

DEMOCRATIC AND POPULAR ALGERIAN REPUBLIC

الديمقراطية الشعبية

MINISTRY OF HIGHER EDUCATION AND SCIENTIFIC RESEARCH

العلمي

الجمهورية الجزائرية

وزارة التعليم العالي والبحث



CHADLI BENDJEDID EL TARF UNIVERSITY

جامعة الشاذلي بن جديد - الطارف

FACULTY OF NATURE AND LIFE SCIENCES

DEPARTMENT OF Biology

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا



THÈSE

Présentée pour l'obtention du diplôme de :

DOCTORAT

Filière : Ecologie et environnement

Spécialité : Toxicologie industrielle et environnementale

Par :

Nom et Prénom : Tamer Fatma Zohra

Thème

Le titre de la thèse

Etude de la lutte biologique contre les toxines du
phytoplancton

Soutenue publiquement le 15-07-2026 devant le jury composé de :

Nom et prénom	Grade	Etablissement	Qualité
Lazli Amel	Prof.	Université Chadli Bendjedid-El-Tarf	Président
Nasri Hichem	Prof.	Université Chadli Bendjedid-El-Tarf	Directeur
Nouri Nada	Prof.	Université Chadli Bendjedid-El-Tarf	Co- Directrice
Hacini Nesrine	Prof.	Université Chadli Bendjedid-El-Tarf	Examinatrice
Sifi Karima	Prof.	Université Badji-Mokhtar, Annaba	Examinatrice
Djemli Samir	Prof.	Université Badji-Mokhtar, Annaba	Examineur

Année universitaire : 2025/2026

Remerciements

Je rends grâce avant toute chose à Allah, le Tout-Puissant et Miséricordieux, qui, par Sa sagesse infinie, m'a insufflé la volonté, la force, le courage et la patience nécessaires pour mener à bien ce modeste travail. Sans Sa guidance et Ses bienfaits constants, rien de tout cela n'aurait été possible.

Tout au long de cette aventure scientifique, j'ai eu la bénédiction de rencontrer des personnes exceptionnelles. Je tiens à leur exprimer ma profonde gratitude pour leur soutien précieux, qui a grandement contribué à la réalisation et à l'achèvement de cette thèse.

*Je tiens à remercier sincèrement mon directeur de thèse, Professeur **Nasri Hichem**, pour sa disponibilité, sa rigueur et ses conseils précieux. Sa bienveillance et son soutien constant ont été très importants pour la réussite de ce travail. Je suis très reconnaissant pour le temps et l'énergie qu'il m'a donnés, ainsi que pour son encouragement et ses conseils, surtout dans les moments difficiles de cette recherche.*

*Je tiens à exprimer toute ma gratitude à ma co-directrice de thèse, Professeur **Nouri Nada**, pour son soutien constant, ses conseils précieux et sa disponibilité tout au long de ce travail.*

Je suis profondément honorée par la présence des membres de mon jury de thèse, et je tiens à les remercier chaleureusement :

*Mes vifs remerciements vont à Madame **Lazli Amel**, Professeur à l'université Chadli Bendjedid d'El-Tarf d'avoir accepté de présider le jury de ma thèse.*

*Mes sincères et profonds remerciements s'adressent à Madame **Hacini Nesrine**, Professeur à l'université Chadli Bendjedid d'El-Tarf d'avoir bien voulu me faire l'honneur d'examiner ce travail.*

*Je remercie également Madame **Sifi Karima**, Professeur à l'université Badji-Mokhtar d'Annaba d'avoir accepté de participer à mon jury de soutenance.*

*Je remercie également Monsieur **Djemli Samir**, Professeur à l'Université Badji-Mokhtar d'Annaba, pour avoir accepté de faire partie de mon jury de soutenance.*

*Je souhaite remercier chaleureusement **Dr Zaidi Hadjer** pour son accompagnement tout au long de ce travail. Sa disponibilité, ses conseils pertinents et son soutien constant ont vraiment fait la différence à chaque étape. Grâce à sa rigueur, son professionnalisme et sa bienveillance, j'ai pu améliorer la qualité de ma recherche et avancer malgré les difficultés. Sa patience et son engagement m'ont beaucoup aidée, et je lui suis profondément reconnaissante pour tout le temps qu'elle m'a consacré et la confiance qu'elle m'a témoignée.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude au Professeur **Larisa Lvova**, du département des sciences et technologies chimiques de l'Université Tor Vergata à Rome, pour m'avoir chaleureusement accueillie dans son laboratoire durant mon stage. Son soutien précieux, sa confiance et la mise à disposition des ressources nécessaires ont grandement contribué à l'avancement de mon travail. Je lui suis très reconnaissante pour toute l'aide qu'elle m'a apportée.*

*Je tiens à remercier chaleureusement Dr **Amrani Amina** pour son soutien et son aide précieuse tout au long de ce travail.*

Je tiens à remercier du fond du cœur l'équipe du laboratoire pour leur soutien, leurs encouragements et leurs conseils ont été d'un grand réconfort tout au long de ces années de recherche.

Je remercie chaleureusement toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réussite de ce modeste travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

*Je dédie ce travail, avant tout, à **mon père**, pilier de ma vie, dont le soutien constant, les sacrifices et les encouragements ont été une source inépuisable de force et de motivation. Son exemple de détermination et de rigueur m'a toujours inspiré à persévérer.*

*À **ma mère**, pour son amour infini, sa patience sans faille et sa présence rassurante à chaque étape de ce long parcours. Son soutien a été un refuge précieux dans les moments de doute.*

*Je dédie ce travail à **ma grand-mère Djamila**, qu'Allah lui fasse miséricorde.*

*À mes frères, **Zakaria et Aymen**, pour leur soutien constant et leur présence indéfectible tout au long de ce parcours.*

*À ma sœur **Manar**, merci pour ton amour sincère et ton soutien tout au long de mon parcours,*

*Et à ma cousine **Nourine**, qui a été un soutien et une aide précieuse tout au long de ce parcours.*

*A **mon neveu Taym**, qui apporte joie et lumière à notre famille.*

*À ma belle-sœur **Khalida**, pour son soutien constant tout au long de ce parcours.*

*Je tiens également à exprimer toute ma gratitude à **mes amies Nacera, Sara et Bouteina** pour leur soutien indéfectible, leur encouragement constant et leur présence précieuse durant cette aventure. Leur amitié a été un véritable moteur qui m'a permis de surmonter bien des obstacles.*

*Enfin, je dédie ce travail à **toute ma famille**, dont les encouragements et la confiance m'ont accompagné tout au long de ce parcours.*

Liste des Figures

N°	Titre	Page
1.	Diversité morphologique des cyanobactéries	7
2.	Trichome de la cyanobactérie <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	8
3.	Morphologie des cyanobactéries potentiellement toxiques les plus fréquemment rencontrées	18
4.	Structure chimique générale des microcystines	20
5.	Structure chimique de la nodularine-R	30
6.	Structures chimiques des neurotoxines : (A) anatoxine-a, (B) saxitoxine et (C) laLa β -N-méthylamino-L-alanine	32
7.	Structures chimiques des dermatotoxines : (A) lyngbyatoxine, (B) debromoaplysiatoxine et (C) aplysiatoxine	33
8.	Structure chimique de la cylindrospermopsine	33
9.	Localisation de Lac des oiseaux	53
10.	Lac des Oiseaux	53
11.	Spectres de masse CID des ions $[M+H]^+$ des deux nouvelles variantes de microcystines : (A) $[Glu(OCH_3)_6]MC-FR$, $[M+H]^+$ 1043 ; (B) $[Asp^3]MC-HarAba$, $[M+H]^+$ 967.	55
12.	Processus d'acclimatation des macrophytes en milieu expérimental	57
13.	Photographie des étapes d'exposition	58
14.	Mesure de paramètres physico-chimiques	59
15.	Photographie des différentes étapes d'extraction des pigments photosynthétiques	60
16.	Photographie des différentes étapes d'extraction de lamicrocystine.	62

17.	Photographie des techniques du dosage du glutathion (GSH)	64
18.	Courbe d'étalonnage du glutathion	65
19.	Photographie du dosage du superoxyde dismutase	66
20.	Photographie du dosage de la peroxydation lipidique (TBARS)	68
21.	Photographie du dosage des protéines	69
22.	Courbe d'étalonnage des protéines	69
23.	La variation de la température durant la période d'exposition dans les bécchers du <i>Pistia stratiotes</i>	72
24.	La variation du pH durant la période d'exposition dans les bécchers du <i>Pistia stratiotes</i>	73
25.	La variation de la concentration de l'oxygène dissous durant la période d'exposition dans les bécchers du <i>Pistia stratiotes</i> .	74
26.	La variation de la concentration des TDS durant la période d'exposition dans les bécchers du <i>Pistia stratiotes</i> .	75
27.	La variation de la salinité durant la période d'exposition dans les bécchers du <i>Pistia stratiotes</i>	75
28.	Variation de la turbidité durant la période d'exposition dans les bécchers du <i>Pistia Stratiotes</i> .	76
29.	Variation de la conductivité durant la période d'exposition dans les bécchers du <i>Pistia stratiotes</i>	77
30.	Variation de la température dans les bécchers du <i>Ceratophyllum demersum</i> durant la période d'exposition	78
31.	Variation du pH durant la période d'exposition dans les bécchers du <i>Ceratophyllum demersum</i> (Mg/L).	78
32.	Variation du l'oxygène dissous durant la période d'exposition dans	79

	les b�chers du <i>Ceratophyllum demersum</i>	
33.	Variation du TDS durant la période d'exposition dans les b�chers du <i>Ceratophyllum demersum</i>	80
34.	Variation de la salinité durant la période d'exposition dans les b�chers du <i>Ceratophyllum demersum</i>	81
35.	Variation de la turbidité durant la période d'exposition dans les b�chers du <i>Ceratophyllum demersum</i>	81
36.	Variation de la Conductivité durant la période d'exposition dans les b�chers du <i>Ceratophyllum demersum</i>	82
37.	Variation de la chlorophylle-a chez <i>Pistia stratiotes</i>	83
38.	Variation de la chlorophylle-b chez <i>Pistia stratiotes</i>	84
39.	La Variation de la chlorophylle totale (a+b) chez <i>Pistia stratiotes</i>	85
40.	Variation de la chlorophylle-a chez <i>ceratophyllum demersum</i>	86
41.	La Variation de la chlorophylle-b chez <i>ceratophyllum demersum</i>	87
42.	Variation de la chlorophylle totale chez <i>ceratophyllum demersum</i>	88
43.	Variation des carot�no�ides chez <i>Pistia stratiotes</i>	89
44.	Variation des carot�no�ides chez <i>Ceratophyllum demersum</i>	90
45.	Variations du taux de GSH (nmol/mg de protéine) chez <i>Pistia</i> <i>Stratiotes</i>	91
46.	Variations du taux de GSH chez <i>Ceratophyllum demersum</i>	91
47.	Variation du taux de glutathion-s-transférase (GST) chez <i>Pistia</i> <i>stratiotes</i>	92
48.	Variation du taux de glutathion-s-transférase (GST) chez <i>Ceratophyllum demersum</i>	93

49.	Variation du taux de la peroxydation lipidique (MDA) chez <i>Pistia Stratiotes</i>	94
50.	Variation du taux de la peroxydation lipidique (MDA) chez <i>Ceratophyllum demersum</i>	95
51.	La variation du superoxyde dismutase chez <i>Pistia stratiotes</i>	96
52.	Variation du le superoxyde dismutase chez <i>Ceratophyllum demersum</i>	96
53.	Variation des valeurs de bioaccumulation dans les tissus de <i>Pistia stratiotes</i> (A) et de <i>Ceratophyllum demersum</i> (B)	98
54.	L'Analyse en Composantes Principales (ACP) pour <i>Pistia stratiotes</i> et <i>Ceratophyllum demersum</i>	99
55.	Comparaison des réponses pigmentaire de pour <i>Pistia stratiotes</i> et <i>Ceratophyllum demersum</i> sous exposition à trois dose d'extrait de <i>Microcystis sp</i>	101
56.	Comparaison des réponses des paramètres physicochimiques de <i>Pistia stratiotes</i> et <i>Ceratophyllum demersum</i> sous exposition à trois dose d'extrait de <i>Microcystis sp</i> : une analyse en composants principales	103

Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
1.	Taxonomie des cyanobactéries selon les systèmes bactériologiques et botanique	11
2.	Abréviations des microcystines	20
3.	Synthèse bibliographique de cas rapportés de mortalité animale liée aux microcystines.	26
4.	Effets des microcystines sur le comportement physiologique des plantes terrestres.	28
5.	Travaux réalisés sur les cyanotoxines dans les plans d'eau d'Afrique	35
6.	Recommandations de l'OMS pour la surveillance des eaux brutes.	37
7.	Recommandations de l'OMS pour la surveillance des eaux de baignade.	41
8.	Activité allélopathique des plantes aquatiques et de leurs allélocomposés contre les cyanobactéries	42
9.	Bioaccumulation et biotransformation des cyanotoxines par les macrophytes	44

Liste des Abréviations

µg	Mico-gramme
Adda	Acide 3-amino-9-méthoxy-2,6,8-triméthyl-10-phényl-4,6-diénoïque
Ahp	Acide 3-amino-6-hydroxy-2-piperidone
Ala	Alanine
ASS	Acide sulfosalicylique
ATP	Adénosine triphosphate
BBC	Bleu Brillant De Coomassie
BSA	Bovine Serum Albumin
CDNB	1-chloro-2,4-dinitrobenzène, ou 2,4-dinitrochlorobenzène
UHPLC-MS/MS	chromatographie liquide à ultra haute performance
BMAA	β-N-methylamino-L-alanine
LPS	lipopolysaccharides
MS/MS	spectrométrie de masse en tandem
DTNB	Ellman's Reagent; 5,5-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid)
EDTA	Éthylène diamine tetra acétique
GR	Glutathion réduit
GSH	Glutathion

GST	Glutathion-s-transférase
H₂O₂	Le peroxyde d'hydrogène
HPLC	Chromatographie Liquide A Haute Performance
HPLC-SM	Chromatographie Liquide A Haute Performance couplée à la spectrométrie de masse
L	Litre
LPO	Peroxydation lipidique
MC-LR	Microcystine-Leucine-Arginine
MC-RR	Microcystine- Arginine -Arginine
MCs	Microcystines
Mdha	N- méthyldéshydroalanine
mM	Milli-mole
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ROS	Espèce Réactive d'Oxygène
SOD	Superoxyde dismutase
TBA	Acide Thiobarbiturique
TCA	Acide trichloroacétique
W H O	World Health Organization

Résumé

Résumé

Les cyanobactéries, notamment *Microcystis*, produisent des microcystines responsables de graves effets sur les écosystèmes aquatiques et la santé humaine. Parmi les solutions écologiques envisagées, la bioremédiation à l'aide de macrophytes aquatiques. Cette étude explore la dynamique de bioaccumulation et les réponses biochimiques de deux macrophytes, *Pistia stratiotes* et *Ceratophyllum demersum*, dans la dépollution d'eaux contaminées par les microcystines. Durant 15 jours, les paramètres physico-chimiques de l'eau ont été suivis pour évaluer l'efficacité des plantes et la qualité de l'eau. *Pistia stratiotes* a montré une bioaccumulation rapide au début de l'expérimentation, démontrant une forte capacité d'absorption des microcystines, idéale pour une bioremédiation à court terme mais nécessitant une récolte périodique. À l'inverse, *Ceratophyllum demersum* a présenté une accumulation stable et durable, adaptée à une remédiation prolongée. Les analyses biochimiques ont révélé une activation des défenses antioxydantes, avec une augmentation notable des caroténoïdes, du glutathion (GSH) et des enzymes antioxydantes telles que le superoxyde dismutase (SOD) et la glutathion-S-transférase (GST). *Ceratophyllum demersum*, a maintenu des niveaux antioxydants plus élevés, traduisant une meilleure résilience physiologique. Les variations de malondialdéhyde (MDA) ont mis en évidence un stress oxydatif, particulièrement maîtrisé par *Pistia stratiotes* grâce à ses mécanismes de défense. L'analyse en composantes principales (ACP) a confirmé ces tendances : chez *Pistia stratiotes*, les deux premiers axes expliquaient respectivement 25,09 % et 20,71 % de la variance, dominés par les caroténoïdes et la chlorophylle a (Chl a) pour le premier axe, et le MDA et la GST pour les deux axes. Chez *Ceratophyllum demersum*, les deux premiers axes représentaient 21,79 % et 19,78 % de la variance, avec les caroténoïdes et la Chl a comme principaux contributeurs, tandis que la SOD et le GSH influençaient la différenciation des échantillons. L'association complémentaire des deux espèces pourrait optimiser l'élimination des microcystines : *Pistia stratiotes* pour une détoxification rapide initiale et *Ceratophyllum demersum*, pour une action continue à long terme. Cette approche intégrée renforce l'efficacité et la durabilité des stratégies de phytoremédiation. Des recherches futures devraient viser l'optimisation des conditions environnementales et l'étude des effets synergiques entre espèces végétales afin d'améliorer davantage les performances de bioremédiation.

Mots-clés : Phytoremediation - cyanobactéries – microcystines – bioaccumulation – *Pistia stratiotes* – *Ceratophyllum demersum*.

Abstract

Toxic cyanobacteria, particularly *Microcystis*, produce microcystins that severely affect aquatic ecosystems and pose risks to human health. Among eco-friendly mitigation strategies, phytoremediation using aquatic macrophytes has emerged as a sustainable solution to control these harmful blooms. This study examines the bioaccumulation behavior and biochemical responses of two macrophyte species, *Pistia stratiotes* and *Ceratophyllum demersum*, for the removal of microcystins from contaminated water. Over a 15-day experimental period, physicochemical parameters were monitored to assess both plant performance and water quality improvement. *Pistia stratiotes* demonstrated a rapid initial uptake of microcystins, indicating high short-term detoxification potential, though it requires periodic harvesting to maintain efficiency. Conversely, *Ceratophyllum demersum* exhibited steady and prolonged accumulation, suitable for long-term remediation. Biochemical analyses revealed the activation of antioxidant defense mechanisms, including increases in carotenoids, glutathione (GSH), and antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD) and glutathione-S-transferase (GST). *Ceratophyllum demersum* maintained higher antioxidant levels, reflecting greater physiological stability and resilience. Fluctuations in malondialdehyde (MDA) indicated oxidative stress, effectively managed by *Pistia stratiotes* through its defense systems. Principal Component Analysis (PCA) confirmed these patterns: for *Pistia stratiotes*, PC1 and PC2 accounted for 25.09% and 20.71% of the variance, with carotenoids and Chl a contributing strongly to PC1, while MDA and GST influenced both components. For *Ceratophyllum demersum*, PC1 and PC2 explained 21.79% and 19.78% of the variance, with carotenoids and Chl a again being major contributors, and SOD and GSH distinguishing sample groups. Temporal clustering of samples highlighted time-dependent biochemical variations. The integration of both macrophytes could enhance microcystin removal efficiency: *Pistia stratiotes* ensures rapid initial detoxification, while *Ceratophyllum demersum* supports sustained, long-term remediation. This combined phytoremediation approach enhances both efficiency and sustainability, contributing to improved water quality management and public health protection. Future research should focus on optimizing environmental conditions and exploring synergistic interactions among multiple plant species for more robust bioremediation outcomes.

Key words : phytoremediation- cyanobacteria – microcystins – bioaccumulation – *Pistia stratiotes* – *Ceratophyllum demersum*.

الملخص

الميكروسستينات تُسبب أضرارًا جسيمة للنظم البيئية المائية وتشكل خطرًا على صحة الإنسان. وتُعد المعالجة الحيوية باستخدام النباتات المائية الكبيرة (الماكروفايت) من الحلول البيئية الواعدة والمستدامة للحد من هذه الظواهر الضارة. تتناول هذه الدراسة ديناميكية التراكم الحيوي والاستجابات البيوكيميائية لنوعين من النباتات المائية، هما *Pistia stratiotes* و *Ceratophyllum demersum*، في إزالة الميكروسستينات من المياه الملوثة. تمت مراقبة الخصائص الفيزيائية والكيميائية للمياه على مدى خمسة عشر يومًا لتقييم كفاءة النباتات وجودة المياه. أظهرت *Pistia stratiotes* قدرة عالية على الامتصاص السريع للميكروسستينات، مما يجعلها مناسبة للمعالجة الحيوية قصيرة المدى، لكنها تتطلب إزالة دورية للحفاظ على فعاليتها. في المقابل، أظهرت *Ceratophyllum demersum* ثباتًا واستدامة في عملية التراكم الحيوي، مما يجعلها أكثر ملاءمة للمعالجة طويلة الأمد. أوضحت التحاليل البيوكيميائية تنشيط آليات الدفاع المضادة للأكسدة، حيث ارتفعت مستويات الكاروتينويدات، والجلوتاثيون (GSH)، والإنزيمات المضادة للأكسدة مثل سوبر أوكسيد ديسميوتاز (SOD) وجلوتاثيون إس-ترانسفيراز (GST). وقد حافظت *Ceratophyllum demersum* على مستويات أعلى من مضادات الأكسدة، مما يدل على قدرتها العالية على التكيف والمقاومة. أظهرت التغيرات في المالوندايالديهيد (MDA) علامات على الإجهاد التأكسدي، الذي تمكنت *Pistia Stratiotes* من السيطرة عليه من خلال أنظمتها الدفاعية. أكدت تحليلات المكونات الرئيسية (PCA) هذه النتائج، حيث بينت أن المتغيرات الأساسية في *Pistia stratiotes* و *Ceratophyllum demersum* مرتبطة بالعوامل البيوكيميائية المذكورة، وأن الزمن كان له تأثير واضح على تباين العينات. إن الدمج بين النباتين يعزز كفاءة إزالة الميكروسستينات؛ إذ توفر *Pistia Stratiotes* إزالة سريعة أولية، بينما تضمن *Ceratophyllum demersum* استمرارية المعالجة على المدى الطويل. هذه الاستراتيجية المتكاملة تزيد من فعالية واستدامة المعالجة بالنباتات، وتساهم في تحسين جودة المياه وحماية الصحة العامة. توصي الدراسة المستقبلية بتحسين الظروف البيئية ودراسة التأثيرات التعاونية بين الأنواع النباتية المختلفة لتحقيق نتائج أفضل في المعالجة الحيوية.

الكلمات المفتاحية: المعالجة النباتية-الطحالب الزرقاء – الميكروسستينات – التراكم الحيوي – *Pistia stratiotes*

Ceratophyllum demersum

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Liste des Abréviations

Résumé

Abstract

الملخص

Introduction1

Synthèse Bibliographique.....5

I.1 Les Cyanobactéries.....5

I.1.1 Généralité5

I.1.2 Morphologie générale, organisation cellulaire et reproduction6

I.1.3 Organisation ultrastructurale des cyanobactéries8

I.1.4 Classification générale des Cyanobactéries10

I.1.5 Habitat et écologie.....12

I.1.6 Proliférations de cyanobactéries13

I.1.7 Toxines des cyanobactéries ou Cyanotoxines.....16

I.1.8 Classe, Structure, toxicité des cyanotoxine18

I.1.9 Évaluation de la contamination des masses d'eau par les cyanotoxines en
Afrique.....34

I.1.10 Normes et directives encadrant les cyanobactéries et les cyanotoxines36

I.1.11 L'élimination des Cyanobactéries et leurs toxines.....38

I.2	Les macrophytes aquatiques	40
I.2.1	Généralité	40
I.2.2	Le rôle des macrophytes dans l'élimination de cyanobactéries et leurs toxines	40
I.2.3	La bioaccumulation des microcystines chez les macrophytes	43
I.2.4	Potentiels du phytoremediation	44
I.2.5	<i>Ceratophyllum demersum</i>	46
I.2.6	<i>Pistia stratiotes</i>	49
II	Matériel et Méthodes	52
II.1	Echantillonnage de Bloom	52
II.2	Identification des congénères des microcystines	54
II.3	Préparation de l'extrait de <i>Microcystis</i> sp. Bloom	55
II.4	Modèle biologique expérimental	56
II.4.1	Condition de l'acclimatation des espèces végétales sélectionnées dans le cadre de cette étude	56
II.4.2	Protocole de traitement expérimental	57
II.5	Analyse des paramètres physico- chimiques	58
II.6	Extraction des pigments photosynthétiques	59
II.7	Extraction, détermination et analyse de la concentration des microcystines	60
II.7.1	Détection et quantification des microcystines dans les tissus végétaux	60
II.7.2	Détection et quantification des microcystines dans l'eau	63
II.8	Dosage des biomarqueurs	63
II.8.1	Dosage du glutathion (GSH)	63
II.8.2	Dosage de l'activité du glutathion-S-transférase (GST)	65
II.8.3	Dosage du superoxyde dismutase	66

II.8.4	Dosage du la peroxydation lipidique (TBARS).....	67
II.8.5	Dosage des protéines	68
II.9	Analyse statistique.....	70
III	Résultats et Interprétation	71
III.1	Échantillons de prolifération de cyanobactéries	71
III.2	Variation des paramètres physiques durant la période d'exposition chez <i>Pistia Stratiotes</i>	71
III.2.1	La Température	71
III.2.2	Le potentiel hydrogène« PH »	72
III.2.3	L'oxygène dissous	73
III.2.4	Total des solides dissous.....	74
III.2.5	La salinité	75
III.2.6	La turbidité	76
III.2.7	La conductivité.....	76
III.3	Variation des paramètres physicochimiques durant la période d'exposition chez <i>ceratophyllum demersum</i>	77
III.3.1	La Température	77
III.3.2	Le potentiel hydrogène« PH »	78
III.3.3	L'oxygène dissous	79
III.3.4	Total des solides dissous.....	79
III.3.5	La salinité	80
III.3.6	La turbidité	81
III.3.7	La conductivité.....	82
III.4	Variation des Concentrations de pigments photosynthétiques chez <i>Pistia stratiotes</i> et <i>Ceratophyllum demersum</i>	82

III.4.1	La variation de la chlorophylle-a chez <i>Pistia Stratiotes</i>	82
III.4.2	La variation de la chlorophylle b chez <i>Pistia Stratiotes</i>	83
III.4.3	La variation de la chlorophylle totale chez <i>Pistia Stratiotes</i>	84
III.4.4	La variation de la chlorophylle-a chez <i>Ceratophyllum demersum</i>	85
III.4.5	La variation de la chlorophylle- b chez <i>ceratophyllum demersum</i>	86
III.4.6	La variation de la chlorophylle totale chez <i>ceratophyllum demersum</i>	87
III.4.7	La variation des caroténoïdes chez <i>Pistia stratiotes</i>	88
III.4.8	La variation des caroténoïdes chez <i>ceratophyllum demersum</i>	89
III.5	Effets d'exposition aux extraits de <i>Microcystis sp.</i> sur les biomarqueurs du stress oxydant chez <i>Pistia stratiotes</i> et <i>Ceratophyllum demersum</i>	90
III.5.1	Evaluation du taux de glutathion (GSH).....	90
III.5.1.1	La variation du taux de glutathion (GSH)chez <i>Pistia stratiotes</i>	90
III.5.1.2	La variation du taux de glutathion (GSH)chez <i>Ceratophyllum demersum</i>	90
III.5.2	Evaluation du taux de glutathion-s-transférase (GST).....	92
III.5.2.1	La variation du taux de glutathion (GST)chez <i>Pistia stratiotes</i>	92
III.5.2.2	La variation du taux de glutathion (GST)chez <i>Ceratophyllum dermersum</i>	92
III.5.3	Evaluation du taux de la peroxydation lipidique (MDA)	93
III.5.3.1	La variation du taux de glutathion (MDA)chez <i>Pistia stratiotes</i>	93
III.5.3.2	La variation du taux de glutathion (MDA)chez <i>Ceratophyllum dermersum</i> ...	94
III.5.4	Evaluation du taux de la Superoxyde dismutase (SOD).....	95
III.5.4.1	La variation du taux de glutathion (SOD)chez <i>Pistia stratiotes</i>	94
III.5.4.2	La variation du taux de glutathion (SOD)chez <i>Ceratophyllum dermersum</i>	95
III.6	Variaton des Valeurs de bioaccumulation dans les tissus de <i>Pistia stratiotes</i> et de <i>Ceratophyllum demersum</i> exposés au extraits de <i>Microcystis sp.</i>	97
III.7	Analyse en Composantes Principales (ACP) de l'estimation du potentiel de bioremédiation de <i>Ceratophyllum demersum</i> et <i>Pistia stratiotes</i>	99

III.7.1	Comparaison entre les réponses pigmentaires de <i>Pistia stratiotes</i> et <i>Ceratophyllum demersum</i> sous exposition à trois doses d'extrait de <i>Microcystis sp</i> : une analyse en composante principales	101
III.7.2	Comparaison entre les réponses des paramètres physicochimiques de <i>Pistia stratiotes</i> (A) et <i>Ceratophyllum demersum</i> (B) sous exposition à trois doses d'extrait de <i>Microcystis sp</i> : Une analyse en composantes principales.	103
	Discussion.....	105
	Conclusion	114
	Référence bibliographique	115
	Annexes	



Introduction



Introduction

Au cours des dernières décennies, les cyanobactéries, également appelées algues bleu-vert, ont provoqué une attention croissante en raison de leur prolifération massive dans les plans d'eau à l'échelle mondiale. Cette expansion est principalement liée à l'eutrophisation et aux changements climatiques, deux facteurs majeurs qui favorisent leur intensification et leur propagation (**Carmichael et al., 1992 ; Ye et al., 2011**).

L'eutrophisation peut être fortement accélérée par les apports d'effluents d'origine domestique, industrielle et agricole (**Pitois et al., 2001**). Une turbidité élevée, ainsi qu'une altération de l'aspect esthétique de l'eau (notamment sur le plan visuel et olfactif), figurent parmi les principaux indicateurs des lacs eutrophes (**Smith, 2003**).

Par ailleurs, selon **Dokulil & Teubner (2000)**, la dominance des cyanobactéries par rapport aux autres groupes phytoplanctoniques constitue une conséquence caractéristique de l'eutrophisation des lacs.

Ces micro-organismes forment des efflorescences nuisibles capables de produire une large gamme de cyanotoxines, notamment des neurotoxines, cytotoxines, hépatotoxines, irritants et toxines gastro-intestinales (**Cheung et al., 2013 ; Cao et al., 2019**). Parmi elles, les microcystines (MC) sont les plus connues, les plus étudiées et les plus fréquemment rencontrées ; produites par divers genres de cyanobactéries notamment *Microcystis*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Oscillatoria* et *Hapalosiphon*. Les microcystines sont des heptapeptides cycliques dont plus de 200 variantes ont été identifiées (**Ufelmann et al., 2012 ; Spoof & Catherine, 2017**). La MC-LR étant la variante la plus étudiée ; la MC-RR, la deuxième en importance, attire également une attention particulière en raison de sa présence fréquente dans l'environnement et de l'existence de standards commerciaux pour sa détection (**Spoof & Catherine, 2017 ; Díez-Quijada et al., 2018**).

La présence de microcystines dans les milieux aquatiques représente une menace sérieuse pour la faune, les écosystèmes et la santé humaine. Ces cyanotoxines, particulièrement stables et résistantes à la dégradation naturelle, peuvent s'accumuler dans la chaîne trophique et provoquer des effets toxiques à différents niveaux biologiques. Des impacts ont été observés chez les mammifères (moutons, chevaux, bovins), les oiseaux (**Onodera et al., 1997 ; Carmichael, 2001**), les invertébrés aquatiques (**Delaney & Wilkins,**



1995) et les poissons (**Liu et al., 2002**), affectant leur métabolisme, leur reproduction et leur survie. Ces effets sont liés à l'hépatotoxicité des microcystines, leur capacité à induire un stress oxydatif, et à perturber les fonctions enzymatiques et immunitaires des organismes aquatiques (**Corbel et al., 2014 ; Sadegh et al., 2021 ; Buratti et al., 2024**).

Chez l'être humain, l'exposition aux microcystines peut survenir par plusieurs voies directes et indirectes. La voie orale est la plus courante, via la consommation d'eau potable contaminée ou d'aliments issus de milieux aquatiques affectés, tels que les poissons, les crustacés et les bivalves filtrants (moules, palourdes), qui concentrent les toxines par bioaccumulation. La voie alimentaire indirecte inclut l'irrigation de cultures maraîchères avec des eaux polluées, entraînant une contamination des légumes consommés crus ou peu cuits. La voie dermique peut également être envisagée lors d'activités récréatives (baignade, sports nautiques) dans des eaux contaminées, bien que moins fréquente, elle peut provoquer des irritations cutanées ou des réactions allergiques. Enfin, la voie inhalatoire, par l'aspiration d'aérosols contenant des microcystines lors de la pulvérisation ou de l'agitation de l'eau, est une voie émergente à considérer dans les zones fortement touchées (**Codd et al., 2005 ; Backer et al., 2010 ; Zanchett & Oliveira-Filho, 2013 ; Ren et al., 2023**).

Les effets sanitaires associés à ces expositions incluent des troubles gastro-intestinaux, des lésions hépatiques aiguës ou chroniques, et un stress oxydatif cellulaire. Certaines études suggèrent également un potentiel carcinogène des microcystines en cas d'exposition prolongée ou répétée (**Melaram et al., 2024**). Leur présence dans les ressources en eau soulève ainsi des enjeux majeurs en matière de sécurité sanitaire, de gestion environnementale et de protection des populations riveraines, notamment dans les régions où les systèmes de traitement de l'eau sont insuffisants ou vulnérables aux blooms cyanobactériens.

Parmi les méthodes de lutte contre les proliférations algales nuisibles, les traitements chimiques restent largement utilisés en raison de leur efficacité immédiate. L'ajout de sulfate de cuivre, d'algicides spécifiques ou de peroxyde d'hydrogène dans les plans d'eau permet de réduire rapidement la biomasse cyanobactérienne et de limiter la production de cyanotoxines (**Greenfield et al., 2014 ; Tan et al., 2019**). Toutefois, ces approches présentent des limites importantes. Leur action est souvent non sélective, affectant également les organismes non ciblés tels que le zooplancton, les poissons et les macrophytes. De plus, elles peuvent entraîner une pollution secondaire, par l'accumulation de résidus chimiques dans les



sédiments et la colonne d'eau, compromettant la qualité écologique à long terme et favorisant des déséquilibres trophiques (**Zhou et al., 2022**).

Les méthodes physiques, telles que le nettoyage mécanique des efflorescences, l'adsorption sur charbon actif, l'utilisation d'ultrasons ou l'irradiation par rayons ultraviolets, offrent des alternatives plus ciblées mais restent contraignantes sur le plan logistique et économique (**Liu et al., 2002 ; Zhou et al., 2004**). Ces techniques nécessitent des équipements spécialisés, une maintenance régulière et une application localisée, ce qui limite leur efficacité aux petits plans d'eau ou aux zones de loisirs. De plus, leur impact sur les cyanotoxines dissoutes est souvent limité, car elles agissent principalement sur la biomasse visible sans garantir la dégradation complète des toxines intracellulaires libérées après lyse cellulaire (**Zhang et al., 2023**).

Face à ces contraintes, la recherche s'oriente vers des solutions plus durables et éocompatibles, notamment les approches biologiques et la phytoremédiation, qui permettent une régulation naturelle des cyanobactéries tout en préservant l'intégrité des écosystèmes aquatiques. Les macrophytes aquatiques, en particulier, suscitent un intérêt croissant pour leur rôle dans le contrôle des cyanobactéries et de leurs toxines (**Kwon et al., 2012 ; Huisman et al., 2018**). Dans les écosystèmes naturels, ces plantes jouent un rôle essentiel dans le cycle des nutriments, la stabilisation des sédiments, la production d'oxygène et l'hébergement du biote aquatique (**Magela & Ribeiro, 2010**).

L'utilisation des macrophytes dans les lacs eutrophes contribue à limiter la biomasse cyanobactérienne, à maintenir la clarté de l'eau et à restaurer les écosystèmes endommagés. Leur efficacité repose notamment sur la sécrétion d'allélochimiques anti-algales et leur capacité à améliorer le paysage aquatique (**Scheffer et al., 1993 ; Dhote & Dixit, 2009 ; Wang et al., 2018**).

La phytoremédiation, qui consiste à utiliser des plantes pour absorber et éliminer les polluants, apparaît comme une stratégie écologique et économique prometteuse. Plusieurs études ont démontré la capacité des macrophytes comme *Lemna minor*, *Myriophyllum spicatum*, *Egeria densa*, *Hydrilla verticillata*, *Vallisneria natans*, *Trapa natans* et *Ceratophyllum demersum* à absorber et bioaccumuler les microcystines (**Mitrovic et al., 2005 ; Romero-Oliva et al., 2015 ; Pham & Utsumi, 2018**).



Ces plantes aquatiques adoptent des mécanismes de protection face aux toxines, incluant le stress oxydatif, des modifications des pigments photosynthétiques, et des processus de biotransformation impliquant des enzymes antioxydantes telles que celles du cycle glutathion-ascorbate (Pflugmacher et al., 1998 ; Saqrane et al., 2007).

L'objectif principal de cette recherche est d'étudier les mécanismes de bioaccumulation et de détoxification des microcystines par deux macrophytes aquatiques : *Ceratophyllum demersum* et *Pistia stratiotes*. L'étude vise à évaluer leur capacité à absorber, stocker et neutraliser ces toxines, dans le cadre d'une stratégie de phytoremédiation appliquée à la dépollution des milieux aquatiques.

↳ Organisation du manuscrit de la thèse

Le travail de thèse présenté dans ce manuscrit est organisé comme suit :

Introduction générale

Chapitre 1 : Ce chapitre est divisé en deux parties :

- **Première partie :** Présentation des cyanobactéries et de leurs toxines, avec une importance particulière sur les microcystines.
- **Deuxième partie :** Étude des macrophytes aquatiques, leurs rôles et leurs importances dans les écosystèmes aquatiques.

Chapitre 2 : Matériels et méthodes présentant les différentes méthodologies suivies.

Chapitre 3 : Résultats et interprétation accompagnés d'une discussion des principaux résultats à ceux publiés dans la littérature scientifique internationale.

Conclusion et perspectives ; Nous mettons en lumière les principaux apports de ce travail ainsi que les perspectives futures qu'il ouvre.



Synthèse Bibliographique



Synthèse Bibliographique

I.1 Les Cyanobactéries

I.1.1 Généralité

Les cyanobactéries, également connues sous le nom d'algues bleu-vert, cyanophycées ou cyanophytes, sont des microorganismes procaryotes photosynthétiques à Gram négatif. Elles font partie du règne des Monera, domaine des Eubactéries (**Schopf, 2002**). Géologiquement, Ce sont les plus anciens organismes photosynthétiques apparus sur la terre, il y a environ de trois 3,5 milliards d'années (**Bourrelly, 1966 ; Valentine, 2004**). On le trouvent sur tous les continents, et font l'objet d'une étude approfondies dans des domaines variés tels que l'écologie, la toxicologie, la taxinomie et la microbiologie (**Thomzeau, 2006**).

Les cyanobactéries présentent une diversité morphologique importante et considérable parmi les autres organismes procaryotes, avec une variété de formes et de tailles. Leurs classification taxonomique repose principalement sur des caractéristiques morphologiques, bien que certains critères moléculaires et écologiques (**Komarek, 2006**). Ils regroupent plus de 110 genres et environ 1000 espèces dulçaquicoles. La majorité des cyanobactéries sphériques sont classées dans la famille des Chroococcaceae, tandis que les cyanobactéries filamenteuses sont réparties entre les familles des Nostocaceae et des Oscillatoriaceae. Les cellules de ce groupe se distinguent par leur absence de noyau, de plaste et avec une reproduction sexuée (**Bourrelly, 1985**).

Les cyanobactéries présentent à la fois des caractéristiques typiques des bactéries et d'autres spécifiques aux algues. Comme les algues, par la présence de chlorophylle a et de pigments accessoires appelés phycobiliprotéines photosynthétiques telles la phycocyanine (pigment bleu), la phycoérythrine (pigment rouge, chez certaines espèces seulement), caroténoïdes, et l'allophycocyanine (pigment bleu) et non de la bactériochlorophylle. Certaines possèdent des vacuoles gazeuses qui leurs permettre du réguler leur position dans la colonne d'eau, et de rester à une profondeur où les conditions de température, de lumière et de nutriments sont optimales pour leur croissance (**Ganf et al., 1991; Chorus & Bartram,**



1999 ; Schagerl & Donabaum, 2003; Colyer et *al.*, 2005). En outre, les cyanobactéries ne possèdent pas de membrane nucléaire ni certains organites intracellulaires tels que le véritable noyau, le réticulum endoplasmique, les mitochondries ou l'appareil de Golgi, comme des bactéries (Madigen et *al.*, 2000).

Les cyanobactéries utilisent une variété de stratégies à fin de leur permis de coloniser tous les écosystèmes aquatiques et les écosystèmes terrestres; par la présence d'une pigmentation diversifiée qui garantit une efficacité photosynthétique élevée et une capacité à maintenir une production photosynthétique nette même à faible intensité lumineuse et une grande capacité à modifier la composition des pigments-protéines dans leurs complexes photosynthétiques (*light-harvesting complexes*), ce qui leur donne une couleur différente selon les longueurs d'ondes auxquelles elles croissent et Certaines espèces de cyanobactéries ont la capacité d'adapter à des conditions extrêmes, proliférant par exemple dans des environnements glacés, près des sources thermales, dans des eaux riches en fer et à des pH extrêmes. (Grossman et *al.*, 2001).

I.1.2 Morphologie générale, organisation cellulaire et reproduction

Les diverses espèces de cyanobactéries sont typiquement distinguées par plusieurs caractéristiques morphologiques, tels que les dimensions en longueur et en largeur des cellules, la présence éventuelle d'une gaine et leurs couleurs, la localisation des granules et forme de l'apex (Lavoie et *al.*, 2007). Ils présentent la plus vaste diversité morphologique parmi les organismes procaryotes en termes de formes et de tailles. Elles peuvent se présenter sous forme unicellulaire, se présentent sous forme de trichomes (série de cellules sans gaine de polysaccharides) ou de filaments (série de cellules avec gaine de polysaccharides), linéaires ou spiralés, ramifiés ou non ramifiés sphériques, cylindriques, ellipsoïdales, ovoïdes ou piriformes, isolées ou en colonies, de forme irrégulière, lobée, globuleuse, sphérique, quadratique ou plane. (Bourrelly, 1985 ; Komarek, 2006).

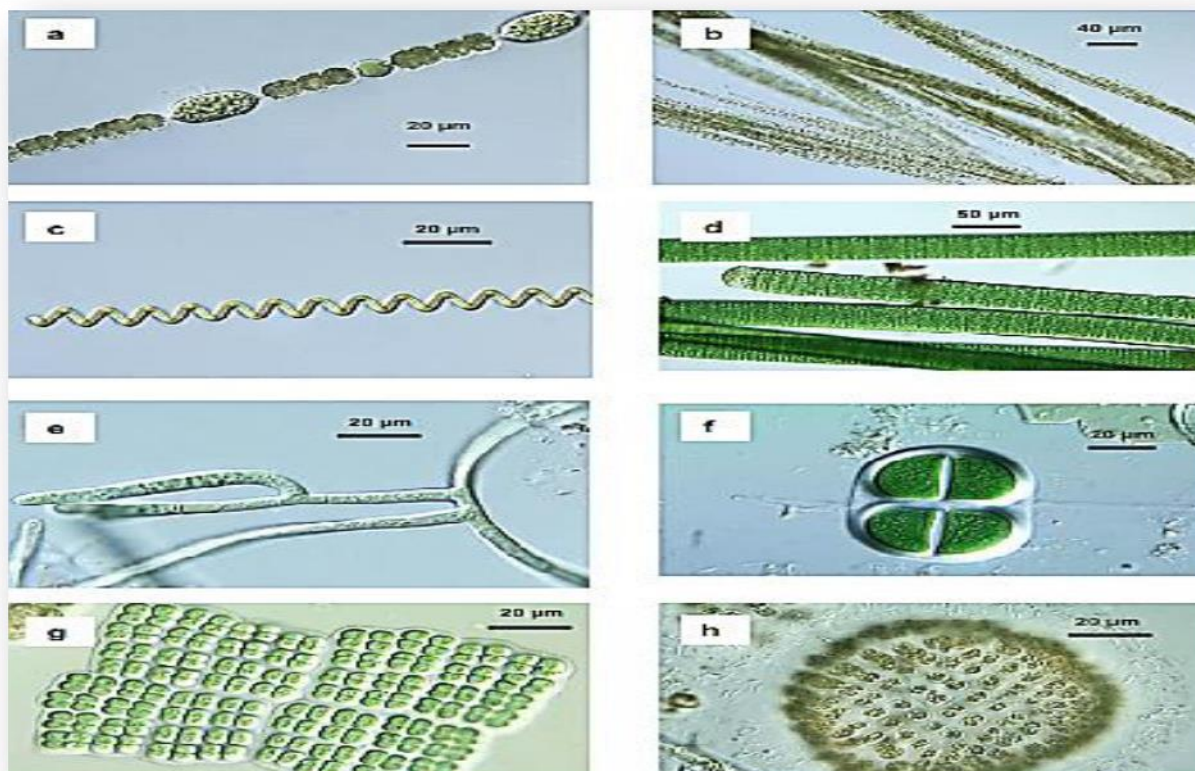


Figure N° 1 : Diversité morphologique des cyanobactéries (Photos : J. Oyadomari in Sabart, 2009).

a : *Dolichospermum* (ex-*Anabaena*) ; **b :** *Aphanizomenon* ; **c :** *Spirulina* ; **d :** *Oscillatoria* ; **e :** *Hapalosiphon* ; **f :** *Chroococcus* ; **g :** *Merismopedia* ; **h :** *Woronichinia*

Il s'agit des trois types cellulaires

1. Les cellules végétatives, présentent un contenu cellulaire relativement uniforme, pouvant comporter des granules ou même, chez certaines espèces planctoniques, des vacuoles à gaz. Grâce à ces organites, les cellules végétatives peuvent ajuster leur position dans la colonne d'eau selon leurs besoins spécifiques en termes de lumière et de nutriments ;

2. Les akinètes, que les trouve chez certaines formes filamenteuses, sont des cellules dotées d'une paroi épaisse, contenant une importante réserve de polypeptidiques. Elles représentent des mécanismes de résistance qui favorisent la survie de l'espèce lors de conditions environnementales défavorables ;



3. **Les hétérocytes**, que l'on trouve chez certaines formes filamenteuses, sont des cellules spécialisées qui se différencient via la fixation de l'azote atmosphérique en ammoniac (NH_4) grâce à l'action catalytique de la nitrogénase.

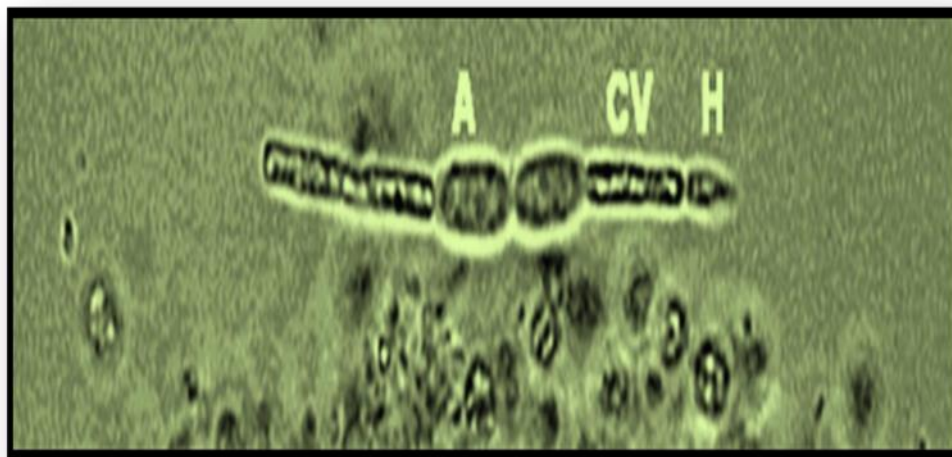


Figure N°2 : Trichome de la cyanobactérie *Cylindrospermopsis raciborskii* A: akinète ; CV : cellule végétative ; H : hétérocyste (El-Harry, 2008).

La multiplication des cyanobactéries diffère selon les espèces ainsi que les conditions environnementales et les périodes de la division des populations. Ils se reproduisent uniquement de manière asexuée. (Chorus & Bartram, 1999). La reproduction des espèces coloniales peut se faire par une simple multiplication végétative, généralement par division binaire, ou bien par la formation de spores, telles que les endospores ou les akinètes. La reproduction chez les espèces filamenteuses se fait par fragmentation, au sein des nécridies, qui sont des cellules dégénérées, se résulte la libération de courts trichomes ou filaments, appelés hormogonies (Bourrelly, 1985 ; Castenholz & Waterbury, 1989 ; Chorus & Bartram, 1999 ; De Reviers, 2003).

I.1.3 Organisation ultrastructurale des cyanobactéries

Les cyanobactéries ne possèdent pas de membrane nucléaire, de mitochondries, de réticulum endoplasmique ni de flagelle (Silvano, 2005).



L'étude au microscope électronique à transmission d'une cyanobactérie révèle la structure cellulaire suivante :

↳ La paroi cellulaire est constituée de quatre couches, nommées L1, L2, L3 et L4, disposées de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule à partir de la membrane plasmique.

↳ La couche L2 est composée de muréine (peptidoglycane), tandis que la couche L4 correspond à une membrane analogue à la membrane plasmique, présentant des caractéristiques communes avec la paroi des bactéries à Gram négatif.

↳ Le protoplasme central, également appelé centroplasme ou nucléoplasme, renferme des fibrilles d'ADN qui ne sont pas liées à des protéines basiques telles que les histones.

↳ Le protoplasme périphérique, appelée aussi chromatoplasme, est constitué de thylacoïdes, liée à des phycobilisomes, composée à des phycobiliprotéines, ainsi que de granules de glycogène.

↳ Une vacuole gazeuse se compose généralement de vésicules gazeuses ou de tubes cylindriques creux avec des extrémités coniques. elles assurent la capacité de flotter à la surface. Cette structure est présente dans le cytoplasme de toutes les cyanobactéries sauf les espèces de la famille des Chamaesiphonacées, qui sont exclusivement benthiques. La membrane qui délimite ces vacuoles gazeuses ; est rigide ; n'est pas de nature lipoprotéines ; imperméable à l'eau mais perméable aux gaz. Le contenu des vacuoles est gazeux à la pression atmosphérique et doit maintenir un équilibre constant avec son environnement.

↳ Les ribosomes 70S se trouvent dispersés dans toute la cellule, mais leur abondance est particulièrement notable autour du nucléoplasme.

↳ La gaine se trouve à l'extérieur de la paroi cellulaire et se caractérise par sa structure fibrillaire. Son rôle principal est de protéger les cellules contre la dessiccation, tout en favorisant la mobilité des trichomes à l'intérieur de celle-ci par glissement.

↳ Les fimbriae ou pili impliqués dans diverses interactions, telles que les symbioses, entre les procaryotes et les eucaryotes.

↳ Les cyanophycines correspondant sous forme de granules volumineux formés de polypeptides protéiques de réserve.

↳ Les carboxysomes sont des structures polyédriques situées au centre de la cellule. Ils renferment l'enzyme responsable de la fixation du CO₂, à savoir la rubisco (rubilose 1,5-diphosphate carboxylase/oxygénase).



↳ Les polyphosphates, également connus sous le nom de granules de volutine, ont une forme sphérique et apparaissent semblables aux corps lipidiques des cellules eucaryotes.

Ils servent de réservoir de phosphates et sont absents chez les cellules en pleine de la croissance ou chez celles se développant dans un environnement pauvre en phosphates.

↳ Les grains de glycogène, également appelés granules de polyglycane, sont positionnés entre les thylakoïdes dans les cellules qui sont en pleine activité photosynthétique.

↳ Les globules lipidiques, de morphologie sphérique ou allongée, sont entourés d'une membrane simple et renferment des stérols, des acides gras ainsi que des alcools triterpéniques.

I.1.4 Classification générale des Cyanobactéries

La classification taxonomique est la principale méthode utilisée à fin d'évaluer la diversité de tous les groupes d'organismes. La classification des cyanobactéries s'est historiquement basée surtout sur les critères morphologiques. Cependant, ces anciens approche traditionnelles présentes des limites car la différenciation des espèces s'avère difficile à établir (**Bittencourt-Oliveira et al., 2001**).

Actuellement, la classification de ces organismes dépend à la fois du Code International de Nomenclature Botanique (**ICBN, Greuter et al., 2000**) et du Code International de Nomenclature des Bactéries (**ICNB, Lapage et al., 1992**). Les cyanobactéries (cyanoprokaryotes) posent un défi particulier en termes de classification.

L'ensemble de la classification des cyanobactéries, incluant les espèces, les genres, les familles et les ordres, a fait l'objet d'une vaste restructuration et révision ces dernières années. Elles sont probablement parmi les groupes d'organismes les plus anciens sur terre, avec certains fossiles de représentants dont la morphologie est très similaire à celle des espèces actuelles (**Schopf 1974 ; Knoll, 2008**).

Dans les années 2000, plus de 50 genres de cyanobactéries ont été décrits. En 2013, 16 nouveaux genres ont été proposés. De plus, de nombreuses propositions de réorganisations taxonomiques ont été faites (**Otsuka et al., 2001; Komárek et al., 2013; 2014**).



Récemment, **Komárek et al., (2014)** ont proposé une classification des cyanobactéries organisée en huit ordres. Cette classification se base sur une approche polyphasique intégrant des données biochimique, moléculaires, et microscopiques. Elle s'inscrit dans la continuité des recherches fondée aux 19ème, 20ème et 21ème siècles.

Tableau N° 1 : Taxonomie des cyanobactéries selon les systèmes bactériologiques et botanique (ICBN : Mcneill et al., 2006 ; ICNP : Oren & Tindall, 2005).

Classification procaryotique (ICNP)	Classification botanique (ICNB)	Spécificités
Section 1	Chroococcales	D'une Formes généralement unicellulaires ou présenté en petits agrégats non filamenteux, entouré par une matrice gélatineuse ou par leurs parois externes. Leurs multiplication ce produite via le bourgeonnement ou par une division binaire. Les akinètes sont très rarement observées.
Section 2	Pleurocapsales	D'une Formes généralement unicellulaires ou en agrégats non filamenteux, entouré par une paroi externe ou une matrice gélatineuse. Leurs multiplications se produite par fissions internes multiples produisant naissance à des cellules filles de petite taille par rapport aux les cellules parentales, ou par une divisions binaires et multiples. Les akinètes sont rarement observées.
Section 3	Oscillatoriales	La multiplication s'effectue par division binaire dans un plan unique, produisant des trichomes unisériés dépourvus de ramifications véritables. Les trichomes sont constitués de cellules dépourvues de différenciation en hétérocystes. Les akinètes ne sont pas observées.
Section 4	Nostocales	Multiplication par une division binaire dans un seul plan donnant des trichomes sans ramifications vraies et unisériés. Dans la situation ou le milieu est pauvre en



		azote, une ou plusieurs cellules du trichome se différencient en hétérocystes. Possibilité de formation des akinètes.
Section 5	Stigonematales	Multiplication par division binaire, donnant des trichomes multi-sériés et/ou à des trichomes indiquant différenciation de ramifications. Formation des akinètes et des hétérocystes possible.

I.1.5 Habitat et écologie

Les cyanobactéries sont largement répandues à travers le monde, occupant divers environnements géographiques et écologiques tels que les eaux douce (principalement dans les lacs), les déserts arides, les sols tropicaux humides, les tourbières acides et dans les roches (**Couté & Bernard, 2001 ; Kaebernick & Neilan, 2001**). Et même dans les sources chaudes en dessous de 72 ° C comme *Mastocladus laminosus* ou *Phormidium laminosum*. En revanche, certaines espèces se trouvent dans des lacs des régions polaires, où les températures sont très basses, notamment en Antarctique (**Taton, 2003 ; Jungblut, 2005**). Ils sont présentes dans une gamme de pH, à l'exception des pH<4 car la chlorophylle est sensible à l'acidité de l'eau (aux ions H⁺) (**Nasri et al., 2007**).

De nombreuses espèces des cyanobactéries coexistent également en association ou en symbiose avec d'autres êtres vivants, comme des protozoaires, des champignons qui forment les phycobiontes des lichens, des plantes (Ex. Avec la famille des Bryophytes), des éponges, ou encore des protistes (**Couté & Bernard, 2001 ; Kaebernick & Neilan, 2001 ; Adams & Duggan, 2008**).

Les cyanobactéries des écosystèmes aquatiques d'eaux douces ont une capacité compétitive dans leur environnement grâce à de nombreuses adaptations (**Carey et al., 2012**). Les cyanobactéries contribuent à l'approvisionnement de leurs hôtes en azote et en composés carbonés, provenant respectivement de la fixation de l'azote atmosphérique (N₂) et du dioxyde de carbone (CO₂). Ce sont des organismes « éco-stratégiques », capables d'adopter divers comportements afin de prendre le contrôle des peuplements algaux (**Adams & Duggan, 2008**).



Certaines espèces de cyanobactéries, telles que celles appartenant aux genres *Aphanizomenon*, *Nodularia* et *Nostoc*, sont capables de tirer avantage d'une pénurie d'azote sous forme directement assimilable (NO_3^- ou NH_4^+) pour surpasser les espèces non fixatrices d'azote (Falconer et al., 1999).

I.1.6 Proliférations de cyanobactéries

La prolifération intense de ces cyanobactéries entraîne la création de ce que l'on nomme des "blooms" ou des efflorescences cyanobactériennes, « HAB (harmful algal bloom) » ou connues sous le nom de "fleurs d'eau". C'est le résultat d'une prolifération massive de cyanobactéries, se manifestant par une augmentation importante de la biomasse, généralement sur une période de temps relativement courte et pouvant persister plus ou moins longtemps et entraîne souvent l'apparition de ces agrégats flottants qui connus sous le nom « écumes ou de mousses » (Bernard, 2014).

Les écumes résultent d'un double mécanisme de concentration cellulaire. Initialement, il y a une concentration de cellules due à la migration des cellules dispersées dans la colonne d'eau vers la surface. Ensuite, un second mécanisme de concentration intervient, causé par un vent constant poussant cette accumulation de cellules vers le rivage (Lavoie et al., 2007). Les fleurs d'eau de surface se manifestent surtout lors des journées chaudes avec des vents légers, pendant l'été et l'automne, lorsque les conditions sont propices en termes d'eau et de concentrations nutritives, notamment en azote et en phosphore (ter Steeg et al., 1986).

○ Les facteurs qui favorisent la prolifération des cyanobactéries

La dominance des cyanobactéries dans les environnements aquatiques sont attachée à trois facteurs : les conditions météorologique favorable, la stabilité de la colonne d'eau et les facteurs physico-chimique (Levi, 2006). Les florescences cyanobactériennes se manifestent généralement dans des environnements eutrophes, riches en nutriments dus aux activités urbaines et/ou agricoles, notamment lorsque les masses d'eau sont stratifiées et aussi pendant la saison estivale (Pearl, 2018 ; Benayache et al., 2019).



Facteurs abiotiques

Les principaux paramètres physicochimiques qui exercent une influence sur les développements massifs des cyanobactéries comprennent, L'humidité et la lumière constituent des facteurs biologiques essentiels pour atteindre un développement optimal dans l'environnement aquatique **(Smith, 1982)**. Il y'a des cas ou certains espèces des cyanobactéries ont la capacité de croître même dans des conditions de faible luminosité **(Chorus & Bartram, 1999)**.

1. La Température et la lumière

En général, la croissance des cyanobactéries se produit dans une eau dont températures optimales situées entre 25°C et 35°C **(Reynolds & Walsby, 1975)**. Les températures les plus élevées favorisent un développement plus rapide. Cependant, des proliférations des cyanobactéries ont également été observées lorsque la température de l'eau est basse et certaines espèces cyanobactériennes peuvent efficacement dominer les autres algues planctoniques, principalement en raison de la présence de pigments photosynthétiques, notamment les phycobiliprotéines. Ces pigments leur permettent d'utiliser une plus grande partie du spectre lumineux et que les basses températures affectent plus sévèrement le genre *Microcystis* que les autres genres de cyanobactéries **(Robarts & Zohary, 1987)**.

Dans autre cas, on trouve que le genre *Microcystis* s'adapte mieux aux journées courtes selon La durée de la lumière du jour nécessaire à l'optimisation de leur croissance par rapport au genre *Dolichospermum* **(Skulberg, 1984)**. Ces microorganismes s'adaptent principalement à des variations importantes d'intensité lumière en tant que quantité et en qualité, en lien avec la latitude, le cycle journalier, les saisons ainsi que conditions climatiques **(Smith, 1982)**. Sous la présence à des intensités lumineuses élevées, comme celles généralement rencontrées dans la saison d'été, Ces microalgues peuvent être soumises à un phénomène de photo-inhibition **(Mur et al., 1999)**. A l'inverse, leur capacité à se développer sous de très faibles niveaux de lumière est attribuée à leurs besoins énergétiques relativement modestes **(Richardson et al., 1983)**. On trouve espèce a cyanobactérie *Cylindrospermopsis raciborskii* dans les réservoirs brésiliens qui a la capacité de former des efflorescences à seulement 0,5 m de profondeur, dans des conditions lumineuses extrêmement faibles **(Bouvy et al., 1999)**.



2. Le PH

Le développement de la biomasse relative des cyanobactéries est favorisé par un pH élevé, allant de 6 à 9, dans des conditions de faible concentration en carbone avec des Concentrations assez importantes en azote, une bonne oxygénation ; une intensité lumineuse pas très forte et une faible profondeur favorisent leurs croissance (**Valentine, 2004 ; Bote, 1984**). Les cyanobactéries peuvent croître à des pH élevés, généralement compris entre 9 et 11. Cette capacité est liée aux équilibres entre les différentes formes du carbone inorganique dissous, notamment H_2CO_3 , CO_2 , HCO_3^- et CO_3^{2-} . Certaines souches du genre *Arthrospira* se développent ainsi dans des eaux très minéralisées, alcalines et chaudes, avec un pH pouvant atteindre 11. Toutefois, une diminution importante du carbone inorganique dissous constitue généralement une condition défavorable pour les communautés phytoplanctoniques (**Coute & Bernard, 2001 ; Shapiro, 1997**).

3. La disponibilité en sels nutritifs

La disponibilité en sels nutritifs, en particulier le phosphore et, dans une moindre mesure, l'azote, est essentielle pour la croissance des cyanophytes. Le phosphore est un élément essentiel pour leurs développements. Leur disponibilité dans l'environnement peut fortement influencer la prolifération des cyanobactéries. Les cyanobactéries ont la capacité de stocker le phosphore sous forme de granules de polyphosphate qui permet d'accumuler là où il est abondant et de l'utiliser là où la lumière permet la photosynthèse ou ailleurs, lorsque les éléments nutritifs sont en faibles quantités (**Wetzel & Likens, 2000 ; Ishikawa et al., 2002 ; Valentine, 2004**).

4. La turbidité

La turbidité, ce définie comme une diminution de la transparence d'un liquide par la présence des particules non dissoutes, ce dernier constitue également un facteur limitant de la prolifération cyanobactériennes (**Mc Barron et al., 1966**).

5. La profondeur

La profondeur influence la composition phytoplanctonique : une augmentation de la profondeur entraîne une diminution de la biomasse relative des Cyanophytes (de 10 % à 24 %) (**Jäger et al., 2008**).



○ Facteurs biotiques

Le broutage exercé par le zooplancton, qui constitue l'un des principaux mécanismes de régulation du phytoplancton, semble avoir un impact moindre sur les cyanobactéries que sur les autres groupes de phytoplancton. Les cyanobactéries ont mis au point diverses stratégies de défense pour éviter d'être consommées par le zooplancton par la libération des métabolites secondaires ainsi que leur association sous forme de colonies ou leur forme en filaments ne permettent pas au zooplancton de réaliser leurs mécanismes de filtration ou de broutage. Elles perturbent la digestion et en décourageant la consommation par le zooplancton (Lampert, 1987).

De plus, de nombreuses espèces cyanobactériennes ont la capacité de mettre en place des stratégies des défenses via de la pression exercée par les prédateurs. Le *Phormidium* sp. peut changer la composition de sa gaine ou adopter une dispersion agrégée alors que la *Microcystis aeruginosa* renforce la production des toxines contre certains cladocères et favorise la formation de colonies en présence de flagellés. En effet, la mise en place de ces défenses engendre des coûts physiologiques, incluant une absorption réduite des nutriments et une dépense énergétique considérable liée à la formation de toxine (Oustak-Gouni & Sommer, 2020).

I.1.7 Toxines des cyanobactéries ou Cyanotoxines

Certaines conditions environnementales (zone lumineuse, une température entre 18 et 25°C, eau douce et moins turbulente, excès en phosphore et azote) peuvent favoriser les cyanobactéries de former des écumes à la surface de l'eau, connues sous le nom de « blooms » (Funari & Testai, 2008). Le développement massif de ces blooms dans les eaux constitue désormais une menace sérieuse pour la santé humaine, et même pour la faune et la flore aquatiques en raison des toxines produites par ces cyanobactéries lors de la formation de ces blooms (Ibelings & Chorus, 2007). Les floraisons toxiques de cyanobactéries, telles que *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Microcystis* et *Cylindrospermopsis*, sont largement étudiées en raison du risque qu'elles posent pour la contamination de l'eau potable (Chorus & Bartram, 1999).

Les toxines de cyanobactéries sont essentiellement des substances bioactives, produites par soixante-huit espèces (comprises dans 46 genres) de cyanobactéries. Ces cyanotoxines sont généralement produites pendant leur phase de croissance et se retrouvent



dans l'eau suite à la mort ou à la lyse de ces cellules lorsque les cellules vieillissent ou à la suite d'un traitement algicide qui les fait éclater **(Kenefick et al., 1993)**. Ils peuvent affecter le foie, le système nerveux ou irriter les muqueuses **(De Boutray et al., 2017)**. De nombreuses études ont démontré que ces composés possèdent diverses activités biologiques, telles qu'antivirales, antifongiques cytotoxiques et inhibitrices de protéines phosphatases **(Carmichael, 1994)**.

Il existe de nombreuses méthodes pour classer les cyanotoxines via leur composition chimique (peptides cycliques, alcaloïdes et lipopolysaccharides) ou par les espèces bactériennes productrices (*Cylindrospermopsis*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Oscillatoria*, etc.) .Une autre méthode de regroupement des cyanotoxines repose sur leur mécanisme de toxicité et les principaux organes ciblés affectés dans l'organisme. Une autre méthode de classification des cyanotoxines repose sur le mode d'action toxique ainsi que sur les organes cibles principalement affectés dans l'organisme **(Kaebernick & Neilan, 2001)**.

Récemment, de nombreuses études ont été menées sur les cyanotoxines à cause de leurs effets sur l'environnement ainsi que être humaine. Ces travaux scientifiques ont englobé de multiples approches, y compris l'identification de la structure chimique, l'élucidation des voies de biosynthèse et l'exploration de leurs effets toxiques, des facteurs d'influence et des méthodes de leur dégradation **(Adak et al., 2022 ; Zheng et al., 2023)**.

Récemment, de nombreuses études ont été menées sur les cyanotoxines à cause de leurs effets sur l'environnement ainsi que être humaine. Ces travaux scientifiques ont englobé de multiples approches, y compris l'identification de la structure chimique, l'élucidation des voies de biosynthèse et l'exploration de leurs effets toxiques, des facteurs d'influence et des méthodes de leur dégradation **(Adak et al., 2022 ; Zhenget al., 2023)**.

Les cyanotoxines se répartissent en plusieurs grandes catégories : les hépatotoxines comme microcystines, cylindrospermopsine, nodularines), les neurotoxines comme anatoxine-a, anatoxine-a(s), saxitoxines) et les dermatotoxines ou toxines irritantes tels que, lipopolysaccharides, lyngbyatoxine, aplysiatoxines) .Leurs concentrations intracellulaires sont de plusieurs ordres de grandeur supérieures à celles retrouvées sous forme extracellulaire **(De Figueiredo et al., 2004 ; Aráoz et al., 2004)**.

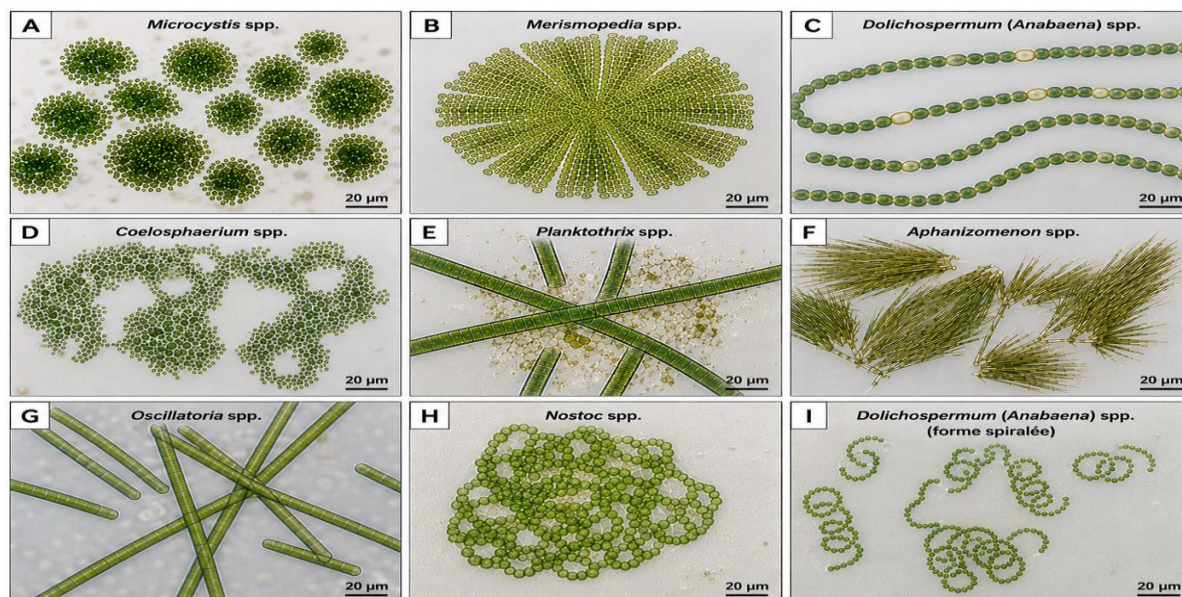


Figure N°3 : Morphologie des cyanobactéries potentiellement toxiques les plus fréquemment rencontrées (Chorus & Bartram, 1999).

I.1.8 Classe, Structure, toxicité des cyanotoxine

I.1.8.1 Les hépatotoxines

Les hépatotoxines ont été les molécules toxiques les plus fréquemment rencontrées lors de la formation des blooms de cyanobactéries ; regroupent les microcystines heptapeptidiques (MC) cycliques et sont synthétisées entre autre par certaines espèces de *Microcystis*, *Nodularia*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Oscillatoria* et *Planktothrix* (Falconer, 1996 ; Sivonen & Jones, 1999). Plus de 100 variantes structurales ont été décrites dont des hépatotoxines. Toutes les formes chimiques partagent une structure commune, un anneau (-D-Ala-X-D-MeAsp-Z-Adda-D-Glu-Mdha-), et présentent essentiellement des changements dans les acides L-aminés aux positions 2 et 4, et 3 et /ou déméthylation en position 7 (Puddick et al., 2014 ; Metcalf & Codd, 2012).



I.1.8.1.1 Cyanotoxines de type Microcystine

Tout d'abord, les microcystines (MCs) sont considérées comme les plus courantes ainsi que les plus dangereuses (**Neilan et al., 2013**). Ce sont les toxines cyanobactériennes généralement les plus étudiées à cause de leur présence et répartition dans tous les milieux aquatiques y'a compris les lacs d'eau douce, les étangs, les rivières et les eaux côtières du monde entier (**Zurawell et al., 2005**). La microcystine (MC) a été isolée pour la première fois à partir de espèces *Microcystis aeruginosa*, et ses premiers congénères ont été caractérisés en 1984 (**Ferrão-Filho et Kozlowsky-Suzuki, 2011 ; Bouaïcha et al., 2019**).

Les noms des microcystines qui est souvent abrégés en MC ou MCYST ou MC ; indiquent la méthylation/dé-méthylation ainsi que la variation des acides aminés. Il existe ainsi 279 congénères de microcystines (**Bouaïcha et al., 2019**). Par exemple, la microcystine-LR (poids moléculaire de 994 Da) indique une variante de microcystine où la lettre L'indique la nature de X (L-leucine) occupe la position 2 et R celle de Z (R-arginine) occupe la position 4 (**Sivonen & Jones, 1999 ; Codd et al., 2005**).

Les microcystines, sont isolées de *Microcystis aeruginosa*, et produites par divers autres genres, dont, *Anabaenopsis*, *Nostoc*, *Planktothrix*, *Oscillatoria* et *Arthrospira*. Récemment, L'espèce *Dolichospermum* a été signalée comme productrice de MC et jusqu'à présent, il y'a plus de 30 espèces qui peuvent produire des MC (**Assey & Yang, 2020**).

Les microcystines présentes sous forme extracellulaire (dissoutes dans l'eau ou on le trouve liée à d'autres molécules) représentent moins de 30 % de la teneur totale mesurée dans l'eau brute. La totalité de ces toxines reste à l'intérieur des cellules et n'est libérée dans l'eau qu'à la suite de leur lyse ou de leur mortalité. Selon les procédés de traitement appliqués, on peut également retrouver des microcystines aussi bien intracellulaires qu'extracellulaires dans l'eau traitée (**Graham et al., 2010**).

I.1.8.1.1.1 La chimie des microcystines

Les microcystines sont des **heptapeptides cycliques** constitués de sept acides aminés. Leur structure chimique varie principalement en fonction des acides aminés présents aux positions 2 et 4. Deux d'entre eux sont des acides D-aminés atypiques :



- la **N-méthyl-déhydroalanine (Mdha)**, susceptible de se décomposer en méthylamine, et l'acide **3-amino-9-méthoxy-2,6,8-triméthyl-10-phényl-4,6-diénoïque**, couramment désigné sous le nom d'**Adda**.

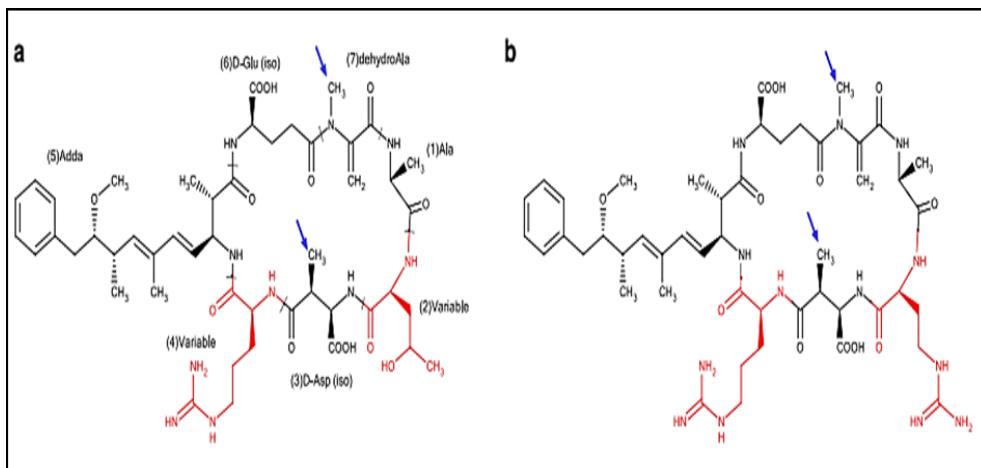


Figure N°04 : Structure chimique de la Microcystine A : MC-LR (Leucine-Arginine), B : MC-RR (Arginine-Arginine) (**Buratti et al., 2017**).

Les variations de composition et de méthylation sont à l'origine du grand nombre de congénères de microcystines. Leur nomenclature s'appuie sur les acides aminés variables présents dans leur structure, de plus de nombreuses autres nomenclatures ont été utilisées par le passé (**Carmichael et al., 1988**).

Le poids moléculaire des différents congénères varie généralement entre **909 et 1 115 Da** (**Chorus & Bartram, 1999**).

Tableau N°2 : Abréviations des microcystines (**Yuan et al., 1999**)

Congénères de microcystines	L'acide aminé variable (X)	Acide aminé (Y)
Microcystine-LR	Leucine	Arginine
Microcystine-RR	Arginine	Arginine
Microcystine-YR	Tyrosine	Arginine
Microcystine-LA	Leucine	Alanine



Microcystine-LY	Leucine	Tyrosine
Microcystine-LF	Leucine	Phenylalanine
Microcystine-LW	Leucine	Tryptophan

Les microcystines indiquent une stabilité remarquable, par ce qu'elles présentent une résistance aux principales réactions de dégradation chimique, notamment l'hydrolyse et l'oxydation, dans les conditions habituelles des plans d'eau naturels. La décomposition des microcystines reste limitée, mais peut survenir lentement dans les hautes températures (40 °C ou 104 °F) ainsi qu'à des valeurs de pH extrêmes, inférieures à 1 ou supérieures à 9. À des valeurs du pH compris entre 1 et 40 °C, la demi-vie des microcystines est d'environ trois semaines, bien qu'elle puisse atteindre dix semaines dans des conditions ambiantes. Il convient de noter que, sous l'impact du rayonnement solaire ; leur dégradation est progressive et s'accélère en présence de pigments hydrosolubles (**Tsuji et al., 1995**).

I.1.8.1.1.2 Présence de la microcystine dans les eaux de surface

Les microcystines sont les cyanotoxines les plus courantes, présentes dans la plupart des eaux des mondes entiers. Dans les eaux douces, les concentrations de microcystines mesurées sur poids sec, lors de floraisons de cyanobactéries, variaient de 1 à 7 300 µg/g à l'échelle mondiale dans les années 1985 et 1996. Les concentrations totales de microcystines (intracellulaires et extracellulaires) dans l'eau allaient de 0,04 à 25 000 µg/L. Les concentrations extracellulaires seules variaient de 0,02 à 1 800 µg/L, cette valeur maximale ayant été détectée après le traitement par un algicides lors d'une efflorescence de cyanobactéries. Dans le milieu naturels, les peptides cycliques ont tendance à rester contenus dans la cellule cyanobactérienne et ne sont libérés qu'après la lyse cellulaire. Les microcystines sont le plus souvent présentes lors des proliférations cyanobactériennes des eaux douces ainsi que les eaux saumâtres (**OMS, 1999**).

I.1.8.1.1.3 Toxicologie des microcystines

La majorité des études scientifiques de toxicité des microcystines a été réalisée en utilisant la microcystine-LR, comme être est le congénère le plus toxique et est présente dans la plupart des pays du mondes entiers (**Fawell et al., 1993**). Le mécanisme d'action toxique



provient de leur puissant effet inhibiteur sur plusieurs enzymes, notamment les sérine/thréonine phosphatases, qui sont important pour le métabolisme cellulaire (**Bouaïcha et al., 2019**). Elles inhibent aussi la synthèse des protéines phosphatases 1 (PP1) et 2A (PP2A) (**MacKintosh et al., 1990**). Ces enzymes jouent un rôle important dans le métabolisme, de la progression du cycle cellulaire et de plus la préservation de la structure du cytosquelette. Lorsqu'elles sont inhibées, il engendre une hyperphosphorylation des protéines intracellulaires, ce qui résulte une modification du réseau d'actine, une diminution de l'adhésion cellulaire ainsi que des lésions hépatiques hémorragiques. Au plus tard, cela peut provoquer q l'apparition de processus fibrosants et à la genèse de tumeurs (**Dawson, 1998**).

La microcystine-LR ne se limite pas à l'inhibition des phosphatases mais elle cause également un stress oxydatif marqué. Celui-provoque une production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), engendrant la peroxydation des lipides membranaires, des dommages oxydatifs à l'ADN et déclenché les voies de signalisation conduisant à l'apoptose (**Fischer et al., 2010**).

L'organisation mondiale de santé (OMS) a établi une valeur guide maximale de 1 µg/l de MC-LR dans l'eau potable car cette variante a été considérée comme l'une des plus toxiques variantes (**WHO, 2003**).

I.1.8.1.1.4 Conditions environnementales favorables à la production de microcystines

Le développement des cyanobactéries et la synthèse de toxines peuvent être influencés par la disponibilité des éléments nutritifs dans le milieu aquatique. Les conditions environnementales favorables pour la production du microcystines incluent des températures élevées, une forte concentration en nutriments tels que l'azote et le phosphore, ainsi qu'une intensité lumineuse élevée .La présence d'une quantité significative de phosphore dans le milieu favorise une augmentation de la production de microcystines, notamment *par Anabaena sp., Microcystis aeruginosa et Oscillatoria agardhii*. Plus la concentration en phosphore est élevée, plus la croissance des cyanobactéries est importante, entraînant ainsi plus de toxines sont synthétisées dans le milieu .Le contenu cellulaire en microcystine semble être davantage corrélé à la quantité totale d'azote qu'à celle de phosphore. (**Lavoie et al., 2007**). Ainsi que, plusieurs auteurs ont établi une forte corrélation entre la microcystine-LR et les concentrations de phosphore total ainsi que de phosphore dissous dans l'eau (**Orr &**



Jones, 1998 ; Kotak et al., 1993). Dans d'autre part, l'exposition à des poissons planctonophages ainsi qu'aux kairomones émises par le zooplancton (favorise la production de microcystines chez *Microcystis aeruginosa*. Ces observations suggèrent un rôle potentiel des microcystines dans la résistance à la prédation (Jang et al., 2004). Un autre facteur important a été étudié ainsi que leurs impact sur le taux de la production des microcystines est l'intensité lumineuse.

Sivonen (1990) a révélé que la production de MC augmente avec l'augmentation de l'intensité lumineuse, et plusieurs études scientifiques plus récentes confirment ces résultats. De plus, différentes travaux ont montré une augmentation significative de la production de cyanotoxines lorsque l'intensité lumineuse passe de 10 à 60 microeinsteins/m²/s (Wu et al., 2008).

I.1.8.1.1.5 Impacts des microcystines

1. Effets des microcystines sur la composition et la diversité des communautés bactériennes aquatiques

Les microcystines exercent une influence remarquable sur les communautés bactériennes, principalement à cause de leur forte activité antimicrobienne. Ces cyanotoxines peuvent modifier la perméabilité des membranes cellulaires bactériennes, même à faibles concentrations, induisant un stress oxydatif ainsi que une inhibition de la croissance microbienne (Dixon et al., 2004).

Des autres études ont indiqué que l'exposition de bactéries hétérotrophes à différentes variantes de microcystines (MC-LR, MC-RR, MC-YR) entraînant à une diminution significative de leur viabilité, confirmant leur effet toxique direct (Ferreira et al., 2001). De plus, la présence de *Microcystis aeruginosa* génère une hausse significative de la mortalité des espèces les plus vulnérables tels que *Escherichia coli*, démontrant la fonction écologique de ces molécules dans la dynamique des populations bactériennes (Zhou et al., 2023).

De plus, certaines bactéries, présentent des adaptations métaboliques et cellulaires leur permettant de supporter voire de dégrader ces toxines. Des genres comme *Sphingomonas*, *Shinella*, *Stutzerimonas* et *Ensifer* possèdent le gène **mlrA**, contribuant dans le processus du dégradation enzymatique des microcystines, leur offrant la possibilité de cataboliser ces molécules et d'en tirer comme source le carbone et de l'énergie. Cette capacité accorde à ces



bactéries un avantage sélectif dans les milieux contaminés, induisant une réduction de la diversité microbienne globale mais à l'inverse une augmentation relative des espèces dégradantes (Schmidt et al., 2014 ; Haida et al., 2024).

Les microcystines ne jouent pas uniquement un rôle toxique ; elles interviennent activement à la structuration des communautés bactériennes, favorisant les souches capables de résister ou de métaboliser ces composés, et modifiant par la suite les équilibres écologiques et les cycles biogéochimiques dans les milieux aquatiques (OEHHA, 2009).

2. Impact sur les poissons et les animaux

➤ Sur les poissons

Chez les poissons, Les microcystines présentent une toxicité remarquable, provoquant diverses altérations physiologiques et comportementales, ainsi qu'une diminution de leur survie. Les microcystines exercent une toxicité significative chez les poissons, se traduisant par des altérations physiologiques, comportementales et une réduction de la survie. Leur absorption s'effectue principalement par les branchies, le tube digestif ou la peau, après quoi elles s'accumulent dans plusieurs organes cibles, en particulier le foie, l'intestin, les reins, les muscles, la vésicule biliaire, le sang et le cerveau .Le foie étant reconnu comme le principal organe de métabolisation, de bioaccumulation et de détoxification. Ces cyanotoxines créent des graves perturbations lors le développement embryonnaire des alvins de poissons (Sahin et al., 1996; Xie et al., 2004; Cazenave et al., 2008).

Selon El Ghazali et al. (2009), l'exposition d'embryons de poisson-zèbre (*Danio rerio*) à un extrait de bloom de *Microcystis aeruginosa* récolté dans le lac de barrage Lalla Takerkoust a montré une forte toxicité des microcystines sur le croissance embryonnaire. Les résultats ont révélé un ralentissement de l'éclosion des embryons, des malformations diverses (notamment au niveau de la colonne vertébrale et des yeux) et, à forte concentration (3 mg/L Eq MC-LR), une mortalité totale après 24 heures d'exposition. Des altérations du développement embryonnaire ont été signalée même à de faibles concentrations (0,3 ; 0,1 et 0,03 mg/L Eq MC-LR), ce qui indique la vulnérabilité particulière du stade embryonnaire à l'exposition aux microcystines.

De plus, l'accumulation des microcystines dans les tissus musculaires des poissons représente une source potentielle d'exposition secondaire pour les consommateurs des poissons comme humaine. Le degré de bioaccumulation dépend principalement des



caractéristiques physiologiques de l'espèce, des concentrations environnementales de microcystines ainsi que le temps d'exposition. (**Magalhães et al., 2001**). Au niveau du lac Oubeira, **Amrani et al. (2014)**, ont signalé la présence d'une forte concentration des microcystines au niveau des muscles de deux poissons *Cyprinus carpio* et *Anguilla anguilla* avec 608,7 et 66,81 ng/g eq MC-LR respectivement. Ces deux poissons ont été exposés de façon naturelle aux cellules de *Microcystis sp.*

➤ Sur les animaux

Les études évaluée sur les animaux ont participé à préciser les modes et les mécanismes d'action des microcystines et à établir les degré de toxicité servant de référence pour l'évaluation des risques sur la santé humain (**Chorus & Bartram, 1999**).

La majorité des intoxications aux microcystines marquée concernent des animaux domestiques buvant de l'eau douce contenant des proliférations de cyanobactéries. À l'échelle mondiale, des milliers de cas de mortalité chez le bétail ainsi que de nombreuses intoxications chez les chiens ont été attribués à l'ingestion d'eau contaminée par des microcystines (**Schwimmer et Schwimmer, 1968, Stewart et al., 2008**).

Les études scientifiques exercées sur les animaux ont révélé que les microcystines provoquent une forte toxicité hépatique. Des effets hépatiques sont observés après une exposition orale aiguë à la microcystine-LR (**Yoshida et al., 1997; Fawell et al., 1999**).

Après une exposition orale sub-chronique à la microcystine-LR, des effets sont marqué sur le foie, les reins .De plus, des effets sur le système reproducteur mâle ont été signalé. Ces effets incluent des modifications sur le poids des organes et des lésions histopathologiques (**Huang et al., 2011 ; Chen et al., 2011**).

Les premières observations d'intoxication d'animaux domestiques dues à des cyanobactéries ont été signalées en 1878, lorsqu'une mortalité inhabituelle de bétail a été constatée près du lac Alexandrina, en Australie (**Francis, 1878**). Des incidents similaires ont été signalé plus récemment dans le même pays, notamment en 1999, où une prolifération de cyanobactéries a entraîné la mort de trois vaches et de dix veaux (**Saker et al., 1999**).

En Algérie, une efflorescence cyanobactérienne est apparue sur les eaux de surface du lac Oubeira en octobre 2005, causant une intoxication aiguë chez deux espèces de tortues, *Emys orbicularis* et *Mauremys leprosa*, confédérée parmi les espèces les plus résistantes au monde (**Nasri et al., 2008**).



Aux États-Unis, plusieurs incidents d'empoisonnement du bétail liés à des proliférations cyanobactériennes ont été rapportés et documentés dans la littérature (**Short & Edwards, 1990 ; Frazier et al., 1998**). Dans la plupart des cas, l'espèce *Microcystis aeruginosa* a été identifiée comme l'agent responsable de ces intoxications.

Tableau N°3 : Synthèse bibliographique de cas rapportés de mortalité animale liée aux microcystines.

Localisation	Espec e touché	Cyanobactéri e (s)	Toxine	Référence
Lac Leven, Écosse, Royaume-Uni	Poissons	<i>A flos-aquae</i>	Microcystine	Kusumi et al., (1987).
Étang de zoo, Orlando, Florida, USA.	Flamingo: Chilean (<i>P.chilensis</i>)	<i>Microcystis sp.</i>	Microcystine	Chittick et al., (2002).
lagune du Parc national de Doñana, Espagne	Flamingo : Greater (<i>P.ruber</i>)	<i>Microcystis</i> <i>sp.</i> , <i>Oscillatoria</i> <i>sp.</i> , <i>Anabaena</i> <i>sp.</i>	Microcystine	Alonso- Andicober ry et <i>al.</i> (2002).
Lacs Nakuru et Bogoria, Kenya	Flamingo: Lesser (<i>P.</i> <i>minor</i>)	<i>Oscillatoria</i> <i>sp.</i> , <i>Anabaena</i> <i>sp.</i> , <i>Anabaenopsis</i> <i>sp.</i> ,	Microcystine, Anatoxinrne	Ballot et al., (2002), Krienitz et <i>al.</i> ,2003).
Étang de Nishinomiya Japon	Canards	<i>Microcystis</i> <i>aeruginosa</i>	Microcystin- RR	Matsunaga et al., (1999).

3. Impact des microcystines sur les communautés planctoniques

Les microcystines peuvent engendrer des déséquilibres au niveau des écosystèmes aquatiques ; ils pourraient être responsables d'une réduction de la diversité spécifique du phytoplancton dans un écosystème aquatique donné (**Sedmak & Kosi, 1998**).



Les microcystines peuvent également affecter la reproduction et la croissance des organismes qui consomment les cyanobactéries, comme le zooplancton, les organismes filtreurs ou encore les mollusques. Lorsque ces toxines s'accumulent dans leurs tissus, ils perturbent les fonctions physiologiques comme la synthèse des protéines, la régulation hormonale et le métabolisme énergétique (**Vasconcelos, 1999**).

Chez le zooplancton, une exposition chronique aux microcystines peut entraîner une diminution de la fécondité et une hausse de la mortalité, ce qui se traduit par une réduction globale de la productivité au sein de la chaîne trophique (**Lance et al., 2007; Lance et al., 2008**).

4. Impact des microcystines sur les plantes

Des travaux scientifiques ont montré que l'irrigation avec une eau contenant des microcystines entraîne d'importants changements morphologiques et physiologiques chez les plantes exposées. Par conséquent, ces plantes terrestres peuvent accumuler ces toxines dans leurs tissus et les transférer à travers la chaîne trophique (**Pflugmacher et al., 2006**).

Des études expérimentales ont indiqué que suite à une irrigation des cultures avec une eau contaminée par des cyanotoxines. Il cause une accumulation significative de ces toxines dans les tissus végétaux. Par exemple, l'étude de **Hereman & Bittencourt-Oliveira (2012)** ont trouvé qu'après une irrigation de laitues (*Lactuca sativa*) avec une eau contenant des cyanotoxines pendant une période de 15 jours, des concentrations mesurables de microcystines se sont signalées dans les feuilles. Cette bioaccumulation montre que les cyanotoxines présentes dans l'eau peuvent être absorbées par les racines et transférées par la suite dans les parties aériennes de la plante, compromettant ainsi la qualité sanitaire des légumes destinés à la consommation humaine.

De même, **Chen et al. (2012)** ont marqué la détection de microcystine-LR à des concentrations élevées à 1,0 µg/kg dans des grains de riz récoltés à proximité d'un lac affecté par des proliférations de cyanobactéries.



Tableau N°4 : Effets des microcystines sur le comportement physiologique des plantes terrestres.

Cyanotoxines	Concentrations	Plante testée	Impact	Référence
Extrait De bloom naturel	[1,6-11,6µg équivalent- MC-LR/mL]	<i>Lens esculenta</i> , (La lentille cultivée) <i>Zea mays</i> (Le maïs) <i>Triticum durum</i> (Le blé dur) <i>Pisum sativum</i>	Inhibition du la germination Perturbation de l'assimilation des éléments nutritifs Anomalie dans la structure du tissu racinaire	(Saqrane et al., 2008)
Extrait de bloom naturel	[0.024-3 µg équivalent- MC-LR/mL]	<i>Brassica napus</i> (Le colza), et <i>Oryza sativa</i> (le riz asiatique)	Inhibition de la germination des graines, Induction du stress oxydatif	(Chen et al., 2004)
MC-LR	10 µg/mL	<i>Lepidium sativum</i> (Le Cresson alénois)	Inhibition de la croissance des racines et des feuilles. Diminution du poids frais de la plante	(Gehring et al.,2003)
MC-LR	[3-30 µg/mL]	<i>Sinapis alba</i> (La moutarde blanche)	Apparition des nécroses au niveau des tissus	(M-Hamvas et al., 2003)
MC-LR	22 µg/mL			



I.1.8.1.1.6 Les différentes stratégies d'élimination des microcystines

Différentes méthodes physiques, chimiques et biologiques ont été utilisées pour l'élimination des microcystines (MC) présentes dans l'eau douces. Parmi les procédés chimiques, la chloration est couramment utilisée, mais son efficacité dépend du pH, de la température et du temps de contact (**Westrick et al., 2010**). De plus, L'ozonation constitue une autre méthodes efficace, de dégrader rapidement les microcystines, bien que les méthodes d'oxydation avancée (AOP), tels que l'ozone couplé au peroxyde d'hydrogène ou les systèmes UV/H₂O₂, facilitent une minéralisation plus complète des toxines donnant des sous-produits généralement moins toxiques (**Antoniou et al., 2008**).

D'autres méthodes, comme le traitement par ultrasons et l'électrolyse, ont également constituant une méthodes intéressantes pour la dégradation des microcystines (**Tran & Drogui, 2013 ; Chen et al., 2020**). Ainsi que les oxydants classiques, comme la monochloramine, l'ozone et le permanganate de potassium, ont également été utilisé, avec des rendements variables allant de 50 à 90 %, mais leur efficacité peut être limitée dans les eaux riches en matière organique naturelle .Parallèlement, les méthodes physiques telles que la coagulation-floculation suivie de la décantation et de la filtration conventionnelle restent largement utilisés dans les usines de traitement d'eau. Bien qu'ils permettent d'éliminer efficacement les cellules cyanobactériennes, ils demeurent peu efficaces pour éliminer les microcystines déjà dissoutes (**Chorus & Bartram, 1999**).

Cependant, ces approches présentent certaines limites, notamment la formation de sous-produits nocifs, une efficacité parfois insuffisante et des coûts d'application élevés.

Les méthodes biologique constitue une méthode efficace et économiquement avantageuse pour l'élimination des microcystines (MCs) dans l'environnement aquatique (**Li et al., 2011 ; Wu et al., 2012**). De nombreuses études ont révélé que les biofilms bactériens formés sur des membranes recyclées exposées aux proliférations de cyanobactéries ont la capacité de dégrader efficacement différentes variantes de microcystines (MCs), grâce à l'action de nombreux génotypes bactériens En parallèle, les macrophytes aquatiques participent également à l'atténuation naturelle des microcystines (MCs) via bioaccumulation dans leurs tissus. Plusieurs espèces des macrophytes ont indiqué leur aptitude à accumuler les microcystines présentes dans l'eau et en assurer une dégradation partielle de ces toxines (**Chen et al., 2012 ; Mitrovic et al., 2005**).



De plus, Ce mécanisme fondé sur l'absorption des toxines dissoutes par les tissus végétaux, suivie de leur stockage ou de leur transformation métabolique. Bien que ce processus est considérée comme plus lent que la biodégradation bactérienne, ce mécanisme peuvent constitue un levier complémentaire pour diminuer les concentrations de microcystines à faible cout, notamment dans les zones humides et les lagunes de traitement (Zhang et al., 2010).

I.1.8.2 Les nodulaires

Les nodularines sont des pentapeptides hépatotoxiques produites par *Nodularia spumigena*. Leur structure chimique générale se compose d'un pentapeptide cyclique d'enchaînement cyclo-(D-MeAsp1-L-Arg2-Adda3-D-Glu4-Mdhhb5). La nodularine-R agit aussi en inhibant certaines protéines phosphatases et présente une hépatotoxicité semblable à celle des microcystines (Bagu et al., 1997). À ce jour, 10 variantes de la famille des nodularines ont été identifiées. Elles se caractérisent par la présence dans leur structure d'un acide aminé caractéristique, l'Adda [(2S,3S,8S,9S)-3-amino-9-méthoxy-2,6,8-triméthyl-10-phényldéca-4,6-diénoïque] (Merel et al., 2013 ; Huisman et al., 2018). Les Nodulaires sont généralement produits par la cyanobactérie *Nodularia spumigena* et l'espèce benthique *Nodularia sphaerocarpa* (Dittmann & Wiegand, 2006). Aucun cas d'intoxication humaine lié à une exposition aux nodulaire n'a été rapporté à ce jour. Cependant, des cas de mortalité animale ont été signalés dans certains pays .Les nodulaires sont marquée comme substances non cancérogènes pour l'être humaine (Stewart, Seawright, & Shaw, 2008).

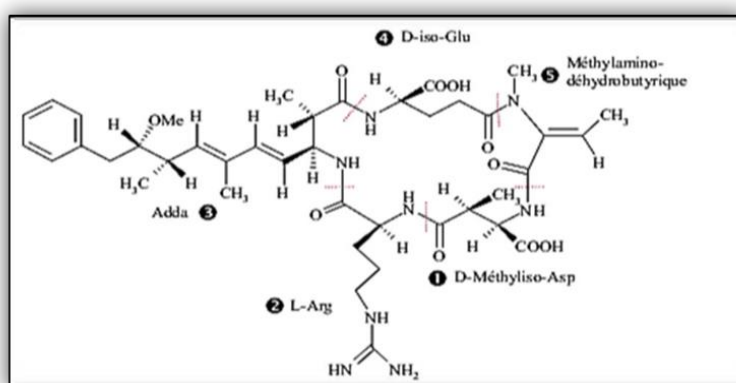


Figure N°05 : Structure chimique de la nodularine-R (Carmichael, 1997).



I.1.8.3 Les neurotoxines

Les neurotoxines de cyanobactéries se regroupent en deux familles principales : les anatoxines et les saxitoxines. Elles ciblent la jonction neuromusculaire. Récemment, la BMAA (β -N-méthylamino-L-alanine), un nouveau métabolite aux effets neurotoxiques.

I.1.8.3.1 Anatoxines

Les Anatoxines sont des alcaloïdes de faible masse moléculaire de nature alcaloïdique. L'anatoxine-a (ATX) et son analogue, l'homoanatoxine-a (HTX), sont des agents bloquant les récepteurs neuromusculaires postsynaptiques et cholinergiques, en imitant le neurotransmetteur acétylcholine (Capelli, 2017).

I.1.8.3.2 Les saxitoxines

Les saxitoxines forment une famille très diversifiée de toxines, communément appelées toxines paralysantes. Initialement décrites chez les dinoflagellés marins, elles ont été identifiées dans un nombre croissant de cyanobactéries d'eau douce appartenant aux genres *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Dolichospermum* (anciennement *Anabaena*), *Lyngbya*, et *Phormidium* et plus rarement *Microcystis* (Apeldoorn et al., 2007).

I.1.8.3.3 β -N-méthylamino-L-alanine (BMAA)

C'est le seul acide aminé qui ne participe pas à la synthèse des protéines ; induit une excitation des neurones et serait impliquée dans le développement de maladies neurodégénératives. Cox et al. (2005) ont détecté la BMAA dans 95 % des genres et 97 % des souches de cyanobactéries étudiées, provenant de diverses régions du monde

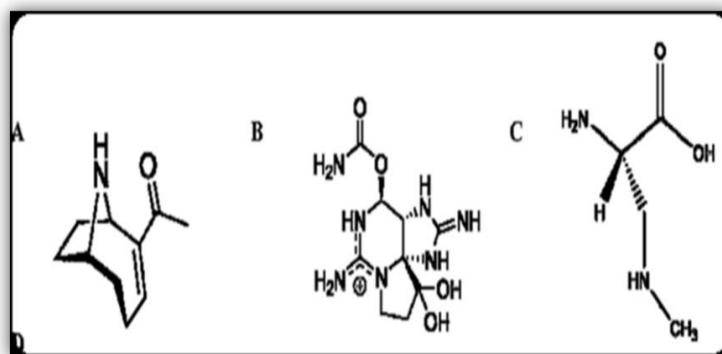


Figure N°06 : Structures chimiques des neurotoxines : (A) anatoxine-a, (B) saxitoxine et (C) β -N-méthylamino-L-alanine (**Carmichael, 1997**).

I.1.8.4 Les dermatotoxines

Ce sont des molécules responsables d'irritations cutanées et d'inflammations gastro-intestinales enregistrée après des baignades (**Cardellina et al., 1979 ; Kuiper-Goodman et al., 1999**). Dans ce groupe de toxines, on retrouve la lyngbyatoxine A, les aplysiatoxines et la débromoaplysiatoxine, qui sont des alcaloïdes à activité dermatotoxique. Elles ont été identifiées chez certaines cyanobactéries benthiques, notamment *Lyngbya majuscula* Harvey ex Gomont, *Oscillatoria nigroviridis* et *Schizothrix calcicola* ; présents dans les zones tropicales et subtropicales et semblent peu fréquents en eau douce (**Cardellina et al., 1979 ; Sivonen Jones, 1999**).

Les aplysiatoxines et les débromoaplysiatoxine, sont également considérées comme de possibles promoteurs tumoraux et de puissants activateurs de la protéine kinase C (**Mynderse et al., 1977 ; Fugiki et al., 1990**).

D'autres dermatotoxines, tels que les lipopolysaccharides qui composent l'enveloppe cellulaire externe des cyanobactéries, présenter une toxicité moindre que ceux produits par *Salmonella sp.* Mais ils peuvent causer nombreuses manifestations comme que des réactions allergiques et la fièvre (**Kuiper-Goodman et al., 1999**).

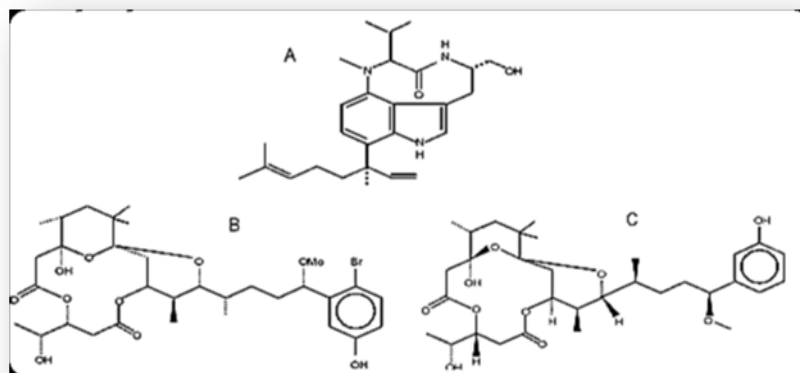


Figure N°07 : Structures chimiques des dermatotoxines: (A) lyngbyatoxine, (B) debromoaplysiatoxine et (C) aplysiatoxine (**Briand, 2008**).

I.1.8.5 Cyldromopsines

Il s'agit d'un alcaloïde hépatotoxique guanidine cyclique avec un poids moléculaire de 415 très soluble dans l'eau, isolé de *Cylindrospermopsis raciborskii* mais d'autres genres tels que *Dolichospermum* « *Anabaena* », *Aphanizomenon*, *Raphidiopsis*, ont également été identifiés comme producteurs de cette toxine (**Falconer & Humpage 2006**). Ils est décrit chimiquement par **Ohtani et al. (1992)**.

Cette toxine agit comme un inhibiteur de la synthèse des protéines. Leurs toxicité repose principalement sur l'inhibition irréversible du glutathion, de la synthèse protéique et du cytochrome P450, entraînant l'apoptose .En raison du nombre insuffisant de données sur son potentiel cancérigène, le CYN est classé par le (Centre International de Recherche sur le Cancer) comme un agent non cancérigène (**Testai et al., 2017**).

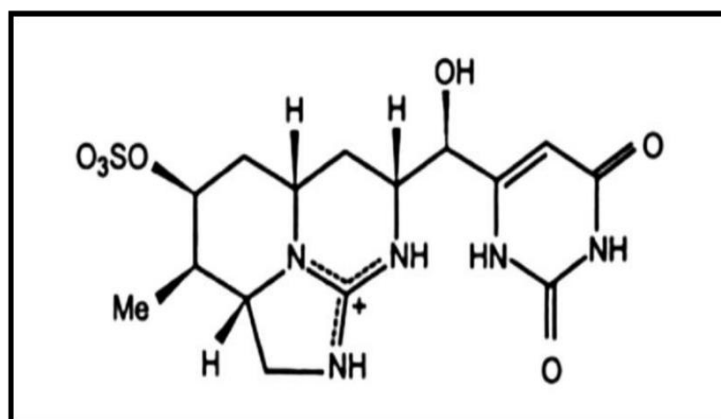


Figure N°08 : Structure chimique de la cylindrospermopsine (**Falconer &Humpage, 2006**).



I.1.8.6 Autres composés toxiques

I.1.8.6.1 Les cytotoxines

L'impact des cytotoxines produites par les cyanobactéries sur la santé humaine est considéré comme d'importance moindre que celui des hépatotoxines ou des neurotoxines mais ces molécules pourraient être considérées comme un risque non négligeable, soit pour l'homme soit pour les écosystèmes. En effet, de nombreuses substances isolées de cyanobactéries ont indiqué une activité cytotoxique significative, parmi lesquelles la scytophycine, les hapalindoles et l'acutiphycine (Gleason & Wood, 1987).

I.1.8.6.2 Les lipopolysaccharides

Les lipopolysaccharides (LPS) sont des endotoxines qui ont les caractéristiques de la paroi cellulaire externe des bactéries à Gram négatif. Leur présence a été déterminée pour la première fois chez *Anacystis nidulans* après découverte dans de nombreuses espèces cyanobactériennes (Sivonen & Jones, 1999).

Sur le plan structural, Les lipopolysaccharides sont composées d'une partie glucidique et d'une partie lipidique, connue sous le nom de lipide A. Cette dernière est responsable de la majorité des effets biologiques et toxiques associés aux lipopolysaccharides (Stewart et al., 2006).

Sur le plan écologique, les lipopolysaccharides cyanobactériens peuvent être responsables de l'irritation des muqueuses chez les organismes aquatiques, modifier la qualité de l'eau et constituer un facteur aggravant des nuisances liées aux efflorescences cyanobactériennes (Chorus & Bartram, 1999).

I.1.9 Évaluation de la contamination des masses d'eau par les cyanotoxines en Afrique

Les recherches menées sur cyanobactéries se sont principalement basées sur leur identification dans les réservoirs ainsi que les cours d'eau. Cependant, de nombreuses études et travaux scientifiques ont commencé à dépasser ce stade, en s'intéressant non seulement à l'identification des espèces, mais à la caractérisation et l'identification des toxines.



Tableau N°5 : Travaux réalisés sur les cyanotoxines dans les plans d'eau d'Afrique.

Site	Méthode d'indentification	Toxine	Concentration	Référence
Lac Oubeira, Algeria	MALDI-TOF	MCs	3 - 29.163 µg /L	(Nasri et al., 2004)
Nil, Égypte	ELISA	MCs	0.039- 0.092 µg/g	(Mohamed et al., 2015)
Canal d'irrigation et Nil, Égypte	ELISA; HPLC	MCs	1.6-4.1 mg/g	(Mohamed et al., 2006)
Barrage Lalla Takerkoust, Maroc	HPLC-PDA; ELISA	MCs	759-3240 µg.g-1 mg-1PS	(El Gazhali et al., 2011)
Oued Oukaïmeden, Maroc	HPLC-PDA	MCs	90 µg /g MC-LR equiv	(Oudra et al., 2009)
Barrage Lebna, Tunisie	LC/ESI-MS/MS, PP2A	MCs	0.353 - 0.542 µg/L	(El Herry et al., 2008)
lagune Aghien, Côte d'Ivoire	HPLC, ELISA	MCs	0 - 8,5 µg/g PS	Coulibaly, 2015
Ghana; Reservoirs,	HPLC	MCs	8.73 µg /L	(Adicco et al., 2017)
Source d'eau de Zaria, Nigeria	ELISA	MCs	0 - 3.16 µg /L	(Chia& Kwaghe.,2015)



Étangs d'aquaculture à Zaria, Nigeria	ELISA	MCs	0.6 - 5.89 µg /L	(Chia et al., 2009)
---	-------	-----	------------------	------------------------

I.1.10 Normes et directives encadrant les cyanobactéries et les cyanotoxines

Face à la problématique du développement des proliférations de cyanobactéries et à la libération associée de cyanotoxines, plusieurs instances internationales et nationales ont mis en place un cadre normatif visant à limiter l'exposition des populations et à garantir la salubrité des ressources en eau.

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a établi une valeur guide pour la microcystine-LR présente dans l'eau potable, fixée à 1 µg/L (0,001 mg/L) pour la concentration totale en microcystines, qu'elles soient intracellulaire ou extracellulaire. Cette valeur s'appuie découle d'une dose sans effet observé (NOAEL) identifiée durant une étude de 13 semaines chez la souris, à laquelle un facteur d'incertitude de 1000 a été appliqué, compte tenu des données toxicologiques encore limitées.

Pour les eaux destinées aux usages récréatifs et à la baignade, les recommandations de **l'OMS** (2003) fixent des seuils indicatifs de 20 000 cellules de cyanobactéries par millilitre et de 20 µg/L de microcystine-LR totale, incluant les formes intracellulaire ou extracellulaire.

L'OMS insiste sur le fait que ces seuils doivent être complétés par des indicateurs de biomasse cyanobactérienne comme la densité cellulaire, le biovolume, et la chlorophylle-a, et ne peuvent pas seuls remplacer une stratégie de gestion globale.



Tableau N°6 : Recommandations de l'OMS pour la surveillance des eaux brutes (WHO, 1998).

Situations	Risques	Recommandations
Densité cyanobactérienne : 100 000 cell/ml Chlorophylle-a : 50 µg/L	Risque pour la santé humaine à court terme	Renforcer le traitement
Présence faible densité cyanobactériennes (< 2 000 cellules/mL)	Risque sanitaire négligeable	Surveillance et analyses périodiques de la biomasse
Présence visible d'écume, coloration ou odeur suspecte	Contamination probable par toxines cyanobactériennes	procéder à des analyses complètes

Tableau N°7 : Recommandations de l'OMS pour la surveillance des eaux de baignade.

Situations observées	Risques pour la santé	Recommandations de l'OMS
Absence de prolifération visible	Risque faible ou nul pour les baigneurs	Maintenir la surveillance régulière de la qualité de l'eau.
Début de prolifération	Risque modéré	Renforcer la fréquence des contrôles,
Bloom important visible	Risque élevé	Interdire temporairement la baignade
Confirmation analytique de cyanotoxines	Risque aigue	Maintenir l'interdiction d'accès à l'eau



I.1.11 L'élimination des Cyanobactéries et leurs toxines

Aujourd'hui les ressources en eau douce sont menacées via la prolifération massive des cyanobactéries dans le monde entier. Cette prolifération nuisible dégrade les écosystèmes aquatiques, provoquent d'énormes pertes économiques et des problèmes de santé pour les humains et les animaux (**Backer et al., 2015**). Les méthodes physiques et chimiques constituent les méthodes les plus couramment utilisées pour le traitement des eaux contaminées par les cyanobactéries et leurs toxines. Elles visent à éliminer les cellules cyanobactériennes, soit à dégrader ou adsorber les toxines dissoutes présentes dans l'eau. Ces techniques, bien qu'efficaces, comportent certaines contraintes techniques et écologiques susceptibles d'affecter leur efficacité et leur durabilité (**Kulabhusan et al., 2024**).

La méthode de contrôle la plus directe implique l'utilisation de traitements chimiques tels que les algicides, notamment du cuivre, le Reglone A (diquat, 1,1- éthylène-2, 2-dipyridilium dibromide), le permanganate de potassium, le chlore et la Simazine (2-chloro-4,6- bis (éthylamino)-s-triazine bien qu'efficace pour gérer cette croissance nuisibles mais ces produits chimiques ont provoqué la lyse des cellules cyanobactériennes, entraînant la libération de toxines dans les eaux environnantes. Cependant, il devient de plus en plus nécessaire de réduire l'utilisation de produits chimiques pour des raisons environnementales et de sécurité. Cela souligne l'importance de développer des mesures de contrôle non chimiques (**Lam et al., 1995**).

D'autres procédés chimiques incluent la précipitation et la floculation in situ dans les plans d'eau via l'utilisant des sels métalliques tels que alun, chlorure ferrique ou sels de lanthane pour immobiliser le phosphore et réduire la disponibilité des nutriments nécessaires à la croissance cyanobactérienne. Cette approche permet de prévenir les proliférations plutôt que de les traiter une fois établies. Cependant, elle cause une accumulation de métaux dans les sédiments et provoque des effets écotoxicologiques potentiels sur la faune aquatique (**Arruda et al., 2021**).

Les méthodes physiques jouent un rôle major dans l'élimination de la biomasse cyanobactérienne et leurs toxines. Parmi ces techniques, la coagulation-floculation suivie de décantation est l'une des plus des méthodes largement utilisées dans les stations de traitement d'eau potable. Le principe de ces méthodes repose sur l'ajout de coagulants métalliques comme le sulfate d'aluminium ou le chlorure ferrique qui permet d'agréger les cellules de cyanobactéries en floccs plus lourds. Cette technique peut atteindre une efficacité d'élimination



supérieure à 90 %. cependant, une agitation excessive peut causer la lyse cellulaire, libérant ainsi les toxines intracellulaires dans l'eau (**Zamyadi et al., 2012**).

Les méthodes de filtration comme la microfiltration et l'ultrafiltration constituent également des méthodes physiques efficaces contre les cellules cyanobactériennes. Toutefois, ces technique présente une efficacité limite pour les toxines dissoutes (**Gijsbertsen-Abrahamse et al., 2006**),

L'adsorption sur charbon actif, qu'il soit en poudre (PAC) ou granulaire (GAC), est une autre méthode physique performante pour l'élimination des cyanotoxines dissoutes, notamment les microcystines. Cependant, cette méthodes est fortement influencée par la présence de matière organique naturelle qui entre en compétition pour les sites actifs d'adsorption (**El Bouaidi et al., 2022**).

Les techniques membranaires avancées, comme la nanofiltration et l'osmose inverse, sont présentées une grande efficacités pour éliminer les cellules et les toxines dissoutes, avec des taux de rétention jusqu'à 95 % pour la microcystine-LR mais ces procédés exigent une forte pression, ce qui augmente leur consommation énergétique et leurs coûts de maintenance (**Kulabhusan et al., 2024**).

La lutte biologique contre la prolifération des cyanobactéries et leurs toxines constitue une solution potentielle (**Jabulani Gumbo et al., 2008**).



I.2 Les macrophytes aquatiques

I.2.1 Généralité

Les écosystèmes aquatiques hébergent une vaste diversité d'organismes, dont les macrophytes ou hydrophytes, » qui désigne l'ensemble des végétaux aquatiques perceptibles à l'œil nu. Ils constituent le maillon de base de la chaîne alimentaire aquatique. Ces macrophytes occupent une place fondamentale et essentielle dans la structuration et le fonctionnement de ces écosystèmes. En particulier, contribuer à la stabilisation des sédiments, à l'amélioration de la transparence de l'eau et à la diversification des zones peu profondes des lacs. Ces macrophytes sont largement distribués dans les divers plans d'eau à l'échelle mondiale (**Madsen, 2009**).

Les macrophytes aquatiques se répartissent en plusieurs catégories : les espèces submergées ; entièrement immergés sous l'eau , comme les élodées (hydrophytes submergés) et les Cératophylle immergé (*Ceratophyllum demersum*) , les espèces à feuilles flottantes, telles que les nénuphars, et les espèces flottantes libres, comme les lentilles d'eau (hydrophytes flottants), *Eichhornia crassipes* (Jacinthe d'eau), et *Pistia stratiotes* (Laitue d'eau) , certaines plantes, comme la Sagittaire fléchée, peuvent adopter à la fois des formes aquatiques et terrestres (amphiphytes) et enfin en retrouve , les plantes de marais comme les roseaux, appartiennent à la catégorie des héliophytes (**Vitousek ,1986**). Ces plantes aquatiques comptent parmi les communautés végétales les plus productives de la biosphère ; bien que leur croissance soit généralement liée par le manque de lumière, notamment pour les macrophytes immergés (**Wetzel, 1983**).

I.2.2 Le rôle des macrophytes dans l'élimination de cyanobactéries et leurs toxines

Les macrophytes sont indispensables à l'équilibre des écosystèmes aquatiques. Que ce soit sur terre, dans l'eau ou à proximité, elles réalisent notamment la photosynthèse en utilisant la lumière du soleil, le dioxyde de carbone et l'eau pour sa croissance, former de nouveaux tissus végétaux et produire de l'oxygène. Elles jouent également un rôle majeur dans le maintien de la qualité de l'environnement aquatique (**Madsen, 2000**).

Les écosystèmes dominés par les macrophytes présentent généralement une bonne qualité de l'eau ainsi qu'une biodiversité élevée et diversifiée. Les macrophytes submergés



jouent un rôle clé dans la stabilisation des rivages et des sédiments. Ils filtrent les nutriments et les polluants provenant du ruissellement, contribuant ainsi à l'amélioration de la qualité de l'eau.

Grâce à leurs systèmes racinaires, les macrophytes assurent une fonction essentielle dans la stabilisation des sédiments ; ainsi leur remise en suspension. En stabilisant le substrat, ils limitent l'érosion des berges, préservent la structure des habitats aquatiques et assurent à l'amélioration de la clarté de l'eau. Par ailleurs, leur capacité à piéger les particules en suspension favorise la sédimentation des matières fines, contribuant à leurs rôles ainsi à une meilleure transparence de l'eau et à des conditions optimales pour la croissance de la faune et de la flore aquatiques (**Madsen, 2009**).

Au cours des dernières décennies, l'utilisation des macrophytes comme solution alternative pour contrôler la prolifération des algues a attiré un intérêt grandissant. De nombreuses recherches ont démontré que certaines espèces de macrophytes peuvent inhiber le développement massif du phytoplancton dans les plans d'eau en diffusant des substances allélochimiques dans les écosystèmes aquatiques (**Nakai et al., 2012**). Les composés allélochimiques ont des effets algicides qui se divisent en quatre groupes principaux par leur voie de biosynthèse : les polyphénols, les composés azotés, les acides gras et les terpénoïdes (**Zhu et al., 2021 ; Li et al., 2021**). Des recherches menées en laboratoire et sur le terrain ont révélé que de nombreux macrophytes ont des effets allélopathiques sur la croissance et les processus physiologiques des cyanobactéries. L'intensité de cette activité allélopathique varie en fonction de la composition chimique des composés allélochimiques, ainsi que de leur taux de production et d'excrétion (**Mulderij et al., 2007**).

Selon **Jasser (1995)**, les extraits de *Ceratophyllum demersum* ainsi que autres macrophytes (*Myriophyllum spicatum*, *Potamogeton lucens*, *Stratiotes aloides* et *Chara fragilis*) entraînent des modifications dans la composition dominante du phytoplancton. De leur côté, **Van Donk et Gulati (1995)** rapportent que *C. demersum* a la capacité d'inhiber la prolifération des épiphytes et du phytoplancton. Dans ce contexte, l'action inhibitrice du phytoplancton par les composés allélochimiques émis par les macrophytes submergés est considérée comme l'un des mécanismes majeurs contribuant au maintien d'un état clair et stable des eaux dans les lacs peu profonds (**Van Donk & Van de Bund, 2002, cités par Hilt & Gross, 2008**).



Tableau N°8 : Activité allélopathique des plantes aquatiques et de leurs alléocomposés contre les cyanobactéries.

Macrophyte	Cyanobactéries inhibées	Type de matériel végétal testé	Références
Macrophytes émergents			
<i>Acorus calamus</i>	<i>Anabaena flos-aquae</i> , <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i>	Extrait	(Zhang et al., 2015)
<i>Eleocharis acicularis</i>	<i>Anabaena flos-aquae</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>Phormidium tenue</i>	Co-culture	(Nakai et al., 1999)
<i>Typha latifolia</i> , <i>Typha angustifolia</i>	<i>Anabaena flos-aquae</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>Synechococcus leopoliensis</i>	Extrait	(Aliotta et al., 1990)
Les Macrophytes flottants			
<i>Brasenia schreberi</i>	<i>Anabaena azollae</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i>	Extrait	(Elakovich & Wooten, 1987)
<i>Lemma minor</i>	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Co-culture	(Jang et al., 2007)
<i>Nelumbo nucifera</i>	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Extrait	(He et al., 2013)
<i>Eichhornia crassipes</i>	<i>Anabaena azollae</i> ,	Extrait	(Yang et al., 1992) ,



	<i>Microcystis aeruginosa</i>		(Wu et al., 2012)
Macrophytes submergés			
<i>Hydrilla verticillata</i>	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Extrait	(Wang et al., 2006 ; Gao et al., 2011)
<i>Myriophyllum verticillatum</i>	<i>Microcystis aeruginosa</i> , <i>Limnothrix redeke</i>	Extrait	Hilt et al., 2006
<i>Chara australis</i>	<i>Anabaena variabilis</i>	Extrait	(Pakdel et al., 2013)
<i>Vallisneria denseserrulata</i> <i>Vallisneria spiralis</i>	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Extrait	(Xian et al., 2006; Gao et al., 2011)
<i>Potamogeton crispus</i> <i>Potamogeton oxyphyllus</i>	<i>Anabaena variabilis</i> <i>Microcystis aeruginosa</i>	Extrait/Exsudat Co-culture	(Pakdel et al., 2013 ; Nakai et al., 1999)
<i>Potamogeton lucens</i>	<i>Anabaena variabilis</i>	Extrait	(Jasser, 1995)
<i>Najas marina</i>	<i>Anabaena variabilis</i> , <i>Synechococcus elongatus</i>	Extrait	(Gross et al., 2003)

I.2.3 La bioaccumulation des microcystines chez les macrophytes

I.2.3.1 Les Mécanismes de bioaccumulation

I.2.3.1.1 L'Absorption racinaire

Les racines prélèvent les microcystines dissoutes, qui sont ensuite redistribuées vers les parties aériennes. Les travaux scientifiques sur *Eichhornia crassipes* ont indiqué une



bioaccumulation racinaire jusqu'à 150 ng/g poids sec après 7 jours d'exposition à 10 µg/L de MC-LR (Zhang et al., 2010).

I.2.3.1.2 L'absorption foliaire

On le trouve chez les espèces flottantes tel que *Lemna minor*, L'absorption directe à partir de la colonne d'eau est notable. Chen et al. (2012) ont observé une accumulation de **310 ng/g poids sec** dans les frondes après 72 h d'exposition.

La capacité d'accumulation des macrophytes aquatiques vis-à-vis des microcystines varie selon les espèces. *Eichhornia crassipes*, qui est une plante flottante particulièrement efficace, peut accumuler jusqu'à 1,2 µg/g poids sec dans ses racines (Xie et al., 2004). La plante flottante *Lemna minor* (lentille d'eau) présente des concentrations de 0,3 à 0,6 µg/g poids sec après exposition à 5 µg/L (Chen et al., 2012).

Le macrophyte submergé *Ceratophyllum demersum* absorbe les microcystines de façon rapide, avec une rétention de 0,8 µg/g poids sec dans les tissus foliaires après 96 h (Pflugmacher et al., 1998). Enfin, *Myriophyllum spicatum* accumule également des quantités importantes de toxine, son développement soit ralenti à partir d'une exposition de 10 µg/L (Cao et al., 2019).

I.2.4 Potentiels du phytoremediation

Les macrophytes jouent un rôle major dans la dépollution des milieux aquatiques polluée par les microcystines en réduisant la disponibilité des nutriments nécessaires à la croissance des cyanobactéries, ces plantes participent à renforcer la résilience écologique des écosystèmes. Par exemple, *Nymphaea lotus* a permis de diminuer de 30 % les concentrations en ammonium dans un système de lagunage (Oluwalana et al., 2019).

Certains macrophytes participent directement à la détoxification des microcystines, le cas de *Vallisneria spiralis*, qui est capable de biotransformer ces toxines en toxines moins nocifs via à l'activation d'enzymes spécifiques (Cao et al., 2019).



Tableau N°9 : Bioaccumulation et biotransformation des cyanotoxines par les macrophytes.

Macrophyte	Type de toxine	Bioaccumulation	Biotransformation	Référence bibliographique
<i>Eichhornia crassipes</i>	Mcs	16.9 $\mu\text{g g}^{-1}$ DW*	Potentiellement transformé	(Romero-Oliva et al., 2014)
<i>Lemna gibba</i> , <i>L. minor</i>	Mcs	0.29- 2.24 $\mu\text{g g}^{-1}$ DW 0.046- 8.68 $\mu\text{g g}^{-1}$ FW	-Conjugué microcystine-glutathion -Conjugué microcystine-cystéine	(Mitrovic et al., 2005; Saqrane et al., 2007)
<i>Ceratophyllum demersum</i>	Mcs	1.98 $\mu\text{g g}^{-1}$ FW	Conjugué glutathion-toxine	(Pflugmacher et al., 1999; Pflugmacher, 2004)
<i>Typha sp.</i>	Mcs	1.65 $\mu\text{g g}^{-1}$ DW	Potentiellement transformé	(Romero-Oliva et al., 2014)
<i>Vallisneria natans</i>	Mcs	15.1 $\mu\text{g g}^{-1}$ FW	Non analysé	(Jiang et al., 2011)
<i>Hydrilla verticillata</i>	Mcs	14.5 $\mu\text{g g}^{-1}$ DW	Potentiellement transformé	(Romero-Oliva et al., 2014)
<i>Lemna punctata</i>	Cylindro spermop- sin	BCF = 86.67	Non analysé	(Seifert et al., 2007)
<i>Lemna trisulca</i>	Anatoxin -a	150 $\mu\text{g g}^{-1}$ DW	Potentiellement transformé en produits simples ou	(Ha et al., 2014)



			absorbé par des molécules inconnues dans la plante.	
--	--	--	---	--

I.2.5 *Ceratophyllum demersum*

Ceratophyllum demersum également connu sous le nom de cornifle, est une angiosperme aquatique submergée et dicotylédone, appartenant à la famille des Ceratophyllaceae. Cette famille comprend trois espèces : *C. demersum*, *C. submersum*, et *C. muricatum*. *C. demersum* se ramifie occasionnellement, mais ne produit généralement qu'une seule branche par nœud. (Godfrey, 1981).

I.2.5.1 Classification botanique de *ceratophyllum demersum*

La classification botanique de *Ceratophyllum demersum* permet de la situer parmi les principales familles de plantes aquatiques.

Règne : Plantae

Embranchement : Spermatophyta

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotyledonae

Ordre : Nymphaeales

Famille : Ceratophyllaceae

Genre : *Ceratophyllum*

Espèce : *Ceratophyllum demersum*



I.2.5.2 Répartition, écologie et rôle environnemental de *Ceratophyllum demersum*

Ceratophyllum demersum est une macrophyte largement répandue à travers le monde, principalement à cause du commerce des aquariums et des étangs. Elle peut se retrouver à des profondeurs jusqu'à 10 m puisque n'ayant pas de racines à alimenter en oxygène contrairement aux hydrophytes fixées. Il se rencontre principalement dans les eaux minéralisées en sulfates, chlorures, sodium et matières organiques abondantes dont le pH est souvent 7,5. Elle est classée comme une mauvaise herbe des plans d'eau en raison de sa capacité à se propager rapidement, à envahir de vastes étendus d'habitats aquatiques. Leur présence dans les écosystèmes aquatique influence le développement du phytoplancton de trois manières. D'abord par la concurrence pour l'azote inorganique, par la compétition pour la lumière et enfin l'inhibition de la croissance par la production de substances chimiques (Mjelde & Faafeng, 1997). On la rencontre dans les eaux calmes ou à faible débit, riches en nutriments et dans des eaux claires stagnantes, telles que les étangs, les barrages, les ruisseaux et les réservoirs, notamment ceux avec un fond limoneux boueux où elle peut former de grandes masses (Kulshreshtha, 1982).

I.2.5.3 Caractéristiques morphologiques et modes de reproduction de *Ceratophyllum demersum*

Ceratophyllum demersum est une plante aquatique flottante et entièrement submergée, difficilement visible à la surface de l'eau. Elle peut atteindre une longueur maximale de 3 mètres et ne possède pas de véritables racines. Celles-ci sont remplacées par des pousses rhizoïdes situées à la base de la tige, jouant un rôle essentiel dans son ancrage et l'absorption des nutriments. Ses tiges, fines et allongées, mesurent entre 30 et 60 cm de long et présentent une ramification libre. Elles peuvent être soit rigides et très ramifiées, soit souples et flexibles, adoptant une forme de corde. Les nœuds, généralement espacés de 1 à 3 cm, deviennent plus rapprochés vers l'extrémité de la tige. Son feuillage est composé de feuilles vert foncé disposées en verticilles de 5 à 12. Ces feuilles, sessiles et à base épaissie, mesurent entre 1 et 4 cm de

Long. Elles sont divisées en deux ou trois segments palmés, eux-mêmes cylindriques et linéaires, d'environ 0,5 mm de large, avec des dents bien visibles sur l'un des côtés. Les fleurs, discrètes et de petite taille, sont sessiles et situées à l'aisselle des feuilles. Elles sont



unisexuées et s'épanouissent sous l'eau, une même plante portant à la fois des fleurs mâles et femelles. Les fleurs mâles possèdent entre 10 et 25 étamines, tandis que les fleurs femelles sont constituées d'un unique carpelle avec un ovaire supérieur contenant une seule loge et un seul ovule (**Lambinon et al., 2004**). Le fruit est un akène ovoïde-oblong, d'une longueur comprise entre 4 et 6 mm. Contrairement à certaines espèces proches, ses marges latérales ne présentent pas d'épines (**Godfrey, 1981**).

L'espèce se reproduit de deux manières : par multiplication végétative et par reproduction sexuée. La multiplication végétative, ce fait par fragmentation des tiges feuillées tandis que la reproduction sexuée se fait par la formation de graines (**Montégut, 1987**).

I.2.5.4 Rôles fonctionnels et potentialités de *Ceratophyllum demersum*

Ceratophyllum demersum est une plante aquatique aux multiples bénéfices écologiques, qui joue un rôle essentiel dans la gestion et la préservation des écosystèmes aquatiques. Elle contribue efficacement à la purification de l'eau des nutriments en excès, notamment l'azote et le phosphore qui favorisent les proliférations algales nuisibles. En limitant leur disponibilité, *C. demersum* aide à maintenir l'équilibre trophique des milieux aquatiques et à prévenir les efflorescences algales (**Vymazal, 2011**). Comme elle possède des propriétés allélopathiques : elle libère dans son environnement aquatique des composés allélopathique qui inhibent la croissance de certaines espèces de phytoplancton, en particulier les cyanobactéries. Ce mécanisme naturel de régulation est d'un rôle clé dans le contrôle biologique des algues dans les lacs eutrophes et les réservoirs d'eaux (**Nakai et al., 2012**).

Sa structure végétative compacte, composée de tiges et de racines abondantes, favorise la fixation des sédiments au fond de l'eau, limitant ainsi leur remise en suspension. Ce mécanisme diminue l'érosion des berges et améliore ainsi la clarté de l'eau (**Madsen, 2009**). *C. demersum* joue un rôle important en tant qu'habitat pour la faune aquatique en tant un niche de reproduction renforçant ainsi la biodiversité (**Jeppesen et al., 2005**). Enfin, sa croissance rapide et sa capacité de régénération en font une plante idéale pour les projets de restauration ou de gestion des zones humides. Elle peut rapidement recoloniser des milieux perturbés (**Madsen & Brix, 1998**).



I.2.6 *Pistia stratiotes*

Le nom *Pistia stratiotes* trouve son origine dans le grec « pister », signifiant auge creuse (Mayo et al., 1997), ou « pistos », qui signifie eau, tandis que « stratiotes » fait référence à un soldat (Yates, 2005). Cette plante est également connue sous les noms de laitue d'eau, chou d'eau ou chou du Nil. Sa croissance est favorisée par des températures supérieures à 18 °C. Elle est largement présente en Afrique et a été signalée pour la première fois en 1865 en Afrique du Sud, dans la région du KwaZulu-Natal (Hill, 2003). En 2012, *P. stratiotes* a été signalé pour la première fois en Afrique du nord sur un petit bassin t près de Fès, au Maroc (Hill, 2013). La plante a été observée aux Philippines dès 1925, flottant abondamment dans les eaux peu profondes (Merrill, 1925 ; Waterhouse, 1997). La présence de la plante a été signalée de manière sporadique dans les Grands Lacs. On retrouve *Pistia stratiotes* dans plusieurs États américains, où elle est généralement classée comme une espèce introduite (Adebayo et al., 2011). *Pistia stratiotes* se développe principalement dans les milieux d'eau douce à faible courant, notamment les lacs, rivières, les réservoirs, et les étangs. Elle colonise les canaux artificiels et les fossés, où elle produit souvent des tapis denses flottants. Sa croissance est favorisée par des eaux calmes et riches en nutriments, facilitant ainsi son développement rapide et son invasion de divers écosystèmes aquatiques (Adebayo et al., 2011 ; Hussner et al. 2014).

I.2.6.1 Classification botanique de *Pistia stratiotes*

Pistia appartient à la classification suivante :

Embranchement : Phanérogames

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Monocotylédones

Sous-Classe : Arecidae

Ordre : Arales

Famille : Araceae

Genre : *Pistia*

Espèce : *Pistia stratiotes* L.



I.2.6.2 Caractéristiques morphologiques et mode de reproduction de *Pistia stratiotes*

Pistia stratiotes est une plante aquatique flottante caractérisée par des feuilles sessiles disposées en rosette jusqu'à 20 cm de diamètre. *Pistia stratiotes* est une plante clonale qui se propage en formant de petites colonies, où les plantes filles restent reliées à la plante mère par des stolons. En raison de sa ressemblance avec la laitue comestible, elle est couramment appelée "laitue d'eau". Les feuilles, d'un vert pâle, mesurent entre 10 et 20 cm de long et environ 10 cm de large. Ces dernières sont épaisses et spongieuses. Elles présentent une forme allant de spatulée à obovale, avec un apex arrondi à tronqué. De 7 à 15 nervures parallèles émergent depuis la base. Leur face inférieure est recouverte de poils blanchâtres. La surface supérieure des feuilles est d'un vert clair, tandis que leur face inférieure arbore une teinte presque blanche (Aston, 1977 ; Holm et al., 1977).

Les plantes flottantes ont de longues racines plumeuses qui se suspendent librement dans l'eau. La tige se présente sous la forme d'un court pédoncule autour duquel les feuilles s'organisent en rosette (Gopal, 1987). Dans un environnement riche en nutriments ou pollué, les racines restent courtes, après s'allongent progressivement à mesure que la qualité de l'eau s'améliore. Dans les bassins d'épuration, certains chercheurs estiment que l'épuration secondaire est optimale lorsque la longueur des racines est approximativement égale au diamètre de la plante (Agendia, 1987).

La laitue d'eau se reproduit par moyens sexuels et végétatifs. La reproduction de la plante s'effectue par multiplication végétative, un processus appelé stolonification. Une plante mère émet de 1 à 8 stolons, qui sont des tiges rampantes portant à leur extrémité un nouveau pied. La plante secondaire ainsi formée peut, à son tour, produire jusqu'à deux stolons, chacun donnant naissance à une plante tertiaire. Avec le temps, les stolons se désagrègent, libérant ainsi les nouvelles plantes qui flottent librement à la surface de l'eau et colonisent les espaces disponibles (Dray & Center, 1989).

Plusieurs chercheurs ont étudié les facteurs environnementaux affectant la germination des graines de *Pistia stratiotes* dans différentes régions du monde, notamment en Australie, en Égypte, en Mauritanie et aux États-Unis (Harley, 1990 ; Khedry & Serag, 1998 ; den Hollander et al., 1999). Des recherches antérieures menées sur divers types d'eau, qu'elles soient naturelles ou artificielles, ont mis en évidence plusieurs obstacles à la germination, tels que le manque de lumière, une forte salinité, une faible concentration en oxygène dissous et



une teneur élevée en CO₂ dissous. Ces résultats suggèrent que, dans un bassin recouvert de laitues d'eau, les graines enfouies dans le sédiment ont peu de chances de germer (**Hall & Okali, 1974**). En revanche, des récoltes régulières favoriseraient la multiplication par stolonification. *P. stratiotes* germe à une température inférieure à 20 °C, résiste au gel et tolère des températures allant jusqu'à 5 °C. Cependant, une exposition prolongée au gel réduit son taux de germination (**Kan & Song, 2008 ; Kurugundla, 2014**). Cette plante supporte également la salinité, pouvant tolérer jusqu'à 200 mM de NaCl dans l'eau (6 PSU) (**Upadhyay & Panda, 2005**).

I.2.6.3 Rôles fonctionnels et potentialités de *Pistia stratiotes*

Cette macrophyte est largement exploitée pour ses capacités en phytoremédiation. L'utilisation de laitue d'eau dans des systèmes de phytoremédiation offre ainsi une approche écologique pour contrôler les efflorescences de cyanobactéries, améliorer la qualité de l'eau dans les écosystèmes aquatiques. Elle est utilisée pour dépolluer les eaux contaminées par des métaux lourds, des substances chimiques et des hydrocarbures, ainsi que pour éliminer les résidus pharmaceutiques et les produits de soins personnels. *Pistia stratiotes* s'avère notamment efficace dans le traitement des eaux usées urbaines. Par ailleurs, sa biomasse présente un potentiel intéressant dans la fabrication de bioéthanol. Les rendements obtenus de cette plante aquatique sont comparables à ceux générés à partir d'autres sources agricoles traditionnelles, ce qui en fait une ressource prometteuse pour les filières d'énergie renouvelable ainsi que respectueuse d'environnement (**Mishima et al., 2008**).

La richesse nutritionnelle de *Pistia stratiotes*, caractérisée par des concentrations en fibres, glucides et protéines brutes comparables à celles des fourrages de qualité en fait une ressource prometteuse pour l'alimentation animale. En raison de cette propriété nutritionnelle,

Cette macrophyte pourrait être intégrée aux régimes alimentaires du bétail, en particulier dans les zones confrontées à une pénurie de ressources fourragères classiques. Une telle valorisation s'inscrit dans une démarche écoresponsable, visant à conjuguer gestion écologique des milieux aquatiques et réponse aux besoins agroalimentaires (**Parsons & Cuthbertson, 2001**).

Pistia stratiotes est utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle, notamment en Afrique de l'Est, où elle était déjà citée par **Kokwaro (1976)** comme remède contre la



démence. Plusieurs autres études ethnobotaniques rapportent également que la cendre de cette plante possède des vertus médicinales, notamment dans le traitement de la tachycardie et de la toux. En outre, *Pistia stratiotes* est reconnue pour ses propriétés antidysentériques et hypotensives (Colares et al., 1997).



Chapitre2

Matériels et méthodes



II Matériel et Méthodes

II.1 Echantillonnage de Bloom

Le Bloom de *Microcystis spp.* Utilisé dans cette étude a été échantillonné en 2016 par **Bouhaddada et al. (2016)**, prélevés dans le lac des Oiseaux, situé dans le nord-est de l'Algérie.

Le **Lac des Oiseaux**, connu également sous le nom de Garâat Ettouyour (36°47'N, 08°07'E), doit son appellation à la richesse avifaunistique qu'il accueille, notamment en période d'hivernage.

Ce plan d'eau est situé dans la région nord-est de l'Algérie, plus précisément en Numidie orientale ; délimité au nord et au nord-est par Koudiat Nemlia, tandis que les hauteurs du Djebel Bouabed le bordent au sud et au sud-est. Du côté ouest, le lac s'ouvre sur la plaine alluviale de la Mékhada, ce qui accentue son importance dans le réseau hydrographique local. Le lac présente une forme ovale allongée, avec une extension marquée en direction du nord-est, caractérisée par une queue d'étang bien visible, telle que mentionnée par **Houhamdi (1998)**.

Malgré sa faible superficie, le lac des Oiseaux abrite une riche diversité de plantes et d'animaux .Il se distingue par une végétation variée (**Boumezbeur, 1993 ; Samraoui et al., 1992**), dominée principalement par des peuplements de massette à feuilles étroites *Typha angustifolia* Cette végétation joue un rôle essentiel : elle forme une barrière anti-pollution efficace et limite le réchauffement de l'eau. Ainsi, plus la couverture végétale autour du lac est dense, plus l'écosystème est susceptible de rester en bon état. La composition floristique varie selon les saisons, et un total de 187 espèces réparties en 47 familles y ont été recensées en 1997 (**Houhamdi, 1998**). Cependant, le lac des Oiseaux est soumis à diverses pressions locales, principalement liées aux activités humaines, qui peuvent altérer la qualité de l'eau et perturber la biodiversité, notamment en provoquant des dérangements au sein des populations d'oiseaux. Sa proximité avec la route nationale 44 renforce ces impacts. Parmi les principales pressions, on peut citer l'usage excessif de produits chimiques en agriculture, le pompage de l'eau pour l'irrigation, ainsi que le pâturage et la présence quotidienne des ruminants, qui entraînent parfois la destruction des nids. À cela s'ajoute la menace majeure que représente la



pollution : dépôts de déchets, rejets d'ordures et déversement direct des eaux usées du village dans le lac, augmentant ainsi la concentration en nitrates. S'y ajoute enfin la chasse incontrôlée des oiseaux d'eau, en particulier celle du Canard colvert et de la Foulque macroule (**Houhamdi, 2002**).



Figure N° 09 : Localisation de Lac des oiseaux (google maps, 2025).



Figure N° 10 : Lac des Oiseaux (photo personnelle, 2022).



II.2 Identification des congénères des microcystines

Les variantes de microcystines ont été identifiées dans les extraits cyanobactériens à l'aide de la chromatographie liquide à ultra-haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (UHPLC-MS/MS). L'analyse a été réalisée avec un système Waters Acquity UPLC-TQD, utilisant une colonne BEH C18 à 30 °C et un gradient d'eau/acétonitrile contenant 0,1 % d'acide formique. Les ions $[M+H]^+$ (et $[M+2H]^{2+}$ pour la RR) ont permis de déterminer les concentrations relatives des microcystines. Les analyses MS/MS ont été réalisées par dissociation induite par collision (CID), avec l'utilisation d'argon (pression de 3,4 mbar) comme gaz de collision. L'énergie de collision appliquée était de 50 à 70 eV. Deux modes ont été utilisés : le mode parent, pour détecter les ions parents de l'ion m/z 135, et le mode fille, pour fragmenter les ions $[M+H]^+$ et identifier les structures spécifiques (Bouhaddada et al., 2016). Les résultats ont révélé que l'échantillon de bloom de *Microcystis* spp. contenait 21 congénères de microcystines, parmi celles-ci, 12 microcystines connues (MC-RR, MC-LR, MC-FR, MC-WR, MC-YR, MC-LA, MC-(H₄)YR, MC-HilR, [Asp3]MCRAba et [Glu(OCH₃)⁶]MC-LR) et deux nouveaux congénères ([Asp3]MC-HarAba et [Glu(OCH₃)⁶]MC-FR) ont été caractérisés, dont MC-RR était majoritaire (43,4 %) dans l'échantillon de prolifération. La concentration détectée dans l'échantillon de bloom était équivalente à 0.062 mg/g equi. MC-LR suivie par MC-LR (13,1%), MC-FR (9,4%), MC-WR (7,4%) et MC-YR (5,4 %).

L'évaluation des quantités de toxines a été réalisée par l'injection des quantités connues de toxines standards purifiées MC-LR, -RR, -YR, -LF et microcystines-LW. Les variantes déméthylés ont été associées au standard méthylé correspondant. Les toxines sont identifiées par comparaison aux standards par leur temps de rétention et par le spectre UV.

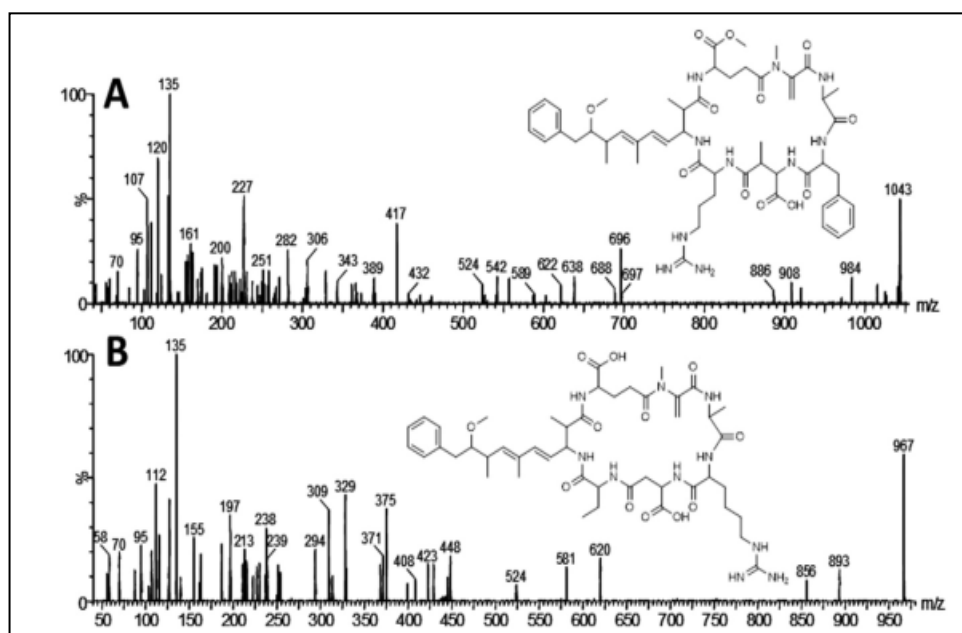


Figure N°11 : Spectres de masse des ions $[M+H]^+$ des deux nouvelles variantes de microcystines : (A) $[Glu(OCH_3)_6]MC-FR$, $[M+H]^+$ 1043 ; (B) $[Asp^3]MC-HarAba$, $[M+H]^+$ 967. Les encarts présentent la structure chimique des nouvelles variantes de microcystines (Bouhaddada et al., 2016).

II.3 Préparation de l'extrait de *Microcystis sp.* Bloom

Le bloom lyophilisé a été tout d'abord réduit en une poudre très fine à l'aide d'un mortier en porcelaine, afin de faciliter la solubilisation des composés intracellulaires. Ensuite, 3300 μL d'eau physiologique (solution saline de NaCl) ont été ajoutés pour préparer différentes concentrations selon les doses expérimentales visées

Trois niveaux de dosage ont été préparés :

1. Une faible dose (1 $\mu g/L$).
2. Une dose intermédiaire (2,5 $\mu g/L$).
3. Une forte dose (5 $\mu g/L$).

Les solutions ainsi préparées ont ensuite été congelées à $-20^\circ C$ afin de préserver les composés bioactifs. Après congélation, les échantillons ont été soumis à une sonication pendant 5 minutes dans le but de favoriser la lyse des cellules cyanobactériennes. Une agitation mécanique a également été appliquée pour homogénéiser les suspensions et assurer une libération complète des substances intracellulaires, notamment les toxines.



II.4 Modèle biologique expérimental

II.4.1 Condition de l'acclimatation des espèces végétales sélectionnées dans le cadre de cette étude

Dans le cadre de cette étude, deux espèces de macrophytes aquatiques, *Ceratophyllum demersum* et *Pistia stratiotes*, ont été sélectionnées en raison de leurs propriétés écophysiologiques intéressantes. Ces deux macrophytes ont été acquises auprès d'une ferme spécialisée dans la culture de plantes aquatiques située en Algérie. Le choix de ces espèces repose principalement sur leur résistance aux conditions environnementales défavorables, leur capacité d'adaptation rapide en milieu contrôlé.

Avant leur utilisation en laboratoire, les macrophytes ont fait l'objet d'un nettoyage minutieux à l'eau distillée afin d'éliminer toute impureté, particule en suspension ou biofilm pouvant altérer la précision des résultats expérimentaux. Les macrophytes ainsi préparées ont été pré-cultivées pendant une période de 15 jours dans des aquariums en verre de dimensions 25 × 12 × 15 cm, dans des conditions contrôlées visant à favoriser leur acclimatation progressive à l'environnement expérimental.

Pour garantir une adaptation optimale, une sélection rigoureuse des parties végétatives a été réalisée. Ainsi, les segments apicaux robustes d'environ 20 cm de longueur ont été choisis pour *Ceratophyllum demersum*, car cette portion de la plante est généralement plus active métaboliquement et plus résistante. Quant à *Pistia stratiotes*, des jeunes plants sains ont été sélectionnés, leur taille réduite favorisant une acclimatation plus rapide et uniforme. Les macrophytes ont été cultivés à une température constante de 25 °C, simulant un rythme nycthéméral stable. Le pH de l'eau a été ajusté et maintenu à 7,0, valeur neutre considérée comme optimale pour la majorité des plantes aquatiques. Ce protocole a été mis en place afin d'assurer une stabilisation physiologique des macrophytes avant leur exposition aux conditions expérimentales spécifiques de l'étude.



Figure N°12 : Processus d'acclimatation des macrophytes en milieu expérimental (Photo personnelle).

II.4.2 Protocole de traitement expérimental

L'expérience a été menée après l'acclimatation des macrophytes. Les macrophytes uniformes ont été soigneusement sélectionnés et placés dans des bécards de 1 L, remplis avec 500 mL d'eau minérale. Dans chaque bécard, une biomasse totale de 9 g de poids frais de plantes a été ajoutée, assurant des conditions homogènes et représentatives pour chaque groupe

Expérimental. Chaque groupe de traitement a été exposé à différentes concentrations de toxines pendant une période totale de deux semaines (15 jours).

Les échantillons ont été collectés à des intervalles réguliers après 3, 5, 10, et 15 jours d'exposition. Trois scénarios d'exposition ont été mis en place dans cette étude, correspondant à différentes concentrations de microcystines (MC). Dans le premier groupe, les plantes (*Ceratophyllum demersum* ou *Pistia stratiotes*) ont été exposées à une dose de 48 mg de toxine pour 1 L d'eau, soit une concentration de 1 µg/L. Le second groupe a reçu une dose de 2,5 µg/L, et le troisième groupe a été exposé à une concentration de 5 µg/L. En parallèle de ces traitements, un groupe témoin a été inclus dans l'étude, dans lequel les plantes ont été cultivées dans des conditions similaires sans ajout d'extrait de *microcystis* bloom afin de servir de référence pour comparer les résultats du traitement. Chaque expérience a été réalisée



en triplicat, et dans des conditions identiques pour tous les groupes, afin de garantir la reproductibilité des résultats.



Figure N°13 : Photographie des étapes d'exposition (Photo personnelle).

II.5 Analyse des paramètres physico- chimiques

Afin d'évaluer les conditions environnementales influençant la réponse physiologique des macrophytes face à l'exposition aux *microcystis* bloom a, un suivi régulier des paramètres physico-chimiques de l'eau a été effectué tout au long de l'expérience. Les mesures ont été réalisées aux jours 1, 3, 5, 10 et 15 de l'exposition, à l'aide d'un multiparamètre de paillasse HORIBA (Water Quality Checker, modèle WQC), un dispositif reconnu pour sa précision et sa fiabilité des résultats. Cette appareil sophistiqué a permis de déterminer avec précision la température (°C), le pH, la concentration en oxygène dissous (mg/L ou %), les solides dissous totaux (TDS en mg/L), la salinité (PSU ou ‰), la turbidité (NTU) et la conductivité électrique ($\mu\text{S}/\text{cm}$).



Figure N°14 : Mesure de paramètres physico-chimiques (Photo personnelle).

II.6 Extraction des pigments photosynthétiques

Les teneurs en chlorophylle-a, chlorophylle b et caroténoïdes ont été quantifiées. L'analyse des pigments a été réalisée selon la méthode de **Geider & Osborne (1992)** pour les chlorophylles, tandis que la détermination des caroténoïdes a suivi la méthode décrite par **Wellburn (1985)**.

Les extractions pigmentaires ont été effectuées dans l'obscurité afin d'éviter toute dégradation photochimique des composés. Pour chaque échantillon, 0,2 g de tissu végétal frais a été homogénéisé à l'aide d'un mortier et d'un pilon, dans 0,5 mL d'acétone à 90 %, tout en maintenant l'échantillon au froid sur de la glace pour préserver l'intégrité des pigments.

L'homogénat obtenu a ensuite été transféré dans un tube à microcentrifugeuse, puis centrifugé à $10\,000 \times g$ pendant 5 minutes.

La pastille résiduelle a fait l'objet de deux extractions supplémentaires, chacune avec 0,5 mL d'acétone à 90 %, afin d'optimiser la récupération des pigments. Les surnageants des trois extractions ont été regroupés, et leur absorbance spectrophotométrique a été mesurée aux longueurs d'onde suivantes : 664 nm pour la chlorophylle a, 647 nm pour la chlorophylle b, 470 nm pour les caroténoïdes. Les concentrations de pigments ont été exprimées en microgrammes par milligramme de poids frais ($\mu\text{g}/\text{mg}$), et calculées à l'aide des équations



standards dérivées des coefficients d'absorption spécifiques aux longueurs d'onde mentionnées.

$$\text{Chl(a)} = 11,93 \times \text{DO664} - 1,93 \times \text{DO647}$$

$$\text{Chl(b)} = 20,36 \times \text{DO647} - 5,5 \times \text{DO664}$$

$$\text{Car} = [(1000 \times A_{470}) - (2.13 \text{chl} < < \text{a} > >) - (97.64 \text{chl} < < \text{b} > >)] / 20$$

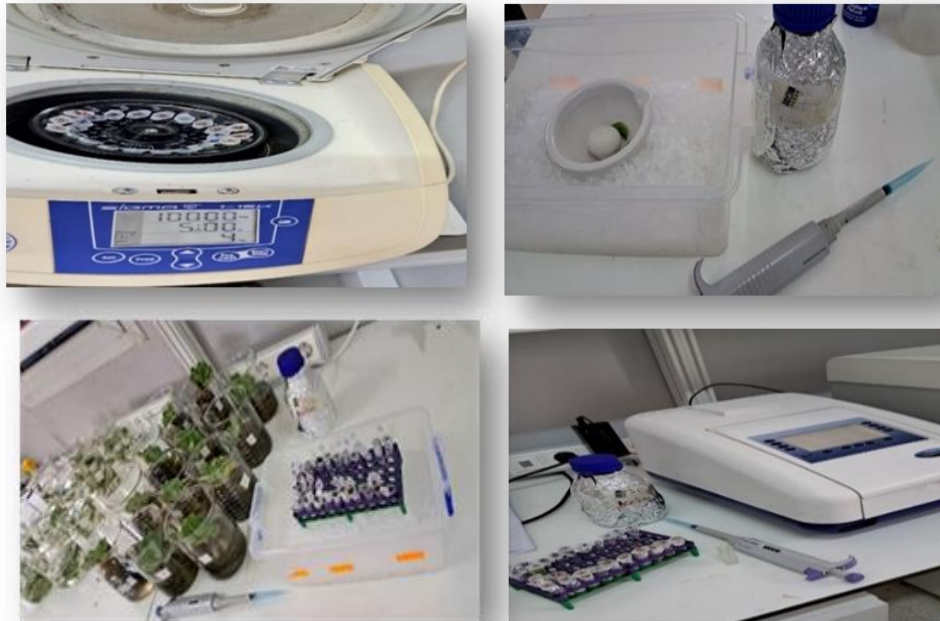


Figure N°15 : Photographie des différentes étapes d'extraction des pigments photosynthétiques (**Photo personnelle**).

II.7 Extraction, détermination et analyse de la concentration des microcystines

II.7.1 Détection et quantification des microcystines dans les tissus végétaux

La détection et la quantification des microcystines dans les tissus des macrophytes ont été réalisées en suivant la méthode décrite par **Ceo et al. (2019)**, avec quelques modifications mineures adaptées au contexte expérimental. L'objectif était d'évaluer la bioaccumulation de ces toxines cyanobactériennes au sein des cellules végétales exposées.



Principe de la méthode

○ Pour ce faire, 0,1 g de tissu végétal frais, prélevé de manière homogène sur l'ensemble de la plante afin de garantir une représentativité des échantillons, a été soigneusement broyé à l'aide d'un mortier en présence de 2 mL de méthanol aqueux à 70 % (v/v). Cette solution d'extraction permet de solubiliser efficacement les microcystines tout en préservant leur stabilité. L'homogénat obtenu a ensuite été soumis à un traitement par ultrasons pendant 5 minutes, une étape cruciale visant à favoriser la rupture des cellules végétales et la libération complète des toxines intracellulaires.

○ La solution a ensuite été centrifugée à $12\,000 \times g$ pendant 15 minutes à 4 °C, afin d'éliminer les débris cellulaires. Le surnageant ainsi obtenu a été homogénéisé jusqu'à atteindre un volume final de 15 mL en ajoutant du méthanol aqueux à 70 % (v/v). Cette phase d'homogénéisation permet de maximiser l'extraction des microcystines solubles.

○ L'extrait a ensuite été soumis à une étape de purification par passage sur une cartouche de phase solide **C18 de type Bakerbond SPD (J.T. Baker, capacité 3 mL – 200 mg, taille des particules 45 µm)**, préalablement pré-conditionnée avec du méthanol pur puis conditionnée avec de l'eau distillée. Cette technique de purification sur phase solide (SPE) vise à concentrer les microcystines tout en éliminant les impuretés organiques et les composés interférents.

○ Les microcystines adsorbées sur la cartouche ont été éluées à l'aide de 20 % de méthanol. L'éluat a ensuite été acidifié par addition de 3 mL de méthanol contenant 0,1 % d'acide trifluoroacétique (TFA), un solvant acide couramment utilisé pour favoriser la solubilité des peptides cycliques tels que les microcystines.

○ La solution a été ensuite évaporée à 40 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif (Rotavapor) jusqu'à obtention d'un résidu sec. Ce résidu a été repris dans 1 mL de méthanol à 50 % (v/v) et transféré dans un tube Eppendorf. L'échantillon ainsi préparé a été conservé à -80 °C jusqu'à leur analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC), une technique analytique permettant une séparation et une quantification précises des différentes variantes de microcystines.

a. Calcul du taux de bioaccumulation dans les tissus végétaux

La concentration en microcystines dans les tissus végétaux a été estimée au cours du jour de l'exposition, afin de suivre la bioaccumulation des toxines dans les macrophytes au cours du temps. Le taux de bioaccumulation (BA) a été déterminé selon l'équation suivante :

$$BA = (C_t - C_0)/t$$



C_t : la concentration de microcystines dans les tissus des macrophytes à un instant donné *t*.

C₀ : la concentration de microcystines présente initialement dans les tissus des macrophytes.

t : Le nombre de jours écoulés entre la première et la dernière mesure.

Cette méthode permet de déterminer la capacité des macrophytes à bioaccumuler des concentrations de la microcystine au fil du temps. Elle permet non seulement de déterminer la dynamique de la bioaccumulation, mais aussi de comparer de manière directe l'aptitude de différents macrophytes à accumuler dans leurs tissus et éliminer les microcystines présentes dans l'eau.



Figure N°16 : Photographie des différentes étapes d'extraction et analyse de la microcystine (Photo personnelle).



II.7.2 Détection et quantification des microcystines dans l'eau

Pour suivre l'évolution des concentrations de microcystines présentes dans l'eau durant les jours d'exposition, une analyse quantitative précise a été menée. Cette analyse repose sur la chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Pour chaque groupe, un volume de 15 mL d'eau a été prélevé et soumis à une étape de préconcentration sur phase solide, à l'aide d'une cartouche C18 de type Bakerbond SPD (**J.T. Baker, 3 mL – 200 mg**).

↳ Principe de la méthode

- La cartouche a d'abord été conditionnée avec 5 mL de méthanol pur (100 %), suivis de 5 mL d'eau distillée.
- L'échantillon d'eau a ensuite été percolé lentement à travers la cartouche, permettant l'adsorption des microcystines grâce aux interactions hydrophobes de la cartouche C18.
- Par la suite, la cartouche a été rincée avec 5 mL de méthanol à 20 % suivi par un séchage de la phase a été effectué par aspiration d'air pendant 5 minutes.
- La microcystine retenue sur la cartouche C18 a été récupérée par élution avec 3 mL de méthanol acidifié par ajout de 0,1 % d'acide trifluoroacétique (TFA).
- L'éluant obtenu a été collecté dans un ballon conique, puis concentré par évaporation du solvant organique à 40 °C à l'aide d'un rotavapor.
- Le résidu sec a été récupéré dans 1 mL de méthanol à 50 % (v/v) et conservé dans un tube Eppendorf pour l'analyse chromatographique par HPLC.

II.8 Dosage des biomarqueurs

II.8.1 Dosage du glutathion (GSH)

Le dosage du glutathion a été effectué par la méthode décrite par **Weckbecker et Cory (1988)** qui s'appuie sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique, produit de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements thiol (-SH) du glutathion. Pour cela une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable pour conserver seulement les groupements thiol spécifiques du glutathion.



↳ Préparation de l'homogénat

Le dosage du glutathion a été déterminé sur les tissus de chaque macrophyte prélevé dans les quatre groupes du traitement soumis à différentes concentrations de microcystine. Pour chaque échantillon, 100 mg de tissu végétaux ont été homogénéisés à froid (4 °C) en utilisant 1 ml d'une solution d'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA) à 0,02 M, à l'aide d'un broyeur à ultrasons, afin d'obtenir un homogénat.

↳ Technique du dosage

- Prélever 0,8 ml de l'homogénat.
- Déprotéiniser en ajoutant 0,2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) 0,25 %.
- Agiter le mélange, puis le placer et le laisser dans un bain de glace pendant 15 minutes.
- Centrifuger à 1 000 tr/min pendant 5 minutes.
- Prélever 0,5 ml du surnageant.
- Ajouter 1 ml d'un tampon Tris-EDTA (EDTA à 0,02 M, pH 9,6).
- Mélanger, puis ajouter 0,025 ml de DTNB à 0,01 M (dissous dans du méthanol absolu).
- Laisser pendant 5 minutes à une température ambiante pour l'objectifs de permettre la stabilisation immédiate de la coloration qui se développée instantanément.
- Mesurer la densité optique à 412 nm par rapport au blanc.
- La concentration en glutathion est déterminée à l'aide de la courbe d'étalonnage correspondante (Figure N°18).

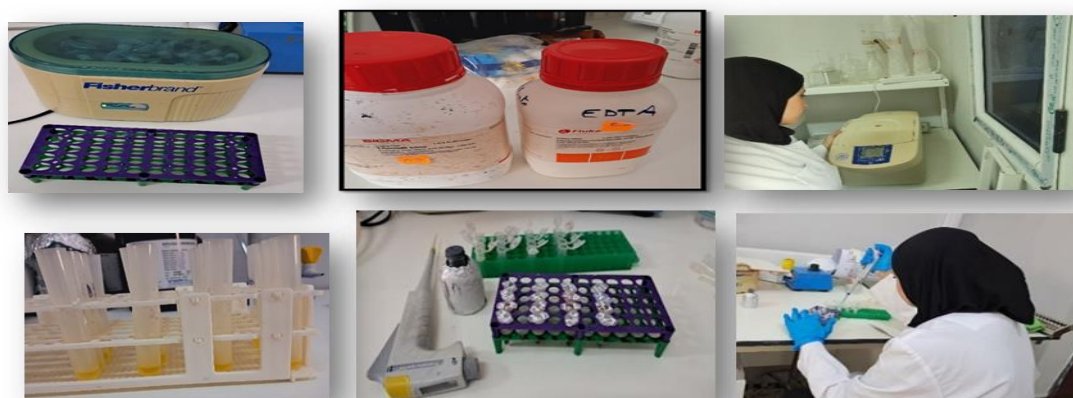


Figure N°17 : Photographie des techniques du dosage du glutathion (GSH) (Photo personnelle).

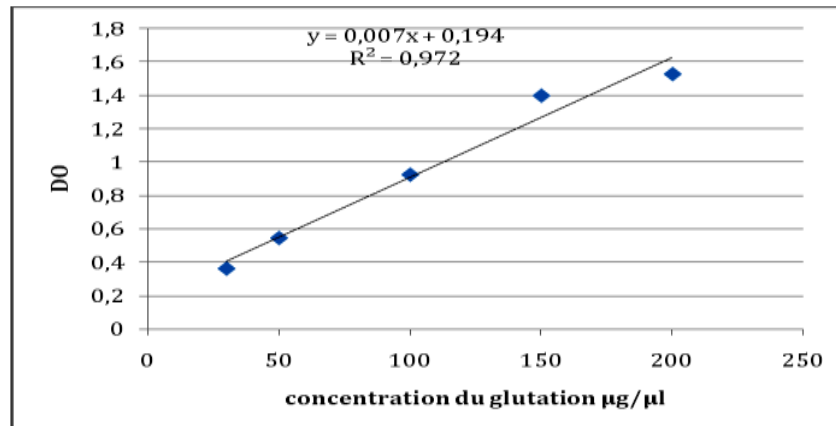


Figure N°18 : Courbe d'étalonnage du glutathion.

II.8.2 Dosage de l'activité du glutathion-S-transférase (GST)

Le dosage de l'activité du glutathion-S-transférase (GST) a été mesuré selon la méthode décrite réalisée par la méthode de **Habig et al. (1974)**, Cette méthode consiste à fournir à l'enzyme un substrat en général du 1-chloro,2,4-dinitrobenzène (CDNB), Ce qui se conjugue facilement avec le glutathion sous l'action de plusieurs formes des GSTs. Cette réaction enzymatique produit une nouvelle molécule qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde.

↳ Préparation de l'homogénat

Le dosage de la glutathion S-transférase a été déterminé au niveau des tissus végétaux. Pour chaque échantillon, 100 mg de tissu végétaux ont été homogénéisés avec 1 ml d'une solution de Tris Hcl à 10mM, pH 7.4, ensuite ont été broyés à froid (4 °C) en utilisant un broyeur ultra son et enfin centrifugés à 10 000g pendant 10min à 4°C.

↳ Technique du dosage

- Prélever 50 µL de l'homogénat.
- Ajouter 1.05 ml du tampon tris 100 mM (pH 7.4).
- Incorporer 50 µl de CDNB (1-chloro-2,4-dinitrobenzène) à une concentration finale de 1 mM.
- Homogénéiser le mélange bien.
- L'activité enzymatique a été mesurée en surveillant les changements d'absorbance à 340 nm pendant une durée de deux minutes.



- Le taux du GST est déterminé avec le coefficient d'absorbance $\epsilon = 9.6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

II.8.3 Dosage du superoxyde dismutase

Le dosage du superoxyde dismutase a été réalisé selon la méthode de **Marklund et Marklund (1974)**, cette méthode repose sur la capacité de la SOD à inhiber l'autoxydation du pyrogallol en présence d'EDTA. Le dosage a été réalisé dans un volume final de 1 mL.

↪ Technique du dosage

- Mélanger 850 μL de tampon Tris-HCl (50 mM, pH 8,2) avec 20 μL d'échantillon.
- Ajouter 100 μL d'EDTA et 50 μL de pyrogallol (2,5 mM, préparé dans une solution de HCl 10 mM).
- Homogénéiser le mélange bien.
- Le changement de l'absorbance a été déterminé à 420 nm chaque minute pendant 5 minutes.
- L'activité enzymatique a été exprimée en unités par milligramme de protéine.



Figure N° 19 : Photographie du dosage du superoxyde dismutase (Photo personnelle).



II.8.4 Dosage du la peroxydation lipidique (TBARS)

La peroxydation lipidique (LPO) a été évaluée en déterminant les substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS), selon la méthode décrite par **Fatima et al. (2000)**. Cette méthode a été déterminé dans les tissus de macrophytes exposés aux toxines ainsi que dans les groupes témoins.

↳ Technique du dosage

- Incuber 1,0 ml d'homogénat pendant 1 heure à 37 °C sous agitation constante.
- Ajouter 1,0 ml d'acide trichloroacétique (TCA) à 5 % et 1,0 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) à 0,67 % à chaque échantillon.
- Homogénéiser soigneusement le mélange.
- Centrifuger à 3000 tr/min pendant 10 minutes.
- Transférer le surnageant obtenu dans un bain-marie bouillant pendant 40 minutes.
- Refroidir à température.
- Mesurer l'absorbance à 532 nm. ambiante Le taux de peroxydation lipidique est exprimé en nanomoles de substances réactives au TBA formées par heure et par milligramme de protéines (nmol TBA/(mg prot)).



Figure N°20 : Photographie du dosage de la peroxydation lipidique (TBARS) (**Photo personnelle**).

II.8.5 Dosage des protéines

La concentration de protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)** qui utilise le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amine ($-NH_2$) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines.

↳ Technique du dosage

- Prélever 0.1 ml de l'homogénat
- Ajouter 5 ml du réactif de Bradford
- Agiter et laisser reposer 5 min
- Lire la densité optique à 595 nm, contre le blanc
- Calcul de la concentration des protéines : la densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée.
- La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1 mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions.

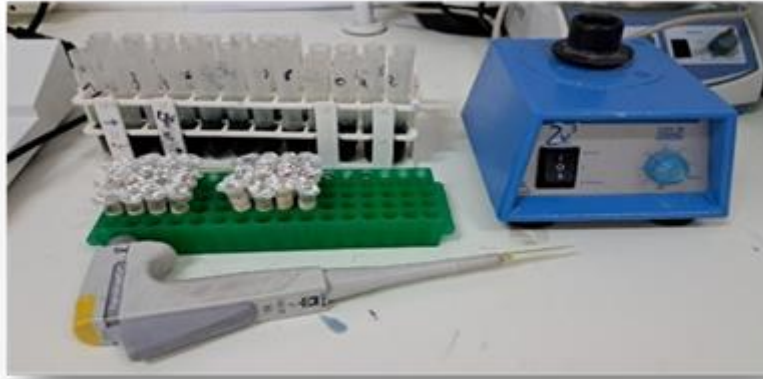


Figure N° 21 : Photographie du dosage des protéines (Photo personnelle).

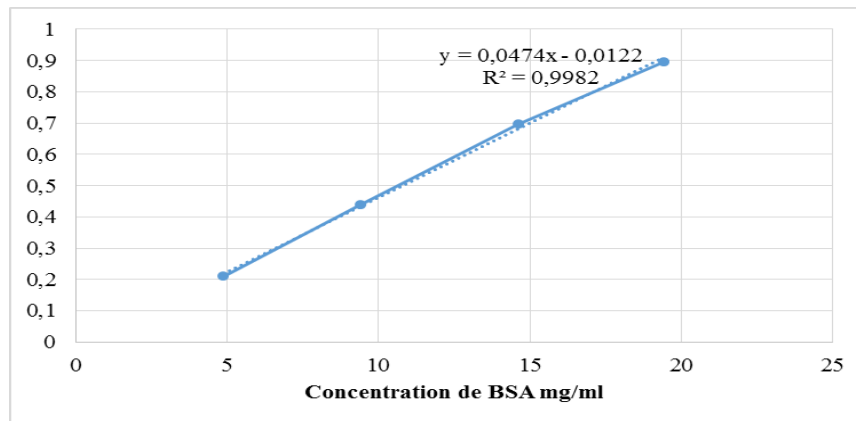


Figure N° 22 : Courbe D'étalonnage Des Protéines.



II.9 Analyse statistique

Un ensemble complet d'outils statistiques a été mobilisé afin d'assurer un traitement et une interprétation rigoureux des données. Avant toute analyse comparative, la normalité de la distribution des variables quantitatives a été vérifiée à l'aide du test de Shapiro-Wilk, particulièrement adapté et sensible pour des échantillons de petite ou moyenne taille. Lorsque les variables présentaient une distribution normale, elles ont été décrites sous forme de moyenne $\pm$ erreur standard (SE), permettant de rendre compte à la fois de la tendance centrale et de la précision de l'estimation.

Pour comparer les moyennes entre les différents groupes étudiés, une analyse de variance à un facteur (one-way ANOVA) a été appliquée. Cette méthode permet d'évaluer l'existence d'une différence globale entre groupes. En cas d'effet significatif mis en évidence par l'ANOVA, des tests post hoc ont été réalisés afin d'identifier précisément quelles paires de groupes différaient. Le test de Tukey a été retenu pour ces comparaisons multiples en raison de sa capacité à contrôler efficacement l'erreur de type I tout en préservant une bonne puissance statistique.

Les relations entre variables quantitatives normalement distribuées ont été analysées à l'aide du coefficient de corrélation de Pearson, permettant d'évaluer la force et la direction des relations linéaires entre deux variables continues.

Dans l'ensemble des analyses, le seuil de signification statistique a été fixé à $P < 0,05$ pour indiquer une différence significative, et à $P < 0,01$ pour une différence hautement significative. Ces seuils assurent une interprétation rigoureuse des résultats tout en limitant le risque d'erreurs dans les conclusions.



Chapitre3

Résultats et interprétation



III Résultats et Interprétation

III.1 Échantillons de prolifération de cyanobactéries

Les variantes de microcystines ont été identifiées dans l'extrait par chromatographie liquide à ultra haute performance-spectrométrie de masse en tandem (UHPLC-MS/MS) en utilisant un système Waters Acquity UPLC couplé à un spectromètre de masse triple quadripôle (TQD, Waters, France) via une interface électrospray. La teneur totale en microcystines par biomasse phytoplanctonique a été estimée par rapport à la quantité de variante MC-LR la plus toxique, et était de 0,062 mg d'équivalents MC-LR/g de matière sèche de bloom, avec 21 variantes potentielles de microcystines, parmi lesquelles certaines variantes étaient déjà largement rapportées dans la littérature : MC-RR (43,4 % du total), MC-LR (13,1 %), MC-FR (9,4 %), MC-YR (5,4 %) et MC-WR (7,4 %) (Namikoshi et al., 1992 ; Yuan et al., 1999 ; Zweigenbaum et al., 2000 ; Okello et al., 2010 ; Miles et al., 2013, 2014 ; Puddick et al., 2014).

III.2 Variation des paramètres physiques durant la période d'exposition chez *Pistia Stratiotes*

III.2.1 La Température

L'analyse de la **Figure 23** montre que la température de l'eau représente une fluctuation était notée dans les bacs du *Pistia stratiotes*, entre le groupe témoin et les 03 traités par l'extrait toxique de *Microcystis* sp. la température était entre 24 et 25 °C tout le long du 15 jours d'exposition. Une exception était observée dans les béciers de la 3ème dose où la température a atteint 28 °C le dernier jour d'étude.

L'analyse statistique réalisée à l'aide d'une ANOVA, complétée par un test post-hoc de Tukey, a indiqué une différence significative entre les groupes ($p < 0,05$). Cela suggère que les variations de température marquées, en particulier celle enregistrée dans les béciers de la 3ème dose, sont statistiquement significatives et peuvent être attribuées à l'influence de l'extrait toxique de *Microcystis* sp.

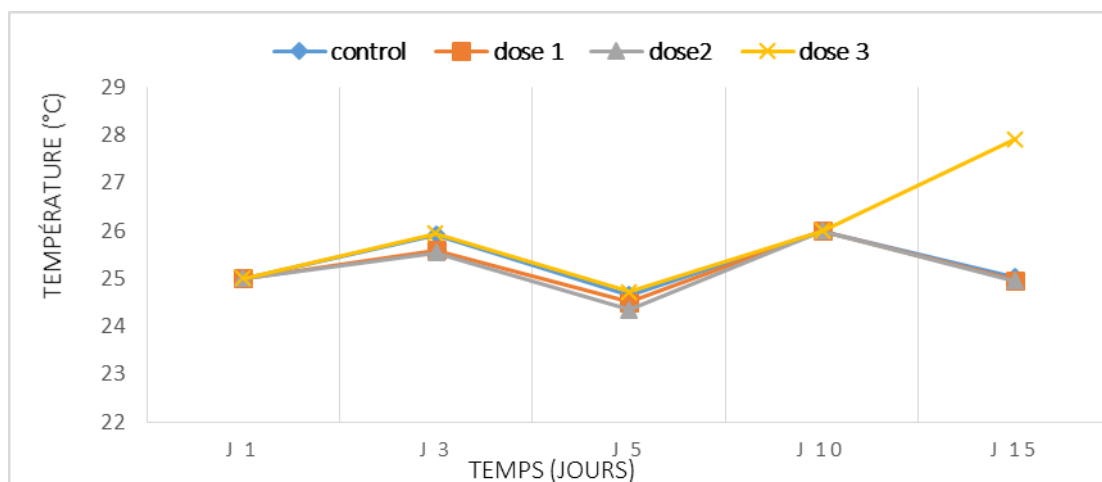


Figure N°23: La variation de la température durant la période d'exposition dans les bâteaux du *Pistia stratiotes*.

III.2.2 Le potentiel hydrogène« PH »

La Figure. N° 24 représente la variation du pH durant la période d'exposition dans les bâteaux du *Pistia stratiotes*. Un pH neutre était détecté durant les 15 jours d'exposition, et varié entre 6,8 et 7,7.

L'analyse statistique des variations du pH en fonction des différentes doses appliquées a montré des différences significatives. Les tests ont donné des valeurs p ; $p = 0,000$ (à deux reprises) et $p = 0,041$, toutes inférieures au seuil classique de signification statistique ($p < 0,05$).

Ces résultats indiquent que les doses de toxine influencent de manière significative le pH de l'eau durant la période d'exposition. En particulier, les valeurs $p = 0,000$ traduisent une différence extrêmement significative entre certains groupes, tandis que la valeur $p = 0,041$ révèle une différence significative, quoique moins prononcée, entre d'autres conditions.

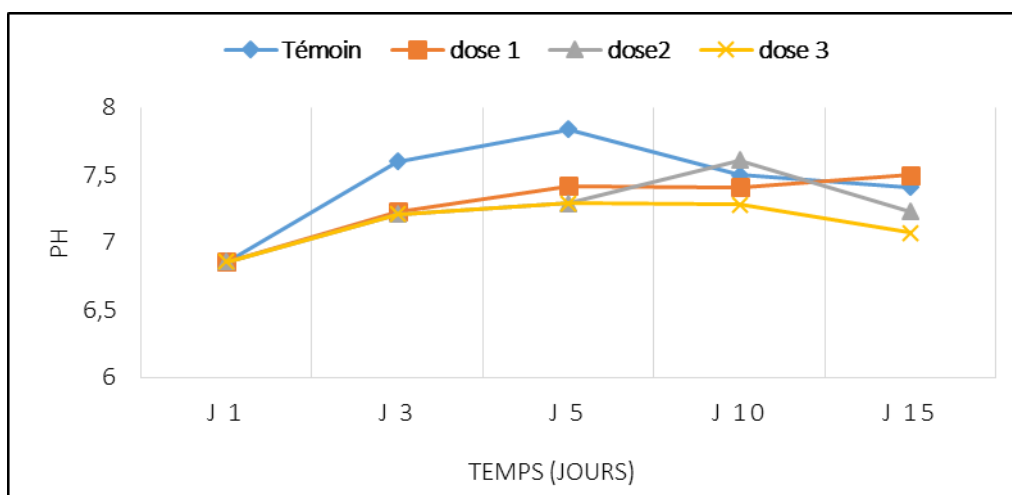


Figure N° 24 : La variation du pH durant la période d'exposition dans les béciers du *Pistia stratiotes*.

III.2.3 L'oxygène dissous

La Figure. N°25 montre la variation de l'oxygène dissous durant la période d'exposition dans les béciers du *Pistia stratiotes*. Une fluctuation entre 8 mg/ml et 12 mg/ml était identifiée durant les 15 jours de traitement dans les 04 béciers de *Pistia stratiotes*, et cela indique une bonne aération pour les spécimens pendant la période d'étude.

L'analyse statistique effectuée par ANOVA, suivie du test post-hoc de Tukey, a permis d'évaluer l'influence du temps d'exposition et les trois doses de l'extrait toxique de *Microcystis sp* sur l'oxygène dissous. Le facteur *jour* montre une différence hautement significative ($p = 0,000$), indiquant que la concentration en oxygène dissous varie de manière marquée au cours du temps. En revanche, aucune différence significative n'a été relevée pour le facteur dose ($p = 0,100 > 0,05$), ce qui montre que les différentes concentrations de toxine n'ont pas exercé un effet notable sur ce paramètre.

Ainsi, bien que l'oxygène dissous fluctue significativement au cours des jours d'exposition, les trois doses appliquées n'ont pas modifié de façon statistiquement significative. Le milieu est demeuré globalement bien oxygéné, offrant un environnement stable pour *Pistia stratiotes*.

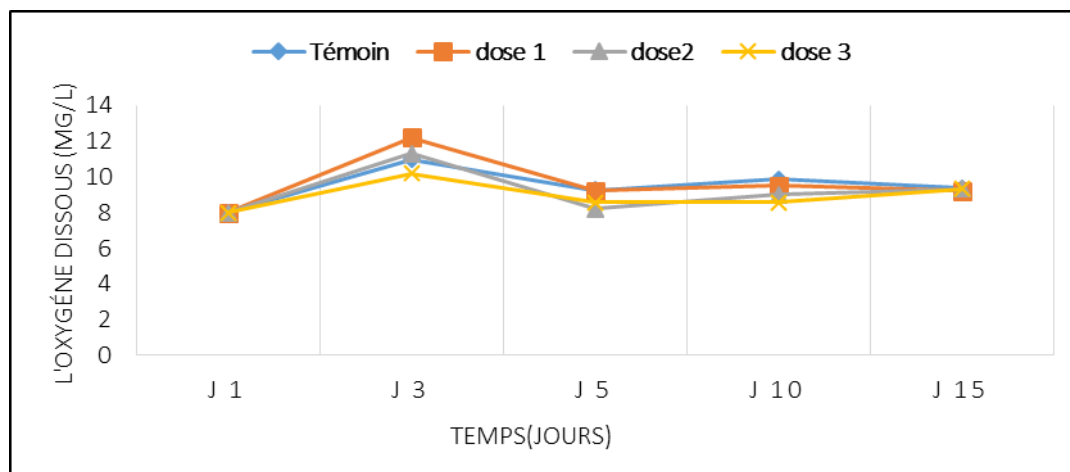


Figure N° 25 : La variation de la concentration de l'oxygène dissous durant la période d'exposition dans les bédiers du *Pistia stratiotes*.

III.2.4 Total des solides dissous

La TDS (Total Dissolved Solids) représente la quantité totale d'ions mobiles chargés dans les eaux ; y compris les minéraux, les sels et les métaux dissous. Cette quantité est exprimée en mg/l. Le taux des TDS dans les bacs d'élevage du *Pistia stratiotes* était varié entre 0.202 mg/l dans le jour 0 (début d'exposition et avant l'exposition) et 0.522 mg/l dans le 15^{ème} jour (fin d'expérience). La plus haute valeur était 0.836 mg/l en 10^{ème} jour dans l'eau de culture du *Pistia* traitée par 2.5 µg/l d'extrait toxique de *Microcystis* sp.

L'analyse statistique montrée une variation significative de la TDS en fonction du facteur *jour* ($p = 0,039$), traduisant une évolution mesurable de ce paramètre au cours de la période d'exposition. En revanche, le facteur *dose* ne présente pas d'effet significatif sur la TDS ($p = 0,094 > 0,05$), indiquant que les trois différentes concentrations de toxine appliquées n'ont pas entraîné de modification notable de ce paramètre physicochimique.

Ces résultats sont importants car ils révèlent que les changements observés dans la TDS sont principalement dus à l'évolution temporelle, plutôt qu'à l'effet des différentes doses de toxine appliquées.

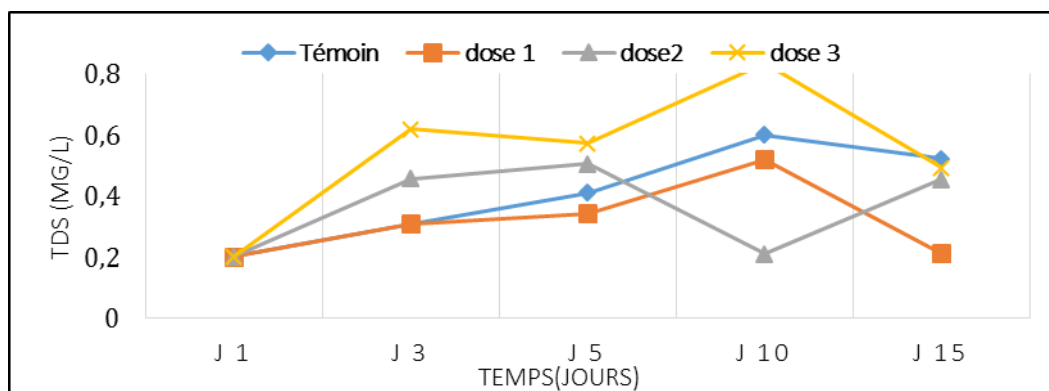


Figure N° 26 : La variation de la concentration des TDS durant la période d'exposition dans les bacs du *Pistia stratiotes*.

III.2.5 La salinité

Une stabilité remarquable de la salinité durant les 15 jours de traitement. La figure N°27 indique que le quatrième groupe (Dose 3), en jour 10, le taux de la salinité était 0.7 mg/l mais elle a diminué au 0.4 mg/l comme tous les autres groupes.

L'analyse statistique révèle une variation significative de la salinité au cours des jours d'expositions ($p = 0,011$). En revanche, aucune différence significative n'a été marquée selon le facteur dose ($p = 0,071 > 0,05$), suggérant que les différentes doses n'ont pas eu d'effet notable sur la salinité.

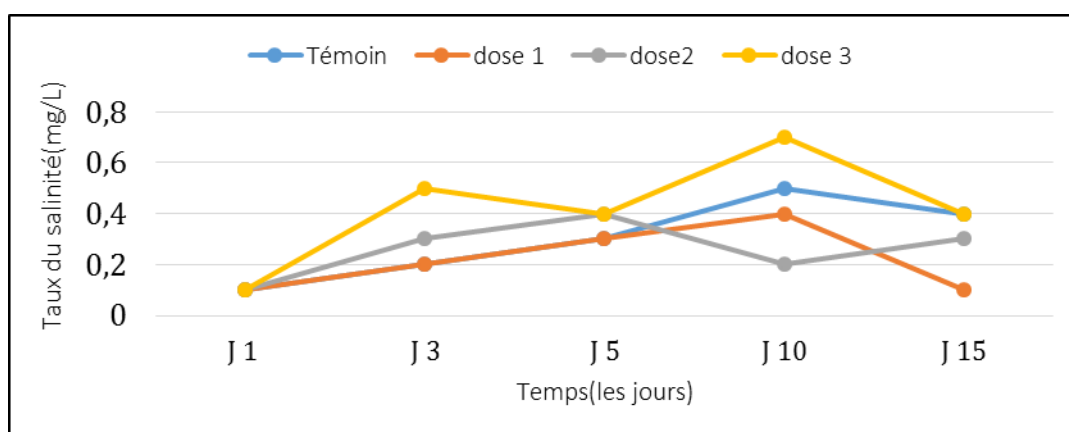


Figure N° 27 : La variation de la salinité durant la période d'exposition dans les bacs du *Pistia stratiotes*.



III.2.6 La turbidité

La Figure N°28 présente la variation de la turbidité durant la période d'exposition dans les béciers du *Pistia stratiotes*. Une diminution remarquable du taux de turbidité durant les 15 jours de l'expérience, allant de 40.32 jusqu'au 36.7, avec des pics jusqu'au 48.5 mais juste pour le témoin, indiquant le pouvoir de notre plante à purifier l'eau et minimiser sa turbidité.

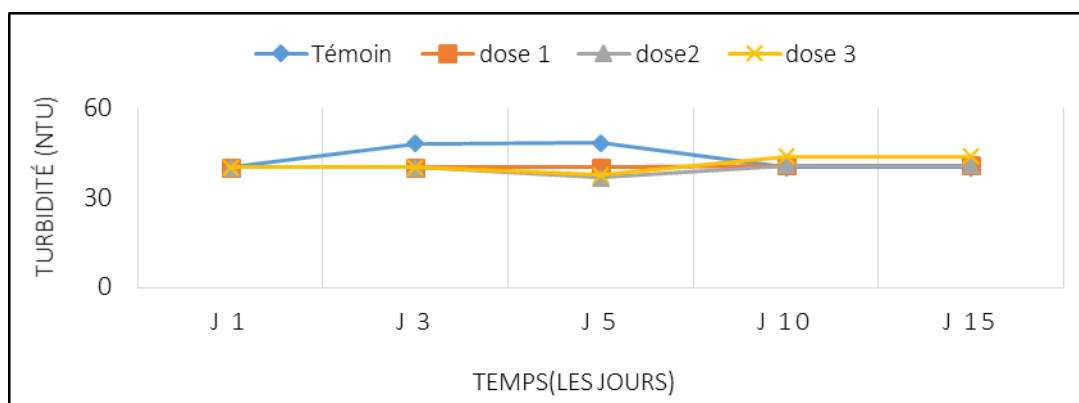


Figure N° 28 : Variation de la turbidité durant la période d'exposition dans les béciers du *Pistia Stratiotes*.

III.2.7 La conductivité

Une progression temporelle de la conductivité, allant de 0.312 au début d'étude jusqu'au 1.31 en 10^{ème} jour d'exposition, était notée dans les béciers de *Pistia* (Figure. N° 29), alors que l'expetion était les bacs de la deuxième dose de MCs, la conductivité était régressée du 0.714 ms/cm en 3^{ème} jours au 0.309 ms/cm en 15^{ème} jours .

Les résultats de l'analyse ANOVA confirment que le facteur jour a un effet hautement significatif sur la conductivité ($p = 0,000$), démontrant que la conductivité varie de manière importante au cours du temps. De plus, le facteur dose influence également de façon significative la conductivité ($p = 0,037$), indiquant que les différentes concentrations de toxine appliquées ont un impact mesurable sur ce paramètre.

L'analyse post-hoc de Tukey permet de préciser que les différences les plus marquées se situent entre certains jours spécifiques d'exposition ainsi qu'entre certaines doses, notamment la dose 2, qui présente une tendance à la diminution progressive de la conductivité, contrairement à la tendance générale à l'augmentation observée chez les autres groupes.

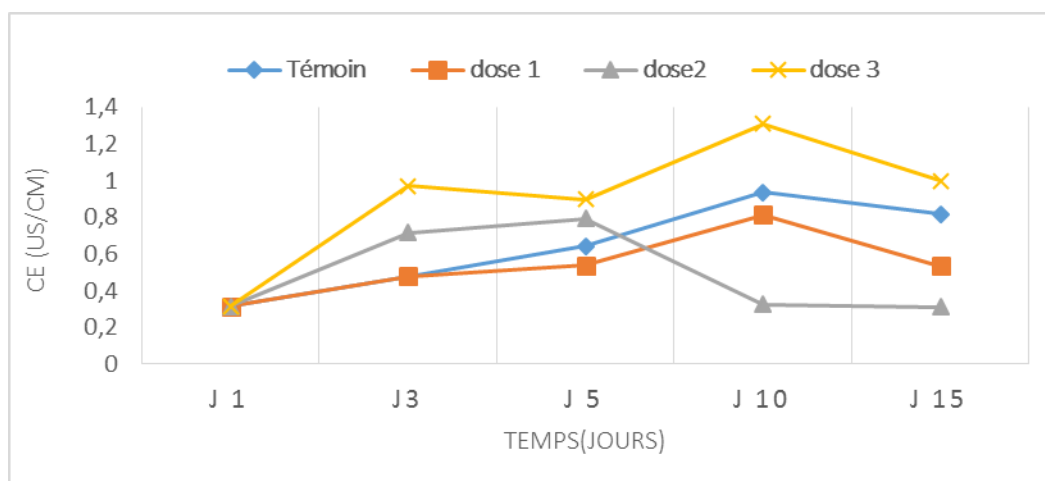


Figure N° 29: Variation de la conductivité durant la période d'exposition dans les béciers du *Pistia stratiotes*.

III.3 Variation des paramètres physicochimiques durant la période d'exposition chez *ceratophyllum demersum*

III.3.1 La Température

Dans les bacs du *ceratophyllum demersum* et pendant 15 jours, La température de l'eau de culture était stable et varient entre 24 et 25 °C. les résultats sont détaillés dans la Figure. N°30.

L'étude statistique confirme l'absence d'un effet significatif de la dose d'extrait de *Microcystis sp.* sur cette variable ($p = 0,912$), ce qui montre que les différentes concentrations appliquées n'ont pas modifié les conditions thermiques du milieu. En revanche, le facteur « temps » présente une influence significative ($p = 0,000$), indiquant que de faibles variations naturelles de température se produisent au fil des jours. Malgré cette significativité statistique, l'amplitude des variations reste très limitée, ce qui confirme que la température est demeurée contrôlée et n'a pas constitué un facteur perturbateur pour l'interprétation des autres paramètres étudiés.

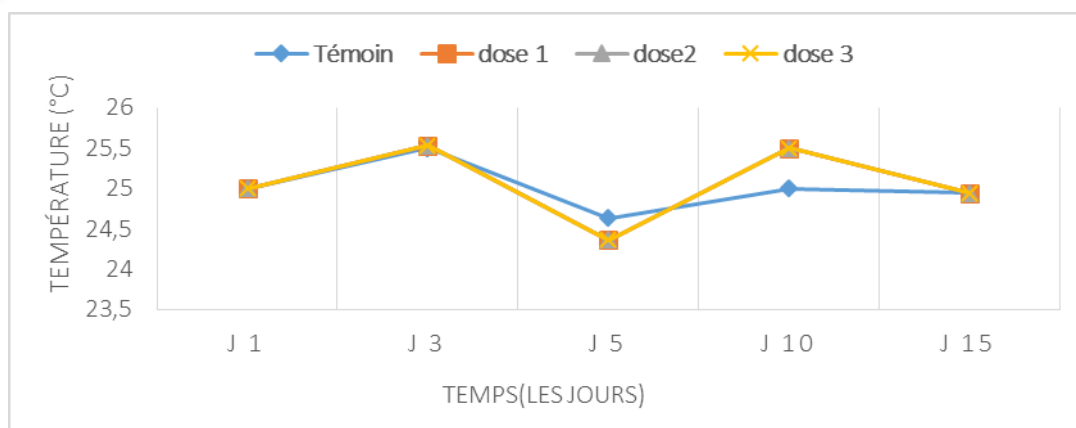


Figure N°30: Variation de la température dans les bécchs du *Ceratophyllum demersum* durant la periode d'exposition.

III.3.2 Le potentiel hydrogène« PH »

Un PH neutre de 7.13 à 7.55 était montionné par le multiparamètre utilisé durant les 15 jours de culture et d'exposition de *Ceratophyllum*, signifiant la bonne qualité de l'eau de source utilisé dans notre étude. L'étude statistique montre que la dose n'a pas eu d'effet significatif sur le pH ($p = 0,178$), tandis que le facteur temps a exercé une influence significative ($p = 0,000$), reflétant des variations naturelles du pH au cours de l'expérimentation.

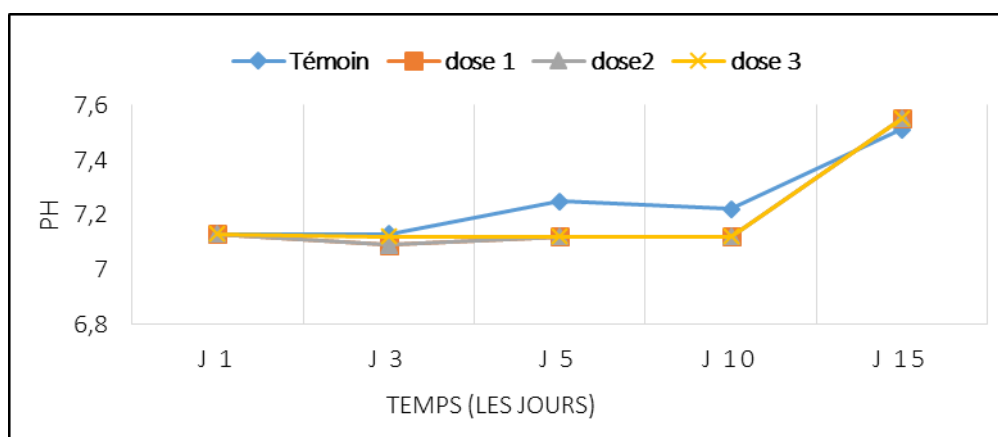


Figure N° 31: Variation du pH durant la période d'exposition dans les bécchs du *ceratophyllum demersum*.



III.3.3 L'oxygène dissous

La Figure N°32 montre la variation de l'oxygène dissous durant la période d'exposition dans les béciers du *Ceratophyllum demersum*. La concentration de l'oxygène dissout du départ en premier jour était 10.32 mg/l, ensuite on a signalé une diminution légère jusqu'au 8.39 mg/l à la fin de traitement.

L'étude statistique révèle que la dose appliquée n'a pas eu d'effet significatif sur la concentration en oxygène dissous ($p = 0,059$), tandis que le facteur temps a eu une influence significative ($p = 0,000$), reflétant une diminution progressive de l'oxygène dissous au fil des jours d'exposition.

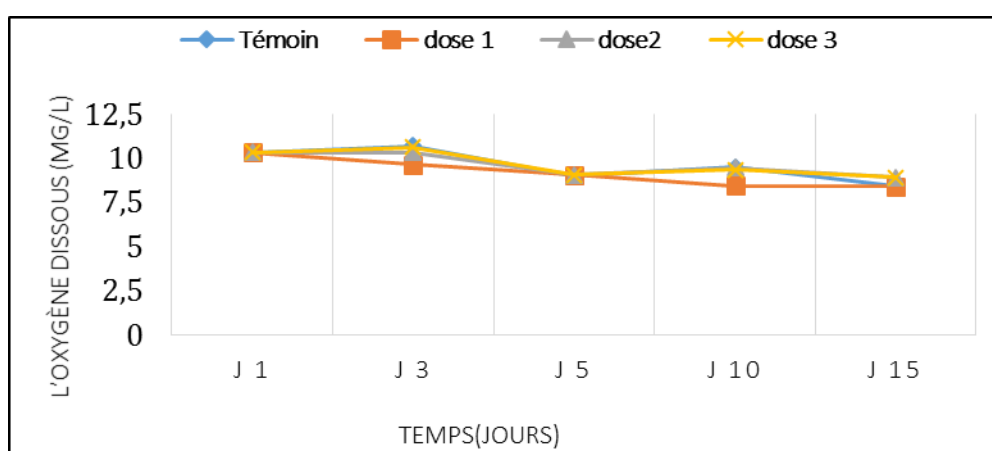


Figure N° 32: Variation de l'oxygène dissous durant la période d'exposition dans les béciers du *Ceratophyllum demersum*.

III.3.4 Total des solides dissous

Une stabilité du TDS le long de la période d'étude qui était de l'ordre 0.202 NTU en premier jour jusqu'au 0.2 NTU à la fin de la période d'exposition. Une diminution légère le 5^{ème} jour jusqu'au 0.189 NTU mais juste pour les 03 groupes exposés.

L'analyse statistique par ANOVA montre que le modèle est globalement significatif, indiquant que l'un des facteurs étudiés influence le TDS au cours de l'expérience. Les résultats révèlent que la dose d'extrait n'a pas d'effet significatif sur ce paramètre ($p = 0,174$), ce qui confirme la stabilité du TDS entre les différents groupes exposés. En revanche, le facteur temps présente une influence hautement significative ($p < 0,001$), traduisant une légère variation du TDS au cours des 15 jours, notamment autour du cinquième jour. Toutefois, les différences mises en évidence par le test de Tukey restent faibles et n'altèrent pas la tendance générale de stabilité du TDS durant toute la période d'exposition.

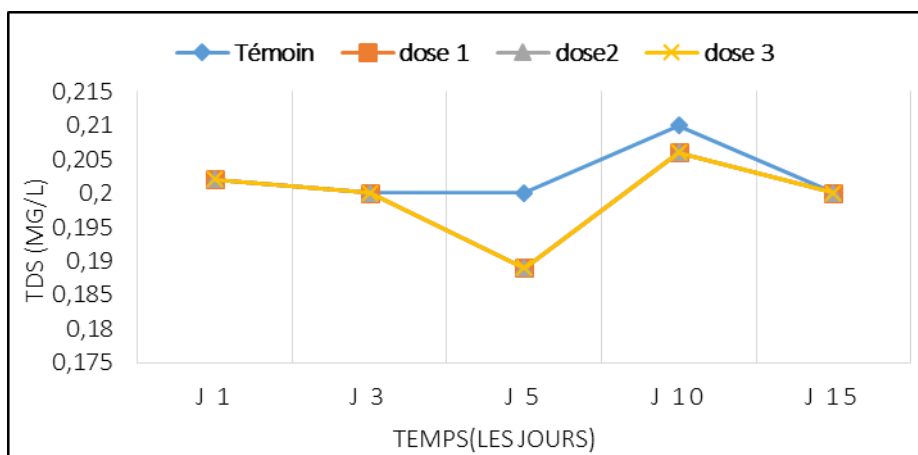


Figure N° 33: Variation du TDS durant la période d'exposition dans les bécchers du *Ceratophyllum demersum*.

III.3.5 La salinité

Après 15 jours de traitement par l'extrait toxique de *Microcystis* sp., une stabilité de la concentration des sels dans le l'eau d'élevage du *Ceratophyllum* de l'ordre de 0.1 à 0.2 PPM, alors que les bacs témoins ont présenté une augmentation légère de salinité jusqu'au 0.3 PPM à la fin de traitement.

L'étude statistique montre qu'une analyse de variance (ANOVA), suivie d'un test de Tukey, a révélé que l'augmentation de la salinité observée dans les bécchers témoins est statistiquement significative ($p < 0,05$), contrairement aux bécchers exposés aux trois doses de l'extrait de μ , où les variations de salinité ne sont pas significatives ($p > 0,05$). Ces résultats indiquent que l'extrait toxique contribue à maintenir la salinité stable en limitant son augmentation naturelle observée dans les conditions témoins.

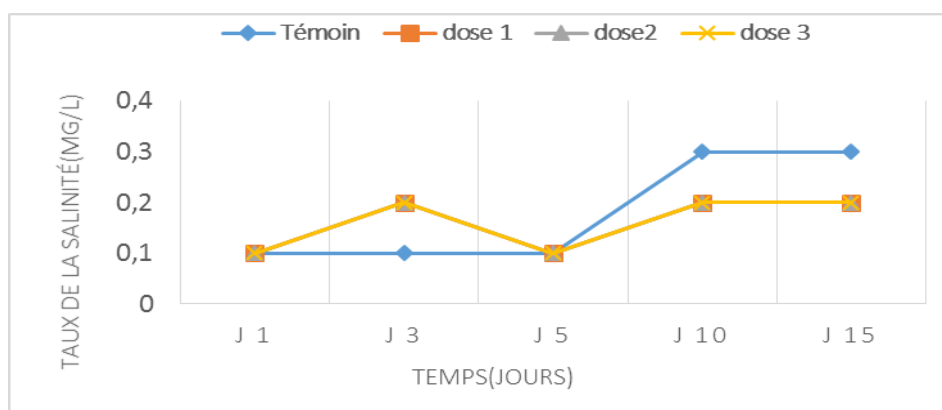


Figure N° 34 : Variation de la salinité durant la période d'exposition dans les béciers du *Ceratophyllum demersum*

III.3.6 La turbidité

La Figure. N°35 montre la variation du taux de la turbidité au cours de la période d'exposition dans les béciers contenant du *Ceratophyllum demersum*. Une diminution de la turbidité était observée dans les trois groupes traités au cours des cinq premiers jours d'exposition allant de 54.3 au 41.7. En revanche, une augmentation de la turbidité était notée à la fin d'exposition dont le taux était 68 comme valeur maximale chez le 04^{ème} groupe traités par 5µg/l de bloom.

Selon l'étude statistique, la variation de la turbidité en fonction de la dose n'est pas significative ($p = 0,435$), tandis que la variation liée au temps est hautement significative ($p = 0,000$). Cela suggère que l'évolution de la turbidité dépend principalement de la durée d'exposition plutôt que de la dose du traitement.

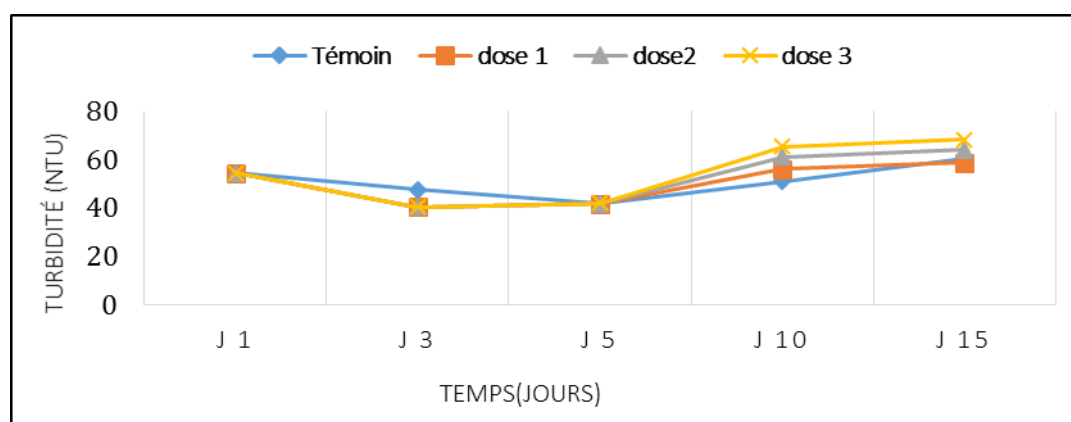


Figure N° 35: Variation de la turbidité durant la période d'exposition dans les béciers du *Ceratophyllum demersum*.



III.3.7 La conductivité

La variation de la conductivité durant la période d'exposition dans les bacs du *Ceratophyllum demersum* est illustrée dans la Figure. N°36, dont une similarité de valeurs était mentionnée par le multiparamètre. Une régression de la conductivité était remarquée en comparant sa valeur au début de l'expérience qui était 0.312 et à la fin d'étude (après 15 jours) qui était de l'ordre de 0.168.

L'étude statistique montre que la dose n'a pas eu d'effet significatif sur la conductivité ($p = 0,094$), tandis que le facteur temps a exercé une influence significative ($p = 0,000$), traduisant une régression progressive de la conductivité au cours de l'expérimentation.

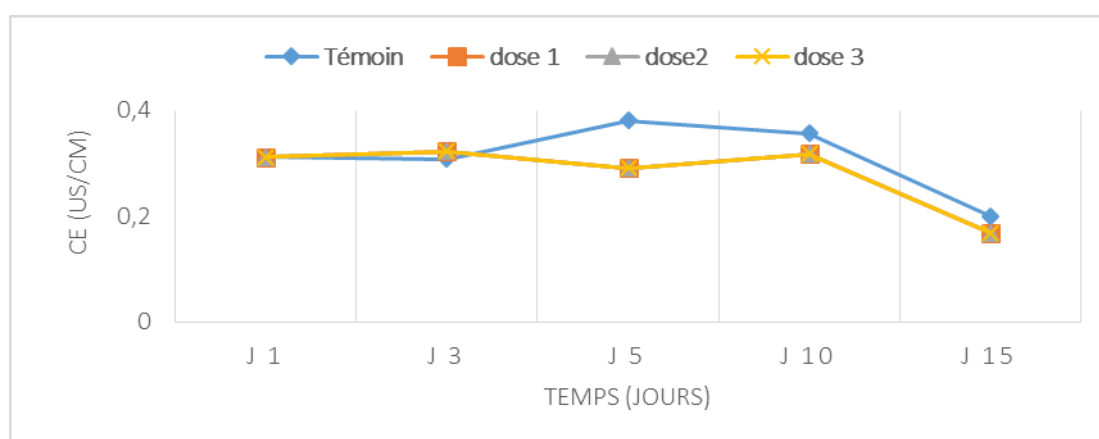


Figure N° 36: Variation de la Conductivité durant la période d'exposition dans les bâteaux du *Ceratophyllum demersum*.

III.4 Variation des Concentrations de pigments photosynthétiques chez *Pistia stratiotes* et *Ceratophyllum demersum*

III.4.1 La variation de la chlorophylle-a chez *Pistia Stratiotes*

Le premier paramètre biologique étudié durant l'exposition du *Pistia Stratiotes* aux trois extraits toxiques de *Microcystis* sp., provenant de lac des oiseaux et contenant une synergie très variée de microcystines, était les pigments photosynthétiques ; la chlorophylle a et b (Chl a, Chl b) et le caroténoïde.

Chez *Pistia stratiotes*, l'analyse statistique a montré que l'effet du traitement par les trois doses d'extrait de *Microcystis* sp est significatif sur la chlorophylle a ($p < 0,05$),



indiquant une diminution réelle du pigment en fonction de la dose et de la durée d'exposition. Les résultats expérimentaux confirment cette tendance : le taux de Chl a a présenté une fluctuation notable d'un groupe à l'autre. Contrairement au groupe témoin qui a gardé une évolution régulière, les trois groupes traités ont montré une régression marquée du taux de chlorophylle a, avec la plus faible valeur enregistrée chez les plantes exposées à la dose la plus élevée (5 $\mu\text{g/L}$) après 5 jours d'exposition, ce qui confirme l'effet inhibiteur significatif mis en évidence par les tests statistiques. Cependant, à la fin des 15 jours, une régénération des pigments photosynthétiques a été observée, permettant aux *Pistia stratiotes* de retrouver des valeurs proches de celles du début, contrairement au témoin qui n'a pas montré cette dynamique.

Chez le groupe témoin, le taux initial de Chl a (7,076) a évolué progressivement pour atteindre 9,878, traduisant une croissance normale non perturbée, alors que les groupes traités reflètent une réponse physiologique altérée puis compensée, en cohérence avec les différences significatives révélées par les p-values.

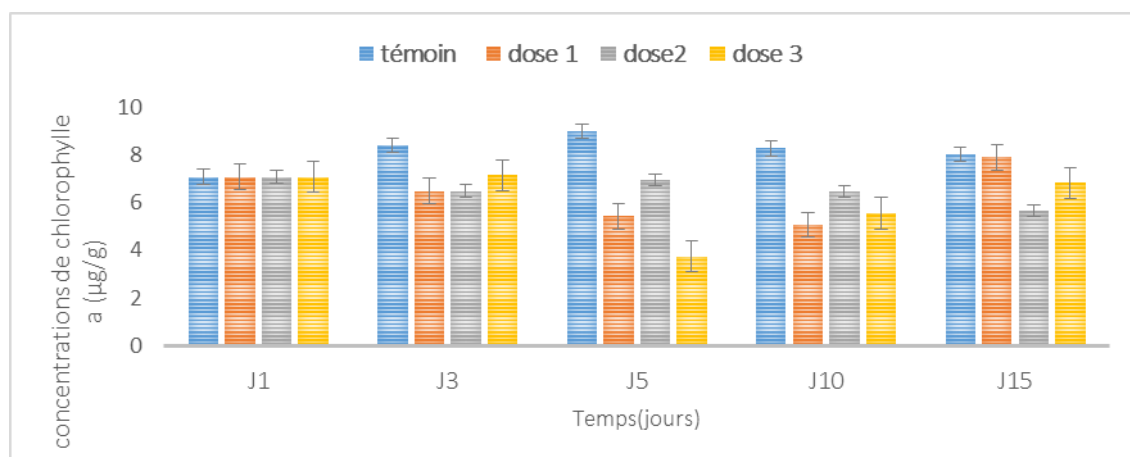


Figure N° 37: Variation de la chlorophylle-a chez *Pistia stratiotes*.

III.4.2 La variation de la chlorophylle b chez *Pistia Stratiotes*

L'analyse statistique a révélé que la chlorophylle b (Chl b) réagit de manière significative aux différentes doses d'extrait de *Microcystis sp.* ($p < 0,05$), confirmant que les trois doses induisent une variabilité réelle du pigment au cours de l'exposition. Contrairement à la Chl a, la Chl b n'a pas montré de stabilité chez les trois doses d'extrait de *Microcystis sp.* Dans les groupes exposés aux concentrations de 1 $\mu\text{g/L}$ et 2,5 $\mu\text{g/L}$, une diminution initiale suivie d'une augmentation, puis d'une nouvelle régression, a été



observée, traduisant une réponse photosynthétique instable en lien avec l'effet significatif détecté statistiquement. À l'inverse, le groupe traité par 5 µg/L a présenté d'abord une augmentation puis une régression, avec une valeur maximale atteignant 7,878 µg/L après 3 jours, et une valeur minimale de 2,744 µg/L après 5 jours. Ces fluctuations, plus marquées aux doses élevées, sont cohérentes avec les résultats statistiques qui montrent un effet du trois doses et le temps significatif ($p < 0,05$), indiquant que la Chl b est plus sensible et plus variable sous l'influence des microcystines que la Chl a.

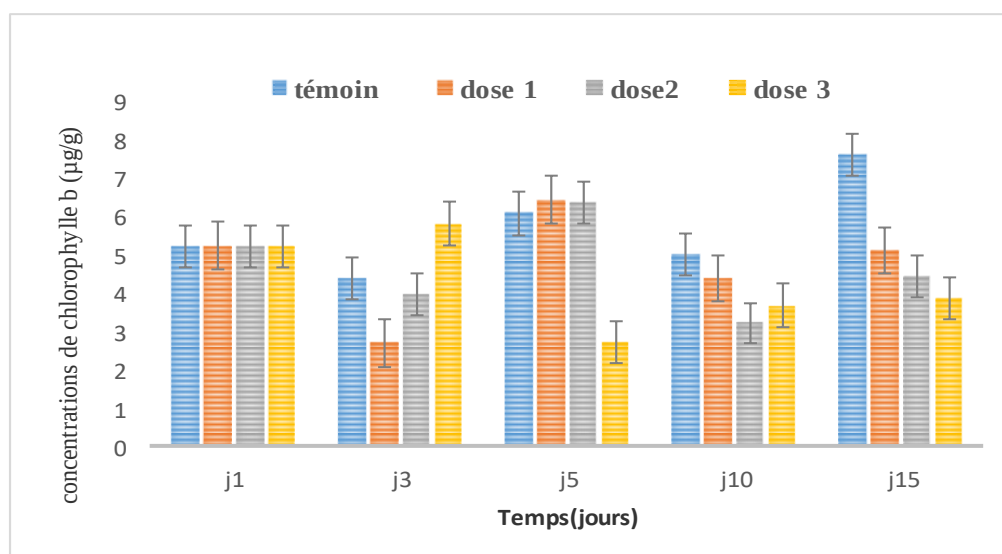


Figure N° 38 : Variation de la chlorophylle-b chez *Pistia stratiotes*

III.4.3 La variation de la chlorophylle totale chez *Pistia Stratiotes*

La Figure. N°39 illustre les variations de la chlorophylle totale (a+b) chez *Pistia stratiotes*. Au cours des trois premiers jours d'exposition, une diminution notable est observée, particulièrement marquée pour la première dose. L'effet le plus prononcé apparaît au cinquième jour, où la dose 3 entraîne une baisse significative, suggérant une altération du processus photosynthétique. En fin d'exposition, les valeurs tendent à converger, traduisant une possible récupération.

L'analyse statistique a montré un effet significatif du facteur dose sur la teneur en chlorophylle totale de *Pistia stratiotes* ($p = 0,000$), indiquant que l'exposition aux différentes concentrations de l'extrait du *microcystis sp* influence fortement la photosynthèse. En revanche, l'effet du temps d'exposition n'était pas statistiquement significatif ($p = 0,632$), tandis que l'interaction dose $\times$ temps présentait une tendance proche de la signification ($p = 0,077$), suggérant une variation des effets selon les jours. Le test post hoc de Tukey a



confirmé que la dose la plus élevée entraîne une diminution significative plus marquée de la chlorophylle par rapport aux doses inférieures, particulièrement au cinquième jour. Ces résultats révèlent une réponse dose-dépendante de la plante avec un impact maximal à mi-exposition, suivi d'une tendance à la récupération, traduisant une altération temporaire du processus photosynthétique liée à la bioaccumulation du toxique.

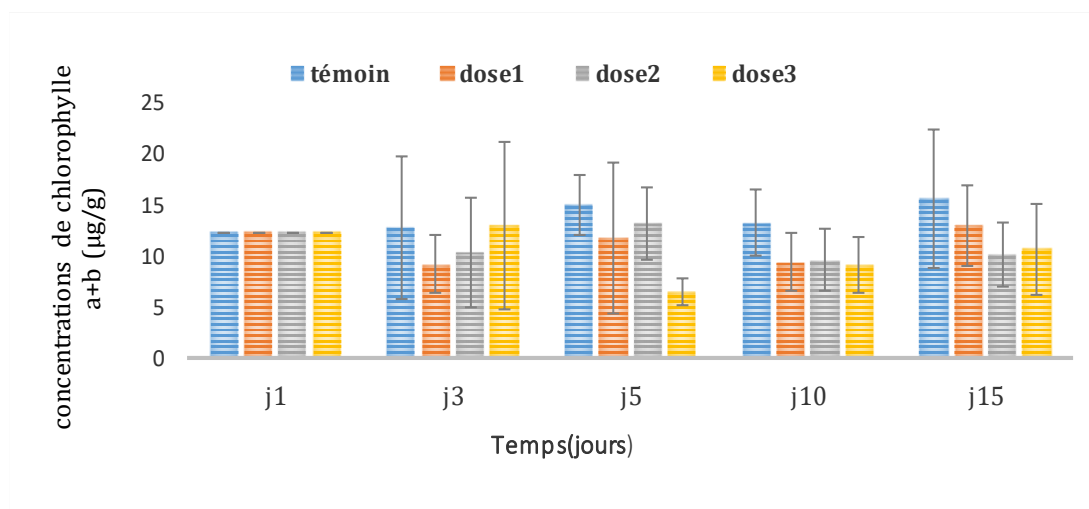


Figure N° 39 :La variation de la chlorophylle totale(a+b)chez *Pistia stratiotes*.

III.4.4 La variation de la chlorophylle-a chez *Ceratophyllum demersum*

La Figure. N°40 montre les variations de la chlorophylle a chez *Ceratophyllum demersum*. A partir de cette figure on constate que les trois extraits de bloom de *Microcystis sp.* ont provoqué une régression de la Chl a chez *Ceratophyllum demersum*. A la fin d'étude, les concentration de la Chl a était 5.081 µg/l, 3.376 µg/l et 5.674 µg/l respectivement pour les trois groupes exposés au MCs (D1, D2 et D3).

L'analyse statistique par ANOVA a mis en évidence un effet significatif du facteur temps ($p = 0,000$), soulignant l'importance de la durée d'exposition dans la diminution de la Chl a. En revanche, l'effet de la dose n'a pas été statistiquement significatif ($p = 0,158$), suggérant que les concentrations testées ont un impact similaire sur la chlorophylle. Ces résultats indiquent que le stress oxydatif ou les mécanismes de défense induits par l'exposition se manifestent principalement en fonction du temps, indépendamment de la dose appliquée.

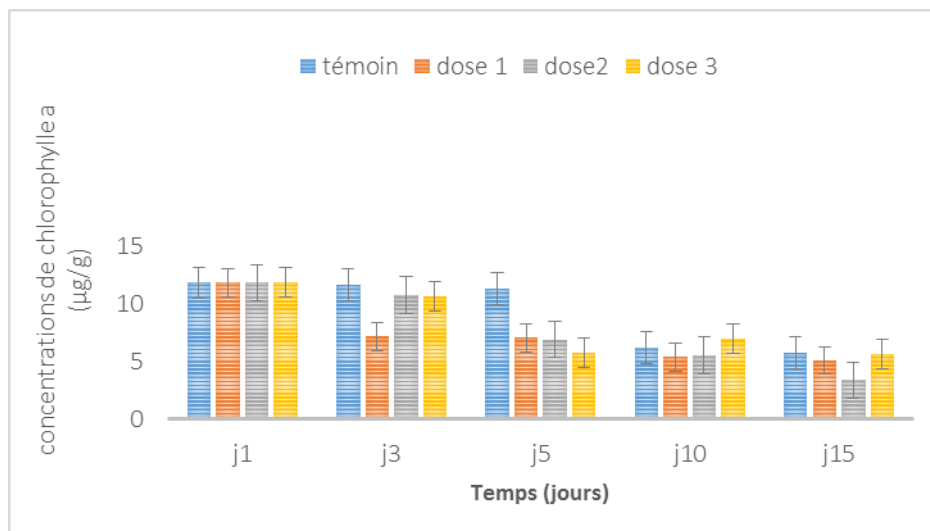


Figure N°40 : Variation de la chlorophylle-a chez *ceratophyllum demersum*.

III.4.5 La variation de la chlorophylle- b chez *ceratophyllum demersum*

La Figure. N°41 montre les variations de la chlorophylle-b chez *Ceratophyllum demersum*. La concentration de la chlorophylle b (Chl b) chez tous les lots traités et témoin était en augmentation durant la période d'étude (15 jours). La plus forte concentration était mentionnée chez le lot 03 (exposé à 2.5µg/l de MCs) avec 7.794 µg/g en 10ème jour, tandis que la plus faible était 2.337 µg/g chez le 04ème groupe (exposé à 5µg/l de MCs) après le 5ème jour de traitement.

L'analyse statistique confirme l'absence d'effet significatif du facteur dose ($p = 0,952$), indiquant que les différences entre concentrations ne sont pas statistiquement marquées. En revanche, un effet significatif du facteur temps est démontré ($p = 0,001$), mettant en évidence une variation temporelle importante de la Chl b au cours de l'expositions.

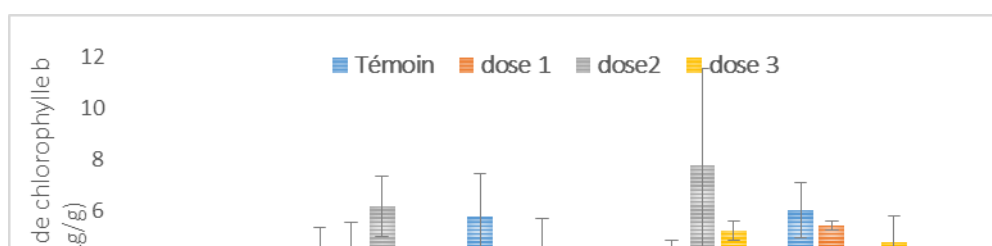




Figure N°41: La Variation de la chlorophylle-b chez *ceratophyllum demersum*.

III.4.6 La variation de la chlorophylle totale chez *ceratophyllum demersum*

La Figure N°42 montre les variations de la chlorophylle totale chez *Ceratophyllum demersum* pendant 15 jours d'exposition aux différentes doses d'extraits de *Microcystis sp.*, par rapport au témoin. L'analyse statistique indique que la dose seule n'a pas d'effet significatif sur la chlorophylle totale ($p = 0,444$), tandis que le temps d'exposition tend à influencer cette concentration ($p = 0,077$). En revanche, l'interaction entre la dose et le temps est hautement significative ($p < 0,001$), ce qui signifie que l'impact des extraits varie selon la durée d'exposition. Le test post hoc révèle une diminution significative de la chlorophylle totale jusqu'au 10^e jour d'exposition par rapport au témoin, suivie d'une tendance à la récupération vers la fin de l'étude, bien que la chlorophylle reste globalement inférieure à celle du témoin. Ces résultats suggèrent un effet toxique initial des extraits sur la photosynthèse, suivi d'une possible adaptation ou atténuation de cet effet au fil du temps.

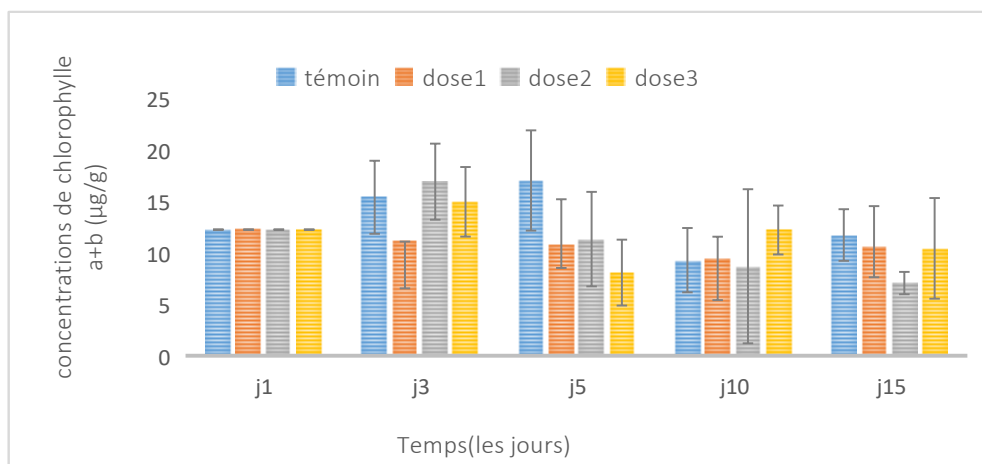


Figure N°42 : Variation de la chlorophylle totale chez *ceratophyllum demersum*.

III.4.7 La variation des caroténoïdes chez *Pistia stratiotes*

Les caroténoïdes, en tant qu'antioxydants, peuvent interagir avec certaines toxines ou substances nocives dans l'organisme. Leur concentration peut fournir des indices sur l'exposition à des toxines environnementales ou alimentaires.

La Figure N°43 illustre la relation tempe-dose-effet chez *Pistia* exposée une seul fois par trois doses aigue d'un extrait de *Microcystis* sp. contenant une mixture très variée de MCs. Après 15 jours de traitement une diminution très lisible de la concentration des caroténoïdes, dont la plus forte inhibition est rencontrée chez le 4ème groupe traité par la forte dose (5µg/l) avec un taux équivalent à 0.964 µg/g.

L'analyse statistique confirme que cette baisse est principalement liée à la période d'exposition ($p = 0,006$), tandis que l'effet de la dose tend vers la significativité ($p = 0,065$), suggérant un impact dose-dépendant potentiel. Ces résultats indiquent que la diminution progressive des caroténoïdes chez *Pistia* est surtout influencée par la durée d'exposition, avec une possible intensification de l'effet aux doses plus élevées.

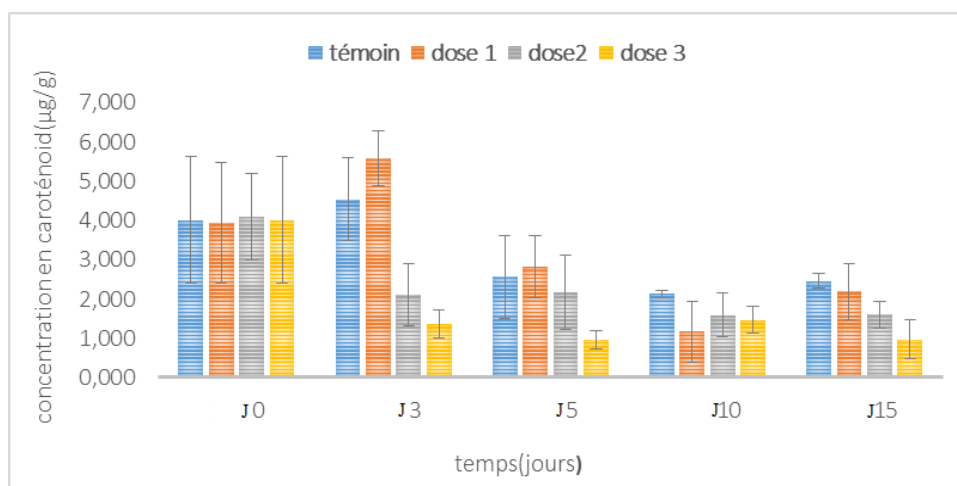


Figure N°43 : Variation des caroténoïdes chez *Pistia stratiotes*.

III.4.8 La variation des caroténoïdes chez *Ceratophyllum demersum*

Les caroténoïdes agissent comme des antioxydants, neutralisant les ROS générées par différents types de stress. Une augmentation des caroténoïdes peut être un mécanisme de défense antioxydant renforcé, déclenché en réponse à des conditions stressantes pour protéger les membranes cellulaires et les structures photosynthétiques, alors que sa diminution peut indiquer soit une souffrance de la plante en réponse à un stress non contrôlé, soit une stratégie de défense temporaire. Ces signes ont été observés chez la plante *Ceratophyllum* une augmentation du caroténoïdes était signalée durant les 3 premiers jours, puis régression intensive jusqu'au 0.855 µg/g chez la groupe traité par le forte dose 5 µg/l de MCs.

L'analyse statistique indique que la variation des caroténoïdes chez *Ceratophyllum demersum* est principalement influencée par le temps d'exposition ($p = 0,000$), ce qui signifie que les concentrations changent de manière significative au cours des jours. En revanche, l'effet de la dose d'extrait n'est pas statistiquement significatif ($p = 0,214$), suggérant que les différentes concentrations appliquées n'ont pas un impact direct isolé sur les caroténoïdes.

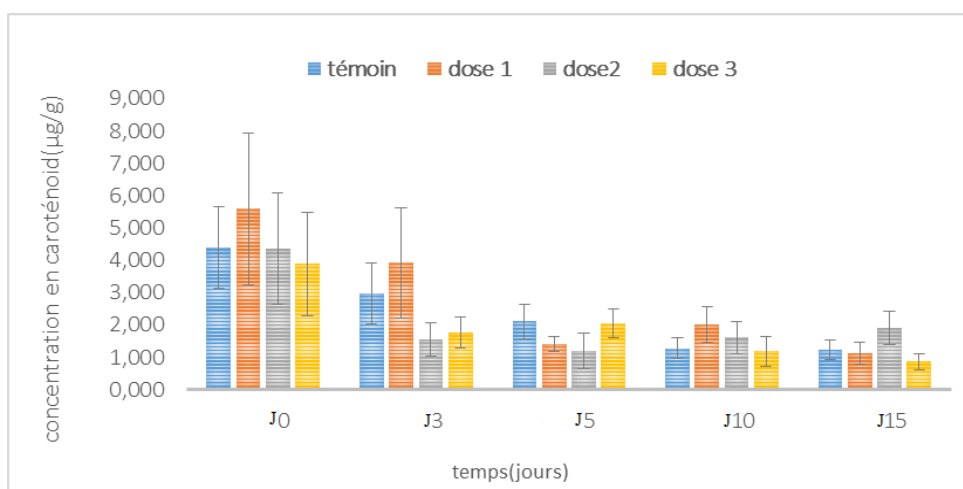


Figure N°44: Variation des caroténoïdes chez *Ceratophyllum demersum*.

III.5 Effets d'exposition aux extraits de *Microcystis sp.* sur les biomarqueurs du stress oxydant chez *Pistia stratiotes* et *Ceratophyllum demersum*

III.5.1 Evaluation du taux de glutathion (GSH)

III.5.1.1 Evaluation du taux de glutathion (GSH) chez *Pistia stratiotes*

Comme chez les animaux, le glutathion agit comme un antioxydant puissant dans les plantes, en protégeant les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres et le stress oxydatif. Les plantes produisent des radicaux libres lorsqu'elles sont exposées à des conditions environnementales stressantes, comme la sécheresse, la salinité ou la pollution.

La figure N°46 montre l'évaluation du taux de glutathion (GSH) chez *Pistia stratiotes* durant les 15 jours de traitement par les extraits de *Microcystis sp.* Après 5 jours de traitement une relation dose-effet était noté, le taux du GSH était en élévation en augmentant la dose de toxine, en suite le scénario s'inverse, la concentration du glutathion était réduit pour les plantes de faible dose (1µg/l), forte induction pour ceux de la seconde dose (2.5µg/l) et une stabilité de GSH pour ceux de la forte dose (5µg/l) et cela après 10 jours d'exposition. A la fin d'étude, une régénération de GSH était signalée chez les individus de la faible dose, tandis que ceux de la seconde ont montré une diminution jusqu'au 5.888 nmol/ mg de protéine. Le système redox du troisième groupe était stable tout au long des 15 jours d'étude. Cette variation était très hautement significative avec un $p=0.000$ entre groupes et entre périodes.

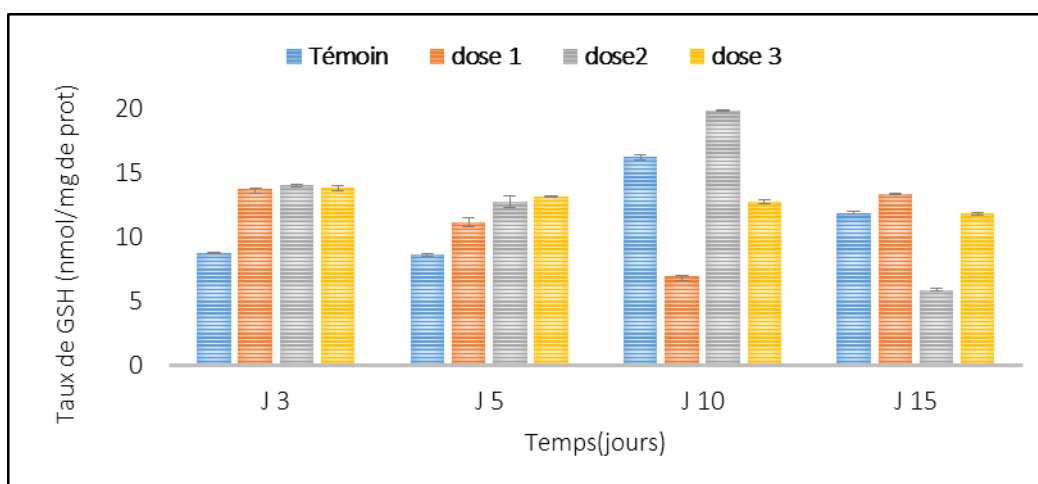


Figure N°45 : Variations du taux de GSH chez *Pistia Stratiotes*.

III.5.1.2 Evaluation du taux de glutathion (GSH) chez *Ceratophyllum demersum*

Le glutathion aide à éliminer les substances toxiques chez les plantes, il permet de piéger ces toxines et facilite leur transport et élimination à l'intérieur de la plante.

Le glutathion chez *Ceratophyllum* et dès les premiers trois jours de traitement a présenté une augmentation très hautement significative ($p=0.000$) aux tissus des plantes de 04^{ème} groupe, avec une légère diminution pour ceux de 03^{ème} groupe, ensuite le taux du GSH a reconnu des fluctuation significative ($p=0.000$) d'un groupe à un autre jusqu'au 15^{ème} jours où une régression très hautement significative ($p=0.000$) était signalée plus précisément au sein des deux groupes traités par 2.5 et 5 $\mu\text{g/l}$ de MCs, expliquant l'état de dégradation de nos plante.

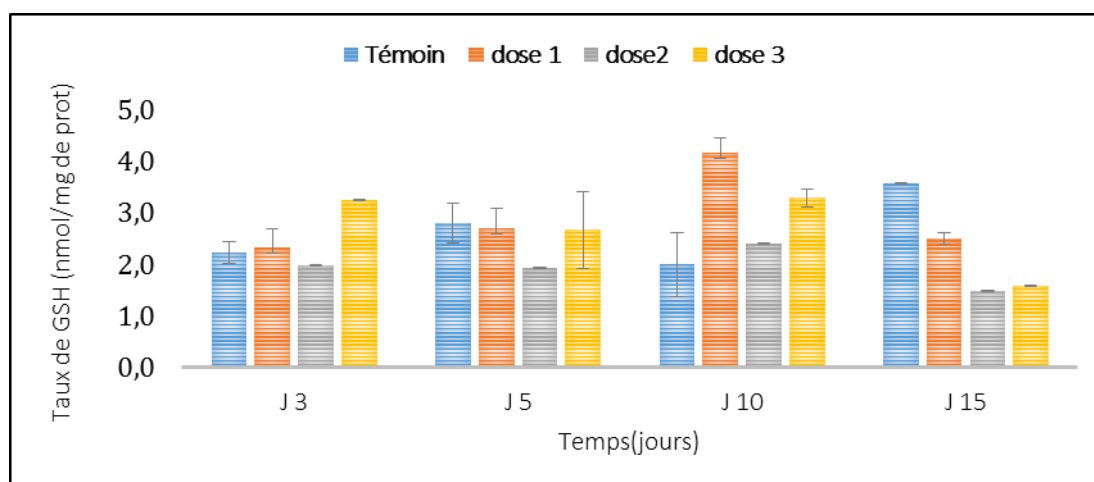


Figure N°46 : Variations du taux de GSH chez *Ceratophyllum demersum*.



III.5.2 Evaluation du taux de glutathion-s-transférase (GST)

III.5.2.1 Evaluation du taux de glutathion-s-transférase (GST) chez *Pistia stratiotes*

Les GST sont une famille d'enzymes qui jouent un rôle clé dans la détoxification des composés toxiques, à la fois d'origine interne (métabolites secondaires, sous-produits toxiques) et externe (pesticides, polluants environnementaux, métaux lourds). Elles le font en conjuguant le glutathion à ces molécules toxiques, ce qui les rend plus solubles et facilite leur élimination.

Chez *Pistia stratiotes*, une corrélation inversement proportionnelle entre le taux du GSH et la concentration de son enzyme de métabolisation le glutathion-s-transférase (GST) était très remarquable durant toute les 15 jours de suivi, une induction très hautement significative de GST ($p=0.000$) en 3^{ème}, 5^{ème}, 10^{ème} et 15^{ème} jours était lisible chez tous les plantes exposées aux extraits toxiques de *Microcystis* sp., une légère exception était chez les spécimens de faible concentration de MCs (1 et 2.5 $\mu\text{g/l}$) en 10^{ème} jours avec respectivement 28.47 et 27.69 nmol/min/mg de protéine par rapport au forte dose (5 $\mu\text{g/l}$) qu'était 48.31 nmol/min/mg de protéine.

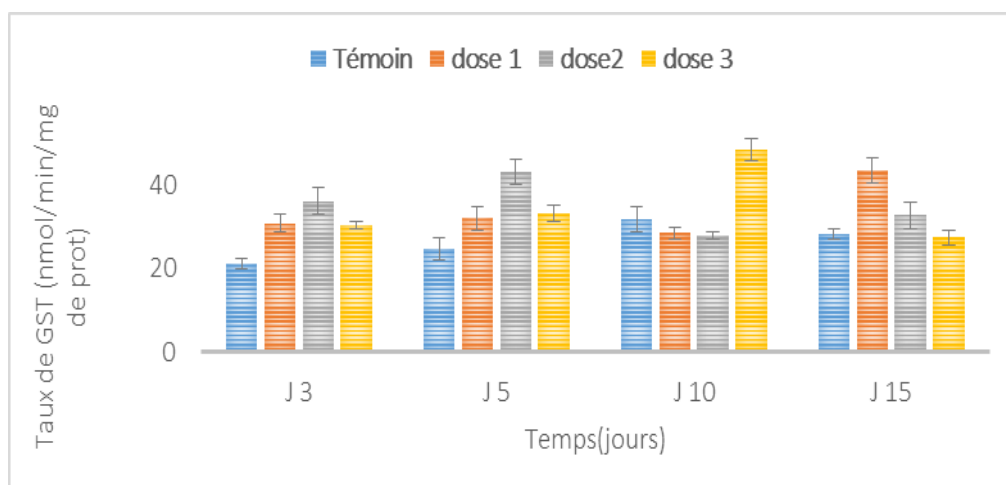


Figure N°47 : Variation du taux de glutathion-s-transférase (GST) chez *Pistia stratiotes*.



III.5.2.2 Evaluation du taux de glutathion-s-transférase (GST) chez *Ceratophyllum demersum*

Comme le glutathion, les GST protègent les plantes contre le **stress oxydatif**. Elles participent à la neutralisation des radicaux libres et des peroxydes, en conjuguant le glutathion à ces espèces réactives, minimisant ainsi les dommages cellulaires.

Une relation dose-effet était notable chez *Ceratophyllum*, durant les 15 jours de suivi le taux de GST ne cesse à accroître en augmentant la dose et la période d'étude. La plus forte concentration était toujours détectée chez les individus appartenant à la forte dose (5µg/l) ; 40.41, 37.71, 39.89 et 37.38 nmol/min/mg de protéine en 3^{ème}, 5^{ème}, 10^{ème} et 15^{ème} jour respectivement. Cette induction était statistiquement très hautement significative avec un $p=0.000$.

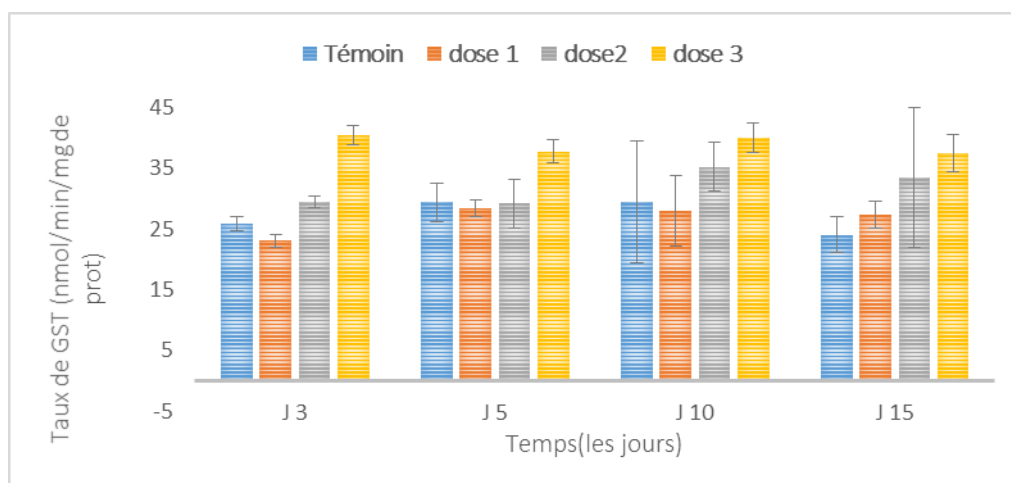


Figure N°48 : Variation du taux de glutathion-s-transférase (GST) chez *Ceratophyllum demersum*.

III.5.3 Evaluation du taux de la peroxydation lipidique (MDA)

III.5.3.1 Evaluation du taux de la peroxydation lipidique (MDA) chez *Pistia stratiotes*

La peroxydation lipidique est un processus dans lequel les lipides membranaires (en particulier les acides gras insaturés) sont oxydés par des radicaux libres, comme les peroxydes et les radicaux hydroxyles. Ce processus est généralement déclenché par des stress environnementaux tels que le stress oxydatif, la sécheresse, l'exposition à des métaux lourds ou des polluants. Il en résulte la formation de produits toxiques tels que les aldéhydes (comme



le malondialdéhyde, ou MDA) et d'autres composés qui peuvent endommager les membranes cellulaires, les protéines et l'ADN.

Les résultats des individus du *Pistia* exposés aux extraits de *Microcystis* sp., montre qu'ils souffrent d'un stress oxydatifs immenses traduit par la forte production des molécules toxiques MDA ($p=0.000$). Les plus fortes concentrations étaient notées au niveau de la faible dose ($1\mu\text{g/l}$) durant les pics 3, 10 et 15 jours. Alors que les plantes de la troisième dose ($5\mu\text{g/l}$) ont montré un pouvoir de détoxification remarquable ce qui confirme les résultats obtenus avec les deux biomarqueurs précédemment décrits (GSH et GST), le taux de la MDA à la fin d'étude n'a pas dépassé 29.94 nmol/mg de protéine par rapport à la faible dose 57.60 nmol/mg de protéine.

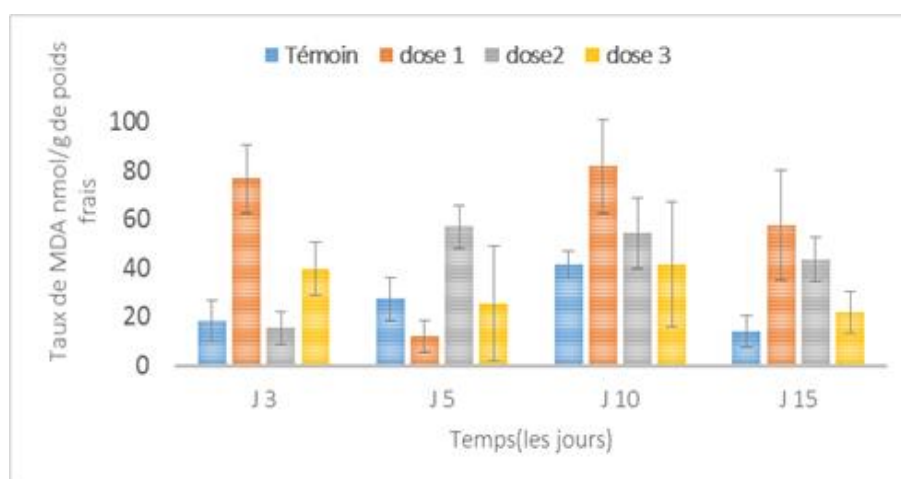


Figure N°49 : Variation du taux de la peroxydation lipidique (MDA) chez *Pistia Stratiotes*.

III.5.3.2 Evaluation du taux de la peroxydation lipidique (MDA) chez *Ceratophyllum demersum*

Ce qui est connu est que si les mécanismes de défense de la plante sont débordés (en cas de stress oxydatif trop intense), les niveaux de MDA augmentent, ce qui reflète une peroxydation lipidique excessive et des dommages cellulaires. Ce phénomène était très lisible chez les individus du *Ceratophyllum* exposés aux extraits toxiques de *Microcystis* sp. une induction significative ($p<0.01$) de taux de MDA au niveau des tissus des plantes des deux groupes exposés par $2.5\mu\text{g/l}$ et $5\mu\text{g/l}$ après 3, 10 et 15 jours de traitement, alors que ceux de la plus faible concentration présentent un pouvoir détoxifiant remarquable ($p<0.01$) durant toute la période de suivi. A la fin d'étude le témoin a présenté la plus faible MDA prouvant le bon état de la plante et qu'elle n'a pas subi un stress expérimental ($p=0.000$).

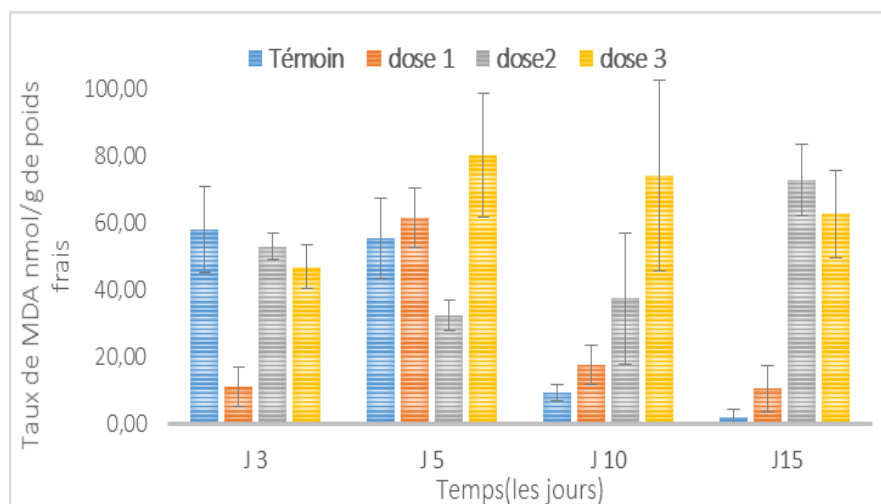


Figure N°50 : Variation du taux de la peroxydation lipidique (MDA) chez *Ceratophyllum demersum*.

III.5.4 Evaluation du taux de la Superoxyde dismutase (SOD)

III.5.4.1 Evaluation du taux de la Superoxyde dismutase (SOD) chez *Pistia stratiotes*

La SOD réduit les radicaux superoxydes pour prévenir des dommages, mais l'excès de peroxyde d'hydrogène peut entraîner la peroxydation lipidique et la production de MDA. Chez *Pistia* les fluctuations et les inductions du superoxyde dismutase étaient significatives ($p < 0.05$) qu'après 15 jours d'exposition aux extraits toxiques contenant plus de 21 variantes de MCs. La plus forte concentration était 1.597 U sod/mg de protéine détectée chez les plantes traitées par $\mu\text{g/l}$ de MCs.

Cette augmentation de l'activité enzymatique indique que cette macrophyte mobilise ses défenses antioxydantes pour faire face au stress oxydatif induit par les microcystines. Néanmoins, même avec cette réponse, un excès de radicaux libres pourrait provoquer des dommages cellulaires, notamment au niveau des membranes, comme le suggère la formation de MDA.

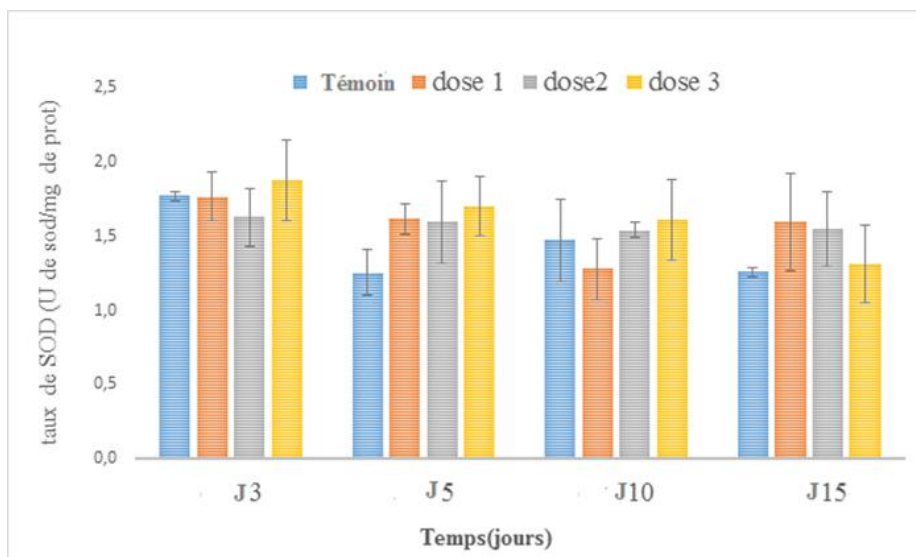


Figure N° 51: La variation du superoxyde dismutase chez *Pistia stratiotes*.

III.5.4.2 Evaluation du taux de la Superoxyde dismutase (SOD) chez *Ceratophyllum demersum*

A l'inverse du *Ceratophyllum demersum*, le taux du superoxyde dismutase était très faible par rapport au témoin, la plus forte concentration à la fin d'étude était 2.67 U sod/mg de protéine détectée chez *Ceratophyllum* exposé à 1 $\mu\text{g/l}$ de MCs et la plus faible était 0.89 U sod/mg de protéine chez *Ceratophyllum* traité par 5 $\mu\text{g/l}$ de MCs. Alors que dès les 03 premiers jours le témoin était 5.26 U sod/mg de protéine.

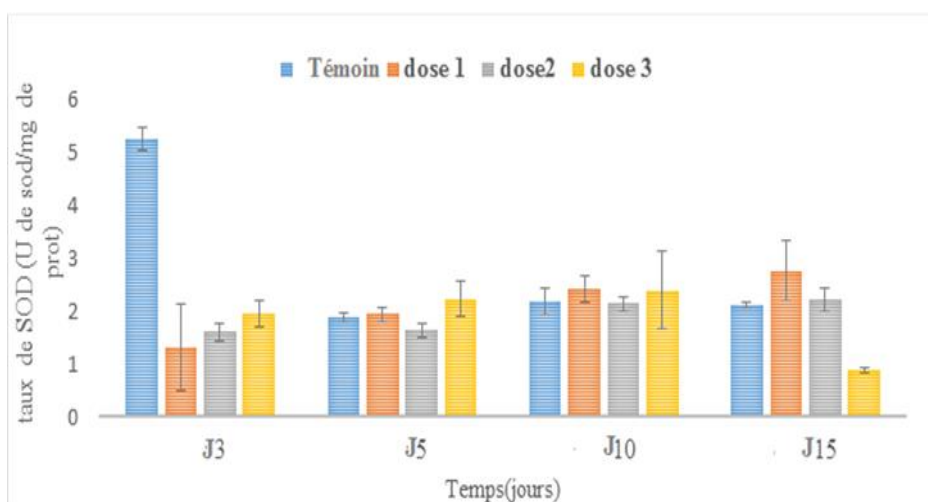


Figure N°52: Variation du le superoxyde dismutase chez *Ceratophyllum demersum*.



III.6 Variation des Valeurs de bioaccumulation dans les tissus de *Pistia stratiotes* et de *Ceratophyllum demersum* exposés aux extraits de *Microcystis* sp.

L'indice de bioaccumulation de *Pistia stratiotes* a montré des valeurs élevées dès le début de l'exposition (Figure n° 53), atteignant 29,21 µg/L/jour pour la dose 1 et 36,40 µg/L/jour pour la dose 3 au jour 3. Cependant, ces taux ont rapidement diminué au fil du temps, ce qui suggère que la plante atteint une saturation rapide de ses tissus en contaminants ou que ses capacités métaboliques pour absorber ou stocker ces substances deviennent limitées après une phase initiale intense.

En parallèle, *Ceratophyllum demersum* a présenté une bioaccumulation relativement stable tout au long de la période d'étude. Avec des indices de 43,74 µg/L/jour pour la dose 1 et 30,43 µg/L/jour pour la dose 3 au jour 3, cette plante semble maintenir une capacité constante d'accumulation, ce qui pourrait refléter une meilleure gestion interne et une tolérance physiologique plus élevée.

L'analyse détaillée de la figure n° 53 confirme ainsi que *Pistia stratiotes* agit principalement comme un accumulateur rapide mais limité dans le temps, tandis que *Ceratophyllum demersum* conserve une efficacité d'absorption durable.

Cette différence d'évolution des indices illustre des mécanismes biologiques distincts, liés soit à la saturation des sites d'adsorption et à la régulation métabolique chez *Pistia stratiotes*, soit à une capacité d'adaptation plus continue chez *Ceratophyllum demersum*. Chez *Pistia stratiotes*, la réponse rapide pourrait permettre une accumulation initiale élevée, mais elle est suivie par un plateau lié aux limites physiologiques de la plante et à la régulation des processus enzymatiques impliqués dans l'absorption.

En revanche, *Ceratophyllum demersum* semble maintenir ses mécanismes de transport et d'adsorption actifs sur une plus longue période, ce qui traduit une tolérance physiologique plus élevée et une capacité à gérer de manière stable l'exposition prolongée aux toxines. Ces observations mettent en évidence des stratégies adaptatives différentes, qui peuvent influencer l'efficacité de ces macrophytes dans des applications de phytoremédiation..

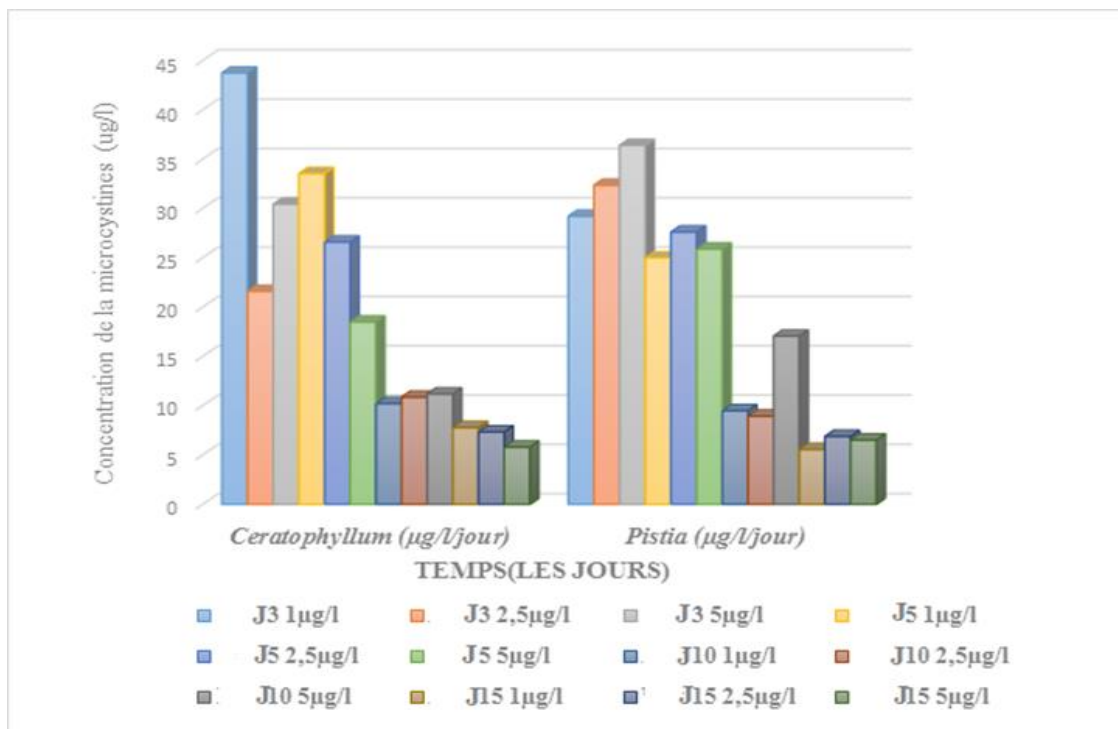


Figure N°53 : Variation des valeurs de bioaccumulation dans les tissus de *Pistia stratiotes* et de *Ceratophyllum demersum* .



III.7 Analyse en Composantes Principales (ACP) de l'estimation du potentiel de bioremédiation de *Ceratophyllum demersum* et *Pistia stratiotes*

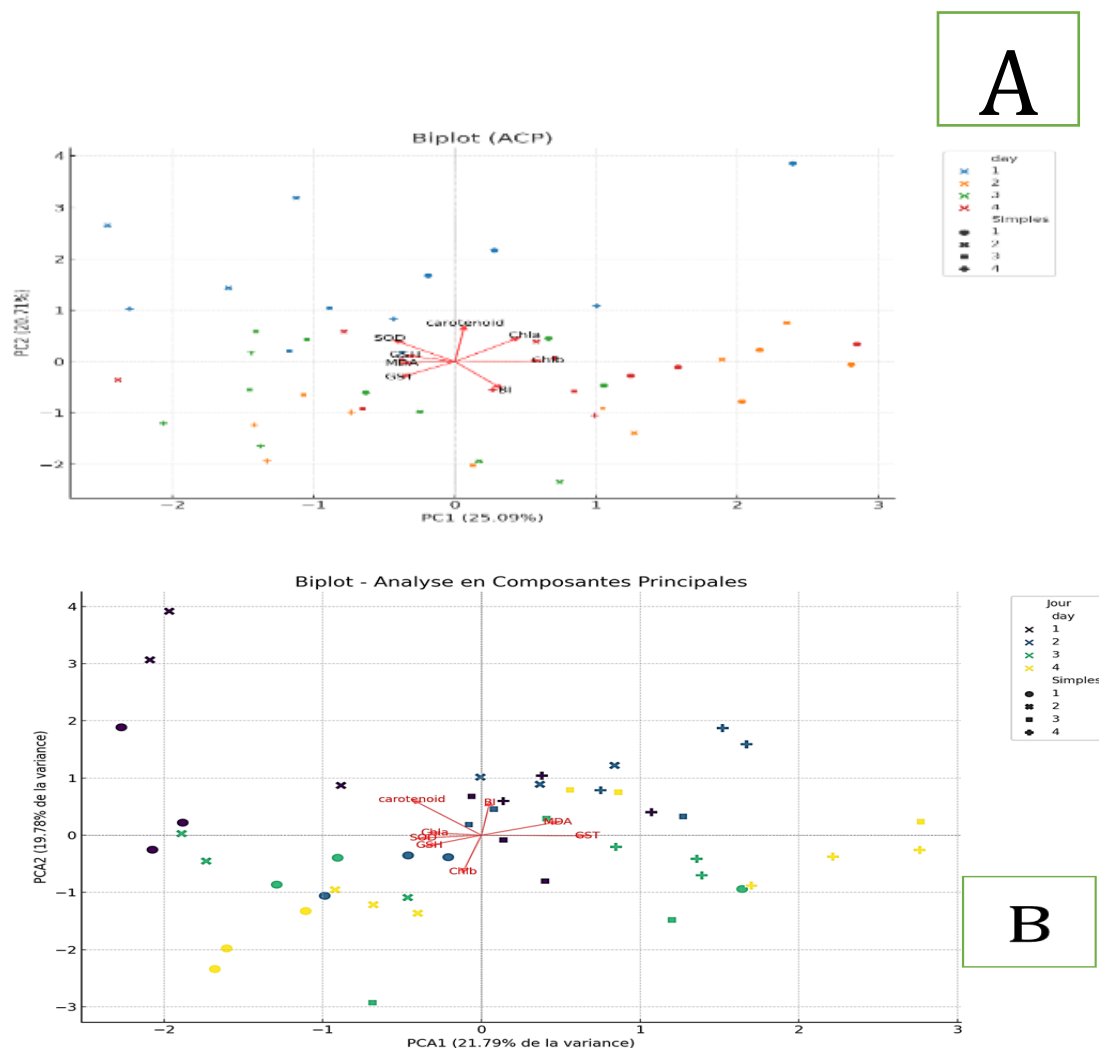


Figure N°54 : L'Analyse en Composantes Principales (ACP) pour *Pistia stratiotes* (A) et *Ceratophyllum demersum* (B)

L'analyse en composantes principales (ACP) a été appliquée aux deux plantes afin d'évaluer leur potentiel de bioremédiation, en se basant sur les paramètres physico-chimiques mesurés ainsi que sur la teneur en enzymes estimée. Cette méthode statistique permet de réduire la complexité des données en regroupant les variables corrélées en un nombre limité de composantes principales, tout en conservant l'essentiel de la variance initiale. Grâce à cette réduction de dimensionnalité, il devient plus facile d'identifier les facteurs majeurs qui expliquent les différences entre les deux plantes en termes de capacité à traiter les polluants. De plus, l'ACP met en lumière les relations entre les paramètres physico-chimiques et les



activités enzymatiques, offrant ainsi une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans la bioremédiation. En résumé, cette analyse permet de sélectionner la plante la plus efficace et d'orienter les stratégies de dépollution. Comme on peut le voir sur le bi-plot de l'ACP présenté dans la Figure. N°53 a, pour *Pistia stratiotes* les deux premières composantes principales expliquent respectivement 25,09 % (PC1) et 20,71 % (PC2) de la variance totale. Pour *Ceratophyllum demersum*, les deux premières composantes principales expliquent 21,79 % (PC1) et 19,78 % (PC2) de la variance totale. Dans les deux cas, les vecteurs de caroténoïdes et de Chl a ont une forte contribution positive à PC2, tandis que MDA et GST ont une influence significative le long de PC1 avec des charges négatives pour *Pistia stratiotes* et positives pour *Ceratophyllum demersum*. De plus, la SOD et le GSH ont significativement influencé le PC1 pour *Ceratophyllum demersum*, ainsi que les composants PC1 et PC2 pour *Pistia stratiotes*. Les échantillons des deux plantes se sont regroupés distinctement selon les jours, indiquant des profils chimiques similaires pour chaque jour. Les différences de distribution des échantillons dans l'espace PCA s'expliquent principalement par les variations de ces variables clés. Cette analyse comparative révèle des relations sous-jacentes et des schémas de similarité entre les échantillons, mettant en évidence des caractéristiques communes et uniques aux deux plantes.



III.7.1 Comparaison entre les réponses pigmentaires de *Pistia stratiotes* et *Ceratophyllum demersum* sous exposition à trois doses d'extrait de *Microcystis* sp : une analyse en composante principales

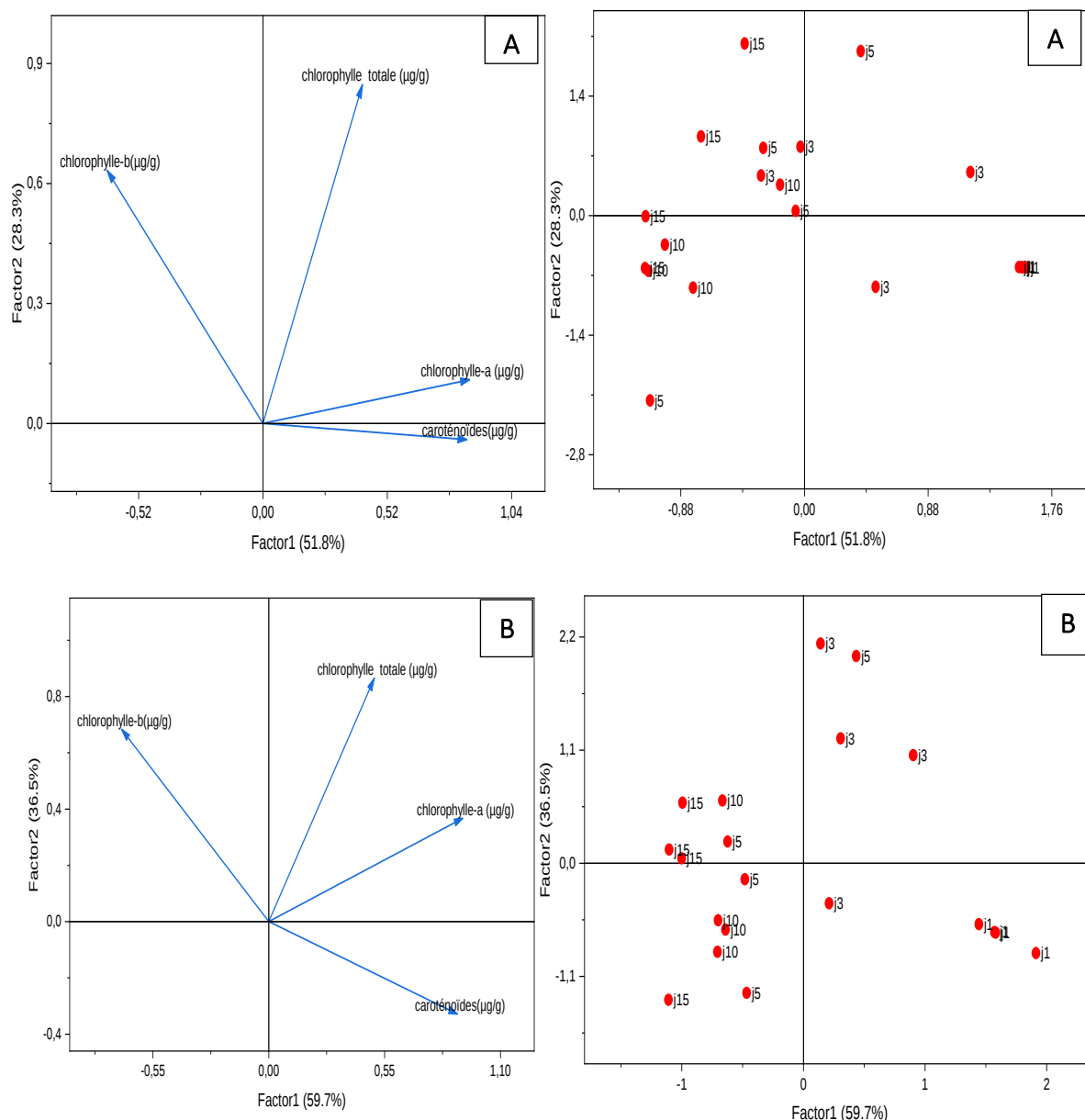


Figure N°55 : Comparaison des réponses pigmentaires de *Pistia stratiotes* (A) et *Ceratophyllum demersum* (B) sous exposition à trois doses d'extrait de *Microcystis* sp.

. Chez *Pistia stratiotes*, l'analyse en composantes principales (ACP) montre que les pigments chlorophylliens et les caroténoïdes expliquent 80,1 % de la variance, avec un axe 1 reflétant l'activité photosynthétique globale (chlorophylle-a, chlorophylle totale, caroténoïdes) et un axe 2 associé à la chlorophylle-b, indicatrice de stress. Les pigments diminuent



progressivement sous l'effet des extraits de *Microcystis sp* , traduisant un stress oxydatif et une perte de protection photo-oxydative, tandis que la chlorophylle-b révèle une réponse adaptative au stress prolongé. La variabilité accrue à forte dose souligne un impact chronique des toxines. Chez *Ceratophyllum demersum*, l'ACP explique une variance plus élevée (95,2 %), avec un axe 1 également corrélé à la chlorophylle-a et la chlorophylle totale, montrant une sensibilité marquée de ces pigments, tandis que les caroténoïdes réagissent de manière distincte en lien avec la protection contre le stress oxydatif. La chlorophylle-b isolée sur l'axe 2 témoigne d'une sensibilité particulière aux doses élevées, traduisant des ajustements adaptatifs des complexes antennaires. La projection des échantillons révèle une diminution progressive des pigments avec le temps et la dose, confirmant un stress photosynthétique croissant et une capacité limitée de compensation. Le dendrogramme souligne une différenciation nette entre les pigments, similaire à *Pistia*. En résumé, bien que les deux plantes montrent une perturbation sélective du système photosynthétique sous l'effet des toxines de *Microcystis sp* , *Ceratophyllum demersum* semble présenter une réponse pigmentaire plus distincte et une variance expliquée plus élevée, tandis que *Pistia stratiotes* illustre un impact chronique marqué avec des mécanismes d'adaptation plus visibles via la chlorophylle-b.



III.7.2 Comparaison entre les réponses des paramètres physicochimiques de *Pistia stratiotes* et *Ceratophyllum demersum* sous exposition à trois doses d'extrait de *Microcystis* sp. : Une analyse en composantes principales

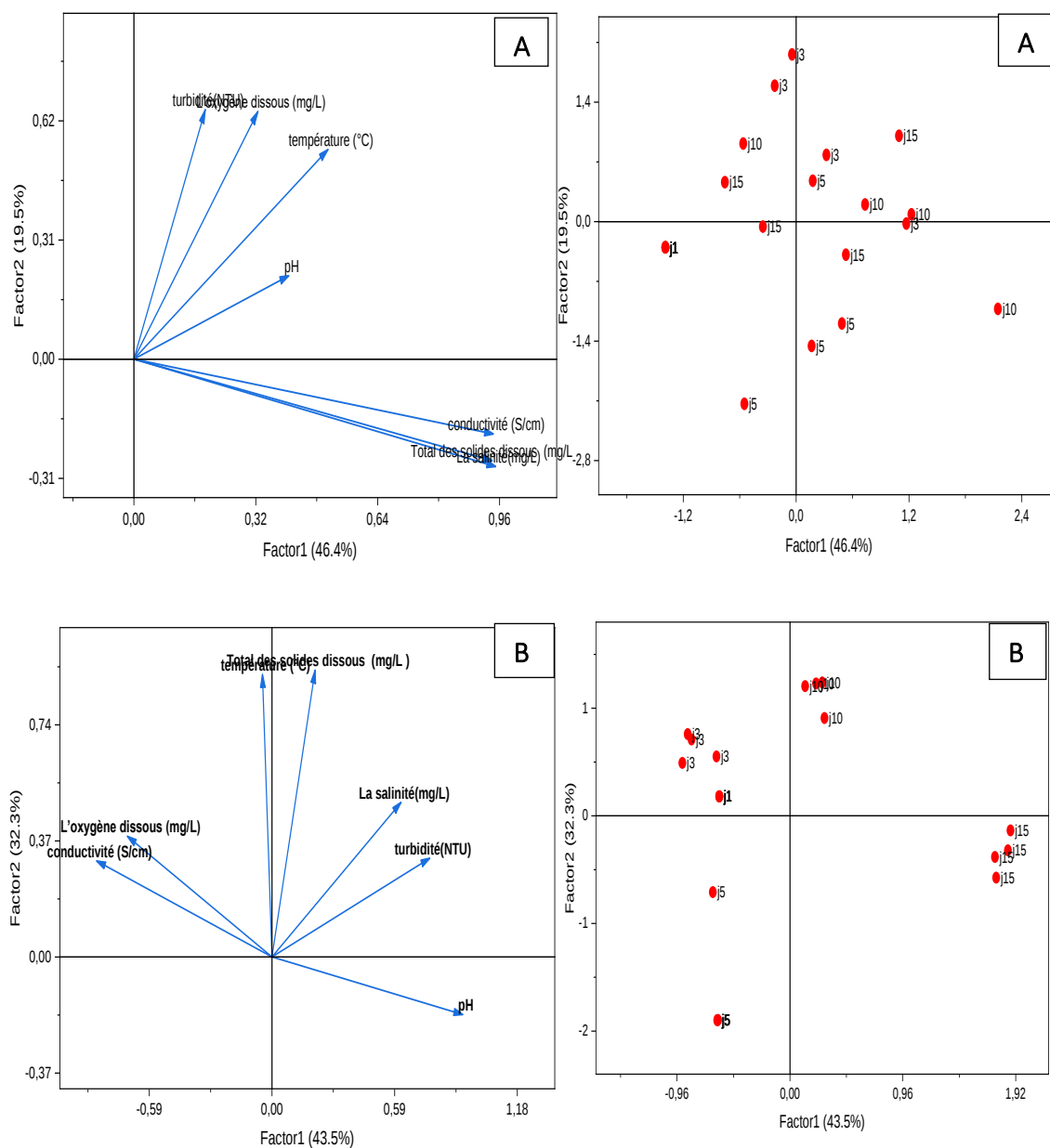


Figure N°56 : Comparaison des réponses des paramètres physicochimiques de *Pistia stratiotes* (A) et *Ceratophyllum demersum* (B) sous exposition à trois doses d'extrait de *Microcystis* sp. : Une analyse en composantes principales.



Chez *Pistia stratiotes*, l'analyse en composantes principales (ACP) explique 65,9 % de la variance totale, avec un axe 1 représentant 46,4 % associé principalement à la conductivité et aux solides dissous totaux (TDS), témoignant d'une augmentation progressive de la minéralisation du milieu en fonction des doses d'extrait. L'axe 2, représentant 19,5 %, regroupe la turbidité, l'oxygène dissous, la température et dans une moindre mesure le pH, paramètres reflétant l'activité métabolique de la plante et les effets du stress oxydatif. Sous l'effet croissant des doses et du temps, on observe une forte séparation des échantillons, où les jours avancés (J10–J15) et les doses élevées sont caractérisés par une forte minéralisation, une augmentation de la turbidité et une élévation de l'oxygène dissous, suggérant un stress physiologique et une dégradation accrue du milieu.

Pour *Ceratophyllum demersum*, l'ACP explique une variance plus élevée (75,8 %), avec un axe 1 (43,5 %) corrélé principalement à la salinité, à la turbidité et au pH, soulignant une modification marquée de ces paramètres au cours de l'exposition, notamment aux stades avancés. L'axe 2 (32,3 %) est corrélé à la température, aux solides dissous totaux, à l'oxygène dissous et à la conductivité, représentant les variations surtout observées en début d'exposition. La distribution temporelle des échantillons montre un début d'exposition (J1–J3) où les conditions sont proches du témoin, suivi d'une phase critique à J5 caractérisée par une chute notable de l'oxygène dissous et une modification de la conductivité, puis une fin d'exposition (J10–J15) marquée par une augmentation significative de la salinité, de la turbidité et du pH, traduisant une perturbation progressive et importante du milieu.

En résumé, bien que les deux macrophytes révèlent une altération progressive des paramètres physico-chimiques sous l'effet des extraits de *Microcystis sp.*, *Ceratophyllum demersum* présente une variance totale plus élevée et une modification plus marquée des conditions physico-chimiques, particulièrement au niveau de la salinité, de la turbidité et du pH, alors que *Pistia stratiotes* manifeste une réponse plus orientée vers l'augmentation de la minéralisation et du stress oxydatif. Ces différences suggèrent des modes d'interaction distincts avec le milieu contaminé, impliquant des mécanismes de bioremédiation et d'adaptation variés chez ces deux espèces.



Discussion

Le suivi des paramètres physico-chimiques durant l'étude a fourni des données précieuses pour évaluer la qualité de l'eau, prédire les changements environnementaux et garantir une sécurité des ressources en eau. Les macrophytes aquatiques modifient de façon directe les paramètres physiques tels que la température, la turbidité, la concentration en oxygène, le pH et la conductivité, qui sont essentiels au maintien de la qualité et de la stabilité des écosystèmes aquatiques.

La température de l'eau constitue un paramètre physico-chimique fondamental, influençant directement la solubilité des sels et, plus particulièrement, celle des gaz dissous. Elle représente également un facteur déterminant pour le fonctionnement des écosystèmes aquatiques, en régulant des processus biologiques essentiels tels que la croissance et la reproduction des organismes (**Aminot, 1983**). Les températures de l'eau sont restées dans intervalle de stabilité de 24 à 25 °C pour les deux macrophytes, et dans l'ensemble des concentrations étudiées. Une telle constance constitue un facteur déterminant pour le bon déroulement des processus. De plus, l'étude menée par **Barko & Smart (1986)** a révélé que les plantes immergées peuvent générer des microclimats aquatiques, en créant un climat favorable ; abaissant les températures près de la surface. Cela favorise le maintien d'une température modérée de l'eau, bénéfique pour certaines espèces aquatiques sensibles aux fortes chaleurs.

Le pH est un paramètre essentiel qui caractérise le degré d'acidité ou d'alcalinité de l'eau. Il correspond au potentiel hydrogène et traduit la concentration en ions hydrogène (H^+) présents dans le milieu, selon la relation : $pH = -\log [H^+]$ (**Ramade, 2011**). La variation du pH observé dans notre étude, variant entre 7,13 et 7,55 et se maintenant proche de la neutralité, est liée à l'effet stabilisateur exercé par les macrophytes aquatiques à travers la régulation du CO_2 durant la photosynthèse. Selon **Bowes & Jones (2000)**, les plantes aquatiques jouent un rôle dans la régulation du pH, un effet essentiel pour maintenir l'équilibre chimique des écosystèmes aquatiques.

La réduction du taux de turbidité observée pour les deux plantes et dans les trois concentrations peut s'expliquer par les conclusions de **Sondergaard et al. (2003)**, qui ont montré que les écosystèmes aquatiques riches en végétation présentent des niveaux de



turbidité nettement plus faibles. En effet, les plantes retiennent les particules en suspension, agissant ainsi comme des filtres naturels.

La concentration en oxygène dissous est considéré comme un paramètre fondamental pour le maintien de la vie aquatique, participent de manière déterminante dans les processus de dégradation de la matière organique ainsi que dans la photosynthèse (**Rodier, 1996**). Les résultats obtenus pour les deux macrophytes révèlent des valeurs d'oxygène dissous stables, traduisant une bonne aération des échantillons durant la période d'étude. Ce constat rejoint les observations de **Wetzel (2001)**, qui souligne le rôle fondamental des macrophytes dans l'apport d'oxygène à la colonne d'eau par le biais de la photosynthèse.

La conductivité électrique est un indicateur de la minéralisation et de la pureté relative de l'eau, dépendant de sa teneur en ions dissous. Une faible conductivité correspond à une eau peu minéralisée, tandis qu'une valeur élevée traduit une plus forte concentration ionique. Elle permet ainsi d'évaluer la qualité de l'eau et les variations de sa composition dans le cadre du suivi physico-chimique (**Fogem, 1996**). L'absorption de nutriments et de minéraux par les plantes aquatiques peut réduire la conductivité, signe d'une meilleure qualité de l'eau. De plus, les macrophytes aquatiques contribuent en absorbant divers nutriments et minéraux, ce qui peut entraîner une diminution de cette conductivité. Cette baisse est un signe de bonne qualité de l'eau (**Mainstone & Parr, 2002**).

Le TDS (Total Dissolved Solids) est un indicateur permettant de quantifier la concentration de matières dissoutes dans une solution et, par conséquent, d'évaluer le degré de pureté de l'eau. Durant la période d'étude, les valeurs de TDS ont varié de 0,202 mg/L au jour 0 (avant exposition) à 0,522 mg/L au 15^e jour. Dans les groupes traités avec *Ceratophyllum demersum*, une baisse notable a été enregistrée, atteignant 0,189 mg/L. Cette évolution suggère une diminution de la minéralisation des eaux, probablement liée à l'action purificatrice de la plante et à la présence d'une eau de meilleure qualité.

Les macrophytes aquatiques sont reconnus pour leurs capacités de bio-indication, leur sensibilité aux microcystines permettant la surveillance de la qualité de l'eau et la détection des proliférations de cyanobactéries toxiques (**Pflugmacher, 2002**). De nombreuses recherches ont mis en évidence la capacité des microcystines à s'accumuler aussi bien dans les plantes terrestres que dans les plantes aquatiques. Cette bioaccumulation varie en fonction de la durée d'exposition et des concentrations de toxines présentes dans le milieu (**Chen &**



Xie, 2005). La microcystine-LR constitue la forme la plus couramment observée lors des épisodes de prolifération algale (**Vasconcelos et al., 1996**). Selon **Pflugmacher et al. (1999)**, *Ceratophyllum demersum* peut accumuler jusqu'à 1,98 ng/mg de poids frais de microcystines après seulement sept jours d'exposition.

Dans notre étude, les trois doses testées ont induit des modifications des pigments photosynthétiques chez les deux macrophytes étudiés. Chez *Ceratophyllum demersum*, une réduction continue de la concentration en chlorophylle a (Chl a) a été observée, sans signe de récupération en fin d'exposition. En revanche, chez *Pistia stratiotes*, la concentration en Chl a d'abord diminué, puis a légèrement augmenté à la fin de l'expérience, suggérant une certaine capacité de récupération.

Ces résultats sont cohérents avec des travaux antérieurs ayant montré que l'exposition aux microcystines entraîne des altérations de la pigmentation photosynthétique, notamment une modification du rapport chlorophylle a/chlorophylle b (Chl a/Chl b). Plusieurs études ont également mis en évidence des effets négatifs des microcystines sur la teneur en chlorophylle de différentes espèces de macrophytes, parmi lesquelles *Vesicularia dubyana*, *Myriophyllum spicatum*, *Ceratophyllum demersum*, *Lemna minor*, *Egeria densa*, *Vallisneria spiralis*, *Hydrilla verticillata* et *Typha australis*. Ces espèces ont été exposées à des concentrations de microcystines comprises entre 0,1 et 0,5 µg/L (**Wiegand et al., 2002 ; Pflugmacher, 2002 ; Weiss et al., 2000 ; Jiang et al., 2011 ; Romero-Oliva et al., 2015 ; Saqrane et al., 2008**).

La baisse dans la concentration en chlorophylle totale (a+b) observée au cours des premiers jours d'exposition aux microcystines peut être expliquée par l'action toxique directe de ces composés sur l'appareil photosynthétique. Cependant, de nombreuses études ont indiqué que les microcystines entraînent une inhibition de la biosynthèse des pigments photosynthétique et perturbent l'organisation des chloroplastes (**Pflugmacher, 2002 ; Wiegand & Pflugmacher, 2005**). Néanmoins, la récupération partielle ou complète des concentrations en chlorophylle totale en fin d'exposition suggère l'activation de mécanismes de tolérance et/ou de détoxification chez les deux macrophytes étudiés.

Nos résultats indiquent que les macrophytes aquatiques peuvent activer des systèmes antioxydants et réparer les dommages subis, ce qui leur permet de restaurer leur capacité photosynthétique. Une observation similaire a été rapportée pour les macrophytes aquatique où une diminution précoce de la chlorophylle totale était suivie d'une stabilisation



progressive, reflétant une adaptation physiologique aux toxines (**Saqrane et al., 2008 ; Jiang et al., 2011**).

En ce qui concerne les caroténoïdes, une augmentation de leur concentration peut constituer un mécanisme de défense antioxydant renforcé, activé en réponse à des conditions de stress, afin de protéger les membranes cellulaires et les structures photosynthétiques. Ce phénomène a été observé chez *Ceratophyllum demersum*, où une augmentation des caroténoïdes a été notée pendant les trois premiers jours d'exposition, en particulier dans le groupe traité avec *Pistia stratiotes*. Cette augmentation a été déclenchée dès le début de l'exposition, ce qui rejoint les résultats d'études précédentes, telles que celles d'Ha et **Pflugmacher (2013)**, qui ont rapporté une production accrue de caroténoïdes après 12 heures d'exposition, atteignant leur valeur maximale après 48 heures.

De plus, une étude menée par **Romero-Oliva et al. (2015)** a également indiqué une augmentation significative des caroténoïdes chez les macrophytes *C. demersum* et *E. densa* exposés aux microcystines (MC), après seulement 4 et 8 heures, respectivement. *Hydrilla verticillata* a montré une réponse similaire, mais la production de caroténoïdes a été plus tardive, se manifestant après 8 heures à 3 jours. Cette capacité de *C. demersum* à produire des niveaux plus élevés de caroténoïdes par rapport à d'autres espèces est similaire à nos résultats, suggérant que cette plante est particulièrement efficace pour activer ses mécanismes de défense antioxydants en réponse aux microcystines.

En somme, ces résultats montrent que tous les macrophytes aquatiques exposés aux microcystines semblent s'appuyer sur leur capacité à augmenter la concentration de caroténoïdes antioxydants pour faire face au stress oxydatif induit par les toxines, ce qui confirme l'importance de cette réponse dans la protection contre les dommages cellulaires.

Le système de défense antioxydant, comprenant plusieurs enzymes telles que la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la peroxydase (POD) et la glutathion S-transférase (GST), joue un rôle fondamental dans la protection contre la toxicité des microcystines (**Mitrovic et al., 2005**).

Les niveaux de stress observés dans nos résultats pourraient également être liés à l'effort de deux macrophytes pour biotransformer les microcystines (MC), comme cela a été documenté dans plusieurs études précédentes. La biotransformation des microcystines (MC)



est facilitée par la conjugaison du glutathion (GSH) aux conjugués MC via des GST solubles (**Pflugmacher et al., 1998 ; Romero-Oliva et al., 2015**).

Nos résultats montrent une élévation du taux de GST chez *Pistia stratiotes* et *Ceratophyllum demersum* qui joue un rôle important dans la détoxification, cela après l'exposition aux microcystines (MC), avec une concentration maximale détectée chez les individus exposés à la dose la plus élevée (5 µg/L). Ces observations sont en accord avec les travaux de **Pflugmacher (2004)**, qui a rapporté une augmentation dans le taux du GST chez *Ceratophyllum demersum* après exposition aux MC. De plus, les recherches de **Jiang et al. (2011)** ont indiqué une réponse similaire chez *Vallisneria natans*, où une augmentation significative de GST a été marquée suite à une exposition aux MC. Ces résultats suggèrent qu'une exposition aux MC induit une réponse adaptative comparable du GST chez diverses espèces aquatiques, probablement en tant que mécanisme de défense contre la toxicité des microcystines. Cependant, des recherches antérieures menées par **Cao et al. (2019)** ont également mis en évidence une augmentation significative de l'activité de (GST) semblables à nos résultats. Cette augmentation de l'activité enzymatique montre un métabolisme intensifié de la MC dans les plantes aquatiques étudiées, notamment *Ceratophyllum demersum*, *Vallisneria natans*, et *Myriophyllum spicatum*. Ce processus confirme leur capacité à détoxifier ou à neutraliser en partie cette toxine. Une telle capacité pourrait renforcer leur résistance et leur adaptation aux environnements contaminés par les MC, montrant un potentiel d'utilisation de ces macrophytes dans les stratégies de phytoremédiation.

De plus, l'étude de **Romero et al. (2015)** a montré que les trois macrophytes, *Ceratophyllum demersum*, *Egeria densa*, et *Hydrilla verticillata*, présentent une capacité d'absorber rapidement les microcystines (MC) présentes dans leur environnement. Cette absorption immédiate semble être une stratégie efficace pour la phytoremédiation, permettant de limiter la toxicité des MC dans les eaux contaminées et en réponse à cette exposition, les macrophytes aquatiques activent leur système de défense antioxydant. Avec l'activation de GST était plus élevée chez *ceratophullum demersum* que dans les autres macrophytes étudiés. Dans le cas des deux macrophytes étudiés dans notre études, l'augmentation de l'activité de la GST pourrait être aussi interprétée comme un indicateur potentiel de l'absorption des microcystines (MC) et de leur biotransformation ultérieure, comme cela a été décrit dans plusieurs études portant sur *Ceratophyllum demersum* (**Pflugmacher et al., 1999; Romero et al., 2015**). Cela suggère que les deux macrophytes testés possèdent la capacité de réagir à des concentrations de MC réalistes du point de vue environnemental.



Le glutathion (GSH) joue un rôle fondamental dans le maintien de la santé cellulaire et générale grâce à ses puissantes propriétés antioxydantes et détoxifiantes. Il protège les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres ainsi que par diverses toxines, y compris les microcystines (**Mishra et al., 2008 ; Pflugmacher et al., 1998**).

Dans notre étude, nous avons observé chez *Ceratophyllum demersum* une variation du taux de glutathion (GSH) avec une augmentation durant les premiers jours d'exposition, suivie d'une diminution en fin d'exposition dans les trois groupes. En revanche, chez *Pistia stratiotes*, le glutathion a été influencé par la relation dose-effet le taux du GSH était en élévation en augmentant la dose de toxine, en suite le scénario s'inverse. Avec une régénération de GSH était signalée chez les individus de la faible dose, tandis qu'une diminution dans le second et une stabilisation pour le 3^{ème} groupe à la fin d'exposition. Nos résultats peuvent s'expliquer par une diminution de la teneur en GSH, probablement due à une consommation accrue lors de la formation de la conjugaison MC-GSH. Par ailleurs, cette conjugaison GSH-MC a stimulé la synthèse de nouveau GSH, entraînant ainsi une augmentation de sa teneur, comme l'ont documenté plusieurs études (**Cao et al., 2019 ; Pflugmacher, 2004 ; Wiegand & Pflugmacher, 2005 ; Amado & Monserrat, 2010**). Par conséquent, l'augmentation de la teneur en GSH au début de la bioaccumulation et au début de l'exposition était probablement expliquée par la formation d'un conjugué GSH via le système GST, permettant ainsi de détoxifier les MC (**Cao et al., 2019**).

Une augmentation du taux de MDA (malondialdéhyde) a été observée suite d'une exposition à l'extrait de MC. Cependant, une faible concentration a été observée lors des derniers jours d'exposition, a montré un pouvoir détoxifiant notable chez *Pistia Stratiotes* alors que chez *Ceratophyllum demersum* ; la plus faible concentration présente un pouvoir détoxifiant remarquable ($p < 0.01$) durant toute la période de suivi mais, alors que ceux de la 2^{ème} et 3^{ème} concentration présentent une induction significative ($p < 0.01$) de taux de MDA au niveau des tissus des plantes aux 10 et 15 jours de traitement

L'augmentation dans le taux du MDA pendant la période d'accumulation est indiquée que la MC induisait des dommages oxydatifs et une peroxydation lipidique indiquant que les membranes cellulaires sont endommagées en raison de la peroxydation des lipides. Cette conclusion peut être confirmée par plusieurs études. Une diminution des niveaux de MDA chez *Pistia Stratiotes* peut être interprétée comme un signe de gestion efficace du stress oxydatif par la plante, grâce à une activation réussie des mécanismes de défense antioxydants.



Au cours de la phase de détoxification, une augmentation de la teneur en MDA a été observée chez *Ceratophyllum demersum* au jour 10, suggérant que les dommages oxydatifs induits par le MC peuvent progressivement être réparés au fur et à mesure de la détoxification. Nos observations montrent également que le glutathion (GSH) joue un rôle essentiel dans la détoxification du MC chez *C. demersum*. Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par **Cao et al. (2019)** sur la même espèce. De plus, une étude antérieure réalisée par **Pflugmacher (2004)** a montré une intensification du stress oxydatif chez *C. demersum* lors de la biotransformation de la microcystine-LR (MC-LR).

Les résultats de cette étude ont révélé que le superoxyde dismutase (SOD), une enzyme cruciale pour la gestion du stress oxydatif chez les plantes, augmentait en activité en réponse au stress oxydatif induit par la présence de toxines (MC). En effet, une augmentation de la concentration en toxines entraînait une hausse de l'activité du SOD. Chez *Pistia stratiotes*, des fluctuations et des inductions significatives ($p < 0,05$) de l'activité du SOD ont été observées après 15 jours d'exposition aux extraits toxiques. Bien que Chez *Ceratophyllum demersum*, le taux du superoxyde dismutase était très faible par rapport au témoin, la plus forte concentration à la fin d'étude était 2.67 U sod/mg de protéine détectée chez *Ceratophyllum demersum* exposé à 1 µg/l. Sur la base de ces résultats, les superoxyde dismutases (SOD) pourraient jouer un rôle dans la réponse au stress oxydatif provoqué par la microcystine (MC). Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Wang & Wang (2018)**, qui ont démontré une interaction similaire pour la microcystine.

Cela suggère que, face aux dommages oxydatifs induits par les microcystines, les cellules mobiliseraient des mécanismes de défense enzymatiques, comme les SOD, pour neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et ainsi limiter les atteintes cellulaires (**Chen et al., 2004**).

La bioaccumulation des microcystines dans les macrophytes aquatiques est un processus complexe, influencé par de nombreux facteurs, tant biotiques (liés aux caractéristiques propres des espèces végétales) qu'abiotiques (liés aux conditions environnementales). L'anatomie et la physiologie des plantes jouent également un rôle clé : les espèces possédant de grandes surfaces foliaires, des tissus immergés fins, des structures perméables ou un système racinaire développé et complexe présentent généralement une capacité accrue à bioaccumuler les microcystines (**Nimptsch et al., 2008**).



La bioaccumulation des microcystines par les macrophytes aquatiques tels que *Pistia stratiotes* et *Ceratophyllum demersum* est essentielle à la compréhension de leurs applications potentielles en phytoremédiation. Cette étude fournit un aperçu complet des schémas de bioaccumulation et des réponses biochimiques de ces plantes sur une période de 15 jours dans des conditions environnementales variables.

Des études récentes montrent que les macrophytes peuvent absorber et bioaccumuler les microcystines (MC) dans les environnements contaminés, et capables de biotransformer montrant ainsi leur potentiel pour la phytoremédiation. Bien que, la plupart des macrophytes aquatiques présentent une métabolisation similaire des composés **toxiques (Ha & Pflugmacher, 2013)**.

De plus, il a été noté que la bioaccumulation des MC dans les tissus des macrophytes dépend également de la dose **(Bittencourt-Oliveira et al., 2016)**. Les différentes voies de biotransformation de ces toxines impliquent d'abord leur modification par les monooxygénases du cytochrome P 450 (phase I), puis leur conjugaison avec le glutathion via les glutathion S transférases (phase II), aboutissant enfin à la formation de métabolites des phases I et II **(Pflugmacher et al., 1998)**.

Certaines espèces de macrophytes, telles que *Ceratophyllum demersum*, *Hydrilla verticillata*, *Lemna gibba* et *Vallisneria spiralis*, sont capables de bioaccumuler les microcystines (MC) **(Pflugmacher et al., 2001 ; Saqrane et al., 2007)**. Les travaux de **Nimptsch et al. (2008)** ont montré que quatre espèces de macrophytes (*Lemna sp.*, *Myriophyllum sp.*, *Hydrilla sp.*, et *Phragmites sp.*) pouvaient réduire une concentration initiale de MC-LR de 2,5 mg/L à un niveau inférieur à la valeur guide de l'OMS pour l'eau potable (1,0 µg/L MC-LR) en une seule journée d'exposition.

De plus, **Saqrane et al. (2007)** ont indiqué que *Lemna gibba* pouvait absorber et biotransformer les microcystines avec un taux d'absorption de 300 µg/L (équivalents MC-LR) sur 12 jours, correspondant à une accumulation de 2,24 µg/g de poids sec (DW) de MC-LR. Par ailleurs, **Le Blanc et al. (2005)** ont montré qu'aucun effet négatif significatif n'était observé sur la croissance, le nombre de plants, la biomasse ou la teneur en chlorophylle de *Lemna gibba* pour des concentrations environnementales pertinentes de MC comprises entre 0,1 et 10 µg/L.



Pflugmacher et al. (2015) ont étudié l'effet combiné de trois macrophytes immergés (*Ceratophyllum demersum*, *Elodea canadensis* et *Myriophyllum spicatum*) et ont observé une réduction des microcystines (LR, RR et YR) de 67 à 85 %. De même, **Romero-Oliva et al. (2015)** ont examiné l'impact de trois macrophytes (*Ceratophyllum demersum*, *Egeria densa* et *Hydrilla verticillata*) sur des extraits bruts acellulaires contenant trois congénères de microcystines (MC-LR, MC-RR et MC-YR) à une concentration totale de $104,4 \pm 7,6$ µg/L. Les résultats ont montré la disparition des microcystines du milieu ainsi que leur absorption et bioaccumulation par ces macrophytes. De plus, Il a été démontré que le roseau émergent *Phragmites australis* accumulait des MC-LR dans ses tiges et ses rhizomes (**Pflugmacher et al., 2001**).

Pistia stratiotes a présenté des taux de bioaccumulation initiaux élevés, en particulier au cours des premiers jours d'exposition, avec des indices de 29,21 µg/l/jour pour la dose 1 et de 36,40 µg/l/jour pour la dose 3 le troisième jour. Ces taux ont cependant diminué significativement au fil du temps, indiquant une saturation rapide ou une limitation métabolique, ce qui concorde avec les résultats de **Khan et al. (2021)** et **Abbas et al. (2022)**. Cette absorption initiale rapide suggère que *Pistia stratiotes* est efficace pour les interventions à court terme visant à réduire les concentrations de microcystines dans les plans d'eau. À l'inverse, *Ceratophyllum demersum* a conservé des taux de bioaccumulation plus stables, avec des indices de 43,74 µg/l/jour au jour 3 et de 30,43 µg/l/jour pour les doses 1 et 3, respectivement. Cette stabilité suggère une capacité constante de remédiation à long terme, comme le confirment les études **d'Ahmad et al. (2020)**.

Pistia stratiotes convient à une détoxification initiale rapide, mais son efficacité diminue avec le temps, nécessitant une récolte et un remplacement périodiques. En revanche, *Ceratophyllum demersum* offre des capacités de bioaccumulation soutenues, ce qui le rend idéal pour les projets de phytoremédiation à long terme.

Les résultats soulignent l'importance de sélectionner des macrophytes aquatiques appropriées en fonction des besoins spécifiques de remédiation. Les macrophytes présentent un fort potentiel pour la phytoremédiation des cyanotoxines grâce à plusieurs mécanismes complémentaires. Ils permettent de réduire significativement la charge toxique dans les eaux. Leur action ne se limite pas aux cyanotoxines, puisqu'ils contribuent également à l'absorption de nutriments comme l'azote et le phosphore.



Dans des applications pratiques, l'intégration des deux plantes pourrait optimiser l'élimination des microcystines des plans d'eau contaminés. *Pistia stratiotes* peut être utilisée pour une intervention immédiate, tandis que *Ceratophyllum demersum* offre une solution stable et à long terme. Cette approche combinée pourrait améliorer l'efficacité globale et la durabilité des programmes de biorestauration, contribuant ainsi à une meilleure gestion de l'eau et à la protection de la santé publique.

La phytoremediation constitue une solution écologique et prometteuse pour le traitement des eaux contaminées par les cyanotoxines, mais que leur application efficace nécessite une stratégie intégrée incluant la sélection des espèces, l'optimisation des conditions environnementales et la gestion adéquate de la biomasse.



Conclusion



Conclusion

Dans ce contexte, cette étude met en évidence l'efficacité de *Pistia stratiotes* et *Ceratophyllum demersum* dans la bioaccumulation des microcystines, soulignant ainsi leur potentiel comme méthode prometteuse de phytoremédiation pour la gestion des cyanotoxines dans les milieux naturels. Les résultats montrent non seulement la capacité de ces plantes à absorber et détoxifier les microcystines, mais également l'importance des paramètres environnementaux dans l'optimisation de ce processus. L'application de ces techniques dans les réservoirs et autres plans d'eau pourrait offrir une solution écologique et durable pour réduire les niveaux de cyanotoxines, améliorant la qualité de l'eau et protégeant les écosystèmes aquatiques.

Ces résultats confirment de plus que la phytoremédiation constitue une approche durable et prometteuse pour la gestion des cyanotoxines dans les écosystèmes aquatiques. En combinant la sélection d'espèces performantes, la compréhension des mécanismes enzymatiques de détoxification et l'adaptation aux conditions environnementales, il est possible de concevoir des stratégies de traitement efficaces, écologiques et économiquement viables. Au-delà des réservoirs et plans d'eau, ces approches offrent un cadre innovant pour la protection de la biodiversité aquatique et la préservation des ressources en eau potable.

Elles ouvrent également la voie à des politiques de gestion de l'eau plus durables, intégrant la phytoremédiation comme solution naturelle face aux défis croissants liés à la pollution par les cyanotoxines. Enfin, cette thèse souligne l'importance de poursuivre les recherches sur la génétique, l'écophysiologie et l'optimisation des systèmes phytoremédiateurs afin de développer des solutions adaptées à différents contextes écologiques et aux besoins spécifiques de gestion de l'eau à l'échelle mondiale.



Référence bibliographique



Référence bibliographique

- ❖ **Abbas, A., Abid, M., Zahid, A., & Malik, R. N. (2022).** Metabolic limitations in aquatic plants ex-posed to microcystins. *Journal of Environmental Management*, 305, 113586. DOI: 10.1016/j.jenvman.2022.113586.
- ❖ **Abbas, T., Yadav, R., & Singh, P. (2020).** Recent advancements in the removal of cyanotoxins from water: A review. *Water*, 12(10), 2835. <https://doi.org/10.3390/w12102835>
- ❖ **Adak, S., Lukowski, A. L., Schafer, R. J. B., & Moore, B. S. (2022).** From tryptophan to toxin: Nature's convergent biosynthetic strategy to aetokthonotoxin. *Journal of the American Chemical Society*, 144(7), 2861–2866. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c13201>
- ❖ **Adams, D. G., & Duggan, P. S. (2008).** Cyanobacteria–bryophyte symbioses. *Journal of experimental botany*, 59(5), 1047-1058.
- ❖ **Addico, G. N. D., Hardege, J. D., Kohoutek, J., de Graft-Johnson, K. A. A., & Babica, P. (2017).** Cyanobacteria and microcystin contamination in untreated and treated drinking water in Ghana. *Advances in Oceanography and Limnology*, 8(1), 104–112. <https://doi.org/10.4081/aiol.2017.6323>
- ❖ **Adebayo, A. A., Briski, E., Briski, E., Kalaci, O., Hernandez, M., Ghabooli, S., & MacIsaac, H. J. (2011).** Water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and water lettuce (*Pistia stratiotes*) in the Great Lakes: playing with fire? *Aquatic Invasions*, 6(1), 91.
- ❖ **Agendia, P. L. (1987).** Bioaccumulation of mineral nutrients by some typical aquatic macrophytes: application in the purification of Byem-Assi domestic sewage. Doctorat de spécialité / University of Yaoundé ; Yaoundé. 161 p.
- ❖ **Ahmad, R., Baig, M. A., & Khan, S. (2020).** Long-term bioaccumulation capacity of *Ceratophyllum demersum* in contaminated water. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 197, 110569. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.110569
- ❖ **Aliotta, G., Della Greca, M., Monaco, P., Pinto, G., Pollio, A., & Previtera, L. (1990).** In vitro algal growth inhibition by phytotoxins of *Typha latifolia* L. *Journal of Chemical Ecology*, 16(9), 2637–2646. <https://doi.org/10.1007/BF01017479>
- ❖ **Alonso-Andicoberry, C., García-Villada, L., López-Rodas, V., & Costas, E. (2002).** Catastrophic mortality of flamingos in a Spanish national park caused by cyanobacteria. *Veterinary Record*, 151(23), 706–707. <https://doi.org/10.1136/vr.151.23.706>



- ❖ **Amado, L. L., & Monserrat, J. M. (2010).** Oxidative stress generation by microcystins in aquatic animals: why and how. *Environment International*, 36(2), 226-235.
- ❖ **Aminot, A., & Chaussepied, M. (1983).** Manuel des analyses chimiques en milieu marin. CNEXO.
- ❖ **Amorim, C. A., Ulisses, C., & Moura, A. N. (2017).** Biometric and physiological responses of *Egeria densa* Planch. Cultivated with toxic and non-toxic strains of *Microcystis*. *Aquatic Toxicology*, 191, 201-208.
- ❖ **Amrani, A., Nasri, H., & Bouaïcha, N. (2014).** Variation in microcystins content of *Microcystis aeruginosa* as a function of growth conditions. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(4), 2183–2191. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3521-3>
- ❖ **Aráoz, R., Molgó, J., & Tandeau de Marsac, N. (2010).** Neurotoxic cyanobacterial toxins. *Toxicon*, 56(5), 813–828. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.07.036>
- ❖ **Arruda, R. S., Pereira, R. S., & Becker, V. (2021).** Floc and sink technique removes cyanobacteria and their toxins from eutrophic water bodies. *Scientific Reports*, 11, 2221. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81940-3>
- ❖ **Assey, I. Y., & Yang, F. (2020).** A mini review on microcystins and bacterial degradation. *Toxins*, 12(4), 268. <https://doi.org/10.3390/toxins12040268>.
- ❖ **Aston, H.I. 1977.** Aquatic plants of Australia. Melbourne,Australia: Melbourne University Press.
- ❖ **Backer, L. C., D. Manassaram-Baptiste, R. LePrell & B. Bolton, 2015.** Cyanobacteria and algae blooms: review of health and environmental data from the harmful algal bloom-related illness surveillance system (HABISS) 2007–2011. *Toxins* 7: 1048–1064.
- ❖ **Backer, L. C., McNeel, S. V., Barber, T., Kirkpatrick, B., Williams, C., Irvin, M., Cheng, Y. S. (2010).** Recreational exposure to low concentrations of microcystins during an algal bloom in a small lake. *Marine Drugs*, 8(2), 389–406. <https://doi.org/10.3390/md8020389>
- ❖ **Bagu, J. R., Sykes, B. D., Craig, M. M., & Holmes, C. B. (1997).** A molecular basis for different interactions of marine toxins with protein phosphatase-1: molecular models for bound motuporin, microcystins, okadaic acid, and calyculin A. *Journal of Biological Chemistry*, 272(8), 5087-5097.
- ❖ **Ballot, A., Krienitz, L., Kotut, K., Wiegand, C., Metcalf, J. S., Codd, G. A., & Pflugmacher, S. (2004).** Cyanobacteria and cyanobacterial toxins in three alkaline



- Rift Valley lakes of Kenya—Lakes Bogoria, Nakuru and Elmenteita. *Journal of Plankton Research*, 26(8), 925–935. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbh083>
- ❖ **Barko, J. W., & Smart, R. M. (1986).** Sediment-related mechanisms of growth limitation in submersed macrophytes. *Ecology*, 67(5), 1328-1340.
 - ❖ **Bauer, N., Blaschke, U., Beutler, E., Gross, E. M., Jenett-Siems, K., Siems, K., & Hilt, S. (2009).** Seasonal and interannual dynamics of polyphenols in *Myriophyllum verticillatum* and their allelopathic activity on *Anabaena variabilis*. *Aquatic Botany*, 91(2), 110-116.
 - ❖ **Buratti, F. M., Manganelli, M., Vichi, S., Stefanelli, M., Scardala, S., Testai, E., & Funari, E. (2017).** Cyanotoxins: Producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation. *Archives of Toxicology*, 91(3), 1049–1130. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1913-6>
 - ❖ **Bernard, F. (2014).** Imaginaire, participation, engagement et empowerment?. Des notions pour penser la relation entre risques et changements. *Communication et organisation*, 45, 87-98.
 - ❖ **Bittencourt-Oliveira, M. C., Oliveira, M. C., & Bolch, C. J. S. (2001).** Genetic variability of some Brazilian strains of *Microcystis aeruginosa* complex (Cyanophyceae/Cyanobacteria) using the nucleotide sequence analysis of the intergenic spacer and flanking regions from *cpcBA*–phycocyanin operon. *Journal of Phycology*, 37(5), 810–818.
 - ❖ **Bittencourt-Oliveira, M. do C., de Oliveira, M. C., & Bolch, C. J. S. (2001).** Genetic variability of Brazilian strains of the *Microcystis aeruginosa* complex (Cyanobacteria/Cyanophyceae) using the phycocyanin intergenic spacer and flanking regions (*cpcBA*). *Journal of Phycology*, 37, 810-818.
 - ❖ **Botes D.P., Tuinman A. A., Wessels P.L., Viljoen C. C., Kruger, H., Williams D. H., Santikarn S., Smith R. J., & Hammond S. J. (1984).** The structure of cyanoginosin-LA, a cyclic heptapeptide toxin from the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *J. Chem. Soc.Perkin Trans. I* :2311-2318.
 - ❖ **Bouaïcha, N., Miles, C. O., Beach, D. G., Labidi, Z., Djabri, A., Benayache, N. Y., & Nguyen-Quang, T. (2019).** Structural diversity, characterization and toxicology of microcystins. *Toxins*, 11(12), 714.
 - ❖ **Bouchard Valentine, M. (2004).** Floraisons de cyanobactéries au lac Saint-Augustin: dynamique à court terme et stratification.



- ❖ **Bouhaddada, R., Nélieu, S., Nasri, H., Delarue, G., & Bouaïcha, N. (2016).** High diversity of microcystins in a *Microcystis* bloom from an Algerian lake. *Environmental pollution*, 216, 836-844.
- ❖ **Boumezbeur, A. (1993).** Écologie et biologie de la reproduction de l'Erismature à tête blanche (*Oxyura leucocephala*) et du Fuligule nyroca (*Aythya nyroca*) sur le lac Tonga et le lac des Oiseaux (Thèse de doctorat, École Pratique des Hautes Études). Université de Montpellier, France.
- ❖ **Bourrelly, P. (1966).** les algues d'eau douce : initiation à la systématique, Tome III : Les algues bleues et rouges. Les Euglénien, *Péridiniens et Cryptomonadines*. Société nouvelle des éditions Boubée. Paris.
- ❖ **Bourrelly, P. (1985).** Les algues d'eau douce : Initiation à la systématique. Tome I: Les algues bleues et rouges. Les Euglénien, *Péridiniens et Cryptomonadines*. Société nouvelle des éditions Boubée. Paris.
- ❖ **Bouvy, M., Molica, R., Oliveira, S., Marinho, M., & Beker, B. (1999).** Dynamics of a toxic cyanobacterial bloom (*Cylindrospermopsis raciborskii*) in a shallow reservoir in the semi-arid region of northeast Brazil. *Aquatic Microbial Ecology*, 20(3), 285–297. <https://doi.org/10.3354/ame020285>
- ❖ **Bradford, M.M. (1976).** A Rapid and Sensitive Method for the Quantization of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- ❖ **Cannell, R. J. P., Kellam, S. J., Owsianka, A. M., & Walker, J. M. (1988).** Microcystin-LR: The cyanobacterial toxin inhibits protein phosphatases 1 and 2A and disrupts the cytoskeleton of cells. *Toxicon*, 26(2), 189–197. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(88\)90125-3](https://doi.org/10.1016/0041-0101(88)90125-3)
- ❖ **Cao, Q., Wan, X., Shu, X., & Xie, L. (2019).** Bioaccumulation and detoxication of microcystin-LR in three submerged macrophytes: The important role of glutathione biosynthesis. *Chemosphere*, 225, 935-942.
- ❖ **Capelli, C. (2017).** Toxin-producing cyanobacteria in the large lakes south of the Alps: detection of new producers and molecular identification methods.
- ❖ **Cardellina, J. H., Marner, F. J., & Moore, R. E. (1979).** Seaweed dermatitis: structure of lyngbyatoxin A. *Science*, 204(4389), 193-195.
- ❖ **Carey, C. C., Ibelings, B. W., Hoffmann, E. P., Hamilton, D. P. & Brookes, J. D. (2012).** Ecophysiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. *Water research* 46, 1407–1394.



- ❖ **Carmichael, W. W. (1986).** Toxicity of cyanobacteria (blue-green algae). *Scientific American*, 254(6), 64–72. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0686-64>
- ❖ **Carmichael, W. W. (1992).** Cyanobacteria secondary metabolites—the cyanotoxins. *Journal of applied bacteriology*, 72(6), 445-459.
- ❖ **Carmichael, W. W. (1997).** The cyanotoxins. In *Advances in botanical research* (Vol. 27, pp. 211-256). Academic Press.
- ❖ **Carmichael, W. W. (2002).** Health effects of toxin producing cyanobacteria:" the cyanohabs". *RAPPORTI ISTISAN*, (9), 70-80.
- ❖ **Carmichael, W. W., 1994.** The toxins of cyanobacteria. *Sci Am* 270, 78-86.
- ❖ **Castenholz, R., Waterbury, J. (1989).** Group I. Cyanobacteria. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Edited by N. R. Krieg & J. G. Holt. Baltimore: Williams & Wilkins; 3: 1710–1728.
- ❖ **Cazenave, J., Wunderlin, D. A., Bistoni, M. A., Amé, M. V., Krause, E., Pflugmacher, S., & Wiegand, C. (2008).** Uptake, tissue distribution and accumulation of microcystin-RR in *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71(3), 590–600. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.10.008>
- ❖ **Chang, X., Eigemann, F., & Hilt, S. (2012).** Do macrophytes support harmful cyanobacteria? Interactions with a green alga reverse the inhibiting effects of macrophyte allelochemicals on *Microcystis aeruginosa*. *Harmful Algae*, 19, 76-84.
- ❖ **Chen, J., Han, F. X., Wang, F., Zhang, H., & Shi, Z. (2012).** Accumulation and phytotoxicity of microcystin-LR in rice (*Oryza sativa*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 76, 193–197. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.09.022>
- ❖ **Chen, J., Song, L., Dai, J., Gan, N., & Liu, Z. (2004).** Effects of microcystins on the growth and the activity of superoxide dismutase and peroxidase of rice (*Oryza sativa*). *Environmental Toxicology*, 19(6), 601–606. <https://doi.org/10.1002/tox.20079>
- ❖ **Chorus, I., & Bartram, J. (1999).** *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management*. E & FN Spon for the World Health Organization
- ❖ **Chen, J., Xie, P., Li, L., & Xu, J. (2012).** First identification of the hepatotoxic microcystins in the serum of a chronically exposed human population together with indication of hepatocellular damage. *Toxicological Sciences*, 125(2), 412–421. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr295>



- ❖ **Chen, J., Zhang, H., Han, Z., Ye, J., & Liu, Z. (2012).** The influence of aquatic macrophytes on *Microcystis aeruginosa* growth. *Ecological Engineering*, 42, 130-133.
- ❖ **Chen, J.Z., Song, L.R., Dai, J., Gan, N.Q., Liu, Z.L., 2004.** Effects of microcystins on the growth and the activity of superoxide dismutase and peroxidase of rape (*Brassica napus* L.) and rice (*Oryza sativa* L.). *Toxicon*. 43, 393-400.
- ❖ **Chen, W., & Xie, P. (2005).** Bioaccumulation of microcystins in aquatic plants and their effects on herbivores. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24(3), 615-621.
- ❖ **Cheung, M.Y., Liang, S., Lee, J., (2013).** Toxin-producing cyanobacteria in freshwater: a review of the problems, impact on drinking water safety, and efforts for protecting public health. *J. Microbiol.* 51, 1e10.
- ❖ **Chia, A. M., Oniye, S. J., Ladan, Z., Lado, Z., Pila, A. E., Inekwe, V. U. & Mmerole, J. U. (2009).** A survey for the presence of microcystins in aquaculture ponds in Zaria, Northern-Nigeria: Possible public health implication. *African Journal of Biotechnology*, 8(22), 6282–6289.
- ❖ **Chittick, B., Mahmood, N. A., Carmichael, W. W., & Andersen, R. J. (2002).** Isolation of microcystin-LR from a Lake Ontario bloom of *Microcystis aeruginosa* and its toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicon*, 40(6), 739–748.
[https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(01\)00277-1](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(01)00277-1)
- ❖ **Chorus, I., Bartram, J. (1999).** Toxic cyanobacteria in water: a guide to public health significance, monitoring and management. E & FN Spon/Chapman & Hall, London, united Kingdom, 416 p.
- ❖ **Codd, G. A., Morrison, L. F., & Metcalf, J. S. (2005).** Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicology and applied pharmacology*, 203(3), 264-272.
- ❖ **Codd, G. A., Morrison, L. F., & Metcalf, J. S. (2005).** Cyanobacterial toxins: Risk management for health protection. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 203(3), 264–272.
- ❖ **Colares, M. N., Delucchi, G., & Novoa, M. C. (1997).** Anatomy and Ethnobotany of Medicinal Species of Monocotyledons from Pampean Steppe: Alismataceae, Araceae, and Arecaceae. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, 16, 137-144.
- ❖ **Colyer, C. L., Kinkade, C. S., Viskari, P. J., & Landers, J. P. (2005).** Analysis of cyanobacterial pigments and proteins by electrophoretic and chromatographic methods. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 382, 559-569.



- ❖ **Cook-Greuter, S. R. (2000).** Mature ego development: A gateway to ego transcendence. *Journal of Adult Development*, 7(4), 227-240.
- ❖ **Corbel, S., Mougin, C., & Bouaïcha, N. (2014).** Cyanobacterial toxins: Modes of action and effects on human health. *Environmental Toxicology*.
- ❖ **Couté, A., & Bernard, C. (2001).** Les cyanobactéries toxiques. Toxines d'algues dans l'alimentation, Ed. Ifremer, Paris, 89-108.
- ❖ **Cox, P. A., Banack, S. A., Murch, S. J., Rasmussen, U., Tien, G., Bidigare, R. R., Metcalf, J. S., Morrison, L. F., Codd, G. A. & Bergman, B., (2005).** Diverse taxa of cyanobacteria produce beta Nmethylamino- L-alanine, a neurotoxic amino acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 5074–5078.
- ❖ **Dawson, R. M. (1998).** The toxicology of microcystins. *Toxicon*, 36(7), 953–962. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(97\)00102-5](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(97)00102-5)
- ❖ **De Boutray, M.-L., Maghsoudi, E., Ndong, M., and Dorner, S. (2017).** Revue de littérature sur les cyanotoxines dans les milieu aquatiques d'eau douces : leurs effets potentiels sur la santé des usagers et les critères ou seuils d'alerte de toxicité chronique et aiguë. Polytechnique de Montréal, Montréal.
- ❖ **De Figueiredo, D. R., Azeiteiro, U. M., Esteves, S. M., Gonçalves, F. J. M., & Pereira, M. J. (2004).** Microcystin-producing blooms – A serious global public health issue. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59(2), 151–163. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.04.006>
- ❖ **De Reviers, B. (2003).** Biologie et phylogénie des algues. *Belin*, Paris. Collection Sup Sciences. Tome 2: 255p.
- ❖ **Delaney, J. M., & Wilkins, R. M. (1995).** Toxicity of microcystin-LR, isolated from *Microcystis aeruginosa*, against various insect species. *Toxicon*, 33(6), 771-778.
- ❖ **Den Hollander, N. G., Schenk, I. W., Diouf, S., Kropff, M. J., & Pieterse, A. H. (1999).** Survival strategy of *Pistia stratiotes* L. in the Djoudj National Park in Senegal. In *Biology, Ecology and Management of Aquatic Plants: Proceedings of the 10th International Symposium on Aquatic Weeds*, European Weed Research Society (pp. 21-27). Springer Netherlands.
- ❖ **Dhote, S., & Dixit, S. (2009).** Water quality improvement through macrophytes—a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 152, 149-153.
- ❖ **Díez-Quijada L., M.Puerto,D. Gutiérrez-Praena,M.Llana-Ruiz-Cabello, A. Jos, A.M. Cameán. (2019).** Microcystin-RR: Occurrence, content in water and food and



toxicological studies. A review. *Environmental Research* 168, 2019, Pages 467-489.

<https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.07.019>

- ❖ **Dittmann, E., & Wiegand, C. (2006).** Cyanobacterial toxins—Occurrence, biosynthesis and impact on human affairs. *Molecular Nutrition & Food Research*, 50(1), 7–17. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200500162>
- ❖ **Dixon, M. B., Falconet, C., Ho, L., Chow, C. W. K., & Newcombe, G. (2004).** Removal of cyanobacterial metabolites by nanofiltration from two treated waters. *Journal of Hazardous Materials*, 108(1–2), 183–192. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2004.02.027>
- ❖ **Dokulil, M. T., & Teubner, K. (2000).** Cyanobacterial dominance in lakes. *Hydrobiologia*, 438, 1–12. <https://doi.org/10.1023/A:1004155810302>
- ❖ **Dray, F. A. and Center, T. D. (1989).** "Seed Production by *Pistia-Stratiotes* L (Water Lettuce)
- ❖ **Duarte, C. M., Uri, J. S., Agawin, N. S. R., Fortes, M. D., Vermaat, J. E., & Marba, N. (1997).** Flowering frequency of Philippine seagrasses.
- ❖ **El Bouaidi, W., Naimi, Y., & El Hammoumi, A. (2022).** Adsorbents used for microcystin removal from water: A comprehensive review. *Processes*, 10(7), 1302. <https://doi.org/10.3390/pr10071302>
- ❖ **El Ghazali, I., Aboal, M., & Nasri, H. (2009).** Microcystin accumulation in fish and mussels from the Hammam Debagh reservoir (Algeria). *Environmental Toxicology*, 24(4), 415–422. <https://doi.org/10.1002/tox.20446>
- ❖ **El Ghazali, I., Saqrane, S., Saker, M., Youness, O., Oudra, B., Vasconcelos, V., & Del Campo, F. (2011).** Caractérisation biochimique et moléculaire d'efflorescences à cyanobactéries toxiques dans le réservoir Lalla Takerkoust (Maroc). *Revue des sciences de l'eau*, 24(2), 117–128. <https://doi.org/10.7202/1006106ar>
- ❖ **El Herry, S., Fathalli, A., Jenhani Ben Rejeb, A., & Bouaïcha, N. (2009).** Seasonal occurrence and toxicity of *Microcystis spp.* and *Oscillatoria tenuis* in the Lebna dam, Tunisia. *Water Research*, 42, 1263–1273.
- ❖ **El Herry, S., Fathalli, A., Jenhani-Ben Rejeb, A., & Bouaïcha, N. (2008).** Seasonal occurrence and toxicity of *Microcystis spp.* and *Oscillatoria tenuis* in the Lebna Dam, Tunisia. *Water Research*, 42(4–5), 1263–1273. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.09.019>



- ❖ **Elakovich, S. D., & Wooten, J. W. (1987).** An examination of the phytotoxicity of the water shield, *Brasenia schreberi*. *Journal of Chemical Ecology*, 13(9), 1935–1940. <https://doi.org/10.1007/BF01014676>
- ❖ **Falconer, I. R. (1996).** Potential impact on human health of toxic cyanobacteria. *Phycologia*, 35(sup6), 6-11.
- ❖ **Falconer, I. R., & Humpage, A. R. (2006).** Cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water supplies: *Cylindrospermopsins*. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 21(4), 299-304.
- ❖ **Falconer, I., Bartram, J., Chorus, I., Kuiper-Goodman, T., Utkilen, H., Burch, M., & Codd, G. A. (1999).** Safe levels and safe practices. *Toxic cyanobacteria in water*, 155-178.
- ❖ **Fatima, M., Ahmad, I., Sayeed, I., Athar, M., Raisuddin, S. (2000).** Pollutant-induced overactivation of phagocytes is concomitantly associated with peroxidative damage in fish tissues. *Aquatic Toxicology*, 49, 243–250. DOI: 10.1016/S0166-445X(99)00086-7
- ❖ **Fawell, J. K., Mitchell, R. E., Hill, R. E., & Everett, D. J. (1999).** The toxicity of cyanobacterial toxins in the mouse: II anatoxin-a. *Human & experimental toxicology*, 18(3), 168-173.
- ❖ **Ferrão-Filho, A. D. S., & Kozlowsky-Suzuki, B. (2011).** Cyanotoxins: Bioaccumulation and effects on aquatic animals. *Marine Drugs*, 9(12), 2729–2772. <https://doi.org/10.3390/md9122729>
- ❖ **Ferreira, F. M., Vasconcelos, V. M., Antunes, A., & Cunha, Â. (2001).** Effects of microcystin variants (MC-LR, MC-RR and MC-YR) on heterotrophic bacterial isolates from Portuguese reservoirs. *Environmental Toxicology*, 16(1), 33–39. [https://doi.org/10.1002/1522-7278\(2001\)16:1](https://doi.org/10.1002/1522-7278(2001)16:1)
- ❖ **Fischer, W. J., Altheimer, S., Cattori, V., Meier, P. J., Dietrich, D. R., Hagenbuch, B., & Ernst, B. (2010).** Organic anion transporting polypeptides expressed in liver and brain mediate uptake of microcystin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 245(1), 9–20. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2010.02.0>
- ❖ **Flores-Rojas, N. C., Esterhuizen-Londt, M., & Pflugmacher, S. (2019).** Uptake, growth, and pigment changes in *Lemna minor* L. exposed to environmental concentrations of cylindrospermopsin. *Toxins*, 11(11), 650.



- ❖ **Fogem. (1996).** Fonctionnement et gestion des écosystèmes marins : Le protocole de surveillance FOGEM. La surveillance FOGEM des zones humides côtières du Languedoc-Roussillon. Annexe 2000–2005 (7 p.).
- ❖ **Francis, G. (1878).** Poisonous Australian lake. *Nature*, 18(444), 11–12.
<https://doi.org/10.1038/018011c0>
- ❖ **Frazier, K., Colvin, B. M., Styer, E. L., Hullinger, G., Frayer, W. W., & Powell, M. (1998).** Microcystin toxicosis in cattle due to the ingestion of blue-green algae. *Veterinary and Human Toxicology*, 40(1), 23–24.
- ❖ **Funari, E., & Testai, E. (2008).** Human health risk assessment related to cyanotoxins exposure. *Critical reviews in toxicology*, 38(2), 97-125.
- ❖ **Ganf, G. G., Heaney, S. I., & Corry, J. (1991).** Light absorption and pigment content in natural populations and cultures of a non-gas vacuolate cyanobacterium *Oscillatoria bourrellyi* (= *Tychomema bourrellyi*). *Journal of plankton research*, 13(5), 1101-1121.
- ❖ **Gao, Y. N., Liu, B. Y., & Ge, F. J. (2011).** Phenolic compounds exuded from two submerged freshwater macrophytes and their allelopathic effects on *Microcystis aeruginosa*. *Polish Journal of Environmental Studies*, 20(5), 1153–1159.
- ❖ **Gehring, M. M., Wannicke, N., & Kaebernick, M. (2003).** The role of microcystin in cyanobacteria: Biological significance and implications for human health. *Phycologia*, 42(3), 234–241.
- ❖ **Geider, R.J., Osborne, B.A., 1992.** *Algal Photosynthesis*. Chapman&Hall, New York.
- ❖ **Gijsbertsen-Abrahamse, A. J., Schmidt, W., Chorus, I., & Heijman, S. G. J. (2006).** Removal of cyanobacteria and cyanotoxins by ultrafiltration. *Desalination*, 191(1–3), 107–114 <https://doi.org/10.1016/j.desal.2005.07.010>
- ❖ **Godfrey, R. K. (1981).** *Aquatic and wetland plants of southeastern United States: Dicotyledons (Vol. 2)*. University of Georgia Press.
- ❖ **Greenfield, D. I., Duquette, A., Goodson, A., Keppler, C. J., Williams, S. H., Brock, L. M., Stackley, K. D., White, D., & Wilde, S. B. (2014).** The effects of three chemical algaecides on cell numbers and toxin content of the cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* and *Anabaenopsis* sp. *Journal of Environmental Management*, 54(4), 1110–1120.
- ❖ **Gross, E. M., Erhard, D., & Iványi, E. (2003).** Allelopathic activity of *Ceratophyllum demersum* L. and *Najas marina* ssp. *intermedia* (Wolfgang) Casper.



Hydrobiologia, 506(1–3), 583–589.
<https://doi.org/10.1023/B:HYDR.00000008541.04318.45>

- ❖ **Grossman, A. R., Bhaya, D., & He, Q. (2001).** Tracking the light environment by cyanobacteria and the dynamic nature of light harvesting. *Journal of Biological Chemistry*, 276(15), 11449-11452.
- ❖ **Gumbo, R. J., Ross, G., & Cloete, E. T. (2008).** Gumbo, R. J., Ross, G., & Cloete, E. T. (2008). Biological control of *Microcystis* dominated harmful algal blooms. *African Journal of Biotechnology*, 7(25).
- ❖ **Ha, M. H., & Pflugmacher, S. (2013).** Time-dependent alterations in growth, photosynthetic pigments and enzymatic defense systems of submerged *Ceratophyllum demersum* during exposure to the cyanobacterial neurotoxin anatoxin-a. *Aquatic toxicology*, 138, 26-34.
- ❖ **Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B. (1974).** Glutathione-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249, 7130-7139. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)42169-24
- ❖ **Haida, S., Takahashi, E., Doi, Y., & Nakamura, H. (2024).** Biodegradation of microcystins by novel *Sphingomonas* and *Shinella* strains carrying the *mlrA* gene. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(2), 745–758.
<https://doi.org/10.1007/s00253-024-13012-9>
- ❖ **Hall, J. B., & Okali, D. U. U. (1974).** Phenology and productivity of *Pistia stratiotes* L. on the Volta Lake, Ghana. *Journal of Applied Ecology*, 709-725.
- ❖ **Hamvas, M., Máthé, C., Vasas, G., & Borbély, G. (2003).** Cytotoxic effects of microcystin-LR on *Vicia faba* root tip cells. *Acta Biologica Hungarica*, 54(1), 1–9.
<https://doi.org/10.1556/ABiol.54.2003.1.1>
- ❖ **Harbi, N. (2016).** Structure et écologie des Sarcelles d’hiver (*Anas crecca crecca*) hivernant au niveau du Lac des Oiseaux et du Marais de la Mékhada (Wilaya d’El-Tarf). Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar – Annaba, Algérie.
- ❖ **Harley, K. L. S. (1990).** Production of viable seeds by water lettuce, *Pistia stratiotes* L., in Australia. *Aquatic botany*, 36(3), 277-279.
- ❖ **He, L. S., Meng, F. L., Diao, X. J., Li, Y. W., Meng, R., Xi, B. D., & Shu, J. M. (2013).** Allelopathic effect of *Nelumbo nucifera* stem and leaf tissue extract on the growth of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus quadricauda*. *Huan Jing Ke Xue [Environmental Science]*, 34(7), 2637–2641.



- ❖ **Hereman, T. C., & Bittencourt-Oliveira, M. C. (2012).** Bioaccumulation of microcystins in the food web of a tropical eutrophic reservoir. *Toxicon*, 60(4), 603–610. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.04.345>
- ❖ **Herrero, A., & Flores, E. (2008).** The cyanobacteria: molecular biology, genomics, and evolution. p. 1–19, Caister Academic Press, Norfolk.
- ❖ **Hill, M. P. (2003).** The impact and control of alien aquatic vegetation in South African aquatic ecosystems. *African Journal of Aquatic Science*, 28(1), 19-24.
- ❖ **Hilt, S., & Gross, E. M. (2008).** Can allelopathically active submerged macrophytes stabilise clear-water states in shallow lakes?. *Basic and applied ecology*, 9(4), 422-432.
- ❖ **Holm, L. G., Plucknett, D. L., Pancho, J. V., & Herberger, J. P. (1977).** The world's worst weeds: Distribution and biology. Honolulu, HI: University Press of Hawaii.
- ❖ **Houhamdi, M. (1998).** Ecologie du Lac des Oiseaux : cartographie, palynothèque et utilisation de l'espace par l'avifaune aquatique. Magister thesis, University of Annaba, Algeria.
- ❖ **Houhamdi, M. (2002).** Écologie des peuplements aviens du Lac des Oiseaux (Numidie orientale) (Thèse de doctorat). Université d'Annaba.
- ❖ **Huisman, J., Codd, G. A., Paerl, H. W., Ibelings, B. W., Verspagen, J. M. H., & Visser, P. M. (2018).** Cyanobacterial blooms. *Nature Reviews Microbiology*, 16(8), 471–483. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0040-1>
- ❖ **Hussner, A. (2014).** Long-term macrophyte mapping documents a continuously shift from native to non-native aquatic plant dominance in the thermally abnormal River Erft (North Rhine-Westphalia, Germany). *Limnologia*, 48, 39-45.
- ❖ **Ibelings, B. W., & Chorus, I. (2007).** Accumulation of cyanobacterial toxins in freshwater “seafood” and its consequences for public health: A review. *Environmental pollution*, 150(1), 177-192. in the United-States." *Aquatic Botany* 33(1-2): 155-160.
- ❖ **Ishikawa, K., M. Kumagai, W. F. Vincent, S. Tsujimura Et H. Nakahara. (2002).**Transport and accumulation of bloom-forming cyanobacteria in a large, midlatitude lake: The gyre-Microcystis hypothesis. *Limnology* 3: 87-96.
- ❖ **Jäger, C. G., Diehl, S., & Schmidt, G. M. (2008).** Influence of water-column depth and mixing on phytoplankton biomass, community composition, and nutrients. *Limnology and Oceanography*, 53(6), 2361–2373. <https://doi.org/10.4319/lo.2008.53.6.2361>



- ❖ **Jang, M. H., Ha, K., & Takamura, N. (2007).** Reciprocal allelopathic responses between toxic cyanobacteria (*Microcystis aeruginosa*) and duckweed (*Lemna japonica*). *Toxicon*, 49(6), 727–733. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2006.11.021>
- ❖ **Jasser, I. (1994).** Influence of *Ceratophyllum demersum* on phytoplankton community in experimental conditions. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen*, 25(4), 2291-2295.
- ❖ **Jasser, I. (1995).** The influence of macrophytes on a phytoplankton community in experimental conditions. *Hydrobiologia*, 306, 21–32. <https://doi.org/10.1007/BF00007855>
- ❖ **Jeppesen, E., Søndergaard, M., Kanstrup, E., Petersen, B., Henriksen, R., & Hammershøj, M. (2005).** The role of submerged macrophytes in shallow lakes. *Advances in Limnology*, 54, 117–130.
- ❖ **Jiang, J. L., Gu, X. Y., Song, R., Wang, X. R., & Yang, L. Y. (2011).** Microcystin-LR induced oxidative stress and ultrastructural alterations in mesophyll cells of submerged macrophyte *Vallisneria natans* (Lour.) Hara. *Journal of Hazardous Materials*, 190(1–3), 188–196. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.03.023>
- ❖ **Jungblut, A. D., Hawes, I., Mountfort, D., Hitzfeld, B., Dietrich, D. R., Burns, B. P., & Neilan, B. A. (2005).** Diversity within cyanobacterial mat communities in variable salinity meltwater ponds of McMurdo Ice Shelf, Antarctica. *Environmental microbiology*, 7(4), 519-529.
- ❖ **Kaebnick, M., & Neilan, B. A. (2001).** Ecological and molecular investigations of cyanotoxin production. *FEMS Microbiology Ecology*, 35(1), 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2001.tb00782>
- ❖ **Kamiński, A., Bober, B., Chrapusta-Srebrny, E., & Bialczyk, J. (2014).** Phytoremediation of anatoxin-a by aquatic macrophyte *Lemna trisulca* L. *Chemosphere*, 112, 305–310. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.04.064>
- ❖ **Kan J et Song S. (2008).** Effects of dehydration, chilling, light, phytohormones and nitric oxide on germination of *P. stratiotes* seeds. *Seed Science and Technology* 36, 38–45.
- ❖ **Kenefick, S. L., Hrudey, S. E., Peterson, H. G., & Prepas, E. E. (1993).** Toxin release from *Microcystis aeruginosa* after chemical treatment. *Water Science and Technology*, 24(3–4), 865–875. <https://doi.org/10.2166/wst.1993.0612>



- ❖ **Khan, A., Rahman, M., & Ali, S. (2021).** Rapid bioaccumulation of microcystins in aquatic macro-phytes. *Environmental Science & Technology*, 55(12), 7486-7495. DOI: 10.1021/es2034762
- ❖ **Khedr, A. H. (1998).** Environmental Influences on the Distribution and Abundance of Waterlettuce (*Pistia stratiotes* L.) in Egypt. *Limnologica. Jena*, 28(4), 387-393.
- ❖ **Kokwaro, J. O. (1976).** Médicinal plants of East Africa and African littérature. Kampala, B.
- ❖ **Komarek, J. (2006)** .Cyanobacterial Taxonomy: Current Problems and Prospects for the Integration of Traditional and Molecular Approaches. *ALGAE* 21(4), 349-375.
- ❖ **Komárek, J. (2013).** Cyanoprokaryota. 3. Heterocytous genera. – In: Büdel B., Gärtner G., Krienitz L. & Schagerl M. (eds), Süswasserflora von Mitteleuropa/Freshwater flora of Central Europe, Springer Spektrum Berlin, Heidelberg, p. 1130.
- ❖ **Komárek, J. (2014).** Phenotypic and ecological diversity of freshwater coccoid cyanobacteria from maritime Antarctica and Islands of NW Weddell Sea . II . Jiří Komárek. *Czech Polar Reports*, 4(1), 17–39.
- ❖ **Kotak, B. G., Kenefick, S. L., Fritz, D. L., Rousseaux, C. G., Prepas, E. E., & Hrudey, S. E. (1993).** Occurrence and toxicological evaluation of cyanobacterial toxins in Alberta lakes and farm dugouts. *Water research*, 27(3), 495-506.
- ❖ **Krienitz, L., Ballot, A., Kotut, K., Wiegand, C., Pütz, S., Metcalf, J. S., Codd, G. A., & Pflugmacher, S. (2003).** Contribution of toxic cyanobacteria to the mortality of lesser flamingos at Lake Bogoria, Kenya. *Hydrobiologia*, 490(1–3), 255–260. <https://doi.org/10.1023/A:1023485401382>
- ❖ **Kulabhusan, P. K., Kumar, A., & Singh, N. (2024).** Physico-chemical treatments for the removal of cyanotoxins: A comprehensive review. *Environmental Technology & Innovation*, 35, 103297. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2023.103297>
- ❖ **Kulshreshtha, M. (1982).** Comparative ecological studies on two species of *Ceratophyllum*. In *Proceedings of the 6th EWRS International Symposium on Aquatic Weeds* (pp. 29–36).
- ❖ **Kurmayer, R., Dittmann, E., Fastner, J., & Chorus, I. (2002).** Diversity of microcystin genes within a population of the toxic cyanobacterium *Microcystis spp.* in lake Wannsee (Berlin, Germany). *Microbial Ecology*, 107-118.
- ❖ **Kurugundla CN. (2014)** .Seed dynamics and control of *P. stratiotes* in two aquatic systems in Botswana. *African Journal of Aquatic Science* 39, 209–214.



- ❖ **Kusumi, T., Ooi, T., Watanabe, M. F., Watanabe, M., & Kakisawa, H. (1987).** Isolation and structural identification of microcystins, the hepatotoxic cyclic peptides from *Microcystis aeruginosa*. *Tetrahedron Letters*, 28(43), 5327–5330. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)90587-3](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)90587-3)
- ❖ **Kwon, S. H., Na, H. R., Jung, J. D., Baek, N. I., Park, S. K., & Choi, H. K. (2012).** A comparison of radical scavenging activity and cyanobacteria growth inhibition of aquatic vascular plants. *Korean Journal of Ecology and Environment*, 45(1), 11-20
- ❖ **Lam, A. K. Y., Prepas, E. E., Spink, D., & Hrudey, S. E. (1995).** Chemical control of hepatotoxic phytoplankton blooms: Implications for human health. *Water Research*, 29(8), 1845–1854. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)00315-H](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)00315-H)
- ❖ **Lampert, W. (1987).** Laboratory studies on zooplankton–cyanobacteria interactions. In W. W. Carmichael (Ed.), *The biology of cyanobacteria* (pp. 415–436). Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- ❖ **Lance, E., Brient, L., & Gérard, C. (2008).** Interrelations between cyanobacteria and gastropods: Implications in the transfer of cyanotoxins. *Toxicon*, 51(2), 541–553. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2007.09.015>
- ❖ **Lance, E., Brient, L., Bormans, M., & Gérard, C. (2007).** Efficacité du transfert des cyanotoxines dans la chaîne alimentaire aquatique. *Environmental Toxicology*, 22(4), 509–515.
- ❖ **Lapage, S. P., Sneath, P. H. A., Lessel, E. F., Skerman, V. B. D., Seeliger, H. P. R., & Clark, W. A. (1992).** International code of nomenclature of bacteria: bacteriological code, 1990 revision.
- ❖ **Lavoie, I., Laurion, I., Warren, A., & Vincent, W. (2007).** Les fleurs d'eau de cyanobactéries : Revue de littérature.
- ❖ **Lawton, L. A., & Robertson, P. K. J. (1999).** Physico-chemical treatment methods for the removal of microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) from potable waters. *Chemical Society Reviews*, 28(4), 217–224.
- ❖ **Lembi, C. A. (2009).** Identifying and Managing Aquatic Vegetation (Publication APM-3-W). Purdue University Extension, Department of Botany and Plant Pathology, West Lafayette, IN. les algues bleues et rouges, les Euglénies, Péridiniens et Cryptomonadines. Ed. Boubée et Cie, 512P.
- ❖ **Les, D. H. (1986).** The phytogeography of *Ceratophyllum demersum* and *C. echinatum* (Ceratophyllaceae) in glaciated North America. *Canadian Journal of Botany*, 64(3), 498–509. doi:10.1139/b86-064



- ❖ **Leu, E., Krieger-Liszkay, A., Goussias, C., & Gross, E. M. (2002).** Polyphenolic allelochemicals from the aquatic angiosperm *Myriophyllum spicatum* inhibit photosystem II. *Plant physiology*, 130(4), 2011-2018.
- ❖ **Li, B., Yin, Y., Kang, L., Feng, L., Liu, Y., Du, Z., ... & Zhang, L. (2021).** A review: application of allelochemicals in water ecological restoration——algal inhibition. *Chemosphere*, 267, 128869.
- ❖ **Li, Q., Gu, P., Zhang, H., Luo, X., Zhang, J., & Zheng, Z. (2020).** Response of submerged macrophytes and leaf biofilms to the decline phase of *Microcystis aeruginosa*: Antioxidant response, ultrastructure, microbial properties, and potential mechanism. *Science of the Total Environment*, 699, 134325.
- ❖ **Liu, X., & Du, G. S. (2002).** Phytoplankton and the controlling of eutrophication of water body. *Journal of Capital Normal University (Natural Science Edition)*, 23(4), 56–59.
- ❖ **MacKintosh, F. C., Safran, S. A., & Pincus, P. A. (1990).** Self-assembly of linear aggregates: the effect of electrostatics on growth. *Europhysics Letters*, 12(8), 697.
- ❖ **Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (2000).** Brock biology of microorganism's prentice hall. *Inc. Upper Saddle River, New Jersey*, 102-112.
- ❖ **Madsen, J. D. (2009).** Aquatic plant management and water quality. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 12(2), 137–144.
- ❖ **Madsen, J. D., & Brix, H. (1998).** Growth characteristics, biomass allocation and nutrient dynamics of submerged aquatic macrophytes. *Environmental and Experimental Botany*, 40(3), 203–210.
- ❖ **Magalhães, V. F., Soares, R. M., & Azevedo, S. M. F. O. (2001).** Microcystin contamination in fish from the Jacarepaguá Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): Ecological implication and human health risk. *Toxicon*, 39(7), 1077–1085. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(00\)00251-8](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(00)00251-8)
- ❖ **Mainstone, C. P., & Parr, W. (2002).** Phosphorus in rivers—ecology and management. *Science of the total environment*, 282, 25-47.
- ❖ **Marklund, S., & Marklund, G. (1974).** Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, 47(3), 469–474. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1974.tb08069.x>



- ❖ **Mason, C. P., Edwards, K. R., Carlson, R. E., Pignatello, J., Gleason, F. K. & Wood, J. M. (1982).** Isolation of a chlorine-containing antibiotic from the freshwater cyanobacterium *Scytonema hofmanni*. *Science*, 215, 400–402.
- ❖ **Matsunaga, S., Fusetani, N., Hashimoto, K., & Noma, M. (1999).** Structural determination of new microcystins from cyanobacteria. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 47(2), 273–276. <https://doi.org/10.1248/cpb.47.273>
- ❖ **Mayo, S. J., Bogner, J., & Boyce, P. C. (1997).** The Genera of Araceae. Royal Botanic Gardens, Kew.
- ❖ **McBarron, E. J., & May, V. (1966).** Poisoning of sheep in New South Wales by the blue-green alga *Anacystis cyanea* (Kuetz.) Dr. and Dail. *Australian Veterinary Journal*, 42(12), 449–453. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1966.tb04799.x>
- ❖ **McNeill, J., Barrie, F. R., Burdet, H. M., Demoulin, V., Hawksworth, D. L., Marhold, K., Nicolson, D. H., Prado, J., Silva, P. C., Skog, J. E., Wiersema, J. H., & Turland, N. J. (Eds.). (2006).** International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code): Adopted by the Seventeenth International Botanical Congress Vienna, Austria, July 2005. Ruggell, Liechtenstein: A. R. G. Gantner Verlag.
- ❖ **Merel, S., Walker, D., Chicana, R., Snyder, S., Baurès, E., & Thomas, O. (2013).** State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. *Environment International*, 59, 303–327. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.06.013>
- ❖ **Metcalf, J. S., & Codd, G. A. (2012).** Cyanotoxins. In *Ecology of cyanobacteria II: their diversity in space and time* (pp. 651-675). Dordrecht: Springer Netherlands.
- ❖ **Mishima, D., Kuniki, M., Sei, K., Soda, S., Ike, M., & Fujita, M. (2008).** Ethanol production from candidate energy crops: water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and water lettuce (*Pistia stratiotes* L.). *Bioresource technology*, 99(7), 2495-2500.
- ❖ **Mishra, V. K., & Tripathi, B. D. (2008).** Concurrent removal and accumulation of heavy metals by the three aquatic macrophytes. *Bioresource technology*, 99(15), 7091-7097.
- ❖ **Mitrovic, S. M., Allis, O., Furey, A., & James, K. J. (2005).** Bioaccumulation and harmful effects of microcystin-LR in the aquatic plants *Lemna minor* and *Wolffia arrhiza* and the filamentous alga *Chladophora fracta*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 61(3), 345-352.
- ❖ **Mjelde M & Faafeng A.B. (1997).** *Ceratophyllum demersum* hampers phytoplankton development in some small Norwegian lakes over a wide range of phosphorus concentrations and geographical latitude 37; 355 -365p



- ❖ **Mohamed, Z. A., & Carmichael, W. W. (2007).** Microcystin production in benthic mats of cyanobacteria in the Nile River and irrigation canals, Egypt. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 52(3), 489–495.
<https://doi.org/10.1007/s00244-006-0140-1>
- ❖ **Mohamed, Z. A., Deyab, M. A., Abou-Dobara, M. I., El-Sayed, A. K., & El-Raghi, W. M. (2015).** Occurrence of cyanobacteria and microcystin toxins in raw and treated waters of the Nile River, Egypt: Implication for water treatment and human health. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(15), 11716–11727.
<https://doi.org/10.1007/s11356-015-4393-7>
- ❖ **Mulderij, G., Mooij, W. M., Smolders, A. J. P., & Van Donk, E. (2005).** Allelopathic inhibition of phytoplankton by exudates from *Stratiotes aloides*. *Aquatic Botany*, 82(4), 284-296.
- ❖ **Mur, L. R., Skulberg, O. M., & Utkilen, H. (1999).** Cyanobacteria in the environment. In I. Chorus & J. Bartram (Eds.), *Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management* (pp. 41–111). E & FN Spon on behalf of the World Health Organization.
- ❖ **Nakai, S., Inoue, Y., & Hosomi, M. (1999).** Growth inhibition of blue-green algae by allelopathic effects of macrophytes. *Water Science and Technology*, 39(8), 47–53.
[https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(99\)00230-9](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(99)00230-9)
- ❖ **Nakai, S., Inoue, Y., Hosomi, M., & Murakami, A. (2012).** Allelopathic potential of submerged macrophytes on phytoplankton: Effects on growth, pigment, and intracellular oxidative stress. *Aquatic Botany*, 106, 11–20.
- ❖ **Nakai, S., Zou, G., Okuda, T., Nishijima, W., Hosomi, M., & Okada, M. (2012).** Polyphenols and fatty acids responsible for anti-cyanobacterial allelopathic effects of submerged macrophyte *Myriophyllum spicatum*. *Water Science and Technology*, 66(5), 993-999
- ❖ **Nasri, H., Bouaïcha, N., & Harche, M. K. (2007).** A new morphospecies of *Microcystis* sp. forming bloom in the Cheffia dam (Algeria): Seasonal variation of microcystin concentrations in raw water and their removal in a full-scale treatment plant. *Environmental Toxicology: an International Journal*, 22(4), 347-356.
- ❖ **Neilan, B. A., Pearson, L. A., Muenchhoff, J., Moffitt, M. C., & Dittmann, E. (2013).** Environmental conditions that influence toxin biosynthesis in cyanobacteria. *Environmental microbiology*, 15(5), 1239-1253.



- ❖ **Nimptsch, J., Wiegand, C., & Pflugmacher, S. (2008).** Cyanobacterial toxin elimination via bioaccumulation of MC-LR in aquatic macrophytes: An application of the “Green Liver Concept”. *Environmental science & technology*, 42(22), 8552-8557.
- ❖ **OEHHA (Office of Environmental Health Hazard Assessment). (2009).** Cyanobacterial toxins: Microcystins and their impact on aquatic ecosystems. California Environmental Protection Agency. Retrieved from <https://oehha.ca.gov>
- ❖ **Ohtani I. et Moore RE. 1992.** Cylindrospermopsin : a potent hepatotoxin from the blue-green algae *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Journal of American Chemical Society* 114: 7941–7942
- ❖ **Oluwalana, O. M., Omole, D. O., Ndambuki, J. M., Akinyemi, L. B., & Oluwalana, O. O. (2022).** Floating wetlands for sustainable drainage wastewater treatment. *Sustainability*, 14(10), 6101. <https://doi.org/10.3390/su14106101>
- ❖ **Onodera, H., Oshima, Y., Henriksen, P., & Yasumoto, T. (1997).** Confirmation of anatoxin-a (s), in the cyanobacterium *Anabaena lemmermannii*, as the cause of bird kills in Danish lakes. *Toxicon*, 35(11), 1645-1648.
- ❖ **Oren, A., & Tindall, B. J. (2005).** Nomenclature of the Cyanophyta/Cyanobacteria/Cyanoprokaryotes under the International Code of Nomenclature of Prokaryotes. *Algological Studies*, 117, 39–52.
- ❖ **Orr, P. T., & Jones, G. J. (1998).** Relationship between microcystin production and cell division rates in nitrogen-limited *Microcystis aeruginosa* cultures. *Limnology and oceanography*, 43(7), 1604-1614.
- ❖ **Otsuka, T., Fujimoto, R., Utsuno, Y., Brown, B. A., Honma, M., & Mizusaki, T. (2001).** Magic numbers in exotic nuclei and spin-isospin properties of the NN interaction. *Physical Review Letters*, 87(8), 082502.
- ❖ **Oudra, B., Andaloussi, M. D. & Vasconcelos, V. M. (2009).** Identification and quantification of microcystins from a *Nostoc muscorum* bloom occurring in Oukaïmeden River (High-Atlas mountains of Marrakech, Morocco). *Environ. Monit. Assess.* 149 (1– 4), 437–444.
- ❖ **Oustaka-Gouni, M., & Sommer, U. (2020).** Effects of harmful blooms of large-sized and colonial cyanobacteria on aquatic food webs. *Water*, 12(6), Article 1587. <https://doi.org/10.3390/w12061587>
- ❖ **Paerl, H. W., Hall, N. S., & Calandrino, E. S. (2011).** Controlling harmful cyanobacterial blooms in a world experiencing anthropogenic and climatic-induced change. *Science of the total environment*, 409(10), 1739-1745.



- ❖ **Pakdel, F. M., Sim, L., Beardall, J., & Davis, J. A. (2013).** Allelopathic inhibition of microalgae by the freshwater stonewort, *Chara australis*, and a submerged angiosperm, *Potamogeton crispus*. *Aquatic Botany*, 110, 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2013.04.005>
- ❖ **Parsons, W. T., & Cuthbertson, E. G. (2001).** Noxious weeds of Australia. CSIRO publishing.
- ❖ **Pflugmacher, S. (2002).** Possible allelopathic effects of cyanotoxins, with reference to microcystin-LR, in aquatic ecosystems. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 17(4), 407-413.
- ❖ **Pflugmacher, S. (2004).** Promotion of oxidative stress in the aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum* during biotransformation of the cyanobacterial toxin microcystin-LR. *Aquatic Toxicology*, 70(3), 169-178.
- ❖ **Pflugmacher, S. (2004).** Promotion of oxidative stress in the aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum* during biotransformation of the cyanobacterial toxin microcystin-LR. *Aquatic Toxicology*, 70(3), 169–178. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.06.010>
- ❖ **Pflugmacher, S., Codd, G. A., & Steinberg, C. E. (1999).** Effects of the cyanobacterial toxin microcystin-LR on detoxication enzymes in aquatic plants. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 14(1), 111-115.
- ❖ **Pflugmacher, S., Codd, G. A., & Steinberg, C. E. W. (2006).** Effects of cyanobacterial toxins and cyanobacterial cell extracts on germination of higher plants. *New Phytologist*, 158(3), 483–490. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00760.x>
- ❖ **Pflugmacher, S., Wiegand, C., Beattie, K. A., Codd, G. A., & Steinberg, E. W. (1998).** Uptake of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR by aquatic macrophytes. *Journal of applied botany*, 72, 228-232.
- ❖ **Pflugmacher, S., Wiegand, C., Beattie, K. A., Krause, E., Steinberg, C. E., & Codd, G. A. (1998).** Identification of an enzymatically formed glutathione conjugate of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR: The first step of detoxication. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 248(3), 467-472.
- ❖ **Pham, T. L., & Utsumi, M. (2018).** An overview of the accumulation of microcystins in aquatic ecosystems. *Journal of environmental management*, 213, 520-529.
- ❖ **Pitois, S. G., Jackson, M. H., & Wood, B. J. B. (2001).** Sources of the eutrophication of coastal waters. *Environmental Science & Technology*.



- ❖ **Pomogyi, P., Best, E. P., Dassen, J. H. A., & Boon, J. J. (1984).** On the relation between age, plant composition and nutrient release from living and killed *Ceratophyllum* plants. *Aquatic botany*, 19(3-4), 243-250.
- ❖ **Puddick, J., Prinsep, M. R., Wood, S. A., Kaufononga, S. A., Cary, S. C., & Hamilton, D. P. (2014).** High levels of structural diversity observed in microcystins from *Microcystis* CAWBG11 and characterization of six new microcystin congeners. *Marine drugs*, 12(11), 5372-5395.
- ❖ **Reynolds, C. S., & Walsby, A. E. (1975).** Water-blooms. *Biological reviews*, 50(4), 437-481.
- ❖ **Richardson, K., Beardall, J., & Raven, J. A. (1983).** Adaptation of unicellular algae to irradiance: An analysis of strategies. *New Phytologist*, 93(2), 157–191. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1983.tb03422.x>
- ❖ **Robarts, 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(3), 391-399.
- ❖ **Rodier, J., Geoffray, C., & Rodi, L. (1996).** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer : chimie, physico-chimie, bactériologie, biologie. Dunod.
- ❖ **Rojo, C., Segura, M., Cortés, F., & Rodrigo, M. A. (2013).** Allelopathic effects of microcystin-LR on the germination, growth and metabolism of five charophyte species and a submerged angiosperm. *Aquatic toxicology*, 144, 1-10.
- ❖ **Romero-Oliva, C. S., Contardo-Jara, V., & Pflugmacher, S. (2015).** Antioxidative response of the three macrophytes *Ceratophyllum demersum*, *Egeria densa*, and *Hydrilla verticillata* to a time dependent exposure of cell-free crude extracts containing three microcystins from cyanobacterial blooms of Lake Amatitlan, Guatemala. *Aquatic toxicology*, 163, 130-139.
- ❖ **Sahin, A., Tencalla, F. G., & Dietrich, D. R. (1996).** Biliary excretion and hepatic biotransformation of microcystin-LR in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicon*, 34(8), 885–893. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(96\)00030-5](https://doi.org/10.1016/0041-0101(96)00030-5)
- ❖ **Saker, M. L., Metcalf, J. S., Codd, G. A., & Griffiths, D. J. (1999).** Accumulation and depuration of microcystins in freshwater mussels (*Anodonta cygnea*). *Environmental Toxicology*, 14(6), 563–568. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1522-7278\(199912\)14:6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1522-7278(199912)14:6)



- ❖ **Sand-Jensen, K., & Borum, J. (1991).** Interactions among phytoplankton, periphyton, and macrophytes in temperate freshwaters and estuaries. *Aquatic botany*, 41(1-3), 137-175.
- ❖ **Saqrane, S., Ouahid, Y., El Hassni, M., El Hadrami, I., Bouarab, L., del Campo, F. F., & Vasconcelos, V. (2007).** Phytotoxic effects of cyanobacteria extract on the aquatic plant *Lemna gibba*: microcystin accumulation, detoxication and oxidative stress induction. *Aquatic Toxicology*, 83(4), 284-294.
- ❖ **Saqrane, S., Ouahid, Y., El Hassni, M., El Hadrami, I., Bouarab, L., Del Campo, F. F., & Vasconcelos, V. (2007).** Phytotoxic effects of cyanobacteria extract on the aquatic plant *Lemna gibba*: microcystin accumulation, detoxication and oxidative stress induction. *Aquatic Toxicology*, 83(4), 284-294.
- ❖ **Schagerl, M., & Donabaum, K. (2003).** Patterns of major photosynthetic pigments in freshwater algae. 1. Cyanoprokaryota, Rhodophyta and Cryptophyta. In *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology* (Vol. 39, No. 1, pp. 35-47). EDP Sciences.
- ❖ **Scheffer, M., Hosper, S. H., Meijer, M. L., Moss, B., & Jeppesen, E. (1993).** Alternative equilibria in shallow lakes. *Trends in ecology & evolution*, 8(8), 275-279.
- ❖ **Schmidt, J. R., Wilhelm, S. W., & Boyer, G. L. (2014).** The fate of microcystins in the environment and challenges for monitoring. *Toxins*, 6(12), 3354–3387. <https://doi.org/10.3390/toxins6123354>
- ❖ **Sedmak, B., & Kosi, G. (1998).** The role of microcystins in heavy cyanobacterial blooms in shallow lakes. *Phycologia*, 37(6), 487–489.
- ❖ **Seifert M. (2007).** Accumulation de cylindrospermopsine (CYN) dans *Lemna punctata* : BCF élevé (86,67) avec extraits cellulaires. Cité dans *Cylindrospermopsin: A Decade of Progress on Bioaccumulation Research* (2011). MDPI
- ❖ **Seto, M., Takamura, N., & Iwasa, Y. (2013).** Individual and combined suppressive effects of submerged and floating-leaved macrophytes on algal blooms. *Journal of theoretical biology*, 319, 122-133.
- ❖ **Shapiro, J. (1997).** The role of carbon dioxide in the initiation and maintenance of blue-green dominance in lakes. *Freshwater Biology*, 37(3), 307–323.
- ❖ **Short, J. W., & Edwards, B. R. (1990).** Photodegradation of microcystin toxins in natural waters. *Environmental Science & Technology*, 24(6), 939–943. <https://doi.org/10.1021/es00076a013>



- ❖ **Silvano J. (2005).** Toxicité des cyanobactéries d'eau douce vis-à-vis des animaux domestiques et sauvages : Thèse de doctorat, Ecole nationale vétérinaire de Lyon, N°34. Paris, 21- 116PP.
- ❖ **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 (pp. 41–111).
- ❖ **Skulberg, O. M. (1984).** Effects of stream regulation on algal vegetation. Regulated Rivers. University Oslo Press, Oslo, 107-124.
- ❖ **Smith H., 1982. Annu. Rev. Plant physiol. 33, 481, 518, J.T.O. Kirk (1983).** light and photosynthesis aquatic ecosystem , Cambridge university press, Cambridge
- ❖ **Smith, V. H. (2003).** Eutrophication of freshwater and coastal marine ecosystems: A global problem. Environmental Science and Pollution Research, 10, 126–139.
- ❖ **Søndergaard, M., Jeppesen, E., & Berg, S. (2003).** Relationships between sediment dredging and submerged macrophytes in shallow Danish lakes. Freshwater Biology, 48(4), 677-687. stress and ultrastructural alterations in mesophyll cells of submerged macrophyte *Vallisneria spiralis* (L.) L. J. Hazard. Mater. 190, 188–196.
- ❖ **Spoof, L., & Catherine, A. (2017).** Appendix 3: Tables of cyanobacterial toxins. In J. Meriluoto, L. Spoof, & G. A. Codd (Eds.), Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis. Wiley.
- ❖ **Spoof, L., Catherine, A., (2017).** Appendix 3: Tables of microcystins and nodularins. In: Meriluoto, J., Spoof, L., Codd, G.A. (Eds.), Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester,
- ❖ **Stewart, I., Seawright, A. A., & Shaw, G. R. (2008).** Cyanobacterial poisoning in livestock, wild mammals and birds—An overview. In H. K. Hudnell (Ed.), Cyanobacterial harmful algal blooms: State of the science and research needs (pp. 613–637). Springer. https://doi.org/10.1007/978-0-387-75865-7_28
- ❖ **Stewart, I., Webb, P. M., Schluter, P. J., & Shaw, G. R. (2006).** Recreational and occupational field exposure to freshwater cyanobacteria – a review of anecdotal and case reports, epidemiological studies and the challenges for epidemiologic assessment. Environmental Health, 5(6), 1–13.
- ❖ **Tan, K., Huang, Z., Ji, R., Qiu, Y., Wang, Z., & Liu, J. (2019).** A review of allelopathy on microalgae. Microbiology, 165(6), 587–592.
- ❖ **Taton, T. A. (2003).** Two-way traffic. Nature Materials, 2(2), 73–74. <https://doi.org/10.1038/nmat818>



- ❖ **Ter Steeg, P. F., Hanson, P. J., & Paerl, H. W. (1986).** Growth-limiting quantities and accumulation of molybdenum in *Anabaena oscillarioides* (Cyanobacteria). *Hydrobiologia*, 140, 143-147.
- ❖ **Testai, E., Buratti, F. M., Funari, E., Manganelli, M., Vichi, S., Arnich, N., Biré, R., Fessard, V., & Sialehaamo, A. (2017).** Review and analysis of occurrence, exposure and toxicity of cyanobacteria toxins in food. EFSA Supporting Publications, 13(EN-998), 1–309. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2016.EN-998>
- ❖ **Thomaz, S. M., & da Cunha, E. R. (2010).** The role of macrophytes in habitat structuring in aquatic ecosystems: Methods of measurement, causes and consequences on animal assemblages' composition and biodiversity. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 22(2), 218–236.
- ❖ **Thomazeau, S. (2006).** Diversité phylogénétique et toxinique de cyanobactéries du Sénégal et du Burkina Faso (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie).
- ❖ **Ufelmann, H., Krüger, T., Luckas, B., & Schrenk, D. (2012).** Human and rat hepatocyte toxicity and protein phosphatase 1 and 2A inhibitory activity of naturally occurring desmethyl-microcystins and nodularins. *Toxicology*, 293(1-3), 59-67.
- ❖ **Upadhyay RK & Panda SK (2005)** .Salt tolerance of two aquatic macrophytes, *P. stratiotes* and *Salvinia molesta*. *Biologia Plantarum* 49, 157–159.
- ❖ **Van Apeldoorn, M. E., Van Egmond, H. P., Speijers, G. J., & Bakker, G. J. (2007).** Toxins of cyanobacteria. *Molecular nutrition & food research*, 51(1), 7-60.
- ❖ **Van Donk, E., & Gulati, R. D. (1995).** Transition of a lake to turbid state six years after biomanipulation: mechanisms and pathways. *Water Science and Technology*, 32(4), 197-206.
- ❖ **Van Donk, E., & van de Bund, W. J. (2002).** Impact of submerged macrophytes including charophytes on phyto-and zooplankton communities: allelopathy versus other mechanisms. *Aquatic botany*, 72(3-4), 261-274.
- ❖ **Vasconcelos, V. M. (1999).** Cyanobacteria toxins in Portugal: Effects on aquatic animals and risk for human health. *Environmental Toxicology and Water Quality*, 14(3), 167–172.
- ❖ **Vasconcelos, V. M., Sivonen, K., Evans, W. R., Carmichael, W. W., & Namikoshi, M. (1996).** Hepatotoxic microcystin diversity in cyanobacterial blooms collected in Portuguese freshwaters. *Water research*, 30(10), 2377-2384.



- ❖ **Vitousek P.M.(1986).** Biological Invasions and Ecosystems Properties: Can species make a difference? In MOONEY H.A., DRAKE J.A. (eds.), Ecology of Biological Invasions of North America and Hawaii, 163-178, Springer Verlag.
- ❖ **Vymazal, J. (2011).** Constructed wetlands for wastewater treatment: Five decades of experience. Environmental Science & Technology, 45(1), 61–69. <https://doi.org/10.1021/es101403q>
- ❖ **Wang, C., Sun, Q., & Wang, L. (2009).** Cd toxicity and phytochelatins production in a rooted submerged macrophyte *Vallisneria spiralis* exposed to low concentration of Cd. Environmental Toxicology, 24(3), 271–278.
- ❖ **Wang, H., Xu, X., Lu, X., & Li, J. (2006).** Allelopathic effects of *Hydrilla verticillata* on *Microcystis aeruginosa*. Journal of Lake Sciences, 18(5), 475–480.
- ❖ **Wang, N., & Wang, C. (2018).** Effects of microcystin-LR on the tissue growth and physiological responses of the aquatic plant *Iris pseudacorus* L. Aquatic Toxicology, 200, 197-205.
- ❖ **Wang, X., Zhao, Y., Jiang, X., Wang, Y., Li, H., Wang, L., & Liang, W. (2018).** The growth and physiological activity of *Microcystis aeruginosa* after flocculation using modified tannin. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 133, 180-186.S. McComas, Lake and Pond Management Guidebook, CRC Press, 2003 304.
- ❖ **Waterhouse DF. (1997)** .The major invertebrate pests and weeds of agriculture and plantation forestry in the Southern and Western Pacific, 93 pp. The Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, ACT (AU).
- ❖ **Weckberker, G., & Cory, G. (1988).** Ribonucléotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. Cancer Letters, 40, 257–264. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(88\)90084-5](https://doi.org/10.1016/0304-3835(88)90084-5)
- ❖ **Weiss, J., Liebert, H. P., & Braune, W. (2000).** Influence of microcystin-RR on growth and photosynthetic capacity of the duckweed *Lemna minor* L. Journal of Applied Botany, 74, 100–105.
- ❖ **Wellburn, A.R., (1994).** The spectral determination of chlorophylls A and B, as well as Total caroteinds, using various solvents with Spectrophotometers of different resolution.J. Plant. Phys. Vol. 144:307-313.
- ❖ **Wetzel R. G. & Likens G.E., (2000).** Limnological Analyses 3rd edition Springer-Verlag. 429
- ❖ **Wetzel, R. G. (2001).** Limnology: Lake and River Ecosystems. Gulf Professional Publishing.



- ❖ **Wiegand, C., & Pflugmacher, S. (2005).** Ecotoxicological effects of selected cyanobacterial secondary metabolites: A short review. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 203(2), 201–218.
- ❖ **Wiegand, C., Peuthert, A., Pflugmacher, S., & Carmeli, S. (2002).** Effects of microcin SF608 and microcystin-LR, two cyanotobacterial compounds produced by *Microcystis sp.*, on aquatic organisms. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 17(4), 400-406.
- ❖ **William Schopf, J. (1974).** The development and diversification of Precambrian life. *Origins of life*, 5(1), 119-135
- ❖ **Woese, C. R. (1987).** Bacterial evolution. *Microbiological Reviews*, 51(2), 221–271. <https://doi.org/10.1128/mr.51.2.221-271.1987>
- ❖ **World Health Organization (WHO). (2003).** Guidelines for safe recreational water environments: Volume 1 – Coastal and fresh waters. Geneva: WHO Press.
- ❖ **World Health Organization. (2003).** Algae and cyanobacteria in freshwater: Guidelines for safe recreational water environments (Vol. 1). WHO Press.
- ❖ **Wu, X., Wu, H., Chen, J., & Ye, J. (2013).** Effects of allelochemical extracted from water lettuce (*Pistia stratiotes* Linn.) on the growth, microcystin production and release of *Microcystis aeruginosa*. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 8192-8201.
- ❖ **Wu, X., Zhang, Z., Chen, D., Zhang, J., Yang, W., & Jin, Y. (2012).** Allelopathic effects of *Eichhornia crassipes* on the growth of *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Agricultural Science and Technology A*, 2(12A), 1400.
- ❖ **Xian QiMing, X. Q., Chen HaiDong, C. H., Liu HuiLi, L. H., Zou HuiXian, Z. H., & Yin DaQiang, Y. D. (2006).** Isolation and identification of antialgal compounds from the leaves of *Vallisneria spiralis* L. by activity-guided fractionation.
- ❖ **Xian, Q. M., Chen, H. D., & Zou, H. X. (2006).** Allelopathic activity of volatile substances from submerged macrophytes on *Microcystis aeruginosa*. *Acta Ecologica Sinica*, 26(11), 3549–3554. [https://doi.org/10.1016/S1872-2032\(06\)60054-1](https://doi.org/10.1016/S1872-2032(06)60054-1)
- ❖ **Xiao, F. G., Zhao, X. L., Tang, J., Gu, X. H., Zhang, J. P., & Niu, W. M. (2009).** Determination of microcystin-LR in water from Lake Tai, China. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 82, 230-233.
- ❖ **Xie, L., Xie, P., Ozawa, K., Honma, T., Yokoyama, A., & Park, H. D. (2004).** Dynamics of microcystins-LR and -RR in the phytoplanktivorous silver carp



- Hypophthalmichthys molitrix collected from a eutrophic lake, Lake Taihu, China. Environmental Toxicology, 19(4), 347–352. <https://doi.org/10.1002/tox.20031>
- ❖ **Xie, Z., Johansen, L. K., Gustafson, A. M., Kasschau, K. D., Lellis, A. D., Zilberman, D., et al. (2004).** Genetic and functional diversification of small RNA pathways in plants. PLoS Biology, 2(5), e104. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020104>
 - ❖ **Yang, S. Y., Yu, Z. W., Sun, W. H., Zhao, B. W., Yu, S. W., Wu, H. M., Huang, S. Y., Zhou, H. Q., Ma, K., & Lao, X. F. (1992).** Isolation and identification of antialgal compounds from root system of water hyacinth. Acta Phytophysiological Sinica, 18(4), 399–402.
 - ❖ **Yates, E. (2005).** Aquatic and Riparian Weeds of the San Francisco Bay Area. California Invasive Plant Council.
 - ❖ **Ye, W., Tan, J., Liu, X., Lin, S., Pan, J., Li, D., & Yang, H. (2011).** Temporal variability of cyanobacterial populations in the water and sediment samples of Lake Taihu as determined by DGGE and real-time PCR. Harmful Algae, 10(5), 472–479.
 - ❖ **Zamyadi, A., Ho, L., Newcombe, G., Bustamante, H., & Prévost, M. (2012).** Cyanobacterial cell degradation during drinking water treatment and risk management strategies. Water Research, 46(5), 151–164. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.11.053>
 - ❖ **Zanchett, G., & Oliveira-Filho, E. C. (2013).** Cyanobacteria and cyanotoxins: From impacts on aquatic ecosystems and human health to anticarcinogenic effects. Toxins, 5(10), 1896–1917.
 - ❖ **Zhang TT, He M, Wu AP, Nie LW (2008)** Allelopathic inhibition of *p*-hydroxybenzoic acid on *Microcystis aeruginosa* Kuetz with no toxicological effects on *Cyprinus carpio* Linnaeus. Acta Scientiae Circumstantiae 28(9):1887–1893 in Chinese with English abstract
 - ❖ **Zhang, S., Guo, L., Cao, J., & Chang, J. (2015).** Allelopathic activities of three emergent macrophytes on several monospecific cyanobacterial species and natural phytoplankton assemblages. Polish Journal of Environmental Studies, 24(1), 397–402. <https://doi.org/10.15244/pjoes/27388>.
 - ❖ **Zhang, T. T., Zheng, C. Y., Hu, W., Xu, W. W., & Wang, H. F. (2010).** The allelopathy and allelopathic mechanism of phenolic acids on toxic *Microcystis aeruginosa*. Journal of Applied Phycology, 22(1), 71–77. <https://doi.org/10.1007/s10811-009-9429-6>



- ❖ **Zhang, Z. Y., Hu, J., Zhu, Y. Q., & Liu, H. (2010).** Purification effect of *Eichhornia crassipes* on eutrophic water. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 18(1), 152-156.
- ❖ **Zheng, Y. L., Xue, C. L., Chen, H., Jia, A. Q., Zhao, L., Zhang, J. L., Zhang, L. X., & Wang, Q. (2023).** Reconstitution and expression of mcy gene cluster in the model cyanobacterium *Synechococcus* 7942 reveals a role of MC-LR in cell division. *New Phytologist*, 238(3), 1101–1114. <https://doi.org/10.1111/nph.18661>
- ❖ **Zhou, L., Chen, Y., Zhang, Y., & Liu, Q. (2023).** Interaction between *Microcystis aeruginosa* and *Escherichia coli*: Microcystin production influences bacterial survival and community structure. *Environmental Pollution*, 325, 121512. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121512>
- ❖ **Zhou, Y. L., & Yu, M. (2004).** The occurrence, hazards and prevention of water bloom. *Bulletin of Biology*, 39(6), 11–14
- ❖ **Zhu, X., Dao, G., Tao, Y., Zhan, X., & Hu, H. (2021).** A review on control of harmful algal blooms by plant-derived allelochemicals. *Journal of Hazardous Materials*, 401, 123403.
- ❖ **Zurawell, R. W., Chen, H., Burke, J. M., & Prepas, E. E. (2005).** Hepatotoxic cyanobacteria: A review of the biological importance of microcystins in freshwater environments. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews*, 8(1), 1–37. <https://doi.org/10.1080/10937400590889412>



Annexes

Annexe 1.

Classes de minéralisation d'après la conductivité électrique (Rodier et al., 2009).

Conductivité	Minéralisation
Conductivité < 100 $\mu\text{S/cm}$	Très faible
100 $\mu\text{S/cm}$ < conductivité < 200 $\mu\text{S/cm}$	Faible
200 $\mu\text{S/cm}$ < conductivité < 333 $\mu\text{S/cm}$	Moyenne
333 $\mu\text{S/cm}$ < conductivité < 666 $\mu\text{S/cm}$	Moyenne accentuée
666 $\mu\text{S/cm}$ < conductivité < 1000 $\mu\text{S/cm}$	Importante
Conductivité > 1000 $\mu\text{S/cm}$	Elevée

Annexe.2.

Classes de turbidité naturelle (Rodier, 1996)

NTU	Qualité
NTU < 5	Eau claire
5 < NTU < 30	Eau légèrement trouble
NTU > 50	Eau trouble

Annexe.3. Le temps de rétention, la masse moléculaire et l'abondance de différentes variantes de microcystines observées dans le bloom à cyanobactérie prélevé du Lac des Oiseaux (Bouhadada et al., 2016).

Microcystines	Temps de Rétention (min)	Masse Moléculaire (Da)	Abondance (% de Total)
Des congénères identifiés			
MC-RR	3,4	1037	43,4
MC-(H4)YR	4,27	1048	1,2



MC-YR	4,49	1044	5,4
MC-LR	4,64	994	13,1
MC-HiLR	4,92	1008	1,5
MC-WR	4,94	1067	7,4
MC-FR	4,96	1028	9,4
[Asp3]MC-RAb	5,35	952	2,0
[Glu(OCH ₃)]MC-LR	5,59	1008	0,9
[Glu(OCH ₃)]MC-FR a	5,89	1042	0,9
[Asp3]MC-HarAb a	5,92	966	0,6
MC-LA	6,46	909	2,2
Des congénères non identifiés			
Inconnu -1	4,1	925	2,8
Inconnu -2	4,16	1020	0,5
Inconnu -3	4,2	1056	0,4
Inconnu -4	4,4	925	0,5
Inconnu -5	5,1	1008	0,2
Inconnu -6	5,2	961	0,7
Inconnu -7	5,27	1048	1,2
Inconnu -8	5,3	1020	5,4
Inconnu -9	5,45	925	0,4

Annexe.4 : Quelques exemples des espèces toxiques dans le monde.

Continent	Pays	Espèces
Australie	Australie	<i>Cylindrospermopsis; Anabaena; Nodularia; Aphanizomenon; Oscillatoria; Nostoc; Planktothrix; Scytonema</i>
Asie	Chine	<i>Raphidiopsis</i>
	Japon	<i>Microcystis; Umezakia</i>
	Inde	<i>Microcystis; Trichodesmium</i>
Europe	Angleterre	<i>Anabaena; Aphanizomenon; Microcystis; Oscillatoria</i>
	France	<i>Microcystis; Aphanizomenon; Planktothrix; Anabaena;</i>



		<i>Phormidium; Woronichinia</i>
	Allemagne	<i>Cylindrospermopsis; Aphanizomenon; Anabaena; Planktothrix; Microcystis</i>
	Grèce	<i>Microcystis; Anabaena; Aphanizomenon ; Planktothrix; Cylindrospermopsis;</i>
	Italie	<i>Microcystis; Planktothrix; Anabaena; Aphanizomenon; Oscillatoria; Raphidiopsis; Dolichospermum</i>
	Portugal	<i>Microcystis, Planktothrix, Anabaena, Aphanizomenon, Cylindrospermopsis</i>
	Roussie	<i>Microcystis, Anabaena, Aphanizomenon</i>
	Espagne	<i>Microcystis; Cylindrospermopsis; Anabaena; Aphanizomenon</i>
Afrique	Algérie	<i>Microcystis</i>
	Tunisie	<i>Microcystis</i>
	Maroc	<i>Microcystis</i>
	Egypte	<i>Phormidium; Nostoc; Plectonema</i>
	Kenya	<i>Microcystis; Arthrospira; Anabaenopsis</i>
	Afrique de sud	<i>Microcystis, Anabaena; Oscillatoria; Cylindrospermopsis</i>
Amérique	Brésil	<i>Cylindrospermopsis; Microsystis; Planktothrix; Aphanizomenon; Oscillatoria; Anabaena; Dolichospermum; Raphidiopsis</i>
	Canada	<i>Microcystis; Anabaena; Cylindrospermopsis; Planktothrix; Aphanizomenon</i>
	Etats unies	<i>Microcystis; Anabaena; Cylindrospermopsis; Planktothrix; Anabaenopsis</i>



Publications Internationales

Tamer, F. Z., Zaidi, H., Nasri, H., Lvova, L., Nouri, N., Sedrati, F., Amrani, A., Beldjoudi, N., & Li, X. (2025). Bioremediation of Contaminated Water: The Potential of Aquatic Plants *Ceratophyllum demersum* and *Pistia stratiotes* Against Toxic Bloom. *Toxins*, 17(10), 490. <https://doi.org/10.3390/toxins17100490>