéries et de leur production de toxines. Thèse de Doctorat, Université de Rennes I, 299p.
- Briant L., Chantal V., Georges B., 2001. Evaluation des efflorescences à cyanobactéries dans des eaux de cours d'eau et plans d'eau bretons. Rapport réalisé pour la DIREN Bretagne, Université de Rennes I, 82p.
- Chorus I., Bartram J., 1999. Toxic cyanobacteria in water, ed. Springer, London
- Chaouch R., Moumed S., Mebarki F., 2009. Suivi de quelques paramètres physicochimiques et bactériologiques dans les eaux du barrage et de l'Oued de Bouhamdane. Mémoire d'Ingénieur d'état en biologie, Université de 8 Mai 45 Gulema, 56p.
- Couté A., Bernard C., 2001. Les cyanobactéries toxiques. Toxines d'algues dans l'alimentation. Paris, ifremer, 37p.
- Ding W. X., Shen H. M., Zhu H. G., Ong C. N., 1998. Studies on oxidative damage induced by cyanobacteria extract in primary cultured rat hepatocytes. *environ res.* 78p
- Ding W. X., Shen H. M., Ong C. N., 2001. Critical role of reactive oxygen species formation in microcystin-induced cytoskeleton disruption in primary cultured hepatocytes. *Jtoxicol environ health a*, 507p.
- Finco, D.R., Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruce, M.L., 1997. Clinical biochemistry of domestic animals. Academic press, San Diego, California, 462-p.
- Françoise G. P., Evelyne B., Pascale M., Michel R. Popoff, 2007. Toxines émergentes : nouveaux risques. Ed. Lavoisier, Paris, 208p.
- Fric G., Christian, Manyan, Jacques M., 2008. Hydrologie « objet, méthodes, applications ». 2^{ème} édition, Ed. Dunod, Paris, 339p.
- Fustec E., Lefeuvre J-C et Coll, 2000. Fonctions et valeurs des zones humides, Dunod Paris, 426p.
- Griffith O., Mulcahy R., 1999. The enzymes of glutathione synthesis: gamma-glutamyl cysteine synthetase. *adv. enzymol. relat. areas. mol. biol.*
- Guellati F. Z., Khammar F., 2011. Etude des peuplements de cyanobactéries dans le barrage « Mexa » d'El-Tarf. Mémoire de Master en Microbiologie appliquée :

Agroalimentaire, Biomédicale et Environnement (MAABE) ,UniversitéBadji Mokhtar – Annaba ,66p.

- **Jacquet, Avois j ., Briand, Paolini, Leberre, Leboulanger, Anneville, Humbert ,2003.** prolifération d'une cyanobactérie toxique dans le lac du bourget en réponse à saré-oligotrophisation : un paradoxe ,27p.
- **Jean M. F. ,Patrick l .,2001.** Toxines d'algues dans l'alimentation .Ed. Ifremer ,560 p.
- **Jean P. ,1993 .**Bacterie et envirenement .Ed. Universitaires de Grenoble ,899p.
- **Jean P. ,2005 .**Biodégradations et métabolismes. Ed .ISBN@EDP sciences,France,793p.
- **Jerom J. P.,James.T .S., Stephen L.,2004 .**Microbiologie cours et questions de révision .Ed.Dunod,Paris .
- **Kaplan,L.A et al.(1984).**Lipids.Clin .Chem.918-919.
- **Klaassen, C.D., Watkin,J .B. ,1984.** Mechanism of formation, hepatic uptake and biliary excretion .pharmacol.
- **Komarek , komárkova, 2004.** Taxonomic review of the cyanoprokaryotic genera *planktothrix* and *planktothrixcoides* taxonomic kypřehled rodů *planktothrix* a *planktothricoides* (cyanoprokaryota).18p.
- **Klibet .F., 2009.** Impact du sélénium sur le stress oxydatif induit par l'arsenic chez le rat wistar , aspects biochimique et histologique .mémoirecdc magistère biochimie appliquée en agroalimentaire et santé ,université de baji-mokhtarannaba.
- **Lance E.,2008.** Impacts des cyanobactéries toxiques sur les gasteropodes dulcicoles et sur leur rôle de vecteur dans le transfert des microcystines au sein du réseau trophique.Mémoire de doctora l'université de rennes 1,281p.
- **Lansing .M.F.,Donald .A.K.,JohnP.H. , 2007.** Microbiolog .2^{ème} édition .deboeck ,1137p.
- **Lassoued K.,Touhami N. ,2008 .**Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau dub Barrage de Hammam Debagh , Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie , Université de Guelma ,44p.
- **Maatouki., Bouaicha N., Plessis M. J., Perin E., 2004.** Detection by 32p-postlabelling of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine in dna as biomarker of microcystin-lr- and nodularin-induced dna damage in vitro in primary cultured rat hepatocytes and in vivo in rat liver. *mutat res*, 564p.

- **Madigan M., Martinko J., 2007** .Brok Biologie des microorganismes, 11^e édition, Pearson, Education France .
- **Malbrouck, C., Trausch, G., Devos, P., Kestemont, 2004**.Effect of microcystin-Lr on protein phosphatase activity and glycogen content in isolated hepatocytes of fed and fasted juvenile goldfish *carassius auratus* l. *toxicon*, 932 p.
- **Manon A., 2009**. Analyse et gestion du risque cyanobactéries / cyanotoxines dans les eaux destinées à la consommation humaine du département de la haute -vienne Mémoire d'Ingénieur du Génie Sanitaire ,90p.
- **Moreno I., Pichardo S., Jos A., Gomez A., Mate A., Vazquez C. M., Camean A. M., 2005** .Antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in liver and kidney of rats exposed to microcystin-Lr administered intraperitoneally. *toxicon*, 45p.
- **Msagati T.A., Siame B .A., Shushu D.D., 2006** . Evaluation of methods for the isolation, detection and quantification of cyanobacterialhepatotoxins, *AquatToxicol*.Epub.
- **Murray,R.L. (1984)**.Creatinine . *Clin .Chem*.418p.
- **Murray,R.L. (1984)**.Aspartateaminotransférase . *Clin .Chem*.120p.
- **Ibrahim .G, Myriam L., Othoniel C. , Philippe B., 2010**.Portrait diagnostique de la problématique des cyanobactéries – bassin versant du lac Carheil.57p.
- **Opuszynski, k., Shireman, J.V., 1995**.merbivorous fishes-culture and use for weed management.
- **Québec, Institut national de la recherche scientifique, Centre Eau, Terre et Environnement Lavoie,I., I.Laurion, A.Warren et W.F.Vincent, 2007** . Les fleurs d'eau de cyanobactéries, revue littéraire. 124p.
- **Rippka, R., Herdmannm. ,(1992)** .Pasteur culture collection of cyanobacterial strains in axenic culture, catalogue and taxonomic handbook , institutpasteur, paris., 103 pp.
- **Rodier J., Legube B., Merlet N., et coll (2009)**, L'analyse de l'eau, 9^eme édition DUNOD Paris. 1510p.
- **Ronald, I., Koretz, M. ,1992**. Chronic hepatitis: science and superstition. In: gitnick, g. current hematology. 12. mosby-year, chicago. 75p.
- **Sabart M. , 2009**. Variations spatiotemporelles dans la dynamique, la diversité génétique et le potentiel toxique de populations de *Microcystisaeruginosa*(Cyanobacteria) dans plusieurs écosystèmes aquatiques du

centre de la France . Thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Université de Savoie ,162p.

- Sarazin G., Quiblier.I C., Bertru G., Brient L., Vezie C., Bernard C., Couté a., Hennion M. C., Robillot C., Tandeau de marsac n., 2001. Première évaluation du risque toxique lié aux cyanobactéries d'eau douce en france, 326 p.
- Smaoui ,M ., Gorbel, F., Bougelben ,M., Makni-ayadi, 2000 . Impact de l'exposition chronique aux gaz d'échappement d'origine automobile sur certains biomarqueurstouchant la fonction hormonale sexuelle male, la fonction rénale et l'hémogramme chez le rat, pollut. atmos. Paris , 449 p.
- Stengel B.1996. Maladies rénales d'origine toxique professionnelle, in : encyclopédiemédico-chirurgicale, elsevier, paris.
- Unesco, 2006.L'eau,une responsabilité partagée. 2^{eme} rapport mondial des nations unies sur la mise en valeur des ressources en eau , 13-15 p.
- Weakberker ,Gand C. , (1988). Ribonucleotide reductase activity and Growth of glutathione depleted mouse leukemia L 1210 cells in vitro.Concerletters,40:275-264.
- Yin I., Huang J., Huang W., Wang G., Liu Y., 2005 . Microcystin-rr-induced accumulation of reactive oxygen species and alteration of antioxidant systems in tobacco by-2 cells. *Toxicom*, 507p
- Zagawa B., Lahti ,Ulipic M., 2004 .The role of reactive oxygen species in microcystin-rr-induced dna damage. *toxicology*, 200p.

Produced with

Webographie

- **Anonyme1:** <http://cyanobacteries.persoorange.fr/pages/Physiologie/Physiologie.htm> .consulté le 1/04/2012
- **Anonyme2:** <http://www.universalis.fr/encyclopedie/cyanobacteries-cyanophycees-algues-bleues/1-cytologie.htm>. consulté le 1/04/2012
- **Anonyme 3 :** <http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/cyano/cyanobacteries.html>. consulté le 1/04/2012
- **Anonyme 4 :** <http://www-cyanosite.bio.purdue.edu/cyanotox/cyanotox.html>. consulté le 4/04/2012
- **Anonyme 5:** http://www.envirologix.com/library/KU_Manuscript_Toxic_Algae.pdf consulté le 4/04/2012
- **Anonyme 6:** <http://garciajeanlouis9051.perso.neuf.fr/aaBXI.html>.consulté le 4/04/2012
- **Anonyme 7:** <http://www.aquaportail.definition-cyanobacterie.html> .consulté le 15/04/2012
- **Anonyme 8:** <http://www.doh.wa.gov/ehp/algae/faqs.htm> . consulté le 15/04/2012
- **Anonyme 9:** http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality/toxcyan3.pdf consulté le 17/04/2012.
- **Anonyme 10:** http://www.envirologix.com/library/KU_Manuscript_Toxic_Algae.pdf consulté le 27/04/2012
- **Anonyme 11 :** <http://www.sciamedigital.com/index.cfm?fa=Products.htm>. consulté le 27/04/2012
- **Anonyme 12:** <http://www.fwr.org/cyanotox.pdf>. consulté le 5/05/2012
- **Anonyme 13:** <http://blog.nutrilifeshop.com/glutathion-reduit-gsh.htm>. consulté le 5/05/2012
- **Anonyme14:** <http://archimede.bibl.ulaval.ca/archimede/fichiers/22808/ch08.html> consulté le 6/05/2012
- **Anonyme 15 :** <http://www.actions-traitements.org/spip.php?mot656>. consulté le 6/05/2012

- **Anonyme16:** <http://www.nutritionconcept.com/antioxydants-et-vieillessement/331-glutathion-r-glutathion-reduit-60-gelules-vegetales.html>. consulté le 6/05/2012
- **Anonyme17 :** <http://www.microtrace.eu/fr/la-diagnostique/genetique/enzymes-de-phase2/glutathion-transfereuse-nat2>. consulté le 10/05/2012
- **Anonyme 18:** <http://www.plantapalm.com/vce/biology/corraloid.htm>. consulté le 10/05/2012
- **Anonyme 19:** <http://www.fwr.org/cyanotox.pdf>. consulté le 10/05/2012
- **Anonyme20 :** http://membres.multimania.fr/boudyachhassan/Site_microbiologie/les_grands_groupes_des_bact%EA99ies.htm. consulté le 12/05/2012
- **Anonyme 21:** www.pierre-armand-roger.fr/Procaryotes/aaBXI.html. consulté le 12/05/2012
- **Anonyme 22 :** www.reflexions.ulg.ac.be/cms/c_27953/des-cyanobacteries-decouvertes-pres-du-pole-sud?portal=j_55&printView=true. consulté le 13/05/2012
- **Anonyme23:** <http://www.planet-terre.enslyon.fr/XML/planetterre/metadata/LOM-stromatolithes.xml>. consulté le 13/05/2012
- **Anonyme 24:** bouhoce.skyrock.com/491057895-cyanobacteries.html. consulté le 14/05/2012
- **Anonyme25:** <http://www.shigen.nig.ac.jp/algae/imageListQueryAction.do;jsessionid=2DC07B710FD8C097C14718106FBB4348.fh1?photoType=1&className=Cyanophyceae>. consulté le 14/05/2012
- **Anonyme 26:** http://www.itameriportaali.fi/en/galleria/galleriakuvat/en_GB/algae/ consulté le 14/05/2012

Produced with ScanTopdf

1. Le milieu de la culture BG11

- **Composition pour 1 litre d'eau distillée :**

○ Nitrate de sodium (Na NO_3).....	1,5g
○ Monohydrogénophosphate de potassium (K_2HPO_4).....	31 mg
○ Sulfate de magnésium heptahydraté($\text{Mg SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$).....	75mg
○ Chlorure de calcium dihydraté($\text{Ca Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).....	36 mg
○ Acide citrique monohydraté.....	7 mg
○ EDTA disodique.....	1mg
○ Carbonate de sodium(Na_2CO_3).....	20 mg
○ Citrate de fer ammoniacal.....	6 mg
○ Yajouter 1ml de mélange « métaux »	

- ✓ **Solution de sels métalliques** (pour 250 ml d'eau distillée)

H_3BO_4 715 mg

$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 452 mg

$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 26 mg

$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 97 mg

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 20 mg

$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 12.5 mg

- ✓ pH (7.1) après stérilisation à 130°C pendant 20 minutes.

Résumé

Notre étude porte sur l'identification et la culture des cyanobactéries récoltées des eaux du barrage Bouhamdane (Guelma), ainsi que l'évaluation de leur pouvoir toxique sur un modèle animal (souris) provenant de l'institut Pasteur d'Alger.

L'observation des caractères morpho-anatomiques des cyanobactéries récoltées dans le barrage Bouhamdane nous a permis d'identifier 1 seul genre, appartenant au groupe des *Oscillatoriales*, reconnu par son potentiel toxique: *Planktothrix* en se basant sur les critères proposés par Komarek et Komarkova (2004).

L'étude de l'effet toxique ou non de deux doses cellulaire de cyanobactéries (*Planktothrix*) testées sur des souris montre que la dose de 50 000 cellules est plus toxique que la dose de 200 000 cellules résultat dépendant de la toxicité de la souche elle-même au sein d'une population.

L'étude de l'effet du genre *Planktothrix* sur la croissance des souris montre une diminution du gain du poids des souris traitées par rapport aux souris témoins, en ce qui concerne les paramètres biochimiques, on note une augmentation de l'urée et la créatinine indice de dysfonctionnement rénal, même évolution pour les paramètres hépatiques (TGO, TGP), en ce qui concerne le glutathion, la concentration cellulaire est abaissée chez les souris traitées en comparaison avec celle des témoins en réponse au stress exercé par la toxine associée au genre *Planktothrix*.

Mots clés : Cyanobactéries ; *Planktothrix* ; Barrage ; bio-essai ; potentiellement toxique ; stress oxydatif.

Abstract

Our study focuses on the identification and cultivation of cyanobacteria collected water from the dam Bouhamdane (Guelma), and the assessment of their potential toxicity in an animal model (mouse) from the Pasteur Institute of Algiers.

The observation of morpho-anatomical cyanobacteria collected in the dam Bouhamdane we identified a single genus, belonging to the group *Oscillatoriales*, recognized by its toxic potential: *Planktothrix* based on the criteria proposed by Komarek and Komarkova (2004).

The study of the toxic effect of two doses or not cellular cyanobacteria (*Planktothrix*) tested on mice shows that the dose of 50000 cells is more toxic than dose of 200000 cells results depending on the toxicity of the strain it even within a population.

The study of the effect of gender on the growth of *Planktothrix* mice showed decreased weight gain of treated mice compared to control mice, with respect to biochemical parameters, there is an increase of urea and creatinine index of renal dysfunction, even changes for liver function tests (GOT, GPT), with respect to glutathione, the cell concentration is lowered in the treated mice compared with that of controls in response to stress exerted by the toxin associated to the genus *Planktothrix*.

Keywords: cyanobacteria ; *Planktothrix* ; dam ; bioassay ; potentially toxic ; oxidative stress

Produced with Scantopdf

المخلص

تتركز دراستنا على تحديد و زراعة البكتيريا الزرقاء التي تم جمعها من مياه سد بوهمدان ،قائمة و تقييم احتمال سمييتها في نموذج حيواني (الفران) من معهد ياستور الجزائر

ملاحظة الخصائص المورفولوجية لشريحة البكتيريا الزرقاء المتحصل عليها في سد" بوهمدان " مكنتنا من التعرف على نوع واحد فقط : *Planktothrix* الذي ينتمي إلى تحت المجموعة *Oscillatoriales* ، حيث يعد من اشد البكتيريا السامة .

لأجل دراسة تأثير سم هذا الاخير قمنا بحقن مجموعتين من الفران بجرعتين مختلفتين من خلايا 50000- خلية 200000

من خلال النتائج تبينا لنا ان جرعة 50000 خلية أكثر سمية من جرعة 200000 خلية على نمو الفران إذ ان هناك

انخفاض في الوزن بالنسبة للفران المعالجة مقارنة بالفران الشاهدة ، في ما يتعلق بالموشرات البيوكيميائية هناك زيادة في نسبة

البولة و الكرياتينين وهذا دليل على ضعف الكلى . هنالك أيضا تغير ملحوظ في اختبارات وظائف الكبد و انخفاض في تركيز

الجلوتاتيون داخل خلية الفران المعالجة مقارنة بالفران الشاهدة استجابة للتوتر الناتج عن سم *Planktothrix*

الكلمات الاستدلالية: البكتيريا الزرقاء، *Planktothrix* ، السد ، التجارب الحيوية، شدة السم ،التوتر المؤكسد