

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى – جيجل

Université Med-Seddik Ben yahia–Jijel

Faculté Des Sciences de la Nature Et De La Vie

Département Des Sciences de l'Environnement

Et des sciences Agronomiques



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم علوم المحيط و العلوم الفلاحية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : Master Académique

Filière : Sciences biologiques

Option : Toxicologie fondamentale et appliquée

Thème :

Effet toxicologique d'un pesticide sur la croissance des microalgues

(Cas des diatomées d'un milieu lentique)

Jury de soutenance :

Présidente: M^{me} CHEBAB S.

Examinatrice :M^{me} ROULA M.

Encadreur : M^f BOULDJEDRI M.

Présenté par :

BAKA Sana

BOULAICHE Nour el Houda

Session : juin 2018

Numéro d'ordre :.....

Laboratoire de soutien : laboratoire de toxicologie : Université Med –Seddik Ben yahia- jijel



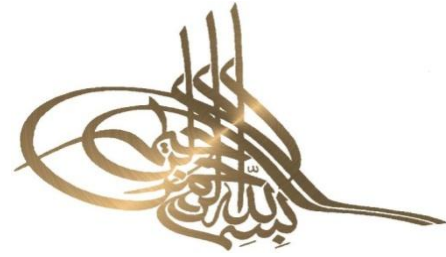
بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

Remerciement

*« Nos s'insères remerciement s'adressent avant tous à ALLAH
Le tout puissant qui nous a donné le courage, la force la volonté et la
patience durant notre cursus universitaire »*

*Nous adressons un énorme remerciement et un profond respect à notre
encadreur Monsieur **BOULDJEDRI Mohammed**, signe de gratitude envers
une personne qui a su être là, nous apprendre, nous soutenir, nous corriger,
nous guider et nous inspirer tout au long de ce travail. En tant que directeur
de mémoire, il s'est toujours montré à l'écoute et disponible. Nous le
remercions pour l'aide et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer et sans
qui ce travail n'aurait jamais vu le jour.*

*Bien entendu, nous remercions chaleureusement les membres de jury
ROULA M, docteur à l'université de Jijel d'avoir accepté d'examiner
notre travail, Notre respect est adressé à M^{me} **CHABEB S** docteur à
l'université de Jijel qui nous fait l'honneur de présider les jurys de
soutenance. Nous tenons également à remercier Mr Cheraitia H, docteur à
l'université de Jijel pour sa contribution à la réalisation de la partie
d'analyse statistique.*



DÉDICACE

Au nom d'Allah le Clément le Miséricorde

*Tout d'abord je remercie le dieu qui m'a donné
Le courage pour arriver a ce stade de fin d'études*

Je dédie ce modeste travail :

*A ma plus belle étoile qui puisse exister dans
l'univers ma chère mère.*

A mon père

A ma chère sœur Amina, et mes frères,

Islem, Mohamed Et Diaa

*A tous mes amis, Azou, Yasmine, Meriem, Sara, Nabila,
Houda, Mohamed, Hamza, Okba, ... et tout qui sont dans le
cœur mais je n'arrive pas à les citer.*

Enfin à tous mes amis et mes collègues promo 2018.

Baka sanaa



DÉDICACES

*Au nom d'Allah le Clément le Miséricorde
Tout d'abord je remercie le dieu qui m'a donné
Le courage pour arriver a ce stade de fin d'études*

A mes chers parents

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour
éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez
consenti pour mon instruction et mon bien être.*

*Je vous remercie pour tout le soutien et
l'amour que vous me portez depuis mon enfance et
j'espère que votre bénédiction m'accompagne
toujours.*

A mes chères sœurs, et mes frères.

Amel, Amine, Chamssou, Saber, Sara et Wafa

*A tous les membres de ma famille, petits et
grands*

*A mes amis de toujours et à mes camarades
d'auditoires et tous ceux de la faculté des Sciences
de la Nature et de la Vie de l'université de Gijel
.Veuillez trouver dans ce travail l'expression de
mon respect le plus profond et mon affection la
plus sincère*

NOUR EL HOUDA



Sommaire

Liste des abréviations.....	iv
Liste des figures.....	vi
Liste des tableaux.....	vii
Introduction	01
Chapitre I : le contexte global	02
1. Usage des pesticides en agriculture.....	02
1.1 Définition de pesticide	02
1.2 Intérêt d'utilisation des pesticides	02
1.3 Classification des pesticides	02
1.3.1 Selon la classification chimique	02
1.3.2 Selon les organismes vivants ciblés.....	04
1.3.3 Selon l'usage	04
2. Les principaux pesticides agricoles en Algérie	05
2.1. Les herbicides appliqués au niveau foliaire.....	05
2.2. Les herbicides appliqués au niveau du sol.....	05
2.3. Classifications selon le mode d'action	05
3. Le glyphosate	08
3.1 Définition.....	08
3.2 Propriété physico-chimique	08
3.3 Mode d'action.....	09
4. Contamination des eaux par les pesticides	10
4.1 Le devenir des pesticides dans l'environnement.....	10
4.1.1 La rétention du glyphosate	10
4.1.2 La dégradation du glyphosate	11
4.1.3 La dissipation du glyphosate	11
4.2 La contamination des eaux par le glyphosate	12
4.3 Impact de glyphosate.....	12
4.3.1 Sur la santé humaine.....	12
4.3.2 Sur le système sol-plante	13
Chapitre II : la diatomée (un bio indicateur reconnu)	14
1. biologie et écologies de ces organismes	14
1.1 Biologie	14

1.1.1 Morphologie et structure cellulaire	14
1.1.2 Reproduction	15
1.1.3 Systématique.....	16
1.2 Ecologie	16
1.2.1 Biotope	16
1.2.2 Mode de vie	17
2. Les effets des pesticides sur les diatomées.....	17
2.1 Les effets sur la cytologie et l'ultra-structure.....	17
2.1.1 Le squelette interne ou cytosquelette	17
2.1.2 Le noyau	17
2.1.3 Les membranes.....	18
2.1.4 Le frustule	18
2.2 Les effets sur le métabolisme des cellules et des communautés	18
2.2.1 Les processus bioénergétiques.....	18
2.2.2 La synthèse de protéines, lipides et glucides	18
2.3 Les effets sur la multiplication et la reproduction	18
2.4 Les effets sur la croissance de l biomasses	18
2.4.1 La biomasse totale	18
2.4.2 La biomasse algale	18
3. Les facteurs interférant dans la réponse des diatomées	19
3.1 Les paramètres écologiques	19
3.1.1 Compétition spécifique.....	19
3.1.2 Biofilm	19
3.1.3 Broutage	19
3.1.4 Mécanismes de survie	19
3.2 Les paramètres environnementaux.....	20
3.2.1 Luminosité	20
3.2.2 Nutriments	20
3.2.3 Les conditions hydrauliques.....	20
3.3 Importance écologique des diatomées.....	20
3.3.1 Indice bio-diatomées(IBD).....	20
3.4 Écotoxicologie.....	21
3.4.1 Définition.....	21

3.4.2 Les interactions entre molécules toxiques.....	21
3.4.3 Bio essai.....	21
3.4.4 Limite des bioessais.....	21
Partie pratique.....	22
I. Matériel et méthode	22
1. présentation de la zone d'étude.....	22
2. L'intérêt le choix des diatomées.....	23
3. le choix de retenue collinaire kella.....	23
4. le choix de pesticide (glyphosate).....	23
5. Méthode de prélèvement d'échantillon.....	23
6. Déroulement de l'essai.....	24
6.1. Préparation de témoin.....	24
6.2. Préparations des dilutions.....	25
6.3. Préparation pour l'observation microscopique.....	25
6.4. Mesure de la concentration cellulaire.....	26
6.5. Mesure de PH.....	26
6.6. L'éclairage.....	26
II. Résultats.....	28
1. Observation microscopique	28
2. Identification des espèces.....	28
3. Résultats de suivi de croissance des communautés de diatomées exposées à différents dilutions de Glyphosate.....	30
4. Analyse statistique.....	33
III. Discussion	34
Conclusion.....	36
Références bibliographiques.....	37
Annexe	

Liste des abréviations

% : Pourcentage.

µl : Microlitre

µm: Micromètre.

ACCase : Acétylcoenzyme A carboxylase.

ANOVA : Analyse de la variance.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AMPA : Acide aminométhylphosphorique.

CO₂: Dioxyde de carbone.

DAHP:3-Deoxy-D-arabino-heptulosonate 7-phosphate.

DL50 : Dose létale 50.

DT50: Temps de demi-vie.

DDT : Di chlorod i phényltrichloroéthane.

DBO₅ : Demande biologique en oxygène

EPSP: 5-énolpyruvylshikimate 3-phosphate.

EPSPS: 5-eno 1 pyruvoylshiki mate 3 -phosphate synthase.

E4P: Erythrose 4-phosphate.

IBD : Indice biologique diatomique.

IPS : Indice de polluo-sensibilité.

K_d: constante de partage.

K_{oc}: Coefficient de partage carbone organique.

KW: Kruskal-Wallis.

MI: Millilitre.

NO₃: Nitrate.

NO₂: Nitrite.

NH₄: Ammonium.

O₂: Dioxygène.

PEP: Phosphoenolpyruvate.

PH : Potentiel hydrogène

PO₄ : Phosphate.

PSII : photosystème II.

UPS : Unité Pratique de Salinité

Liste des figures

Figure 01 : Mode d'action du glyphosate.....	09
Figure 02 : Le devenir du glyphosate dans le sol.....	10
Figure03 : Frustule d'une diatomée vivante.....	14
Figure 04 : Coupe dans la région centrale d'une diatomée.....	15
Figure 05 : Clé simplifiée de détermination des genres des diatomées d'eau douce.....	16
Figure 06 : Situation géographique de la zone d'étude (retenue collinaire kella) le zoom sur image Google earth.....	22
Figure 07 : Méthode d'échantillonnage des diatomées	24
Figure 08 : Les échantillons avec les différentes dilutions places sur agitateurs multiposte	25
Figure 09 : Les dilutions sous l'éclairage.....	26
Figure 10 : Image de l'observation microscopique des diatomées pennées (G=40x10).....	28
Figure11 : Effet de l'herbicide (Glyphosate) sur la croissance des diatomées pennées.....	30
Figure12 : Effet de la concentration (1/10) de Glyphosate sur la croissance des diatomées pennées.....	31
Figure13 : Effet de la dilution 1/50 de Glyphosate sur la croissance des diatomées pennées.....	32
Figure 14 : Effet de la concentration (1/100) de Glyphosate sur la croissance des diatomées pennées.	32
Figure 15 : Effet de la concentration (1/1000) de Glyphosate sur la croissance des diatomées pennées.....	33

Liste des tableaux

Tableau 01 : Quelques structures chimiques caractéristiques de certaines familles de pesticides.....	03
Tableau 02 : Principaux sites d'action des herbicides dans la plante.....	06
Tableau 03 : Les propriétés physico-chimiques du Glyphosate.....	08
Tableau 04 : Identification de différentes espèces diatomiques observées au microscope.....	29

Introduction générale

La lutte contre les organismes nuisibles aux cultures a certainement été de tous temps une préoccupation majeure de l'agriculteur. Actuellement, les pesticides sont massivement employés dans l'agriculture moderne en vue d'assurer une bonne protection des cultures et une limitation des dégâts causés par les ravageurs des plantes. D'autre part l'utilisation de ces substances chimiques à caractères biocides n'est pas limitée uniquement au domaine agricole, d'autres secteurs les utilise, comme la lutte contre des insectes vecteurs de maladies effectué par les services d'hygiène et santé, la lutte contre la végétation gênantes dans le cadre d'entretien des espaces verts, des routes et des voies ferrées etc... mais 90% des applications concerne le monde agricole (**Calvet et al., 2005**)

Depuis plusieurs décennies, la communauté scientifique a pris conscience des dangers de l'emploi massif des pesticides, tant pour la santé humaine que pour l'environnement. La caractérisation des risques engendrés par ces polluants est donc devenue un enjeu écotoxicologique majeur (**Stéphane, 2006**). Car au fil des années ces produits constituent un danger potentiel aussi bien pour les organismes aquatiques non ciblés que pour la santé de l'homme.

De par leur forte homologie avec les végétaux directement ciblés par les herbicides, les producteurs primaires aquatiques sont particulièrement exposés à la toxicité de ces polluants. Parmi ces organismes autotrophes, on a les diatomées qui sont des microorganismes photosynthétiques, soit libres (pélagiques) ou fixés sur des supports (benthiques), jouent un rôle primordial dans le fonctionnement des écosystèmes, en assurant notamment une part prépondérante de la production primaire et de l'oxygène atmosphérique, de plus ce sont des excellents bioindicateurs qui sont largement utilisées pour évaluer la qualité écologique des milieux aquatiques. C'est dans ce contexte que s'inscrit la problématique de notre thème de fin d'études ; qui consiste à exposer une communauté naturelle de diatomées à plusieurs doses d'un herbicide de large utilisation « Glyphosate » afin de déterminer leur degré de sensibilité vis-à-vis ce produit et d'évaluer sa toxicité potentiel dans l'environnement. Notre travail s'organise en deux volets :

La partie synthèse bibliographique composée de deux chapitres dans lesquels on décrira le contexte général et scientifique du produit testé et l'espèce étudiée.

La partie pratique où on détaille les stratégies d'échantillonnage, le dispositif expérimental adopté, ainsi que le protocole analytique utilisé, puis les résultats obtenus et leur discussion.

Première partie
Synthèse bibliographique

Chapitre I

*Pesticides et leurs impact sur
l'environnement et la santé humaine*

I.1 Usage des pesticides en agriculture

I.1.1 Définition de pesticide

L'article 2 de la loi algérienne N° 87-17 du Aout 1987 relative à la protection phytosanitaire désigne par pesticide définie les pesticides comme : « toutes substances ou association de substances destinées à repousser, détruire ou combattre les ravageurs, en vue de la protection ou de l'amélioration de la production végétale ou alimentaire »

I.1.2 Intérêt d'utilisation des pesticides

Le bénéfice le plus considérable de l'introduction des pesticides est le gain très important sur les rendements dans les exploitations agricoles qui ont fait appel à ces substances par exemple l'utilisation d'un herbicide permet de désherber en quelque heure d'application, ce que l'homme cela prend plusieurs jours à faire mécaniquement (Cooper et Dobson, 2007 ; Damalas, 2009).

I.1.3 Classification des pesticides

Il existe une grande diversité de pesticides qui diffèrent par leur structure chimique, leur fonctionnement, leur mode d'action et la nature de l'organisme nuisible sur lequel ils doivent agir (Calvet et al., 2005).

I.1.3.1 Selon les propriétés chimiques : Trois catégories se distinguent : les pesticides organiques, organo-métalliques et inorganiques (Calvet et al., 2005).

a. Les pesticides organiques : Sont les plus nombreux. Ils présentent un squelette carboné et appartiennent à diverses familles chimiques selon les atomes constituant la structure de base de la molécule et les fonctions chimiques associées.

- **Les organochlorés :** sont des molécules préparées par chloration d'hydrocarbures aromatiques (Komárek et al., 2010). Comportant au moins un atome de chlore comme L'aldrine, le DDT. Cette molécule est caractérisée par une forte rémanence temporelle et une faible spécificité. Ces propriétés, considérées comme des atouts au début de leur utilisation, se sont révélées être dévastatrices à long terme pour l'environnement. Les organochlorés présentent souvent une toxicité aiguë pour de nombreux animaux et végétaux autres que les insectes ciblés comme pour le phytoplancton.
- **Les organophosphorés :** Sont des esters obtenus en faisant réagir divers alcools avec l'acide orthophosphorique ou l'acide thiophosphorique (Tron, 2001). Ils comportent au moins un atome de phosphore lié directement à un carbone comme le malathion ou le glyphosate (Komárek et al., 2010).
- **Les carbamates :** Sont des esters de l'acide N-méthylcarbamique utilisés comme insecticides et herbicides. Ils sont également des anticholinestérasiques dont l'action est réversible contrairement à celle des organophosphorés.

- **Les pyréthrinoïdes de synthèse:** Sont des dérivés de la molécule pyrèthrine présente dans la fleur de pyrèthre dont l'activité insecticide, Ils sont biodégradables et peu solubles dans l'eau. Ils agissent sur le système nerveux central et périphérique des insectes en provoquant une excitation nerveuse répétée à travers des pompes à sodium.

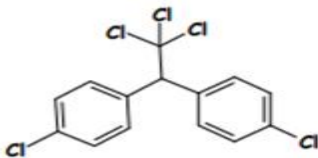
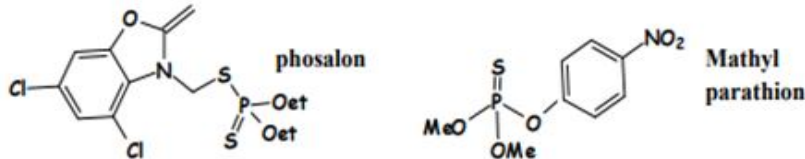
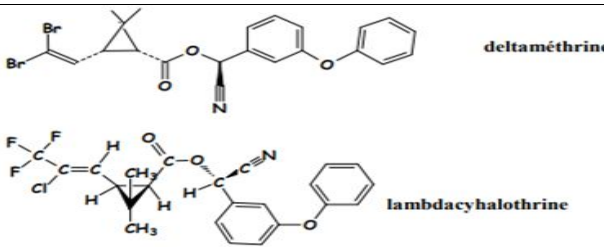
b. Les pesticides organo-métalliques : Ce sont des fongicides dont la molécule est constituée par exemple d'un métal tels que le zinc et le manganèse et d'un anion organique dithiocarbamate. Quelques exemples de ces pesticides sont le Mancozèbe (avec le zinc) et le Manèbe (avec le manganèse) (El Mrabet, 2007).

c. Les pesticides inorganiques: Ce sont des éléments chimiques peu nombreux qui ne se dégradent pas. ils n'ont pas de carbone dans leur structure et dérivent de composés minéraux stables dans le milieu naturel tels que le soufre et le cuivre (Komárek et al., 2010).

- **Les biopesticides :** Ce sont des substances dérivées de plante ou d'animaux. Elles peuvent être constituées d'organismes tels que les :

- Les moisissures
- Les bactéries
- Les virus
- Les nématodes

Tableau1 : Quelques structures chimique caractéristiques de certaines familles de pesticides (AYAD, 2012).

Famille chimique	Exemple de pesticides
Organochloré	 <p style="text-align: right;">DDT</p>
Organophosphoré	 <p style="text-align: right;">phosalon Mathyl parathion</p>
Pyréthrenoïdes	 <p style="text-align: right;">deltaméthrine lambda-cyhalothrine</p>

I.1.3.2 Selon les organismes vivants ciblés

- **Les insecticides** : Ce sont les premiers pesticides les plus utilisés en Algérie. Ils sont destinés à détruire les insectes nuisibles.
- **Les fongicides** : Ils servent à combattre la prolifération des champignons pathogènes. Ils permettent de lutter contre les maladies cryptogamiques qui causent de graves dommages aux végétaux cultivés (**Cairns et Shermaj, 1996**).
- **Les herbicides** : Ils permettent d'éliminer les mauvaises herbes. Ce sont des phénoxydes, des triazines, des amides, des dinitro-anilines dérivés d'urée, des sulfonilurées et uraciles (**Benziane, 2014**). On distingue entre autres :
 - Les **Acaricides** (contre les acariens)
 - Les **Nématocides** (toxiques pour les vers du groupe des nématodes)
 - Les **Rodenticides** (contre les rongeurs)
 - Les **Mollucides** (contre les mollusques : limaces et escargots)
 - Les **Corvicides** et les **Corvifuges** (contre les corbeaux et tous les oiseaux ravageurs de cultures).

I.1.3.3 Selon l'usage

Selon **Calvet et al., (2005)** Les pesticides sont utilisés dans plusieurs domaines d'activité pour lutter contre les organismes vivants nuisible, d'où des usages différents. Il existe cinq catégories de pesticides classés selon leurs usages, c'est-à-dire, selon la destination des traitements:

- **Pour l'homme et les animaux** : Il s'agit d'insecticides et de fongicides utilisés pour l'hygiène humaine et vétérinaire.
- **Les bâtiments d'habitation** : Ce sont des insecticides, des rodenticides, des bactéricides et des fongicides.
- **Les bâtiments d'élevage** : Il s'agit surtout d'insecticides et de bactéricides.
- **Les locaux de stockage des produits végétaux** : Ce sont des insecticides et des fongicides.
- **Les zones non agricoles** : Il s'agit principalement d'herbicides utilisés pour désherber les voies de circulation routières et ferrées, les aires d'aéroport et les aires industrielles.

I.2 Les principaux modes d'action des herbicides

I.2.1 Les herbicides appliqués au niveau foliaire : Appliqués sur les feuilles, sur les tiges avant formation de l'écorce et les bourgeons ouverts (**Gama et al., 2006**).

- **Les régulateurs de croissance :** Les substances actives de ces composés affectent la croissance des plantes en agissant sur la synthèse des protéines et la division cellulaire. En fait ces herbicides vont entraîner une croissance rapide des plantes pour arriver à leur sénescence. Les substances actives les plus connues et utilisées sont le 2,4-D, le dichloprope.
- **Les inhibiteurs de la synthèse d'acides aminés :** Parmi les herbicides qui bloquent la biosynthèse des acides aminés aromatiques on retrouve le glyphosate.
- **Les destructeurs de la membrane cellulaire :** Les bypyridilium et les diphénylestères sont les deux principales familles d'herbicides qui altèrent la membrane Cellulaire.
- **Les inhibiteurs de la photosynthèse :** Les herbicides de la famille des triazines et des phénylurées agissent en interférant avec la photosynthèse (**Merghid et al., 2017**).

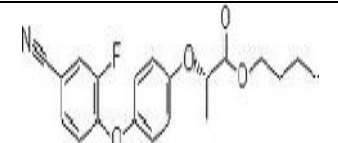
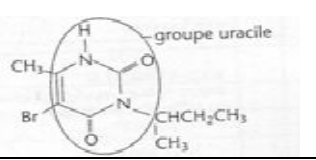
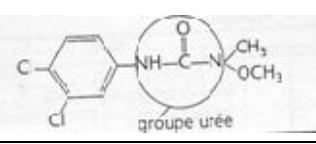
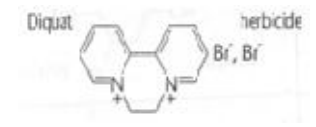
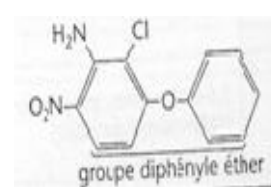
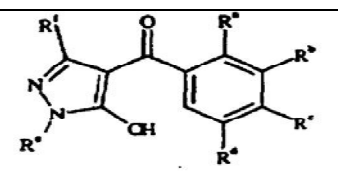
I.2.2 Les herbicides appliqués au niveau du sol : Appliqué sur le sol, ils pénètrent par les racines, les poils absorbants, par l'intermédiaire de mycorhizes. Selon **Dupraz (2008)**, on peut distinguer ce qui suit :

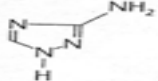
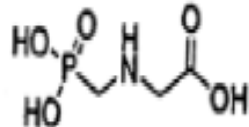
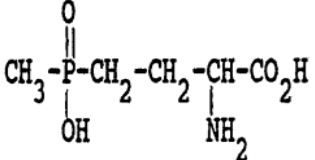
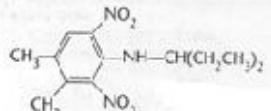
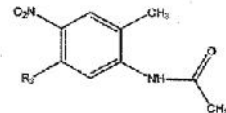
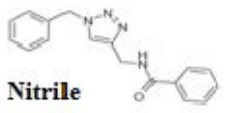
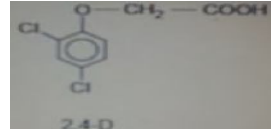
- **Les inhibiteurs de la division cellulaire :** Agissent en inhibant les étapes de division cellulaire responsables de la séparation des chromosomes et de la formation de la paroi cellulaire au niveau des racines de la plante.
- **Les destructeurs de pigment :** Agissent sur les plantes en détruisant la chlorophylle,
- **Les herbicides systémiques :** Parfois appelés endothérapiques, migrent dans la plante depuis les points de pénétration jusqu'aux sites d'action. Ils sont ainsi distribués dans toute la plante. Leur action est généralement lente et progressive (**Gama et al., 2006**).
- **les herbicides de contact ou défanants:** Présentent une diffusion nulle à l'intérieur du végétal. Ils détruisent les premières couches de cellules atteintes.

I.2.3 Classification selon le mode d'action

Selon **Regnault-Roger et al., 2005**, il existe une classification des herbicides qui se base sur le mode d'action , cette classification fait ressortir 13 groupes comme le montre le tableau 2.

Tableau 2 : Principaux modes d'action des herbicides dans la plante (Baudry et al., 2001).

Groupe	Mode d'action	Famille chimique	Substance active	Formule développée
A	Inhibition de l'ACCCase (acétylcoenzyme A carboxylase), enzyme impliqué dans la voie de la synthèse des lipides.	Aryloxyphénoxypropionates.	Fluazifop-pbutylquizalofop-Péthylquizalofopéthyl.	
C ₁	inhibition de la photosynthèse (blocage du transfert d'électrons) au niveau du photosystème II (site de fixation de la substance active sur la protéine cible légèrement différente de C2).	Triazines. Uraciles.	Simazine Bromacil	
C ₂	Inhibition de la photosynthèse (blocage du transfert d'électrons) au niveau du photosystème II (site de fixation de la substance active sur la protéine cible légèrement différent de C1).	Urées	Diuron	
D	Inhibition de la photosynthèse par diversion des électrons au niveau du photosystème I	Bipyridyles	Diquat Paraquat	
E	Inhibition de la PPO (protoporphyrinogène oxydase), bloquant ainsi la synthèse des chlorophylles.	Diphényléthers Oxadiazoles	Oxyfluorène oxadiazon	
F ₁	Inhibition d'une étape (autre que F3) de la biosynthèse des caroténoïdes.	Pyridazinone	Norflurazon	

F₃	Inhibition d'une étape (autre que F1) de la biosynthèse des caroténoïdes.	Triazole	Amino-triazole	<p>Aminotriazole</p> 
G	Inhibition de l'EPSP synthase (5-énolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase), enzyme sur la voie de la synthèse des acides aminés aromatiques.	Glycines	Glyphosate Sulfosate	
H	Inhibition de la glutamine synthase, entraînant un blocage de la photosynthèse.	Acides phosphoniques	Glufosinate	
K₁	Inhibition de la polymérisation des tubulines, protéines qui permettent l'assemblage des microtubules (éléments du squelette cytoplasmique) lors de la division cellulaire.	Dinitroanilines	Butraline Oryzalin Pendiméthaline	<p>Pendiméthaline herbicide</p> 
K₃	Inhibition de la division cellulaire par désorganisation des microtubules	Acétamides	Napropamide	
L	Inhibition de la synthèse de la cellulose des parois cellulaires.	Nitrile Benzamides Chlorthiamide	Dichlobénil Isoxaben	<p>Nitrile</p> 
O	Action de type hormonale (acide indolacétique) désorganisant division et croissance cellulaires.	Acide Phynoxycarboxylique Acide Pyridinecarboxylique	2,4 D Fluroxypyr- Clopyralid	

I.3 Le glyphosate

I.3.1 Définition

C'est un herbicide organophosphoré (Tsuioshi et al., 2009), de formule moléculaire (C₃H₈NO₅P), il est appelé par les chimistes N-phosphonométhylglycine (Gounari, 2006), et C'est un analogue de la glycine (Pierre, 2013). C'est l'herbicide le plus vendu dans le monde depuis son arrivée sur le marché en 1974 sous la formulation commerciale « Roundup » (Monsanto, Etats-Unis) (Mazzella et al., 2009). Il figure aujourd'hui sur le marché dans plus d'une dizaine de préparations commerciales (Brex, Glyphos, Roundup,...etc.). Il s'agit d'un herbicide total, pénétrant par les feuilles, puis transporté de manière systémique jusqu'aux racines (Delabays et Bohren, 2007 ; Druart et al., 2011), le produit le plus courant contient 360 g de glyphosate/litre (FAO, 1987).

I.3.2 Propriétés physico-chimiques

Le glyphosate est très polaire, il est très soluble dans l'eau mais insoluble dans la plupart des solvants organiques. Dans les sols, il est rapidement adsorbé par la phase solide de la matrice sol (Ibanez et al., 2005).

Tableau 3: Les propriétés physico-chimiques du Glyphosate (Couture et al., 1995)

Molécule	Formule	Propriétés physico-chimiques
Glyphosate	$ \begin{array}{c} \text{O} \qquad \qquad \text{O} \\ \parallel \qquad \qquad \parallel \\ \text{HO}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-\text{P}-\text{OH} \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \\ \qquad \qquad \qquad \text{H} \qquad \qquad \text{OH} \end{array} $	<p>Poids moléculaire [g/mol]= 169.1</p> <p>Pression de vapeur [Pa] 1.31.10⁻⁵ (T = 25°C)</p> <p>Coefficient d'adsorption : (K_{oc}) [L/kg] = (884-60000)</p> <p>Constante de dissociation (pKa)</p> <p>pKa1= 2.34 à 20°C (acide phosphate)</p> <p>pKa2= 5.73 à 20°C (amine secondaire)</p> <p>pKa3= 10.2 à 20°C (acide carboxylique)</p> <p>Solubilité (eau) = 12 g/L à 25°C</p> <p>Stabilité :</p> <p>Eau : DT50 = 2 à 91 jours, (photodégradation)</p> <p>Sols : DT50 =3 à 174 jours</p> <p>Kd= 61 g/m³ (coefficient d'adsorption très élevé)</p> <p>Point de fusion=200°C</p>

I.3.3 Mode d'action

Le glyphosate pulvérisé est absorbé par les feuilles. Il se déplace rapidement par le phloème jusqu'aux racines, sans affecter les tissus qui reçoivent directement le produit s'il est appliqué selon les concentrations recommandées (Delabays et Bohren, 2007). Il bloque la biosynthèse des acides aminés aromatiques. Plus précisément, il inhibe un des enzymes impliqués dans la biosynthèse de ces acides aminés énoypyruvyl-3shikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), cet enzyme est uniquement présent dans les plantes et les microorganismes, elle n'est pas présente chez les animaux ou l'homme (Le Mer, 2009). En bloquant cette étape de la voie métabolique, l'herbicide induit une accumulation d'acide shikimique (figure 1). Il en résulte, une diminution du taux de synthèse protéique et de la formation de certains composés phénoliques. La cessation de la croissance aboutit à la mort de la plante (Kouassi Brou et al., 2012).

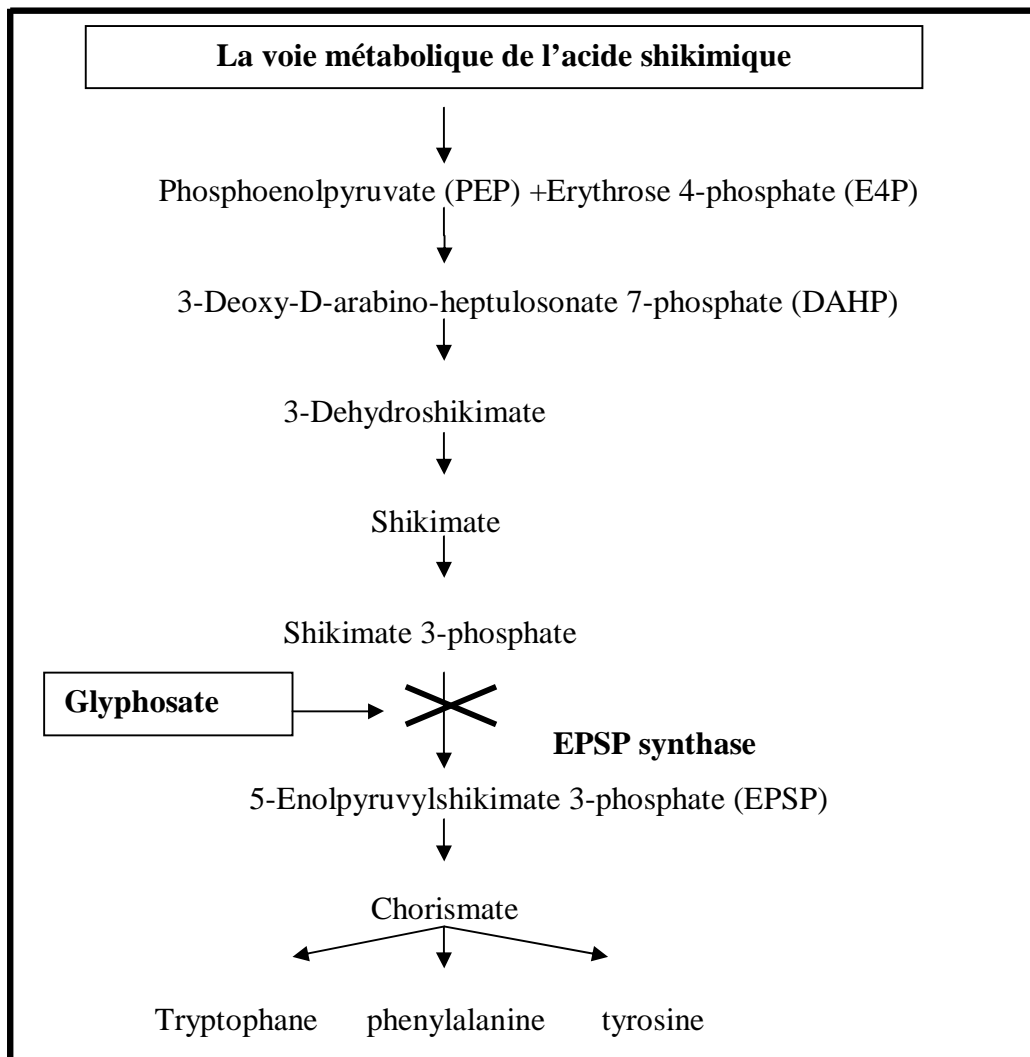


Figure1 : Mode d'action du glyphosate (Amalric et al., 2003).

I.4 Contamination des eaux par les pesticides

I.4.1 Le devenir des pesticides dans l'environnement

Le devenir des pesticides dans l'environnement dépend de leurs rétentions, leurs transport, leurs dégradations et aussi de leurs propriétés ainsi que de celles de différents compartiments concernés, le sol, les eaux et l'atmosphère (Calvet, 2005).

➤ Le devenir de glyphosate dans le sol

Lorsqu'il atteint le sol, le glyphosate, peut subir différents processus de transformation en fonction des conditions de l'environnement (T^0 , pH, matière organique, vie microbienne) comme le montre la Figure 2.

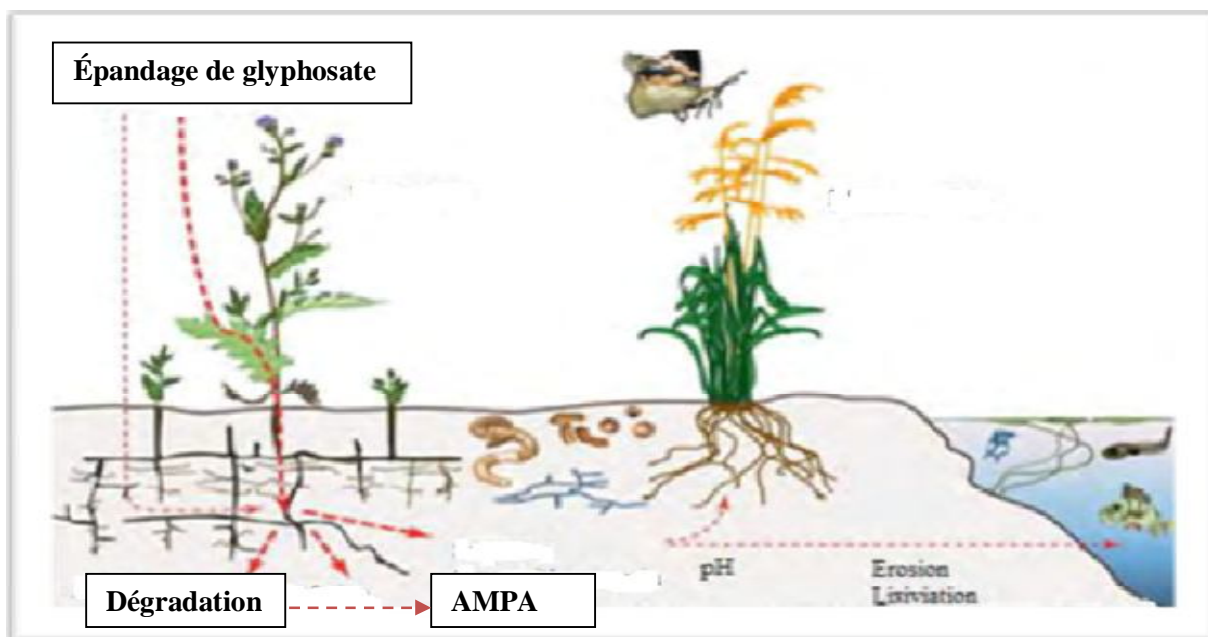


Figure 2 : Le devenir du glyphosate dans l'environnement (Sturny, 2012).

I.4.1.1 La rétention du glyphosate

➤ L'adsorption du glyphosate

Le glyphosate se distingue par la présence de deux groupements acides, l'un carboxylique, l'autre phosphonique. Il est fortement et rapidement adsorbé dans les sols, cette adsorption est très dépendante du pH du sol, de la présence de cations échangeables di et trivalents et d'oxydes de fer et d'aluminium chargés positivement. Néanmoins, dans certains cas, notamment les sols sableux ou calcaires, l'adsorption est plus modérée (Grunewald et al., 2001). Dans les sols, le glyphosate est difficile à mesurer en raison de son adsorption rapide sur les sols et difficile à extraire sans le dénaturer (Le Mer et al., 2009).

L'adsorption du glyphosate en sols sableux, calcaires ou humifères est plutôt lente; elle est plus rapide en sols argileux, faiblement acides ou pauvres en humus, mais elle n'est jamais totale. Cette adsorption est responsable de l'inactivation rapide du glyphosate dans le sol plutôt que sa dégradation. Ainsi le processus d'adsorption rend l'herbicide plus persistant dans le sol (Sprankle et al., 1975).

- **Effet du pH :** L'adsorption du glyphosate dans les sols dépend fortement du pH et dans le cas général, l'adsorption augmente quand le pH diminue. Quand le pH du sol diminue apparaissent des espèces moléculaires (glyphosate et constituants du sol) moins chargées négativement et l'adsorption est facilitée (Accinelli et al., 2005). Pour des pH fortement alcalins (>11.5), le glyphosate est chargé négativement de même que les surfaces des minéraux argileux, des oxydes et de la matière organique, donc l'adsorption diminue. Il est fortement adsorbé sur les sols, en particulier les sols à pH neutre ou faible (Ndjeri-Ndjouhou, 2012).
- **Effet de la teneur des sols en argiles et oxydes métalliques :** Les résultats des premiers travaux sur l'adsorption du glyphosate avec un sol argilo-limoneux et un sol sableux, avaient conduit à suggérer que les argiles étaient responsables de l'adsorption de cet herbicide. Le mécanisme d'adsorption se fait par des liaisons covalentes avec oxydes de Fer et Aluminium (Prata et al., 2003).
- **Effet de la teneur des sols en matière organique :** Le glyphosate est plus adsorbé sur sol organique que sur sol minéral (Barrett et McBride, 2006). L'adsorption se fait par des liaisons hydrogènes avec les substances humiques (Piccolo et al., 1996). La matière organique est souvent considérée comme l'un des plus importants adsorbants des composés porteurs de fonctions phosphoniques dans les sols (Couture et al., 1995).

I.4.1.2 La dégradation du glyphosate

La dégradation du glyphosate produit plusieurs métabolites, dont le principal est l'AMPA. La dégradation de celui-ci est microbienne et plus lente que celle du glyphosate (Prata et al., 2005). Le stade ultime de dégradation de glyphosate est la minéralisation en CO₂. Le temps de minéralisation varie entre 8 à 92 jours selon les caractéristiques chimiques et biologiques du sol (Al-Rajab et Schiavon, 2010).

I.4.1.3 La dissipation du Glyphosate (Mobilité et transfert)

a. Volatilisation: Le glyphosate n'est pas susceptible de se volatiliser directement à partir des surfaces traitées. Cependant, une partie du glyphosate appliqué dans les cultures peut être transférée dans l'atmosphère lors des traitements par vaporisation des gouttelettes entre la rampe d'application et le sol (Zablotowicz et al., 2009).

b. Ruissellement : la présence de glyphosate et surtout son métabolite AMPA dans les eaux de surface et dans les eaux souterraines et démontrant sa mobilité ainsi que celle de l'AMPA (Kolpin et al., 2005), la mobilité augmente légèrement à un pH élevé (Doliner, 1991). En effet, sa forte adsorption et de sa faible désorption font que la mobilité de cette substance devrait être très faible (Al rajab, 2007). De même, une étude montre des résultats, indiquant des concentrations élevées dans les eaux de ruissellement obtenues juste après l'application du glyphosate. Cependant, d'autres auteurs dans une étude au champ, montrent que moins de 1% du glyphosate appliqué se trouvait dans les eaux de ruissellement à la suite d'un premier orage suivant un traitement (Hwang et Young, 2011).

I.4.2 La contamination des eaux par le glyphosate

La capacité du glyphosate à rejoindre les cours d'eau depuis les sols ou à contaminer les nappes phréatiques par lixiviation semble a priori faible. Sa forte adsorption et sa faible désorption, associées à sa rapidité de dégradation limitent en effet sa mobilité sous forme soluble, et conduisent à le considérer comme peu susceptible au lessivage (Al Rajab, 2007). Les observations de terrain paraissent cependant en contradiction avec ces caractéristiques : le glyphosate occupe en effet respectivement la 1^{ère} et la 3^{ème} place parmi les pesticides les plus détectés dans les ressources en eau superficielles, et la 12^{ème} et 13^{ème} place dans le classement des eaux souterraines. Les experts estiment que cette pollution serait due non pas au caractère particulièrement polluant du produit, mais à sa sur consommation et/ou à sa mauvaise utilisation par rapport aux conditions climatiques (Al Rajab, 2007).

I.4.3 Impact du glyphosate

I.4.3.1 Sur la santé humaine

Le glyphosate est relativement peu soluble dans les graisses, ce qui minimise les risques de bioaccumulation dans la chaîne alimentaire. Globalement, sa toxicité pour les animaux et les humains est donc relativement modérée (Pelfrène, 2003). Pourtant, de plusieurs enquêtes menées auprès d'utilisateurs et de services médicaux, il ressort que les herbicides à base de glyphosate sont à l'origine d'un grand nombre de plaintes pour atteinte à la santé (Goldstein et al., 2002). La plupart de ces plaintes concernent des irritations de la peau, des yeux ou des voies respiratoires supérieures (Onil, 2001).

I.4.3.2 Sur le système sol-plante

Le glyphosate a un impact limité sur les microorganismes du sol, de plus, Les essais réalisés en milieu naturel démontrent plutôt que les microorganismes augmentent dans les sols traités au glyphosate suggérant ainsi l'utilisation du glyphosate comme substrat (**Couture et al., 1995**). Des études portant sur des lombrics exposés au glyphosate ont indiqué une réduction du rythme de leur croissance et une tendance de ces animaux à éviter les endroits traités à cet herbicide, toute atteinte à ces invertébrés risque de compromettre la santé des sols (**Bracket al., 2010**). Des chercheurs indépendants comme **Huber et al., (2005)** publient actuellement des études qui prouvent que le glyphosate s'attaque à certaines fonctions clés de la rhizosphère, ils ont constatés :

- Une moindre assimilation par les cultures des micronutriments qui leur sont essentiel
- Une fixation réduite de l'azote, avec réduction des rendements agricoles
- Une vulnérabilité accrue aux phytopathologies.

D'autre part **Huber et Haneklaus, (2007)** rapportent le glyphosate induit des changements dans la biologie et la chimie du sol qui favorisent le développement de diverses maladies comme le piétin-échaudage des céréales, la fonte des semis, la pourriture des racines et le syndrome de la mort subite de certaines plantes.

Chapitre II

Les diatomées (un bioindicateur reconnu)

II.1 Biologie et écologie de ces organismes

II.1.1 Biologie

Les diatomées sont membres de l'embranchement des algues brunes (Chromophytes). Ces micro-algues unicellulaires, dont la taille varie de quelques μm à plus de $500\mu\text{m}$, constituent la majeure partie du phytoplancton et marin. Les diatomées sont omniprésentes, elles colonisent divers types de substrats dans des conditions et des milieux très différents, des eaux pures aux plus polluées (Sarthou *et al.*, 2005).

II.1.1.1 Morphologie et structure cellulaire

Les diatomées sont des cellules eucaryotes enchâssées dans une paroi de silice hydratée (le frustule) qui se compose de deux unités imbriquées : l'épivalve et l'hypovalve. Ces deux valves sont reliées par des ceintures connectives constituées de fines bandes siliceuses appelées copula (Figure 3). La cohérence de cet ensemble est renforcée par une matrice organique extra-cellulaire constituée de polymères excrétés par la cellule au travers de perforations présentes sur toute la surface du frustule (Duke et Reimann, 1977).

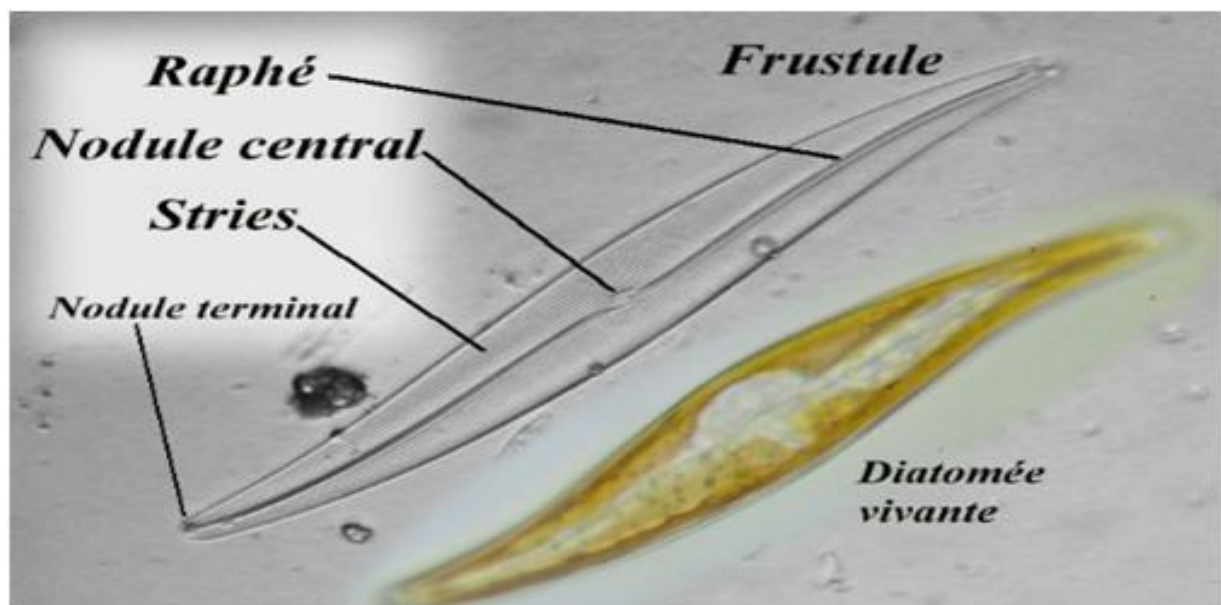


Figure3 :Frustule d'une diatomée vivante (Coste, 2000)

On trouve dans le protoplasme des diatomées les structures propres aux cellules eucaryotes : un noyau relativement homogène et un système membranaire avec plasmalemme, réticulum endoplasmique, appareil de Golgi, mitochondries, dictyosomes, vacuoles, chloroplastes d'une couleur brun-jaune (figure 4). Les pigments photosynthétiques sont des chlorophylles (*a* et *c*) et des caroténoïdes (β -carotène, fucoxanthine, diatoxanthine, diadinoxanthine) (Jorgensen, 1977). Une partie de ces organismes est indépendante de

l'énergie lumineuse, ce qui lui permet de coloniser jusqu'aux milieux les plus inhospitaliers (Hellebust et Lewin, 1977).

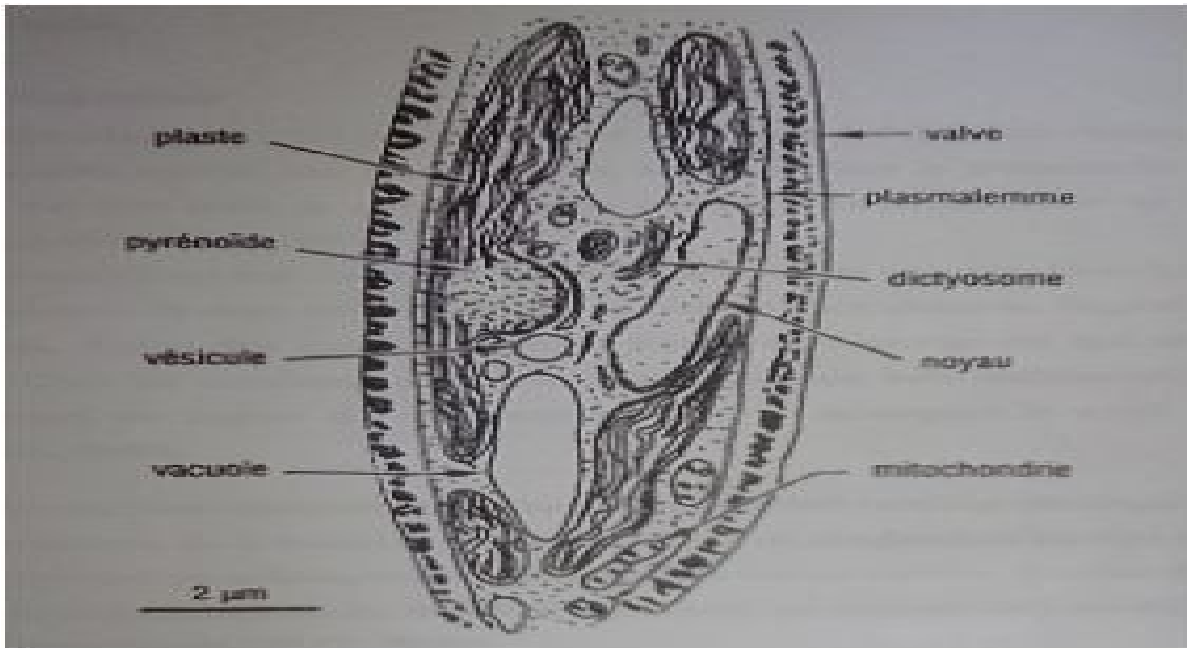


Figure 4 : Coupe dans la région centrale d'une diatomée (Geneves, 1990)

II.1.1.2 Reproduction

Le cycle de développement des diatomées est relativement court, de l'ordre de quelques heures à quelques jours (Baars 1983). La reproduction se fait essentiellement par voie végétative, et rarement par reproduction sexuée.

Lors de la reproduction asexuée, chaque cellule-fille reçoit par mitose la moitié de la paroi de la cellule-mère et fabrique elle-même la section manquante (hypoalve). Ce processus de régénération implique une réduction de la taille des cellules-filles aboutissant à des dimensions minimales, et la reproduction sexuée permet de recouvrer des individus de taille normale (John, 2000). Les diatomées sont des organismes diploïdes, l'auxosporulation (production de cellules-oeuf) nécessite la formation de gamètes mâles flagellés et de gamètes femelles par méiose et produit une nouvelle cellule, appelée cellule initiale, dont la morphologie est un peu différente de celle des cellules végétatives.

Si les conditions environnementales deviennent défavorables (diminution de l'éclairement, de la température, de la teneur en sels nutritifs...), de nombreuses espèces de diatomées forment des structures de résistance, les hypnosporos ou spores de résistance, qui peuvent tenir un état de vie ralenti durant quelques semaines (Coste, 2000).

II.1.1.3 Systématique

Les diatomées ou **bacillariophycées** appartiennent à la division des Heterokontophyta dans le règne des Protistes. Elles se distinguent des autres algues par certains de leurs pigments de la famille des xanthophylles (fucoxanthine, diatoxanthine, diadinoxanthine). On distingue ainsi deux sous-classes : les Pennatophycideae (Pennées) et les Centrophycideae (Centriques) expliquées par la figure 5 (Morin, 2006).

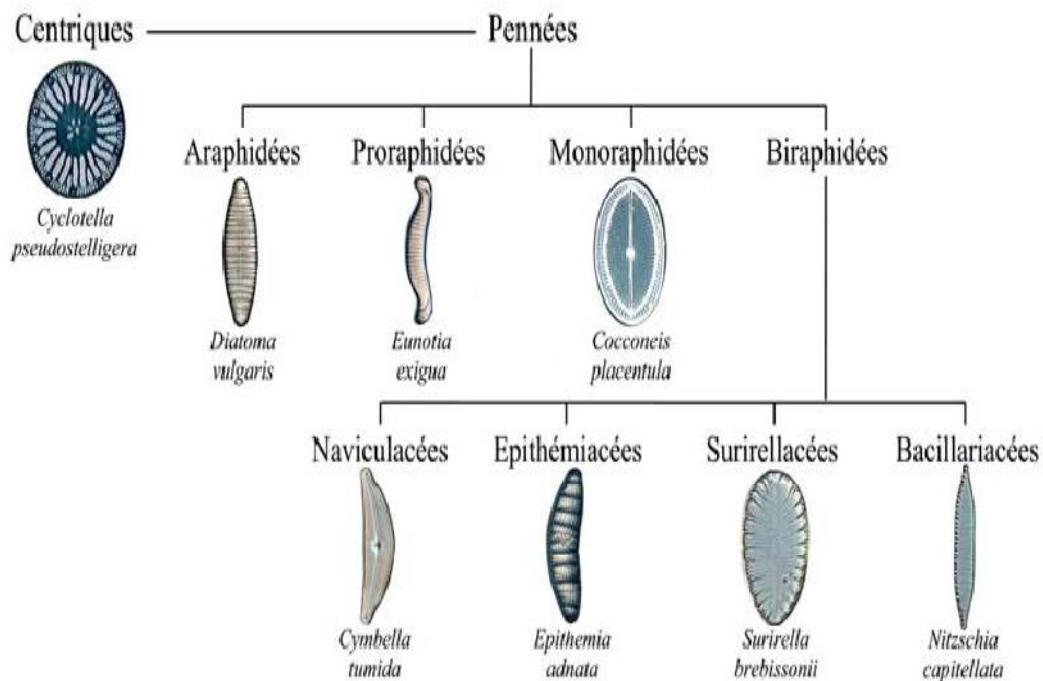


Figure 5 : Clé simplifiée de détermination des genres des diatomées d'eau douce (Morin, 2006)

II.1.2 Ecologie

II.1.2.1 Biotope

Les diatomées sont présentes non seulement dans les milieux aquatiques (marins et continentaux) mais aussi dans les milieux aériens (espèces aérophiles) et terrestres (sols, paroi de cavernes) (Prygieletal., 2000).

Dans les écosystèmes aquatiques, on distingue : Les diatomées planctoniques (vivent en suspension) et les diatomées benthiques (vivent sur le fond ou sur des supports variés). La mer contient de nombreuses espèces planctoniques de diatomées, isolées ou en colonie, et surtout centrales. En eau douce, elles sont essentiellement benthiques et sont plutôt des diatomées pennales et coloniales (Ozenda, 2000).

II.1.2.2 Mode de vie

Dans un même milieu, sur un même substrat, les communautés de diatomées évoluent au cours des saisons. Au début de printemps, sous l'effet de la température et de la chaleur, les diatomées peuvent se développer de façon abondante formant des efflorescences dans les lacs. En eaux douce, les diatomées centrales peuvent constituer d'épais entrelacs de longs et fins filaments bruns. Une température de 0°C n'est pas mortelle tant que l'eau (salée) ne gèle pas (Ozenda, 2000).

Les diatomées ayant besoin de lumière, elles se situent près de la surface de l'eau. L'intensité lumineuse est trop élevée et de nombreuses espèces se limitent à une profondeur où seul un tiers de la lumière est filtrée (entre 3 à 40 mètres). Comme le reste du phytoplancton, chaque espèce de diatomée a un besoin d'énergie lumineuse pour compenser l'énergie dépensée pour survivre, lorsqu'une certaine profondeur dite de compensation est franchie, la cellule dépérit. Cette profondeur varie selon les saisons. Les mécanismes morphologiques possibles peuvent être un amincissement de la frustule, l'allongement de sa forme en baguette fine, la présence de mucus, de soies, de filaments et d'épines qui jouent un rôle de parachute (Coste, 2000).

II.2 les effets des pesticides sur les diatomées

II.2.1 les effets sur la cytologie et l'ultra-structure

II.2.1.1 Le squelette interne ou cytosquelette

Les diatomées sont dotées d'un réseau interne de filaments. Ces filaments sont essentiels à la survie et à la reproduction des cellules. Par conséquent, de nombreuses molécules herbicides ont été développées autour de cette cible cellulaire par des déformations du fuseau mitotique (Coss et al., 1974), des perturbations de la polymérisation de la tubuline et conduit à une désorganisation des fuseaux mitotiques, perturbation de la synthèse des microtubules qui jouent un rôle primordial lors de la séparation du matériel génétique au cours de la mitose (Coombs et al., 1968).

II.2.1.2 Le noyau

La dispersion de l'ADN dans les cellules (altération semble liée à une forme d'apoptose) (Casotti et al., 2005). Fragmentation du noyau chez les diatomées (Coombs et al., 1968).

II.2.1.3 Les membranes

Sous l'effet de radiations ou de certains composés, les membranes peuvent être altérées par la production de radicaux oxydants (**Rijstenbil et al., 1994**).

II.2.1.4 Le frustule (La paroi cellulaire siliceuse)

Les pesticides peuvent perturber la forme générale de frustule par des concentrations élevées.

II.2.2 Les effets sur le métabolisme des cellules et des communautés

II.2.2.1 Les processus bioénergétiques

Les herbicides inhibent plus précisément le fonctionnement d'une entité du complexe photosynthétique, le photosystème II. Elles se lient avec une protéine, la protéine D1, bloquant ainsi le transfert d'électrons nécessaires à une réaction d'oxydoréduction, la réaction de Hill (**Peres et al., 1996**).

II.2.2.2 Les synthèses de protéines, lipides et glucides

L'exposition à l'herbicide pouvait significativement réduire la production de protéines, notamment les protéines D1 et D2 qui jouent un rôle important dans les mécanismes cellulaires de la photosynthèse (**Weiner et al., 2007**).

On signale aussi que certains auteurs suggèrent que les molécules herbicides affectent aussi l'absorption des nutriments (NO₃, NO₂, Si) par les algues (**Krieger et al., 1988**).

II.2.3 Les effets sur la croissance de la biomasse

II.2.3.1 Biomasse totale

Chez certaines espèces d'algues, dont des diatomées, exposées à des concentrations proches, la baisse de biomasse a été immédiate et significative après l'ajout d'herbicide (**Weiner et al., 2007**).

II.2.3.2 Biomasse algale

La biomasse algale est évaluée, soit par dosage classique, en spectrométrie, de certains pigments chlorophylliens, soit par chromatographie en phase liquide. La concentration en « chlorophylle a » est un des paramètres les plus utilisés pour évaluer l'effet des pesticides sur la biomasse algale.

Chez les diatomées, une exposition à des concentrations élevées (de l'ordre de 10 à 1000 µg/L) d'un herbicide conduisait à une réduction plus ou moins importante de la concentration en chlorophylle « a » (**Guasch et al., 1998**).

II.3 Les facteurs interférant dans la réponse des diatomées

II.3.1 Les paramètres écologiques

II.3.1.1 Compétition spécifique

Dans les diatomées, les cellules sont capables de sécréter des médiateurs chimiques, comme l'aldehyde 2-Trans, 4-Trans-Decadienal, qui leur permettent de réguler leur croissance entre elles. La compétition et les relations d'inter-dépendance entre les différentes espèces influent donc largement sur la réponse des algues. Les compétiteurs les plus opportunistes, sont largement avantagés dans des conditions défavorables au développement d'espèces plus sensibles. De ce fait, les paramètres structurels globaux (biomasse,..), sont moins sensibles aux pesticides que les paramètres structuraux plus spécifiques (composition spécifique,..). En effet dans certains cas, des espèces tolérantes peuvent remplacer les espèces les plus sensibles sans que les paramètres structuraux globaux ou les paramètres fonctionnels (activité photosynthétique, production primaire) ne le détectent (**Timothée, 2007**).

II.3.1.2 Biofilm

Les diatomées benthiques évoluent au sein d'une matrice biologique complexe, le biofilm, composée de bactéries, de champignons et de matières organiques amorphes, dont une partie est sécrétée par ces organismes sous la forme de polysaccharides extracellulaires. Ces substances constituent une matrice de protection qui protège en partie les algues contre les effets des pesticides (**Guasch et al., 1997**).

II.3.1.3 Broutage

Le biofilm représente une source de nourriture importante pour un grand nombre d'organismes brouteurs (macro-invertébrés, poissons). L'action de ces organismes benthophages modifie profondément la structure du biofilm, altérant par la même la couche protectrice que représente, pour les cellules, les exopolysaccharides. Le broutage affecte aussi la structure des cellules, favorisant par la même l'effet des toxiques (**Munoz et al., 2001**). Mais le rôle de ces organismes brouteurs dans l'apparition d'altérations chez les algues, suite à une exposition par des pesticides, est difficile à évaluer en conditions naturelles.

II.3.1.4 Mécanismes de survie

Il existe des mécanismes de plongée des cellules pour échapper à un environnement toxique chez une espèce de diatomée marine (**Rijstenbil et al., 1994**).

II.3.2 Les paramètres environnementaux

Les facteurs environnementaux (luminosité, courant, concentration en nutriments,...) déterminent très largement les effets des pesticides sur les communautés algales (**Guasch et al., 1997**).

II.3.2.1 Luminosité

Le facteur saisonnier joue un rôle important dans la réponse des algues. Les diatomées étaient plus sensibles à des herbicides en cas de forte exposition lumineuse (**Guasch et al., 1997 ; Guasch et al., 1998**).

II.3.2.2 Nutriments

Les effets des pesticides sur les algues varient en fonction des niveaux de concentration en nutriments dans le milieu. Les carences en azote et phosphore pouvaient augmenter la sensibilité des algues (**Timothée, 2007**).

II.3.2.3 Les conditions hydrauliques

Le développement des communautés de diatomées benthiques est largement dépendant des conditions hydrauliques (**Ghosh et al., 1998**). L'effet abrasif de courants élevés contribue à limiter le développement des communautés et du biofilm, et à sélectionner les espèces les plus rhéophiles. Les conditions hydrauliques influencent donc indirectement les réponses des diatomées aux pesticides en modelant la structure des communautés et en limitant le développement de la matrice protectrice que représente le biofilm (**Jurgensen et al., 1990**).

II.3.3 Importance écologique des diatomées

II.3.3.1 Indice bio-diatomées (IBD)

Les indices diatomiques sont destinés à estimer la qualité globale de l'eau. Ils s'appliquent à des algues microscopiques fixées (diatomées benthiques) qui fournissent une information différente de celles qui dérivent en suspension dans l'eau. Cet indice s'appuie sur 7 classes de qualité des eaux définies par rapport à 7 paramètres physico-chimiques (pH, Conductivité, % de saturation en O₂, DBO₅, NH₄, NO₃ et PO₄) (**Timothée, 2007**) mais les deux les plus utilisés sont :

- ✓ **IPS** : Indice de polluo-sensibilité (calculés sur 10000 espèces environ)
- ✓ **IBD** : Indice biologique diatomique (calculés sur 209 espèces).

II.3.4 Écotoxicologie

II.3.4.1 Définition

L'écotoxicologie recouvre les domaines de l'écologie et de la toxicologie. Cette science étudie et les impacts des agents polluants sur la structure et le fonctionnement des écosystèmes. L'écotoxicologie peut s'appliquer à différents niveaux d'organisation biologiques, allant de la cellule à la communauté, voire à l'écosystème. Elle intègre ainsi les interactions entre ses composants et les facteurs abiotiques. Cela permet d'évaluer des effets toxiques sur des systèmes de complexité variable, selon le nombre de niveaux trophiques intégrés d'une part, et selon le degré de représentativité environnementale d'autre part, avec des conditions physico-chimiques contrôlées ou naturelles (**Sabine, 2008**).

II.3.4.2 Les interactions entre molécules toxiques

La pollution par les pesticides des milieux aquatiques naturels est caractérisée par le grand nombre de molécules (substances actives mères, métabolites...) présentes dans les eaux. Dans les cours d'eau, les molécules peuvent interagir entre elles et induire des effets (synergie, antagonisme, effets combinés) différents de la simple somme des effets qu'elles induisent séparément (**Timothée, 2007**). Ce qui fait que les résultats obtenus au laboratoire ne sont pas toujours valables sur le terrain.

II.3.4.3 Bio essai

C'est une méthode expérimentale scientifique qui implique l'utilisation de plantes ou d'animaux vivants (*in vivo*) ou de tissus ou cellules (*in vitro*) pour déterminer l'activité biologique d'une substance, comme une hormone, un médicament un produit chimique.

II.3.4.4 Limite des bios essais

Les données fournies par ces tests sont disponibles que pour un nombre très limité d'espèces qui sont été exposées à une seule molécule, avec des concentrations données et dans des conditions très contrôlées. Ainsi que dans les communautés naturelles, les espèces interagissent entre elles, la réponse d'une pouvant être influencée par la réponse d'une autre. En outre, les conditions naturelles sont extrêmement variables que ce soit au sein même d'une station ou entre différents points de mesure. Les résultats ainsi obtenus avec les biotests sont donc difficilement extrapolables aux biocénoses aquatiques (**De Noyelles et al., 1982**).

Deuxième partie

Partie pratique

Matériel et Méthodes

I. Matériel et méthode

I.1. Présentation de la zone d'étude

La wilaya de Jijel est une ville côtière du nord algérien, elle est située à 360 Km à l'est du capital Alger, et s'étend sur une superficie de 2398.69 Km². Elle se caractérise par un climat de type méditerranéen avec un hiver doux et une pluviométrie de l'ordre de 1200mm/an, c'est pour cela la que wilaya de Jijel est considérée parmi les régions les plus pluvieuses en Algérie, elle reçoit chaque année des apports d'eau de pluie très importants qui ruissellent généralement vers les principaux oueds et retenues collinaires existants dans la wilaya. Notre échantillonnage est effectué au niveau de la retenue collinaire Kella, selon la direction des ressources hydriques de Jijel ce petit réservoir d'eau est réalisé en 1993 au sud de la ville de Jijel, il a une capacité de rétention de 310000 m³ et délimite une superficie de 41556 m² (figure 06)



Figure 06 : Situation géographique de la zone d'étude (retenue collinaire kella) le zoom sur image Google Earth (le 17/06/2018)

I. 2. Intérêt du choix des diatomées

- Parmi les producteurs primaires d'un milieu humide on trouve les diatomées, elles sont considérées comme les algues les plus sensibles aux conditions environnementales. De plus elles ont habituellement un cycle de vie rapide, ce qui en fait un bioindicateur efficace pour les impacts anthropiques qui peuvent avoir lieu sur une courte période, les diatomées sont plus directement affectées par les facteurs physiques et chimiques de l'eau (**Pascale, 2010**).
- D'autre part les diatomées constituent une part importante de phytoplancton, elles contribuent largement à la fixation de dioxyde de carbone atmosphérique, et donc au cycle de carbone, ainsi qu'au cycle de silicium. Leur échantillonnage est facile, peu coûteux, requiert peu de gens et minimise les impacts sur la faune en place (**Afnor, 2000**).

I.3. Le choix de la retenue collinaire Kella

Le choix de ce site est basé d'abord sur son accessibilité facile et sa situation géographique qui se trouve à l'abri de tous types de pollution, comme le montre l'image de la figure 5, hormis quelques petites exploitations agricoles familiales, la majeure partie du bassin versant est occupée par une mosaïque de végétation.

I.4. Le choix de pesticide (glyphosate)

Le glyphosate connu le plus souvent sous le nom de Roundup et proposé aussi sous d'autres noms commerciaux en Algérie, c'est un herbicide non sélectif fortement recommandé par les coopératives agricoles qui il a une large utilisation dans le monde agricole et non agricole, nous avons choisi ce pesticide pour voir quel est son effet sur la croissance de population des diatomées en raison de l'analogie qui existe entre plantes et algues sur le plan physiologique et mode de nutrition.

I.5. Méthode de prélèvement d'échantillon

Pour le prélèvement des échantillons, nous avons utilisé le matériel suivant :

- Récipient
- Brosse

Notre échantillonnage est réalisé selon les étapes suivantes :

D'abord on prélève un galet relativement gros immergé dans l'eau qui contient une couche de biofilm et associe une forte abondance de diatomée (figure 07A). Le galet est placé dans un récipient et on frotte la surface par une brosse afin de récolter tout le biofilm brun contenant les diatomées et on verse de l'eau pour faciliter le nettoyage du support (figure 07 B, C, D), le tout est récupéré dans un récipient qui sera collecté au laboratoire (figure 07E).

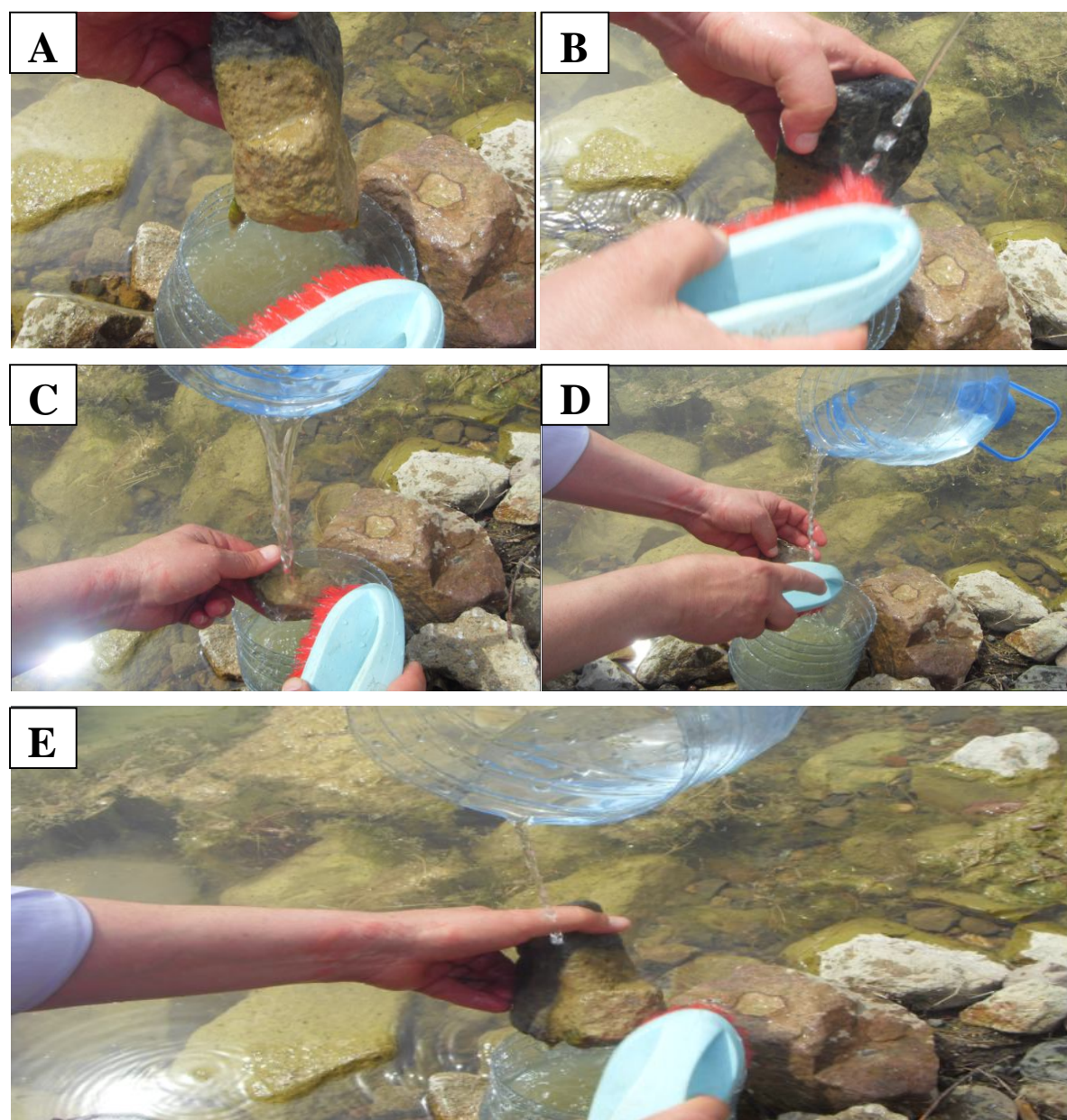


Figure 07 : Méthode d'échantillonnage des diatomées (retenue collinaire Kella) le 26/05/2018 a 14 :50h.

I.6 Déroulement de l'essai

Notre étude expérimentale a été réalisée afin d'appréhender, en conditions contrôlées, l'effet de pesticide choisi (le glyphosate) sur les communautés de diatomées naturelles issues de retenue collinaire (Kella).

I.6.1. Préparation de témoin : dans un erlenmeyer, on a mis 250ml de l'échantillon (l'eau prélevé de zone d'étude).

I.6.2 Préparations des dilutions (diatomée-herbicide) : l'herbicide glyphosate a été dilué par l'eau de l'échantillon par la méthode suivante :

- Dilution 1/10 (C1): dans un erlenmeyer de 250ml, on a mis 1ml de glyphosate commercialisé en forme solution après on a ajouté 9ml de l'eau d'échantillon.
- Dilution 1/50 (C2) : dans un erlenmeyer de 250ml, on a mis 1ml de glyphosate avec 49ml de l'eau d'échantillon.
- Dilution 1/100 (C3) : dans un erlenmeyer de 250ml, on a mis 1ml de glyphosate avec 99ml de l'eau d'échantillon.
- Dilution 1/1000 (C4): dans un erlenmeyer de 1000ml, on a mis 1ml de glyphosate avec 999ml de l'eau d'échantillon.



Figure 08 : Les échantillons avec les différentes dilutions placés sur agitateur multiposte

Pour assurer un bon contact des diatomées contenues dans les échantillons et l'herbicide avec ses différentes concentrations, l'incubation se déroule sur un agitateur magnétique multiposte

I.6.3 Préparation pour l'observation microscopique

Cellule Thoma est un hématimètre qui permet de compter le nombre de cellules en suspension dans une solution.

On a mis quelques gouttes de l'échantillon sur la lame Thoma dans la zone H puis on ajoute au-dessus une lamelle pour mieux fixer l'échantillon, après on observe les espèces existant à l'aide d'un microscope optique avec le calcul de la concentration pendant toute la période de l'essai.

I.6.4 Mesure de la concentration cellulaire

Pour calculer la concentration cellulaire, On utilise la formule de la cellule de numérotation Thoma :

$$\text{Concentration cellulaire} = \frac{\text{Cellule totale comptée}}{\text{Nombre de carrée}} \times 10.000$$

I.6.5 Mesure du pH

Le pH est mesuré au début de l'expérimentation à l'aide d'un pH-mètre de paillasse de type *Hanna*, il est neutre à alcalin, durant toute la période d'expérimentation il est ajusté à la neutralité par le KOH à chaque fois qu'on constate qu'il y'a diminution de sa valeur au-dessous de la neutralité afin d'éviter son effet sur la croissance des diatomées.

Les valeurs de concentration et du pH trouvées sont montrées dans l'annexe 01.

I.6.6 L'éclairage

Afin d'assurer une bonne activité photosynthétique durant la période d'incubation qui a duré 6 jours particulièrement , pendant la nuit l'éclairage est assuré par une lampe serpentin (150 w) qui fournit de la lumière blanche comme le montre la photo de la figure 9

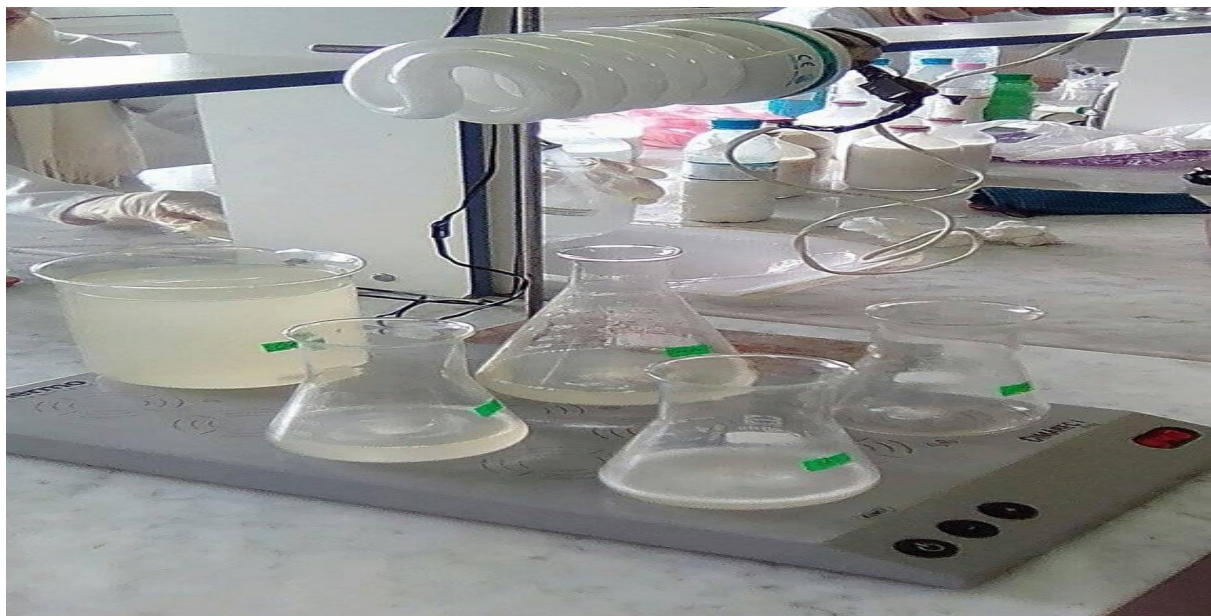


Figure 9 : Les dilutions sous l'éclairage

➤ **Analyse des données**

Une analyse descriptive des données a été utilisée. Les résultats de la variation de la densité cellulaire pour les cinq milieux testés (témoin, C1, C2, C3, C4) seront analysés statistiquement avec le test ANOVA à un seul facteur s'il y a une signification, le test de Tukey est utilisé pour la comparaison de la variabilité des moyennes entre les différents tests et le témoin ; l'analyse de ces données est faite à l'aide de logiciel R.

Résultats et Discussion

II. Résultats

L'évaluation des résultats des bios essais repose sur l'examen des données brutes puis sur une description des données sous la forme de paramètres statistiques pour la quantification de la toxicité et pour le degré de signification statistique, puis sous forme de graphiques où on représente la valeur moyenne de la concentration cellulaire pour chaque dilution du pesticide d'essai et pour le témoin et en fonction de temps afin d'obtenir des courbes de croissance.

II.1 Observation microscopique

L'observation microscopique nous a permis d'identifier les espèces présentes dans notre échantillon et de compter leur concentration cellulaire durant toute la période de déroulement de l'expérimentation.





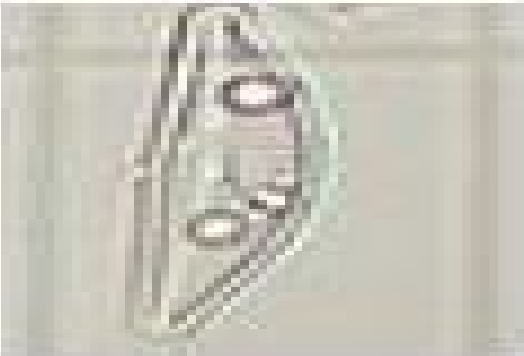

Figure 10 :Image de l'observation microscopique des diatomées pennées (G=40x10)

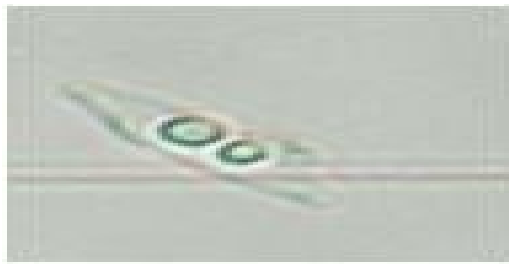

II.2 Identification des espèces

Photos des espèces identifiées selon le guide de **(Rumeau et Coste ,1988)**.

L'identification des différentes espèces de diatomées repose sur la taille, la morphologie.

Tableau04 : l'identification de différentes espèces diatomiques observées par le microscope (G=40x10)

Photos	Espèces
	<ul style="list-style-type: none"> • Pinulariasp.
	<ul style="list-style-type: none"> • Pinulariasp.
	<ul style="list-style-type: none"> • Cymbelloides • Cymbellatumida
	<ul style="list-style-type: none"> • Araphidées • Diatomavulgaris

	<ul style="list-style-type: none"> • Bacillariacées • Nitzschiacapitellata
	<ul style="list-style-type: none"> • Cylindrotheca

II.3 Résultats du suivi de croissance des communautés de diatomées exposées à différentes dilutions du Glyphosate

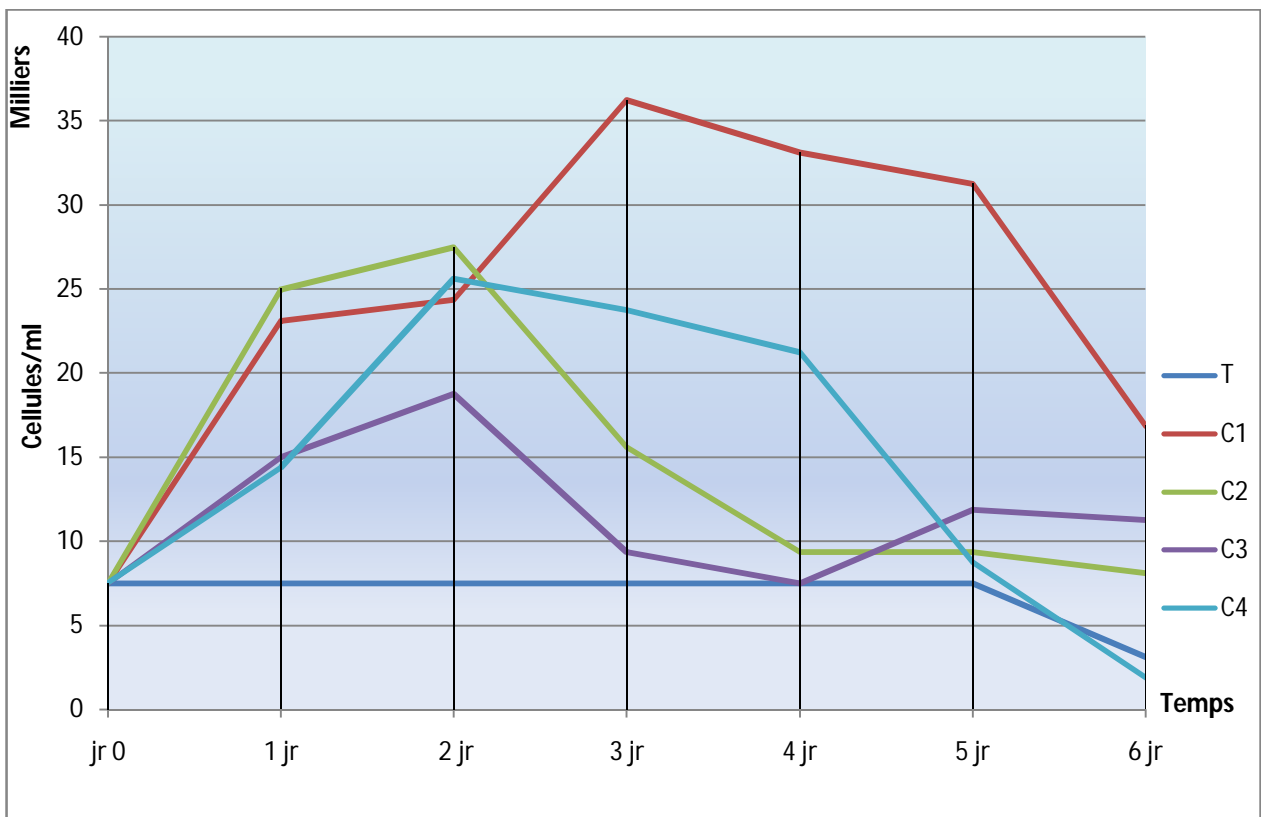


Figure 11 : Effet de l’herbicide (Glyphosate) sur la croissance des diatomées pennées.

La figure 13, regroupe tous les résultats de nos essais, d'exposition des communautés de diatomées naturelles récoltées de la retenue collinaire « Kella » à différentes dilutions de l'herbicide non sélectif de large utilisation le Glyphosate. De prime abord, la forme de variation de ces courbes nous révèle que la réponse de ces communautés d'algues vis-à-vis ce produit chimique n'est pas la même, par comparaison au courbe témoin on remarque que pendant les 2 premiers jours d'incubation toutes les dilutions de l'herbicide ont un effet stimulateur de croissance, cette croissance est de type exponentielle elle continue jusqu'au 3eme jour pour la dilution C1.

Dans le but de faciliter la lecture des différents résultats et leur interprétation, nous allons présenter dans chaque graphique uniquement la courbe qui exprime la variation de concentration cellulaire du témoin (sans Glyphosate) avec celle d'une dilution.

a. courbe de la dilution 1/10 (C1)

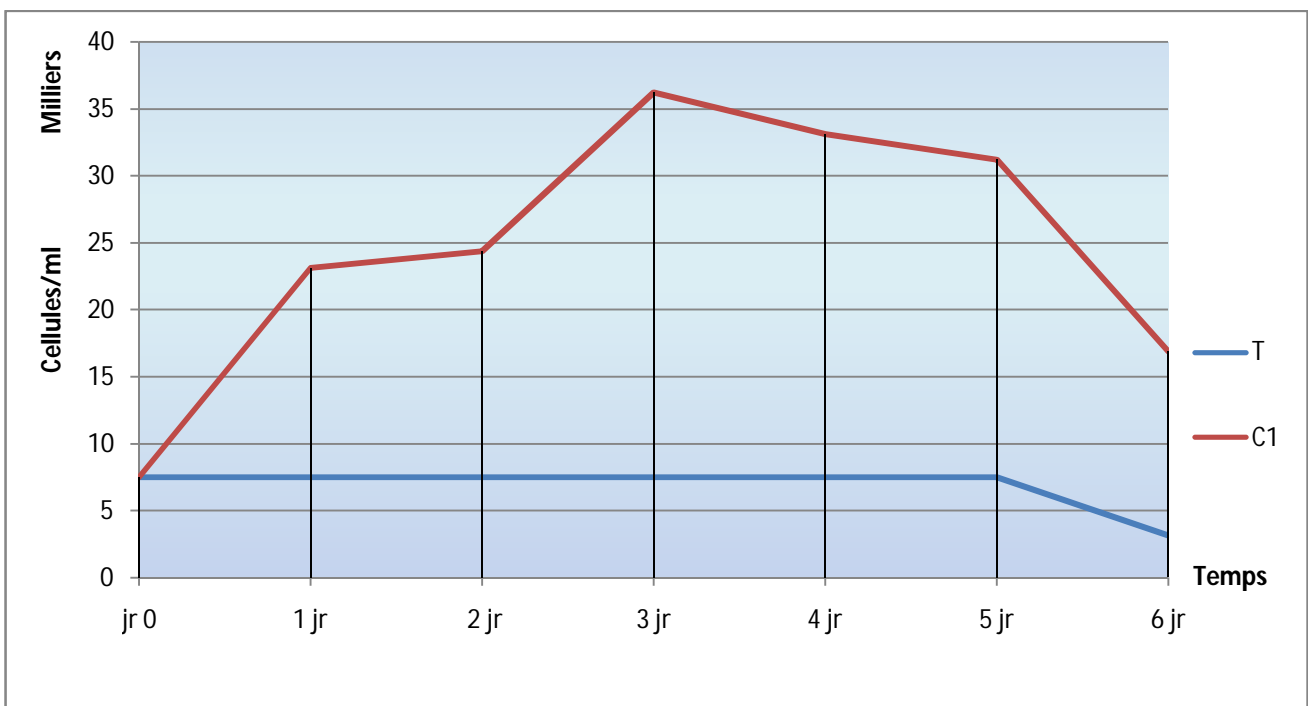


Figure 12 : Effet de la concentration (1/10) de Glyphosate sur la croissance des diatomées pennées. (***) différence hautement significative avec le témoin ; ANOVA $P < 0.05$; test Tukey)

D'après la comparaison de la dilution 1/10 de Glyphosate par le témoin on observe que la concentration C1 présente une phase exponentielle dès le 1^{er} jour jusqu'à le 3^{ème} jour expliquant une augmentation du nombre de cellules par ml, à partir de 3^{ème} jour elle diminue en formant une phase de déclin traduit par une baisse du nombre de cellules dans cette période, par contre le témoin présente une phase stationnaire durant les 5 jours ce qui signifie que la concentration cellulaire reste stable pendant cette durée de temps, une phase de déclin est enregistrée durant le dernier jour d'incubation.

b. effet de la dilution 1/50 (C2)

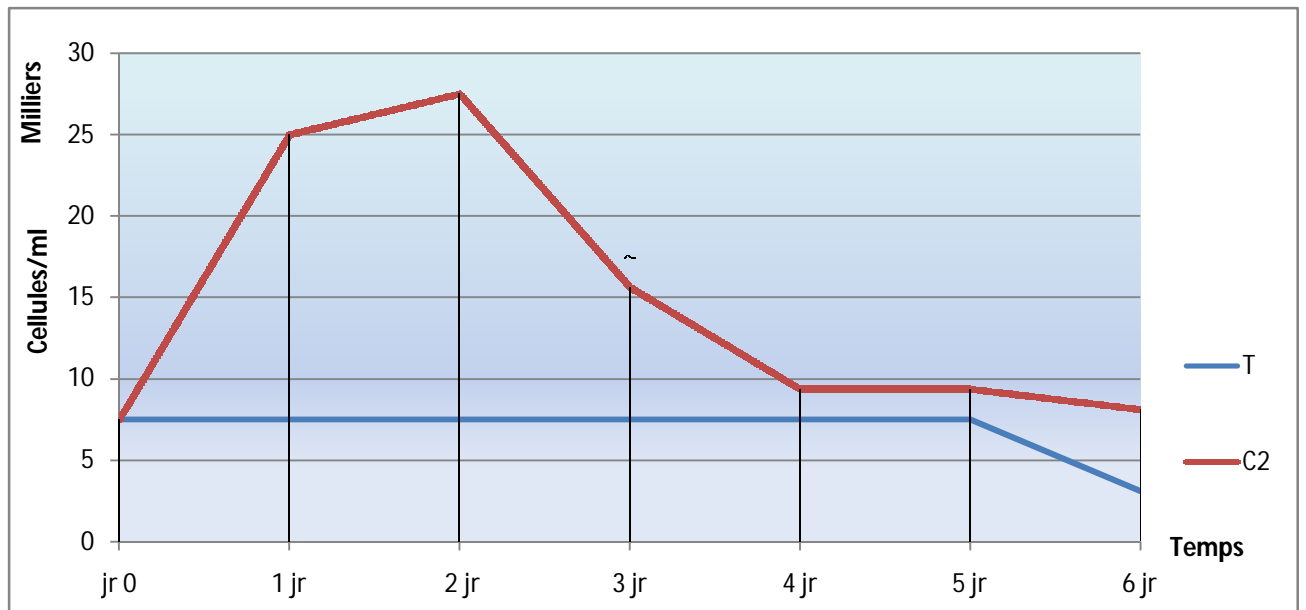


Figure 13 : Effet de la dilution 1/50 de Glyphosate sur la croissance des diatomées pennées.

(*différence significative avec le témoin ; ANOVA P<0.05 ; test Tukey)

Par comparaison du graphe du C2 par rapport à celle du témoin, on observe que le graphe de C2 présente une phase exponentielle traduite par augmentation de la concentration cellulaire des diatomées dans cette phase pendant les 2 premiers jours, à partir de ce jour le graphe subit une phase de déclin expliquée par diminution importante de cette concentration cellulaire,

c. effet de la dilution 1/100 (C3)

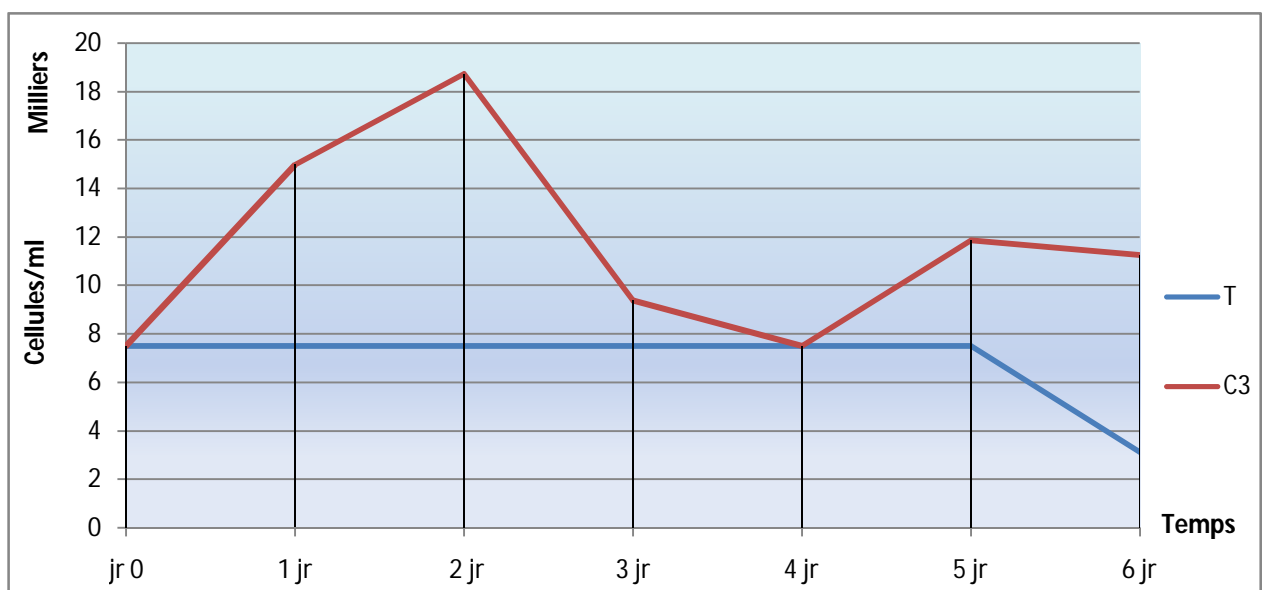


Figure14: Effet de la concentration (1/100) de Glyphosate sur la croissance des diatomées pennées.

(*différence significative avec le témoin ; ANOVA P<0.05 ; test Tukey)

Selon le graphe présenté par la figure 16, on observe que la concentration cellulaire pour la dilution 1/100 augmente dans les 2 premiers jours expliquée par une phase exponentielle, après ces jours elle subit une phase de déclin jusqu'à le 4^{ème} jour, puis il revient à la phase exponentielle encore une fois à partir de 5^{ème} jour, ensuite elle diminue légèrement dans le dernier jour,

d. effet de la dilution 1/1000 (C4)

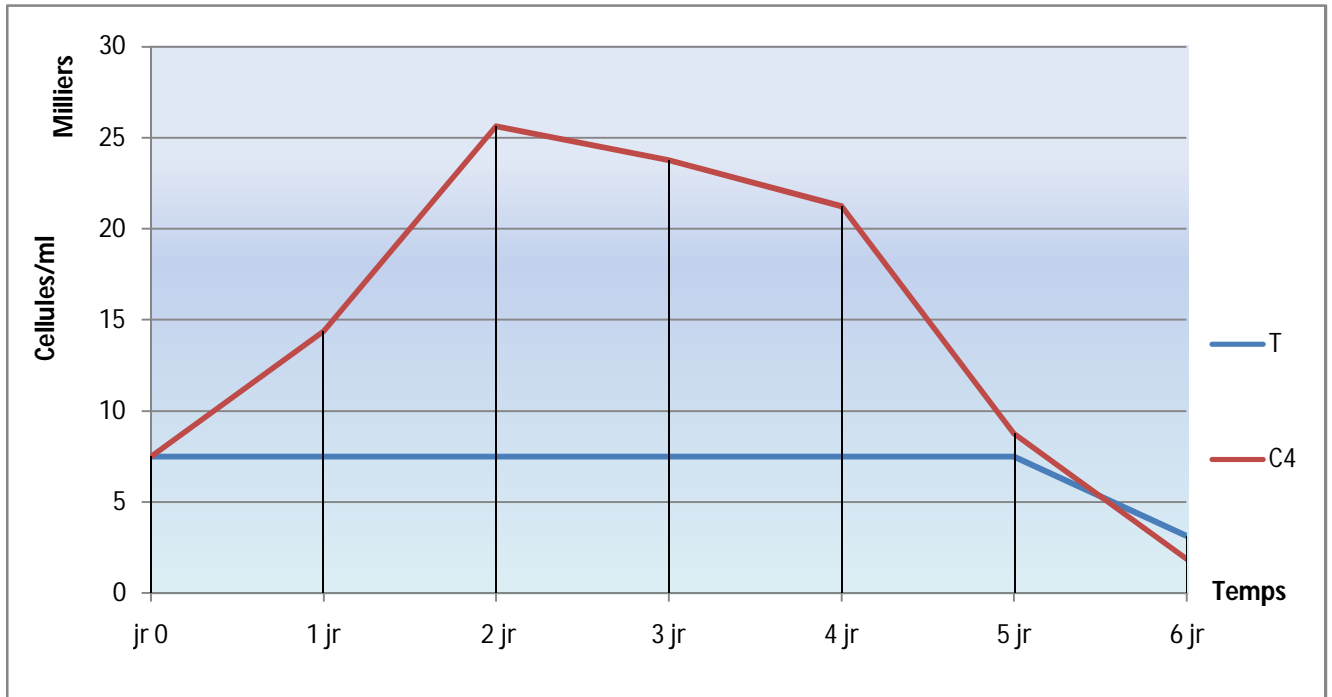


Figure 15 : Effet de la concentration (1/1000) de Glyphosate sur la croissance des diatomées pennées.

(*différence significative avec le témoin ; ANOVA $P < 0.05$; test Tukey)

Pour la dilution 1/1000, et selon le graphe on observe une augmentation de la concentration cellulaire durant les 2 premiers jours de l'essai formant ainsi une phase exponentielle, cette phase est suivie d'une phase stationnaire qui a commencé son déclin au 3^{ème} jour, pour chuter encore à partir du 4^{ème} jour.

II.4 Analyse statistique

Une analyse statistique des résultats (analyse de variance a un facteur ANOVA a permis de s'assurer de la présence de variation significative des concentrations cellulaires des diatomées entre le milieu témoin et les quatre milieux de dilution de l'herbicide glyphosate ($P < 0.05$).

III. Discussion

Il existe certaines limites à l'utilisation des bioessais monospécifiques effectués en laboratoire. En effet, ces tests monospécifiques sont très utiles pour observer les effets d'un polluant sur un paramètre physiologique spécifique. Par contre, il peut être difficile d'extrapoler les résultats obtenus à la réalité du milieu naturel. Car les conditions de test en laboratoire ne reflètent pas nécessairement les conditions réelles du milieu naturel dans lequel on retrouve ces organismes. En outre les tests monospécifiques ne tiennent pas compte des interactions entre les différents organismes vivants au sein d'une même communauté, donc de la structure de cette communauté et c'est pourquoi les études à l'échelle de la communauté sont nécessaires et complémentaires aux bioessais monospécifiques. En outre l'impact global de la pollution par les produits phytosanitaires sur les écosystèmes aquatiques naturels demeure encore difficile à estimer. En effet, cette pollution se caractérise par un mélange d'un très grand nombre de substances de synthèse accompagnées de composés issus de la dégradation des substances actives qui n'en conservent pas moins une certaine toxicité. Toutes ces molécules peuvent interagir entre elles et modifier ainsi leur effet.

Le Glyphosate est un herbicide de la famille des amino-phosphanates, de formule de $C_3H_8NO_5P$, il existe plusieurs formulations commerciales de ce produit, parmi lesquelles on a choisi le Roundup 360[®] qui est largement utilisé dans le domaine agricole.

Les effets de l'exposition des plantes au Glyphosate sont nombreux et variés. Certains de ces effets sont directement liés avec la perturbation de la voie de l'acide shikimique, comme les effets sur le métabolisme des acides aminés aromatiques et l'inhibition de la croissance, d'autres notamment la diminution du contenu en chlorophylle et du rendement photosynthétique (**Élise Smedbol, 2013**).

Les résultats du suivi de croissance des diatomées exposées à différentes dilutions de Glyphosate exprimés par la variation de la concentration cellulaire de ces organismes en fonction de la durée d'incubation ; les courbes montrent la même allure générale qui nous renseigne sur la forme générale d'une croissance microbienne dans un milieu non renouvelable, qui se divise en 4 phases (latence ; exponentielle, stationnaire et déclin), ces différentes phases ne sont pas bien évidentes dans notre cas hormis la phase exponentielle ; ceci peut être expliqué par la structure de la communauté naturelle phytoplanctonique de nos échantillons, du degré de tolérance des différents organismes du milieu et leur compétition et interaction.

En effet, notre étude nous a permis de mettre en évidence que la plus forte concentration de Glyphosate ne détruit pas la biomasse algale (diatomée), mais au contraire elle agit comme stimulateur de croissance pour ces organismes ; ce résultat peut s'expliquer probablement par le fait que la molécule du produit en question peut constituer une source de carbone organique à ce

milieu qui peut éventuellement être utilisé par les organismes contenus dans les échantillons naturels utilisés. Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par **wong (2000)** et **Élise Smedbol, (2013)**, qui montrent que le Glyphosate possède un effet stimulateur de la croissance pour l'algue verte, indiquant leur tolérance vis-à-vis ce produit chimique. D'autre part, **wong (2000)** a observé une faible stimulation de croissance des algues à des faibles concentrations de Glyphosate dans la formulation commerciale Factor540[®].

D'autre part, il a été émis par **Ranz et al. (1997)** que les plantes pourraient être capables de dégrader une fraction de Glyphosate en AMPA, de la même manière que les microorganismes dégradent le Glyphosate en AMPA dans les sols et l'eau. Si c'est le cas, AMPA pourrait avoir exercé une certaine phytotoxicité, empêchant la stimulation continue de la croissance, pour cela on assiste à une phase de croissance stationnaire très courte suivie par la phase de déclin comme la montre les figures des résultats exposés ci-dessus. Ces résultats portent à croire que les herbicides à base de Glyphosate pourraient ainsi perturber la communauté de phytoplancton dans les cours d'eau en milieu agricole, en favorisant la présence de certaines espèces aux dépens des autres.

Par contre **Cedergreen et Olsen (2010)** ont démontré que les plantes pourraient augmenter leur capacité photosynthétique et leur croissance à des faibles concentrations de Glyphosate en augmentant leurs capacités de fixation du carbone. De plus **Seguin et al. 2001** ; ont observé une augmentation des concentrations en « chlorophylle a », appelée aussi « Greening effect », au sein de communautés d'algues exposées à des concentrations faibles en herbicides. Ces résultats, à première vue étonnant, pourraient être la conséquence d'une production plus importante de ce pigment chlorophyllien dans les antennes pigmentaires pour compenser les effets des herbicides sur l'activité photosynthétique. Autrement dit dans des milieux favorables à leur développement (milieux riches en nutriments comme les milieux agricoles), on peut envisager que les diatomées sont capables de compenser la perte de biomasse induite par les herbicides.

Donc, d'après les études précédemment cités, on remarque qu'il y'a beaucoup de contradiction dans les résultats, ces contrastes revient probablement aux conditions des essais, la formulation du produit utilisé.

Conclusion

Conclusion

L'augmentation de l'utilisation et de l'application d'herbicides à base de Glyphosate dans les champs agricoles augmentera la possibilité de son transport par ruissellement et par conséquent la contamination des écosystèmes aquatiques adjacents est de plus en plus redoutable. Des outils d'évaluation des risques sont nécessaires pour surveiller et prévenir les effets des herbicides sur la vie aquatique et la qualité de l'eau voire la santé humaine.

L'objectif de ce travail était, d'une part, d'étudier l'impact de contaminant chimique, susceptible d'être présent dans les eaux de surface et les eaux souterraines, provenant des terrains agricoles, sur le phytoplancton particulièrement les diatomées, d'autre part, d'évaluer la sensibilité de ces organismes aquatiques vis-à-vis de la toxicité de ce contaminant par une étude comparative de différents bio-essais réalisés avec différentes dilutions de l'herbicide en question utilisé en sa formulation commerciale.

Les résultats montrent l'absence de sensibilité des diatomées exposées pendant 6 jours à ce contaminant chimique, les essais sont réalisés avec des milieux reproduisant des conditions proches du milieu naturel. Cette réponse biologique est certainement inattendue, Si ces résultats ne se prêtent à aucune équivoque, on peut conclure que le Glyphosate avec sa formulation commerciale vendue actuellement en Algérie ne constitue aucun danger potentiel pour la flore algale et plus particulièrement les organismes diatomiques ayant fait l'objet de cette étude.

En perspective et afin que notre étude ait une signification écologique maximale ; il serait intéressant de faire une étude d'impact des contaminants chimiques comme le Glyphosate sur des espèces d'un niveau trophique supérieur au sein de l'écosystème. Afin de repérer quel est le maillon de la chaîne le plus vulnérable.

Références Bibliographiques

1. **Accinelli C., Koskinen W., Seebinger J.D., Vicari A et Sadowsky M., 2005**, Effects of incorporated corn residues on glyphosate mineralization and sorption in soil, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, p 53.
2. **Afnor, 2000**, détermination de l'indice biologique diatomées(IBM), p63.
3. **Al- Rajab A.J., 2007**, Impact sur l'environnement d'un herbicide non sélectif, le glyphosate, Approche modélisée en conditions contrôlées et naturelles, Thèse de doctorat, Spécialité: Sciences Agronomiques, Institut National Polytechnique de Lorraine, Université Nancy, 148. 168 p.
4. **Al-Rajab A.J et Schiavon M, 2010** , Degradation of ¹⁴C-glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in three agricultural soils, *Journal of Environmental Sciences*, Vol. 22, pp 1374-1380
5. **Amalric L., Baran N., Jeannot R., Martin J.C. et Mouvet C, 2003**, Les mécanismes de transfert des produits phytosanitaires du sol vers les nappes et les méthodes d'analyse des produits phytosanitaires dans les eaux, Rapport final, BRGM/RP/51590. Fr, 116 p.
6. **Ayad Mokhtari Nahida, 2012**, Identification et dosage des pesticides dans l'agriculture et les problèmes d'environnement liés, thèse de doctorat, laboratoire de synthèse organique appliquée(LSOA), chimie organique, université d'Oran, p20, 25.
7. **Baars, J.W, 1983**, Autoecological investigations on freshwater diatoms. 1. Generation times of some species. *Archivfür Hydrobiology, Supplement*,pp67: 11-18.
8. **Baudry O., Barralis G., Bizot C. et Barnaud C., 2001**, Désherbage des arbres fruitiers, Edition Ctifl, Paris, p 29.
9. **Barrett K.A. et McBride M., 2006**- Trace élément mobilisation in soils by glyphosate. *Soil Science*, p1887.
10. **Benziane A.D., 2014**. Effet d'un régime enrichi en chlorpyrifos chez le rat wistar: étude de l'activité enzymatique des cholinestérases comme indicateur biologique. Thèse de master, université Tlemcen. 51p.
11. **Brack P., Antoniou M., Carrasco A., Fagan J., Habib M., Leifert C. et Pengue W., 2010**, Le Soja OGM Durable ? Responsable ? ARGE Gentechnik-frei, Bochum, Germany, p 30-36.

12. Cairns T., Sherma J. 1996. Emerging strategies for pesticides analysis. CRC press, Boca Raton. Florida-USA. Vol 754: 125-135p
13. Calvet et al. 2005. les pesticides dans le sol (conséquences agronomique), Ed : France agricole, France, P 22,23
14. Calvet et al. 2005, Les pesticides dans le sol: Conséquences agronomiques et environnementales. Ed : France Agricole. p.641.
15. Casotti, R, S. Mazza, C. Brunet, V. Vantrepotte, A. Ianora and A. Miralto (2005). "Growth inhibition and toxicity of the diatom aldehyde 2-trans, 4-trans-decadienal on the *Thalassiosira weissflogii* (Baccilariophyceae)." *Journal of Phycology* 41(1): 7-20.
16. Cedergreen, N. and Olsen, C. F. 2010. Can glyphosate stimulate photosynthesis? *Pesticide chemistry and physiology*, 96, 140- 148.
17. Clavet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charnay M.-P., Coquet Y., 2005. Les pesticides dans le sol conséquences agronomiques et environnementales. France Agricole, Paris. 625 p.
18. Coombs, J., J. A. Lauritis, W. M. Darley and B. E. Volcani (1968). "Studies on the Biochemistry and Fine Structure of Silica Shell Formation in Diatoms." *Z. Pflanzenphysiol. Bd. 59*: 274-284.
19. Cooper J, Dobson H, 2007, the Benefits of Pesticides to Mankind and the Environment. *Crop Protection*, 26, 1337-1348.
20. Coss, R. A. and J. Pickett-Heaps (1974). "The effects of isopropyl *N*-Phenyl Carbamate on the green alga *Oedogonium cardiacul*, I. Cell division." *The Journal of Cell Biology* 63: 84-98.
21. Coste M. 2000. précis d'écologie. 7^{ème} édition. dunod. paris. 433p
22. Couture G., Legris J. et Langevin R., 1995- Évaluation des impacts du glyphosate utilisé dans le milieu forestier. Direction de l'environnement forestier, Service du suivi environnemental, Ministère des Ressources naturelles, gouvernement du Québec, Québec, 199 p.
23. Damalas C A (2009), Understanding benefits and risks of pesticide use. *Scientific Research and Essays*, 4, 945-949
24. Delabays N. et Bohren C., 2007- Le glyphosate : bilan de la situation mondiale et analyse de quelques conséquences (maller) biologiques pour la Suisse. *Revue Revuesuisse de viticulture arboriculture horticulture*, Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW, Nyon, Vol. 39, p 333-340.

25. **Duke, E.L. et Reimann, B.E.F. 1911.** chapter 3 : the ultrastructure of the diatom cell.- in: Werner, D. (ed) the biology of diatoms. bot. monogr. 13. Blackwell Sci. publ., 65-109p
26. **Dupraz Christian et Liagre Fabian, 2008 :** Agroforestrie des arbres et des cultures, Edition France Agricole, P318
27. **El Mrabet Kh., 2007-** Développement d'une méthode d'analyse de résidus de pesticides par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem dans les matrices céréalières après extraction en solvant chaud pressurisé, Thèse de doctorat, Spécialité : Chimie Analytique, Université Pierre et Marie Curie, Paris Cedex, 295 p.
28. **Élise Smedbol, 2013,** Glyphosate-based herbicide reduces algae and cyanobacteria growth and psiicapacity - In : Toxicité d'un herbicide à base de glyphosate sur des cellules et des communautés d'algues et de cyanobactéries, mémoire, 81p.
29. **FAO., 1987-** Résidus de pesticides dans les produits alimentaires. Rapport de la réunion conjointe FAO/OMS, Rome Italie, p 14.
30. **Gama A., Yann D. et Henri F., 2006-** Utilisation des herbicides en forêt et gestion durable, Ministre de l'Agriculture et de la pêche, Département de la santé des forêts et de l'Office national des forêts (ONF), Edition Quae, 240 p.
31. **Geneves L, 1990,** biologie végétale : thallophytes et micro organismes. Dunod. paris. p26-32.
32. **Gounari R., 2006-** Principales intoxications du chien dans les jardins. Thèse de doctorat, Université Paul- Sabatier de Toulouse, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, p 63.
33. **Goldstein D., Acquavella J., Mannion R. et Farmer D., 2002-** An analysis of glyphosate data from the California Environmental Protection Agency pesticide illness surveillance program. Journal of Agricultural and Food Chemistry, p 885-89
34. **Grunewald k., Schmidt W. et Unger C., 2001-** Behavior of glyphosate and amino methylphosphonic acid AMPA in soils and water of reservoir Radeborg II catchment (Saxony/Germany), Journal of Plant Nutrition and Soils Science, p 65-70.
35. **Guasch, H. and S. Sabater, 1998,** "Light history influences the sensitivity to atrazine in periphytic algae." Journal of Phycology 34(2): 233-241.

36. **Guasch, H., I. Munoz, N. Roses and S. Sabater, 1997**, "Changes in atrazine toxicity throughout succession of stream periphyton communities." *Journal of Applied Phycology* 9(2): 137-146.
37. **Hellebust, J.A. et Lew J. 1977**. Chapter 6: Heterotrophic nutrition. - In: Werner, D. (ed.) *the Biology of Diatoms. Bot. Monogr. 13. Blackwell Sci. Publ.*, 169-197.
38. **Huber D.M., Cheng M.W. ET Winsor B.A., 2005**, Association of severe *Corynespora* root rot of soybean with glyphosate-killed giant ragweed. *Journal of Phytopathology* Vol.95, pp135.
39. **Huber D.M. and Haneklaus S., 2007**, Managing nutrition to control plant disease. *Journal of Landbauforschung Volkenrode*, Vol. 57, p 313–322.
40. **Hwang H.M. and Young T., 2011**, Environmental decay of glyphosate in broom-infested: Tamalpais soils and its transport through stormwater runoff and soil column infiltration. Environmental Quality Laboratory, Department of Civil and Environmental Engineering, University of California, Davis, Final Report, p 3-5.
41. **Ibanez M., Pozo O., Sancho J., Lopez E. et Hernandez F., 2005**, Residue determination of glyphosate, glyphosinate and aminomethylphosphonic acid in water and soil samples by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography*, p 146.
42. **John, J. 2000**. A guide to diatoms as indicators of urban stream health. - LWRRDC, 181.
43. **Jørgensen, E.G. 1977**. Chapter 5: Photosynthesis. - In: Werner, D. (ed.) *the Biology of Diatoms. Bot. Monogr. 13. Blackwell Sci. Publ.*, pp150-168.
44. **Jurgensen, T. A. and K. D. Hoagland ,1990** ,"Effects of short term pulses of atrazine on attached algal communities in a small stream." *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 19: pp 617-623.
45. **Komárek et al., 2010**, **Contamination of vine yard soils with fungicides: A review of environmental and toxicological aspects.** *Environnement International* 36, pp, 138-151.
46. **Kouassi Brou G., Denezon Dogbo O., N’Zué B., Akhanovna J. et Yves-Alain Békro Y., 2012-** Effet du glyphosate sur la biosynthèse des constituants phénoliques de *Manihot esculenta* Crantz. *Revue de génie industriel, Laboratoire de Biologie et Amélioration des Productions Végétales (LBAPV), Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), Abidjan, Cote d’Ivoire*, p32-43

47. **Krieger, K. A., D. B. Baker and J. W. Kramer, 1988**, "Effects of herbicides on stream Aufwuchs productivity and nutrient uptake." Archives of Environmental Contamination and Toxicology 17: 299-306.
48. **Le Mer Ch., 2009**, Effets des expositions aux herbicides : Atrazine, Glyphosate sur des larves d'épinoches à trois épines, *Gasterosteus aculeatus L*, Programme de la maîtrise en Océanographie, Université du Québec à Rimouski, 120 p.
49. **Le Mer Ch., Roy R., Pellerin j. et Maltais D., 2009**, Effects of chronic exposures to the herbicides atrazine and glyphosate to larvae of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). Université du Québec à Rimouski, Quebec, Canada, p6.
50. **Mazzella N., Tran-ThiNhu-T., Delest B. et Delmas F., 2009**, Développement et validation d'une méthode permettant le dosage du glyphosate et de l'AMPA dans les eaux surface par HPLC-ESI-MS/MS. XXIXème congrès du Groupe Français des Pesticides, Toulouse, France, 4 p.
51. **Merghid Manel, Debbache Meriem, Foughali Imane, 2017**, Impacts des pesticides utilisés dans la plasticulture sur la santé humaine En Algérie, mémoire Spécialité : Toxicologie, université de constantine .p26, 27.
52. **Munoz, I., M. Real, H. Guasch, E. Navarro and S. Sabater (2001)**, Effects of atrazine on periphyton under grazing pressure. Aquatic Toxicology 55(3-4), pp239, 249.
53. **Ndjeri-Ndjouhou M., 2012**, Synthèse et caractérisation de la birnessite électro déposée : Application à la dégradation de glyphosate, Thèse de doctorat, Laboratoire Analyse et Modélisation pour la Biologie et l'Environnement, Ecole Doctorale Sciences et Ingénierie, Université d'Evry Val d'Essonne, 276 p.
54. **Onil S., 2001**, Risques liés à l'utilisation de Roundup pour le contrôle des plantations de Cocaine en Colombie. Organisation panaméricaine de la santé, Direction de la toxicologie humaine, Institut national de santé publique du Québec, 19 p.
55. **Ozenda P, 2000** : les végétaux : organismes et diversité biologique. 2^{ème} édition. Dunod paris, p44-47
56. **Pascale Naim, 2010**, Les diatomées, bio-indicatrices de la qualité des cours d'eau. Utilisation des diatomées pour évaluer la qualité d'un cours d'eau .p1
57. **Pelfrène A., 2003**, Glyphosate : toxicologie et évaluation du risque pour l'homme. Environnement, Risques et Santé, p 323-334.

- 58. Peres, F., D. Florin, T. Grollier, A. FeurtetMazel, M. Coste, F. Ribeyre, M. Ricard and A. Boudou ,1996** ,Effects of the phenylurea herbicide isoproturon on periphytic diatom communities in freshwater indoor microcosms. *Environmental Pollution* 94(2): pp141-152.
- 59. Pierre-Louis Rainaud. 2013**, évaluation des risques a long terme des herbicides a base de glyphosate sur la sante humaine, université de limoges, faculte de pharmacie, p40
- 60. Piccolo A., Celano G. et Conte P., 1996-** Adsorption of glyphosate by humic substances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 44, p 2442- 2446.
- 61. Prata F., Camponez V., Lavorenti A. et Tornisielo V., 2003**,Glyphosate sorption and desorption in soils with distinct phosphorus levels, *Journal of Scientia Agricola*, Vol. 60, pp 175-180.
- 62. Prata F., Lavorenti A., Regitano J., Vereecken H., Tornisielo V. et Pelissari A., 2005**, Glyphosate behavior in a rhodicoxisol under no-till and conventional agricultural systems, *Revue of Brasileira. De Ciencia do Solo*, Vol. 21, p 69.
- 63. Prygiel, J. and M. Coste, Eds. (2000)**: Guide Méthodologique pour la mise en oeuvre de l'Indice Biologique Diatomées NF T 90-354.
- 64. Regnault-Roger C., Philogène B.J.R et Vincent Ch., 2005**, Biopesticides d'origine végétale. Editions Tec et Doc, Lavoisier, Paris, p 465.
- 65. Rijstenbil, J. W., J. W. M. Derksen, L. J. A. Gerringa, T. C. W. Poortvliet, A. Sandee, M. Vandenberg, J. Vandrie and J. A. Wijnholds ,1994**, "Oxidative Stress-Induced by Copper - Defense and Damage in the Marine Planktonic Diatom *Ditylum-Brightwellii*, Grown in Continuous Cultures with High and Low Zinc Levels." *Marine Biology* **119**(4): 583-590.
- 66. Rumeau et Coste, 1988**, introduction a la systématique des diatomées d'eau douce,p1-69.
- 67. Sabine Stachowski-Haberkorn, 2008**, Méthodes d'évaluation de l'impact de pesticides sur le phytoplancton marin et le naissain d'huître creuse, thèse de doctorat, université de Bretagne occidentale, Océanologie biologique, p 30
- 68. Sarthou, G., Timmermans, K. R., Blain, S., &Tréguer, P, (2005)**, Growth physiology and fate of diatoms in the ocean: a review. *Journal of Sea Research*, 53(1-2), pp25, 42.
- 69. Seguin, F., J. C. Druart and R. Le Cohu, 2001**, "Effects of atrazine and nicosulfuron on periphytic diatom communities in freshwater outdoor lentic

- mesocosms."Annales De Limnologie, International Journal of Limnology, 37(1): 3-8.
- 70. Soizic Morin, 2006**, bioindication des effets pollutions métalliques sur les communautés de diatomées, thèse de doctorat, spécialité ecotoxicologie, université bordeaux, p27.
- 71. Sprankle P., Meggitt W.F. et Penner D., 1975**, Adsorption, Mobility, and Microbial Degradation of Glyphosate in the Soil. Journal of Weed science, p 229-234.
- 72. Sturny W., 2012-** Apprendre à limiter l'utilisation du glyphosate : Un enjeu majeur à relever par les réseaux AC. Techniques culturales simplifiées N°68, 14 p
- 73. Stéphane Pesce, 2006**, Effets de pesticides sur l'activité et la diversité des communautés microbiennes d'un milieu lotique récepteur, thèse de doctorat, université de Blaise Pascal, Clermont II, p 10
- 74. Timothée Debenest, 2007**, Caractérisation de l'impact des pollutions agricoles sur les diatomées benthiques, thèse de doctorat, école doctorale de la science et environnement, ecotoxicologie, université bordeaux 1, p76-77-78.
- 75. Tron, 2011**, Effets chroniques des pesticides sur la santé, état actuel des connaissances, p 7.
- 76. Tsuioshi Y., Kremer R. ET Paulo R., 2009**, Glyphosate interactions with physiology, nutrition, and diseases of plants: Threat to agricultural sustainability? European Journal of Agronomy, Guest Editor Institute, Brazil, p13.
- 77. Van Den Hoek, C., D. G. Mann and H. M. Jahns, 1995**, Algae - An introduction to phycology, Cambridge University Press.
- 78. Weiner, J. A., M. E. De Lorenzo and M. H. Fulton, 2007**, Atrazine induced species-specific alterations in the subcellular content of microalgal Celle, Pesticide Biochemistry and Physiology 87(1):pp47-53.
- 79. Wong, P. K, 2000**, Effects of 2,4-D, glyphosate and paraquat on growth, photosynthesis and chlorophyll-a synthesis of *Scenedesmus quadricauda* 61 4. *Chemo.sphere*, 41, p177-182.
- 80. Zablotowicz R., Accinelli C., Jason Krutz L. and Reddy K., 2009**, Soil depth and tillage effects on glyphosate degradation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 57, pp4867-4871

Annexe

Annexe 01 : Résultats du test écotoxicologique de l'herbicide Glyphosate sur la croissance et le pH des diatomées.

dilution		Témoin	1/10 (C1)	1/50 (C2)	1/100 (C3)	1/1000 (C4)
24h	pH	8.01	7.03	6.51	5.15	6.62
	[] cellulaire	7500	23125	25000	15000	14375
48h	pH	8.28	6.72	6.59	6.27	7.45
	[] cellulaire	7500	24375	27500	18750	25625
72h	pH	8.05	7.20	7.78	7.41	7.58
	[] cellulaire	7500	36250	15625	9375	23750
96h	pH	7.76	7.20	7.56	6.45	7.15
	[] cellulaire	7500	33125	9375	7500	21250
120h	pH	7.76	7.26	6.23	6.62	7.00
	[] cellulaire	7500	31250	9375	11873	8750
144h	pH	7.37	7.54	6.91	6.72	7.04
	[] cellulaire	3125	16875	8125	11250	1875

Annexe

Résultats de l'application de test

Annexe 02 : résultat de test sous R

Hypothèses	P	T value	Significative
C2 - C1 == 0	0.04678	-2.967	* oui
C3 - C1 == 0	0.00576	-3.868	** oui
C4 - C1 == 0	0.04960	-2.940	* oui
Témoin - C1 == 0	< 0.001	-5.271	*** oui
C3 - C2 == 0	0.89391	-0.901	Non
C4 - C2 == 0	1.00000	0.026	Non
Témoin - C2 == 0	0.17671	-2.305	Non
C4 - C3 == 0	0.88363	0.927	Non
Témoin - C3 == 0	0.63094	-1.404	Non
Témoin - C4 == 0	0.16847	-2.331	Non

Le code significatif :

- *** $p < 0.001$ très hautement significative
- ** $p < 0.01$ hautement significative
- * $p < 0.05$ significative
- $p > 0.05$ non significative

Témoin	C1	C2	C3	C4
a	b	a	a	a

b : différence significative de la croissance

a : différence non significative de la croissance

Présenté par: BOULAICHE Nour el Houda BAKA Sana	Encadreur : Dr BOULDJEDRI M.	Date de soutenance 09/07/2018
--	--	---

Thème:
Effet toxicologique d'un pesticide sur la croissance des microalgues :
Cas des diatomées d'un milieu lentique

Résumé

Notre étude consiste à faire des tests toxicologiques d'un herbicide qui a une large utilisation dans le domaine agricole sur la croissance des communautés des diatomées, récoltées dans le milieu naturel lentique, l'expérimentation a été réalisée au laboratoire de biologie dans des microcosmes avec plusieurs dilution de l'herbicide (glyphosate), le pH du milieu est ajusté à la neutralité. Les résultats de cette étude nous a révélé l'absence totale de l'effet inhibiteur de croissance de ce contaminant ; mais au contraire il y'a une forte stimulation de la croissance surtout durant les premiers jours d'incubation. Ces résultats sont en accord avec certains travaux de recherche sur le même sujet.

Mots clés : test toxicologique, pesticide, diatomée, milieu lentique

Abstract

Our study consists of toxicological tests of herbicide that has wide use in the agricultural field on the growth of diatom communities, harvested in the lentic natural environment, the experiment was carried out in the biological laboratory in microcosms with several dilution of the herbicide (glyphosate), the pH of the medium is adjusted to neutrality, after 6 days of incubation. The results of this study revealed the complete absence of the growth inhibitory effect of this contaminant; but on the contrary there is a strong stimulation of growth especially during the first days of incubation. These results are in agreement with some research work on the same subject.

Key words: toxicological test, pesticide, diatome, lentic environment

المخلص

تتمثل دراستنا في إجراء اختبار السمية لمبيد عشبي ذو استخدام واسع في المجال الزراعي على مجموعة من الطحالب مثلالدياتومات المتحصل عليها من وسط طبيعي راكد, هذه التجربة اجريت في المختبر في شروط مثالية باستخدام تخفيفات مختلفة للمبيد (الغلو فوسات) و بعد المتابعة اليومية لمدة ستة ايام ، هذه الدراسة قادتنا الى النتائج التالية:

لم نلاحظ أي تأثير لهذا المبيد العشبي على نمو الطحالب المستخدمة (الدياتومات) بل كانت النتائج عكس ما كان متوقع ، فالمبيد المستخدم بمختلف تراكيزه لعب دور محفز لنمو الطحالب و ذلك منذ اليوم الأول للمتابعة المخبرية و هذه النتائج تتوافق مع كثير من النتائج الابحاث التي أجريت على نفس الموضوع.

الكلمات المفتاحية: اختبار السمية,المبيدات,الدياتومات, وسط مائي راكد