

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 DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



590.238

M. / 507

Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Microbiologie Générale Santé, eaux et Environnement

Thème

**Etude des peuplements des cyanobactéries au niveau des
eaux du barrage Mexa -EL TARAF-**

Présenté par :

HAMLAOUI MERIEM

RASSOUL ZINEB



Devant le jury composé de :

Président : Melle. **HAMDI KEN.S.** (M.A.)

Examinateur : Melle. **AAMRLS.** (M.A.)

Promoteur : Melle. **BOUSSAADIA.I.M** (M.A.)

CO promoteur : Mdm. **IBN CHERIFA.H** (M.A.)

UNIV.GUELMA

UNIV.GUELMA

UNIV.GUELMA

UNIV.GUELMA

Juin 2011

REMERCIEMENTS

Produced with ScanTOPDF

Remerciements

Louange à Dieu, Tout - Puissant, l'Omnipotent. On remercie notre Seigneur Allah qui nous a données la foi et la science pour aboutir un jour à la sagesse suivie de la félicité éternelle- Amen !

Avant d'exposer ce travail, on tient à exprimer nos vifs remerciements à Melle HAMDI KEN M. MA à l'université de GUELMA, pour l'honneur qu'elle nous a fait en président le jury.

On doit exprimer toute notre gratitude à Melle BOUSSADIA L.M. M.A, à l'université de GUELMA ; sous la direction de laquelle ce travail a été réalisé. pour ses nombreux conseils forts utiles, ses entretiens enrichissants, ses encouragements, sa confiance, sa disponibilité constante et son affabilité.

On tient également à remercier Mme BENCHRIF.H. M. A à l'université de GUELMA, qui nous a aidées dans la mise en forme de ce mémoire.

On remercie aussi Melle AMRI S, M.A à l'université de GUELMA, qui a bien voulu accepter d'examiner afin de juger notre travail.

On remercie le Professeur BENSOUILAH.M, directeur du laboratoire d'Ecobiologie des Milieux Marins et Littoraux à l'université de BADJI MOUKHTAR ANNABA, pour son accueil chaleureux au sein de son laboratoire.

Et finalement on tient à remercier Mesdemoiselles GUELLATI FATMA et KHAMAR FAIZA, étudiantes en 2^{ème} année Master MB à l'université de BADJI MOUKHTAR ANNABA ; pour leurs esprit d'équipe tout au long de notre recherche ; Qu'elles en soient vivement et chaleureusement remerciées du fond du cœur.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes parents que j'adore ; qui m'ont donné le courage et la volonté pour terminer mes études.

A mes frères et sœurs que j'aime beaucoup.

A mes grand-parents mama rachida et papa farouk source de tendresse et de bonté.

A mon mari que j'ai toujours respecté et à qui je dois beaucoup.

A ma très chère amie intime Meryem.

Enfin à l'ensemble de ma famille, mes amis et autres camarades que je ne pourrais tous citer et qui comprendront certainement et saisiront la portée de cette pensée.

Zineb

Dédicace

Je dédie ce travail a :

Mes parents qui se sont sacrifiés pour moi et m'ont donné le courage et mon ambition pour terminer mes études.

A mes frères et sœurs à qui je souhaite un bon avenir intellectuel.

A ma très chère amie zineb à qui je souhaite une bonne réussite et continuation

A tous ceux qui m'ont aidé de près et de loin

A tous mes amis de la promotion 2011

Meryem

SOMMAIRE

Produced With ScantOPDF

Sommaire

Table des Matières

Listes des Figures

Liste des Tableaux

Introduction	i
Chapitre 1 : Synthèse bibliographique	
1. Généralité.....	3
2. Diversité morphologiques	3
3. Cytologie.....	4
3.1 Inclusion	5
3.2 Les cellules particulières.....	6
4. Physiologie des cyanobactéries	7
5. Ecologie et distribution des cyanobactéries	8
6. Paramètres de croissance des cyanobactéries.....	9
7. Classification générale.....	10
8. Les toxines de cyanobactéries.....	12
8.1 Les neurotoxines.....	14
8.2 Les hépatotoxines.....	15
8.3 Les endotoxines.....	17
9. Impacts des cyanobactéries.....	18
9.1 Impact sur la santé humaine.....	19
10. Elimination des cyanobactéries et de leurs toxines.....	21
10.1- Traitement chimique.....	22
10.2. Traitement physique.....	23

10.3. Traitement biologique.....	24
----------------------------------	----

Chapitre II : Matériel et Méthode

1. Description du site d'étude.....	26
2. Stations de prélèvement.....	27
3. Stratégie d'échantillonnage.....	29
3.1 Sur terrain.....	29
3.2 Au laboratoire.....	31
4. physico-chimie de l'eau.....	31
4.1. Dosage des sels nutritifs.....	32
4.1.1. Dosage de l'azote nitreux (les nitrites NO_2^-).....	32
4.1.2. Dosage de l'azote nitrique (les nitrates NO_3^-).....	33
4.1.3. Dosage de l'azote ammoniacal total ($\text{N-NH}_3 + \text{N-NH}_4^+$).....	34
4.1.4. Dosage des Ortho phosphates (PO_4^{3-}).....	34
4.2. Dosage de la Chlorophylle a dans l'eau.....	35
4.3. Dosage de la matière en suspension (MES).....	37
4. Etude des cyanobactéries du barrage Mexa.....	37
5.1. Dénombrement.....	37
5.2. Identification.....	38
5.3. isolement et culture des Cyanobactéries.....	39
A) Examen macroscopique.....	39
B) Examen microscopique.....	39

Chapitre III : Résultats et Discussion

1. Résultats et discussion des caractéristiques de l'eau du barrage Mexa.....	40
1.1. Paramètres physico-chimiques.....	40

1.1.1. La température	40
1.1.2. L'oxygène dissous.....	40
1.1.3. Le Ph.....	41
1.1.4. Les nitrates (NO ₃ ⁻)	42
1.1.5. Les nitrites (NO ₂ ⁻)	42
1.1.6. Les orthophosphates (PO ₄ ³⁻)	43
1.1.7. Azote ammoniacal (NH ₄ ⁺)	44
1.1.8. Les matières en suspension (MES)	44
1.1.9. La chlorophylle α (chl a).....	45
2. Etude des cyanobactéries du barrage Mexa	46
2.1. Etude qualitative des cyanobactéries.....	47
2.2. Etude quantitative des cyanobactéries.....	49
2.2.1. Distribution spatiale.....	50
2.2.2. Distribution spatio-temporelle du genre <i>Microcystis</i>	50
2.2.3. Densité moyenne des différentes espèces du genre <i>Microcystis</i> déterminées.....	51
2.2.4. Distribution spatio - temporelle des différentes espèces du genre <i>Microcystis</i>	52
3. Culture des cyanobactéries.....	53
3.1. Examen macroscopique et microscopique	54
3.2. Examen microscopique	55

Conclusion et Perspectives

Perspectives

Références Bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des Figures

Titre de la figure	Page
<u>Figure 1</u> : la structure cellulaire d'une Cyanobactérie (www.futura-sciences.com)	04
<u>Figure 2</u> : Trichome de cyanobactérie H :hétérocystes, A :akineté (Afssa et l'Afset, 2006).	06
<u>Figure 3</u> : la fixation d'azote chez les cyanobacteries(www.futura-sciences.com)	08
<u>Figure 4</u> : Structure des anatoxines : (A) Anatoxine-a, (B) Homoanatoxine-a et (C) Anatoxine-a(s) (Briand, 2008).	14
<u>Figure 5</u> : Structure générale des saxitoxines(R=substituants) (Briand, 2008).	15
<u>Figure 6</u> : Structure générale des microcystines (Afssa et Afset, 2006).	16
<u>Figure 7</u> : structure chimique de la nodularine(Afssat et Afset 2006)	16
<u>Figure 8</u> : Photo satellite du barrage Mexa (Google map, 2011).	27
<u>Figure 9</u> : Localisation des trois stations de prélèvement (Google map, 2011).	28
<u>Figure 10</u> : Photographie du filet à plancton.	30
<u>Figure 11</u> : Photographie du dispositif de filtration sous vide.	31
<u>Figure 12</u> : Photographie du multi paramètre.	32
<u>Figure 13</u> : Variations de la température de l'eau dans les 3 stations (Barrage Mexa : Avril-Mai 2011).	40
<u>Figure 14</u> : Variations des teneurs en oxygène dissous de l'eau dans les 3 stations (Barrage Mexa : Avril-Mai 2011).	41
<u>Figure 15</u> : Variations du pH de l'eau dans les 4 stations (Barrage Mexa : Avril-Mai 2011).	41
<u>Figure 16</u> : Variations des tenours en nitrates de l'eau dans les 3 stations (Barrage Mexa : Avril-Mai 2011).	42
<u>Figure 17</u> : Variations des teneurs en nitrites de l'eau dans les 3 stations (Barrage Mexa : Avril-Mai 2011).	42
<u>Figure 18</u> : Variation des teneurs en orthophosphates de l'eau dans les 3 stations (barrage Mexa : Avril-Mai 2011)	43

Figure 19 : Variations des teneurs en azote ammoniacal de l'eau dans les 3 stations (Barrage Mexa : Avril-Mai 2011).	44
Figure 20 : Variations des teneurs en matière en suspension dans l'eau des 3 stations (Barrage Mexa : Avril-Mai 2011).	44
Figure 21 : Variation de la teneur moyenne en chlorophylle a dans les 3 stations (Barrage Mexa : Avril-Mai 2011).	45
Figure 22 : Colonie de <i>M.aeruginosa</i> , gr : 40x (Mai 2011).	46
Figure 23 : Colonie de <i>M.aeruginosa</i> , gr : 40x (Mai 2011).	46
Figure 24 : Colonies de <i>M.botrys</i> avec présence des grains de pollen, gr : 40x (Mai 2011).	47
Figure 25 : Colonie de <i>M.botrys</i> , gr : 40x (Mai 2011).	47
Figure 26 : Cellules de <i>M.botrys</i> , gr : 100x (Mai 2011).	47
Figure 27 : Colonie de <i>M.botrys</i> , gr : 40x (Mai 2011).	47
Figure 28 : Colonie de <i>M.flos aquae</i> , gr : 40x (Mai 2011).	48
Figure 29 : Colonie de <i>M.flos aquae</i> , gr : 40x (Mai 2011).	48
Figure 30 : Colonie de <i>M.flos aquae</i> , gr : 100x (Mai 2011).	48
Figure 31 : Distribution spatiale du genre <i>Microcystis</i> dans les eaux du barrage Mexa (Avril - Mai 2011).	50
Figure 32 : Distribution spatio- temporelle de la densité du genre <i>Microcystis</i> dans le barrage Mexa (Avril - Mai 2011).	50
Figure 33 : Densité moyenne des différentes morphoespèces du genre <i>Microcystis</i> dans le barrage Mexa (Avril - Mai 2011).	51
Figure 34 : Variation spatio - temporelle de <i>M.aeruginosa</i> dans le barrage Mexa (Avril - Mai 2011).	52
Figure 35 : Variation spatio - temporelle de <i>M.botrys</i> dans le barrage Mexa (Avril - Mai 2011).	52
Figure 36: Variation spatio - temporelle de <i>M. flos-aquae</i> identifiés dans le barrage Mexa (Avril au Mai 2011).	53
Figure 37: cyanobactéries sur milieu BG11 liquide après 15 jours d'incubation (Mai 2011)	54
Figure 38: Cyanobactéries sur milieu BG11 liquide après 15 jours d'incubation (Mai 2011)	55
Figure 39: Cyanobactéries sur milieu BG11 liquide dans des plaques multi-puits après 5 jours	55

d'incubation (Mai 2011)	
Figure 40: Colonies de cyanobactéries sur milieu BG11 solide après 28 jours d'incubation (Mai 2011)	56
Figure 41: Colonies de cyanobactéries sur milieu BG11 solide après 21 jours d'incubation (Mai 2011)	56
Figure 42: Cyanobactéries filamenteuses sur milieu BG11 solide après 21 jours (Mai 2011)	56
Figure 43: Observation microscopique d'un état frais de cyanobactéries ensemencées sur milieu BG 11 liquide (Mai 2011)	57
Figure 44: Observation microscopique des colonies vertes crémeuses (Mai 2011)	57
Figure 45: <i>Lyngbia</i> sp. observée sur milieu BG 11 solide (Mai 2011)	57
Figure 46: <i>Pseudocyanobacteria</i> sp. observée sur milieu BG 11 solide (Mai 2011)	57

Liste des Tableaux

Titre du tableau	Page
Tableau 1 : Classification des cyanobactéries selon le Manuel de Bergey (Boussadia, 2008)	11
Tableau 2 : Classification botanique des cyanobactéries (Boussadia, 2008)	11.12
Tableau 3 : Principales toxines produites par les cyanobactéries (Silvano, 2005)	13
Tableau 4: Caractéristiques techniques du barrage Mexa (ANB, 1993).	26
Tableau 5 : Caractéristiques de la morphoespèce <i>M.aeruginosa</i> .	47
Tableau 6: Caractéristiques de la morphoespèce <i>M.botrys</i> .	48
Tableau 7: Caractéristiques de la morphoespèce <i>M.flos aquae</i> .	49

INTRODUCTION

Produced with ScanTOPDF

Introduction

L'importance de la ressource « eau » a émergé devant le constat que de nombreux pays souffrent actuellement de pénuries d'eau mais, surtout, devant les prédictions pour les vingt-cinq prochaines années à savoir 49% de la population vivraient avec moins de 1700 m³ d'eau (World Resource Institut, 2000), soit une quantité d'eau inférieure au seuil établi par l'ONU pour définir une situation de pénurie d'eau (Bouchard, 2004). L'origine de cette pénurie est due à la dégradation des écosystèmes aquatiques, à l'altération de la qualité des eaux, conduisant à l'enrichissement des plans d'eau par des éléments nutritifs sous forme azotée et phosphorée qui limitent généralement la croissance des plantes et autres producteurs primaires, et par conséquent provoquant l'eutrophisation de ces plans d'eau (Kalff, 2002).

On distingue l'eutrophisation naturelle de l'eutrophisation anthropique ; en effet cette dernière relève d'un processus qui accélère de façon drastique l'évolution d'un plan d'eau vers un état eutrophe. Les diverses pressions anthropiques induisent généralement une pollution des eaux douces (rejets d'effluents industriels, l'érosion du bassin versant, les eaux usées des zones urbanisées, et l'engrais d'origine agricole) (Pitois *et al.*, 2001).

L'eutrophisation des lacs et des rivières reste un problème croissant à l'échelle mondiale ; elle affecte de plus en plus les communautés (Skulberg *et al.*, 1984 ; Smith, 2003) et génère aussi un coût environnemental important assumé par les populations locales (Pretty *et al.*, 2003).

En Algérie, plusieurs retenues de barrages et de lacs naturels évoluent rapidement vers l'eutrophisation suite à une productivité accrue stimulée continuellement par les apports de fertilisants et un changement de climat de plus en plus sec. Une conséquence particulièrement critique, est la transition dans la composition spécifique du phytoplancton vers une dominance des cyanobactéries (Dokulil et Teubner, 2000), dont leurs floraisons ou efflorescences sont de plus en plus préoccupantes (Bouaïcha, 2002).

Les problèmes liés à ces efflorescences algales sont variés, depuis l'asphyxie du milieu du à la consommation excessive d'oxygène par les microorganismes décomposeurs, en passant par des problèmes purement esthétiques dans les aires récréatives quand les efflorescences forment une écume colorée et souvent malodorante à la surface de l'eau, ou des problèmes techniques liés au colmatage des filtres des stations de pompage et de traitement pour la production d'eau potable (Kenefick *et al.*, 1993). A ces problèmes habituels s'ajoutent les productions éventuelles de toxines par ces micro-organismes dont 40 à 75 % sont susceptibles de synthétiser des variant hépatotoxiques, ainsi que des alcaloïdes neurotoxiques, dermatotoxiques ou cytotoxiques, qui ont de grands impacts économiques, écologiques et sanitaire.

La bio surveillance de ces milieux est le meilleur moyen de prévenir et de lutter contre toutes les formes d'agression et autres pollutions ; aussi, nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- ii Suivre l'évolution des paramètres physico-chimiques de l'eau du barrage Mexa ;

- Evaluer qualitativement et quantitativement les cyanobactéries peuplant ce plan d'eau :
- Suivre l'évolution spatio-temporelle de ces micro-organismes.
- Essais de culture et d'isolement des genres récoltés.

Produced with ScanTOPDF

CHAPITRE I
SYNTHESE
Bibliographiques

Produced with Scantopdf

1. Généralités

Le phytoplancton se définit comme étant l'ensemble des organismes de nature végétale qui se répartissent sur la totalité de la zone superficielle des eaux douces. Il est constitué d'algues microscopiques, de cellules isolées ou réunies en chaîne, mesurant de quelques microns (μ) à quelques centaines de microns (Bougis, 1974). Parmi les peuplements phytoplanctoniques qui sont présents dans les eaux douces, on peut citer les Cyanophycées aussi appelées algues bleu-vert (Carmichael, 1994; Chorus et Barram, 1999; Pitois *et al.*, 2000). Toutefois, cette dénomination est erronée, des analyses plus approfondies de leur ultra-structure à partir de la microscopie électronique, ont permis de démontrer qu'il s'agissait de bactéries photosynthétiques appartenant aux organismes procaryotes (Bourrelly, 1991; Carmichael, 1994; Chorus et Barram, 1999; Pitois *et al.*, 2000). D'où une dernière dénomination: les cyanoprocaryotes (cyanobactéries) (Bourrelly, 1991). En effet, ces organismes sont désignés par de nombreux noms, suivant la spécialité des chercheurs qui les étudient:

- Algues bleues ou cyanophytes ou cyanophycées pour les botanistes;
- Cyanobactéries pour les microbiologistes;

De point de vue systématique, ce sont des procaryotes placés dans le règne des Eubactéries (Woese, 1994). Leur classe comprend quelques 1500 espèces regroupées environ en 120 genres (Bourrelly, 1991). Dans un système récent, ce nombre a été réduit à 62 espèces et 24 genres (Prescott *et al.*, 1995). Duy *et al.* (2000) ont réparti les cyanobactéries en 150 genres, regroupant quelques 2000 espèces.

Les cyanobactéries constituent un groupe important et morphologiquement hétérogène de bactéries phototrophes. Elles diffèrent de manière fondamentale, à la fois des bactéries pourpres et des bactéries vertes, car ce sont des phototrophes oxygéniques et présentent une relation distante avec les Bactéries Gram positif. Ces micro-organismes sont à l'origine de la transformation de l'atmosphère de l'air anoxique à l'état oxygène (Madigan et Martinko, 2007).

2. Diversités morphologiques

La diversité morphologique des cyanobactéries est impressionnante. Il existe à la fois des formes unicellulaires et filamenteuses. A l'intérieur de chacun de ces types, une variabilité considérable est observée. Malgré tout, il est possible de diviser les cyanobactéries en 5 groupes morphologiques :

- Formes unicellulaires se divisant par scission binaire.
- Formes unicellulaires se divisant par scissions multiples (coloniales).
- Formes filamenteuses contenant des cellules différenciées (hétérocystes, akinètes).
- Formes filamenteuses sans différenciation cellulaire.
- Formes filamenteuses ramifiées.

3. Cytologie

La cellule cyanobactérienne est de type procaryotique dépourvu de noyau, de mitochondries et de plastides. Le plasma périphérique (chloroplasme) est habituellement plus pigmenté que le centroplasme et contient des pigments concentrés dans des phycobilisomes situés sur la surface de lamelles photosynthétiques (thylacoides). Le centroplasme contient le matériel génétique (molécule cyclique d'ADN) (fig.1).

La structure de la paroi des cyanobactéries est semblable à celle des Bactéries Gram négatif et contient des peptidoglycanes. De nombreuses espèces produisent d'importantes enveloppes mucilagineuses qui relient des cellules ou des filaments ensemble.

Le système de membranes photosynthétiques est souvent complexe, comprenant plusieurs couches, bien que chez certaines cyanobactéries très simples, les lamelles soient arrangées de manière régulière en cercles concentriques autour de la périphérie du cytoplasme. Les cyanobactéries contiennent une seule forme de chlorophylle, la chlorophylle a, ainsi que des pigments caractéristiques de type phycobiliprotéines.

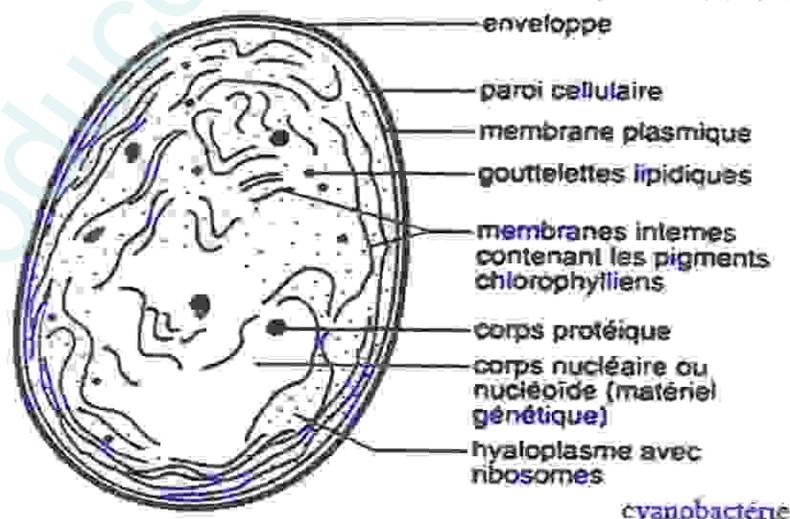


Figure 1 : la structure cellulaire d'une Cyanobactérie (www.futura-sciences.com)

3.1 Inclusion

Le cytoplasme renferme différents types d'inclusions:

➤ Les ribosomes :

Contrairement aux micro-algues eucaryotiques, les cyanobactéries contiennent des ribosomes 70S plutôt que 80S (Fay et Baalen, 1987 ; Bryant, 1994), bien que présents dans toute la cellule, sont plus nombreux dans le centroplasme que dans le chromatoplasme ;

➤ Les granules de réserve :

* **Carboxysomes**: aussi appelés corps poly hydriques (Codd, 1988). Elles renferment principalement la ribulose- biphosphate carboxylase, enzyme responsable de la fixation du dioxyde de carbone;

* **Glycogène**: produit grâce à une activité photosynthétique importante (Stanier, 1973), en manque d'azote, le glycogène est stocké sous forme de granules (Castenholz et Waterbury, 1989) qui vont être ensuite utilisés comme source d'énergie (Stanier, 1973);

* **Cyanophycine**: granule composée essentiellement d'arginine et d'acide aspartique (Prescott et al., 1995). Elle peut constituer jusqu'à 10% de la masse cellulaire. La cyanophycine est un produit de stockage azoté. Quand l'azote vient à manquer dans l'environnement, ce polymère est dégradé et sert de source d'azote cellulaire. Elle constitue aussi une réserve énergétique.

* **Polyphosphate**: les phosphates sont stockés sous forme de polyphosphates aussi appelés granules de volutine (Kromkamp, 1987). Baxter et Jensen (1980) pensent que les granules de polyphosphates pourraient jouer un rôle important dans le stockage de métaux lourds.

* **Globules lipidiques**: les globules lipidiques ou granules P sont composées de polymères d'acides gras du type PHA (polyhydroxyalcanoates). Ces granules correspondent à des réserves de carbone et d'énergie (Stal, 1992).

➤ Les vacuoles gazeuses :

Appelées aussi airosomes, existent dans les cellules de cyanophycées planctoniques. de structures cylindriques, contiennent de l'azote, permettent la flottaison à la surface de l'eau et confèrent à ces espèces un mécanisme écologiquement important en leur permettant d'ajuster leur

position verticale dans la colonne d'eau (Walsby, 1987).

3.2 Les cellules particulières

* **Les hétérocystes** : cellule à paroi épaisse et au contenu homogène faiblement coloré (fig.2A). Leur forme est sphérique (fig.2A), cylindrique (fig.2B), voire conique. Leur position dans le trichome est variable : soit intercalaire, terminale à l'une des extrémités seulement ou aux deux, ou encore latérale (pédicellée). Les hétérocystes sont généralement solitaires mais peuvent aussi apparaître en paire et, plus rarement, en série. La présence, dans les hétérocystes, de la nitrogénase leur confère la capacité de fixer l'azote moléculaire dissous dans l'eau pour le transformer en azote assimilable par la cellule. Les hétérocystes ne sont présents que chez certaines formes Filamenteuses et, ce, seulement lorsque les conditions écologiques nécessaires à leur formation sont réunies.

* **Les akinètes**: Ce sont des cellules généralement plus grandes que les cellules végétatives et les hétérocystes. Leur paroi est très épaissie et peut être colorée et ornée (fig.2A). Leur contenu apparaît rempli de gros granules sphériques ou polyédriques. Leur teneur en ADN est plus importante, de même que celles de la cyanophycine (réserve protéique) et du glycogène (réserve de glucides). Les akinètes sont des cellules de repos, capables de résister à des conditions écologiques très défavorables et qui, après retour à une situation environnementale normale, peuvent germer et redonner un thalle. Ces cellules n'existent que dans certaines structures filamenteuses. Elles sont solitaires ou disposés en série dans le trichome, en position intercalaire ou subterminale, adjacente ou éloignée des hétérocystes.

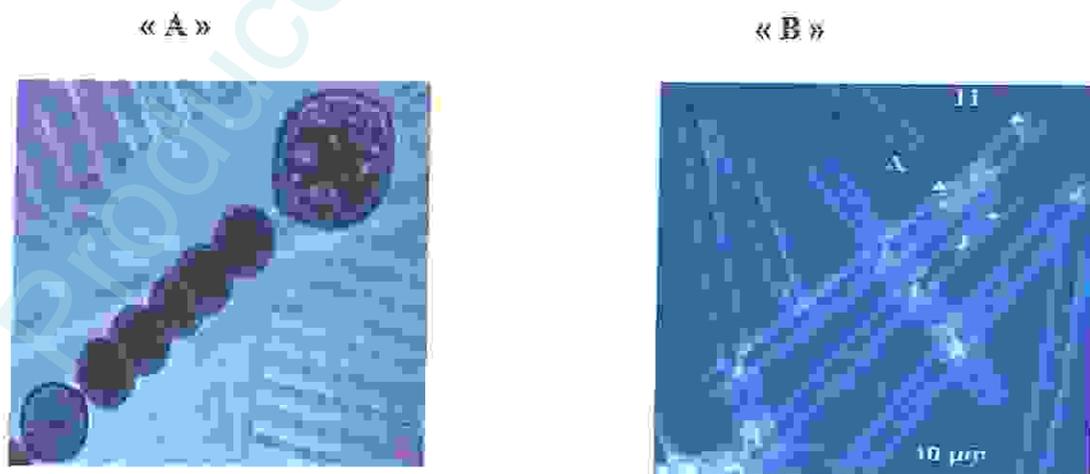


Figure2 : Trichome de cyanobactérie H : hétérocystes, A : akinète (Afssa et l'Afssset, 2006).

4. Physiologie des cyanobactéries :

La nutrition des cyanobactéries est simple. Les vitamines ne sont pas nécessaires, et les nitrates ou l'ammoniac constituent la source d'azote. Les espèces fixant l'azote atmosphérique sont communes. La plupart des espèces qui ont été analysées sont des phototrophes obligatoires, ne pouvant pas pousser dans l'obscurité en présence de composés organiques. Cependant, certaines cyanobactéries peuvent assimiler des substances organiques relativement simples comme le glucose et l'acétate, pourvu que la lumière soit présente (photo assimilation). Certaines cyanobactéries, surtout parmi les espèces filamenteuses, peuvent en fait pousser à l'obscurité en utilisant le glucose ou le saccharose, à la fois comme source de carbone et comme source d'énergie (Madigan et Martinko, 2007).

Bien que les cyanobactéries soient de vrais procaryotes, leur système photosynthétique est très proche de celui des eucaryotes, en ce qu'il contient la chlorophylle-*a* et le photosystème II, et en ce qu'il réalise la photosynthèse oxygénique. Les pigments photosynthétiques et les composants des chaînes de transport d'électrons sont situés dans des membranes thylakoïdes bordées de particules appelées phycobilisomes. Ces particules contiennent des phycobiline, en particulier la phycocyanine et elles transportent l'énergie au photosystème II. Le dioxyde de carbone est assimilé suivant le cycle de Calvin et le sucre de réserve est du glycogène. Bien que beaucoup de cyanobactéries soient des photolithoautotrophes obligées, certaines peuvent se développer lentement à l'obscurité comme des chimiohétérotrophes, en oxydant le glucose et quelques autres sucres. Dans des conditions anaérobies, l'espèce *Oscillatoria limnetica* oxyde le sulfure d'hydrogène à la place de l'eau et réalise une photosynthèse oxygénique comme les bactéries vertes photosynthétiques. Les cyanobactéries ont une variabilité considérable dans leur métabolisme (Prescott *et al.*, 1995). Elles réalisent la photo-respiration; ce phénomène est défini comme étant l'absorption de l'O₂ stimulée par les forts éclaircissements (Lang et Miltton, 1973).

Beaucoup de cyanobactéries formant des trichomes ou des filaments fixent l'azote atmosphérique grâce aux hétérocystes. Environ 5 à 10% des cellules d'un trichome se transforment en hétérocystes lorsque les cyanobactéries sont privées de nitrate et d'ammoniac, leurs sources préférées d'azote. Au cours de cette transformation, les cellules cyanobactériennes synthétisent une nouvelle paroi épaisse, réorganisent leurs membranes photosynthétiques, se débarrassent de leur phycobiliprotéines et du photosystème II et synthétisent une nitrogénase fixant l'azote. Le photosystème I est toujours fonctionnel et produit de l'ATP mais il n'y a pas de production d'O₂ par photophosphorylation non cyclique car le

photosystème II est absent. Cette incapacité de générer l'oxygène est essentielle car la nitrogénase est extrêmement sensible à l'oxygène. La paroi de l'hétérocyste ralentit ou empêche la diffusion de l' O_2 dans la cellule et tout l'oxygène présent est consommé par la respiration. La structure et la physiologie de l'hétérocyste assurent une anaérobiose; il est ainsi totalement voué à la fixation d'azote. Il prend ses aliments des cellules végétatives adjacentes (fig.3) et apporte de l'azote fixé sous la forme de glutamine (Prescott *et al.*, 1995).

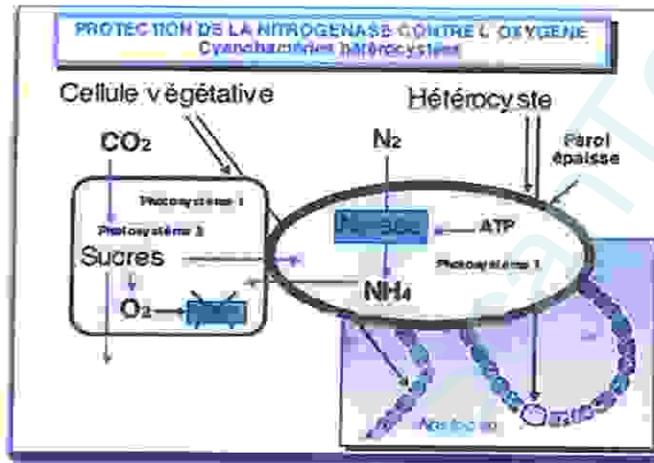


Figure 3 : la fixation d'azote chez les cyanobactéries (www.futura-sciences.com)

Les espèces fixatrices d'azote principales sont : *Nostoc punctiforme*, *Anabena variabilis*, *Cylindrospermum licheniforme* (Laporte et Pourriot, 1967).

5. Écologie et distribution des cyanobactéries :

Les cyanobactéries, dans un passé vieux d'environ trois milliards d'années, ont contribué à modifier la biosphère terrestre naissante par fixation du CO_2 et dégagement d'oxygène (Kasting, 1993). Elles forment le premier maillon de la chaîne alimentaire, en réalisant la synthèse des substances organiques à partir d'éléments minéraux. Leur rôle dans le cycle de carbone de la biosphère est considérable et l'on admet que la qualité de CO_2 qu'elles transforment en matière organique par photosynthèse est supérieure à celle puisée dans l'atmosphère par l'ensemble des végétaux terrestres (Bourrelly, 1991).

Les cyanobactéries sont largement distribuées dans les habitats naturels terrestres, dulçaquicoles et marins. En général, elles résistent mieux aux conditions environnementales extrêmes. Elles ont la capacité de coloniser les sols et les différents substrats parmi les plus infertiles comme le sable des déserts, les

roches et les cendres volcaniques (Chorus et Bartram, 1999). Cependant, leur habitat prédominant reste l'écosystème aquatique et de manière préférentielle les eaux douces. Elles se rencontrent aussi bien dans les régions tropicales que polaires (Chorus et Bartram, 1999; Duy *et al.*, 2000). On les rencontre également sur les sols humides ou régulièrement inondés, ainsi qu'à la surface des benthos soumis aux radiations lumineuses (Hasley et Leclerc, 1993).

Il a été démontré que les cyanobactéries sont particulièrement actives dans les eaux polluées et eutrophes (Henrich et Hergt, 1993). Néanmoins, des proliférations de cyanobactéries ont été observées dans les lacs classifiés comme oligotrophes et mésotrophes (Bais, 2000).

Les cyanobactéries toxiques flottent dans l'eau, seuls ou associés en filaments, et contaminent les eaux calmes des réservoirs, des lacs et des mares ou les eaux plus agitées des rivières (Chorus et Bartram, 1999; Duy *et al.*, 2000).

6. Paramètres de croissance des cyanobactéries:

La prolifération massive est le résultat d'une combinaison interactive de facteurs environnementaux complexes :

***La température:** est considérée comme l'un des facteurs les plus importants pour le contrôle de la dominance des cyanobactéries. Ces dernières prolifèrent à une température comprise entre 15°C et 30°C (Carmichael *et al.*, 1990; Nasri, 2001), avec un optimum de croissance à (25°C) (Robarts et Zohary, 1987), bien qu'elles soient capables de tolérer de faibles températures et de survivre dans les régions polaires, celles-ci, lorsqu'elles sont soumises à des températures plus élevées, connaissent une croissance plus rapide (Tang *et al.*, 1997).

***La lumière:** Bien que la lumière soit indispensable aux organismes photosynthétiques, de trop fortes intensités lumineuses peuvent dégrader l'appareil photosynthétique des cyanobactéries (photo-inhibition) entraînant ainsi leur dégénérescence. La composition pigmentaire des cyanobactéries leur confère une bonne utilisation du spectre lumineux et donc une efficacité importante pour la photosynthèse si bien qu'elles parviennent à croître avec de faibles intensités lumineuses, elles ne peuvent cependant pas se développer dans l'obscurité (Hemmion et Rivasseau, 1995).

***Le pH du milieu:** Les cyanobactéries prolifèrent plutôt dans les milieux alcalins, de pH compris

entre 6 et 9 (Carmichael *et al.*, 1990; Nasri, 2001).

***L'abondance d'azote et de phosphore:** L'azote et le phosphore sont des éléments essentiels à la croissance des organismes et sont généralement en carence dans l'eau (Wetzel et Likens, 2000). Un apport en ces éléments est habituellement associé à une croissance du phytoplancton (Schindler *et al.*, 1973; Watson *et al.*, 1997). Le phosphore est identifié comme étant la substance critique puisqu'il est habituellement l'élément limitant en milieu aquatique dulcicole. Les cyanobactéries l'utilisent sous forme d'orthophosphates (Prairie et Soucisse, 1999).

La présence de l'azote pour la croissance et la prolifération des cyanobactéries est facultative (Chorus et Bartram, 1999), certaines peuvent utiliser des nitrates et d'autres assimilent l'azote atmosphérique.

Les cyanobactéries peuvent se développer dans des eaux carencées en azote lorsque le rapport entre la concentration en azote et celle en phosphore devient inférieure à une valeur seuil de 4,5 (Chorus, 1995).

***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 (Mebarron et May, 1966). Le rejet des substances nutritives inorganiques, 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 (Coote et Gregorich, 2000; Duy *et al.*, 2000).

7. Classification générale:

Selon Brenner *et al.*, (2001), la classification correspond à l'arrangement des micro-organismes dans des groupes taxonomiques et d'après Wilmotte et Golubic. (1991) devrait refléter les relations évolutives entre organismes. Traditionnellement la classification des cyanobactéries est basée uniquement sur la morphologie, plusieurs révisions et changements principaux sont proposés.

Deux systèmes de classifications ont été adoptés : l'approche bactériologique dans le Manuel de Bergey (Garrity *et al.*, 2001) représentée dans le tableau 1, et l'approche botanique (Hoffmann *et al.*, 2005) représentée dans le tableau 2 : ces deux systèmes de classifications sont basés sur des caractéristiques morphologiques, génétiques, cytologiques, écologiques et

Tableau 1 : Classification des cyanobactéries selon le Manuel de Bergey (Garrity *et al.*, 2001)

Classe	Sous - section	Genres
Cyanobactéries	I	<i>Chamaesiphon, Chroococcus, Gloeotheca, Cyanotheca, Gloeobacter, Gloeocapsa, Microcystis, Synechococcus, Dactylococcopsis.</i>
	II	<i>Dermocarpella, Xenococcus, Myxosarcina, Pleurocapsa, Chroococciopsis.</i>
	III	<i>Astrophysa, Lyngbya, Oscillatoria, Planktothrix, Pseudoanabaena, Spirulina, Stauria, Crinalium.</i>
	IV	<i>Anabaena, Anabaenopsis, Aphanizomenon, Nostoc, Cylindrospermum, Nodularia.</i>

Tableau 2 : Classification botanique des cyanobactéries (Hoffmann *et al.*, 2005)

Ordre	Famille	Genre
Gloeobacterales	Gloeobacteraceae	<i>Gloeobacter</i>
Synchococcales (Coccoïde)	Synechococcaceae	<i>Synechococcus</i>
	Merismopediaceae	<i>Aphanocapsa, Synechocystis</i>
Pseudoanabacnals (Trichome)	Pseudoanabacnaceae	<i>Geitlerinema, Limnothrix, 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>

Suite du tableau 2

Oscillatoriales (Trichomé)	Phormidiaceae (necridies+)	<i>Arthrospira, Phormidium,</i> <i>Planktothrix, Trichodesmium</i>
	Oscillatoriaceae (necridies!)	<i>Lyngbya, Oscillatoria</i>
	Gomontiellaceae (necridies+)	<i>Crinalium, Starria</i>
Nostocales (héterocystés)	Scytonemataceae (fausses ramifications)	<i>Scytonema</i>
	Rivulariaceae	<i>Calothrix, Gloeotrichia,</i> <i>Rivularia</i>
	Nostocaceae (sans ramifications)	<i>Anabaena, Anabaenopsis</i> <i>Nostoc</i> <i>Aphanizomenon, Cylindrospermum,</i>
	Haplosiphonaceae (vraies ramifications)	<i>Nodularia,</i> <i>Cylindrospermopsis</i> <i>Fisherella, Mastigocladus</i>
	Loriellaceae	<i>Loriella</i>
	Stigonemataceae (vraies ramifications, trichomes multisériés)	<i>Stigonema</i>

8. Les toxines de cyanobactéries:

Une abondante littérature fait état de la présence et de la multiplication des cyanobactéries dans les eaux douces, mais ce n'est que depuis les années 1940, et plus encore depuis 1950, que leur rôle au cours de certains événements épidémiques dus aux eaux d'alimentation est analysé (Hasley et Leclerc, 1993). Les blooms des cyanobactéries peuvent être imprévisiblement toxiques ou non-toxiques d'une année à une autre (Kaebernick et Neillan, 2001).

Selon nombreux chercheurs (Brock, 1973; Bourrelly, 1991; Thebaud et Lesne 1995; Carmichael, 1997; Vezie *et al.*, 1998) il y a seulement 22 genres comprenant 40 espèces, sont à l'origine d'efflorescences toxiques (Skulberg *et al.*, 1993; Duy *et al.*, 2000; Bouaïcha, 2001). Ces dernières flottent dans l'eau et contaminent les eaux calmes des retenues, des lacs et des marées ou les eaux plus agitées des rivières (Codd *et al.*, 1989).

Les toxines des cyanobactéries aussi nommées «cyanotoxines» considérées comme des métabolites secondaires se divisent en 3 classes : neurotoxines, hépatotoxines et endotoxines de nature lipopolysaccharidique (Carmichael, 1994; Codd *et al.*, 1997; Duy *et al.*, 2000).

La liste des espèces de cyanobactéries potentiellement toxiques ainsi que leurs toxines est représentée dans le tableau 3.

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 (Afssa et Afsset, 2006).

Cyanobactéries toxiques	Toxines
<i>Anabaena affinis</i>	N.I.
<i>Anabaena circinalis</i>	Anatoxine-a, Saxitoxines, Microcystines
<i>Anabaena flos aquae</i>	Anatoxines(-a,-a(s),-b,-b(s),-c,-d), Microcystines
<i>Anabaena hassallii</i>	N.I.
<i>Anabaena lemmerman</i>	Microcystines, Anatoxine-a(s)
<i>Anabaena planctonica</i>	Anatoxine-a
<i>Anabaena spiroïdes</i>	Anatoxine-a, Microcystines
<i>Anabaena sp.</i>	Anatoxine-a
<i>Anabaenopsis milleri</i>	Microcystines
<i>Aphanizomenon flos aquae</i>	Anatoxine-a, Saxitoxines
<i>Aphanizomenon ovalisporum</i>	Cylindrospermopsine
<i>Aphanizomenon sp.</i>	Anatoxine-a
<i>Coelosphaerium naegelianum</i>	Hépatotoxines
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	Cylindrospermopsine, Saxitoxines
<i>Cylindrospermum sp.</i>	Anatoxine-a
<i>Lyngbya gracilis</i>	Debromoaplysiatoxine
<i>Microcystis flos-aquae</i>	Microcystines
<i>Microcystis panniformis</i>	Microcystines
<i>Microcystis toxica</i>	N.I.
<i>Microcystis viridis</i>	Microcystines, Microviridine
<i>Microcystis wesenbergii</i>	Microcystines
<i>Microcystis sp.</i>	Anatoxine-a
<i>Nodularia spumigena</i>	Nodularines
<i>Nostoc sp.</i>	Microcystines
<i>Oscillatoria formosa</i>	Homoanatoxine-a

3.1 Les neurotoxines:

Elles agissent principalement sur le système nerveux, se sont des alcaloïdes et comprennent l'anatoxine et l'aphantoxine (Carmichael, 1990; Carmichael, 1994; Chevalier *et al.*, 2001).

> L'anatoxine:

L'anatoxine-*a*, alcaloïde secondaire et plus précisément une aminé bicyclique secondaire, analogue de la cocaïne (Astrachan *et al.*, 1980). Elle est synthétisée par diverses souches des genres *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Cylindrospermopsis*, *Aphanizomenon* et *Trichodesmium* (Sivonen *et al.*, 1989; Hawser *et al.*, 1991; Rappala *et al.*, 1993) (Fig. 4).

La plus basse DL₅₀ injectée est d'environ 0,25 mg/kg pour beaucoup d'espèces et la DL₅₀ par voie orale varie entre 1 et 10 mg/kg (Astrachan *et al.*, 1980).

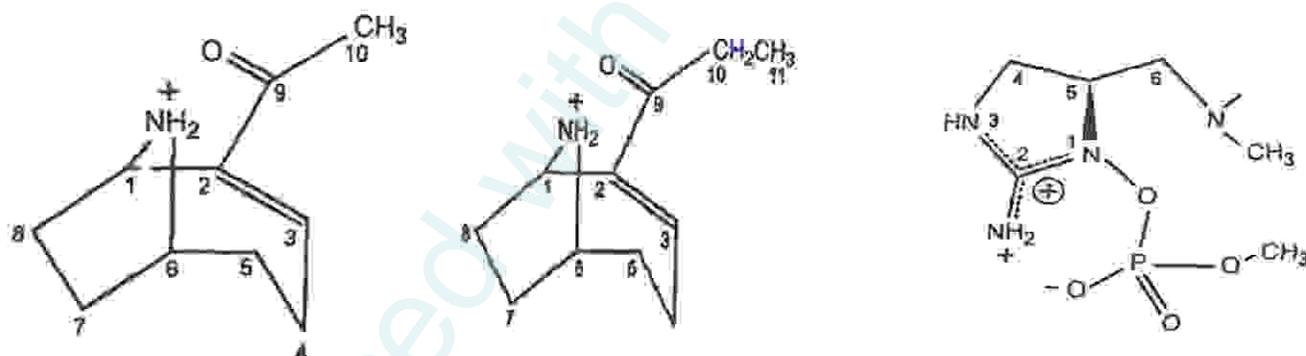


Figure 4 : Structure des molécules d'anatoxine-a, homoanatoxine-a, anatoxine-a(s), de gauche à droite (Afssa et Afset, 2006).

> L'aphantoxines:

Les aphantoxines sont des neurotoxines paralytiques telles que la saxitoxine et la néosaxitoxine. Se sont des alcaloïdes de la purine (Fig.5). Elles ont été identifiées pour la première fois en milieu d'eau douce dans une souche *Aphanizomenon flos-aquae* (Ikawa *et al.*, 1982; Carmichael, 1990; Haney *et al.*, 1995). Elles sont aussi synthétisées par d'autres espèces des genres *Anabaena* et *Aphanizomenon* (Humpage *et al.*, 1994).

La plus basse DL₅₀ injectée est de 10 µg/kg (Carmichael, 1990).

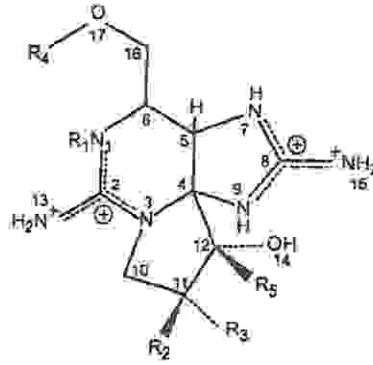


Figure 5 : Structure générale des saxitoxines (Afssa et Afsset, 2006).

8.2 Les hépatotoxines :

Les hépatotoxines sont des peptides de faibles poids moléculaires qui affectent le foie. Elles sont produites par des souches de *Microcystis*, *Anabaena*, *Oscillatoria* et *Nostoc*. Elles comprennent les microcystines et les nodularines qui se différencient par le nombre d'acides aminés qu'elles contiennent (Hasley et Leclerc, 1993; Hennion et Rivasseau, 1995).

➤ Les microcystines:

Aussi appelées «cyanoginosines» sont constituées de sept acides aminés dont deux inhabituels: la N-méthyl-déshydroalanine (**Mdha**) et l'acide 3-amino-9-méthoxy-2,6,8-triméthyl-10-phényl-4,6-diénoïque (**Adda**). Leur structure cyclique présente le plus souvent l'enchaînement d'acides aminés suivant: D-Ala-L-X2-D-Masp3-L-Z4-Adda5-D-Glu6-Mdha7 (**Fig.6**).

X et Z : représentent des acides aminés variables attribuant le nom à la toxine (Sivonen et Jones, 1999), **D-MAsp** : l'acide D-érythro-β-méthyl aspartique. Ala: l'alanine (Hennion et Rivasseau, 1995).

La diversité de la structure des microcystines repose sur la nature des acides aminés qui entrent en combinaison, on trouve :

- Microcystine LR (leucine- arginine)
- Microcystine YR (tyronine- arginine)
- Microcystine YA (tyronine- alanine) (Kameyama *et al.*, 2004).

On dénombre à l'heure actuelle 60 variants structuraux de microcystines (Codd *et al.*, 2005). Ces variations se produisent entre les espèces du même genre, aussi bien qu'entre différents genres

(Jochimsen *et al.*, 1998). L'espèce la plus toxique est celle produisant la microcystine-LR (Sivonen et Jones, 1999).

La DL₅₀ du test souris en injection intra péritonéale est d'environ 50- 70 µg/kg pour la plupart des microcystines (Hennion et Rivasseau, 1995).

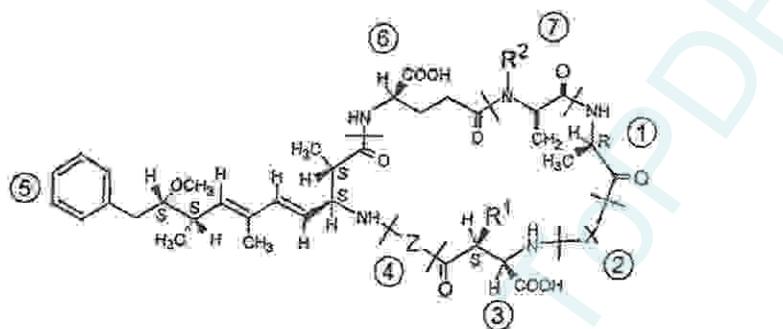


Figure 6 : Structure générale des microcystines (Afssa et Afsset, 2006).

➤ La nodularine :

La nodularine produite par *Nodularia spumigena*, est un pentapeptide cyclique de formule dhBut1-D-MAsp2-L-Arg3-Adda4-D-Glu5 (Fig.7). Elle contient la déhydrobutyrine et l'acide aminé Adda caractéristique des microcystines (Hennion et Rivasseau, 1995). 6 variantes de la nodularine ont été caractérisées par Namikoshi *et al.*, 1993; Namikoshi *et al.*, 1994; Duy *et al.*, 2000.

La DL₅₀ de la nodularine varie entre 30 et 70 µg/kg (Carmichael *et al.*, 1988; Runnegar *et al.*, 1988)

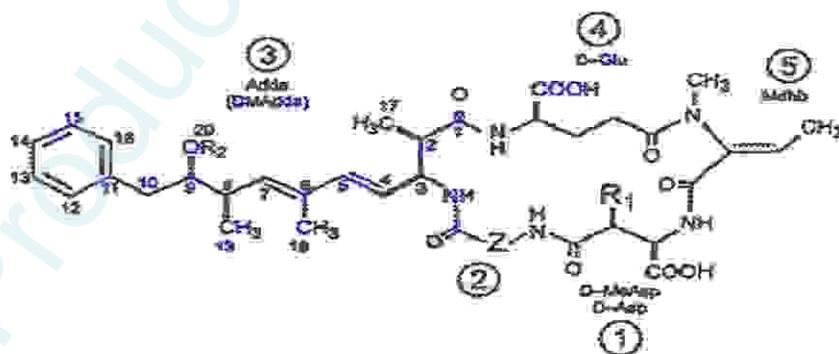


Figure 7 : Structure chimique de la nodularine (Afssa et Afsset, 2006).

8.3 Les endotoxines:

Les endotoxines lipopolysaccharidiques sont des constituants de la membrane cellulaire des cyanobactéries, comme les autres bactéries Gram négatif (Chorus et Bartram, 1999; Pitois *et al.*, 2000).

On les appelle «endotoxines» à cause de leur localisation cellulaire, elles font en effet partie du corps cellulaire et ne sont pas libérées à l'extérieur de la cellule comme les exotoxines. Ce sont des lipopolysaccharides doués de propriétés pharmacologiques remarquables (Hasley et Leclerc, 1993).

Carmichael (1992); Hasley et Leclerc (1993) ont cités une autre classe de toxines qui sont les cytotoxines. Ces dernières ont une activité cytotoxique sur des cultures de cellulaires, elles ne sont pas mortelles à faibles doses, mais présentent en revanche une activité plus sélective. Les cytotoxines retiennent l'intérêt de leurs propriétés antibiotiques et anticancéreuses.

Plusieurs variétés de toxines sont continuellement découvertes et certaines substances bioactives produites par les cyanobactéries, mais non encore identifiées, pourraient jouer un rôle significatif sur la santé (Carmichael, 1994; Chorus et Bartram, 1999; Chorus, 2001).

9. Impacts des cyanobactéries:

Les cyanobactéries (algues bleu-vert) ont été identifiées dans le monde entier, elles posent un risque significatif aux approvisionnements en eau quand elles se produisent dans les réservoirs, les lacs et les fleuves utilisés comme sources d'eau, dues à leur capacité de produire des toxines (Teixiera et Rosa, 2005). Ces dernières ont causé la mortalité chez les animaux (Chorus *et al.*, 2000; Hitzfeld *et al.*, 2000; Falconer, 2001; Gupta *et al.*, 2003), et des maladies chez l'homme (Jochimsen *et al.*, 1998; Kuiper- Goodman *et al.*, 1999; Falconer, 1999; Zimba *et al.*, 2001), voir même sa mort par exposition intraveineuse à une eau contaminée par des microcystines lors de l'hémodialyse (Pourria *et al.*, 1998; Azevedo *et al.*, 2002).

Dans plusieurs pays, un certain nombre de cas d'allergies ou d'intoxications aiguës ont été répertoriées chez l'homme, après contact avec des cyanobactéries toxiques ou ingestion d'eau contaminée par les cyanotoxines (Bourke *et al.*, 1983; Falconer *et al.*, 1999; Carmichael *et al.*, 2001).

Selon Azevedo *et al.*, en 2002, une estimation de 19,5 µg/l de microcystines est suffisante pour provoquer des intoxications aiguës qui se traduisent par une diarrhée, vomissement, rhume, éruptions cutanées (Matsushima *et al.*, 1990), ulcère buccal, fièvre, infection des yeux et des oreilles (Falconer, 1995; Pilotto *et al.*, 1997)

Les cellules cibles des microcystines et des nodularines sont essentiellement les cellules épithéliales de l'intestin grêle (Falconer *et al.*, 1992; Humpage *et al.*, 2000) et les hépatocytes (Falconer *et al.*, 1992). Cependant, Grabow *et al.* en 1982 ont rapporté que la toxicité des microcystines n'était pas spécifique pour des cellules de foie mais aussi pour les cellules du poulmon, du cerveau et de l'ovaire.

Les microcystines et les nodularines sont des promoteurs de tumeurs, elles sont soupçonnées d'être impliquées dans la promotion du cancer chez les êtres humains (Nishiwaki- Matsushima *et al.*, 1992; Fujiki et Suganuma, 1999; Song *et al.*, 1999; Pitoi *et al.*, 2000; Chorus, 2004). En revanche, selon Bouaïcha en 2007, seule la nodularine-R est considérée comme cancérogène.

L'évaluation du potentiel génotoxique des hépatotoxines peptidiques de cyanobactéries a été aussi menée *in vitro* sur des cellules de mammifères et *in vivo* chez la souris et le rat (Bouaïcha, 2007).

Zhan *et al.* (2004) ont montré une augmentation de la fréquence de mutations au locus Tk (Thymidine kinase) sur des cellules de lymphoblastoïdes humains traitées avec la microcystine-LR.

Zegura *et al.* (2003) ont montré sur des cellules d'hépatome humain traitées avec des concentrations non cytotoxiques de microcystine- LR (0,01- 1 µg/ml), des cassures de brins d'ADN ayant pour origine probable l'excision de lésions oxydatives d'ADN et des dommages de l'ADN causés par l'induction de radicaux libres par la toxine. Ces dernières lésions de l'ADN peuvent être attribuées à une dégradation endonucléotique de l'ADN ou à une oxydation des bases puriques et pyrimidiques en association avec une cytotoxicité, plutôt qu'à une interaction directe ADN- toxines (Rao *et al.*, 1998; Zegura *et al.*, 2003). Les microcystines possèdent un effet clastogène et peuvent induire des anomalies structurales des chromosomes de lymphocytes humains (Zhan *et al.*, 2004).

La prolifération des cyanobactéries mène souvent aux changements de la structure des communautés de zooplancton (Rohrback *et al.*, 2001; Trabeau *et al.*, 2004). Elle réduit également la biodiversité et diminue la qualité de l'eau potable par la décomposition des écumes (Carmichael, 1996; Codd *et al.*, 1999). Hairston *et al.* (1999); Hulsmann et Weiler (2000) ont affirmé que la présence des blooms cyanobactériens dans un lac eutrophique induisait le remplacement de la dominance de la *Daphnie* par celle des *Cladocera* de petite taille.

Un grand nombre de peptides, autres que les microcystines, tels que la microviridine, l'oscillapeptine et la cyanopeptoline solides solubles, se sont également avérés toxiques au zooplancton (Radau, 2000; Agrawal *et al.*, 2001; Blom *et al.*, 2003; Rohrback *et al.*, 2003).

Certains animaux d'eau douce jouent un rôle de vecteurs de toxicité le long de la chaîne alimentaire (Vasconcelos, 1999) en accumulant la microcystine dans leurs tissus tel que l'escargot (*Simotia histrica*) (Ozawa *et al.*, 2003) et les poissons (Magalhaes *et al.*, 2001; Magalhaes *et al.*, 2003; Mohamed *et al.*, 2003).

Le déséquilibre résultant de l'ingestion de microcystine dans la phosphorylation des protéines perturbe le cytosquelette du foie de la loche *Misgurnus mizolepis* (Li *et al.*, 2005) et celui de la carpe commune *Cyprinus carpio* L. (Li *et al.*, 2004), ce qui mène aux hémorragies hépatiques massives (Gehring *et al.*, 2004). Ces dernières causent la mort chez les rongeurs (Dawson, 1998).

De plus, il s'avère que l'effet oxydant induit par la microcystine cause le début de la perméabilité mitochondriale et de la perte du potentiel de la membrane mitochondriale (Ding *et al.*, 2000) menant souvent à une paralysie des muscles respiratoires (Chorus et Bartram, 1999).

La peroxydation de lipides est l'une des manifestations principales de l'effet oxydant des microcystines (Bouaïcha et Maatouk, 2004; Gehring *et al.*, 2004), qui s'avère responsable de leur hépatotoxicité (Gehring *et al.*, 2004).

Orr *et al.* (2001) ont rapporté que les microcystines avaient des effets aigus et chroniques sur la santé des mammifères, y compris du bétail, cependant aucune quantité discernable de microcystine n'était présente dans le lait qu'ils produisent.

Quoique les aliments végétaux soient un itinéraire significatif pour l'exposition aux toxines cyanobactériales, ils ont suscité peu d'attention (NRA, 1990; Abe *et al.*, 1996; Codd *et al.*, 1997).

Après une exposition des parties aériennes de la Laitue de salade (*Lactuca sativa*) à l'eau d'irrigation contaminée par *Microcystis aeruginosa*, la microcystine-LR joue un rôle inhibiteur de la photosynthèse (Abe *et al.*, 1996).

9.1 Impact sur la santé humaine

Les blooms de Cyanobactéries représentent un risque pour la santé humaine et environnementale, particulièrement s'ils arrivent avec une dominance de tensions toxiques. Parmi les toxines déjà décrits comme étant produits par les Cyanobactéries (Carmichael, 1994) les microcystines sont probablement les plus

importantes en termes de santé humaine. Ils sont très stables (Jones *et al.*, 1994 ; Tsuji *et al.*, 1994) et ne sont pas détruits par les méthodes de traitement communes d'eau (Keijola *et al.*, 1988 ; Rositano et Nicholson, 1994). Les microcystines sont des inhibiteurs puissants de protéine phosphatase 1 et 2A (MacKintosh *et al.*, 1990) étant considéré (les microcystines) comme promoteurs de tumeur puissants (Nishiwaki-Matsushima *et al.*, 1992).

Des symptômes gastro-intestinaux ont été rapportés suite à l'ingestion d'eau potable contaminée par des Cyanobactéries (Falconer *et al.*, 1983 ; Yu, 1994) ou suite à la baignade dans des eaux contenant de grandes quantités de Cyanobactéries (Jochimsen *et al.*, 1998).

Les symptômes développés après un contact avec des eaux contenant des toxines de Cyanobactéries incluent des éruptions cutanées, œdèmes, irritations de la peau, conjonctivites, inflammation des oreilles et de la gorge, problème respiratoires de type asthme allergique, rhume des foins, pneumonie associée à des vertiges, une légère fièvre et une fatigue importante. (Elder *et al.*, 1993 ; Falconer, 1996 ; Jochimsen *et al.*, 1998).

Les toxines des cyanobactéries sont essentiellement des endotoxines, qui s'accumulent à l'intérieur des cellules algales. Elles agissent soit après ingestion de ces microorganismes, soit après leur libération au cours de lyse algale (Falconer, 1996) La quantité d'eau polluée, fatale à un individu, dépend de la concentration en cellules dans l'efflorescence d'algues, de la concentration et de la nature des toxines dans les cellules, et de la sensibilité du sujet à ces toxines. Cette quantité varie de quelques millilitres à plusieurs litres. (Carmichael et Falconer, 1993).

L'absorption de faibles doses d'hépatotoxines par ingestion accidentelle d'eau de boisson contaminée est à l'origine de symptômes liés à une hépatite, des lésions rénales et intestinales : nausées, vomissements, céphalées, maux d'estomac, douleurs abdominales, hépatomégalie douloureuse, perte urinaire de sang, constipation suivie d'une diarrhée profuse sanglante, nécessitant souvent une hospitalisation (Falconer, 1996), de plus une consommation régulière de faibles doses de toxines favorisent l'apparition de troubles chroniques du foie et du tube digestif avec une nécrose, une fibrose cellulaire progressive et une infiltration leucocytaire des tissus endommagés (Carmichael, 1994 ; Falconer, 1996). Cependant, de fortes doses d'hépatotoxines sont responsables d'une hépatotoxicose hémorragique qui peut provoquer des troubles graves ou la mort (Nishiwaki-Matsushima *et al.*, 1992 ; Jochimsen *et al.*, 1998 ; Pouria *et al.*, 1998).

Les intoxications induites par les neurotoxines sont moins fréquentes. Des signes de gastro-entérites ont été observés à Alentejo au Portugal, en relation avec la lyse des cellules d'un « bloom » d'Aphanizomenon

flos-aquae toxique dans la rivière Guadiana. Les personnes intoxiquées présentaient des maux de tête, des vomissements et des diarrhées (Vasconcelos *et al.*, 1993). De même, une simple exposition de l'homme à des efflorescences d'*Anabaena* par baignade ou par inhalation de l'eau lors de la pratique de sports nautiques peut provoquer des symptômes neurotoxiques (Falconer, 1998).

Pour les neurotoxines de type PSP, plusieurs cas de mortalité animales ont été signalés suite à la consommation d'eau contaminée par ces toxines mais aucun cas d'intoxication humaine n'a été rapportée. Cependant, les intoxications liées aux neurotoxines ne sont pas limitées à l'intoxication directe par ingestion d'eau contaminée, car elles peuvent également apparaître après consommation de moules d'eau douce qui ont accumulé ces toxines.

Quant aux aphanotoxines de type saxitoxine et néosaxitoxine, elles sont souvent à l'origine d'intoxications paralysantes dues à l'absorption d'eau ou à l'ingestion de coquillages contaminés ; leur présence a provoqué à plusieurs reprises la fermeture. En l'absence de traitement spécifique des intoxications dues aux cyanobactéries, la thérapeutique consiste en un traitement symptomatique afin de restaurer les fonctions de l'organisme. Toutefois, il est souhaitable d'utiliser des antihistaminiques ou des corticoïdes pour les manifestations atopiques qui surviennent après un contact avec un « bloom » de cyanobactéries (Elder *et al.*, 1993).

D'autre part, Negri et Jones (1995) ont montré que certains antioxydants comme les caroténoïdes, protègent les souris de manière significative des effets mortels des hépatotoxines mais ils doivent être injectés avant l'exposition aux toxines. D'autres travaux ont montré que les modifications morphologiques observées sur des cultures d'hépatocytes contaminées par des microcystines sont antagonisées par la cyclosporine A et la rifampicine (Dawson, 1998).

10. Elimination des cyanobactéries et de leurs toxines :

Les cyanotoxines sont essentiellement stockées à l'intérieur des cellules cyanobactériennes qui les produisent. Elles sont libérées à l'extérieur de la bactérie et dissoutes dans l'eau principalement lors de la sénescence et de la lyse cellulaire (Duy *et al.*, 2000; Santé Canada, 2002), ce qui a un impact sur la qualité de l'eau, à savoir les mauvais goûts et les odeurs désagréables (Hennion et Rivasseau, 1995).

L'OMS suggère des valeurs guides pour les eaux récréatives qui sont présentées en trois niveaux:

Niveau 1: représente des effets mineurs et/ou faible probabilité d'effets sur la santé: 20.000 cellules cyanobactériennes/ml d'eau ou 10 µg de chl- a/l avec dominance de cyanobactéries.

Niveau 2: représente une probabilité modérée d'effets sur la santé: 100.000 cellules cyanobactériennes/ml d'eau ou 50 µg de chl-a avec dominance de cyanobactéries.

Niveau 3: représente un risque élevé d'effet sur la santé: présence d'écumes de cyanobactéries (W.H.O, 2003).

Dans les milieux naturels aquatiques une diminution de la densité des cyanobactéries et de leurs toxines peut être favorisée par différentes techniques, cependant l'élimination des cellules cyanobactériennes sans les endommager a été et continue d'être un problème dans les stations de traitement de l'eau (Teixeira et Rosa, 2005).

10.1- Traitement chimique:

Les méthodes traditionnelles utilisées pour contrôler les blooms d'algues incluent l'utilisation du sulfate de cuivre et de l'urée (Sakamoto *et al.*, 1998). A de faibles concentrations en cuivre (de 5 à 10 mg/l), la fixation d'azote par les cyanobactéries est réduite, ce qui en résulte en la quasi élimination des cyanobactéries. Cependant ce traitement est relativement inefficace pour les cyanobactéries non fixatrices d'azote (Mc Knight *et al.*, 1983).

D'après Prepas *et al* (1990), de fortes quantités de chaux (250 mg/l) éliminent à la fois les algues et le phosphore des lacs hypereutrophiés, cependant ce traitement est inefficace à plus faibles doses (17 mg/l).

Konefick *et al* (1993) pensèrent que la chaux ne semble pas provoquer la libération des toxines des cyanobactéries.

Parker *et al* (1997) ont démontré que le KCl empêche fortement la croissance de *Microcystis* dans l'eau d'étangs et dans des médias définis. La concentration du potassium réduisant 50% de la population de *Microcystis* s'est avérée de 6 mM (Shukla et Rai, 2006).

Le charbon actif peut être employé, soit en poudre (CAP), soit en grains (CAG). Ce traitement permet d'éliminer 90 à 98 % des toxines avec un dosage de l'ordre de 10 à 20 mg/l (www.gis.fr). L'élimination par le charbon actif est plus efficace lorsqu'il est suivi d'une filtration rapide sur sable (Falconer *et al.*, 1989).

Pour l'ozonation, Bernazeau *et al.* (1995) ont rapporté que dans une usine de traitement 92% d'anatoxine-a à une concentration de 24 mg/l ; 10 mg/l maximum attendu dans la nature) a été éliminé après 60 secondes d'exposition à l'ozone (de l'ordre de 0,11 mg/l). Une post-ozonation serait plus efficace pour éliminer les toxines (Hennion et Rivasseau, 1995).

Un traitement par 1 mg/l de chlore (pH de 3 à 9) ou par 1 mg/l de NaClO (pH < 8) a permis de détruire 98% des microcystines et 95% des nodularines après 30 mn de contact (Nicholson *et al.*, 1994). Cependant Falconer (1996) a affirmé qu'une préoxydation par chloration n'éliminait pas les toxines.

Des coagulants tels que le sulfate d'aluminium, le sulfate ferrique, le chlorure ferrique et les coagulants polymérisés comme le polyaluminium chloride (PACl) ont été employés avec succès pour traiter les eaux riches en algues (Jiang *et al.*, 1993; Schofield, 2001), ces coagulants provoquent la floculation des cellules de cyanobactéries (Teixiera et Rosa, 2006).

Cependant, d'après Lee *et al.* (1991), l'addition de sulfate d'aluminium provoque une augmentation significative de la concentration de la microcystine-LR libérée dans l'eau.

Les méthodes chimiques qui fournissent des résultats immédiats, par exemple algicides chimiques, ont suscité moins d'attention récemment, principalement en raison de leurs effets nuisibles sur d'autres organismes et le dégagement expédié de microcystines (Chorus et Bartram, 1999; EPA of China, 2000).

10.2. Traitement physique:

La clarification primaire implique la sédimentation (s) ou la flottation à air dissoute (DAF) des algues floculées. La technique de traitement conventionnel d'eau potable inclue la coagulation (c), la floculation (f) et la sédimentation (s) (Zabel, 1985; Awwa, 2000).

Quelques études rapportent des efficacités d'élimination des cellules de *Microcystis* entre 58% et 90% par le traitement conventionnel et ont prouvé qu'un tel procédé n'était pas efficace pour l'élimination extracellulaire de toxines (Falconer *et al.*, 1989; Chow *et al.*, 1999; Hruday *et al.*, 1999).

La C/F/DAF est généralement plus efficace que la C/F/S en raison de la tendance des cyanobactéries à flotter (Zabel, 1985; Awwa, 2000). Yan et Jameson (2004) ont rapporté des efficacités élevées de l'élimination de *Microcystis aeruginosa* et d'*Anabaena circinalis* par la DAF.

La C/F/DAF repose sur le dégagement des bulles d'air qui vont s'attacher aux floques de cyanobactéries induisant ainsi leur remontée vers la surface de l'eau, où elles vont être par la suite enlevées (Eckenfelder, 2000). Cette technique permet d'éliminer les cellules de cyanobactéries sans les endommager c'est-à-dire sans libération des toxines dans l'eau (Vlaski *et al.*, 1996; Vlaski *et al.*, 1997).

La filtration constitue une étape particulièrement efficace dans l'élimination des cyanobactéries ayant échappées à la clarification. Le rendement global de l'élimination des algues en sortie de la clarification-filtration est de l'ordre de 90 à 95 % (www.gls.fr).

Les traitements mécaniques sont presque inapplicables aux grandes surfaces d'eaux naturelles en raison de leur coût élevé. Cependant, les méthodes de restaurations biologiques et écologiques agissent mieux dans des secteurs pas trop grands (Gu, 1992; Sengco *et al.*, 2001)

10.3. Traitement biologique:

Une technique très prometteuse consiste à employer les argiles naturelles, non-toxiques et peu coûteuses pour flocculer et enlever les cellules d'algues (Anderson, 1997; Sengco et Anderson, 2004). Des argiles tels que la montmorillonite, la kaolinite et phosphatic ont été rapportés comme les flocculants les plus efficaces avec le plus bas chargement de 0,25 g/l pour une efficacité d'élimination de 90% (Avnimelech *et al.*, 1982; Becker, 1994; Yu *et al.*, 1994, Yu *et al.*, 1995; Pan, 1998; Chorus et Bartram, 1999; Sample, 2000; Han et Kim, 2001; Sengco et Anderson, 2004; Zoo *et al.*, 2005).

Ferrier *et al.* (2005) ont affirmé que la boisson alcoolisée de la paille d'orge (*Hordeum vulgare*) a empêché la croissance de trois algues nuisibles communes dans les eaux douces: *Synura petersenii*, *Dinohyron sp.* et *Microcystis aeruginosa*. Cependant, la croissance de *Selenastrum capricornutum*, *Spirogyra sp.*, *Oscillatoria lutea var contorta* et *Navicula sp.*, avait sensiblement augmenté en présence de boisson alcoolisée de la paille.

En éliminant des poissons et des rejets organiques, la croissance d'une population zooplanctoniques (prédateurs des cyanobactéries) a été favorisée induisant ainsi une amélioration considérable de la qualité d'eau (Annadotter et Cronberg, 1998).

Hee-jin *et al.* (2005) ont affirmé qu'une bactérie aquatique *Streptomyces neyagawaensis* isolée dans le sédiment du lac eutrophique Juam, en Corée, est capable d'éliminer la *Microcystis aeruginosa*. En présence

de cette bactérie, la biomasse de *M. aeruginosa* a été fortement supprimée jusqu'à 84,5%.

Certaines souches du genre *Pseudomonas* peuvent dégrader 95% de toxines en environ 4-8 jours (Jones *et al.*, 1994) et pour l'anatoxine- a 65% en environ 1 mois (Kirivanta *et al.*, 1991).

Walsh *et al* (1998) ont rapporté qu'une exposition à la lumière solaire et à des faibles concentrations en fer réduisait la concentration totale des composés volatiles de l'odeur désagréable causée par les cyanobactéries. Des traitement à l'UV ont donné de bons résultats pour la dégradation des microcystines (Tsujii *et al.*, 1995). Chorus et Bartram (1999) ont rapporté que la demi- vie de dégradation de l'anatoxine- a sous une intensité lumineuse importante était d'environ 1-2 heures.

Produced with ScanTOPDF

CHAPITRE II

Matériel & Méthodes

Produced with ScanTOPDF

1. Description du site d'étude

Le barrage Mexa appelé également Mexenna est un ouvrage hydraulique aménagé sur la vallée de l'oued El-Kebir-Est, à l'endroit dit "gorge de Mexenna", à environ 3 km en amont du pont sur la route nationale 44. Il est situé au Nord-Est de la ville d'EL-Tarf distante d'environ 60 km de la ville d'Annaba, dans la direction d'EL-Kala. Ce plan d'eau est limité (fig. 8) :

- Au Nord par le lac Ouberra,
- Au Sud par la chaîne Medjerda,
- A l'Est par les frontières tunisiennes
- A l'Ouest par la région de Bouteldja.

Il est drainé par trois oueds à savoir :

- Oued El-Kebir
- Oued Bougous
- Oued Ballouta

Les eaux du barrage Mexa sont destinées à l'alimentation en eau potable (AEP) des villes d'Annaba, EL-Tarf et EL-Kala ainsi qu'à l'irrigation des champs agricoles.

Les caractéristiques techniques du barrage Mexenna sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 5: Caractéristiques techniques du barrage Mexa (ANB, 1993).

Déversoir	Seuil libre
Surface bassin versant	651 Km ² ; (boisé et agricole)
Capacité initiale	31,5 hm ³
Volume régularisé	37 hm ³
Périmètre	11 km
Surface	5 186 930,05 m ²
Volume	30 268 885,69 m ³
Hauteur de la digue	à partir du pied de la digue : 27 m
	à partir du pied de la fondation : 40m
Année de mise en eau	2000

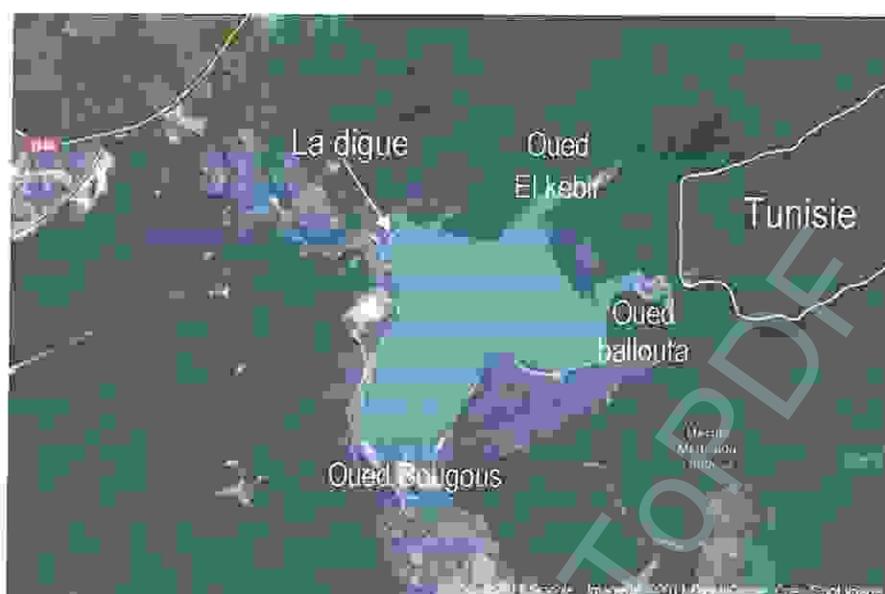


Figure 8 : photos satellites du barrage Mexa (Google map, 2011)

2. Stations de prélèvement

Trois points d'échantillonnage ont été choisis, ce réseau de station a été sélectionné, en tenant compte des critères suivants :

- la reconnaissance visuelle, notamment des accumulations des biomasses vivantes sur les rives,
- la direction des vents dominants (Sud-Ouest vers Nord-Ouest),
- l'accessibilité aux stations.

Les caractéristiques des stations de prélèvement sont les suivantes :

Station 01

- Position géographique : localisée sur la zone périphérique du Nord-Ouest du barrage
- Coordonnées : N 36° 45' 09.27'' ; E 8° 23' 30' 17'' ; hauteur : 55m.
- Exposée au vent de sol semi rocheux (argile et grès).

Station 02

- Position géographique : Localisée sur la zone périphérique du Nord-Ouest du barrage
- Coordonnées : N 36° 45' 18.78'' ; E 8° 23' 37.22'' ; hauteur : 55m
- Cette station est exposée au vent et son sol est semi rocheux (argile et grès).

Station 03

- Position géographique : Localisée sur la zone périphérique du Sud-Est de la station 01
- Coordonnées : N 36° 45' 03.10'' ; E 8° 23' 31.77'' ; hauteur : 58m.
- Cette station est à l'abri du vent de terre argilo-sableuse (limon).

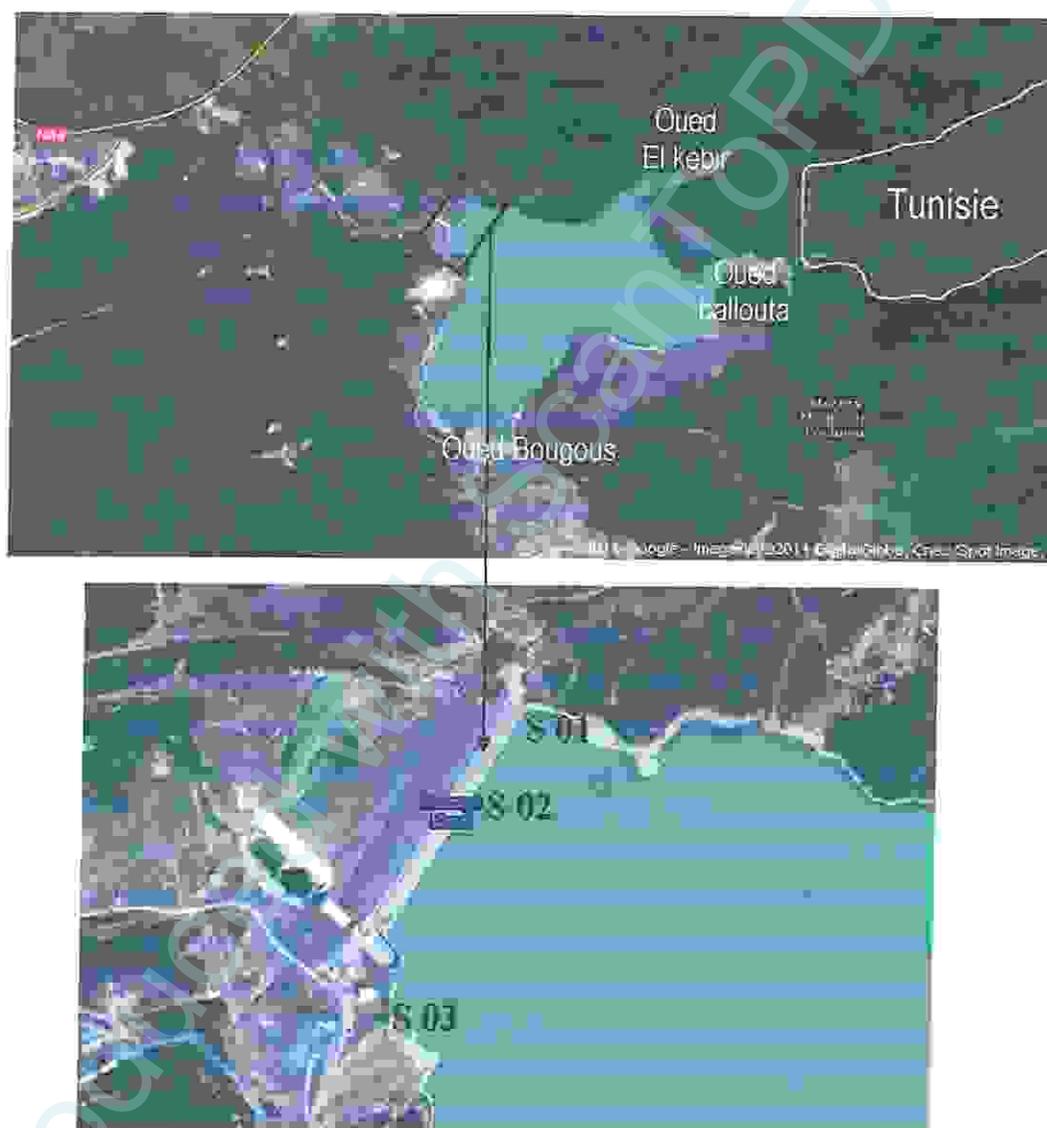


Figure 9 : Localisation des trois stations de prélèvement du barrage Moxa (Google map, 2011)

3. Stratégie d'échantillonnage

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 :

- Utilisation de bouteilles en matière plastiques en raison des facilités qu'elles présentent pour le transport et leur faible coût.
- Les flacons destinés à la culture des cyanobactéries ont été stérilisés au préalable.
- Sur chaque flacon et bouteille des étiquettes comportant la codification suivante, ex : Mexa_25/04/2011_(numéro de station)_ID (identification et comptage) (Silvano, 2005).
- Pour chaque site d'étude nous avons préparé une fiche signalétiques rassemblant les renseignements utiles relevés au cours des opérations (observations météorologiques, paramètres physico-chimiques de l'eau, surveillance des fleurs d'eau,... etc.)
- Les échantillons sont transportés jusqu'au laboratoire dans une glacière (ce qui permet une conservation satisfaisante).
- Il est important de noter que 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.

3.1. Sur terrain

Pour la réalisation de l'étude quantitative et qualitative des peuplements de cyanobactéries dans le barrage Mexa, les prélèvements ont été effectués à l'aide d'un filet à plancton de 20µm de vide de maille muni d'un collecteur (fig. 10). L'opération consiste à filtrer 50L d'eau de surface dans chaque station afin de concentrer la population de Cyanobactéries.

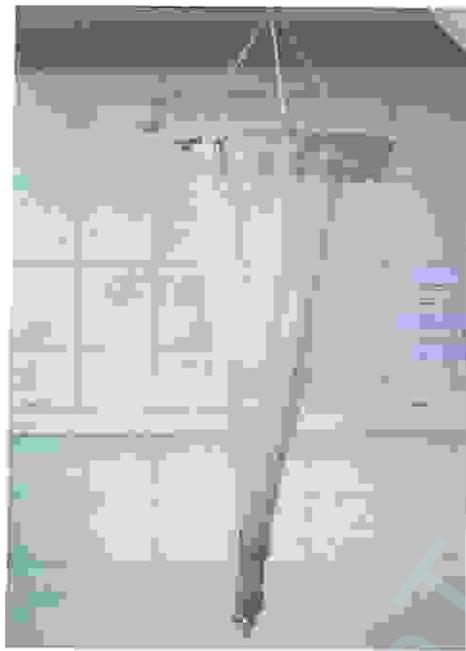


Figure 10 : Photographie du filet à plancton

- Echantillons pour l'identification et le dénombrement : la moitié du filtrat est transféré dans un flacon en matière plastique contenant un conservateur (0,5 ml de formaldéhyde à 37 %) (Brient, 2001 ; Leitão et Couté, 2005 ; Treytire *et al.*, 2007).
- Echantillon pour l'isolement des Cyanobactéries : L'autre moitié du filtrat est transférée dans un flacon en verre stérile, il faudrait fermer rapidement afin d'éviter toute contamination.
- Echantillon pour le dosage des paramètres physico-chimique : Les prélèvements d'eau destinés à l'analyse des éléments nutritifs (nitrites, nitrates, et orthophosphates), ainsi que la chlorophylle a et la matière en suspension ont été effectués à l'aide d'une bouteille d'échantillonnage de 1,5 litres, conservées à l'abri de la lumière et maintenues à basse température dans une glacière. En ce qui concerne l'azote ammoniacal : un volume d'eau de surface est prélevé dans un flacon ombré auquel on rajoute les deux réactifs R1 et R2 (voir fiche de dosage).

3.2. Au laboratoire

Dès l'arrivée au laboratoire :

- Les prélèvements réservés au dénombrement et à l'isolement sont conservés à 4°C jusqu'à l'analyse ultérieure.
- Le volume de 1,5l consacré au dosage des paramètres physico-chimiques et la chlorophylle *a* est réparti comme suit :
 - 500ml réservés au dosage de la chlorophylle *a* sont filtrés sous vide (fig.11) à travers un filtre en microfibrilles de verre Whatman GF/C (0.45 µm).
 - 500ml réservé au dosage des sels nutritifs est également filtré de la même manière, le filtre est récupéré pour le dosage des matières en suspension.

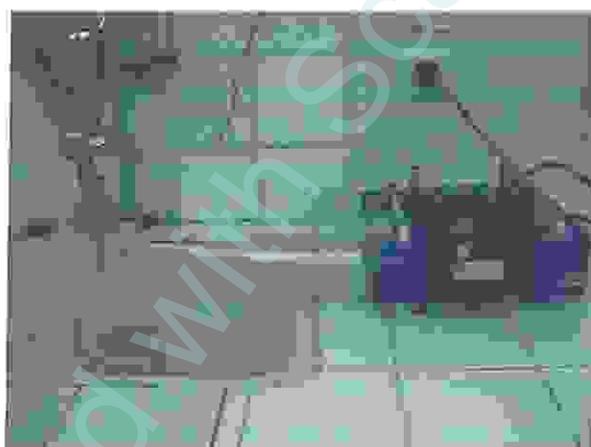


Figure 11 : Photographie du dispositif de filtration sous vide.

4. physico-chimie de l'eau

Les paramètres physico-chimiques étudiés sont : la température, le pH, l'oxygène dissous, les formes azotées (nitrites, les nitrates et l'azote ammoniacal), les orthophosphates, ainsi que la matière en suspension et la chlorophylle *a*.

Les mesures de la température (T°C), le pH, la conductivité (mV/cm²) et l'oxygène dissous (O₂ en mg/l) ont été réalisées « *in situ* » à l'aide de multi paramètres (fig.12).



Figure 12 : Photographie du multi paramètre

4.1. Dosage des sels nutritifs

Les sels nutritifs ont été dosés selon les méthodes suivantes : Aminot et Kérouel (2004) pour les nitrites et l'azote ammoniacal. En ce qui concerne, la chlorophylle *a*, les MES ainsi que les ortho phosphates selon Aminot et Chaussepied (1983). Les nitrates eux suivant ISO (1994):

4.1.1. Dosage de l'azote nitreux (les nitrites NO₂)

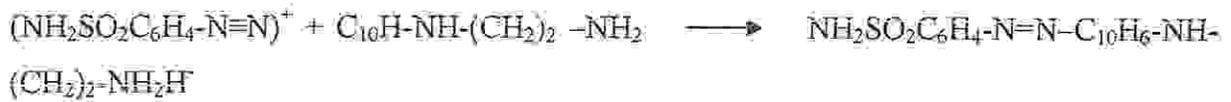
❖ Principe

Cette technique, réalisée par Bendschneider et Robinson (1952), est une des plus sensibles et des plus spécifiques pour l'analyse des eaux naturelles. Elle est basée sur la formation d'un diazoïque après réaction des ions nitrites avec la sulfanilamide en milieu acide (pH<2) selon la réaction :



Sulfanilamide

Le diazoïque obtenu, réagit avec le N-naphtyl-éthylènediamine pour former le colorant :



❖ Mode opératoire

- Rincer le récipient de dosage avec l'eau à analyser
- Prélever 50 ml de l'échantillon, et le transférer au récipient.
- Ajouter 1ml de la solution de sulfanilamide, mélanger puis attendre 2 à 5 minutes.
- Ajouter 1ml de la solution de NES, mélanger.
- Laisser agir au moins 10 minutes, mais pas plus de 1 heure.
- Mesurer l'absorbance de l'échantillon $A_{\text{échant}}$ à $\lambda = 543 \text{ nm}$.
- La concentration des nitrites a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage.

4.1.2. Dosage de l'azote nitrique (les nitrates NO_3^-)

La présente norme internationale spécifie une méthode par spectrométrie pour le dosage des nitrates dans les eaux potables, brute.

❖ Principe

Réaction des nitrates avec le diméthyl-2,6 phénol en présence des acides sulfurique et orthophosphorique, avec production du nitro-4 diméthyl-2,6 phénol. La présente norme internationale spécifie une méthode par spectrométrie pour le dosage des nitrates dans les eaux potables, brute.

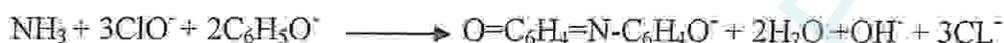
❖ Mode opératoire

- Dans une fiole de 50 ml introduire : 2 ml d'échantillon, 14 ml du mélange acides, 2 ml de diméthyl-2,6 phénol.
- Laisser reposer 10 à 60 mn.
- Mesurer l'absorbance de l'échantillon, à $\lambda = 324 \text{ nm}$.
- La concentration des nitrates a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage.

4.1.3. Dosage de l'azote ammoniacal total (N-NH₃ + N-NH₄⁺)

Principe

Le principe de base est la réaction de Berthelot où l'ammoniac, en milieu basique, réagit tout d'abord avec l'hypochlorite pour former une monochloramine, puis successivement avec deux molécules de phénol pour former le bleu d'indophénol selon la réaction suivante :



❖ Mode opératoire

Le traitement décrit s'applique directement aux échantillons pré-filtrés sur terrain, ainsi qu'aux étalons.

- Rincer le récipient de dosage avec de l'eau à analyser.
- Introduire 100 ml d'échantillon.
- Ajouter 5 ml de la solution de phénol- nitroprussiate, boucher et bien mélanger.
- Ajouter sans attendre 5 ml de la solution complexante au chlore, boucher et mélanger à nouveau.
- Placer le flacon immédiatement à l'abri de la lumière, à T° ambiante, pendant au moins 6 heures.
- Si les échantillons sont visiblement turbide, centrifuger l'échantillon avant la mesure colorimétrique.
- Mesurer l'absorbance de l'échantillon A_{brut} à $\lambda = 630 \text{ nm}$.
- La concentration de l'azote ammoniacal a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage.

4.1.4. Dosage des Ortho phosphates (PO₄³⁻)

Le dosage des orthophosphates a été réalisé selon la méthode de Murphy et Riley (1962); cette dernière reste jusqu'à présent une des méthodes les plus rapides et les plus simples pour le dosage des orthophosphates dans l'eau.

❖ Principe

Cette technique est basée sur la réaction des ions phosphates avec le molybdate d'ammonium, en présence d'antimoine III ; cette réaction aboutit à la formation d'un complexe que l'on réduit par l'acide ascorbique ; cette réduction mène à la formation d'une solution de coloration bleue dont le maximum d'absorbance a lieu à une longueur d'onde égale à 885 nm.

❖ Mode opératoire

- Prendre 100 ml de l'échantillon, y ajouter 10 ml du mélange réactifs.
- Attendre 5 mn et lire l'absorbance à $\lambda = 885 \text{ nm}$.

La concentration des orthophosphates a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage.

4.2. Dosage de la Chlorophylle a dans l'eau

❖ Principe

La mesure des pigments phytoplanctoniques repose sur leurs caractéristiques spectroscopiques : absorption de lumière (spectrophotométrie) ou fluorescence (fluorimétrie). Contenue dans les cellules, la chlorophylle *a* est un paramètre « particulière » qui pour une mesure précise au laboratoire nécessite la récolte du matériel en suspension par filtration, suivie d'une extraction du filtre par un solvant et finalement la mesure de l'absorbance de l'extrait.

❖ Mode opératoire

a) Filtration

- Filtrer l'échantillon d'eau brute à travers un filet ou un tamis de 200 à 250 μm de vide de maille ce qui permet l'élimination grossière du zooplancton.
- Filtrer un volume connu d'échantillon (0.5 à 5 litres) sous vide, sur membrane en fibre de verre (WHATMAN GF/C 47 μm) recouverte au préalable d'une fine couche de carbonate de magnésium pour éviter l'altération de la chlorophylle.

b) Extraction

- Introduire la membrane filtrante dans un tube à centrifuger contenant 10 ml d'acétone à 90%.

- Déchiqueter le filtre à l'aide d'une baguette ou d'un tube en verre à embout coupant. Boucher et agiter vigoureusement pour disperser les fibres.

- Laisser l'extraction acétonique se poursuivre une nuit au réfrigérateur.

c) Centrifugation et transfert de l'extrait préalable à la mesure spectroscopique

- Contrôler le volume du solvant, le noter ou l'ajuster. Les tubes doivent être bouchés jusqu'à la mesure.

- Centrifuger les tubes durant une minute à 3000 - 4000 tours, faire tomber les fibres de verre qui adhèrent la paroi.

- Centrifuger à nouveau 5 à 10 mn à 3000 - 4000 tours.

- Transférer le surnageant de centrifugation dans la cuve de mesure (par aspiration).

d) Mesure des absorbances selon la méthode trichromatique

- Laisser revenir à température ambiante les extraits s'ils sont froids

- Rincer 2 fois la cuve avec un peu d'extrait à analyser

- Transférer dans la cuve assez de volume pour faire la mesure. Veiller à ne pas entrainer des fibres.

- Vérifier la propreté des faces de la cuve et la positionner correctement sur le portoir.

- Mesurer les absorbances brutes de l'extrait à 630, 647, 664 et 750 nm : $A_{630 \text{ brut}}$, $A_{647 \text{ brut}}$, $A_{664 \text{ brut}}$ et B_{brut}

e) Calculs des concentrations de pigments selon la méthode trichromatique

- $A_{630} = (A_{630 \text{ brut}} - bc_{630}) - (B_{\text{brut}} - bc_{750})$

- $A_{647} = (A_{647 \text{ brut}} - bc_{647}) - (B_{\text{brut}} - bc_{750})$

- $A_{664} = (A_{664 \text{ brut}} - bc_{664}) - (B_{\text{brut}} - bc_{750})$

Calculer les chlorophylles a, b et c selon :

$$\boxed{[\text{Cnl a}] \mu\text{g/l} = (11,85 \times A_{664} - 1,54 \times A_{647} - 0,08 \times A_{630}) \times v / \sqrt{xl}}$$

4.2. Dosage de la matière en suspension (MES)

La connaissance de la quantité de matières en suspension (MES) est importante pour l'étude des milieux aquatiques. Les particules réduisent la transparence de l'eau et de ce fait la production primaire photosynthétique. Selon leur nature, Elles sont également une source nutritive non négligeable pour la faune.

❖ Principe

La détermination de la matière en suspension dans l'eau a été réalisée par l'application de la méthode de pesée différentielle après filtration d'échantillon sur un filtre en fibre de verre WHATMAN GF/C 47 µm de porosité.

Le filtre a été pesé avant et après filtration. La différence de poids permet de connaître le poids sec total de la matière en suspension dans le volume filtré correspondant (Aminot et Chaussepied, 1983).

$$\text{MES (mg/l)} = \frac{P2 - P1}{V}$$

P1 = poids du filtre avant filtration (mg)
 P2 = poids du filtre après filtration (mg)
 V = volume d'eau filtrée (litre).

5. Etude des cyanobactéries du barrage Mexa

5.1. Identification

La détermination des genres récoltés est réalisée par l'observation microscopique des caractères morpho-anatomiques selon les clés d'identification universellement acceptées (Bourrelly, 1985; Bergey, 1994).

Les 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),

akinetés, hétérocystes, vacuoles à gaz (pseudovacuoles).

5.2. Dénombrement

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 50 μ l.

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

La méthode consiste à :

- prendre un sous échantillon de 1ml,
- prélever 50 μ l 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 (μ L).

V: volume du sous échantillon (1ml)

5.3. Isolement et culture des Cyanobactéries

- **Ensemencement :** Pour chaque station, un aliquote de 100µl d'échantillon a été ensemencé sur milieu BG11 solide et liquide en triplicata.

Les inocula du milieu liquide ont été cultivés dans des Erlenmeyer et dans des plaques multi-puits.

- **Incubation :** Les boîtes ont été incubées sous lumière continue pendant plusieurs semaines. En effet, nous avons placé un néon «cool daylight L36W/765» juste au dessus des boîtes de Pétri et des Erlenmeyer (milieu liquide) 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 puis tous les jours jusqu'à 3 à 6 semaines.

- **Identification :** L'identification a été essentiellement basée sur l'étude morphologique comprenant l'examen macroscopique et microscopique des colonies isolées :

- a) **Examen macroscopique :** L'aspect des colonies est très variable selon les espèces. On distingue les formes coloniales qui donnent généralement des colonies vertes, irrégulières, plates avec une croissance planaire le long de la surface d'agar et n'ayant pas de forme définissable, et les formes filamenteuses qui se caractérisent par des filaments réguliers avec une croissance aléatoire, planaire le long de la surface d'agar ou creuse, enfoncée dans l'agar. La couleur des filamenteuses varie entre le vert et le brun marron (Roger, 2006).

- b) **Examen microscopique :** Toutes les colonies qui apparaissent sont systématiquement observées au microscope optique afin de sélectionner celles qui correspondent micromorphologiquement aux cyanobactéries.

CHAPITRE III

Résultats & discussions

Produced with ScantOPDF

1. Résultats et discussion des caractéristiques de l'eau du barrage Mexa

1.1. Paramètres physico-chimiques

1.1.1. La température

Les résultats obtenus durant cette période d'étude montrent que ce paramètre présente des variations similaires dans l'ensemble des stations.

Les valeurs enregistrées varient entre 10 et 23°C, la température minimale étant relevée le 16.04.2011 et la maximale au mois de mai (fig.13).

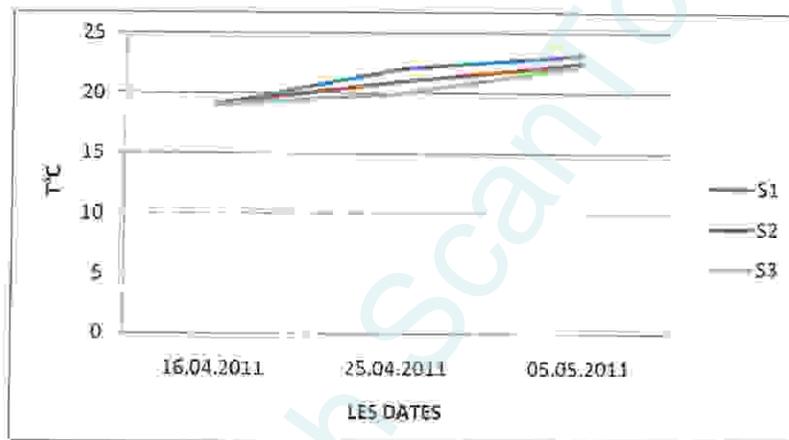


Figure 13 : Variations de la température de l'eau dans les 3 stations (Barrage Mexa : Avril-Mai 2011)

Ce régime thermique (T°C) des eaux superficielles du barrage Mexa est le reflet du caractère méditerranéen qui est doux au printemps.

Les conditions climatiques locales, notamment la température de l'air, déterminent de façon directe les fluctuations de la température de l'eau.

1.1.2. L'oxygène dissous

Les teneurs en oxygène dissous varient avec similitude dans l'ensemble des stations à l'exception du mois de mai où une valeur maximale (supérieur à 7 mg/l) est relevée dans la station 1 (fig.14).

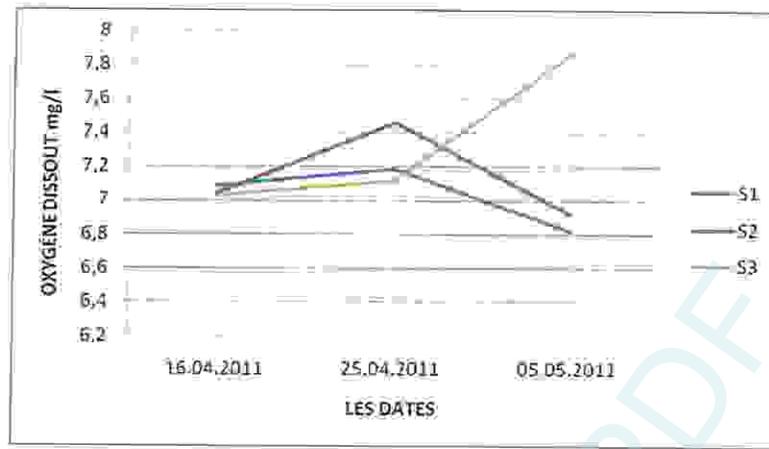


Figure 14: Variations des teneurs en oxygène dissous de l'eau dans les 3 stations (Barrage Mexa : Avril-Mai 2011)

La concentration en oxygène dissous est une variable d'état fondamentale, qui intervient dans beaucoup de processus, c'est également un bon indicateur de la santé d'un écosystème (Bourlange, 2000). Il dépend ainsi de l'activité biologique du milieu, c'est-à-dire l'équilibre photosynthèse- respiration, des vents et de la température, ces variations donc sont la résultante d'un grand nombre de facteurs biotiques et abiotiques (Khattabi, 2002).

La teneur élevée relevée est due vraisemblablement aux agitations mécaniques provoquées par les vents et les basses températures relatives aux moments du prélèvement.

1.1.3. Le pH

Les eaux du barrage Mexa sont alcalines. Notons, toutefois que la forte valeur (10.91) est relevée au mois de Mai (Fig 15).

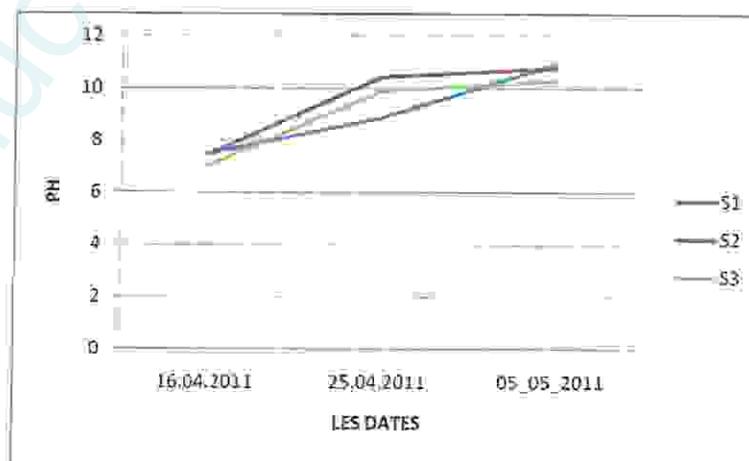


Figure 15: Variations du pH de l'eau dans les 4 stations (Barrage Mexa : Avril-Mai 2011)

Dans la littérature, il a été rapporté que cette alcalinité du milieu est probablement liée à l'activité photosynthétique du phytoplancton dont les cyanobactéries (forte consommation du CO_2 et transformation

du bicarbonate en carbonate) (Pick et Lean 1987) et peut être également expliquer également par la ventilation du milieu (Hamaidi *et al.*, 2009).

1.1.4. Les nitrates (NO_3^-)

Les concentrations en nitrate enregistrées durant notre période de prélèvement ne dépassent pas 2,5 mg/l à l'exception du mois de Mai où une valeur maximale (> à 5 mg/l) est relevée dans la station 3 (fig.16).



Figure 16: Variations des teneurs en nitrates de l'eau dans les 3 stations (Barrage Mexa : Avril-Mai 2011)

Les teneurs maximales relevées au moi de Mai sont liées probablement aux apports des oueds et aussi aux phénomènes de dégradation de la matière organique. En ce qui concerne les faibles teneurs enregistrées dans les deux mois précédant, elles pourraient être expliquées par la réduction de cet élément ou encore sa consommation par les producteurs primaires.

1.1.5 Les nitrites (NO_2^-)

Les données relatives à ce paramètre, montre une évolution similaire dans l'ensemble des stations de prélèvement. La valeur moyenne maximale étant enregistrée en Mai (1.3 mg/l). Par ailleurs, c'est durant le premier prélèvement que les teneurs les plus basses (inférieures à 0.7 mg/l) sont relevées (fig.17).

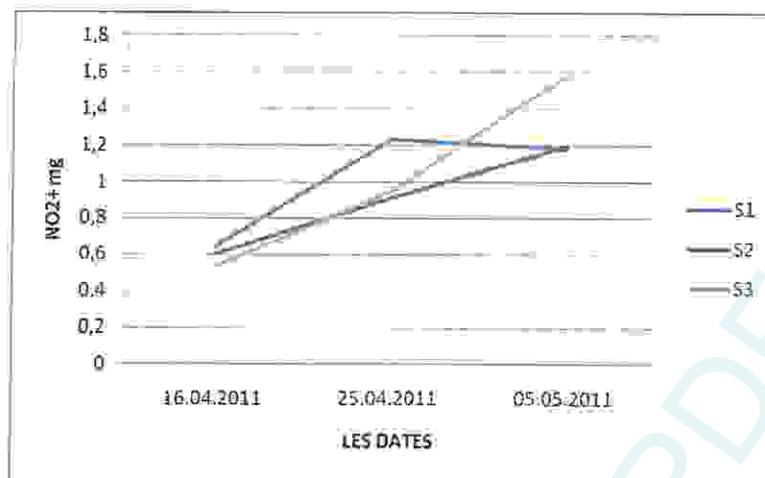


Figure 17: Variations des teneurs en nitrites de l'eau dans les 3 stations (Barrage Mexa : Avril-Mai 2011).

L'augmentation de teneurs en cet élément azoté lors du dernier prélèvement est probablement due à une réduction des nitrates apportée par les oueds et à une utilisation moindre par le phytoplancton.

1.1.6 Les orthophosphates (PO₄³⁻)

La teneur en orthophosphates montre des valeurs qui n'excèdent pas 0,5 mg/l à l'exception du mois de Mai où les teneurs maximales sont enregistrées.

C'est au niveau de la station 1 que les teneurs les plus élevées sont relevées 3,89 mg/l

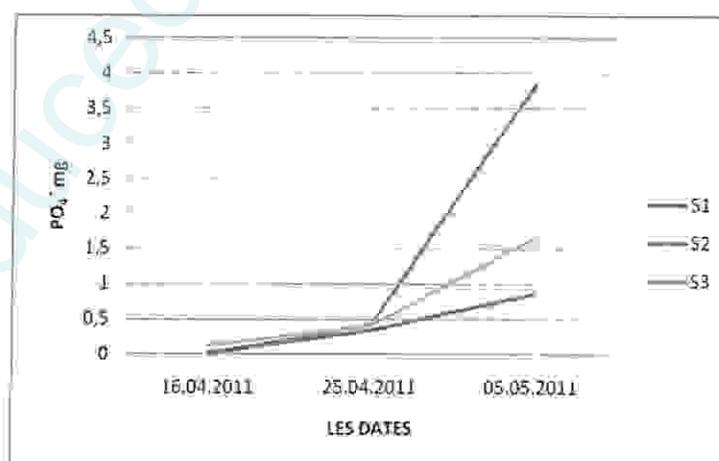


Figure 18: Variations des teneurs en orthophosphates de l'eau dans les 3 stations (Barrage Mexa : Avril-Mai 2011)

Le phosphore est un élément constitutif nécessaire de la matière vivante : il entre en particulier dans la composition de l'ATP, des acides nucléiques : ADN et ARN et des lipides phosphorés (Bougis, 1974). Il

est souvent le facteur limitant en milieu limnique par suite de la faiblesse du taux de phosphates dissous (Ramade, 1996).

La teneur maximale, peut être expliquée par le recyclage de cet élément à partir des sédiments et de la matière morte et ceci dépend de plusieurs mécanismes physiques (température élevée..., chimiques et biologiques (Galvez Cloutier, 2002 ; Gächter et Müller, 2003).

1.1.7. Azote ammoniacal (NH_4^+)

Les teneurs en azote ammoniacal montre une évolution similaire dans l'ensemble des stations de prélèvement, notons toutefois que les minimas sont relevés dans les deux premiers prélèvements (< à 3 mg/l) et les maximas sont enregistrés au mois de Mai (dépassant 15 mg/l).

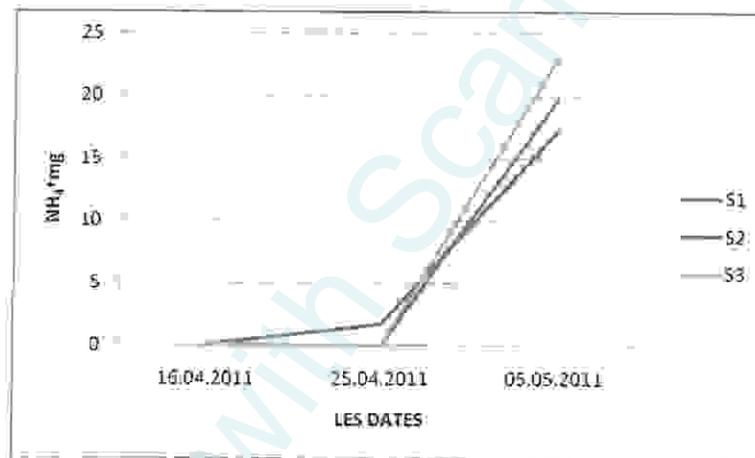


Figure 19: Variations des teneurs en azote ammoniacal de l'eau dans les 3 stations (Barrage Mexa : Avril-Mai 2011).

Les faibles teneurs relatives à cet élément relevées dans les eaux du barrage au cours des premiers prélèvements sont vraisemblablement liées d'une part à une réaction de nitrification qui se fait par une action bactérienne « *Nitrosomonas* et *Nitrobacter* » (Dajoz, 1985), et d'autre part à son assimilation par les algues qui l'absorbent préférentiellement durant leur période de croissance.

En ce qui concerne les fortes teneurs en azote ammoniacal relevées lors du 3ème prélèvement, elles s'expliquent par son apport important par le biais des flux et la dégradation de la matière organique, favoriserait ainsi sa libération.

1.1.8 Les matières en suspension (MES)

Les teneurs en MES des eaux du barrage Mexa au cours de la période d'étude montre une augmentation progressive de ces éléments d'un prélèvement à l'autre. Notons toutefois, un maximum de 33.4 mg/l relevés le 16.04.11 et un minimum de 3.4 mg/l enregistré lors du dernier prélèvement (fig.20).

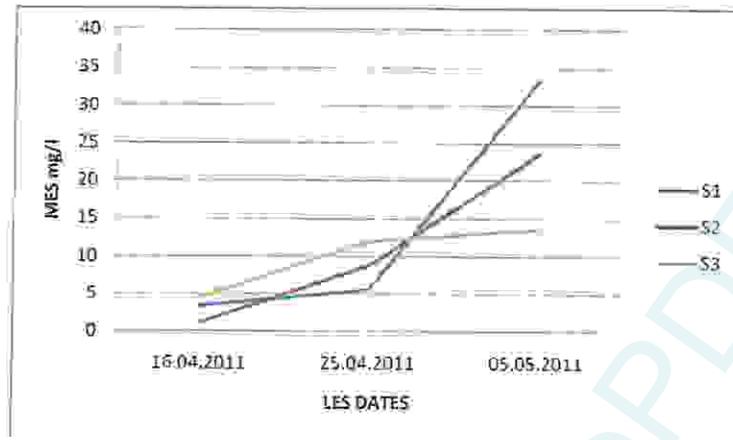


Figure 20: Variations des teneurs en matière en suspension dans l'eau des 3 stations (Barrage Mexa : Avril-Mai 2011).

Les fortes teneurs en matière en suspension relevées en Mai sont liées à l'augmentation de la productivité primaire (Khattabi, 2002), en réponse aux conditions environnantes.

1.1.9 La chlorophylle *a* (chl *a*)

Les résultats du dosage de la chlorophylle *a* montrent que les teneurs en ce pigment présentent des variations spatio-temporelle durant notre période d'étude. Au niveau de la station 1 la teneur la plus élevée (16.64 mg/l) est enregistrée en Mai. En revanche dans la station 3, c'est au cours de la deuxième sortie que la concentration maximale est relevée. En ce qui concerne la station 2, les données relatives à la chl *a* montrent une stabilité de concentrations durant les 3 prélèvements (fig.21).

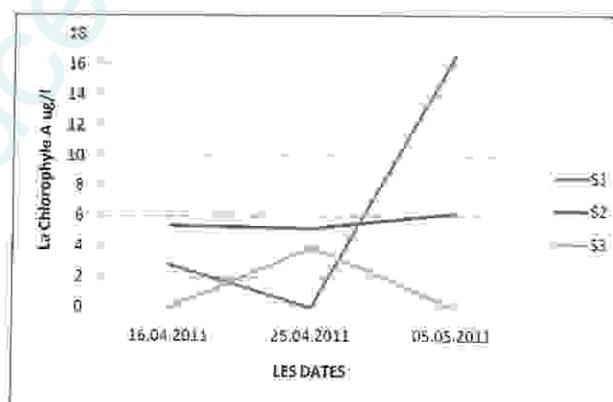


Figure 21: Variation de la teneur moyenne en chlorophylle *a* dans les 3 stations (Barrage Mexa : Avril-Mai 2011).

Dans une logique d'étude de fonctionnement d'un écosystème, l'estimation de la teneur en chlorophylle fournit une indication globale et intégratrice des réponses de la communauté phytoplanctonique aux fluctuations de son environnement (Harris, 1986).

La forte teneur en chlorophylle *a* enregistrée ne peut être associée qu'à une poussée phytoplanctonique qui est, selon Izaguirre (2001), influencée par la température ainsi que les fortes intensités lumineuses.

La faible teneur enregistrée serait en relation avec les basses températures et la dilution qui affecte les communautés phytoplanctoniques (Zalocar de Domitrovic, 1992 ; Engle et Melack, 1993 ; Garcia de Emiliani, 1997 ; Huszar & Reynolds, 1997)

2. Étude des cyanobactéries du barrage Mexa

2.1. Étude qualitative des cyanobactéries

L'observation des caractères morpho-anatomiques des cyanobactéries récoltées dans le barrage Mexa au cours de ce travail, nous a permis d'identifier uniquement le genre potentiellement toxique : *Microcystis*. En se basant sur les critères proposés par Komarek et Komarkova (2002) et des travaux antérieurs sur les cyanobactéries peuplant ce plan d'eau (Saoudi, 2009), 3 morpho-espèces ont pu être déterminées à savoir : *M. flos aquae*, *M. aeruginosa*, *M. botrys*.

Néanmoins, la détermination de l'espèce doit être confirmée par le biais de la biologie moléculaire (Otsuka, 2001) :

➤ *Microcystis aeruginosa*

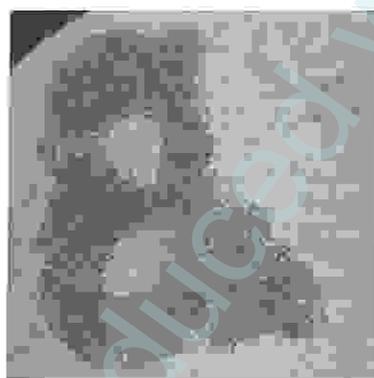


Figure 22 : Colonie de *M. aeruginosa*, gr : 40x (Mai 2011)



Figure 23: Colonie de *M. aeruginosa*, gr: 40x (Mai 2011)

Tableau 6 : Caractéristiques de la morphoespèce *M. aeruginosa*

Caractère	Description
Couleur	Verte
Forme de cellule	contour irrégulier, des trous bien distincts (pour les colonies vieilles); petites ± sphériques ou colonies irrégulières (pour les colonies jeunes)
Densité de cellules	± dense et agglomération irrégulière
Taille	4.63µm
Gaine	mucilage incolore
Pseudovacuoles	nombrenses

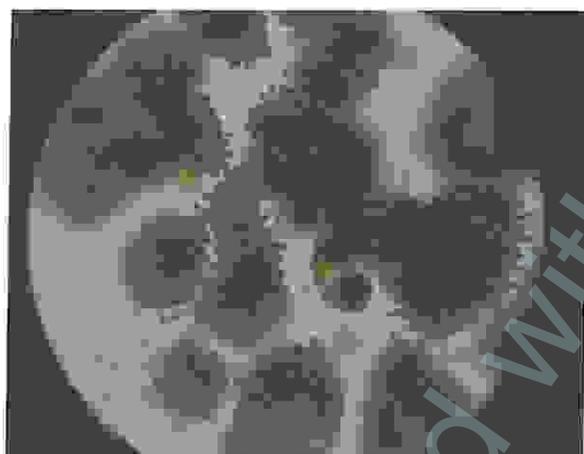
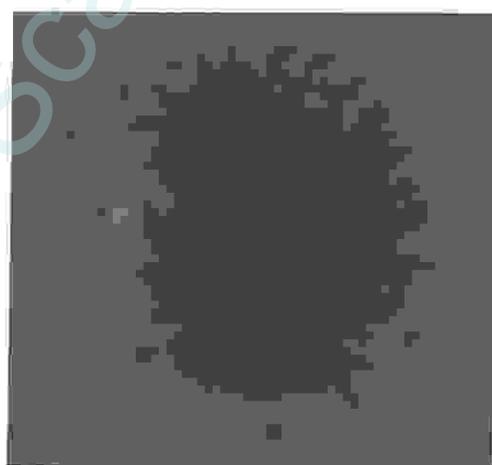
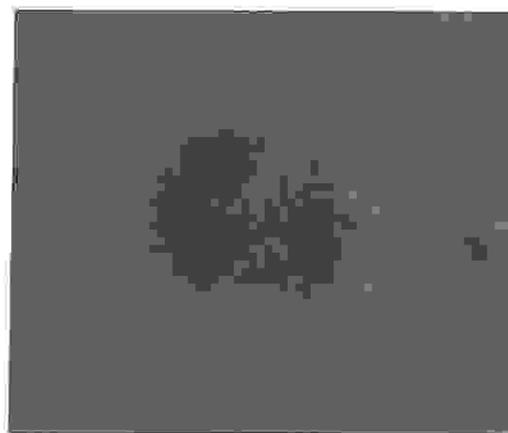
➤ *Microcystis botrys*Figure 24: Colonies de *M. botrys* avec présence des grains de pollen, gr : 40x (Mai 2011)Figure 25 : colonie de *M. botrys*, gr : 40x (Mai 2011)Figure 26: Cellules de *M. botrys*, gr : 100x (Mai 2011)Figure 27: Colonie de *M. botrys*, gr : 40x (Mai 2011)

Tableau 7: Caractéristiques de la morphoespèce *M.botrys*

Caractère	Description
Couleur	Verte
Forme de cellule	Extrémités de colonies ±sphériques, se joignent irrégulièrement sans former de trous, cellules solitaire dans une enveloppe fine.
Densité de cellules	très dense dans le centre
Taille	9.62µm
Gaine	enveloppe distinct (Komarek et al.,2002),
Pseudovacuoles	nombreuses

➤ *Microcystis flos aquae*



Figure 28: Colonie de *M.flos aquae*, gr : 40x (Mai 2011)

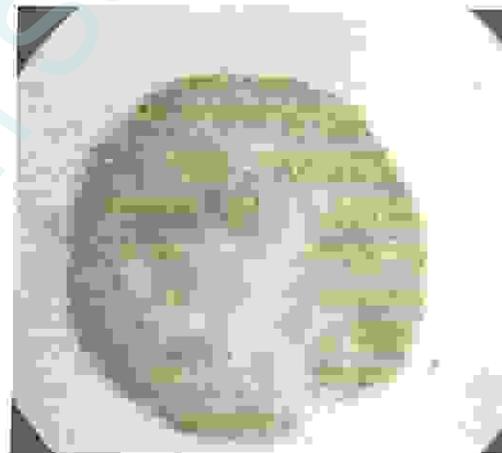


Figure 29: Colonie de *M.flos aquae*, gr : 40x (Mai 2011)

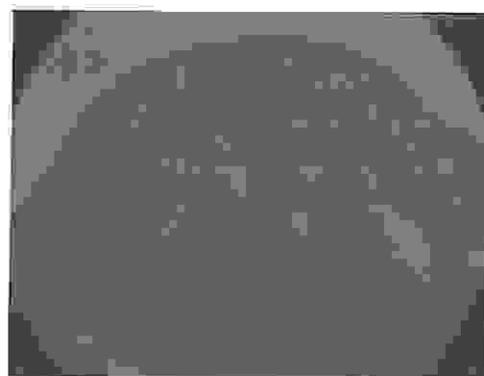


Figure 30: Colonie de *M.flos aquae*, gr : 100x (Mai 2011)

Tableau 8: Caractéristiques de la morphoespèce *M.flos aquae*

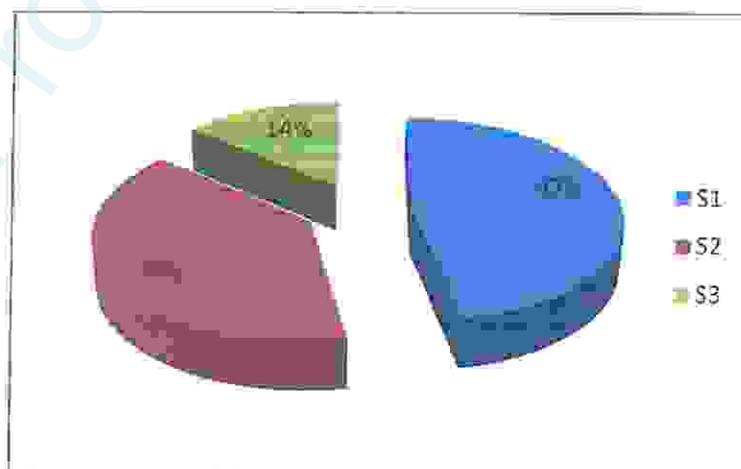
Caractère	Description
Couleur	Verte
Forme de cellule	solitaire, sphère irrégulier
Densité de cellules	très dense, homogénéité des cellules agglomérées.
Taille	4.26µm
Gaine	diffuse, indistincte, mucilage incolore.
Pseudovacuoles	nombreuses

2.2. Etude quantitative des cyanobactéries

2.2.1. Distribution spatiale

Le genre *Microcystis* rencontré dans les eaux du barrage, montre une distribution spatiale hétérogène. Cette micro-algüe est présente à des taux de 47 % dans la station 1 qui est abritée, 30% dans la station 2 et 14% dans la station 3 (toutes les deux exposées au vent).

Cette distribution pourrait être expliquée par la présence de nombreuses vacuoles à gaz dans les cellules de ces micro-organismes en lui permettant de se déplacer verticalement dans la colonne d'eau, et de faciliter leur transport par les vents dominants vers les sites exposés pour s'accumuler sur les berges (Chorus & Bartram, 1999 ; Briant *et al.*, 2004). Dans notre cas les vents sont orientés vers la station 1 d'où leur nombre accrus (Fig.31) :



La prédominance du genre *Microcystis* s'expliquerait par le fait que ce genre est très peu consommé par le zooplancton (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. La capacité de ce genre à former des agrégats en surface, le place dans une position de dominance vis-à-vis des autres genres en leur interdisant l'accès à la lumière (Affsa et Affset, 2006). Nos données sont corroborées par celles de nombreux auteurs qui signalent l'omniprésence du genre *Microcystis* dans le barrage Mexa (Saoudi, 2009), le lac Oubeira (Boussadia, 2008 ; Bensafia, 2005; Boulesnane et Chaïbi, 2002 ; Amissi et Yahiaoui, 2001 et Menail, 2000) et dans le lac Tonga (Bouchaar, 2006 et Matmed, 2000).

2.2.2. Distribution spatio-temporelle du genre *Microcystis*

La densité globale du genre *Microcystis* peuplant le barrage Mexa, montre une variation spatio-temporelle au cours de la période d'étude. Notons toutefois, que les densités les plus élevées (5831964, 5124650 cell/ml) sont enregistrées dans les stations S1 et S2 pour le prélèvement du mois de Mai. (fig.32).

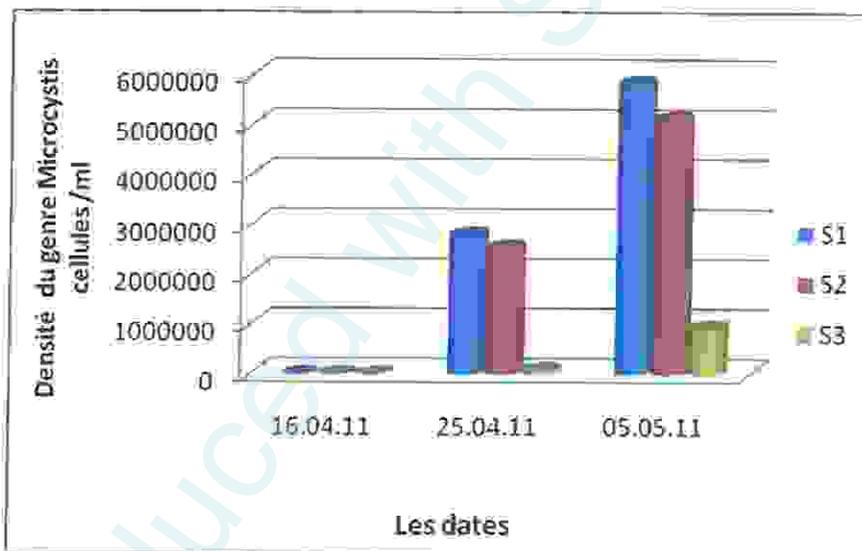


Figure 32 : Distribution spatio-temporelle de la densité du genre *Microcystis* dans le barrage Mexa (Avril - Mai 2011)

Cette variation spatio-temporelle est liée vraisemblablement aux changements des conditions environnantes à savoir : climatiques (température, luminosité, etc.), disponibilité d'éléments nutritifs qui pourraient favoriser le développement des cyanobactéries y compris le genre *Microcystis* et augmenter ainsi l'incidence de leurs floraisons (Weyhenmeyer, 2001 ; Blenckner *et al.*, 2002 ; Hunter, 2003). Des résultats similaires sont rapportés par Cogels *et al.*, 2001, qui notent la prédominance nette des cyanobactéries dans le lac Guiers en réponse à un temps calme et ensoleillé.

2.2.3. Densité moyenne des différentes espèces du genre *Microcystis* déterminées

Nos données montrent une prédominance nette de l'espèce *Microcystis aeruginosa* avec une densité moyenne de 1517679 cellules /ml suivie par les espèces, *M. botrys*, *M. flos aquae* dont les densités respectives sont 28436 et 489194,5 cell /ml (fig. 33).

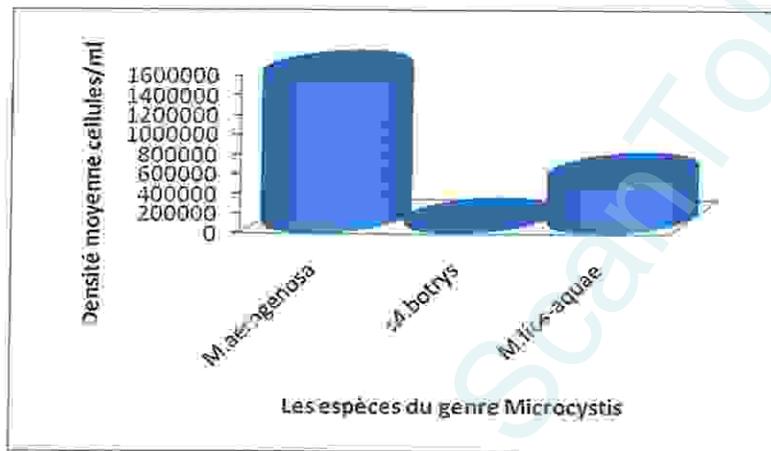


Figure 33: Densité moyenne des différentes morphoespèces du genre *Microcystis* dans le barrage Mexa (Avril - Mai 2011).

Ba (2006) rapporte que la prédominance d'une espèce au sein d'une communauté dépend d'un grand nombre de facteurs, incluant des variables physiques (comme la stabilité hydrodynamique de la colonne d'eau), chimiques (comme les sels nutritifs) et biologiques (comme le broutage et la compétition).

2.2.4. Distribution spatio - temporelle des différentes espèces du genre *Microcystis*

➤ *Microcystis aeruginosa*

Les données relatives à la variation spatio-temporelle de l'espèce *Microcystis aeruginosa*, montrent que la densité la plus élevée (allant jusqu'à 3281760 cell/ml) enregistrée au mois de Mai dans l'ensemble des stations. Durant le deuxième prélèvement, les densités varient de 25000min à 5000000max. En ce qui concerne le premier prélèvement, une absence totale de cette espèce est marquée (fig. 34).

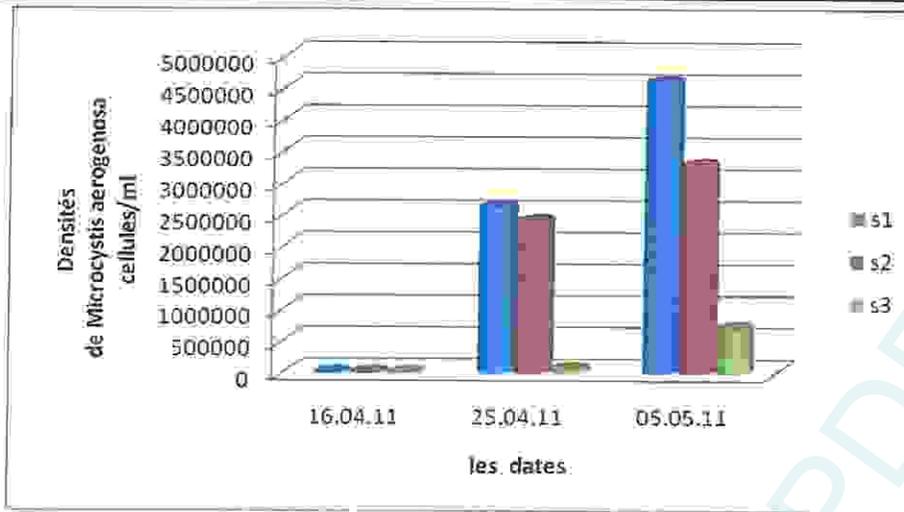


Figure 34 : Variation spatio - temporelle de *M.aeruginosa* dans le barrage Mexa (Avril - Mai 2011).

➤ *Microcystis botrys*

La densité maximale (121981,5 cell/ml) de l'espèce est enregistrée au mois de Mai dans la station 2. En revanche, dans la station 1 c'est au 25.04.2011 que la densité la plus élevée (47497,5 cell/ml) est relevée (fig.35).

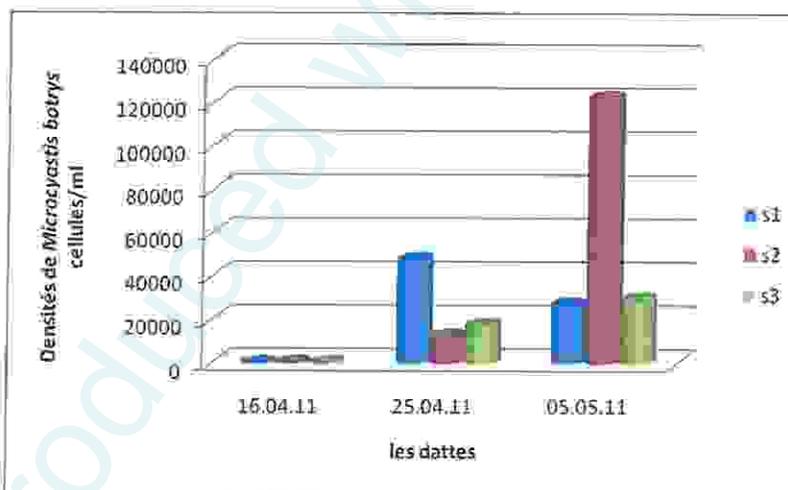


Figure 35 : Variation spatio - temporelle de *M. botrys* dans le barrage Mexa (Avril - Mai 2011).

➤ *Microcystis flos-aquae*

Les densités de l'espèce *M. flos-aquae* ne dépassent pas 200 000 cell/ml dans l'ensemble des stations de prélèvement durant la période d'étude, à l'exception du mois de Mai où des densités élevées (1720908 - 1214586 cell/ml) sont enregistrées respectivement dans les stations 2 et 1.

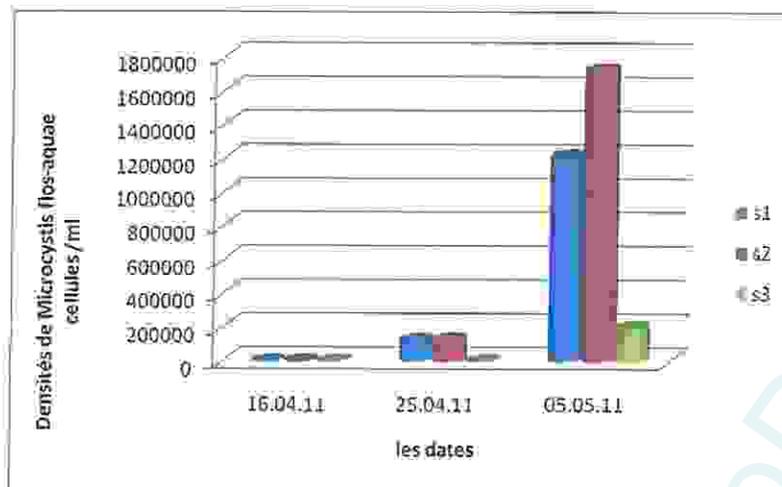


Figure 36: Variation spatio - temporelle de *M. flos-aquae* identifiés dans le barrage Mexa (Avril au Mai 2011).

La diversité spatio-temporelle des différentes espèces du genre *Microcystis* identifiées est liée probablement à leurs différentes capacités d'adaptation en rapport avec les conditions environnementales dans lesquelles ils se trouvent. 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.

3. Culture des cyanobactéries

Puisqu'elles sont photoautotrophes 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, difficiles à cultiver, présentent une croissance lente (Rippka, 1988 ; Chorus & Bartram, 1999).

3.1. Examen macroscopique et microscopique

L'examen macroscopique et microscopique des différents échantillons ensemencés sur BG11 solide et liquide a été fait régulièrement après 7, 15, 28 jours d'incubation à 25 °C en lumière continue et une éventuelle agitation dans le milieu liquide .

➤ Milieu liquide

L'observation des échantillons ensemencés sur milieu BG 11, montre un changement de couleur du milieu (incolore au départ) qui témoigne la prolifération des cyanobactéries, ceci concerne uniquement les prélèvements du 25.04.2011 (excepté la station 3) et 05 05 2011. Pour le prélèvement du 16 05.2011 aucun changement n'a été remarqué.

Les résultats de culture obtenus à partir des 3 stations de prélèvement sont présentés par les photographies suivantes :



Figure 37: cyanobactéries sur milieu BG11 liquide après 15 jours d'incubation (Mai 2011)



Figure 38: Cyanobactéries sur milieu BG11 liquide après 15 jours d'incubation (Mai 2011)

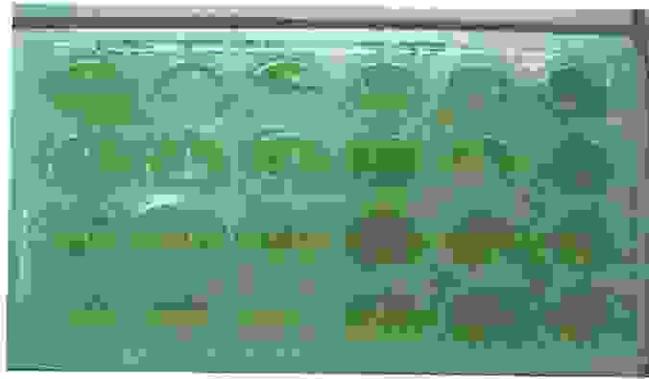


Figure 39: Cyanobactéries sur milieu BG11 liquide dans des plaques multi-puits après 5 jours d'incubation (Mai 2011)

➤ Milieu solide

Sur la totalité des boîtes ensemencées, 60% montrent la présence de poussée cyanobactérienne. Les colonies observées sont de différentes couleurs : vertes, brune et de différents diamètres. Cependant, 30% des boîtes de Pétri ont donné des cyanobactéries filamenteuses.

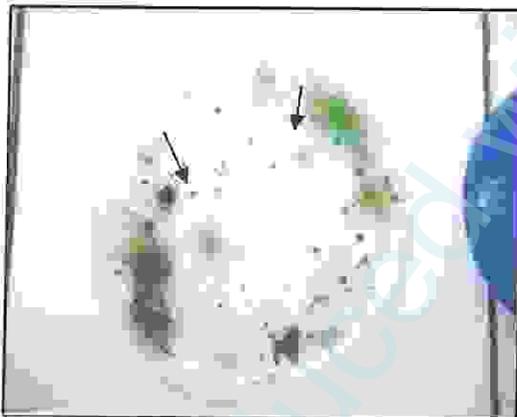


Figure 40: Colonies de cyanobactéries sur milieu BG11 solide après 28 jours d'incubation (Mai 2011)



Figure 41: Colonies de cyanobactéries sur milieu BG11 solide après 21 jours d'incubation (Mai 2011)

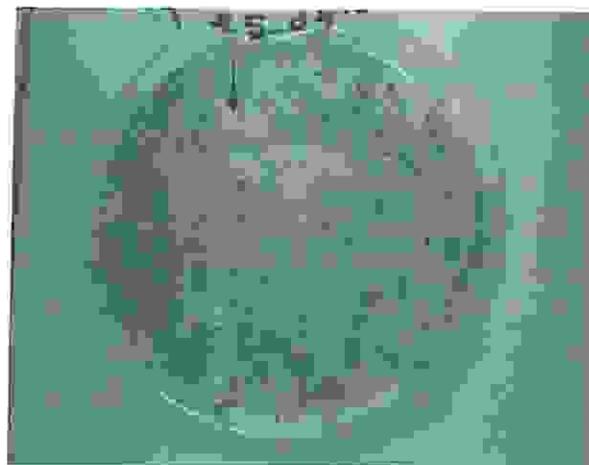


Figure 42: Cyanobactéries filamenteuses sur milieu BG11 solide après 21 jours (Mai 2011)

3.2. Examen microscopique

L'observation microscopique des cultures liquides révèle la présence du genre *Microcystis* avec une dominance de la morphoespèce *Microcystis aeruginosa*.

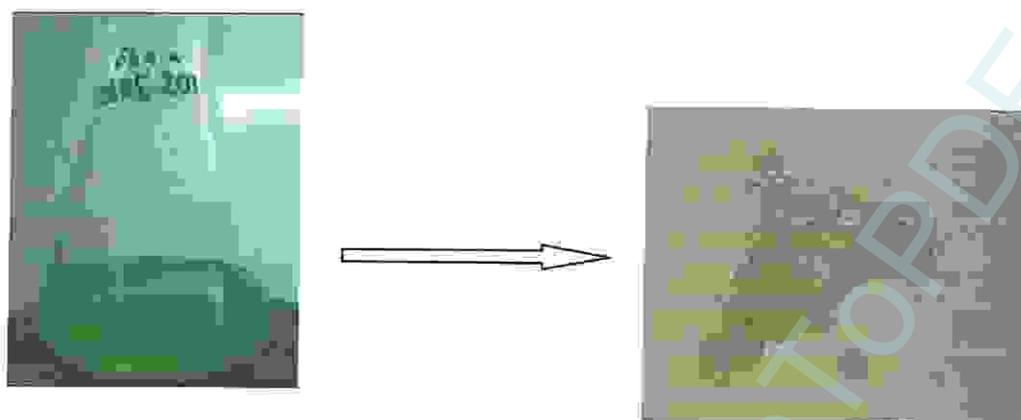


Figure 43: Observation microscopique d'un état frais de cyanobactéries ensemencées sur milieu BG 11 liquide (Mai 2011) gr*40

Les colonies vertes crémeuses observées sur milieu BG 11 solide correspondent au genre *Microcystis* sp. Tandis que les autres colonies observées correspondent aux genres : *Pseudoanabaena*, *Lyngbia* et *Spirulina*.

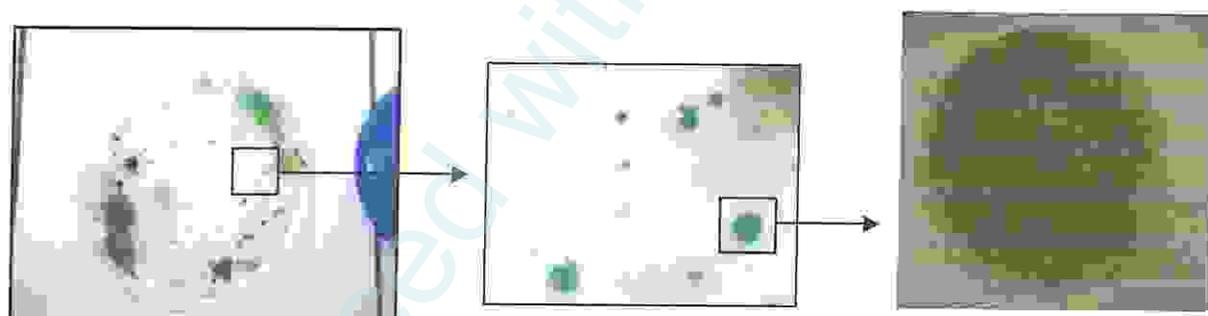


Figure 44: Observation microscopique des colonies vertes crémeuses (Mai 2011) gr*40

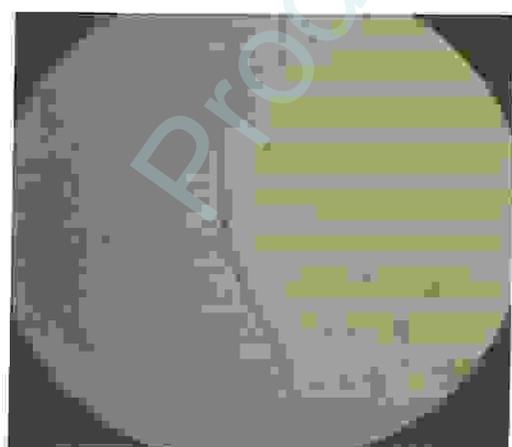


Figure 45: *Lyngbia* sp. observée sur milieu BG 11 solide (Mai 2011) gr*40



Figure 46: *Pseudoanabaena* sp. observée sur milieu BG 11 solide (Mai 2011) gr*40

***Conclusion &
perspectives***

Produced with ScanTOPDF

Conclusion

A la suite des résultats obtenus et des constatations faites à travers cette étude, la température semble être le facteur déterminant dans les variations des paramètres biotiques et abiotiques. En effet, ce paramètre en relation inverse avec l'oxygène dissous dans l'eau, influence la production primaire et par conséquent les variations du pH. Il semble qu'il contrôle aussi la disponibilité des sels nutritifs charriés par les précipitations et autres ruissellements provenant des terres agricoles, tout en accentuant les phénomènes de dégradation et de relargage.

L'étude qualitative des cyanobactéries peuplant les eaux du barrage Mexa a montré la présence d'un seul genre, *Microcystis*, considéré comme potentiellement toxique avec cependant, 3 morpho - espèces distinctes : *M. aeruginosa*, *M. flos aquae* et *M. botrys* selon Komarek et Komarkova (2002). Cette dominance serait liée à la présence de nombreuses vacuoles à gaz dont est pourvu ce genre, lui permettant d'ajuster sa position dans la colonne d'eau. Ainsi, ces morphoespèces peuvent se déplacer de la surface, profitant ainsi au mieux de l'énergie lumineuse, vers des couches d'eau plus profondes, où elles bénéficient de concentrations élevées en nutriments provenant des dégradations en conditions réductrices voire anoxiques. Elles peuvent aussi occuper, pendant plusieurs mois, une couche bien précise dans la colonne d'eau en s'accumulant par exemple en surface pour former une écume. Cette stratégie d'occupation des espaces, leur permet d'entrer en compétition avec d'autres espèces en leur interdisant l'accès à la lumière. Enfin, ce contrôle de la flottaison limite les processus de sédimentation (Aïfssa et Aïfset, 2006). Parallèlement ces espèces sont dotées de moyens de défense développés (telle que la gaine mucilagineuse) leur évitant ainsi le broutage par le zooplancion.

L'étude de la distribution spatio-temporelle du genre *Microcystis* dans les eaux du barrage Mexa, montre que la densité la plus élevée (5831964 cell/ml) est enregistrée au cours du prélèvement du mois de Mai. Cette variation est liée vraisemblablement aux changements des conditions environnementales à savoir : climatiques (température, luminosité, etc.), à la disponibilité d'éléments nutritifs (plus particulièrement l'azote et le phosphore) qui pourraient favoriser le développement des cyanobactéries y compris le genre *Microcystis* et augmenter ainsi l'incidence de leurs floraisons (Weyhenmeyer, 2001 ; Blenckner *et al.*, 2002 ; Hunter, 2003).

Quant à l'étude quantitative des différentes morphoespèces, *Microcystis aeruginosa* semble prédominer, ceci est liée probablement à ses différentes capacités d'adaptation en rapport avec les conditions environnementales dans lesquelles il se trouve.

Enfin, les tentatives d'isolement et de culture en lumière continue et à des températures ambiantes, ont permis d'obtenir des poussées sur les 2 types du milieu BG11 (solide et liquide). L'identification microscopique a révélé la présence des genres *Microcystis* spp., *Lyngbia* spp., *Pseudoanabaena* spp. et *Spirulina* spp.

Perspectives

Suite à toutes ces observations, il serait utile d'élaborer un programme de surveillance de ces plans d'eau, basé sur :

- L'analyse des paramètres physico-chimiques de l'eau de façon continue,
- L'étude des peuplements de cyanobactéries durant plusieurs cycles à différentes profondeurs.
- La réalisation de cultures mono spécifiques des cyanobactéries recensées afin d'identifier les souches toxiques et éventuellement doser les toxines par des techniques élaborées telles que l'ELISA, HPLC.
- Procéder à des bio essais afin d'évaluer le potentiel toxique des espèces récoltées et par conséquent mieux comprendre les facteurs contrôlant la production de toxines.
- Compléter l'étude morphologique par une identification moléculaire qui est plus fiable pour déterminer l'espèce.

Résumé

Notre étude porte sur l'inventaire et l'identification des cyanobactéries peuplant les eaux du barrage Mexa (EL-Tarf), ainsi que la détermination des caractéristiques physico-chimiques susceptibles de provoquer ou de contrôler le développement des cyanobactéries, et enfin l'évaluation du niveau d'eutrophisation. Le barrage a été échantillonné du 16 avril au 5 mai 2011 au niveau de trois stations.

Tout au long de notre période d'étude et dans les 3 stations, les résultats liés aux mesures des paramètres physico-chimiques de l'eau montrent une variation en corrélation avec celle de la densité des cyanobactéries.

Les teneurs en chlorophylle (a) relevées, concordent avec les densités des cyanobactéries recensées.

L'observation des caractères morpho-anatomiques des cyanobactéries récoltées dans le barrage Mexa nous a permis d'identifier seulement 1 genre, appartenant à 2 sous-groupes *Chroococcales* et *Oscillatoriales*, potentiellement toxique: *Microcystis* sp. En se basant sur les critères proposés par Komarek et Komarkova (2002), 3 morpho-espèces ont pu être déterminées à savoir : *M. flos aquae*, *M. aeruginosa*, *M. botrys*.

Le suivi de l'évolution des densités moyenne des espèces du genre *Microcystis* identifiés montre la prédominance nette de l'espèce *Microcystis aeruginosa*.

La culture de tous les échantillons, sauf pour la première sortie (car y'a eu absence de cyanobactéries), a montré un bon développement sur milieu BG11 solide et liquide. L'observation microscopique de ces cultures a révélé la présence du genre *Microcystis* spp., *Lyngbia* spp., *Pseudoanabaena* spp., *Spirulina* spp., *Microcystis* spp.

Mots clés : Cyanobactéries ; inventaire ; toxines ; potentiellement toxiques ; culture ; barrage.

Abstract

Our study focused on the inventory and identification of cyanobacteria inhabiting the waters of the dam Mexa (FI-Tarf) and determination of physicochemical characteristics may cause or control the growth of cyanobacteria, and the assessment of level of eutrophication. The dam was sampled from 16 April to 5 May 2011 at three stations.

The results of measurements of physical-chemical parameters of water show a variation throughout the study period and the 3 stations. These have a correlation with the density of cyanobacteria.

The chlorophyll (a) identified is consistent with the densities of listed cyanobacteria. They also indicate that this dam are in the category of mesotrophic to eutrophic (based on dates).

The observation of morpho-anatomical cyanobacteria collected in the dam Mexa we identified only 1 genus, belonging to two subgroups Chroococcales and Oscillatoriales potentially toxic: *Microcystis* sp. Based on the criteria proposed by Komarek and Komarkova (2002), 3 morpho-species were identified namely: *M. flos aquae*, *M. aeruginosa*, *M. botrys*.

Monitoring the evolution of average densities of species of the genus *Microcystis* identified shows the clear predominance of the species *Microcystis aeruginosa* ..

The culture of all samples, except for the first exit (there is an absence of cyanobacteria), shows a good development on solid and liquid medium BG11. Microscopic observation of these cultures revealed the presence of the genus *Microcystis* spp., *Lyngbya* spp., *Pseudoanabaena* spp., *Spirulina* spp., *Microcystis* spp.

Keywords: Cyanobacteria; inventory; toxins; potentially toxic; culture; dam ..

ملخص

تركز دراستنا حول التباين والتعريف بالطحالب الزرقاء التي تعلت مياه سد " ميكسا " بولاية الطارف و تحديد الخصائص الفيزيوكيميائية القادرة على تحكم نمو البكتيريا بالإضافة إلى تقييم مستوى أوتروفيكية مياه السد.

تم أخذ العينات من سد ميكسا من 16 افريل الى 5 ماي 2011 من خلال 3 محطات.

نتائج قياس المعايير الفيزيوكيميائية للماء تبين تغيرات طوالمدة دراستنا وفي المحطات الثلاث .

كميات الكلوروفيل " a " تتماشى مع كثافة البكتيريا الزرقاء التي تم إعدادها.

ملاحظة الخصائص المورفولوجية التشريحية للطحالب الزرقاء المتحصل عليها في سد " ميكسا " مكنتنا من التعرف على نوع واحد فقط : *Microcystis* , الذي ينتمي إلى تحت المجموعتين *Chroococcales* و *Oscillatoriales* , حيث يعد من أشد البكتيريا السامة .

ملاحظة تطور كثافة أصناف النوع (*Microcystis*) تبين سبيلها وانسحة أصناف *Microcystis aeruginosa* .

كل العينات تم زرعها إلا عينات الخرجة الأولى (التي تم تسجيل غياب البكتيريا) بينت نموا جيدا في الوسط BG11 الصلب والسائل .

الملاحظة المجهرية لهذه العينات المزروعة بينت وجود الأنواع التالية : *Lyngbia spp.*, *Microcystis spp.* و *Pseudoanabaena spp.* , *Spirulina spp.*

الكلمات الأساسية: الطحالب الزرقاء، بكتيريا، التباين، التروفيكية، الزراعة تحت

Référence bibliographique

- ❖ afsat et l' Afssset, 2006). Rapport de l'agence française de la santé et de la sécurité alimentaire.
- ❖ Agrawal M.K., Bagchi D., Bagchi S.N., 2005. Cysteine and serine protease-mediated proteolysis in body homogenate of a zooplankton, *Moina macrocopa*, is inhibited by the toxic cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa* PCC7806. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 141: 33-41
- ❖ A.T.C., Hawes R.B., Neilson A., Stallman N.B., 1983. An outbreak of hepato-enteritis (the Palm Island Mystery Disease) possibly caused by algal intoxication, *Toxicon* 3. 45-48
- ❖ Astrashan N. B., Archer B. G., Hilbelink D. R., 1980. Evaluation of the subacute toxicity and teratogenicity of anatoxine -a, *toxicon*, 18: 684-688.
- ❖ Azevedo S.M.F.O., Carmichael W. W., Jochimsen E.M., Rinehart K.L., Lau S, Shaw G.R., 2002. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru Brazil. *Toxicology*, 181-182: 441-446.
- ❖ Baxter et Jensen 1980; Contribution of bacteria in the mucilage of *Microcystis* spp. (Cyanobacteria) to benthic and pelagic bacterial production in a hypereutrophic lake. Institute of Limnology, Uppsala University, Norbyvagen 20, S-752 36 Uppsala, Sweden.
- ❖ Bernazeau F., Baudin I., Pieronne P., Bruchet A. & Anselme C., 1995. Traitement des problèmes des toxines générées par les algues. *Tech., Sci. Méthodes*, 10, 747-748.
- ❖ Boujès P., 1974. *Ecologie du plancton marin. I. Phytoplancton*. Ed. MASSON et C^{ie}. P 6-7.
- ❖ Bourrelly P., 1991. Cyanophycées. *Encyclopedia Universalis*, 979-981.
- ❖ Bouaïcha N., 2007. Rôles des hépatotoxines de cyanobactéries dans le développement de certains cancers. *Toxines et cancer*. LAVOISIER.
- ❖ Bouaïcha N., 2001. Impact sanitaire des toxines de Cyanobactéries en milieu d'eau douce. *Revue française des laboratoires*, N° 836: 39-46pp.
- ❖ Boujès P., 1974. *Ecologie du plancton marin. I. Phytoplancton*. Ed. MASSON et C^{ie}. P 6-7.
- ❖ Boujès P., 1974. *Ecologie du plancton marin. I. Phytoplancton*. Ed. MASSON et C^{ie}. P 6-7.

- ❖ Broke, 1973. An outbreak of hepato-enteritis (the Palm Island Mystery Disease) possibly caused by algal intoxication, *Toxicom* 3, 45-48.
- ❖ Chorus I & Bartram J, 1999. Toxic Cyanobacteria in water : a guide to their public health consequences, monitoring and management. E and FN Spon, Londres.
- ❖ (Mebarron et May, 1966 ; Rapid analysis of peptid toxins in cyanobacteria. Journal of chromatography, 438: 93- 99
- ❖ Chorus I & Bartram J, 1999. Toxic Cyanobacteria in water : a guide to their public health consequences, monitoring and management. E and FN Spon, Londres.
- ❖ Coote & Gregorich, 2000. In: Chevalier P, Pilote R, Leclerc J.M, 2001. In: Risques à la sante publique decoulant de la presence de cyanobacteries (algues bleues) et de microcystines dans trois bassins versants du sud-ouest quebecois tributaires du fleuve saint-laurent. Unite de recherche en sante publique (centre hospitalier de l'universite Laval) et institut national de sante publique. 15 lp.
- ❖ Codd G.A., Bell S.G., Brooks W.P 1989. Cyanobacterial toxins in water. *Water Science and Technology*, 4 : 499- 511.
- ❖ Carmichael W. W., 1994. A status report on planktonic Cyanobacteria (blue-green algae) and their toxins. EPA/600/R-92-079, Environmental Monitoring Systems Laboratory, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH. 141 pp.
- ❖ Carmichael W. W, Mahmood N. A, Hyde E. G, 1990. Natural toxins from Cyanobacteria (blue-dreen algae) In marine toxins :origin, structure and molecular pharmacology. Sherwood hall and gary Strichagtz. Eds: acs symposium, serie 418, american chemical society. Washington.87-106.
- ❖ Carmichael W. W, Mahmood N. A, Hyde E. G, 1990. Natural toxins from Cyanobacteria (blue-dreen algae) In marine toxins :origin, structure and molecular pharmacology. Sherwood hall and gary Strichagtz. Eds: acs symposium, serie 418, american chemical society. Washington.87-106.
- ❖ Carmichael W. W., Eschedor J. T., Patterson G. M.L., Moore R. E., 1988. Toxicity and partlal structure of a hepatotoxic peptid produced by the Cyanobacterial *Nodularia spumigena mertens* emend. L. 575 from New Zealand, *applier and environmental microbiology*, 54 (9): 2257- 2263.
- ❖ Carmichael W. W, Mahmood N. A, Hyde E. G, 1990. Natural toxins from Cyanobacteria (blue-dreen algae) In marine toxins :origin, structure and molecular pharmacology. Sherwood hall and gary Strichagtz. Eds: acs symposium, serie 418, american chemical society. Washington.87-106.
- ❖ Carmichael W. W. 1997 Freshwater Cyanobacteria (blue- green algae) toxins, in natural toxins: caracterization, pharmacology and therapeutics. Proceedings of the 9th

world congress on Anomal Plant and microbial toxins. stillwater, Oklahoma, August 1988, C. L. Owny and G. V Odell éd., Pergamon Press, Oxford, 3- 16.

- ❖ Chorus I & Bartram J., 1999. Toxic Cyanobacteria in water : a guide to their public health consequences, monitoring and management. E and FN Spon, Londres.

(Mebarron et May, 1966 ; Rapid analysis of peptid toxins in cyanobacteria. Journal of chromatography, 438: 93- 99

- ❖ Coote & Gregorich, 2000. In: Chevalier P, Pilote R, Leclerc J.M, 2001. In: Risques à la sante publique decoulant de la presence de cyanobacteries (algues bleues) et de microcystines dans trois bassins versants du sud-ouest quebecois tributaires du fleuve saint-laurent. Unite de recherche en sante publique (centre hospitalier de l'universite Laval) et institut national de sante publique. 15 ip.

- ❖ Codd G.A., Bell S.G., Brooks W.P 1989. Cyanobacterial toxins in water. Water Science and Technology, 4 : 499- 511.
- ❖ Chorus I & Bartram J., 1999. Toxic Cyanobacteria in water : a guide to their public health consequences, monitoring and management. E and FN Spon, Londres.
- ❖ Chorus I & Bartram J., 1999. Toxic Cyanobacteria in water : a guide to their public health consequences, monitoring and management. E and FN Spon, Londres.
- ❖ Carmichael W.W., 1992. A status report on planktonic Cyanobacteria (blue-green algae) and their toxins. EPA/600/R-92-079, Environmental Monitoring Systems Laboratory, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH. 141 pp.
- ❖ Chorus I, Falconer I.R., Salas H.J., Bartram J., 2000. Health risks caused by freshwater cyanobacteria in recreational waters. J Toxicol Environ Health 3: 323-347
- ❖ Duy TN, Lam PKS, Shaw GR et Connell DW, 2000. Toxicology and risk assessment of freshwater cyanobacterial (blue- green algal) toxins in water. Rev. Environ Contam. Toxicology. 163: 113- 186.
- ❖ Falconer, I.R., 2001. Toxic cyanobacterial bloom problems in Australian waters: risks and impacts on human health. Phycologia 40, 228-233.
- ❖ Falconer, I. R., 1999. An overview of problem caused by toxic blue-green algae (*Cyanobacteria*) in drinking and recreational water. Environ. Toxicol. 14, 5-12.
- ❖ Falconer, I. R., 1999. An overview of problem caused by toxic blue-green algae (*Cyanobacteria*) in drinking and recreational water. Environ. Toxicol. 14, 5-12.
- 03 Falconer, I.R., 2001. Toxic cyanobacterial bloom problems in Australian waters: risks and impacts on human health. Phycologia 40, 228-233.
- ❖ Gupta, N., Pant, S.C., Vijayaraghavan, R., Lakshmana Rao, P.V., 2003. Comparative toxicity of cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin variants (LR, RR, YR) in mice. Toxicology 188, 285-296.

- ❖ Haney J. F., Sasner J. J., Ikawa M., 1995. Effects of products release by *Aphanizomenon flos-aquae* and purified saxitoxin on the movements of *Daphnia carinata* feeding appendages. *Limnology and oceanography*, 40 : 263-272.
- ❖ Honma M., 2004. Genotoxicity of microcystine-LR in human lymphoblastoid TK6 cells, *Mutat. Res.* 557. 1-6.
- ❖ Humpage A. R., Hardy S. J., Moore E.J., Froscio S.M., Falconer I.R., 2000. Microcystins in drinking water enhance the growth of aberrant crypt foci in the mouse colon, *J. Toxicol. Environ. Health A* 61. 155- 165.
- ❖ Hitzfeld B.C., Hoger S.J., Dietrich D.R., 2000. Cyanobacterial toxins: removal during drinking water treatment, and human risk assessment. *Environ Health Perspect.* 108: 113- 122.
- ❖ Hasley C & Leclerc H., 1993. Microbiologie des eaux d'alimentation. 131pp. Teixeira M.R., Rosa M.J., 2005. Microcystins removal by nanofiltration membrane, *Sep. Purif. Technol.* 46 : 192-201
- ❖ Hennion M. C. & Rivasseau C., 1995. Toxines des cyanobacteries d'eau douce Identification, Analyse et elimination lors du traitement des eaux. I. Etude Bibliographique. Rapport d'activite de recherche. Ecole superieur de physique et de chimie industrielles de la ville de Paris. Laboratoire de Chimie Analytique.
- ❖ Haney J. F., Sasner J. J., Ikawa M., 1995. Effects of products release by *Aphanizomenon flos-aquae* and purified saxitoxin on the movements of *Daphnia carinata* feeding appendages. *Limnology and oceanography*, 40 : 263-272.
- ❖ Humpage A. R., Hardy S. J., Moore E.J., Froscio S.M., Falconer I.R., 1994. Microcystins in drinking water enhance the growth of aberrant crypt foci in the mouse colon, *J. Toxicol. Environ. Health A* 61. 155- 165.
- ❖ Hasley C & Leclerc H., 1993. Microbiologie des eaux d'alimentation. 131pp
- ❖ Hawser S. P., O'Neil J. M., Roman M. R., Codd G. A., 1991. Toxicity of blooms of Cyanobacterium *Trichodesmium* to zooplankton, *Journal of applied phycology*, 4: 79-86..
- ❖ Hasley C & Leclerc H., 1993. Microbiologie des eaux d'alimentation. 131pp.
- ❖ Hennion M.-C & Rivasseau C., 1995. Toxines des cyanobacteries d'eau douce Identification, Analyse et elimination lors du traitement des eaux. I. Etude Bibliographique. Rapport d'activite de recherche. Ecole superieur de physique et de chimie industrielles de la ville de Paris. Laboratoire de Chimie Analytique.
- ❖ Hasley C & Leclerc H., 1993. Microbiologie des eaux d'alimentation. 131pp.
- ❖ Henrich & Hergt, 1993. In: Chevalier P., Pilote R., Leclerc J.M., 2001. In 'Risques à la sante publique decoulant de la presence de cyanobacteries (algues bleues) et de microcystines dans trois bassins versants du sud-ouest quebecois tributaires du fleuve

Saint-laurent. Unité de recherche en santé publique (centre hospitalier de l'université Laval) et institut national de santé publique. 151p.

- ❖ Ikawa M., Wegener K., Foxall T.L., Sasner J.J., 1982. Comparaison of the toxins of the blue-green alga *Aphanizomenon flos-aquae* with the *Cormyculax* toxins. *Toxicon*, 20, 747-752.
- ❖ Jochimsen E. M., Carmichael W. W., An J. S., Cardo D. M., Cookson S. T., Holmes C. E., Antunes M. B., D. A. de Melo Filho, Lyra T. M., Barreto V. S., Azevedo S. M., and Jarvis. W. R., 1998. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *N. Engl. J. Med.* 38:873-878.
- ❖ Jochimsen E. M., Carmichael W. W., An J. S., Cardo D. M., Cookson S. T., Holmes C. E., Antunes M. B., D. A. de Melo Filho, Lyra T. M., Barreto V. S., Azevedo S. M., and Jarvis. W. R., 1998. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *N. Engl. J. Med.* 38:873-878.
- ❖ Kurmayer R, Christiansen G, Fastner J, Börner T., 2004. Abundance of active and inactive microcystin genotypes in populations of the toxic cyanobacterium *Planktothrix* spp. *Environ Microbiol* 6:831-841.
- ❖ Kuiper-Goodman T, Falconer I.R., Fitzgerald J., 1999. Human Health aspects. In: Chorus I, Barttram J (eds) *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health, monitoring and management*. WHO E&FN SPON, London, p 113.
- ❖ Komárek J., 1970. Generic identity of the "*Anacystis nodulans*" strain Kratz-Allen/Bloom 625 with *Synechococcus* Näg. 1849. *Arch. Protistenk.* 343-364
- ❖ Madigan M., Martinko J., 2007. *Brock Biologie des micro-organismes*. 11 Edition. Matsushima R., Yoshizawa S., Watanabe M.F., Harada K., Furusawa M., Carmichael W.W., Fujiki H., 1990. *In vitro* and *in vivo* effects of protein phosphatase inhibitors, microcystins and nodularin, on mouse skin and fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 171:867-874.
- ❖ Nishiwaki- Matsushima R., Ohta T., Nishiwaki S., Suganuma M., Kohyama K., Nasri, 2001
- ❖ Pitois, S, Jackson, MH et BJB Wood, 2000. Problems associated with the presence of Cyanobacteria in recreational and drinking waters. *International Journal of Environmental Health Research*, 10: 203- 218.
- ❖ Pouria S., de Andrade A., Barboza J., Cavalcanti R. L., Barreto V. T. S., Ward C. J et al., 1998. Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unite in Caruaru, Brzil. *Lancet*, 352 : 21- 26.
- ❖ Pitois, S, Jackson, MH et BJB Wood, 2000. Problems associated with the presence of Cyanobacteria in recreational and drinking waters. *International Journal of Environmental Health Research*, 10: 203- 218.
- ❖ Prescott, Harley, Klein, 1995. *Microbiologie*. 472- 473 p.
Pitois, S, Jackson, MH et BJB Wood, 2000. Problems associated with the presence of Cyanobacteria in recreational and drinking waters. *International Journal of Environmental Health Research*, 10: 203- 218.
- ❖ Prescott, Harley, Klein, 1995. *Microbiologie*. 472- 473 p.
Radau G., 2000. Serine protease inhibiting cyanopeptides. *Pharmazie* 55, 555-560.

- Roberts R. D & Zohary T., 1987. Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom-forming cyanobacteria. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 21: 391-399.
- ❖ Runnegar M. T. C, Jackson A. R. B, Falconer I. R., 1988. Toxicity of the cyanobacteria *Nodularia spumigena mertens*. *Toxicol* 26 (2): 143- 151.
 - ❖ Rao P.V.L., Bhattacharya R., Parida M.M., Jana A.M., Bhaskar A.S.B., 1998. Freshwater cyanobacterium *M. aeruginosa* (UTEX 2385) induced DNA damage *in vivo* and *in vitro*. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 5: 1-6.
 - ❖ Rohrlack T., Christoffersen K., Hansen P.E., Zhang W., Czarnecki O., Henning M., Fastner J., Erhard M., Neilan B.A., Kaebernick M., 2003.
 - ❖ Isolation, characterization, and quantitative analysis of micro-viridin J, a new *Microcystis* metabolite toxic to *Daphnia*. *J. Chem. Ecol.* 29, 1757-1770.
 - ❖ Song K. Y., Lim I.K., Park S.C., Lee S.O., Park H.S., Choi Y.K., Hyun B.H., 1999. Effect of nodularin on the expression of GST-P placental form and proliferating cell nuclear antigen in N-nitrosodiethylamine initiated hepatocarcinogenesis in the male Fischer 344 rat, *Carcinogenesis* 20: 1541- 1548.
 - ❖ Stachelhaus T., Mootz H.D, Marahiel M.A., 1999. The specificity-conferring code of adenylation domains in nonribosomal peptide synthetases. *Chem. Biol.* 6, 493-505.
 - ❖ Sano T, Nohara K, Shiraishi F, Kaya K, 1992. A method for micro-determination of total microcystin content in waterblooms of cyanobacteria (blue-green algae). *Internal journal of environmental analytical chemistry*, 49: 163- 170.
 - ❖ Schindler D. W .et autres 1973. Eutrophication of lake 227 by addition of phosphate and nitrate: the second, third, and fourth years of enrichment, 1970, 1971, and 1972. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 30: 1415-1440.
 - ❖ Sivonen K., Himberg K., Luukkainen R., Niemelä S. I., Poon G. K., Codd G. A., 1989. Preliminary characterization of neurotoxic Cyanobacteria blooms and strains from Finland, toxicity assessment : an international journal, 4: 339- 352.
 - ❖ Santé Canada, 2002. Les toxines cyanobactériennes- Les microcystines- LR. Recommendation pour la qualité de l'eau potable au Canada pièces à l'appui, accessible à : [www. Hc- sc.gc.ca/hecs-sesc/eau/pdf/microcysf.pdf](http://www.Hc-sc.gc.ca/hecs-sesc/eau/pdf/microcysf.pdf).
 - ❖ Sivonen K & Jones G., 1999. Cyanobacterial toxins. in: I Chorus, J. Bartram (Eds.), *Toxic Cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management*, E & FN Spon, London , pp.44-111.
 - ❖ Stanier D. W .et autres 1973. Eutrophication of lake 227 by addition of phosphate and nitrate: the second, third, and fourth years of enrichment, 1970, 1971, and 1972. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 30: 1415-1440.
 - ❖ Trabeau M., Bruha-Keup R., McDerMott C., KeoMany M., Millsaps A., Emery A., Stasio Jr., B.D., 2004. Midsummer decline of a *Daphnia* population attributed in part to cyanobacterial capsule production. *Journal of Plankton Research* 26, 949e961.

- ❖ Tang E. P. Y., Trembley R. et Vincent W. F., 1997. Cyanobacterial dominance of polar freshwater ecosystems: Are high-latitude mat-formers adapted to low temperature? *Journal of Phycology* 33: 171-181
- ❖ Teixeira M.R., Rosa M.J., 2006. Comparing dissolved air flotation and conventional sedimentation to remove cyanobacterial cells of *Microcystis aeruginosa*. Part I: The key operating conditions. *Séparation and Purification Technology*.
- ❖ Thibault P., Bateman K. P., Douglas D. J., White R. L., 1994. Mass spectral analysis of microcystins from toxic cyanobacteria using chromatographic and electrophoretic separations. Symposium, montreux, 12.
- ❖ Vezie C., Briant L., Sivonen K., Bertru G., Lefevre J. C. et Salkinoja-Salonen M., 1998. Variations of Microcystis content of cyanobacterial blooms and isolated strains in lake grand-lieu (France). *Microb. Ecol* : 35, 126-135 pp.
- ❖ Wetzel R. G. & Likens G. E., 2000. *Limnological Analyses* 3rd édition Springer-Verlag. 429 pp.
- ❖ Watson S. B., Mc Cauley E. et Downing J. A., 1997. Patterns in phytoplankton taxonomic composition across temperate lakes of differing nutrient status. *Limnology and Oceanography* 42: 487-495.
- ❖ Zegura B., Sedmak B., Filipic M., 2003. Microcystin-LR induces oxidative DNA damage in human hepatoma cell line HepG2, *Toxicol*, 41: 41- 48.
- ❖ Zhan L., Sakamoto H., Sakuraba M., Wu D.S., Zhang L.S., Suzuki T., Hayashi M.,
- ❖ Zhan L., Sakamoto H., Sakuraba M., Wu D.S., Zhang L.S., Suzuki T., Hayashi M., Honma M., 2004. Genotoxicity of microcystine-LR in human lymphoblastoid TK6 cells, *Mutat. Res.* 557: 1-6.
- ❖ Zimba P.V., Khoo L., Gaunt P., Carmichael, W.W., Brittain, S., 2001. Confirmation of catfish mortality from *Microcystis* toxins. *J. Fish Dis.* 24, 41-47.

Produced by Scantopdf

Annexe

➤ Des milieux de culture

• Milieu BG11 (Rippka, 1988)

Milieu à préparer (pour 1 L d'eau distillée)

NaNO ₃	1.5 g
K ₂ HPO ₄	31 mg
MgSO ₄ , 7H ₂ O.....	75 mg
CaCl ₂ , 2H ₂ O.....	36 mg
Acide citrique, 1H ₂ O.....	7 mg
EDTA disodique.....	1 mg
Na ₂ CO ₃	20 mg
Citrate de fer ammoniacal.....	6 mg
Solution de sels métalliques...	1 mL

• Solution de sels métalliques (pour 250 mL d'eau distillée) .

LiBO ₄	715mg
MnCl ₂ , 4H ₂ O.....	452mg
ZnSO ₄ , 7H ₂ O.....	56mg
Na ₂ MoO ₄ , 2H ₂ O.....	97mg
CuSO ₄ , 5H ₂ O.....	20mg
Cu (NO ₃) ₂ , 6H ₂ O.....	12.5mg

• Milieu BG11 solide (Rippka, 1988)

Ajouter 7 g d'agar par litre de milieu et couler en boîtes de Pétri après stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 15 min. La stérilisation de l'agar et du milieu se fait séparément et on ne peut les mélanger qu'après refroidissement. L'ajustement du pH se fait avant autoclavage, le pH doit être entre (7-7.4).

• Milieu BG11 sans source d'azote (NaNO₃) (Rippka, 1988)

Le milieu a la même composition que le milieu BG11 mais sans source d'azote ajoutée (NaNO₃).

• Milieu BG11 avec 1% d'extrait de sol (Rippka, 1988)

Préparation de l'extrait de sol à 1% :

- prendre 400g de terre
- faire bouillir dans 1 litre d'eau distillée pendant 10 minutes
- filtrer
- répartir en tubes
- autoclaver 120°C pendant 15 min

- ajouter 10 ml d'extrait de sol dans 1 litre du milieu (BG11)

• **BG11 avec agents antibactériens et source de matière organique**

(Rippka, 1988 ; Ferris & Hirsch, 1991)

Ce milieu correspond au milieu BG11 liquide additionné de :

- 0.02-0.1% casamino acide
- 0.5%(w/v) glucose
- additionner de :
- 1000µg/ml ampicilline ou :
- 100µg/ ml d'imépenem et
- cycloheximide : 0.1 g/l

➤ **Azote nitreux (les nitrites NO_2^-)**

❖ **Réactifs**

Solution de sulfanilamide

Diluer 100 ml d'acide chlorhydrique dans 500 ml d'eau déminéralisée. Ajouter et dissoudre 10g de sulfanilamide, puis compléter à 1 litre.

Solution de N-naphtyl-éthylènediamine

Dissoudre 1 g de NES dans 1 litre d'eau déminéralisée

➤ **Azote nitrique (les nitrates NO_3^-)**

❖ **Réactifs**

Mélange acide

Mélanger avec précaution 400 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) à 18mol/l avec 400 ml acide orthophosphorique (H_3PO_4), refroidir et ajouter 0.032 g d'acide sulfamique.

Conserver dans une bouteille munie d'un bouchon en verre.

Diméthyl-2.6 phénol

Dissoudre 0.03 g de diméthyl -2.6 phénol dans 25 ml d'acide acétique 96%. Conserver dans un flacon en verre blanc pendant une semaine.

➤ **Azote ammoniacal total ($N-NH_3 + N-NH_4^+$)**

Réactifs

Réactif R1 (solution de phénol- nitroprussiate)

Dissoudre 65g de phénol dans 800 ml d'eau déminéralisé dans un flacon en verre. Ajouter et dissoudre 1.5 g de NP, puis compléter à 1 litre. Conserver au réfrigérateur (stable 2 à 3 semaine), la renouveler si elle prend une teinte verdâtre.

Solution alcaline complexante

Dissoudre 375 g de citrate et 30 g de soude dans 800 ml d'eau déminéralisée flacon en plastique et compléter à 1L. Cette solution est stable plusieurs mois à T° ambiante.

Solution complexante au chlore (A préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse). A la solution complexante, ajouter 8 g de DCI par litre. Conserver au réfrigérateur, cette solution ne peut être utilisée qu'une semaine.

➤ **Dosage des Ortho phosphates (PO_4^{3-})**

❖ **Réactifs**

Solution de molybdate d'ammonium

Dissoudre 15 g de paramolybdate d'ammonium $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$, de préférence en poudre fine. Dans 500 ml d'eau distillée.

En flacon de plastique et à l'abri de la lumière, cette solution est stable indéfiniment.

Solution d'acide sulfurique

Ajouter petit à petit, avec précaution, 140 ml d'acide sulfurique (densité = 1.84) dans 900 ml d'eau distillée. Laisser refroidir et conserver en bouteille de verre bien bouchée.

Solution d'acide ascorbique

Dissoudre 54 g d'acide ascorbique ($C_6H_8O_6$) dans 500 ml d'eau distillé. En flacon de plastique, cette solution se conserve plusieurs mois. Au congélateur : dégeler juste avant utilisation et recongeler aussitôt après. Au réfrigérateur, en flacon protéger de la lumière, on peut la conserver quelques semaines.

Solution d'oxytartrate de potassium et d'antimoine

Dissoudre 0.34 g d'oxytartrate de potassium et d'antimoine ($K(SbO) C_4H_4O_6$) dans 250 ml d'eau distillée en chauffant si nécessaire. Cette solution se conserve plusieurs mois au congélateur.

Mélange - réactifs

Mélanger les réactifs ci-dessus dans les proportions suivantes :

- 100 ml de solution de molybdate d'ammonium.
- 250ml d'acide sulfurique.
- 100 ml de solution d'acide ascorbique.
- 50 ml d'oxytartrate de potassium et d'antimoine.

Ce mélange réactif qui ne se conserve pas plus de 6 heures doit être préparé immédiatement avant chaque série d'analyses.

Noter que l'on peut préparer un mélange réactif plus stable si l'on n'introduit pas l'acide ascorbique : sa conservation est alors de plusieurs mois toutefois le mélange complet doit être préparé au fur et à mesure des besoins en y ajoutant la solution d'acide ascorbique dans les proportions indiqués.

➤ Chlorophylle a

Solvant d'extraction Acétone à 90%

Dans une fiole jaugée de 500 ml. Introduire 50 ml d'eau distillée et compléter au trait de jauge avec l'acétone déshydratée.