

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
جامعة 8 ماي 1945 قالة  
Université 8 mai 1945 Guelma  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : science de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Département : Ecologie et Génie de l'environnement

Spécialité : Microbiologie Appliquée

---

### Thème

**Biorémédiation des métaux lourds(cas de chlorure stanneux) par des souches fongiques isolées et identifiées à partir du lac Oubeira (Parc National d'El Kala – Nord Est de l'Algérie)**

---

Présenté par :

**FERDENACHE Sara**

**DJENANE Bilel**

Devant les membres de jury :

Mme. MESSIAD R.	(M.C.B)	Présidente	Université de Guelma
Mme. ZIDI S.	(M.C.B)	Examinatrice	Université de Guelma
Mme. BEDIQUI S.	(M.C.B)	Encadreur	Université de Guelma

Septembre 2020

## ***Remerciements***

Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant qui nous a donné la force, la volonté et la patience pour terminer ce modeste travail.

### ***A Mme Messiad R.***

Nous vous remercions d'avoir accepté de présider ce jury.

### ***A Mme Zidi S.***

Nous vous remercions également d'être venue examiner ce travail.

### ***A Mme. Bedioui S.***

Nous vous adressons nos plus sincères remerciements pour votre encadrement durant ce mémoire. Nous sommes ravies d'avoir travaillé en votre compagnie tout au long de ces mois durant lesquels nous avons pu apprécier vos qualités tant pédagogiques que scientifiques et humaines. Nous vous remercions également pour votre disponibilité, ainsi que pour votre aide et vos précieux conseils que vous nous avez apportés lors de l'élaboration de cette étude. Pour tout ce que vous nous avez appris, nous vous remercions très sincèrement.

# Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Glossaire

Introduction

## Chapitre I : Description de la zone d'étude

1- Description de la zone d'étude.....	02
2- Localisation et délimitation du lac oubeira.....	02
2-1 Condition du milieu physique.....	03
2-2 Climatologie.....	04
2-3 La biodiversité.....	05
3- Situation socio-économique.....	07
3-1 Agriculture.....	07
3-2 Pêche.....	07
3-3 Industrie.....	07

## Chapitre II : Contamination des eaux par les métaux Lourds

1-Généralités sur les métaux lourds .....	08
2- Définition ..	08
3- Les sources des métaux lourds.....	09
3-1 Source naturelle .....	09
3-2 Source anthropique.....	09

<b>4- Le chlorure stanneux.....</b>	<b>09</b>
4-1 Les synonymes .....	09
4-2 Structure chimique du chlorure stanneux .....	10
4-3 Préparation du chlorure stanneux .....	10
4-4 Caractéristiques .....	10
4-5 Les effets sanitaires .....	11
<b>5- Impact des métaux lourds et du chlorure stanneux sur l'environnement .....</b>	<b>11</b>
<b>6- La pollution métallique.....</b>	<b>12</b>
<b>7- Historique de la bioremédiation .....</b>	<b>12</b>
7-1 La bioremédiation de chlorure stanneux .....	12

### Chapitre III : Les critères d'identification des souches fongiques

<b>1- Définition des champignons.....</b>	<b>13</b>
<b>2- Mode de vie et de nutrition des champignons.....</b>	<b>14</b>
<b>3- Le thalle végétatif.....</b>	<b>14</b>
<b>4- Caractères cytologiques.....</b>	<b>16</b>
4-1 Paroi fongique.....	16
4-2 Noyau.....	16
4-3 Mitochondries .....	17
4-4 Réticulum endoplasmique .....	17
4-5 Appareil de golgi .....	17
4-6 Ribosomes .....	17
4-7 Microbodies et vésicules.....	17
4-8 Lysosomes.....	17
4-9 Plasmides.....	17
4-10 Vacuoles.....	18
4-11 Cytosquelette.....	18
4-12 Membrane plasmique.....	18
4-13 Lomasomes.....	18

4-14 Cloison.....	18
4-15 Matrice extracellulaire.....	18
<b>5- La reproduction chez les champignons.....</b>	<b>20</b>
<b>6- Classification fongique .....</b>	<b>21</b>
<b>7- Les champignons filamenteux .....</b>	<b>22</b>
7-1 Définition.....	22
7-2 Les caractères des champignons filamenteux.....	22

## Chapitres IV : Matériel et méthodes

<b>1- La revivification des souches.....</b>	<b>26</b>
1-1 Milieux de cultures utilisés .....	26
1-2 Ensemencement et incubation .....	26
1-3 Lecture .....	26
1-4 Identification macroscopique .....	29
1-5 Observation microscopique .....	29
<b>2- L'effet des métaux lourds sur les champignons .....</b>	<b>30</b>
2-1 Souches fongiques .....	30
2-2 Etude de l'effet des métaux lourds sur les champignons .....	30
2-3 Mode opératoire .....	30

## Chapitre V : Résultats et Discussion

<b>1- Identification fongique.....</b>	<b>33</b>
<b>2- Résultats de la biorémediation du chlorure stanneux.....</b>	<b>39</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>41</b>

### Références Bibliographiques

### Annexe

### Résumés

## LISTE DES FIGURES

N° de Figure	Titres	N° de page
<b>01</b>	Localisation du lac oubeira	02
<b>02</b>	Présentation des champignons uni et pluricellulaires	13
<b>03</b>	Champignon saprophyte sur feuilles mortes	14
<b>04</b>	Champignons Parasites sur les feuilles	14
<b>05</b>	Champignons parasites Sur les ongles	14
<b>06</b>	Champignon en symbiose avec les algues (lichen)	15
<b>07</b>	Champignons parasites sur les ongles Champignon en symbiose avec les racines des plantes (mycorhize)	15
<b>08</b>	Les Principaux types des thalles des champignons	16
<b>09</b>	Structure d'une cellule fongique	19
<b>10</b>	Fragmentation d'un hyphe	20
<b>11</b>	Bourgeonnement d'une cellule fongique (levure)	20
<b>12</b>	Production des spores asexuées	20
<b>13</b>	Schéma du sporulation sexuée	21
<b>14</b>	Les différentes classes des souches fongiques	22
<b>15</b>	La structure de la paroi fongique	23
<b>16</b>	Les types des filaments	23
<b>17</b>	La reproduction asexuée et sexuée d'une moisissure	24
<b>18</b>	Revification et Identification des souches	27
<b>19</b>	Mode opératoire d'ensemencement des souches pour déterminer la bioremédiation Vis-à-vis le chlorure stanneux	31

## LISTE DES TABLEAUX

<b>N° de Tableau</b>	<b>Titres</b>	<b>N° de page</b>
<b>01</b>	Condition du milieu physique : (Géologie, Topographie, Hydrographie, Hydrogéologie).	<b>03</b>
<b>02</b>	Représentation des principaux groupes constituant la faune du lac Oubeira	<b>05</b>
<b>03</b>	Les différentes espèces végétaives du lac Oubeira	<b>06</b>
<b>04</b>	L'étude de la distribution saisonnière de la densité de chaque classe d'algue.	<b>06</b>
<b>05</b>	Tableau périodique de Mendeleïev.	<b>08</b>
<b>06</b>	Les caractéristiques physico-chimiques du chlorure stanneux.	<b>10</b>
<b>07</b>	Les modes de vie et la nutrition des champignons	<b>14</b>
<b>08</b>	Les différentes modes de reproduction chez les champignons	<b>20</b>
<b>09</b>	Comparaison entre les différentes étapes des méthodes macro et micro et moléculaire des champignons	<b>24</b>
<b>10</b>	Identification macro et microscopique des souches isolées	<b>33</b>

## Liste des abréviations

**AFLPA** : Amplified Fragment Length Polymorphisme

**CZ. C** : Czapek Concentre

**CZ. S** : Czapek Simple

**DL** : Dose Létale

**PME** : Les Petites Et Moyennes Entreprises.

**PMI** : Les Petites Et Moyennes Industries.

**PNEK** : Parc Nationale D'el Kala

**PPM** : Partie Par Million

**RAPD** : La Random Amplified Polymorphic

**RFLP** : Restriction Fragment Length Polymorphisme

**RSST** : Règlements Sur La Sante Et La Sécurité Du Travail

**SAB. CHL** : Sabouraud Chloramphénicol

**SAB. S** : Sabouraud Simple

**SAU** : Surface Agricole Utilisée

**TGEA** : Tryptone-Glucose-Extrait De Levure-Agar

**VEMP** : La Valeur D'exposition Moyenne Pondérée

## Glossaire

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

**Bioaccumulation :** l'accumulation dans le temps d'une substance et en particulier d'un contaminant (tel qu'un pesticide ou un métal lourd) dans un organisme vivant).

**Biodégradables :** Le terme biodégradable s'applique à un produit de la matière organique susceptible de se décomposer dans un environnement favorable et sous l'action de microorganismes (bactéries, champignons, algues). Un produit biodégradable se décompose sans effet néfaste sur l'environnement.

**Bioremédiation :** La bioremédiation est le processus de décontamination qui, grâce à ces microorganismes, accélère ce processus naturel et irréversible dans les endroits où la contamination est vraiment élevée.

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

**Dépollution Biologique :** La dépollution est l'élimination des pollutions des différents compartiments (air, eau, sol), dans le but de rétablir une qualité sanitaire et écologique compatible avec une réutilisation des lieux et des compartiments pollués ou bien avec une restauration des écosystèmes.

**Électrophorèse :** c'est une technique de séparation de molécules en fonction de leur mobilité dans un champ électrique.

**Eucaryotes :** Les eucaryotes sont des organismes qui peuvent être soit unicellulaires, soit pluricellulaires.

**Exploitation Minière :** L'exploitation minière, par conséquent, est l'ensemble des activités socioéconomiques qui sont menées pour obtenir/extraire des ressources d'une mine (un dépôt de minéraux).

**Fond Géochimique :** Concentration naturelle d'un élément majeur ou trace dans un matériau géologique.

**Hétérotrophes** : Le terme « hétérotrophe » qualifie un organisme incapable de synthétiser lui-même ses composants et qui recourt donc à des sources de matières organiques exogènes.

**Lyse Osmotique** : La lyse osmotique est l'éclatement d'une cellule, en raison d'une surabondance de fluide (extracellulaire).

**Mastigonèmes** : filament situé sur la membrane de certains flagelles.

**Plaste** : Organite caractéristique des cellules des végétaux supérieurs capable de fixer diverses substances et dans lequel peuvent s'accumuler des pigments, dont le plus important est la chlorophylle.

**Téléomorphe** : une période téléomorphe se dit de la phase sexuée des champignons qui survient chez les Ascomycètes.

# Introduction



## Introduction

L'eau ou l'or bleu de la vie, indispensable à l'homme autant que l'air (8). Représente la ressource vitale pour le développement démographique et aussi économique de la planète.

Repartie dans différents réservoirs dont le plus grand est composé des mers et océans avec plus de 97% d'eau salée contre moins de 3% d'eau douce.

Plus de 2/3 de l'eau douce est conservée à l'état solide (glaces polaires et éternelles) et un peu moins d'1/3 est constitué des eaux souterraines. Le reste des réserves d'eau douce est réparti principalement dans les continents, les cours d'eau, les lacs et dans l'atmosphère.

Les zones humides qui abritent plusieurs lac cas du lac oubeira avec leur diversité d'espèces rares de la faune et la flore, sauf que la pollution causée principalement par l'homme à la suite des déchets provenant des usines a soulevé un grand problème pour ce lac en provoquant une menace pour l'environnement après l'accumulation dans la chaîne trophique. (17).

Donc ce cas la décontamination de ces eaux est devenue une responsabilité majeure par des méthodes biologiques en comparant au d'autres méthodes classiques coûteuses. On utilise des biosourçants à base des souches fongiques à cause de leur simplicité et surtout rendement.

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

Ce travail vise à étudier deux parties, une théorique contenant 3 chapitres :

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

Chapitre II : contamination des eaux par les métaux lourds.

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

Et autre expérimentale s'exprimée par 2 chapitres :

Chapitre V : Matériel et méthodes.

Chapitre VI : Résultat et une petite discussion.

Et terminera par une conclusion.

# Chapitre I

## *Description de la zone d'étude*



Le Parc national d'El Kala est une zone humide protégée par la convention du RAMSAR. Contient plusieurs lacs tel que Tonga, Mellah, et Oubeira, cette dernière se caractérise par une Faune et flore très diversifiées.

### 1- Description de la zone d'étude

Lac Oubeira fait partie du complexe National d'El Kala, situé dans la partie extrême du Nord Est d'Algérie. Le Park contient plusieurs écosystèmes, qui sont variés, permet à lui un Classement mondialement protégé, ce dernier renferment des espèces endémiques vont être Dispersées, exemple des oiseaux nicheurs : Busard des roseaux. (11).

### 2- Localisation et Délimitation du lac

Le bassin versant du lac Oubeira est situé à 5 km au Sud-Ouest d'El Kala et 54 km à l'Est d'Annaba. Il se trouve dans le Parc National d'El Kala qui est localisé à l'extrême Nord Est du pays faisant frontière avec la Tunisie. Le lac Oubeira est situé au centre d'un bassin versant de 9800 ha, d'une profondeur de 4 m, c'est l'eau douce la plus profonde de la région avec une surface moyenne de 2200 ha et un périmètre d'environ 32 km, Il s'insère dans un rectangle dont la plus grande longueur est de 7 km et le plus grand largeur est de 3,5 km de forme subcirculaire, son diamètre mesure 5 à 6 km. (2).

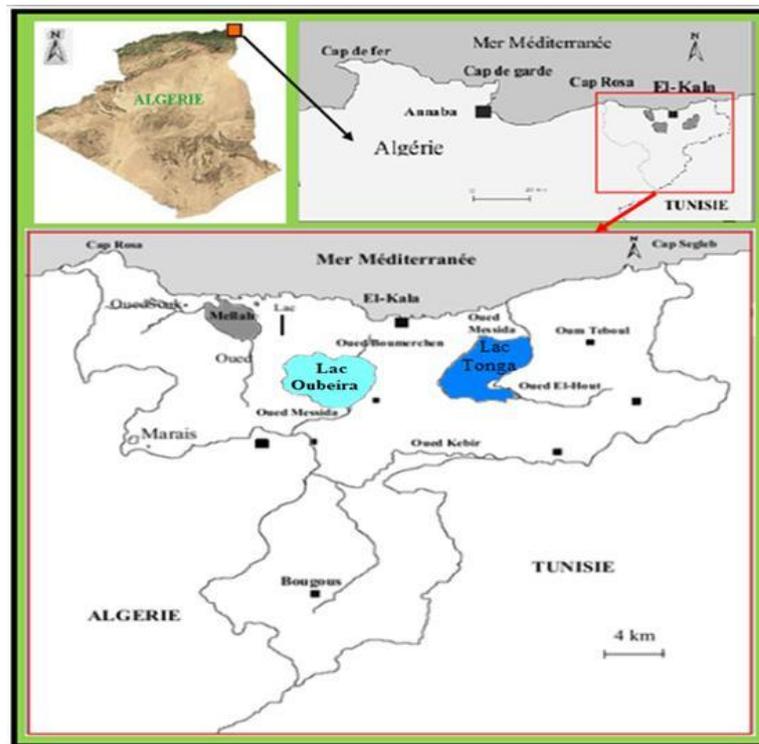


Figure N°01 : La localisation du lac Oubeira.

[LANDSCAP AMENAGEMENT, 1998] Modifié.

De son côté le lac oubeira est limité :

- ✚ Au Nord par le Djebel Bou Merchène.
- ✚ A l'Est, il est bordé par les monts d'El Kala.
- ✚ Et au Nord-Ouest par le lac Mellah et par les crêtes. (2).

## 2-1 Condition du milieu physique

**Tableau N°01** : Condition du milieu physique : (Géologie, Topographie, Hydrographie, Hydrogéologie). (5).

<b>Géologie</b>	
<b>Les alluvions lacustres</b>	Formées d'argiles dont l'imperméabilité est liée aux argiles de Numidie.
<b>Les alluvions limoneuses</b>	Au fond des vallées de pléistocène, formées de sables et limons.
<b>Les grés à hélices</b>	La désagrégation a donné les dunes.
<b>Les formations du Pontien</b>	Présentent deux faciès des argiles sableuses grises, jaunes ou rouges, et des argiles marneuses, salifères et argiles rouges gypseuses.
<b>Les grés de Numidie</b>	Quartzeux, souvent blanchâtres parfois assez friables, Transgressifs sur les argiles de Numidie et formant des reliefs abrupts.
<b>Les marnes argilo schisteuses</b>	De couleurs variées avec intercalations de petits bancs de grés quartizeux développés surtout sur les pentes de vallées et groupées sous le nom d'argiles de Numidie.
<b>Les argiles</b>	Grés et calcaires noirs à nominalistes de l'Eocène moyen.
<b>Topographie</b>	
<b>Les collines</b>	S'étalent au Nord, à l'Est et à l'Ouest du parc. Cet ensemble caractérise un relief dont l'altitude ne dépasse pas les 600 m.
<b>Les Versants.</b>	Occupent toute la partie Sud et Nord- Ouest. Les versants sont généralement de forme convexe, présentent des pentes assez fortes.
<b>Les Dunes</b>	Occupent la majorité de la partie Nord-est du bassin versant. Des pentes moyennes (5 à 10%).

<b>Les Terrasses</b>	Ce sont des étendues planes à dénivellation faible et dont la pente est inférieure à 5%.
<b>Hydrographie</b>	
<b>Les Cours D'eau Alimenteurs Du Lac.</b>	L'oued Demt Rihan au Nord L'oued Bou Mer chêne au Nord-est L'oued Dey El Garaa à l'Est
<b>L'alimentation Saisonnière Du Lac Oubeira Par Les Oueds</b>	Hiver : A l'occasion des fortes précipitations, les eaux de l'oued El Kébir parviennent au lac principalement par l'oued Messida. Été : Le niveau de l'oued El Kébir est plus bas, le système hydrologique fonctionne en sens inverse. L'oued Messida ayant cette singularité de couler dans les deux sens selon la crue ou l'étiage.
<b>Hydrogéologie</b>	
<b>Formations perméables</b>	Les Plaines : les débits ne dépassant pas les 10 l/s, pour les épaisseurs d'aquifères de plus les quarante mètres. Les aquifères : présentent une perméabilité modérée dont les valeurs sont de l'ordre de 10 <sup>-5</sup> m/s, ceci est dû à la présence d'éléments fins dans les couches de l'aquifère.
<b>Formations peu perméables</b>	Les grés, les argiles numidiennes, ainsi que les argiles et les limons. Leur perméabilité est faible, elle varie entre : - 10 <sup>-6</sup> l/s dans les argiles et les grés, - 10 <sup>-5</sup> à 10 <sup>-4</sup> l/s dans les limons et les argiles alluvionnaires

## 2-2 Climatologie

Au niveau du bassin versant du Lac Oubeira les reliefs jouent selon leur position, le rôle d'ombre ou d'aimant pluviométrique, où les zones humides en tamponnant localement l'atmosphère, réduisent le caractère xérique de la période estivale et où généralement, la plus petite variation du facteur limitant que constitue l'humidité se répercute immédiatement sur la végétation. (11).

### 2-2-1 Données thermiques

Le paramètre température est fonction de l'altitude, de la distance de la mer et de la position topographique. A mesure que l'on s'éloigne de la mer, les températures annuelles moyennes

s'abaissent, On peut donc diviser l'année en un semestre froid et un semestre chaud ; dans cette zone littorale les températures descendent rarement à 0° C, les mois les plus froids sont janvier et février, alors que juillet et août sont les plus chauds. (11).

**2-2-2 Données pluviométriques**

La précipitation moyenne mensuelle permet d'avoir une idée sur la variation mensuelle et pluriannuelle des précipitations, elle est le calcul de la moyenne arithmétique des hauteurs des précipitations du mois considéré sur une période d'années. (11).

**2-3 La biodiversité**

**2-3-1 La faune**

**Tableau N°02 : Représentation des principaux groupes constituant la faune du lac Oubeira. (13).**

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

### 2-3-2 La végétation

Caractérisée par une organisation typique de végétation, leur grande superficie est encombrée d'herbiers flottants, d'hydrophytes couvrant le plan d'eau en parties, Cette végétation constitue une source nutritionnelle qui un élément important dans la protection du lac et le maintien de son équilibre biologique, et le tableau suivant indique les différentes espèces végétales contenant dans le lac Oubeira. (13).

**Tableau N°03 : Les différentes espèces végétales du lac Oubeira (13).**

<b>Scirpe</b>	<i>Scirpus maritimus,</i>
<b>Roseaux</b>	<i>Phragmites australis</i>
<b>Massettes</b>	<i>Typha latifolia; Typha angustifolia</i>
<b>Nénuphar (espèce rare)</b>	<i>Nymphaea alba</i>
<b>Châtaigne d'eau</b>	<i>Paspalum paspalodes,</i> <i>Myriophyllum spicatum</i> <i>Ceratophyllum demersum</i>

### 2-3-3 Les microorganismes

**Tableau N°04 : L'étude de la distribution saisonnière de la densité de chaque classe d'algue. (3).**

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

### **3- Situation socio-économique**

#### **3-1 Agriculture**

La région d'étude est incontestablement à vocation agricole, c'est le secteur le plus pourvoyeur d'emplois permanents et saisonniers. Avec une S.A.U de 11 000 ha, l'agriculture occupe 14,5 % du territoire du P.N.E.K, Les céréales occupent la première place avec les cultures maraîchères ; viennent ensuite l'arboriculture fruitière, l'arachide et les cultures industrielles (tomate) ; le reste de la superficie est réparti entre les légumes secs et le tabac, Il faut signaler aussi que la jachère est devenue une pratique courante dans la région, elle a même tendance à s'étendre, vu le complément non négligeable de fourrages qu'elle apporte. (16).

#### **3-2 Pêche**

El-Kala est le seul port de la zone considérée par l'étude et aussi de toute la wilaya d'El Tarf qui compte 90 km de côtes. Une centaine d'embarcations de pêche professionnelle est signalée, constituée de 10 chalutiers, de 20 sardiniers, de 60 petits métiers et d'une vingtaine de corailleurs dont quelques-uns sont réellement en activité, Le corail qui fait la célébrité de la petite ville côtière connaît de temps à autre des situations tourmentées qui suspendent les activités de pêche et dont les raisons sont plus d'ordre administratif que technique. Il faut ajouter à cela un nombre non négligeable de plaisanciers qui pratiquent la pêche à des fins commerciales mais dont on ignore avec précision le volume des prises. (4).

#### **3-3 Industrie**

L'industrie du sens propre du mot est pratiquement inexistante dans le Parc National et par extension dans toute la wilaya. La région a été ainsi préservée par les choix faits dans les années 70 de concentrer l'activité industrielle autour d'Annaba, La protection apportée par la création du Parc National au début des années 80 et l'opposition apparue localement contre une industrie de pâte à papier sur les bords du lac Oubeira ont découragé les promoteurs de ces secteurs d'activité. Ce qui est considéré localement comme industrie se résume à quelques activités qui relèvent de la petite et moyenne entreprise (PME/PMI). Nous pouvons citer la fabrique de menuiserie générale à El Tarf, l'unité de fabrication de pipes, qui est l'exemple type de la valorisation des souches de bruyère récoltées des subéraies limitrophes. (13).

# Chapitre II

## *Contamination des eaux par les métaux lourds*



Les eaux du lac Oubeira est menacé par une pollution organique et autre oxydante

Par la présence des déférents métaux lourds du chlorure de stanneux.

### 1- Généralités sur les métaux lourds

Tous les éléments métalliques sont présents naturellement à l'état de traces dans le sol. En effet, ils sont présents dans tous les compartiments de l'environnement, mais en général en quantités très faibles. On dit que les métaux sont présents "en traces". Ils sont aussi "la trace" du passé géologique et de l'activité de l'homme.

En général les métaux se trouvent à de faibles concentrations, de l'ordre de ng ou µg par litre dans le cas où le métal donné se trouve à des niveaux des concentrations anormalement élevées par rapport au fond géochimique, il s'agit d'une preuve de contamination du milieu. (12).

### 2- Définition

La plupart des métaux lourds sont des éléments chimiques caractérisés par un numéro et une masse atomiques élevés et par une gravité spécifique supérieure à cinq. Ils possèdent des propriétés de conduction de chaleur et d'électricité, Ils participent aux réactions sous forme de cations. Parmi les 118 éléments de la classification de Mendeleïev, 94 sont considérés comme des métaux (tableau N° 05), Les métaux lourds sont présents dans tous les compartiments de l'environnement en quantités très faibles sous forme de traces, Ils ont également tendance à être très toxiques pour les êtres vivants, même à de très faibles concentrations. (7).

Tableau N°05 : Tableau périodique de Mendeleïev [8].

<b>Bloc S</b>		<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="width: 20px; height: 20px; background-color: #cccccc; margin-right: 5px;"></div> <b>Métaux lourds de densité &gt; 5</b> </div>										<b>Bloc p</b>					
H																	
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg	<b>Bloc d</b>										Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Te	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Ac	<b>Bloc f</b>														
Lanthanides		Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu		
Transuraniens		Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Cf	Bk	Es	Fm	Md	No	Lr		

Une fois que les métaux lourds ont été libérés dans le milieu, soit par des processus naturels (ex. Altération) ou anthropiques (ex. exploitation minière) depuis leur source, ils peuvent être transportés par voie éolienne via des aérosols ou par voie aqueuse via l'eau, les matières en suspension ou les sédiments de fond des cours d'eau. (12).

### **3- Les sources des métaux lourds**

#### **3-1 Source naturelle**

Les métaux lourds sont des constituants naturels dans les roches et dans les gisements minéraux. Ces éléments sont présents à de faibles teneurs (à l'état de traces, moins de 0.1%) dans les sols, les sédiments, les eaux de surface et les organismes vivants. Ces faibles concentrations en métaux lourds constituent le fond géochimique d'un certain environnement. (12).

#### **3-2 Source anthropique**

En raison de leurs différentes caractéristiques spécifiques, les métaux lourds ont été largement utilisés dans les nouvelles technologies (métallurgique et électroniques). En conséquence, leurs sources anthropiques sont vastes et leur introduction est plutôt récente dans l'environnement, Parmi les sources anthropiques de métaux lourds, nous pouvons signaler : l'activité minière, l'industrie métallurgique et sidérurgique, les engrais et pesticides appliqués dans la culture des sols, les incinérateurs et cendres d'incinération des déchets, les déchets médicaux, les déchetteries de villes, les émissions des usines et moteur à explosion, les effluents des égouts et boues d'épuration. (12).

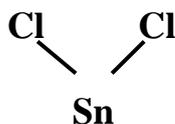
### **4- Le chlorure stanneux**

#### **4-1 Les synonymes**

- ❖ Chlorure stanneux (anhydre). [3].
- ❖ Dichlorure d'étain. [3].
- ❖ Protochlorure d'étain. [3].
- ❖ Chlorure d'étain II anhydre. [5].
- ❖ Chlorure de stannate. [2].

## 4-2 Structure chimique du chlorure stanneux

La structure chimique du chlorure stanneux est la suivante :



## 4-3 Préparation du chlorure stanneux

Le chlorure d'étain (II) ou le chlorure stanneux est préparé par dissolution de l'étain dans l'acide chlorhydrique suivi d'une évaporation de la solution et de la cristallisation. [11].

## 4-4 Caractéristiques

### 4-4-1 Propriétés physiques

Le chlorure stanneux caractérise par des propriétés physiques et chimiques.

**Tableau N°06** : les caractéristiques physico-chimiques du chlorure stanneux. [4].

Formule brute	État physique	Masse moléculaire	Point de fusion (°C)	Point d'ébullition (°C)	Solubilité dans l'eau	Densité
$\text{SnCl}_2$	Solide	189.6	247 °C	623	1780 g/l à 10 °C	3,95 g/ml à 20 °C

### 4-4-2 La toxicité

D'après les travaux, qui ont montré que le lac Oubeira contient un matériau toxique tel que chlorure stanneux, dépasse les normes de l'Organisation mondiale de la santé (OMS).

### 4-4-3 La phytotoxicité

Le chlorure stanneux est parmi les composés organiques de l'étain qui peuvent rester dans l'environnement pendant de longues périodes. Ils sont très résistants et peu biodégradables. Il est accumulé dans les sols pendant des années. De ce fait, la concentration de ce type de composé ne cesse d'augmenter. Il est toxique pour les algues et le phytoplancton. Le phytoplancton est un lien très important dans l'écosystème aquatique car il fournit l'oxygène aux autres organismes de l'eau. C'est aussi une partie importante de la chaîne alimentaire aquatique. Il y a beaucoup de types différents de composés organiques avec de l'étain et ils peuvent beaucoup varier en toxicité.[13].

**4-4-4 La toxicité chez l'homme****4-4-4-1 Toxicité aiguë**

Selon les Règlements sur la santé et la sécurité du travail (RSST), La Valeur d'exposition moyenne pondérée (VEMP) est de  $2 \text{ mg/m}^3$ . [10].

Peut causer des brûlures oculaires.

- ❖ Peut causer des brûlures cutanées. Peut sensibiliser la peau.
- ❖ Dangereux si avalé. Peut causer des brûlures gastro intestinales.
- ❖ Peut causer des brûlures chimiques au niveau du système respiratoire. [10].

**4-4-4-2 Toxicité chronique**

- ❖ Peut faire des dégâts sur le foie et les reins. [10].

**4-4-5 La toxicité chez l'animal**

Le chlorure d'étain perturbe la croissance, la reproduction, les systèmes enzymatiques, des organismes aquatiques tel que les poissons. L'exposition a lieu en général dans la couche supérieure de l'eau, car c'est là que les composés organiques de l'étain s'accumulent. La pollution des eaux peut mettre en danger la santé de l'homme et les animaux. Souvent son élimination ne peut se faire que moyennant des frais considérables. La biologie synthétique dispose d'instruments qui permettent de produire des micro-organismes efficaces, capables de dégrader les polluants de manière biologique. [13].

**4-5 Les effets sanitaires****4-5-1 Irritation et Corrosion**

Le dichlorure d'étain peut causer l'irritation de la peau, des yeux et des voies respiratoires supérieures. En présence d'eau, le dichlorure d'étain forme de l'acide chlorhydrique. Ce produit est corrosif pour la peau, les yeux et les voies respiratoires. La gravité des symptômes peut varier selon les conditions d'exposition (durée de contact, concentration du produit, etc.). [4].

**5- Impacte des métaux lourds (le chlorure stanneux) sur l'environnement**

Les produits chimiques ont nocive pour les organismes aquatiques [4] et ont également des effets indirects sur l'environnement qui se traduisent à l'échelle des populations et non plus seulement des individus. La structure et la productivité des écosystèmes peuvent ainsi être perturbées. Cela peut par exemple aboutir à une modification des espèces dominantes ou

à une diminution, voire une perte, de la biodiversité. Les produits chimiques impactent également tous les maillons de la chaîne alimentaire, du plus petit (plancton) au plus gros (baleine). [2].

## **6- La pollution métallique**

Dans les écosystèmes aquatiques naturels, les métaux se trouvent à de faibles concentrations. Ces derniers temps, cependant, la présence de métaux lourds contaminants à des concentrations supérieures aux charges naturelles, est devenue un problème de plus en plus préoccupant. La pollution du lac oubeira par les polluants inorganiques notamment les métaux lourds cause une toxicité à les organismes vivants. Car ces éléments métalliques ne sont pas biodégradables. L'absence de décomposition des métaux les fait s'accumuler dans l'organisme du vivant. Et ça peut être une solution de notre problème, en va confirmer ça dans les chapitres suivants. [2].

## **7- Historique de la bioremédiation**

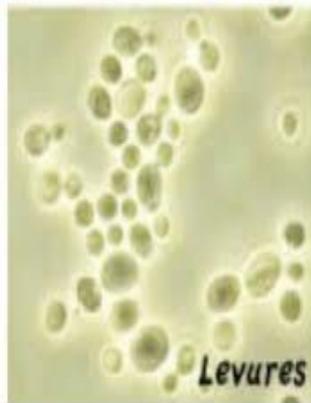
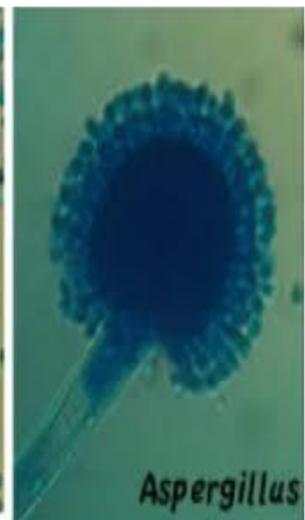
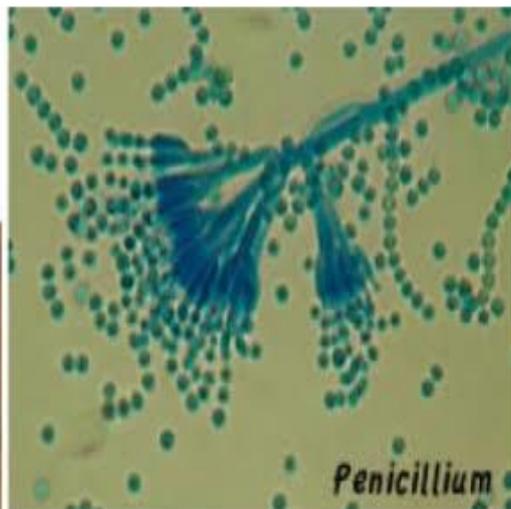
La bioremédiation a été inventée par George M. Robinson dans les années 1960. Robinson, travaillant comme ingénieur adjoint du comté à Santa Maria, en Californie, a organisé le premier nettoyage microbien à grande échelle d'un déversement de pétrole en 1968. Robinson a utilisé la bioremédiation pour achever le nettoyage des déversements, des eaux usées, des champs de lixiviation ainsi que la lutte contre les odeurs et les ravageurs. Aujourd'hui, les microbes sont utilisés pour traiter les eaux usées, les déversements d'hydrocarbures, les sols contaminés et augmenter les rendements de la production alimentaire. Presque toutes les entreprises concurrentes sur ce marché utilisent des cultures de bogues qui remontent à George Robinson ou à l'un de ses collègues. [6].

### **7-1 La bioremédiation de chlorure stanneux**

La bioremédiation de chlorure stanneux c'est le procédé de dépollution biologique au moyen de microorganismes spécifiques, est une technique durable et bon marché permettant l'élimination des déchets. Elle utilise des champignons choisis pour retirer ou neutraliser les polluants des eaux sur place ou ailleurs, Ces détoxificateurs présents dans la nature, transforment les substances dangereuses en substances moins toxiques, voire non toxiques. [7].

# Chapitre III

## *Les critères d'identification des souches fongiques*



Les Champignons sont des organismes hétérotrophes, vivant principalement en saprophyte aux dépens de matières organiques en décomposition. Certains champignons vivent aussi en symbiose avec bien des espèces appartenant au règne végétal, mais aussi parfois en parasite avec tous les composants du monde vivant.

### 1- Définition des champignons

Un champignon est un organisme eucaryote uni ou pluricellulaire, dépourvu de chlorophylle, il est constitué d'un thalle unicellulaire (comme pour certaines levures) ou pluricellulaire (mycélium) comme la plupart des micromycètes ou des macromycètes.

Certains sont saprophytes et se nourrissent de matières organiques mortes ; il y a d'autres parasites s'accroissent au dépend d'autres cellules vivantes ils causent des dégâts considérables notamment aux plantes cultivées. Une dernière catégorie est symbiotique c'est-à-dire qui elle établit avec une autre espèce un équilibre à bénéfice réciproque. (15).

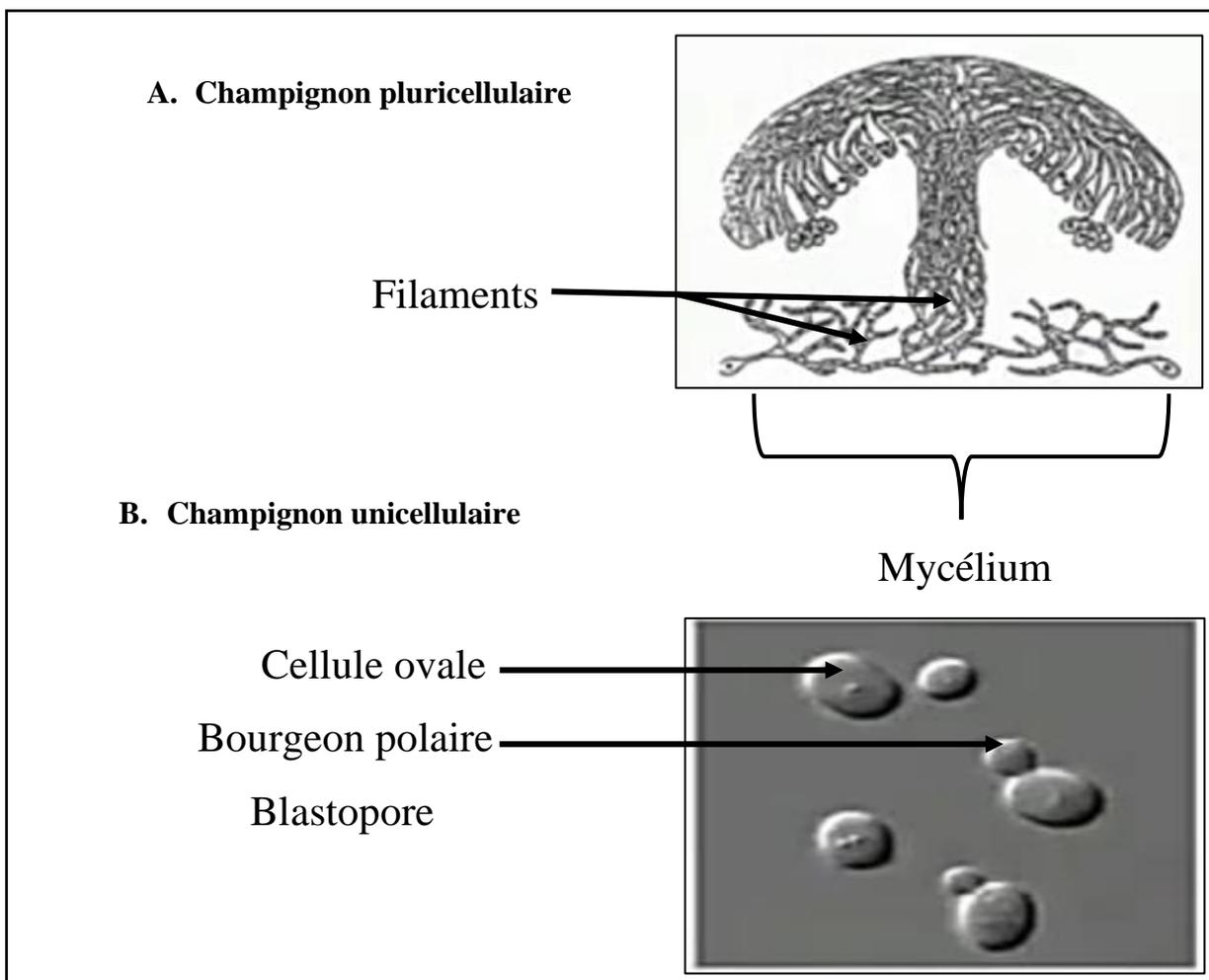


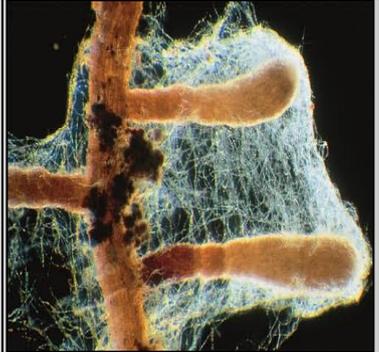
Figure N°02 : présentation des champignons uni et pluricellulaires. [1].

2- Mode de vie et la nutrition des champignons

Les champignons ont des modes de vie et de nutritons différents

Tableau N°07 : les modes de vie et la nutrition des champignons. [1].

	La définition	La figure	
<b>Saprophyte</b>	<p>Utilisent la matière organique mort ou en décomposition :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Feuille mortes</li> <li>✓ Débris végétaux ou animaux</li> <li>✓ Excrément</li> </ul> <p>Ex : <i>pénicillium, aspergillus</i></p>	 <p><b>FigureN°03 : champignon saprophyte sur feuilles mortes [1].</b></p>	
<b>Parasite</b>	<p>Utilisent la matière organique vivante ; qu'il s'agisse de végétaux, d'animaux (Y compris les hommes), voire d'autres champignons</p>	 <p><b>FigureN°04 : Champignons Parasites sur les feuilles [1].</b></p>	 <p><b>FigureN°05 : Champignons parasites Sur les ongles [1].</b></p>

<b>Symbiotique</b>	Vivent en symbiose ou en mutualisme, association avec un végétale autotrophe, chacun des deux organismes tire profite de cette association.		
		<b>FigureN°06 :</b> <b>Champignon en symbiose avec les algues (lichen) [1].</b>	<b>FigureN°07 :</b> <b>Champignons parasites sur les ongles Champignon en symbiose avec les racines des plantes (mycorhize) [1].</b>

Les champignons se développant par un système de filaments plus ou moins développés et ramifiée appeler le thalle, chez les champignons il n'existe aucune organisation tissulaire équivalente à celle observée chez les végétaux ou les animaux.

### 3- Le thalle végétatif

Le champignon est un thallophyte, ne possède ni feuilles, ni tiges, ni racines. Son appareil végétatif est thalle. [1].

Les thalles fongiques sont généralement de forme filamenteuse et multicellulaire. [1].

**Ex : *Aspergillus niger***

Mais pour certains groupes, le mycélium est remplacé par des globules unicellulaires. [1].

**Ex : *Saccharomyces cerevisiae***

Un autre type de thalle fongique est celui qualifié de plasmodial ou le mycélium a été remplacé par un plasmode (amiboïde, plurinucléé qui rampe et phagocyte des aliments solides). [1]

**Ex : *Mucilago crustacea***

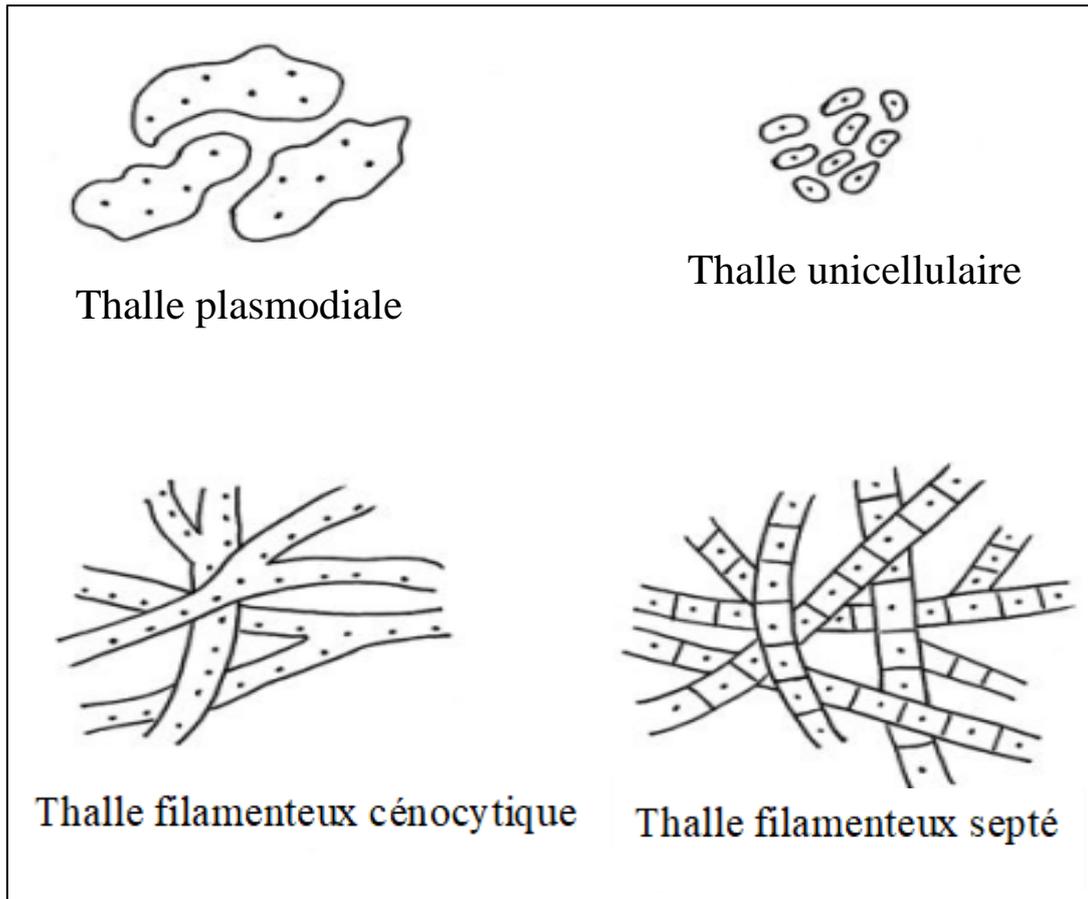


Figure N°08 : Les Principaux types des thalles des champignons. (6).

#### 4- Caractères cytologiques

Les caractères cytologiques sont ceux végétaux eucaryotes dépourvus de plastides.

##### 4-1 Paroi fongique

- ❖ Elle est formée essentiellement de polysaccharides, de protéines, de lipides.
- ❖ Elle Protège le corps fongique contre la lyse osmotique et agit comme un tamis moléculaire régulant le passage des grosses molécules à travers les pores. (6).

##### 4-2 Noyau

Le noyau est le support de l'information génétique, il contient trois éléments essentiels :

1. Le nucléole
2. Les pores nucléaires
3. La membrane nucléaire. (6).

**4-3 Mitochondries**

La Mitochondries est le lieu de la respiration cellulaire ou usine énergétique de la cellule. (6).

**4-4 Réticulum endoplasmique**

C'est un ensemble des tubes et des canaux reliés au noyau, on distingue deux types : L'une lisse pour la synthèse des lipides, et l'autre granuleuse pour la synthèse des protéines. (6).

**4-5 Appareil de Golgi**

L'appareil de Golgi est formé de cisternes en forme de sac (sacculles) qui existent dans le cytoplasme des cellules fongiques. Elle possède trois rôles essentiels :

1. Il joue un rôle d'un système de transformation des produits synthétisé par le réticulum endoplasmique,
2. Il joue aussi un système de stockage des produits synthétisé.
3. Il joue un rôle de Transfer les produits pour être utilisé par la cellule. (6).

**4-6 Ribosomes**

Les ribosomes sont des structures hautement complexes et macromoléculaires qui remplissent le rôle indispensable de la synthèse des protéines. (6).

**4-7 Microbodies et vésicules**

Les Microbodies (ou microcorps) sont un groupe spécial de petites vésicules. Plus de 30 enzymes ont été détectées dans ces Microbodies qui ont des rôles distincts. (6).

**4-8 Lysosomes**

Les lysosomes sont des vésicules Elles contiennent des enzymes hydrolytiques, alors que le rôle essentiel de cet organite c'est la défense cellulaire. (6).

**4-9 Plasmides**

Ce sont des fragments d'ADN capables de se répliquer indépendamment de l'ADN nucléaire et mitochondrial. Ces plasmides peuvent être linéaires ou circulaires et peuvent exister dans le cytoplasme ou à l'intérieur des mitochondries. (6).

**4-10 Vacuoles**

Les vacuoles sont généralement petites, de formes diverses avec des contenus finement à modérément granulaires. Ont plusieurs fonctions comprenant le stockage de composés et le recyclage des métabolites cellulaires. (6).

**4-11 Cytosquelette**

Comme pour les autres eucaryotes, les cellules fongiques contiennent un cytosquelette qui consiste en des microtubules et des microfilaments. (6).

**4-12 Membrane plasmique**

Aussi appelée membrane cytoplasmique ou plasmalemme, c'est la membrane dynamique qui est localisée au contact du cytoplasme à la frontière entre l'intérieur et l'extérieure de la cellule. (6).

**4-13 Lomasomes**

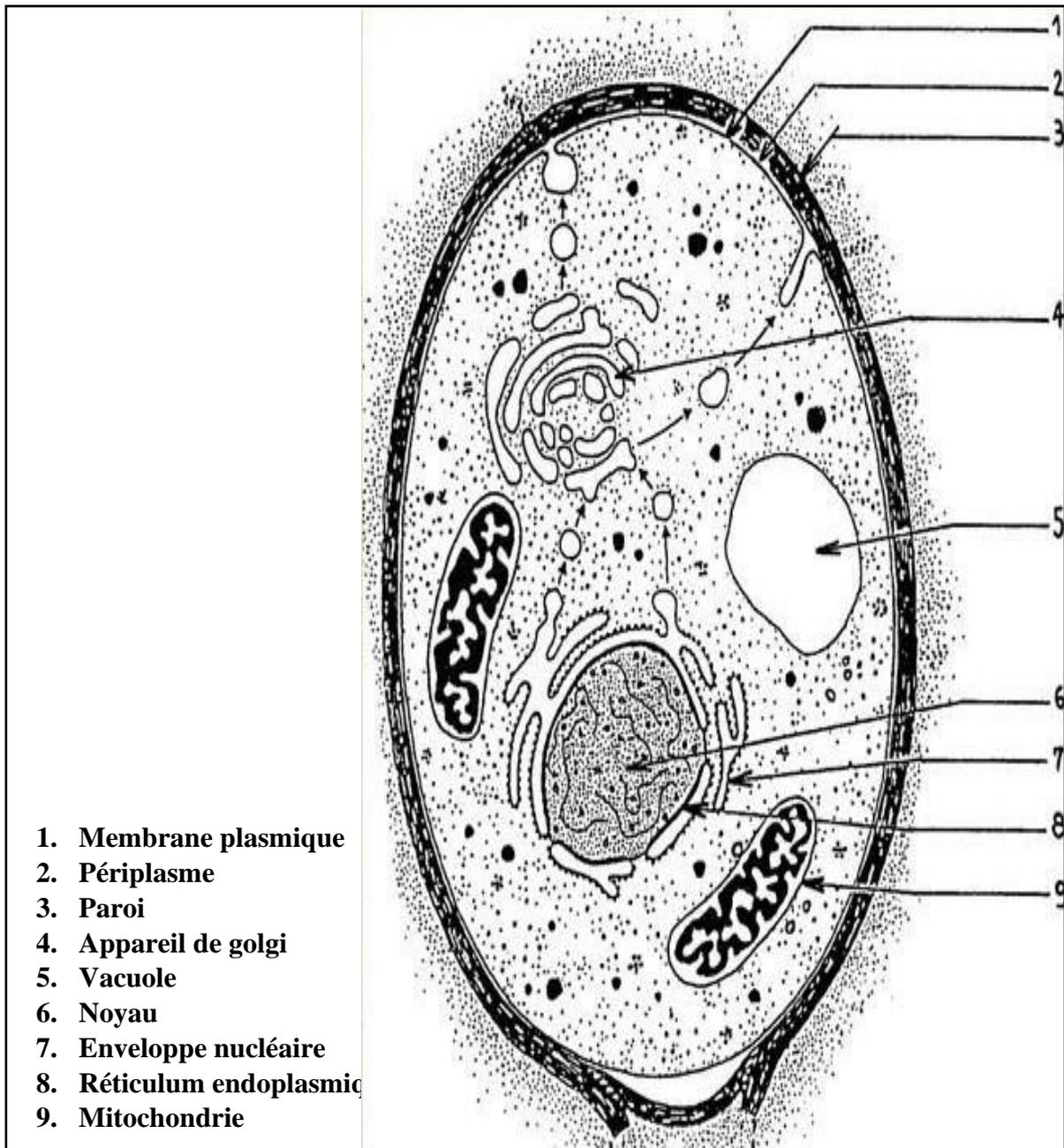
Les Lomasomes sont des structures membranaires (tubules, vésicules ou feuilletés parallèles). Elles sont associées à la synthèse de la paroi. (6).

**4-14 Cloison**

Elles divisent les hyphes en compartiments. Les cloisons sont d'habitude perforées. (6).

**4-15 Matrice extracellulaire**

- ❖ C'est l'accumulation des substances mucilagineuses secrétées par les champignons.
- ❖ Elle est pour améliorer l'adhésion du champignon à la surface environnementale.
- ❖ Dans le mucilage de la matrice on peut trouver des enzymes extracellulaires produites par les cellules fongiques.
- ❖ La matrice mucilagineuse peut alors être le site où le champignon fait le premier contact avec les éléments nutritifs qui vont être absorbés. (6).

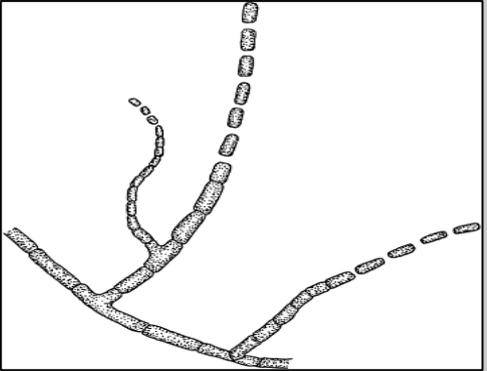
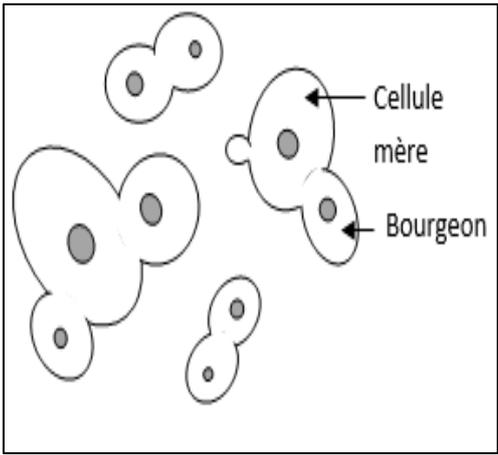
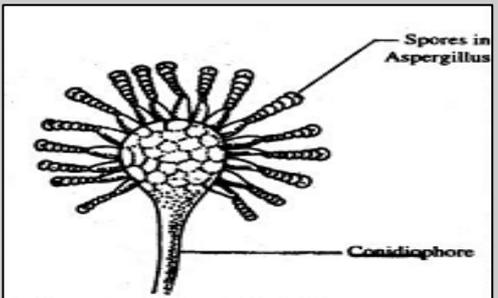


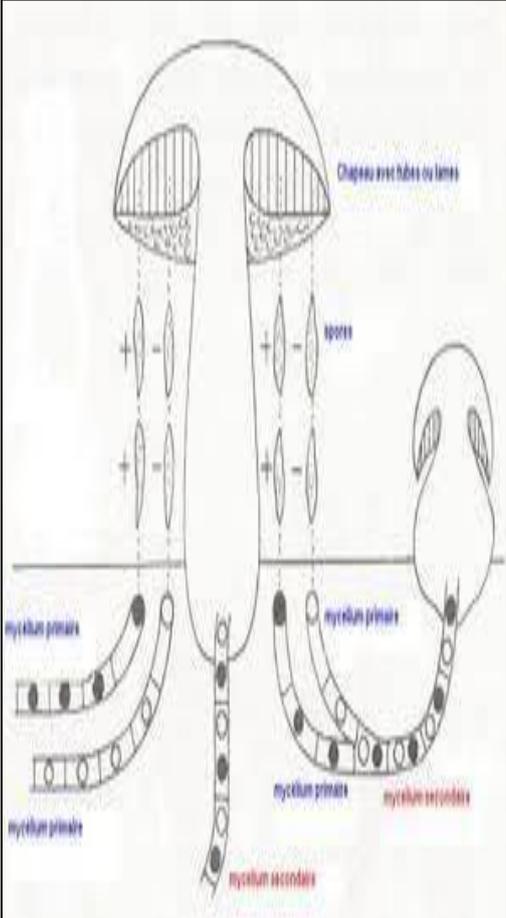
1. Membrane plasmique
2. Périplasma
3. Paroi
4. Appareil de golgi
5. Vacuole
6. Noyau
7. Enveloppe nucléaire
8. Réticulum endoplasmique
9. Mitochondrie

Figure N°09 : Structure d'une cellule fongique. (6)

5- La reproduction chez les champignons

Tableau N°8 : les différentes modes de reproduction chez les champignons. [1].

	Les formes et les étapes de reproduction	Figures
Reproduction asexuée	<p><b>1. Fragmentation :</b> Des morceaux de l'hyphe (chlamydo-spores arthrospores) se détachent et forment de nouveaux mycéliums <b>Ex : <i>Geotrichum</i></b></p>	 <p><b>FigureN°10 :</b> fragmentation d'un hyphe [1].</p>
	<p><b>2. Bourgeonnement :</b> Une copie du noyau et un petit bourgeon commence à se former sur la paroi cellulaire. Ce bourgeon qui contient le nouveau noyau (Blastospores) continue de grandir et forme une nouvelle cellule indépendante. <b>Ex : <i>Saccharomyces cerevisiae</i></b> (levure)</p>	 <p><b>FigureN°11 :</b> Bourgeonnement d'une cellule fongique (levure) [1].</p>
	<p><b>3. Sporulation :</b> Les spores (endogènes exogènes) sont produites à l'intérieur de compartiments spécialisés des hyphes. <b>Ex : <i>Aspergillus fumigatus</i></b></p>	 <p><b>FigureN°12 :</b> production des spores asexuées [1].</p>

<b>Reproduction sexuée</b>	<p><b>Sporulation :</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. La germination d'une spore donne naissance à un mycélium haploïde (n). Appelé mycélium primaire stérile ;</li> <li>2. Il lui faut rencontrer un autre mycélium primaire porteur d'un sexe opposé. Cette rencontre donnera un mycélium secondaire fertile.</li> <li>3. Ces filaments mycéliens se ramifient et divergent dans toutes les directions</li> <li>4. Lorsqu'un mycélium a accumulé suffisamment de réserves et que les conditions climatiques sont favorables, il forme alors un disque à la surface du substrat</li> <li>5. Un primordium se développe jusqu'à former un sporophore qui donnera à son tour naissance à des spores</li> </ol> <p><b>Ex : <i>Aspergillus fumigatus</i></b></p>	 <p><b>FigureN°13 : Schéma du sporulation sexuée [1].</b></p>
----------------------------	---	--

## 6- Classification fongique

Le règne des champignons (Fungi) se divise en 8 phylums et renferme les champignons vrais qui sont des organismes eucaryotes se nourrissant par absorption et caractérisés par des parois cellulaires riches en chitine et  $\beta$ -glucanes, des mitochondries avec des crêtes plates, des thalles unicellulaires ou filamenteux et des spores généralement non flagellées, et quand les flagelles existent, ils sont sans mastigonèmes. La reproduction est sexuée ou asexuée et la phase diploïde est souvent courte. Il existe près de 98 000 espèces fongiques décrites. (6).

Les 8 phylums contenus dans ce règne sont :

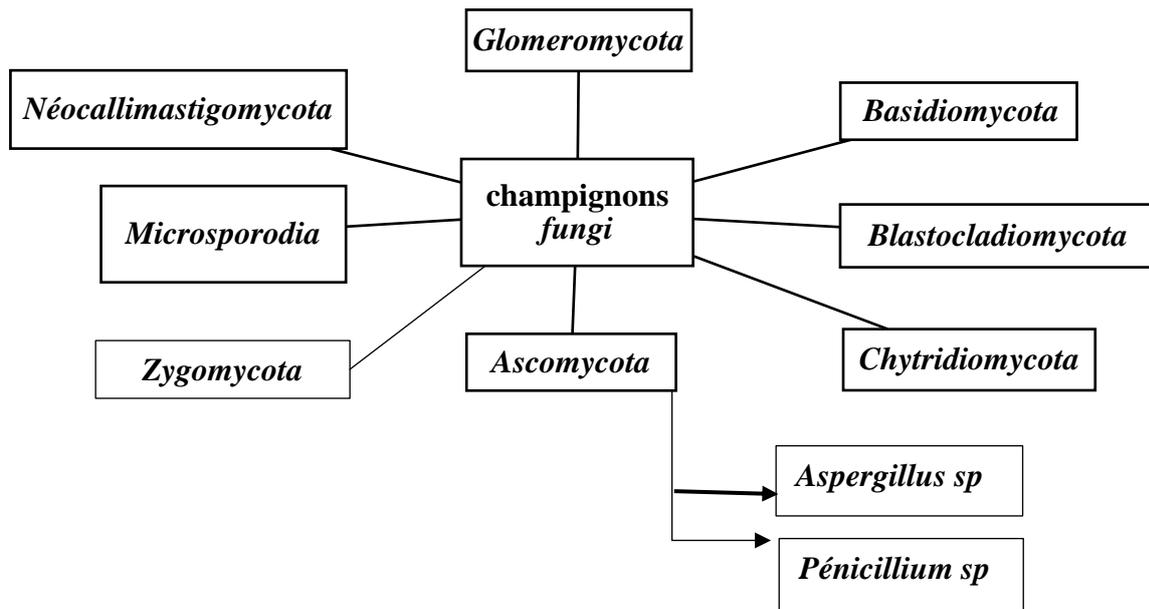


Figure N°14 : Les différentes classes des souches fongiques. (6).

## 7-Les champignons filamenteux

### 7-1 Définition

Les champignons filamenteux sont hétérotrophes, et plus particulièrement absorbotrophes puisqu'ils absorbent les éléments, digérés de manière extracellulaire, au travers de leur appareil végétatif présentant une perméabilité pariétale. (1).

Les champignons filamenteux ne peuvent synthétiser de matière organique à partir du gaz carbonique atmosphérique. En effet, ils sont incapables d'assurer la photosynthèse. (1).

Une source de carbone organique est donc nécessaire à leur développement. Ils synthétisent leurs propres nutriments à partir de l'eau et des éléments nutritifs et minéraux qu'ils puisent dans leur environnement. Il joue un rôle important dans le recyclage des matières organiques en puisant leur énergie à partir de ces sources carbonées externes. (1).

### 7-2 Les caractères des champignons filamenteux

#### 7-2-1 Paroi

Ils possèdent une paroi fibreuse constituée essentiellement de polysaccharides, de glycoprotéines et de mannoprotéines (Figure N°15). Les polysaccharides sont majoritairement la chitine, polymère de molécules de N-acétylglucosamine liées entre elles par une liaison de type  $\beta$ -1,4, et les glucanes, polymères de molécules de D-glucose liées entre elles par des

liaisons  $\beta$  (1). Ces deux polysaccharides assurent la protection des moisissures vis-à-vis des agressions du milieu extérieur. [1].

- La chitine joue un rôle dans la rigidité de la paroi cellulaire
- Les glycoprotéines jouent un rôle dans l'adhérence et les mannoprotéines forment une matrice autour de la paroi. [1].

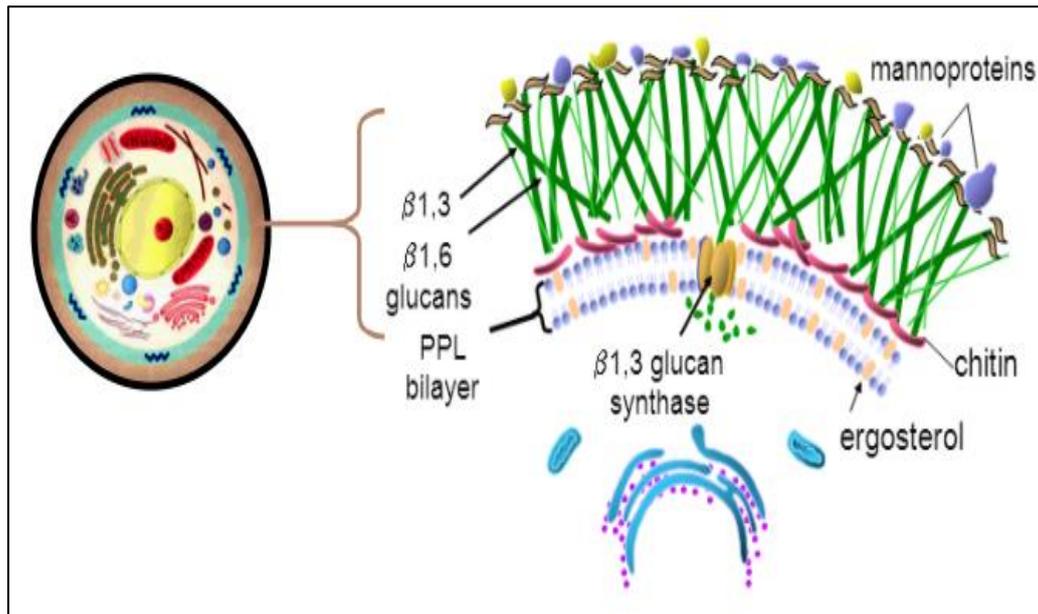


Figure N°15 : la structure de la paroi fongique [12].

### 7-2-2 Les filaments

Il existe deux types de filaments : filaments cloisonnés on dit qu'ils sont septés et on les nomme hyphes, et filaments non cloisonnés on dit qu'ils sont siphonnés ou coenocytiques et on les nomme siphon ou coenocytes. [1].

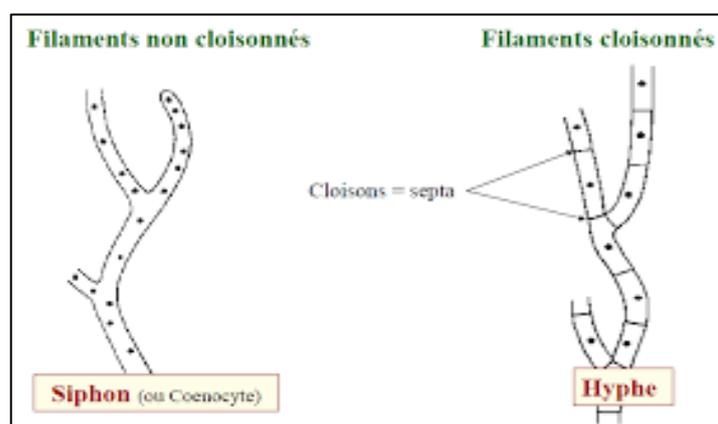


Figure N°16 : les types des filaments. [1].

## 7-2-3 Le développement des champignons filamenteux

Elle comprend deux phases : une phase végétative qui correspond à la phase de croissance et une phase reproductive comprend deux types de reproduction : la reproduction asexuée (sporulation), correspondant à la forme anamorphe, et la reproduction sexuée, correspondant à la forme téléomorphe. [1].

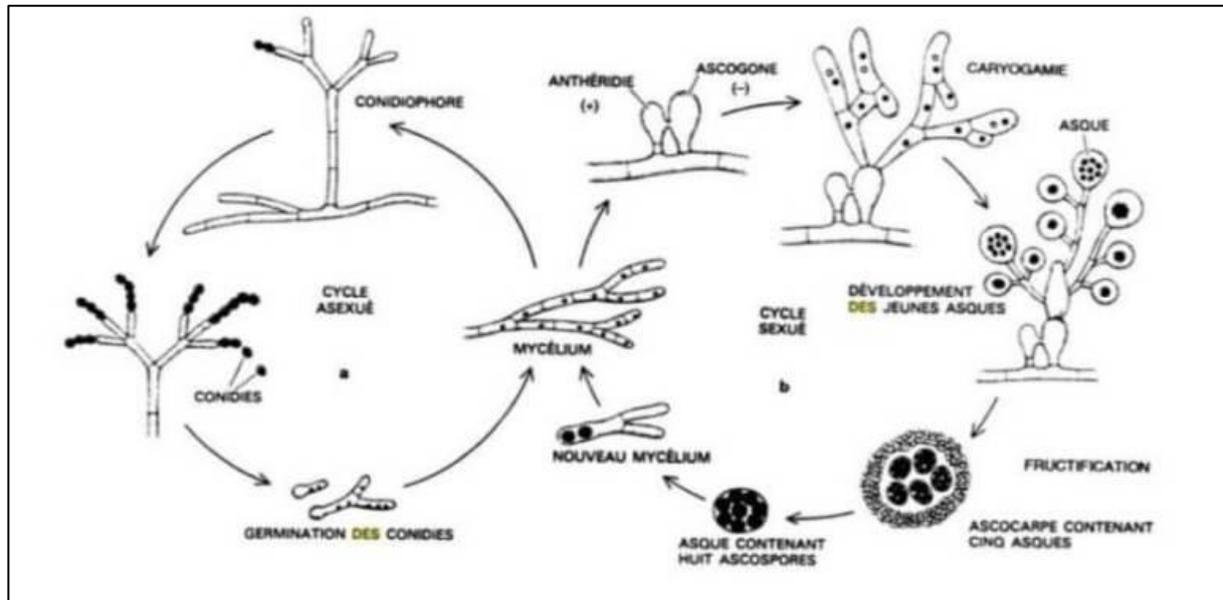


Figure N°17 : : la reproduction asexuée et sexuée chez les champignons [5].

## 7-2-4 Identification des champignons

**Tableau N°09** : Comparaison entre les différentes étapes des méthodes macro et micro et moléculaire des champignons.

	Méthodes	Les étapes
Analyse macroscopique	<b>Observation À l'œil nu</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Choisir des colonies bien isolées</li> <li>2. Mesurer diamètre des colonies à l'aide d'une règle graduée.</li> <li>3. Description des colonies : l'aspect La couleur, l'odeur et la vitesse de croissance</li> </ol>
	<b>Examen à L'état frais La technique Du Scotch</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Appliquer un ruban adhésif sur une culture de moisissure</li> <li>2. Coller le ruban adhésif sur la lame</li> <li>3. L'observation s'effectue avec le microscope optique à grossissement (<math>\times 10 \times 40</math>)</li> </ol>
Analyse microscopique	<b>Coloration simple</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Recouvrir le mycélium avec le bleu de méthylène</li> <li>2. Laisser agir de 1 à 3 min selon la force de la solution colorante</li> <li>3. Laver puis sécher délicatement avec un papier filtre fin</li> <li>4. Additionner l'huile de cèdre Grossissement (<math>\times 100</math>)</li> </ol>
	<b>RFLPs Le polymorphisme de taille des fragments de restriction</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Digestion de l'ADN (ADN hautement purifié)</li> <li>2. Électrophorèse</li> <li>3. Transfert des fragments d'ADN sur membrane de nitro-cellulose</li> <li>4. Révélation avec une sonde marquée</li> </ol>
Analyse moléculaire	<b>RAPD Le polymorphisme de l'ADN amplifié au hasard</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Amplification de l'ADN (ADN partiellement purifié) à l'aide d'amorces en présence de Taq DNA polymérase</li> <li>2. Électrophorèse</li> <li>3. Révélation par une méthode appropriée comme celle utilisant le Bromure d'éthidium.</li> </ol>

# Chapitre IV

## *Matériel et méthodes*



Notre travail a été reparté en deux types d'analyses qui doit être réalisés au niveau de laboratoire de microbiologie de l'université de Guelma. Ces analyses micro et macroscopiques sont dans le but de vérifier et identifier des souches conservées de champignons et une autre analyse qui vise à tester l'effet de ces champignons sur le chlorure stanneux (La bioremédiation).

## **1- La revivification des souches**

### **1-1 Milieux de cultures utilisés**

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

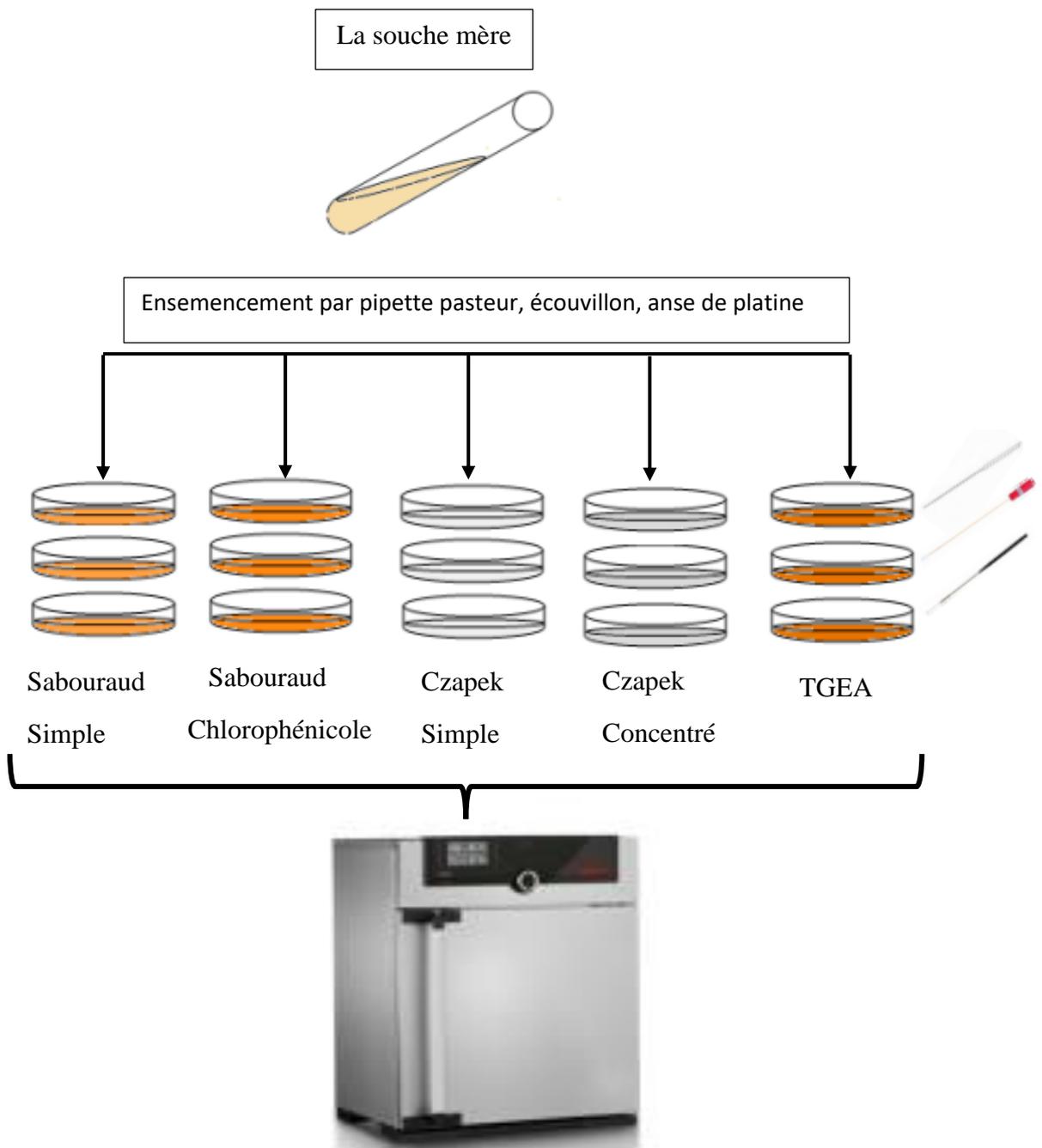
### **1-2 Ensemencement et incubation**

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

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

### **1-3 Lecture**

Se fait à partir du premier jour afin de noter les caractéristiques et les diamètres des colonies pour les identifier.



Incubation

26 °C Pour le milieu Sabouraud simple

28°C pour Czapek concentré, et TGEA

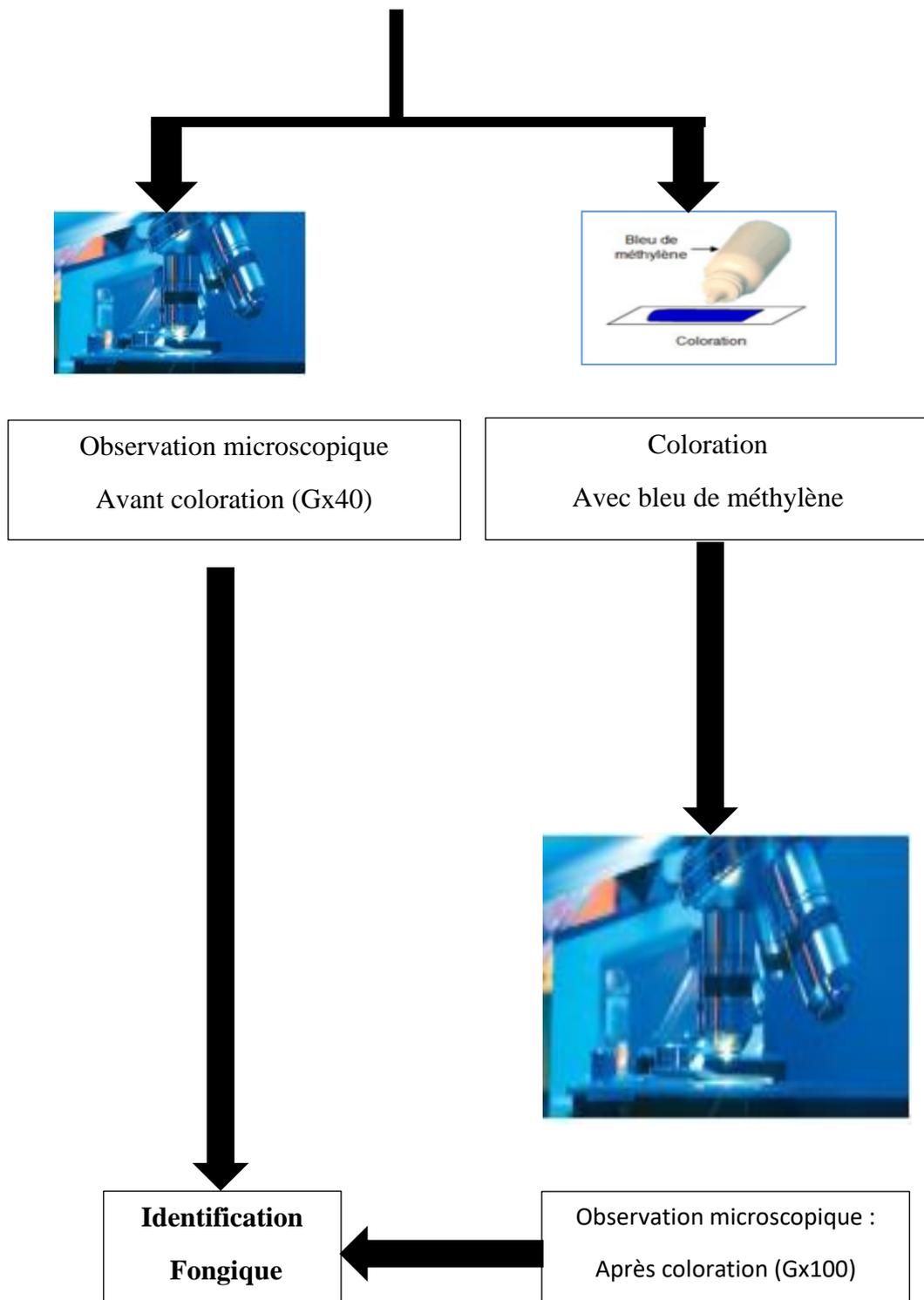


Figure N° 18 : Revivification et Identification des souches

**1-4 Identification macroscopique**

Elle permet de connaître :

- ✓ Les caractères culturaux (aspect du thalle)
- ✓ La couleur des colonies
- ✓ Exsudat : présence ou absence
- ✓ Odeur : présence ou absence

**1-5 Observation microscopique**

Elle révèle :

- ✓ Les organes de fructification
- ✓ Couleur des spores

**1-5-1 Examen à l'état frais**

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

- ✓ La morphologie des champignons.
- ✓ Leur mode de regroupement et leur structure.

**Technique**

- On Prélève à l'aide d'une anse de platine un fragment de mycélium de la culture qu'on dépose entre lame et lamelle propres.

- L'observation s'effectue avec le microscope optique à grossissement (x10, x40)

**1-5-2 Examen après coloration**

- Indispensable pour la morphologie et la structure des champignons.

- Les préparations colorées peuvent être conservées longtemps pour d'autres résultats valables en microscope optique. En utilisant la coloration simple.

**Coloration simple (bleu de méthylène)**

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

- ✓ Additionner l'huile de cèdre
- ✓ Grossissement x100

## **2- L'effet des métaux lourds sur les champignons**

### **2-1 Souches fongiques**

Les espèces utilisées sont des souches présentent un excellent modèle pour l'accumulation des éléments en traces respectivement pour le métal, ces souches sont conservées sur une gélose inclinée à 4°C.

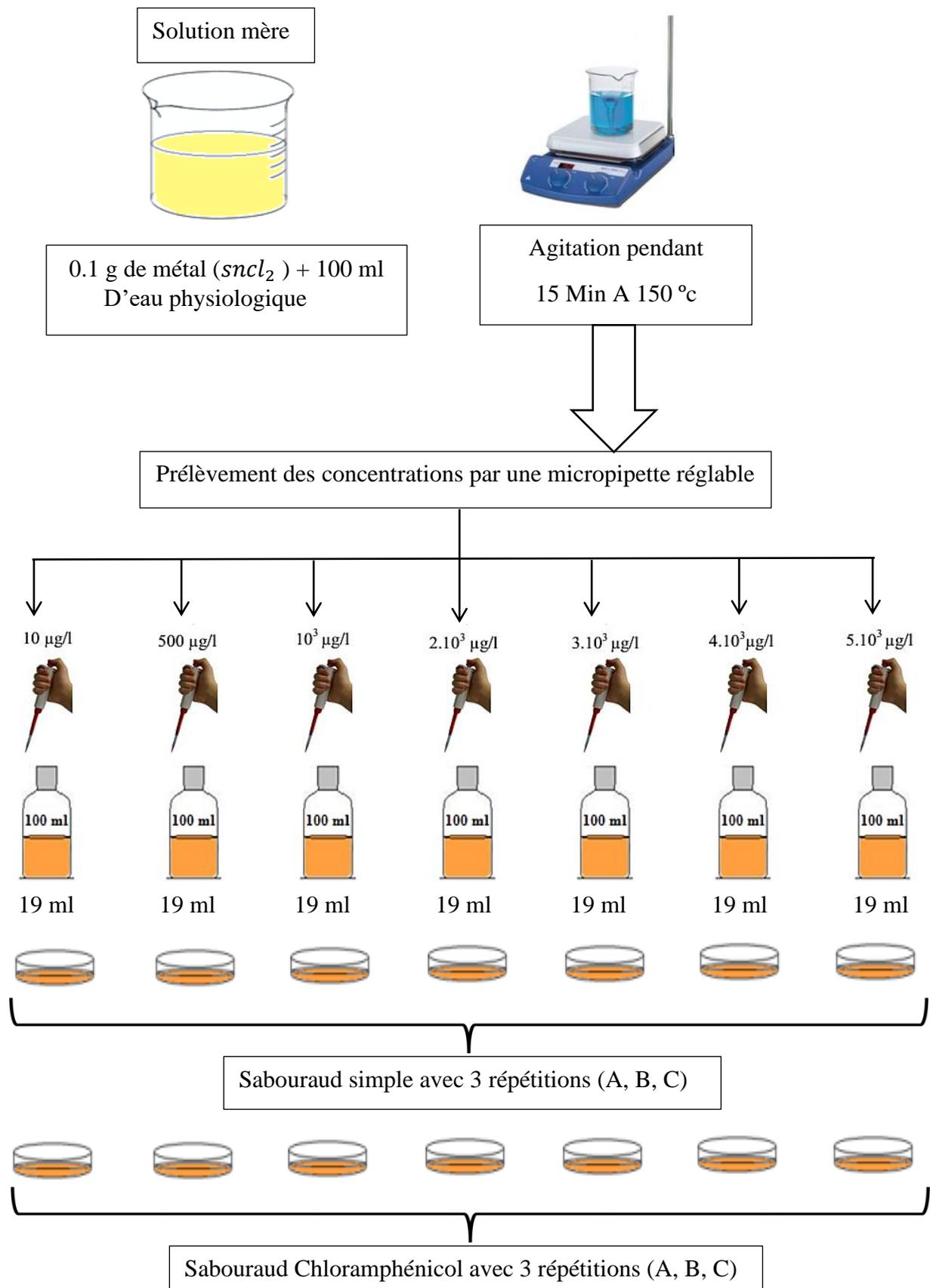
### **2-2 Etude de L'effet des métaux lourds sur les champignons**

La recherche de la Biorémédiation doit être réalisée selon la méthode décrite par Ropane Miller et all 2009. Cette détermination sera préparée selon la méthode de diffusion ; une gamme de concentration stérile de métal allant de 10 à 5.10<sup>3</sup> µg/l préparé pour chaque métal, le milieu de culture doit êtreensemencé par des filaments fongiques purifiés et des concentrations de métal sont disposés aseptiquement dans des boites de pétri contenant le milieu de culture.

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

### **2-3 Mode opératoire**

- ✓ Peser 0.1 g du métal poudre
- ✓ Mesurer 100 ml d'eau physiologique dans un bicher stérile.
- ✓ Agiter le mélange (eau physiologique + métal) avec l'échauffement pendant 15 min à 150 °C.
- ✓ Prélever à partir de cette préparation sept concentrations différentes à l'aide d'une micropipette réglable stérile : 10 µg/l, 500 µg/l, 10<sup>3</sup>µg/l, 2.10<sup>3</sup> µg/l, 3.10<sup>3</sup> µg/l, 4.10<sup>3</sup> µg/l, 5.10<sup>3</sup>µg/l.
- ✓ Mettez chaque concentration dans un flacon en verre stérile.
- ✓ Mesurer 100 ml de chaque milieu (Sabouraud simple, Sabouraud Chloramphénicol, Czapek Simple, Czapek Concentré, TGEA).
- ✓ Et mélanger ces derniers chacun avec les concentrations précédentes.
- ✓ Couler le mélange (métal +milieu) dans les boites de pétri.
- ✓ Ensemencer les souches obtenues à l'aide d'une pipette pasteur et une lame bistouri.
- ✓ Incubation à l'étuve à 28°C



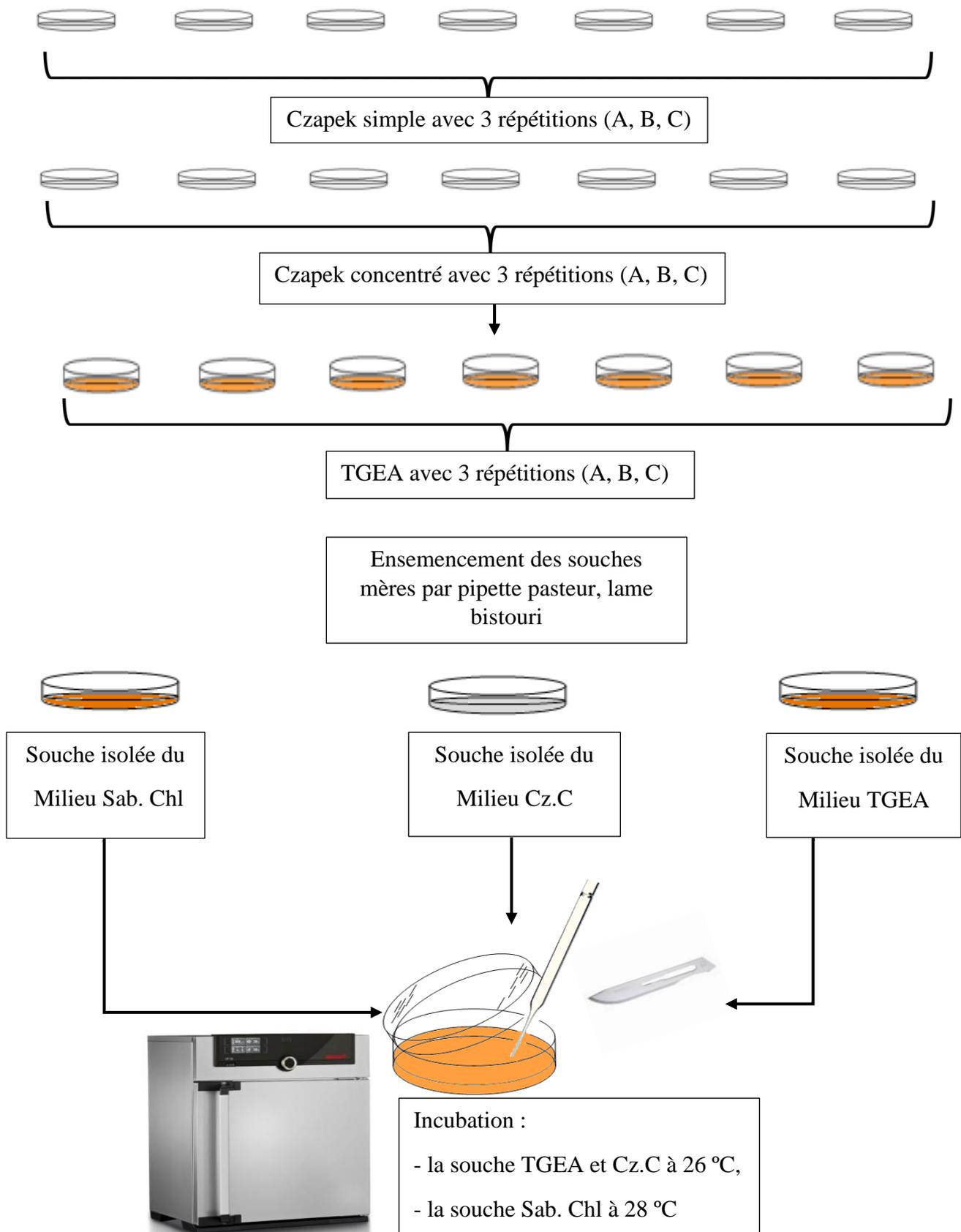


Figure N° 19 : Mode opératoire d'ensemencement des souches pour déterminer la bioremédiation Vis-à-vis le chlorure stanneux

# Chapitre V

## *Résultats et discussion*

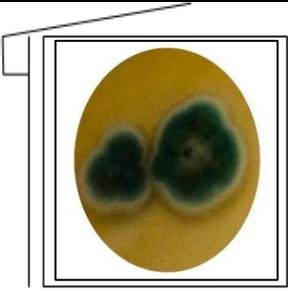
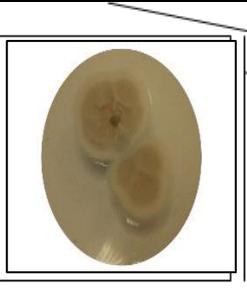
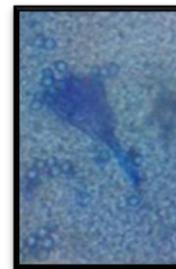


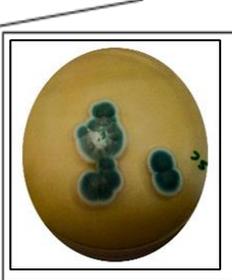
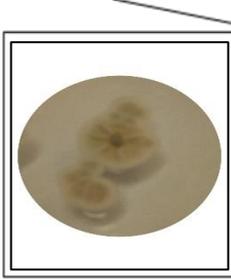
1- Identification fongique

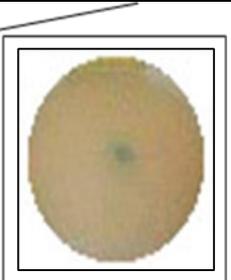
Les résultats permettent de distinguer 5 types des souches différents, après l'identification macro et microscopiques.

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

Afin de déterminer l'espèce des souches isolées nous faisons une observation macroscopique avec l'œil nu et une observation microscopique avec le microscope optique.

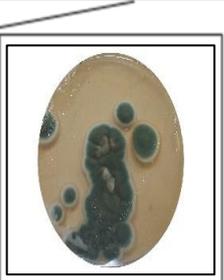
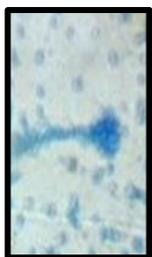
		Souche 5 isolé de milieu Sabouraud simple (penicillium sp)			
		Recto	Verso	A l'état frais	Après coloration
Milieu	Sabouraud simple				
	Caractères Cultureaux	Des colonies : filamenteuses couleur : bleu vert et centre blanc bordure: blanchâtre odeur : désagréable aspect : velouté. La croissance : rapide (3.7cm)	Des colonies filamenteuses couleur : jaunâtre	Conidiophore long, lisse, incolore avec des métules courts, et incolore	

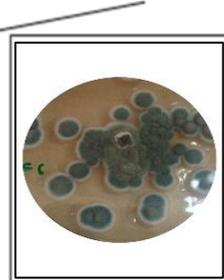
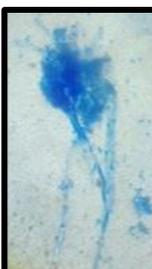
		Souche 5 isolé du milieu Sabouraud chloramphénicol (penicillium sp)			
		recto	verso	À l'état frais	Après coloration
Milieu	Sabouraud Chloramphénicol				
	Caractères Cultureux	Des colonies filamenteuses avec une couleur bleu-vert et une bordure blanchâtre. l'odeur est désagréable la croissance est rapide (3.2 cm)	Des colonies plates, et incolores.	Conidiophore : long lisse, incolore avec des métules court et incolores	

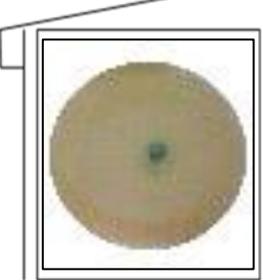
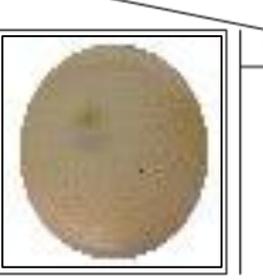
		Souche 5 isolé du milieu Czapek concentré (Penecillium sp)			
		recto	verso	à l'état frais	après coloration
Milieu	Czapek concentré				
	Caractères cultureux	des colonies vert filamenteuses avec des bordures blanches, aspect rigoureux, l'odeur désagréable la croissance rapide (3cm)	Des colonies filamenteuses jaunes.	Conidiophore : court lisse, incolore Avec des métules courts incolores.	

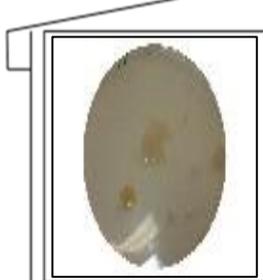
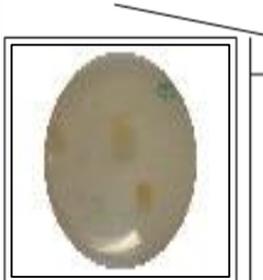
		Souche 6 isolé du milieu Sabouraud simple (Penecillium sp)			
		Recto	Verso	A l'état frais	Après coloration
Milieu	Sabouraud simple				
	Caractères cultureux	Des colonies filamenteuses Couleur bleu-vert Bordure blanchâtre Odeur désagréable Aspect poudreux La croissance est rapide (3.7cm).	Des colonies filamenteuses Couleur jaune Blanchâtre.	Conidiophore : court, lisse, incolore avec des métules courts.	

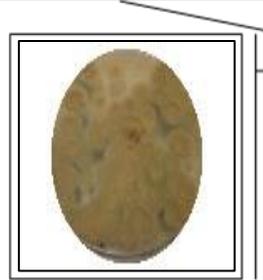
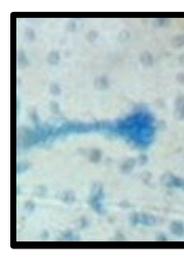
		Souche 6 isolé du milieu TGEA (Penecillium sp)			
		recto	Verso	L'état frais	Après coloration
Milieu	TGEA				
	Caractères cultureux	Des colonies régulières d'une couleur verte blanchatre au centre, l'odeur est desagreable avec une croissance moduré ( 3.2 cm)	Des colonies régulières, d'une couleur jaune	Conidiophore long, lisse, est vert	

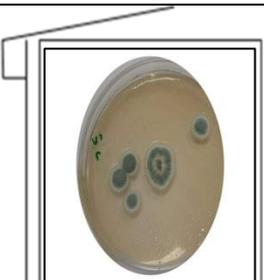
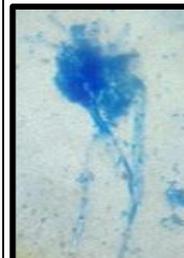
		Souche 7 isolé du milieu Sabouraud simple (Aspergillus sp)			
		Recto	Verso	A l'état frais	Après coloration
Milieu	Sabouraud simple				
	Caractères cultureux	Des colonies filamenteuses, bleu-verte avec une bordure blanchâtre, l'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est moduré (2.7 cm)	des colonies filamenteuses avec une couleur jaunatre.	Conidiophore : long, lisse, incolore ; avec des métules courts et incolores	

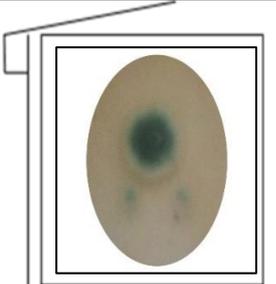
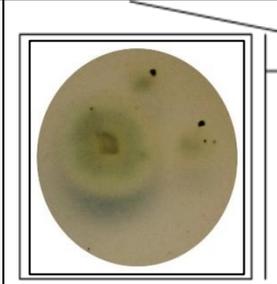
		Souche 7 isolé du milieu Sabouraud chloramphénicol (Aspergillus sp)			
		Recto	Verso	A l'état frais	Après coloration
Milieu	Sabouraud Chloramphénicol				
	Caractères cultureux	Des colonies filamenteuses avec un colleur bleu vert bordure blanchantre, l'odeur est desagreable avec un aspect podreux. La croissance est moduré(2cm)	Des colonies régulières, d'une couleur jaune	Conidiophore : long, lisse, incolore ; avec des métules courts et incolores	

		Souche 7 isolé du milieu Czapek concentré (Aspergillus sp)			
		Recto	Verso	A l'état frais	Après coloration
Milieu	Czapek concentré				
	Caractères culturaux	Des colonies filamenteuses avec un colleur bleu vert bordure blanchâtre, l'odeur est désagréable avec un aspect poudreux. La croissance est modéré (2.9 cm)	Des colonies régulières, d'une couleur jaune	Conidiophore : long lisse incolore, avec des métules court et incolore	

		Souche 8 isolé du milieu TGEA (Aspergillus sp)			
		Recto	Verso	A l'état frais	Après coloration
Milieu	TGEA				
	Caractères culturaux	une colonie régulière incolor et une bordure blanchâtre, l'odeur est désagréable avec une croissance lente (1.8 cm)	une colonie régulière avec une couleur jaune	Des conidiophores long, lisse et incolore. Les métules sont longs	

		Souche 9 isolé du milieu Sabouraud simple (Aspergillus sp)			
		Recto	Verso	A l'état frais	Après coloration
Milieu	Sabouraud simple				
	Caractères cultureux	Des colonies plissées à striation avec une couleur verte foncée ; et une bordure blanchâtre, l'odeur est désagréable avec un aspect Velouté. La croissance est lente (1.5cm)		conidiophore : long, lisse, incolore ; avec des métules courts et incolores.	

		Souche 9 isolé du milieu Sabouraud chloramphénicol (Aspergillus sp)			
		Recto	Verso	A l'état frais	Après coloration
Milieu	Sabouraud Chloramphénicol				
	Caractères cultureux	Des colonies filamenteuses avec un colleur bleu vert bordure blanchâtre, l'odeur est désagréable avec un aspect podreux. La croissance est modéré (2.9)		conidiophore : long, lisse, incolore ; avec des métules courts et incolores	

		Souche 9 isolé du milieu Czapek concentré (Aspergillus sp)			
		recto	verso	A l'état frais	Après coloration
Milieu	Czapek concentré				
	Caractères culturaux	Une colonie filamenteuse de couleur bleu-vert avec des bordures blancs, l'odeur est désagréable avec un aspect poudreux .la croissance est (3 cm)	Une colonie filamenteuse de couleur jaune blanchâtre.	Conidiophore : long lisse incolore, avec des métules court et incolore.	

À cause de l'épidémie (Covid 19) nous avons faite l'identification micro et macroscopique des souches fongiques isolées ; alors que la bioremédiation vis-à-vis le chlorure stanneux n'était pas fait.

## 2- Résultats de la Biorémédiation chlorure stanneux

La bioremédiation de chlorure stanneux c'est le procédé de dépollution biologique à travers de microorganismes spécifiques, qui est une technique durable permette l'élimination des déchets Elle utilise les champignons pour retirer ou neutraliser les polluants des eaux sur place ou ailleurs, Ces biosourçant présents dans la nature, transforment les substances dangereuses en substances moins toxiques.

Le chlorure stanneux qui est un élément peut être accumulé par nos souches fongiques avec des concentrations élevées ce qui en accord avec les travaux de recherche de Doku et all, 2015 dans le cas d'Aspergillus fumigatus et Aspergillus Niger où le potentiel d'accumulation de fer atteint 73,09 mg/l dans des conditions de culture re semblable à nous condition tel que le milieu de culture et la température ce qui signifie que le milieu est sélectif favorable pour la souche isolée (9) ,ce qui nous indique aussi que la souche est capable de piéger ce métal ( chlorure stanneux) d'après les travaux de Bendjama et all 2011.(3)

Ou peut-être accumulé avec des faibles concentrations dans le cas des recherches de Kurniati et al, 2014 pour la souche *Aspergillus Flavus* où le potentiel d'accumulation de mercure atteinte 10 mg/l seulement sur un milieu se diffère à nos études qui est acide à base de pomme de terre (10).

Ce métal peut être non cumulable par les champignons tel que les recherches de **Philippe Mestrallet.1996**. Qui montre que le champignon n'accumule pas spécialement le métal quand le facteur de concentration est inférieur à 1, ce qui signifie que le taux de métal est moins élevé dans le champignon que dans le substrat. (14).

# Conclusion



### Conclusion

Les zones humides cas du lac oubeira localisée aux Nord-est algérien qui abrite une faune et flore Malheureusement ces eaux sont touchées par une double pollution une organique et autre oxydante par la présence des métaux lourds cas du chlorure stanneux

Ce travaille nous à parmi d'indiquer la richesse potentielle des souches fongiques après leur revifification et surtout quand il est isolé identifiées à partir de ces eaux.

D'après les résultats de Doku et all, 2015 le chlorure stanneux peut être accumulé par les souches fongiques avec des concentrations élevées ce qui nous indique que les souches fongiques pourraient être des souches épuratrices autant que son capable de piéger les cations métalliques

En perspective ils pourraient être d'appliquer une autre étude plus approfondie qui contient les points suivants :

- Une application reguireuse de la partie expérimentale par nos souches
- Une comparaison entre nos souches fongiques et autres microorganismes (tel qu'algue) capables d'accumuler les mêmes métaux
- Une Identification moléculaires de nos souches.
- Utilisation d'autre différents concentrations et milieux

# Reference Bibliographique



## Référence Bibliographique

---

- (1). Aurélie Lecellier. Caractérisation Et Identification Des Champignons Filamenteux Par Spectroscopie Vibrationnelle [En Ligne]. Thèse Doctorat En Biologie Biophysique. France, Université De Reims Champagne-Ardenne,2013,185p,[Consulté Le 26.06.2020].
- (2). Baameur, Majda. Nefsi, Khalil. Etude Ecobiologique Du Lac Oubeira [En Ligne]. Mémoire Hydrobiologie Marine Et Continentale. Blida,Université Saad Dahleb Blida 1,2019,63p,(Consulté Le 20.09.2020).
- (3). Belabed. B., Bendjema. A., Boudjelida. H., Djabri. L., Et Bensouilah. M., Evaluation Of The Métal Contaminations In The Surface Sediments Of The Oubeira Lagoon, National Park Of El Kala, [En Ligne].Journal, Algérie, Archives Of Applied Science Research,2011, P (51 62),(Consulté Le 22.9.2020).
- (4). Bendjama. A., Djabri. L., Chouchane. T., Boukari. A., Et Tlili. S., La Contamination Métallique Des Eaux Lacustres Des Zones Humides Du Pnek Située Au Nord-Est Algérien [En Ligne].Journal, In Actes De La Conférence Internationale De 2014 Sur L'énergétique Appliquée Et La Pollution, 2014 P (8).(Consulté Le 22.9.2020).
- (5). Boumarf, Warda. Cartographie Et Impact De La Qualité Des Eaux Du Lac Oubeira Sur La Relation Sol-Végétation (Parc National D'el Kala) [En Ligne]. Mémoire Cartographie Des Ecosystèmes Forestiers De L'est Algérien. Annaba : Université Badji Mokhtar, 2010,82p, (Consulté Le 18.9.2020).
- (6). Bouzid Nasraoui. Les Champignons Et Pseudo-Champignons Pathogènes Des Plantes Cultivées, Biologie, Nouvelle Systématique, Interaction Pathologique [En Ligne].2015.180p. (Consulté Le 23.08.2020).
- (7). Charlotte Berthelot. Les Endophytes Bruns Septés Dans Les Sols Pollués Aux Eléments Traces Métalliques (Etm) : Caractérisation, Effet Sur Les Plantes Et Mécanismes De Tolérance Aux Etm [En Ligne]. Thèse Doctorat En Ingénierie De L'environnement. France. Université De Lorraine, 2017, 301p,(Consulté Le 30.08.2020).
- (8). Compendium National Sur Les Statistiques De l'Environnement [en ligne]. sis 8 & 10 Rue des Moussebiline – ALGER : Office National des Statistiques, 2006,98p (consulté le 04.09.2020). ISBN (9961 – 792 – 01 – 7).

- (9). Doku. T. E., Belford. E. J. D., The Potential Of *Aspergillus Fumigatus* And *Aspergillus Niger* In Bioaccumulation Of Heavy Metals From The Chemu Lagoon [En Ligne]. Ghana, Journal Of Applied Biosciences, 2015. P8907-8914. [Consulté Le 3.9.2020].
- (10). Kurniati. E., Arfarita. N., Ima. T., Higuchi. T., Kanno. A., Yamamoto. K., And Sekine. M., Potential Bioremediation Of Mercury-Contaminated Substrate Using Filamentous Fungi Isolated From Forest Soil [En Ligne]. Journal Of Environmental Sciences, 2014 P1223 (Consulté Le 17.09.2020).
- (11). M.Elhoussein, Ould Sidi Mohamed. Evolution Spatiotemporelle Des Lacs De La Région D'el Kala (Nord-Est Algérien) [En Ligne]. Mémoire Géologie. Ouargla : Université Kasdi Merbah ,2016,60p. (Consulté Le 20.09.2020).
- (12). Matías Miguel Salvarredy Aranguren. Contamination En Métaux Lourds Des Eaux De Surface Et Des Sédiments Du Val De Milluni (Andes Boliviennes) Par Des Déchets Miniers Approches Géochimique, Minéralogique Et Hydrochimique [En Ligne]. Thèse Doctorat En Sciences De La Terre Et Environnement. Toulouse : L'université Toulouse Iii - Paul Sabatier, 2008, 379p, (Consulté Le 27.08.2020).
- (13). Meddour. A., Bouderdia. K., Biodiversité Et Développement Piscicole Au Lac Oubeira (Parc National El Kala-Algérie) [En Ligne]. Workshop Report N° 07, Izmir, Turkey, The Inter-Islamic Science & Technology Network On Oceanography, 2001, P (42-51), (Consulté Le 22.9.2020).
- (14). Philippe Mestrallet. 1996. Champignons Et Métaux Lourds. [En Ligne]. Grenoble, Thèse Doctoral, Joseph Fourier, 1996. P85. [Consulté Le 3.9.2020].
- (15). Sahbi Imen, Meref Rim. Contribution A L'isolement Et L'identification Des Champignons Filamenteux A Partir De Deux Sols Salin Et Agricole [En Ligne]. Mémoire Master En Microbiologie Appliquée. Oum El Bouaghi, Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi. 2018. 37p. (Consulté Le 29.08.2020).
- (16). Sehili. N., Evolution Des Peuplements Phytoplanctoniques Au Niveau Du Lac Oubeira Et La Lagune El Mellah [En Ligne]. Mémoire De Magistère, Annaba, Université Badji Mokhtar (2008), P (135). (Consulté Le 22.9.2020).

## **Référence Bibliographique**

---

(17). Souak Fatma Zohra. La Politique De L'eau En Algerie : Valorisation Et Développement Durable [en ligne].19p.(consulté le 04.09.2020).

### Site Web

- [1]. Bouchoukh.sd.les champignons ou mycètes [En Ligne]. Disponible Sur : <https://www.youtube.com/watch?v=5IpetKgyQPQ> [Consulté Le 20.07.2020].
- [2]. C. Biney, A.T. Amuzu, D. Calamari, N. Kaba, I.L. Mbome, H. Naeve O. Ochumba, O. Osibanjo, V. Radegonde Et M.A.H. Saad., Etude Des Metaux Lourds [En Ligne]. Disponible Sur : <Http://Www.Fao.Org/3/V3640f/V3640f04.Htm>(Consulté Le 20.07.2020).
- [3]. Canada Ca.2020-03-02.Gouvernement De Canada)[En Ligne].Disponible Sur : <Https://Www.Inspection.Gc.Ca/Exigences-En-Matiere-D-Etiquetage-Des-Aliments/Etiquetage/Industrie/Additifs-Alimentaires/Synonymes-Autorises/Fra/1369857665232/1369857767799> [Consulté Le 20.07.2020].
- [4]. CNESST. Fiche complète pour dichlorure stanneux [En Ligne]. Disponible Sur : [Https://Www.Csst.Qc.Ca/Prevention/Reptox/Pages/FicheComplete.Asp?No\\_Produit=52746](Https://Www.Csst.Qc.Ca/Prevention/Reptox/Pages/FicheComplete.Asp?No_Produit=52746) [Consulté Le 20.07.2020].
- [5]. France Online. Microbiologie médicale.fr et en vente [En Ligne]. Disponible Sur : <https://franceonline.fr/domaine/5eab742dee18d141a4687f22/>(Consulté Le 20.07.2020).
- [6]. INERIS. Portail Substances Chimiques [En Ligne]. Disponible Sur : <Https://Substances.Ineris.Fr/Fr/Substance/Cas/7772-99-8>[Consulté Le 20.07.2020].
- [7]. INRS. Chlorure Stanneux (Anhydre) [En Ligne]. Disponible Sur : [Https://Www.Ilo.Org/Dyn/Icsc/Showcard.Display?P\\_Lang=Fr&P\\_Card\\_Id=0955&P\\_Version=2](Https://Www.Ilo.Org/Dyn/Icsc/Showcard.Display?P_Lang=Fr&P_Card_Id=0955&P_Version=2)(Consulté Le 20.7.2020).
- [8]. Institut numérique. Définitions et caractéristiques des métaux lourds [En Ligne]. Disponible Sur : <https://www.institut-numerique.org/i2-definitions-et-caracteristiques-des-metaux-lourds> 5306014f2e326 (Consulté Le 20.07.2020).
- [9]. Phytotoxicité Chez L'animal Lenntech. Purification Et Traitement De L'eau[En Ligne]. Disponible Sur : <Https://Www.Lenntech.Fr/Periodique/Elements/Sn.Htm> (Consulté Le 20.07.2020)
- [10]. S Et Koh.Sd.La Chimie C'est La Vie[En Ligne].Disponible Sur : [Http://Skoh.Hei.Fr/Index.Php?Option=Com\\_Content&View=Article&Id=130%3achlorure-Stanneux&catid=55%3ales-Produits&Itemid=74&Limitstart=1](Http://Skoh.Hei.Fr/Index.Php?Option=Com_Content&View=Article&Id=130%3achlorure-Stanneux&catid=55%3ales-Produits&Itemid=74&Limitstart=1)[Consulté Le 20.07.2020].

## Référence Bibliographique

---

[11]. Todini Chemicals.sd.distributaire Des Produits Chimiques [En Ligne]. Disponible Sur : <https://www.todini.com/fr/produits-chimiques/etain/chlorure-etain>[Consulté Le 20.07.2020].

[12]. Slideplayer. Les champignons Manque de cibles spécifiques Sont des eucaryotes [En Ligne]. Disponible Sur : <https://slideplayer.fr/slide/508791/>(Consulté Le 20.07.2020).

[13]. Transport Canada. Les Pollutions Chimiques Maritimes [En Ligne]. Disponible Sur : <https://www.pollution-chimique.com/fr/impacts/environnemental.php> (Consulté Le 20.07.2020).

# Annexe



## 1- Matériel et méthodes

### 1-1 Matériels utilisés

- ✓ Bec benzène
- ✓ L'hôte
- ✓ Balance de précision
- ✓ Agitateur magnétique
- ✓ Etuve
- ✓ Bain marie
- ✓ Autoclave
- ✓ Microscope optique
- ✓ Boîtes de pétrie
- ✓ Flacons en verre
- ✓ Bicher
- ✓ Entonnoir
- ✓ Burette
- ✓ Lames et lamelles
- ✓ Lames bistouri
- ✓ Anse de platine, écouvillons, pipettes pasteur
- ✓ Micropipettes
- ✓ Des embouts
- ✓ Bleu de méthylène, huile de cèdre
- ✓ Eau physiologique
- ✓ Métaux lourds (chlorure stanneux)
- ✓ Ruban adhésif

## 1-2 Mode opératoire

### Revivification des souches

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

1. Czapek simple
2. Czapek concentré
3. Sabouraud simple
4. Sabouraud chloramphénicol
5. TGEA

## 2- Composition des milieux de culture utilisée

### 2-1 Le milieu Czapek simple

NaOH <sub>3</sub>	2g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1g
KCl	0,5g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,5g
FeSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,01g
ZnSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,005g
CuSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,01g
Saccharose	30g
Agar	20g
Eau distillée	1000ml

**2-2 Le milieu Czapek concentré**

NaOH <sub>3</sub>	30g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	20g
KCl	10g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	10g
FeSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,2g
Saccharose	30g
Agar	20g
Eau distillée	1000ml

**2-3 Le milieu Sabouraud simple**

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

**2-4 Le milieu Sabouraud Chloramphénicol**

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

**2-5 Le milieu TGEA**

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

**3- Préparation des milieux de culture**

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

**Stérilisation des milieux**

La stérilisation est destinée à détruire tous les germes présents au départ dans le milieu, elle est réalisée dans un autoclave par la vapeur sous haute pression, à haute Température (120 °C) pendant 20 min

## ملخص

بحيرة أوبيرا هي أرض رطبة تقع في شمال شرق الجزائر، وتقدم تنظيمًا مكانيًا نموذجيًا للنباتات في الأحزمة، وتعتبر موقعًا شتويًا بامتياز لأنها تحتوي أيضًا على عدة أنواع من الطيور النادرة. تتأثر هذه المياه بتلوث مزدوج أحدهما عضوي والآخر تأكسدي بوجود الكلوريد الستانلس.

في إطار التنقية البيولوجية باستخدام المصادر الحيوية، استندت دراستنا إلى تحليل ميكروبيولوجي مقسم إلى مرحلتين، واحدة سمحت لنا بتمييز الثراء المحتمل للسلاسل الفطرية بعد إحيائها على عدة وسائط عزل وغيرها. والأخرى ستبقى للمعالجة الحيوية مقابل كلوريد القصدير.

أصبحت إزالة التلوث من هذه المياه مسؤولية كبيرة بالطرق البيولوجية مقارنة بالطرق التقليدية الأخرى باهظة الثمن. حيث استخدمت سلالات فطرية لأنها أصلية وأكثر موثوقية مقارنة بالكائنات الدقيقة الأخرى.

الكلمات المفتاحية: التنقية البيولوجية، السلاسل الفطرية، الكلوريد الستانلس

## Résumé

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

Ces eaux sont touchées par une double pollution une organique et autre oxydante par la présence de chlorure stanneux.

Dans le cadre d'une épuration biologique en utilisant des biosourçants, notre étude a été basée sur une analyse microbiologique subdivisé en deux étapes, une nous a permette de distinguer la richesse potentielle des souches fongiques après leur revivification sur plusieurs milieux d'isolement et autre restera pour la bioremédiation vis-à-vis le chlorure stanneux.

La dépollution de ces eaux est devenue une responsabilité majeure par des méthodes biologiques en comparant au d'autre méthodes classiques couteuse. Ou On utilise des souches fongiques car ces derniers sont autochtones et plus fiables en comparons au d'autres microorganismes

**Mot clés :** Epuration biologique, souches fongiques, chlorure stanneux

## Abstract

Lake Oubeira is a wetland located in northeastern Algeria, presents a typical spatial organization of vegetation in belts, it is considered a wintering site par excellence because it also contains several species of rare birds. These waters are affected by a double pollution, one organic and the other oxidizing by the presence of stannous chloride.

As part of a biological purification using bio-sources, our study was based on a microbiological analysis subdivided into two stages, one allowed us to distinguish the potential richness of fungal strains after their revivification on several isolation media and other will remain for bioremediation vis-à-vis stannous chloride.

The decontamination of these waters has become a major responsibility by biological methods compared to other expensive conventional methods. Or We use fungal strains because they are indigenous and more reliable compared to other microorganisms

**Keywords :** Biological purification, fungal strains, stannous chloride