

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 Benyahia – 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

جامعة محمد الصديق بن يحيى  
كلية علوم الطبيعة و الحياة  
المكتبة  
رقم الجرد 23.85

## Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Biologie**

**Option** : Toxicologie de l'environnement

### Thème

Effet toxicologique d'un herbicide « Glyphosate » sur la  
microflore aquatique : Cas des diatomées benthiques

**Présenté par :**

- Boufenneche Chahrazad
- Habila Asma

**Jury de soutenance :**

Président : M<sup>r</sup>. Kisserli O.  
Examineur : M<sup>r</sup>. Younsi S.  
Encadreur : M<sup>r</sup>. Bouldjedri M.

Session : Juin 2016

Numéro d'ordre (réservé à la bibliothèque).....

Laboratoire ou entreprise ou le travail a été réalisé : Laboratoire d'Ecotoxicologie, Faculté S.N.V.

# Remerciement

*Avant tout nous adressons nos remerciements à DIEU, le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il nous a donné durant toutes ces longues années d'études et pour la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons à remercier les plus sincère à notre encadreur D<sup>r</sup> Bouldjedri Mohamed pour nous avoir permis de bénéficier de son grand savoir dans la matière, pour sa pédagogie, ses compétences, sa modestie, sa patience et son aide précieux tout au long de ce projet même pendant les moment les plus difficiles. Vraiment merci pour une qualité d'encadrement si sérieux et si consistant.*

*Aussi nos remerciements vont également à :*

*M<sup>r</sup>KisserliO. Pour avoir accepté de présider le jury de soutenance.*

*M<sup>r</sup>Younsi S. pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant d'examiner ce travail.*

*Nous exprimons nos remerciements et notre gratitude à nos familles : Boufenneche et Habila, qui nous ont toujours soutenues et à toute personnes ayant contribuées de près ou loin à l'élaboration de ce mémoire.*

*A Toute et à tous nous disons merci.*

*Chahrazad et Asma.*



## *Dédicaces*



*Je dédie ce modeste travail :*

*Je prie le bon dieu de les bénir.*

*A mes chers parents pour leur amour et leur support continu.*

*A mes sœurs (Sara, Rima ,Zahia et Meriam).*

*A mes frères (Nabil et Mohamed).*



*A toute la famille Habila .*



*À Mes sœurs en dieu : Saliha, Amel, Kenza, rima, asma, kawkab, Amina, chahra ,Hayat ,nawal ,Noura ,Nadjiba et hadjer.*

*A tous mes professeurs.*

*A tous mes amis.*

*A tous mes collègues.*

*A tous étudiant de l'université de Jijel.*

*A tous responsable de laboratoire.*

*Asma.*





# Dédicaces



*Je dédie ce modeste travail :*

*Je prie le bon dieu de les bénir.*

*A mes chers parents pour leur amour et leur support continu.*

*A mes sœurs (Widad, Djamila, Karima et Naziha )*

*A mes frères (Sabir, Taher, Nadir et Abd alatif) .*



*A toute la famille boufenneche.*



*A tous mes professeurs.*

*A tous mes amis.*

*A tous mes collègues*

*A tous étudiant de l'université de Jijel.*

*A tous responsable de laboratoire.*

*Chahrazad.*



## Sommaire

Remerciement	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
	Pages
Introduction .....	1
Partie I. Synthèse bibliographique	
Chapitre I. Généralités sur les pesticides	
I. Les pesticides .....	2
I.1. Classification .....	2
I.1.1. Classification selon la cible visée .....	2
I.1.2. Classification chimiques .....	2
I.2. Devenir des pesticides dans l'environnement .....	2
II. Les herbicides .....	3
II.1. Généralités sur herbicide .....	3
II.1.1. Définition .....	3
II.1.2. Classification des herbicides .....	3
II.1.2.1. Classification selon les propriétés physico-chimiques .....	3
II.1.2.2. Classification selon le mode de pénétration dans la plante .....	4
II.1.2.3. Classification selon le mode d'action .....	5
II.1.3. Différents type de sélectivité d'un herbicide .....	6
II.1.3.1. Sélectivité physiologique .....	6
II.1.3.2. Sélectivité de position .....	6
II.1.3.3. Sélectivité « artificielle » .....	6
II.1.3.4. Sélectivité anatomique .....	6
III. Glyphosate .....	7
III.1. propriétés physico-chimiques du Glyphosate .....	7
III.2. Le Glyphosate dans l'environnement .....	7
III.2.1. Dans le sol .....	8
III.2.1.1. L'adsorption du Glyphosate .....	7
III.2.1.2. Désorption du Glyphosate .....	8
III.2.2. Dégradation .....	8
III.2.2.1. Dégradation abiotique .....	8
III.2.2.2. Dégradation biotique .....	8
III.2.3. La dissipation du Glyphosate .....	9
III.2.3.1. Mobilité et transfert du Glyphosate .....	9
III.3. Évaluation du risque toxicologique du Glyphosate .....	9
III.3.1. Chez les végétaux .....	9
III.3.2. Chez les animaux .....	9
III.3.3. Chez les mammifères .....	9
III.4. Le mode d'action du Glyphosate .....	9

IV. Les effets des herbicides sur la microflore aquatique (diatomées) .....	10
IV.1. Les effets sur le métabolisme des cellules et des communautés.....	10
IV.1.1. L'activité photosynthétique .....	10
IV.1.2. Inhibition de la synthèse des acides aminés.....	10
IV.1.3. Inhibition de la synthèse des lipides .....	11
IV.1.4. L'absorption des nutriments .....	11
IV.2. Les effets sur la cytologie et l'ultra-structure .....	11
IV.2.1. Le squelette interne ou cytosquelette.....	11
IV.2.2. Le noyau .....	12
IV.2.3. La paroi cellulaire siliceuse : le frustule .....	12
IV.3. Les effets sur la multiplication et la reproduction .....	12
IV.4. Les effets sur la croissance de la biomasse.....	12
V. Les facteurs interférant dans la réponse des diatomées aux herbicides et la détection des effets	
.....	12
V.1. Les paramètres écologiques .....	13
V.1.1. La compétition spécifique .....	13
V.1.2. Le biofilm .....	13
V.2. Les paramètres environnementaux .....	13
V.2.1. La luminosité.....	13
V.2.2. Les nutriments.....	14
V.2.3. Les conditions hydrauliques.....	14
V.2.4. Les interactions entre les molécules toxiques .....	14
Chapitre II. Caractères généraux des diatomées	
I. Les diatomées .....	15
I.1. Définition.....	15
I.2. Classification des diatomées .....	15
I.2.1. les Diatomées centrales, à symétrie radiale .....	15
I.2.2. Diatomées pennales, à symétrie bilatérale.....	15
I.3. Structure cellulaire .....	16
I.4. Cycle de développement .....	16
I.4.1. La reproduction asexuée.....	17
I.4.2. La reproduction sexuée .....	17
I.5. Ecologie .....	17
I.5.1. Le milieu .....	17
I.5.1.1. Les diatomées planctoniques .....	18
I.5.1.2. les diatomées benthiques .....	18
I.5.2. Structure des communautés périphytiques .....	18
I.5.3. Mode de vie .....	19
I.5.4. Sensibilité des diatomées aux facteurs environnementaux .....	19
I.5.4.1. Les facteurs physique .....	20
I.5.4.2. Les facteurs chimique.....	20
II. Utilisation des diatomées comme bio-indicateurs de la qualité des eaux .....	21
II.1. Définition de bio indicateur .....	21
II.2. Intérêt de la bio-indication pour l'évaluation de la qualité des eaux.....	22
II.3. La bio-indication par les diatomées.....	22

Partie II. Matériel et méthodes	
I. Présentation de la région de Jijel	23
I.1. Situation	23
I.2. Le climat	24
I.3. Relief	24
I.3.1. Les zones de plaines	24
I.3.2. Les zones des montagnes	24
I.3.3. Pratiques agricoles et pédologie de la région d'étude	24
I.4. Présentation des sites d'échantillonnage (El-Ouana)	25
II. Matériel	25
II.1. Choix des diatomées	25
II.2. Choix de l'herbicide (produit chimique)	25
II.3. Matériels utilisés	25
III. Méthode de prélèvement des échantillons	25
III.1. Campagnes de prélèvement	25
III.2. Choix des stations d'échantillonnage	26
III.3. Déroulement de l'essai	26
III.4. Préparation des différentes concentrations pour le test toxicologique	26
III.4.1. Préparation des dilutions	26
III.4.2. Incubation	27
III.4.3. Technique de dénombrement des diatomées	27
III.4.4. Méthode de dosage des nutriments	27
IV. Résultats	28
IV.1. L'observation microscopique	28
IV.2. Analyse statistique	28
IV.3. Effet des différentes dilutions de Glyphosate sur la croissance des diatomées	29
IV.3.1. Première campagne d'échantillonnage	28
IV.3.2. Deuxième campagne d'échantillonnage	29
IV.3.3. Dosage des nutriments	30
V. Discussion	30
Conclusion	33
Références bibliographiques	34
Les annexes	
Résumé	

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Les processus impliqués dans le devenir des pesticides dans les sols .....	3
<b>Figure 02</b> : Clé simplifiée de détermination des genres des diatomées d'eau douce.....	15
<b>Figure 03</b> : Structure du frustule d'une diatomée ( <i>Navicula</i> sp) .....	16
<b>Figure 04</b> : Cycle de reproduction des diatomées - seules les valves sont représentées .....	17
<b>Figure 05</b> : Processus de colonisation progressive des substrats aquatiques par les différentes "formes de croissance" de diatomées .....	19
<b>Figure 06</b> : Situation géographique de la Wilaya de Jijel (A), Stations de prélèvement d'échantillons d'eau au niveau de la retenue collinaire d'El-Ouana (B) .....	23
<b>Figure 07</b> : Photo des différentes dilutions préparées dans des bécjers pour incubation au niveau du laboratoire de biologie .....	27
<b>Figure 08</b> : Images de diatomées pennées prises sous microscope à caméra (Grossissement 40x10).....	28
<b>Figure 09</b> : Variation de la concentration cellulaire des diatomées pennées en fonction du temps pour les différentes dilutions de Glyphosate .....	29
<b>Figure 10</b> : Effet des différentes concentrations de Glyphosate sur la croissance des diatomées pennées (2 <sup>ème</sup> campagne d'échantillonnage) .....	29
<b>Figure 11</b> : Représentation graphique des teneurs en éléments nutritifs des échantillons des deux campagnes de prélèvement.....	30



## **Liste des tableaux**

<b>Tableau 01</b> : Principaux sites d'action des herbicides dans la plante .....	5
<b>Tableau 02</b> : Les propriétés physico-chimiques du Glyphosate.....	7

## Liste des abréviations

**ACCCase:** Acétylcoenzyme A carboxylase.

**AMPA:** Acide Amino Méthyl Phosphonique.

**DDE:** Dichloro-diphényldichloroéthylène produit de dégradation du DDT.

**DDT:** Dichloro Diphényle Trichlorométhane.

**HRAC:** Herbicide Résistance Action Committee.

**EPSPS:** Enzyme 5-enolpyruvoylshikimate 3-phosphate synthase.

**IPA:** Isopropylamine.

**IPC:** Isopropyl N-Phenyl carbamate.

**PCB:** Poly-Chloro-Biphényle.

**PH:** Le Potentiel Hydrogène.

**POEA:** Polyoxyéthylène amine.

# *Introduction*

## Introduction générale

Au cours des cinquante dernières années, l'exploitation des terres agricoles s'intensifie au rythme de la croissance exponentielle de la population mondiale. La mécanisation et modernisation des techniques de travail ont favorisé l'augmentation de la production agricole répondant ainsi à une demande de plus en plus forte. En plus de ces progrès technologiques, l'agriculture se dote aujourd'hui des produits chimiques plus performants afin de lutter contre l'infestation des mauvaises herbes appelés les herbicides. 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. En tant qu'écosystèmes récepteurs, suite au transfert des molécules, vers les milieux aquatiques, et notamment les systèmes lenticules situés dans des zones d'utilisation intensive de ces substances, sont particulièrement vulnérables. Plusieurs études ont ainsi mis en évidence la forte contamination des cours d'eau par les pesticides, avec la prédominance des herbicides (Debenest, 2007).

D'autre part la 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 trouve les diatomées, qu'ils soient libres ou fixés, jouent un rôle primordial dans le fonctionnement des hydrosystèmes, en assurant notamment une part prépondérante de la production primaire et convertisseurs des nutriments inorganiques en formes organiques utilisables par les autres maillons de la chaîne alimentaire, ces organismes jouent un rôle structurant de stabilisation du substrat et de création d'habitat pour les poissons ou les invertébrés (Gustavson et Mohlenberg, 2003). La connaissance des effets des dégradations anthropiques sur les communautés diatomiques constitue donc un enjeu majeur de l'écologie des systèmes aquatiques. Car une éventuelle perturbation par les herbicides des communautés algales peut se répercuter ainsi par cascade trophique sur les communautés biologiques des maillons supérieurs et agir sur l'équilibre du fonctionnement de ces milieux naturels.

Nous avons choisi pour nos tests toxicologiques le produit chimique le « Glyphosate » qui en tête de liste des herbicides les plus commercialisés par les coopératives agricoles à Jijel. Ainsi, ce travail vise à définir les effets de cet herbicide sur la croissance des diatomées.

Ce mémoire s'organise en deux parties. La partie bibliographique composée de deux chapitres. Un premier chapitre est consacré à l'intérêt des herbicides en agriculture et leur effet sur l'écosystème aquatique. Un deuxième chapitre exposera la biologie et l'écologie des diatomées comme organisme utile dans l'environnement. La partie matériel et méthodes est consacrée aux essais réalisés sur l'impact de l'herbicide « Glyphosate » sur la croissance des microflore aquatique (les diatomées), on termine par une conclusion.

*Partie I*

*Synthèse bibliographique*

*Chapitre I*  
*Généralité sur les pesticides*

## I. Les pesticides

Les premières utilisations connues des pesticides remontent à (1000 ans avant J.-C.) (Fournier, 1988) avec l'utilisation du soufre pour lutter contre les organismes nuisibles. Au XVème siècle, certains métaux toxiques non biodégradables tels que l'arsenic, le plomb et le mercure étaient utilisés sur les cultures pour éloigner les insectes. C'est en Allemagne, vers les années 1850, que la première substance herbicide vu le jour, un mélange de sel et de chaux fut alors utilisé (Fortier et Messier, 2005 ; Gatignol et Étienne, 2010).

Les pesticides regroupent l'ensemble des substances (molécules) ou produits (préparations) utilisés dans le secteur agricole ou dans d'autres applications pour éliminer les nuisibles. On distingue deux types de pesticides: les produits phytopharmaceutiques ou organismes produits phytosanitaires et les biocides (Regnault-Roger *et al.*, 2005).

### I.1. Classification

Selon (Calvet *et al.*, 2005), Il existe deux façons pour classer les pesticides selon la cible visée et par leur caractéristiques chimiques :

#### I.1.1. Classification selon la cible visée

- **Les insecticides** (contre les insectes) .
- **Les fongicides** (contre les champignons) .
- **Les herbicides** (contre les mauvaises herbes) .
- **Les acaricides** (contre les acariens).
- **Les nématocides** (toxiques pour les vers du groupe des nématodes) .
- **Les rodenticides** (contre les rongeurs) .
- **Les molluscicides** (contre les mollusques, limaces et escargots) .
- **Les corvicides** (contre les oiseaux ravageurs).

#### I.1.2. Classification chimiques

Les principaux pesticides utilisés actuellement appartiennent à quelques grandes familles chimiques :

- **Les organochlorés.**
- **Les organophosphorés.**
- **Les pyréthroïdes.**
- **Les carbamates** (Charbonneaux, 1993).

### I.2. Devenir des pesticides dans l'environnement

La figure 1 nous montre de manière très simplifiée les différents processus impliqués dans le devenir d'un pesticide dans l'environnement, ce qui conditionne leur disponibilité et par conséquent la manifestation de leur caractère polluant (Barriuso *et al.*, 1996).

Lixiviation : transport du pesticide en phase liquide.  
Lessivage : transport du pesticide associé aux particules de sol.

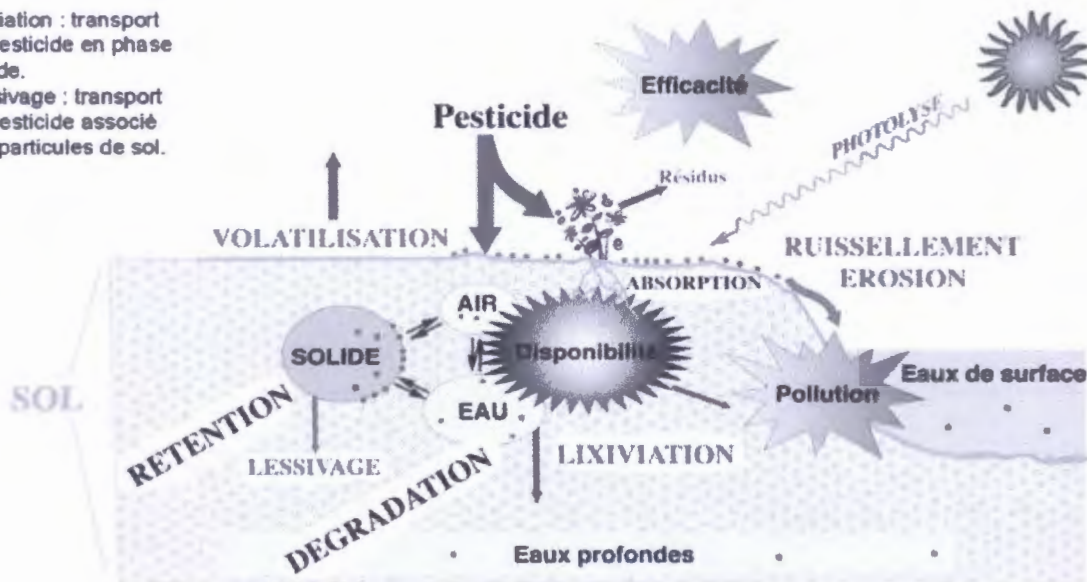


Figure 01 : Les processus impliqués dans le devenir des pesticides dans les sols (Barriuso *et al.*, 1996).

## II. Les herbicides

### II.1. Généralités sur les herbicides

#### II.1.1. Définition

Les herbicides sont appelés parfois désherbants. Ce sont des produits destinés à la lutte contre les plantes adventices. Ils agissent généralement en tant que perturbateur de croissance, inhibiteur de l'activité photosynthétique, de la production de cellulose, des lipides et d'acides aminés (Hugh et Tardif, 2012). Ce sont des matières actives ou des produits formulés aux structures chimiques complexes, Chaque herbicide possède des caractéristiques propres selon sa composition, son mode d'absorption (Coulibaly, 2005).

#### II.1.2. Classification des herbicides

Selon Gauvrit (1996), plusieurs classifications sont possibles. On peut se baser sur leur formule chimique, sur leur cible, sur les symptômes qu'ils occasionnent aux mauvaises herbes, il n'existe pas de classification idéale mais certaines peuvent être mieux appropriées à tel ou tel but.

##### II.1.2.1. Classification selon les propriétés physico-chimiques

Selon Scheyer (2000), Les herbicides peuvent être répertoriés suivant leurs caractéristiques physico-chimiques selon les familles suivantes:

- Les triazines

Ce groupe présente une structure cyclique. Les triazines (atrazine, simazine, métribuzine,..) sont en général peu solubles dans l'eau. Leur persistance peut ainsi atteindre 6 à 12 mois pour



certaines. Elles possèdent une grande stabilité chimique et sont assez fortement adsorbées sur le complexe argilo-humique, ce qui constitue un risque de contamination des eaux.

- **Les acétamides**

On les obtient par déshydratation des sels d'ammoniaque. Leur formule comporte au moins une fonction amide. On trouve notamment dans ce groupe: l'alachlore et le tébutame. Ils présentent une forte solubilité dans l'eau et une pression de vapeur plutôt élevée.

- **Les aryloxyacides**

Ces molécules sont constituées d'un noyau benzénique, naphténiqne ou anthracénique dont un des atomes d'hydrogène est substitué par un atome d'oxygène lié à une chaîne hydrocarbonée comportant un groupe carboxyle (CO<sub>2</sub>H). Les aryloxyacides sont très polaires et peu volatils. Ces herbicides acides sont très solubles dans l'eau et ils se retrouvent sous leur forme dissociée à pH neutre.

- **Les urées**

Les urées sont thermosensibles et sont facilement dégradées en isocyanates, leur dégradation est par contre lente dans l'environnement. Les urées sont assez persistantes et se retrouvent assez souvent dans les eaux.

- **Les toluidines (dinitroanilines)**

Elles comprennent notamment les uraciles parmi lesquelles on trouve le bromacile, la trifluraline (Pousset, 2003).

### II.1.2.2. Classification selon le mode de pénétration dans la plante

Pour qu'un herbicide puisse faire effet, il faut, dans un premier temps, qu'il atteigne une partie de la plante qui lui permette de pénétrer dans le végétal puis qu'il atteigne en quantité suffisante une partie sensible. Il existe trois types de pénétration des herbicides (Gama *et al.*, 2006).

#### ❖ **Herbicides à pénétration foliaire**

Ils appliqués par les feuilles, tissus chlorophylliens ou pré-chlorophylliens, par les tiges avant formation de écorce et par les bourgeons ouverts).

#### ❖ **Herbicide à pénétration transcorticale**

Ils appliqués à travers l'écorce par des craquelures, des cicatrices laissées par la chute des feuilles, par blessures accidentelles ou des griffures faites volontairement pour faciliter la pénétration.

#### ❖ **Herbicide à pénétration racinaire**

Ils pénètrent par les racines les poils absorbants, par l'intermédiaire de mycorhizes, par les radicules ou les tigelles sortant de graines en cours de germination. Après la pénétration il y'a deux types de comportement des herbicides :

### ▪ Les herbicides systémiques

Parfois appelés endothériques, migrent dans la plante depuis les points de pénétration jusqu'aux sites d'action. Ils sont ainsi distribués dans toute la plante. Ils agissent sur des sites parfois éloignés de point de pénétration. Leur action est généralement lente et progressive.

### ▪ Les herbicides de contact ou défanants

Ils présentent une diffusion nulle extrêmement limitée à l'intérieur du végétal. Ils détruisent les premières couches des cellules atteintes ce qui bloque toute diffusion aux organes plus lointains. Les herbicides foliaires de contact ont une action superficielle et rapide sur les parties vertes des végétaux.

#### II.1.2.3. Classification selon le mode d'action

Le mode d'action est un facteur important dans le choix des herbicides. L'HRAC (Herbicide Résistance Action Committee) a établi une classification en fonction du mode d'action. Cette classification est destinée à faciliter la gestion de la résistance aux herbicides en permettant de connaître les herbicides mieux adaptés pour combattre les résistances actuellement connues. (Baudry *et al.*, 2001).

**Tableau01** : principaux herbicides et leurs modes d'action dans la plante.

Groupe	Mode d'action	Famille chimique	Substance active
A	Inhibition de l'ACCCase (acétylcoenzyme A carboxylase), enzyme impliqué dans la voie de la synthèse des lipides.	Aryloxyphénoxypropionates	Fluazifop-p-butylquizalofop-P-éthylquizalofop éthyl.
C <sub>1</sub>	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 <sub>2</sub>	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 de la photosynthèse I	Bipyridyles	Diquat Paraquat
E	Inhibition de la PPO (protoporphyrinogène oxydase), bloquant ainsi la synthèse des chlorophylles.	Diphényléthers Oxadiazoles	Oxyfluorène Oxadiazon
F1	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
G	Inhibition de l'EPSP synthase (5énolpyruvyl shikimate 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 Pendimétaline

K <sub>3</sub>	Inhibition de la division cellulaire par désorganisation des microtubules.	Acétamides	Napropamide
L	Inhibition de la synthèse de la cellulose des parois cellulaires.	Nitrile Benzamides	Chlorthiamie Dichlobénil Isoxaben
O	Action de type hormonale (acide indolacétique) désorganisant division et croissance cellulaires.	Acide Phynoxy- carboxlique Acide Pyridine- carboxylique	2.4DFluroxypyrClop yralid

(Baudry *et al.*, 2001).

### II.1.3. Différents type de sélectivité d'un herbicide

Les herbicides seront dits sélectifs quand ils respectent certaines cultures et permettent de lutter contre certaines mauvaises herbes de ces cultures. Ils seront dits totaux quand ils sont susceptibles de détruire toute la végétation. La sélectivité des herbicides correspond à une modification d'au moins une des phases de l'action des produits dans la plante: mise en contact du produit avec la cible, pénétration, transport éventuel, site d'activité et métabolisme de dégradation. On distingue divers types de sélectivité (Gama *et al.*, 2006).

#### II.1.3.1. Sélectivité physiologique

La sélectivité peut être obtenue par des différences de comportement physiologique entre les végétaux.

#### II.1.3.2. Sélectivité de position

Elle répose sur une différence de niveau dans le sol entre les racines des plantes à contrôle (qui doivent être relativement superficielles) et celles de plantes à épargner qui devront être positionnées plus en profondeur.

#### II.1.3.3. Sélectivité « artificielle »

En absence de toute autre sélectivité, des astuces de traitement ou des techniques particulières permettent des applications sélectives :

- Utilisation d'écrans formés par la végétation (ronce, fougère) pour éviter que l'herbicide atteigne les jeunes plantes.
- Traitements dirigés évitant que l'herbicides n'atteigne les feuilles ou les tiges de l'essence forestière (utilisation de buses –miroir).

#### II.1.3.4. Sélectivité anatomique

Ces types de sélectivité concernent principalement les produits de post-levée : la pénétration par les feuilles peut être gênée par la présence de poils ou par l'épaisseur de la cuticule de l'épiderme. Le port des feuilles modifie également l'adhérence de la pulvérisation à leur surface :

Les feuilles de graminées, dressées et étroites, retiennent moins bien les gouttelettes que celles des dicotylédones, souvent larges et étalées (Cirad, 2000).

### III. Glyphosate

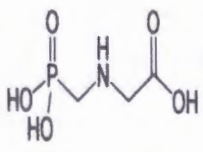
Le Glyphosate (N-(phosphonométhyl) glycine, C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>5</sub>P) est aujourd'hui l'herbicide le plus utilisé dans le monde. C'est un désherbant foliaire systémique non sélectif, c'est-à-dire un herbicide totale absorbé par les feuilles et ayant une action généralisée (Bertonnie *et al.*, 2012).

Le Glyphosate seul est peu efficace car elle n'adhère pas aux feuilles ni ne les pénètre facilement. Pour accroître sa solubilité, il est donc habituellement préparé sous forme de sel d'isopropylamine (C<sub>6</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>P) ou bien des additifs ou des surfactants lui sont ajoutés pour le fixer sur les plantes (Le Mer *et al.*, 2009).

#### III.1. propriétés physico-chimiques du Glyphosate

Les herbicides à base de Glyphosate sont classés dans le groupement chimique des acides phosphoniques, caractérisé par la liaison de l'atome de phosphore avec au moins un atome de carbone ou d'hydrogène (Dion, 2007). 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 (Ibanez *et al.*, 2005).

Tableau 02: Les propriétés physico-chimiques du Glyphosate.

Molécule	Formule	Propriétés physico chimiques
Glyphosate		Poids moléculaire [g/mol]= 169.1. Pression de vapeur [Pa] 1.31.10 <sup>-5</sup> (T = 25°C) Coefficient d'adsorption : (Koc) [L/kg] = (884-60000) Constante de dissociation (pKa) : pKa1= 2.34 à 20°C (acide phosphate). pKa2= 5.73 à 20°C (amine secondaire). pKa3= 10.2 à 20°C (acide carboxylique). Solubilité (eau) = 12 g/L à 25°C. Stabilité : Eau : DT50 = 2 à 91 jours, (photodégradation) ; Sols : DT50 = 3 à 174 jours, Kd = 61 g/m <sup>3</sup> (coefficient d'adsorption très élevé) Point de fusion=200°C

(Couture *et al.*, 1995; Baylis, 2000).

#### III .2. Le Glyphosate dans l'environnement

Le Glyphosate est utilisé comme ingrédient actif sous plusieurs formes chimiques, généralement sous forme de sel: sel d'isopropylamine (IPA), de diammonium, de monoammonium, de potassium, de triméthylsulfonium ou de diméthylamine (Gorse et Rivard, 2011). Les demi-vies du Glyphosate, de l'acide aminométhylphosphonique (AMPA) et du Polyoxyéthylène amine (POEA) à dans l'environnement (sol et eau) sont relativement courtes, allant de 1 à 240 jours selon les différentes études (Giesy *et al.*, 2000).

### III.2.1. Dans le sol

#### III.2.1.1. 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, mais très dépendante du pH du sol, dans le cas général, l'adsorption augmente quand le pH diminue (Accinelli *et al.*, 2005). 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 (Sprankle *et al.*, 1975).

#### III.2.1.2. Désorption du Glyphosate

Le phosphate excédentaire dans les engrais et autres amendements du sol provoque la désorption du Glyphosate. Si le phosphate appliqué dépasse les montants requis par les plantes, le phosphate s'accumule dans le sol et va donc occuper les sites d'adsorption de la matrice du sol en raison de sa forte adsorption dans les sols. Cela conduit à une capacité réduite à retenir le Glyphosate (Gimsing *et al.*, 2004).

**III.2.2. Dégradation** : la dégradation peut être de nature abiotique et biotique (Scheyer, 2004)

#### III.2.2.1. Dégradation abiotique

Elle concerne les réactions se développant dans la solution du sol ou sur la surface des colloïdes. Ce sont dues à des réactions chimiques telles que les réactions d'oxydations, de réduction, d'hydrolyse, de conjugaison et de photoréactions (Arias-Esével *et al.*, 2008). Dans ce type de dégradation, on distingue:

##### A. La dégradation chimique

La dégradation chimique peut intervenir dans la solution du sol où l'hydrolyse, acide ou basique, est la réaction la plus fréquente (Regnault-Roger *et al.*, 2005).

##### B. La photodégradation

Elle n'est possible que lorsque la molécule est capable d'absorber les rayonnements ultraviolets. Elle n'intéresse principalement que deux familles d'insecticides: les carbamates et les pyréthrénoïdes (Devault, 2007).

#### III.2.2.2. Dégradation biotique

Cette dégradation est liée à l'activité enzymatique des micro-organismes dans le sol. Une bonne aération du sol, une teneur en matière organique élevée ainsi que l'humidité favorise le développement des microorganismes et donc accélèrent ce processus (Berard et Pelte, 1999). Parmi les altérations biotiques deux situations se différencient: dans le premier cas, le pesticide est dégradé en produits inorganiques (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, Cl<sup>-</sup>), cette dégradation s'appelle la minéralisation. Dans le deuxième cas, le pesticide est partiellement dégradé en molécules organiques (Fdil *et al.*, 2003).

### III.2.3. La dissipation du Glyphosate

#### III.2.3.1. Mobilité et transfert du Glyphosate

##### ❖ Dans l'air

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).

##### ❖ Dans l'eau

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 (Kolpinet *al.*, 2005) la mobilité augmente légèrement à un pH élevé (Doliner, 1991).

### III .3.Évaluation du risque toxicologique du Glyphosate

Plusieurs études toxicologiques font état des effets des herbicides à base de Glyphosate sur les organismes vivants en milieu aquatique, qui sont particulièrement sensibles.

#### III .3.1. Chez les végétaux

Observation des effets sur les métabolismes des acides aminés aromatiques (Wang, 2001; Dewick, 1998), une diminution de la croissance (Tsui et Chu, 2003; Wong, 2000).

#### III .3.2. Chez les animaux

Inhibition de la croissance des crustacés (Tsui et Chu, 2003), cause des lésions rénales et cervicales, de même que des dommages aux branchies et au foie chez le tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*) en phase juvénile (Ayoola, 2008) et du stress oxydatif chez le poisson (*Prochilodus lineatus*) (Modesto et Mattinez, 2010).

#### III .3.3. Chez les mammifères

On observe par exemple, un épaissement de la peau, une perturbation de la glande thyroïde chez les rats femelles, ainsi que des anomalies fœtales chez le rat et le lapin (Santé Canada, 1987); et des effets sur les cellules humaines, notamment par l'induction du dysfonctionnement du cycle de régulation cellulaire (Marc *et al.*, 2004; Bcnachouret Séralini, 2009) ou par la perturbation endocrinienne (Gasnier *et al.*, 2009).

### III.4. Le mode d'action du Glyphosate

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 (Baylis, 2000; Delabays et Bohren, 2007).

Le Glyphosate est un inhibiteur compétitif de l'enzyme 5-enolpyruvoyl shikimate 3-phosphate synthase (EPSPS), qui est impliquée dans la voie de synthèse de l'acide shikimique ce dernier mène à la biosynthèse des acides aminés aromatiques, tryptophane, tyrosine et

phénylalanine, ainsi qu'à la synthèse de métabolites secondaires tels que la lignine, les quinones ou d'autres composés impliqués dans la défense des végétaux contre les rayons UV et les prédateurs, insectes ou herbivores (Marzabadi *et al.*, 1996; Tzin et Galili, 2010; Dewick, 1998). En bloquant cette étape de la voie métabolique, l'herbicide induit une accumulation d'acide shikimique, et cause le blocage de la biosynthèse des acides aminés aromatiques. 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). Toutefois, les effets peuvent se manifester uniquement après une semaine selon les conditions météorologiques. Les symptômes de destruction se traduisent par une coloration jaune-roux du système aérien et un noircissement des parties souterraines (Heddadj et Bouvier, 2012).

#### IV. Les effets des herbicides sur la microflore aquatique (diatomées)

Les effets des pesticides, et plus particulièrement des herbicides, sur *les* algues et les diatomées ont fait l'objet d'un grand nombre de travaux de recherche. Nous avons choisi de présenter l'état de l'art dans ce domaine en partant de l'échelle de la cellule pour finir au niveau des communautés.

##### IV.1. Les effets sur le métabolisme des cellules et des communautés

Les effets des pesticides au cours du cycle de développement des algues et des diatomées en particulier ont été largement étudiés, l'impact de ces agents toxiques sur la photosynthèse et la respiration, la synthèse des acides gras et des acides aminés et, enfin, l'absorption des nutriments.

##### IV.1.1. L'activité photosynthétique

Les organismes végétaux présentent cette particularité d'utiliser les photons de la lumière comme source d'énergie pour leur métabolisme cellulaire. Cette activité photosynthétique est la cible de toute une gamme des molécules des herbicides très utilisées en agriculture comme les s-triazines et les urées substituées (phénylurées et sulphonylurées). Ces molécules 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 (Berard et Pelte, 1996; Peres *et al.*, 1996; Dorigoet Leboulanger., 2001; Leboulanger *et al.*, 2001; Berardet *et al.*, 2003; Dorigoet *et al.*, 2004).

##### IV.1.2. Inhibition de la synthèse des acides aminés

De toutes les molécules agissant sur la synthèse des acides aminés, les sulfonylurées (nicosulfuron, chlorsulfuron,...). Ces molécules systémiques migrent dans la plante pour inhiber une enzyme, l'acétolactate synthase, impliquée dans la synthèse des acides aminés ramifiés. D'autres molécules systémiques présentent le même site d'action comme le Glyphosate très utilisé en agriculture du fait de sa biodégradation importante dans les sols.

Pour plusieurs espèces des diatomées, il a été montré qu'une exposition à l'atrazine 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).

#### IV.1.3. Inhibition de la synthèse des lipides

Les protéines ne sont pas les seules affectées. Des accumulations des lipides ont aussi été observées chez des diatomées exposées à de l'atrazine dans des milieux non carencés. D'autres molécules de la famille des chloroacétamides, comme l'alachlore, peuvent à l'inverse inhiber la synthèse des acides gras. Certains composés de la famille des phenylurées, comme le linuron, sont connus pour bloquer la mobilité des diatomées (*Hantzschia sp.*). Or comme nous l'avons rappelé précédemment les polysaccharides sécrétés par ces micro-algues sont impliqués dans le déplacement de certaines espèces des diatomées. La perte de mobilité observée chez certaines espèces, suite à une exposition à ce type d'herbicide, pourrait donc être liée à un défaut de production de ces sucres (Pipe, 1984).

#### IV.1.4. L'absorption des nutriments

Les molécules herbicides affectent aussi l'absorption des nutriments (NO<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, Si) par les algues (Krieger *et al.*, 1988) ont ainsi observé, chez des micro-algues exposées de manière continue à une concentration forte (134 µg/L) en Atrazine, une baisse de l'absorption commune en nitrate, nitrite et silice. D'autres travaux ont aussi mis en évidence, sur des communautés phytoplanctoniques exposées à de la Simetryne, une augmentation continue dans le milieu des concentrations en nitrites et nitrates au cours de l'expérimentation (Kasai et Hanazato, 1995).

### IV.2. Les effets sur la cytologie et l'ultra-structure

#### IV.2.1. Le squelette interne ou cytosquelette

Comme toutes les cellules, les diatomées sont dotées d'un réseau interne de filaments (microtubules, filament d'actine, microfilaments), qui interviennent dans les phases de multiplication et jouent un rôle important dans le fonctionnement et le maintien de l'agencement interne de la cellule. 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. Or les algues peuvent être exposées à ce type de substances actives dans les eaux. On a ainsi montré qu'un herbicide de la famille des carbamates (l'isopropyl N-Phenyl carbamate IPC) conduisait à des déformations des fuseaux mitotiques chez une algue verte (*Oedogonium cardiacum*) (Cosset Pickett-Heaps, 1974). Les effets de la colchicine, un inhibiteur de la mitose agissant de la même manière que l'IPC, sur le développement des microtubules ont, aussi, été très étudiés chez des algues vertes et des diatomées (Coombs *et al.*, 1968; Edgaret Pickett-Heaps, 1984; Puiseux-Dao, 1989).



#### IV.2.2. Le noyau

Il a été observé chez des diatomées marines (*Thalassiosira weiss flogii*) exposées à un aldéhyde (2-trans,4-trans-decadienal), une dispersion de l'ADN dans les cellules (Casotti *et al.*, 2005). Cette altération semble liée à une forme d'apoptose. Une autre molécule, la colchicine, serait à l'origine d'une fragmentation du noyau chez les diatomées, des cellules multinucléaires ayant été observées chez une espèce de diatomée (*Navicula pelliculosa*) exposée à cette molécule (Coombs *et al.*, 1968; Duke et Reimann., 1977).

#### IV.2.3. La paroi cellulaire siliceuse: le frustule

L'apparition d'anomalies dans la paroi siliceuse des diatomées n'a été que très peu étudiée. Des formes anormales sur des diatomées exposées à des concentrations élevées (maximum 312 µg/L) en Isoproturon, un herbicide agricole très utilisé sont observées (Schmitt- Jansen et Altenburger, 2005). Mais chez des communautés exposées à des herbicides différents (Atrazine et Nicosulfuron), des anomalies de ce type n'ont pas été notées.

#### IV.3. Les effets sur la multiplication et la reproduction

Certains herbicides de la famille des carbamates et des toluidines ont été spécialement développés pour inhiber la division cellulaire (Cosset Pickett-Heaps, 1974) ont ainsi montré qu'un herbicide de la famille des carbamates, l'Isopropyl N-Phenyl carbamate (IPC), était à l'origine d'une perturbation de la division des centrosomes, les fuseaux mitotiques étant anormaux.

Les pesticides affecteraient donc les microtubules impliqués dans la séparation des chromosomes lors de la mitose, l'arrêt de la division nucléaire est à mettre en relation avec une désorganisation des membranes liée au stress oxydatif (Carder et Hoagland, 1998).

#### IV.4. Les effets sur la croissance de la biomasse

La concentration en « chlorophylle a » est un des paramètres les plus utilisés pour évaluer l'effet des pesticides sur la biomasse algale, une exposition chronique à des concentrations moyennes à fortes (2 à 500 µg/L) en atrazine a induit, une baisse significative de la biomasse totale (De Noyelles *et al.*, 1982; Krieger *et al.*, 1988; Jurgensen et Hoagland, 1990; Carder et Hoagland, 1998).

#### V. Les facteurs interférant dans la réponse des diatomées aux herbicides et la détection des effets

La réponse des algues, et des diatomées en particulier, aux pesticides n'est pas uniforme. En effet, de nombreux paramètres écologiques ou environnementaux peuvent interférer dans le degré de réaction de ces micro-organismes, voire même masquer leurs réponses.

## V.1. Les paramètres écologiques

Les interférences au sein des communautés algales, l'action des autres compartiments aquatiques et le comportement des diatomées peuvent affecter la réponse de ces micro-algues aux pesticides.

### V.1.1. La compétition spécifique

Dans des milieux non-contaminés, les différentes espèces d'une communauté vivent en équilibre. Dans le cas des 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 (Casotti *et al.*, 2005). La compétition et les relations d'inter-dépendance entre les différentes espèces influent donc largement sur la réponse des algues (Goldsborough et Robinson, 1986).

### V.1.2. Le biofilm

Parmi les diatomées, certaines espèces vivent fixées à différents types de substrats. Ces 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 (Peres *et al.*, 1996).

## V.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 ; Navarro *et al.*, 2002). En d'autre terme ; le facteur saisonnier joue donc un rôle important dans la réponse des algues aux pesticides.

### V.2.1. La luminosité

Plusieurs travaux scientifiques ont montré que les diatomées étaient plus sensibles à l'atrazine en cas de forte exposition lumineuse (Guasch *et al.*, 1997). Dans des conditions naturelles, où la luminosité varie fortement d'un point à l'autre, il s'avère donc difficile de comparer les réponses fournies par des communautés des stations différentes exposées à des pesticides. A la fin du printemps et au début de l'été, le développement de la végétation des ripisylves peut potentiellement atténuer les effets des pesticides sur les diatomées (Navarro *et al.*, 2002). Ont ainsi montré que la tolérance à l'atrazine de communautés périphytiques était plus faible au printemps qu'en été. Des résultats inverse sont été obtenus chez des communautés phytoplanctoniques exposées elles aussi à de l'atrazine (Berard et Pelte, 1996). Le facteur saisonnier joue donc un rôle important dans la réponse des algues.

### V.2.2. Les nutriments

Les effets des pesticides sur les algues et sur les communautés varient en fonction des niveaux de concentration en nutriments dans le milieu. Il a ainsi été montré que des carences en azote et phosphore pouvaient augmenter la sensibilité des algues (Lin *et al.*, 2005). Dans des conditions naturelles, les variations spatiales et temporelles des concentrations en nutriments doivent donc affecter la sensibilité des algues aux toxiques, particulièrement dans le cas de cours d'eau drainant des bassins versants agricoles. (Navarro *et al.*, 2002).

### V.2.3. Les conditions hydrauliques

Le développement des communautés de diatomées benthiques est largement dépendant des conditions hydrauliques (Ghosh et Gaur, 1998). Les conditions hydrauliques influencent 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 Hoagland, 1990). L'effet abrasif de courants élevés contribue à limiter le développement des communautés et du biofilm, et à sélectionner les espèces les plus rhéophiles.

### V.2.4. Les interactions entre les molécules toxiques

Les effets d'une pollution globale par des pesticides sont donc difficiles à évaluer, à cause du nombre élevé de molécules (substances actives mères, métabolites, substances connexes comme les adjuvants présents dans les formulations commerciales) présentes dans les eaux polluées par les pesticides. 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 (Lagadic *et al.*, 1998). A titre d'exemple ; les effets combinés de deux molécules chimiques toxiques, le Poly-Chloro-Biphényle (PCB) et le dichloro-diphényldichloroéthylène (DDE) produit de dégradation du DDT, sur une diatomée marine, sont plus qu'additifs. A l'inverse, dans le cas du bifenthrin, un insecticide de la famille des pyréthrinoïdes, et de l'atrazine, les effets d'un des deux pesticides ne sont significatifs qu'en l'absence de l'autre molécule (Hoagland *et al.*, 1993).

## *Chapitre II*

### *Caractères généraux des diatomées*

## I. Les diatomées

### I.1. Définition

Les diatomées, ou Bacillariophycées, sont des micro-algues unicellulaires eucaryotes appartenant à l'embranchement des Chromophytes (algues brunes). Leur taille varie de moins de 10  $\mu\text{m}$  à plus de 500  $\mu\text{m}$  pour les plus grandes. Elles sont principalement solitaires, mais peuvent aussi former des colonies rubanées, étoilées ou filamenteuses. Les premières diatomées fossiles datent du Crétacé (120 millions d'années) (Van den Hoek *et al.*, 1995), et plus de 100 000 espèces ont été recensées jusqu'à présent (Round *et al.*, 1990), se développant dans tous les types de milieux aquatiques, au niveau du phytoplancton et du périphyton.

### I.2. Classification des diatomées :

On distingue deux grandes catégories des diatomées selon la géométrie de leur frustule (Langlois, 2006).

#### I.2.1. Les diatomées centrales, à symétrie radiale

Le frustule circulaire porte des stries, rayonnant depuis un point ou une aréole (qui n'est pas forcément situé au centre de la valve), ou une réticulation (Figure 02).

#### I.2.2. Les diatomées pennales, à symétrie bilatérale

Le frustule allongé présente des stries disposées autour d'un plan de symétrie bilatérale. De nombreuses diatomées pennales présentent sur ce plan de symétrie une fente, le raphé, interrompue par un nodule de silice central (Figure 02). Elle permet une communication avec le milieu extérieur et l'excrétion de mucilage. Si cette fente est atrophiée ou peu marquée, on parle de pseudo-raphé. Les pennales sans raphé sont appelées diatomées araphidées ou crypto-raphidées (Langlois, 2006).

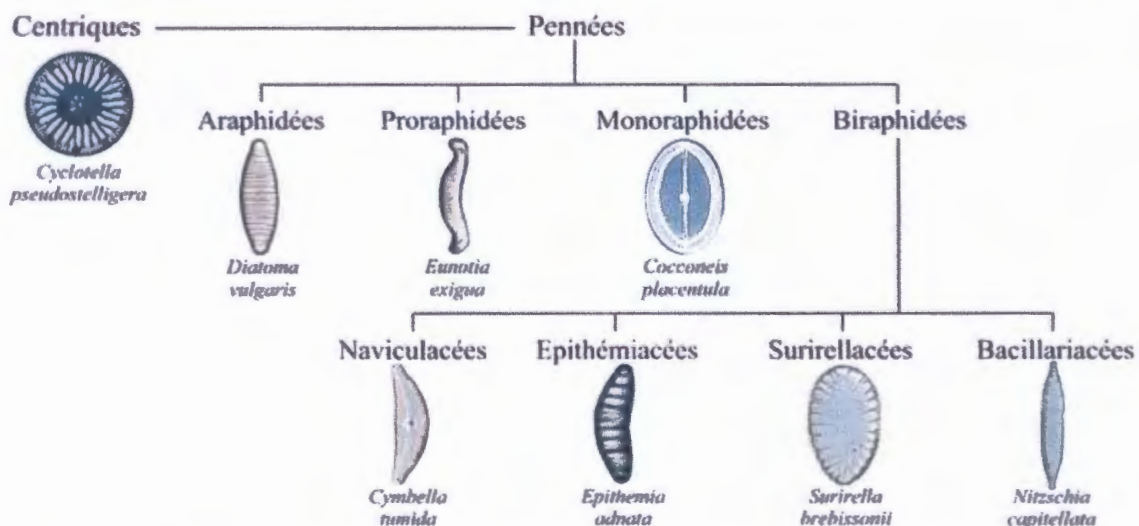


Figure 02 : Clé simplifiée de détermination des genres des diatomées d'eau douce (d'après Krammer et Lange-Bertalot, 1986).

### I.3. Structure cellulaire

Les diatomées sont caractérisées par la présence d'une paroi très différenciée autour de la cellule, principalement constituée de silice (le frustule). Cette paroi externe est formée de deux valves emboîtées (l'épivalve et l'hypovalve, de plus petite dimension), reliées entre elles par des ceintures connectives (l'épicingulum et l'hypocingulum) (Figure 03).

Les diatomées produisent des substances extracellulaires polymériques, qui peuvent s'organiser en tubes, pédoncules, fibrilles ou former une enveloppe adhésive autour du frustule (Hoagland *et al.*, 1993). Ces substances mucilagineuses sont excrétées par la cellule au niveau des perforations réparties sur toute la surface du frustule (Figure 03) (Round *et al.*, 1990). Elles sont considérées comme étant en grande partie responsables du succès biologique des diatomées, jouant un rôle dans leur mobilité, leur adhésion au substrat, dans la formation des colonies et contre la dessiccation (Hoagland *et al.*, 1993).



Figure03: Structure du frustule d'une diatomée (*Navicula* sp) (d'après Round *et al.*, 1990).

### I.4. Cycle de développement

Les diatomées ont un cycle de développement relativement court, allant de quelques heures à quelques jours selon les espèces et les caractéristiques du milieu (Baars, 1983). Elles possèdent deux modes de reproduction distincts : multiplication végétative et reproduction sexuée (figure 04).

#### I.4.1. La reproduction asexuée

Elles se reproduisent le plus souvent par multiplication végétative, au cours de laquelle chaque cellule donne naissance à deux cellules filles, par écartement des deux valves et régénération de nouvelles valves de plus petite taille. Ce processus conduit à la réduction progressive de la taille des cellules au fil des générations jusqu'à l'atteinte d'une taille minimale (Caroline Gold, 2002).

### I.4.2. La reproduction sexuée

Elle induite par la réduction de taille de la cellule mais aussi par les facteurs environnementaux (lumière, température, nature du substrat, etc...), permet la restauration d'individus de taille normale. Les modalités de cette reproduction sexuée varient selon les espèces, mais l'auxosporulation (production d'auxospore ou cellule "œuf") est toujours observée.

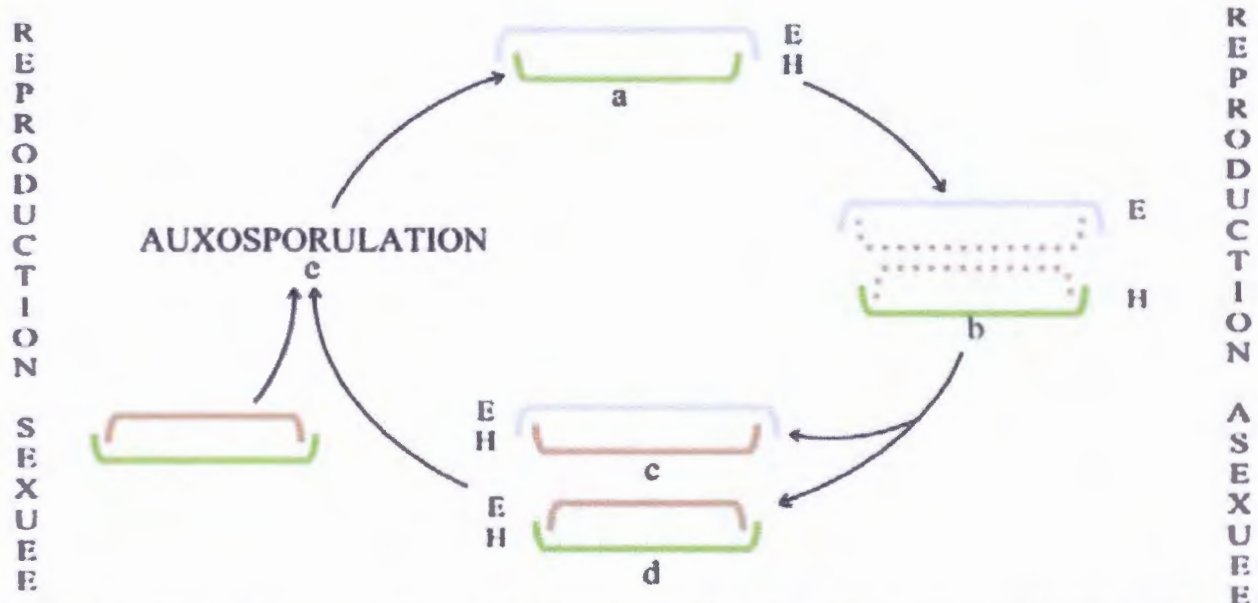


Figure 04: Cycle de reproduction des diatomées-seules les valves sont représentées (d'après Round *et al.*, 1990).

## I.5. Ecologie

### I.5.1. Le milieu

Les facultés d'adaptation et de survie de ces micro-algues leur confèrent une très grande ubiquité, 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) (Prygiel et Coste, 2000; Berard *et al.*, 2004). Lorsque les conditions deviennent trop défavorables (sécheresse, lumière, nutriment), des spores de repos sont produites par la cellule. Dès que les conditions optimales sont rétablies, ces spores germent pour donner une cellule identique (Quéguiner, 2007).

#### I.5.1.1. Les diatomées planctoniques

Ce sont des espèces qui vivent libres en suspension dans la colonne d'eau. Elles constituent l'essentiel du phytoplancton dans les parties inférieures des cours d'eau (milieux lenticux, canalisés), et les milieux lacustres et marins. Mises à part quelques formes pennées, les diatomées planctoniques sont surtout représentées par les diatomées centriques isolées ou associées en chaînes.

### I.5.1.2. Les diatomées benthiques

Elles vivent fixées à la surface des objets immergés à une profondeur correspondant à la zone photique des cours d'eau, où la lumière est suffisante pour assurer l'activité photosynthétique.

La nature du substrat détermine en général le type de communauté de diatomées qui s'y installent. Selon le type de substrat colonisé on distingue :

- L'épipélon et l'endopélon vivant à la surface et dans le sédiment.
- L'épipsammon vivant à la surface des grains de sable.
- L'épilithon qui désigne les espèces vivant sur les substrats durs et inertes (pierre, blocs, galets).
- L'épiphyton vivant à la surface des végétaux aquatiques.
- Le périphyton est l'ensemble des organismes se développant en contact avec un support quel conque immergé (Werner, 1977).

### I.5.2. Structure des communautés périphytiques

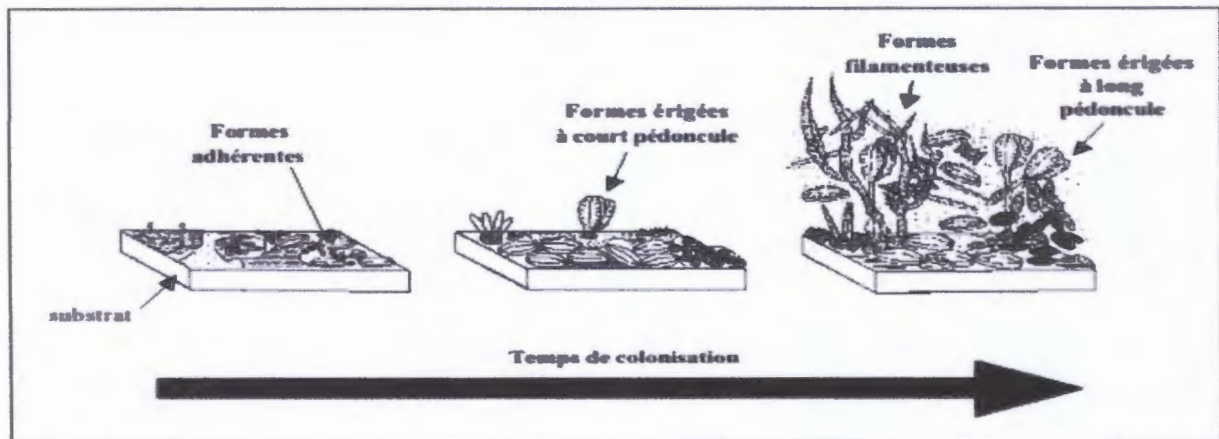
Les communautés périphytiques se développent sur les substrats par accumulation progressive de strates d'algues possédant des « formes de croissance » différentes (Round, 1981; Roemer *et al.*, 1984; Hoagland *et al.*, 1993; Mueller, 1999) (Figures 05).

La colonisation d'un substrat vierge débute par la formation d'une matrice de matières organiques et de bactéries. Les petites diatomées adhérentes accolées étroitement au substrat par toute leur surface valvaire, sont les premières cellules à se fixer sur le substrat (Biggs, 1996 ; Johnson *et al.*, 1997). Des espèces érigées, rattachées au substrat par leur partie apicale ou par un très court pédoncule forment également la couche algale basale du biofilm. Ensuite, s'installent des espèces moins fortement rattachées au substrat, par l'intermédiaire de sécrétions mucilagineuses organisées en longs tubes ou pédoncules.

Lorsque les conditions du milieu sont favorables, une troisième strate d'algues apparaît sur le substrat, constituée d'espèces filamenteuses. La communauté a atteint une architecture très épaisse et est qualifiée de mature. Les communautés périphytiques renferment également des diatomées mobiles, capables de se déplacer à travers les couches supérieures du biofilm grâce aux substances polysaccharidiques qu'elles secrètent (Stevenson, 1996; Johnson *et al.*, 1997), et des espèces planctoniques, piégées dans la matrice du biofilm.



Au fur et à mesure que la structure se complexifie, l'épaisseur s'accroît. La matrice organique, sécrétée par les algues et les bactéries, s'épaissit également, et modifie les interactions physico-chimiques entre le milieu aquatique environnant et le périphyton. Ainsi, elle protège les cellules sous-jacentes des effets érosifs du courant, mais les expose à une limitation des ressources en nutriments et en lumière (Stevenson *et al.*, 1991). Plusieurs auteurs ont émis l'hypothèse selon laquelle cette matrice réduirait la toxicité des métaux (Lock *et al.*, 1984; Ivorra *et al.*, 2000).



**Figure 05:** Processus de colonisation progressive des substrats aquatiques par les différentes "formes de croissance" de diatomées (Steinman, 1996).

### I.5.3. Mode de vie

Les cellules sont solitaires ou fixées à l'aide de stipes mucilagineux (*Gomphonema*) ou bien vivent dans des tubes muqueux (*Cymbella*). Elles peuvent aussi former des colonies rubanées (*Fragilaria*), étoilés (*Asterionella*) ou filamenteuses (*Melosira*). De nombreuses diatomées sont mobiles à des échelles millimétriques, cependant la structure des communautés est principalement conditionnée par le « stock » d'espèces déjà en place. Elle dépend également de facteurs externes (facteurs physiques et chimiques, pression de prédation, parasitisme, pollution) et d'interactions entre espèces (compétition, excrétion de composés organiques autotoxiques, hétérotoxiques ou stimulants) (Townsend, 1989).

### I.5.4. Sensibilité des diatomées aux facteurs environnementaux

De nombreuses études ont montré que les facteurs environnementaux tels que la vitesse du courant, la température, les ressources en nutriments et la lumière avaient une influence importante sur l'évolution et la structure des communautés des diatomées périphytiques (Patrick, 1971; Stevenson, 1983, Luttenton et Rada, 1986). La structure des communautés est ainsi variable dans l'espace, d'un habitat à l'autre, mais aussi dans le temps, selon les variations saisonnières et annuelles des conditions physico-chimiques au sein d'un même habitat.

#### I.5.4.1. Les facteurs physique

- **Le courant**

La vitesse de courant est un facteur qui conditionne le métabolisme des diatomées, comme la respiration et l'assimilation des substances dissoutes. Les eaux rapides sont normalement très bien oxygénées. Elles ont une influence sur la distribution des organismes dans un écosystème lotique (Stevenson ,1996). La vitesse du courant influe aussi sur la biomasse (Biggs, 1996), les formes de vie (Biggs et Goring ,1998). Elle peut stimuler le processus de photosynthèse, l'assimilation de nutriments et la respiration d'algues benthiques (Whitford et Schumacher ,1961).

- **La température**

La température est l'un des facteurs difficile à mettre en corrélation directe avec le développement des diatomées. En effet, un changement de température affecte une variété des facteurs chimique et biologiques (oxygénation, solubilité, métabolisme,..) qui affectent eux aussi le développement algal (Lotter et Birks ,1997; Bigler et Grahn ., 2003).

- **L'intensité de la lumière**

La lumière joue un rôle important pour tous les organismes photosynthétiques en général et donc aussi pour les diatomées. Les diatomées, comparées aux autres groupes algaux, ont un faible besoin en lumière, ce qui leur confère un grand pouvoir de colonisation (eau, air, sol). L'intensité de lumière a un effet structurant sur les communautés microalgales, sur le contenu en pigments photosynthétiques (Kawecka, 1986), sur leur biomasse et productivité (Rosemond *et al.*, 2000).

#### I.5.4.2. Les facteurs chimique

- **Le pH**

Le pH est un facteur de grande importance. Il agit sur la solubilité de différentes substances et sur la disponibilité de carbone. Il influence sur la composition et la distribution des espèces de diatomées. Il a été démontré que différentes espèces des diatomées toléraient un degré d'acidité spécifique fournissant ainsi des données intéressantes sur le niveau d'acidification d'un cours d'eau. Les diatomées répondent très rapidement à une acidification, mais que le retour à la normale nécessite un laps de temps plus long (Van Dam et Mertens, 1994).

- **Les nutriments**

Les nutriments comme l'azote et surtout le phosphore, sont des facteurs le plus fréquemment limitant en eau douce, interviennent dans la définition du statut trophique des milieux lotiques et lenticules. Ces éléments sont généralement les nutriments les plus critiques pour la croissance des diatomées, mais d'autres éléments chimiques peuvent limiter la croissance sous certaines conditions. Les algues ont souvent besoin de plus de nutriments lorsque la lumière et la température sont plus basses que l'optimum requis pour la croissance (Patrick, 1977; Kelly, 2003).

## II-Utilisation des diatomées comme bio-indicateurs de la qualité des eaux

### II.1. Définition de bio indicateur

La notion de bio-indicateur désigne une espèce ou une population qui du fait des particularités écologiques des espèces composant l'assemblage, est apte à rendre compte de façon intégrée dans le temps de l'ambiance écologique régnant dans un milieu aquatique et à révéler précocement des modifications biotiques ou abiotiques de l'environnement. Pratiquement tous les organismes révèlent des informations sur leur environnement, mais certains sont plus utiles pour la surveillance de la qualité des eaux que d'autres (Charles et Smol, 1994). En effet les bioindicateurs doivent présenter un ensemble de caractéristiques, dont la plupart sont réunies chez les diatomées à savoir :

- **Cosmopolitisme** : Les bioindicateurs doivent avoir la plus large répartition géographique possible. Les diatomées sont présentes dans quasiment tous les milieux aquatiques et terrestres humides (Acs et Szabo, 2004).
- **Forte abondance** : Cela permet un échantillonnage fiable, en nombre suffisant, d'individus de chacun des milieux que l'on souhaite évaluer. Les diatomées, en tant que micro-organismes ont la capacité de former des vastes populations sur des surfaces réduites (Baars, 1983).
- **producteurs primaires** : Les algues sont plus directement affectées par les facteurs physiques et chimiques de l'eau (Baars, 1983).
- **Cycle de vie simple et court** : Afin de révéler les changements ponctuels ainsi que les modifications sur le long-terme (Hellawell, 1978).
- **Identification morphologique facile** : Jusqu'au niveau de l'espèce (John, 1998).
- **Echantillonnage facile** et possibilité de conservation des prélèvements.
- **Mobilité restreinte**: Ce qui permet d'obtenir à la différence des analyses physicochimiques, une mesure intégrée dans le temps des variations de la qualité du milieu dans lequel elles se développent (John, 1998).
- **Sensibilité** des aux polluants organiques et minéraux qui n'affecteront pas d'autres organismes ou qui affecteront d'autres organismes, mais seulement à des concentrations élevées (Baars, 1983).

### II.2. Intérêt de la bio-indication pour l'évaluation de la qualité des eaux

Les organismes aquatiques sont en constante interaction physique, chimique et biologique avec leur écosystème. Ils sont ainsi capables d'intégrer les évolutions environnementales sur le court terme aussi bien que sur le long terme, mais également les effets antagonistes ou synergiques des différents types de contaminants, impossibles à mettre en évidence par des mesures physico-chimiques (Whitton, 1991).

### II.3. La bio-indication par les diatomées

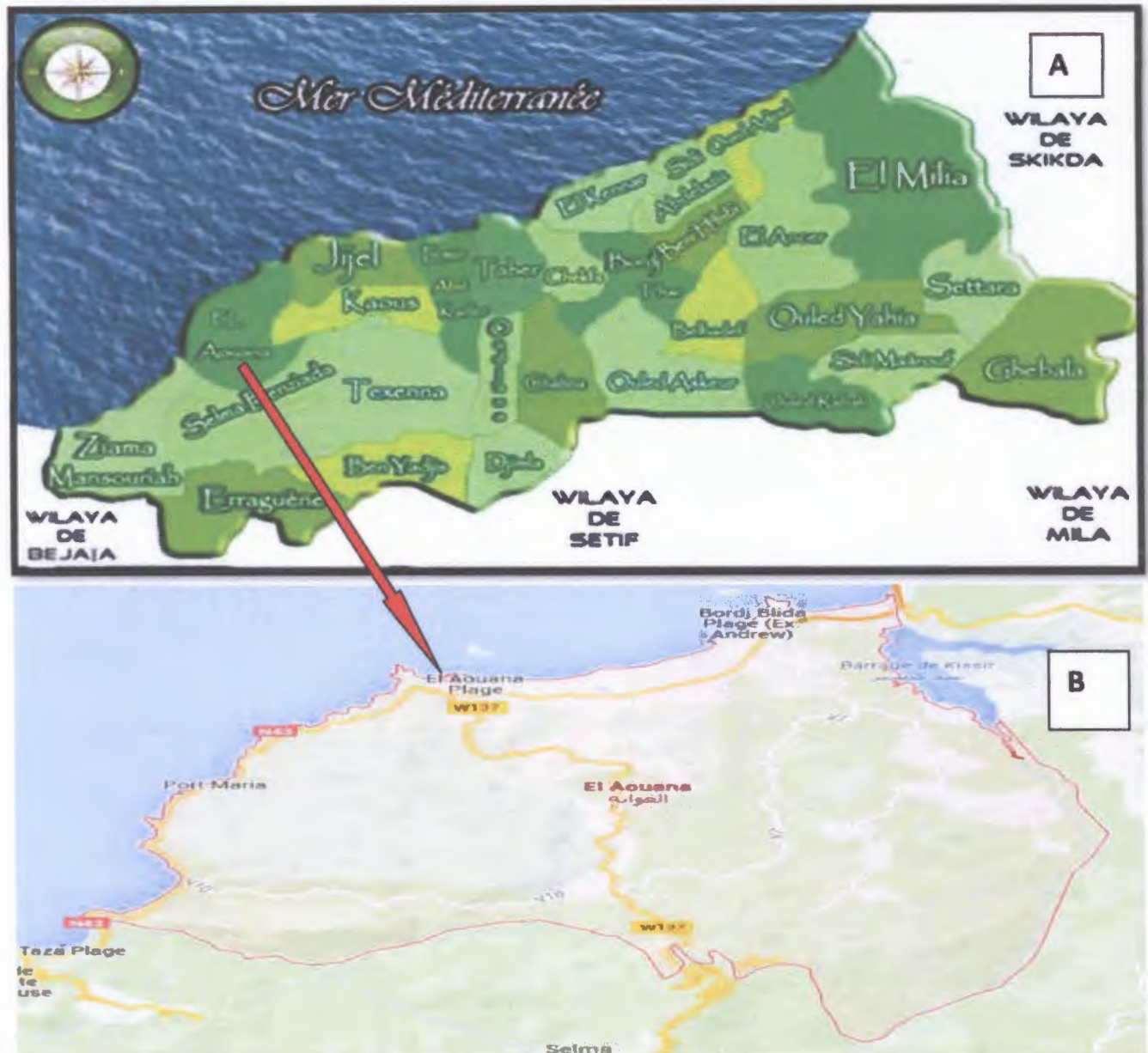
Les diatomées réagissent à différents paramètres tels que l'eutrophisation (concentrations en nutriments), l'acidification, la saprobie, la salinité et le courant (**Rimet, 2012**). Les diatomées ont également la capacité d'accumuler des métaux lourds (**Duong et al., 2012**) et différentes substances toxiques présentes dans leur environnement qu'elles soient d'origines agricole (**Roubeix et al., 2012**), pharmaceutique ou industrielle (**Ali et Abd El-Salam, 1999**). Toutes ces qualités en font des intégrateurs privilégiés pour l'évaluation de la qualité de l'eau, ce que ne permettent pas les mesures physico-chimiques effectuées à un instant donné.

*Partie II*  
*Matériel et méthodes*

## I. Présentation de la région de Jijel

### I.1. Situation

La wilaya de Jijel est une wilaya côtière. Elle est située au nord-est de l'Algérie. Elle est limitée au nord par la mer Méditerranée à l'ouest par la wilaya de Béjaïa, à l'est par la wilaya de Skikda, au sud-ouest la wilaya de Sétif, au sud par la wilaya de Mila et enfin au sud-est par la wilaya de Constantine, Le territoire de la wilaya dont la superficie s'élève à 2.396 km<sup>2</sup>(ANRH, 2012).



**Figure 06:** Situation géographique de la Wilaya de Jijel (A), Stations de prélèvement d'échantillons d'eau au niveau de la retenue collinaire d'El-Ouana (B) (Source : Google Map).

## **I.2.Le climat**

La région de Jijel est considérée parmi les régions les plus pluvieuses d'Algérie. Elle est caractérisée par un climat méditerranéen, pluvieux et doux en hiver, chaud et sec en été. Les températures varient entre 20°C et 35°C en été à 06°C à 22°C en hiver. La saison des pluies dure environs 6 mois, la pluviométrie est de l'ordre de 1 200 mm/an. Les vents dominants soufflent généralement de la mer vers l'intérieur des terres.

## **I.3.Relief**

La Wilaya de Jijel est caractérisée par un relief montagneux. Bien que l'altitude moyenne soit de 600 à 1000, on distingue principalement deux régions physiques:

**I.3.1.les zones de plaines:** Situées au nord, le long de bande littorale allant des petites plaines de Jijel, les plaines d'El-Aouana, le bassin de Jijel, les vallées de Oued Kébir, Oued Boussiaba et les petites plaines de Oued Z'hor.

### **I.3.2.Les zones des montagnes:**

Faisant partie du grand ensemble du tell oriental algérien; la zone d'étude présente un relief montagneux très complexé dans sa structure et dans sa morphologie. Elle se distingue par un grand massif montagneux, par un ensemble collinaire et par des étendues de plaines côtières et de vallées ; l'essentiel du territoire de la wilaya (82%) et sont composées de deux groupes:

- ❖ Zones moyenne montagnes situées dans la partie littorale et centrale de la wilaya, caractérisée par une couverture végétale très abondante et un réseau hydrographique important.
- ❖ Zones des montagnes difficiles situées à la limite sud de la wilaya, elles comportent les plus hauts sommets de la wilaya dont les principaux sont: Tamasghida, Tababour, Bouazza et Seddat.

### **I.3.3.Pratiques agricoles et pédologie de la région d'étude**

De façon générale, la lithologie dans la région d'étude est propice à la formation de différents types de sols. Néanmoins, la plus grande part revient automatiquement aux sols brunifiés formés sur les formations de gneiss, flysch et grés, à cause bien sûr de leur importante surface.

Jijel fait partie des zones littorales qui, grâce à des conditions climatiques très favorables, sont occupées par les cultures maraîchères et plus particulièrement par la plasticulture. Au niveau de la zone agroécologique objet de notre échantillonnage, toutes les cultures maraîchères sont pratiquées (plein champ et sous serre). Le système de production est généralement intensif, l'assolement est triennal, quadriennal et parfois quinquennal. L'utilisation des pesticides et des engrais est relativement importante pour les cultures menées sous serre. De façon générale les cultures pratiquées nécessitent des apports en eau par irrigation à partir de la retenue collinaire.

#### **I.4. Présentation des sites d'échantillonnage (El-Ouana)**

La retenue collinaire d'El-Ouana est située à l'Ouest de la ville de Jijel (voir figure 06), elle est entourée par une ceinture de végétation hydrophytique, représentée particulièrement par le Typha et les Phragmites. C'est une retenue des eaux de surface réalisée à des fins d'irrigation pour les exploitations limitrophes. Elle se trouve à l'abri de la pollution urbaine, les indices d'eutrophisation n'apparaissent pas à l'évidence.

## **II. Matériel**

### **II.1. Choix des diatomées**

Dans notre travail on a choisi les diatomées benthiques, qui sont des micro-algues unicellulaires eucaryotes appartenant à l'embranchement des Chromophytes (algues brunes); ces organisme plus importants car ils sont autotrophes représente premier maillon de la chaine trophique aquatiques. En outre, ils ont la faculté de coloniser tous les écosystèmes aqueux (lac, rivières, océans, etc). Ces organismes sont utilisés comme des bio-indicateurs pour l'évaluation de la qualité des milieux aquatiques. De plus de par leur forte homologie avec les végétaux directement ciblés par les herbicides, ces producteurs primaires aquatiques sont particulièrement exposés à la toxicité de ces polluants.

### **II.2. Choix de l'herbicide (produit chimique)**

Le choix de l'étude a porté sur: Le Glyphosate, est un herbicide non sélectif très recommandé par les coopératives agricoles. C'est un désherbant foliaire à action systémique dont le nom chimique est N-(phosphonométhyl) glycine, de formule  $C_3H_8NO_5P$ . C'est un acide organique faible, analogue d'un acide aminé naturel (la glycine), il est doté d'un groupement Phosphonate. Pour accroître sa solubilité et son passage dans la plante et la sève, les industriels le préparent souvent sous forme de sel d'isopropylamine ( $C_6H_{17}N_2O_5P$ ). Le Glyphosate est principalement dégradé dans les sols, un peu plus rapidement que dans l'eau des rivières et des lacs, s'il est transporté dans ces milieux par les eaux de ruissellement, il constitue donc une véritable menace du phytoplancton y compris les diatomées (premier maillon de la chaine trophique de ces milieux).

### **II.3. Matériels utilisés**

Nous avons utilisé pour les prélèvements et le déroulement de l'essai au laboratoire le matériel suivant: lompe blanche, les béciers, les Erlenmeyers de 250 ml, Récipient, Brosse, Microscope optique, Microscope à caméra, Cellule Malassez, Agitateurs, ...etc.

## **III. Méthode de prélèvement des échantillons**

### **III.1. Campagnes de prélèvement**

Le choix des périodes de prélèvement est le premier élément crucial dans l'analyse des communautés naturelles de diatomées. La variabilité de leur densité de population durant l'année



peut rendre difficile l'interprétation des données collectées. L'échantillonnage a été effectué en deux campagnes au niveau du même site El-Ouana (24/04/ 2016 et le 21/05/2016).

### III.2. Choix des stations d'échantillonnage

Les stations d'échantillonnage doivent être à une distance suffisante de la berge pour s'affranchir des contaminations par les algues périphytiques et par les efflorescences accumulées sur les berges par les vents. L'échantillonnage des diatomées à partir du site d'étude choisi s'est déroulé selon les étapes suivantes :

Nous prélevons un des objets (galet, plastiques, bois,..) immergés dans l'eau et présentant une belle couverture par le biofilm généralement d'une couleur brune et contenant majoritairement les diatomées, il faut noter que les conditions climatiques de température et de luminosité, jouent un rôle important dans la richesse des échantillons en diatomées.

A l'aide d'une brosse, on fait un grattage du biofilm à la surface du substrat ou de l'objet choisi et on lave avec de l'eau qu'on récupère dans un récipient, On verse le tout dans une bouteille en plastique ; l'échantillon est ensuite transporté au laboratoire et conservé au frigo à basse température.

### III.3. Déroulement de l'essai

L'étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire d'écotoxicologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie (université-jijel), sous conditions contrôlées en microcosmes.

Ce test toxicologique a pour objectif d'évaluer l'effet du Glyphosate sur la microflore aquatique cas d'une communauté naturelle de diatomées issues d'un écosystème lentique (la retenue collinaire d'El-Ouana).

### III.4. Préparation des différentes concentrations pour le test toxicologique

Après prélèvement de l'échantillon (méthodes déjà citée ci-dessus), on a réalisé des préparations :

**III.4.1. Préparation des dilutions :** On utilise des béchers, bien ouverts pour assurer l'aération et l'éclairage suffisant du mélange. (Voir figure07).

-Témoin : Dans un bécher de 1l, on met 1000 ml d'échantillon d'eau contenant les diatomées sans herbicide. Les autres béchers contiennent les diatomées dans les eaux de l'échantillon avec le Glyphosate de différentes dilutions préparées selon la méthode suivante :

-La dilution (1/5) : 4 ml de l'échantillon d'eau + 1 ml du Glyphosate.

-La dilution (1/10) : 9 ml de l'échantillon d'eau + 1 ml du Glyphosate.

-La dilution (1 /50) : 49ml l'échantillon d'eau + 1 ml du Glyphosate.

-La dilution (1/100) : 99 ml de l'échantillon d'eau + 1 ml du Glyphosate.

La dilution (1/1000) : 999 ml de l'échantillon d'eau +1 ml du Glyphosate.



**Figure07** : Photo des différentes dilutions préparées dans des béchers pour incubation au niveau du laboratoire de biologie.

#### **III.4.2. Incubation :**

L'incubation de ces microcosmes se fait pendant une semaine à la température ambiante du laboratoire avec un agitateur magnétique continue pour assurer un bon contact herbicide/diatomées et une bonne oxygénation du milieu. Aussi, L'éclairage, d'intensité constante (environ 4000 lux) a été assurée par une lampe néons serpentin délivrant une lumière blanche couvrant l'ensemble contenu de l'essai. L'incubation a duré 96h, la lecture se fait chaque 24h et le pH du milieu a été ajusté au voisinage de la neutralité.

#### **III.4.3. Technique de dénombrement des diatomées**

Chaque 24h on effectue une lecture avec l'hématimètre de Malassez qui nous donne une numération directe sous microscope optique. Il s'agit d'une lame spéciale, quadrillée, qui permet de dénombrer dans un volume précis et connu, tous les éléments visibles à l'objectif 40 du microscope photonique.

#### **III.4.4. Méthode de dosage des nutriments**

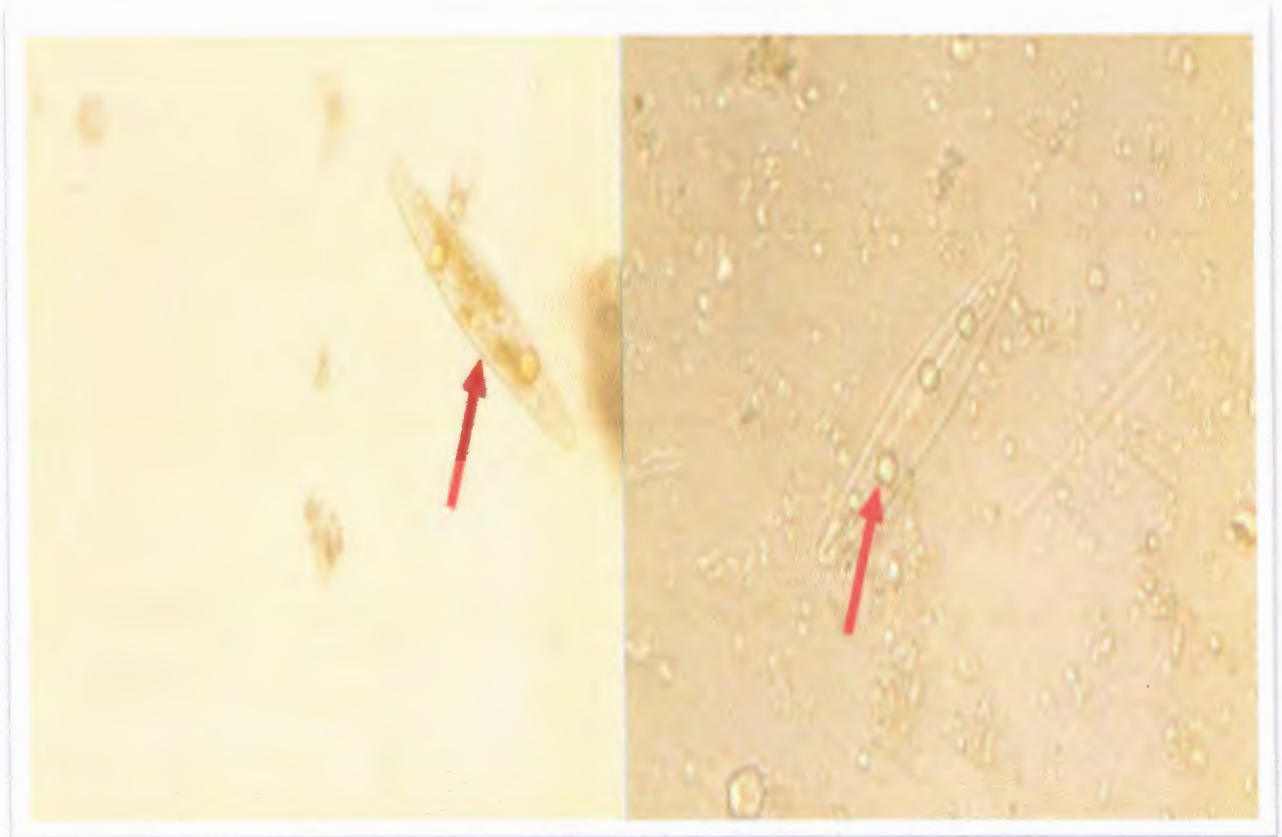
On a adopté la méthode (ISO N°7150) pour l'ammonium et la méthode Rodier 2005, pour les autres éléments nutritifs dont le principe est le suivant :

Mesure spectrométrique du composé coloré formé par réaction de l'ammonium avec les ion salicylate et hypochlorite en présence de nitroprussiate de sodium qui forme un complexe vert dont l'absorbance est proportionnelle à la concentration d'azote ammoniacal vert 655nm, pour l'étalonnage et le dosage (voir annexe 2 pour plus de détaille).

## IV. Résultats

### IV.1. L'observation microscopique

L'observation microscopique se fait chaque 24 heures par un microscope photonique (marque Olympus) avec grossissement (40x10) afin de faire un comptage des cellules de diatomées en utilisant la cellule « Malassez » pour le dénombrement. On a fait quatre répétitions pour chaque dilution, puis on détermine la moyenne. Ainsi que, le pH a été mesuré chaque jour dans toutes les dilutions, quand il y'a un changement on fait son ajustement à la neutralité. L'observation microscopique nous a permis d'enregistrer la prédominance des diatomées pennées (Figure 08).



**Figure 08:** Images des diatomées pennées prises sous microscope à caméra (Grossissement 40x10).

### IV.2. Analyse statistique

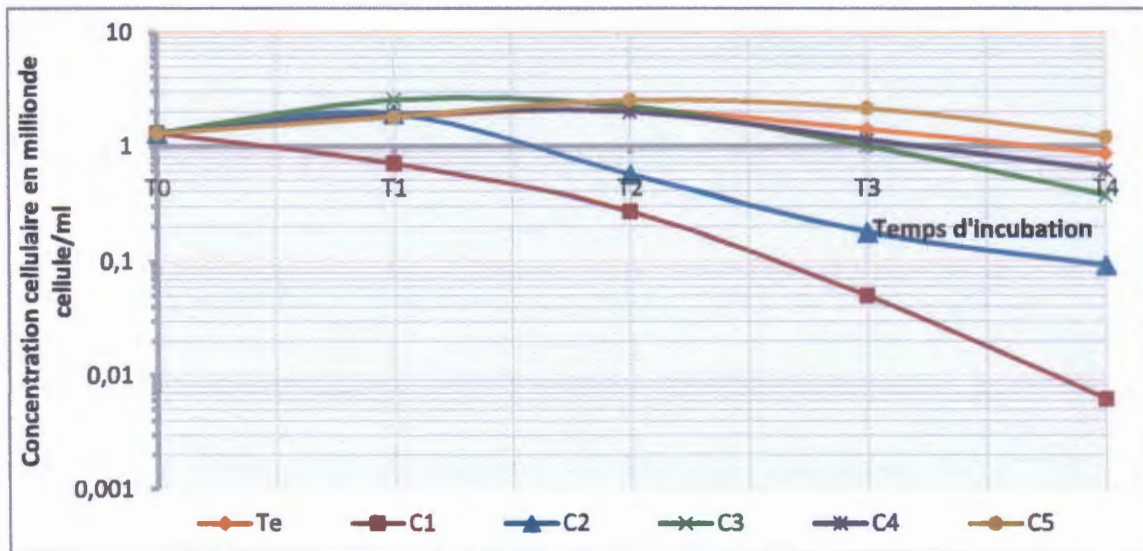
Pour l'analyse statistique, on a appliqué l'ANOVA à plusieurs facteurs, pour voir s'il y'a un effet des différentes concentrations de l'herbicide Glyphosate sur la croissance cellulaire des diatomées en fonction de la durée d'incubation. Le logiciel utilisé est *Statistica version 10*.

### IV.3. Effet des différentes dilutions de Glyphosate sur la croissance des diatomées

#### IV.3.1. Première campagne d'échantillonnage

La variation de la croissance des diatomées pendant la durée d'incubation et en fonction des différentes dilutions de l'herbicide Glyphosate est représentée par des courbes de variation. On a choisi l'échelle Logarithmique pour donner une bonne représentation des différents points de

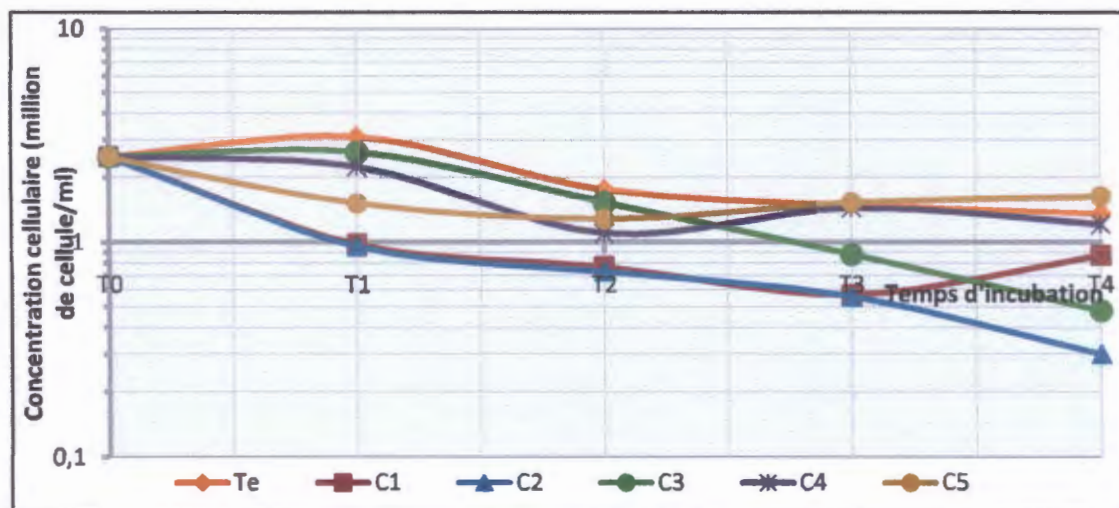
lecture car les chiffres sont en millions de cellules /ml. La (figure 09) nous donne les résultats de lecture de la première campagne d'échantillonnage (les chiffres sont dans le tableau de l'annexe 1).



**Figure 09 :** Variation de la concentration cellulaire des diatomées pennées en fonction du temps pour les différentes dilutions de Glyphosate.

#### IV.3.2. Deuxième campagne d'échantillonnage

Pour la deuxième campagne les résultats de lecture de la croissance cellulaire sont représentés par la (figure10) (les chiffres sont dans le tableau de l'annexe 1) on remarque que les courbes de croissance cellulaire pour les deux campagnes ne suivent pas la même allure, surtout pour la dilution C1 et C2 ; ce qui peut être expliqué par une différence dans le cortège spécifique et par conséquent une différence de sensibilité vis-à-vis les concentrations de l'herbicide.

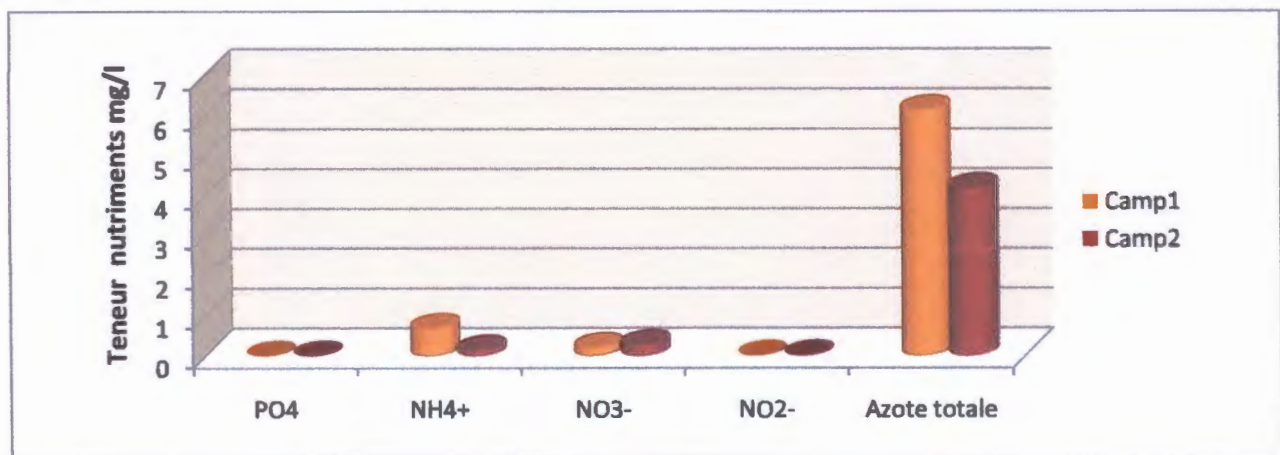


**Figure 10:** Effet des différentes concentrations de Glyphosate sur la croissance des diatomées pennées (2<sup>ème</sup> campagne d'échantillonnage).

De manière générale le test de toxicité des eaux campagnes d'échantillonnage nous donne des résultats proches ; la densité des diatomées dans les échantillons de la première campagne est beaucoup plus forte que dans les échantillons de la deuxième campagne.

#### IV.3.3. Dosage des nutriments

Lors de chaque prélèvement un dosage des éléments nutritifs est effectué afin de suivre l'évolution temporelle et de caractériser l'ambiance trophique à laquelle les diatomées ont été exposées ; en outre la pollution due aux fertilisants agricoles est, en effet, connue pour influencer sur la réponse des algues aux pesticides (Navarro *et al.*, 2002). Les concentrations en azote total (N Kjeldahl), en ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), en nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ) en nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) et en orthophosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) dans les échantillons des deux campagnes de prélèvement ( les chiffres sont dans le tableau de l'annexe2 ) sont représentés par les histogrammes de la (figure 11).



**Figure 11 :** Représentation graphique des teneurs en éléments nutritifs des échantillons des deux campagnes de prélèvement.

#### V. Discussion

Les résultats de l'analyse statistique nous permettent de tirer la conclusion suivante :

Il ya un effet hautement significatif,  $P < 0.04$  de tous les facteurs : Temps, Dose, Campagne sur la variation de la concentration cellulaire.

- Le facteur le plus significatif est le facteur temps ( $P=0.000001$ ) ce qui nous permet de dire que la durée d'exposition des diatomées aux toxiques joue un rôle important dans l'inhibition de la croissance cellulaire.
- La dose vient en deuxième position ( $P =0.000071$ ), plus la dose du Glyphosate est importante plus l'inhibition est importante.
- Puis il vient troisième facteur qui les campagnes d'échantillonnage avec un degré de signification plus ou moins faible ( $p=0.0198$ ) par rapport aux deux premiers facteurs.

Les courbes de croissance des diatomées benthiques, soumises à divers taux de contamination au Glyphosate (figures 9 et 10) ont la même allure que celles obtenues par Boukhemila, 2015. On remarque que les cultures exposées à des faibles concentrations du Glyphosate (i.e. fortes dilutions : C3, C4, C5), affichent un taux de croissance moyen similaire voire supérieur à celui du témoin. Pour se rendre compte de cette stimulation de croissance des diatomées observée en présence de faibles concentrations de contaminants, on peut invoquer un **phénomène d'hormèse** qui désigne une réponse de stimulation des défenses biologiques généralement favorable, à des expositions de faibles doses de toxines ou d'autres agents générateurs de stress. À cause de ce mécanisme, un agent polluant ou toxique peut avoir un effet opposé lorsque le stress imposé est relativement faible (Stebbing, 1998). D'autre part Certains auteurs suggèrent aussi que le biofilm, peut métaboliser certains herbicides et s'en servir comme source d'azote (Okay et al, 1996; Peres et al, 1996), ce phénomène est observé pour les faibles concentrations de nos essais (C5).

Par ailleurs ; le développement des communautés des diatomées benthiques est largement dépendant des conditions hydrauliques (Gustavson et Mohlenberg, 2003). Les crues sont à ce titre des épisodes hydrauliques très intéressants. Elles abrasent une partie des communautés de diatomées, sélectionnant par la même les espèces. L'effet abrasif de courants élevés contribue à limiter le développement des communautés et du biofilm, et à sélectionner les espèces les plus rhéophiles (i.e. les espèces ayant un grand pouvoir de s'accrocher au substrat). 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, ce qui peut nous donner une explication de la différence de sensibilité des diatomées des deux campagnes d'échantillonnage aux mêmes doses de l'herbicide car le premier échantillonnage était très proche des crues printanières. D'autre part ; la composition en espèces influence aussi la réponse des communautés à une exposition aux toxiques. En effet ; les interactions entre certains organismes benthophages et les communautés des diatomées benthiques peuvent avoir un impact sur la nocivité des pesticides vis à vis de ces micro-algues. En outre l'exposition lumineuse, les niveaux de trophie interfèrent, aussi, dans la réponse des algues aux pesticides. (Debenest, 2007) de sa part souligne que les concentrations en nutriments influent sur l'état physiologique des algues, qui s'avère optimal dans des milieux eutrophes. Or la réponse des organismes aux toxiques est largement dépendante de leur état physiologique.

Sur le plan trophique nous avons cherché, dans un premier temps, à caractériser du point de vue des pollutions d'origine agricole l'état des écosystèmes aquatiques dans lesquels se sont développées les communautés des diatomées benthiques qui ont fait l'objet de nos essais. Comme le souligne l'histogramme de la (figure11 et les chiffres des tableaux de l'annexe2) la qualité

trophique des eaux montre une différence entre les deux campagnes de prélèvements, les eaux du premier échantillonnage sont relativement riches que celles du deuxième échantillonnage, ce résultat nous donne un élément d'explication de la différence en densité cellulaire enregistrée entre les deux prélèvements. La contamination du plan d'eau par des pollutions d'origine agricole est une autre hypothèse envisageable pour interpréter cette faible densité en diatomées pour le deuxième prélèvement.

En terme d'état de la pollution par des éléments trophiques sur notre zone d'étude on peut dire que ce problème n'est pas posé à l'heure actuelle et ce par rapport aux teneurs enregistrées particulièrement celles des nitrates ; car les nitrates sont majoritairement responsable de la dégradation de la qualité trophique des eaux, c'est un milieu mésotrophe.

Il est important de signaler que la pollution des cours d'eau par les pesticides semble intervenir principalement après des épisodes pluvieux importants au cours des crues. Les prélèvements ponctuels ne permettent donc pas d'estimer finement les flux réels des pesticides dans le milieu. En effet la pollution par les pesticides apparaît beaucoup plus dépendante des variations des régimes hydrauliques.

# *Conclusion*



## Conclusion

Comprendre la sensibilité des espèces face à la contamination des milieux constitue un jeu complexe entre la toxicologie, la biologie et l'écologie des espèces.

Les tests toxicologiques réalisés au laboratoire nous amènent à conclure que pour les fortes concentrations (C1 et C2) de l'herbicide « Glyphoste » il y'a une diminution de croissance des diatomées. Par contre pour les faibles concentrations de l'herbicide (C4 et C5); la croissance des diatomées est relativement semblable à celle de l'essai témoin voire supérieur. Ce qui nous permis de dire qu'éventuellement c'est la dégradation du Glyphosate dans le milieu après le deuxième jour d'incubation qui <sup>a</sup> pu fournir une source d'éléments nutritif utilisable par les populations des algues.

En terme d'état de la pollution par des éléments trophiques de notre milieu on peut déduire que ce problème n'est pas posé à l'heure actuelle il s'agit d'un milieu mésotrophe, et ce par rapport aux teneurs enregistrées particulièrement celles des nitrates; car ces derniers sont dans la majorité des cas responsable de la dégradation de la qualité trophique des eaux et leur eutrophisation.

Par ailleurs; il est important de noter que la réponse des diatomées, aux pesticides n'est pas toujours uniforme. En effet, de nombreux paramètres peuvent interférer dans le degré de réaction de ces micro-organismes, voire même masquer leurs réponses vis-à-vis des pesticides. En d'autre terme, il nous semble qu'il y'a des interférences au sein des communautés algales, et le comportement des diatomées qui peuvent affecter la réponse de ces micro-algues aux pesticides. De même la compétition et les relations d'interdépendance entre les différentes espèces influent largement sur la réponse aux différentes doses.

D'autre part, la pollution par les pesticides des milieux aquatiques naturels est caractérisée par un grand nombre de molécules (substances actives mères, métabolites, substances connexes comme les adjuvants présents dans les formulations commerciales) 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. Donc dans le milieu naturel, les diatomées peuvent être exposées à un très grand nombre de substances actives.

Ce travail offre des perspectives de recherche particulièrement intéressantes dans le développement d'outils s'appuyant sur ce type d'altérations pour détecter et estimer l'intensité des pollutions par les pesticides dans les milieux lotiques et lentiques.

## *Références Bibliographiques*

## Références bibliographiques

### A

- **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.
- **Acs E., Szabo K., 2004.** Investigation of benthic algal communities, especially diatoms of some hungarian streams in connection with reference conditions of the water framework directives. *Acta Botanica Hungarica*, 46(3-4): 255-277.
- **Ali G.H., Abd El-Salam N.F., 1999.** Factor controlling bioindicator for industrial pollution detection, P194-2000.
- **ANRH., 2012.** Agence Nationale des Ressources Hydriques de la wilaya de jijel.
- **Arias-Esévez M., Lopez-Periago E., Martinez-Carballo E., Merut J. et Garcia-Rio L., 2008.** The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of ground water resources. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 123: 247-260.
- **Ayoola S.O., 2008.** Toxicity of glyphosate herbicide on Ni le tilapia (*Orochromis niloticus*) juvenile. *African Journal of agricultural research*, 3 (12): 825-834.

### B

- **Baars J.W.M., 1983.** Auto -ecological investigations on freshwater diatoms. 1. Generation times of som species. *Arch. Hydrobiol. Suppl*, 67(1): 11-18.
- **Barriuso E., Calvet R., Schiavon M., Soulas G., 1996.** Les pesticides et les polluants organiques des sols. Transformations et dissipation. *Etude Gestion Sols*, 3: 279- 296.
- **Baudry O., Barralis G., Bizot C., et Barnaud C., 2001.** Désherbage des arbres fruitiers. Edition Ctifl, Paris, p 28-29.
- **Baylis A., 2000.** Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses and prospects, *Journal of Pest Management Science*, 56: p 302.
- **Benachour N., et Séralini G-E., 2009.** Glyphosate formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic, and placenta! cells. *Chemical Research in Toxicology*, 22: 97-105.
- **Berard A.,et Pelte T.,1996.** Effets de l'atrazine sur l'évolution des peuplements phytoplanctoniques lacustres- étude en enceintes expérimentales in situ. *Ecologie*, 27(4): 195-201.

- **Berard A., et Pelte T., 1999.** Les herbicides inhibiteurs du photo-système II, effet sur les communautés algales et leur dynamique. *Revue des sciences de l'eau, Cedex, France*, p 333-361.
- **Berard A., Dorigo U., Mercier I., Becker-van Slooten K., Grandjean D., Leboulanger C., 2003.** Comparison of the ecotoxicological impact of the triazines Irgarol 1051 and atrazine on micro algal cultures and natural micro algal communities in Lake Geneva. *Chemosphere* 53(8):935-944.
- **Berard. A. F., Rimet Y., Capowicz C., Leboulanger., 2004.** Procdures for dctermining the pesticide sensitivity of indigenou soil algae: A possible bioindicator of soil contamination? *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 46(1): 24-31.
- **Bertonnier L .,Bonansea V. ,Bonnet F., Duran R.C ., 2012 .** Etude du glyphosate (Roundup), Rapport Janvier .

**Biggs B.J.F., 1996.** Patterns in benthic algae of streams. In: *Algal ecology of freshwater benthic ecosystems*, Aquatic Ecology Series, Stevenson, R.J., Bothwell, M.L., Lowe,R.L., (Eds.), Academic Press, Boston, pp. 31-56.

- **Biggs B. J. F., et Goring D. G., 1998.** Subsidy and stress responses of stream periphyton to gradients in water velocity as a function of community growth form. *J. Phycol*, 34: 598-607.
- **Bigler C., et Grahn E., 2003.** Holocenc environmental change at Lake Njulla (999 m a.s.l.), northern Sweden: a comparison with four small nearby lakes along an altitudinal gradient. *Paleolimnol J*, 29: 13-29.

## C

- **Calvet R., Barriuso E., Benoit P., Charnay M.P., Coquet Y., 2005.** Devenir des pesticides dans les sols: conséquences agronomiques et environnementales.
- **Carder J. P., et Hoagland K. D., 1998.** Combined effects of alachlor and atrazine on benthic algal communities in artificial streams. *Environmental Toxicology and Chemistry* ,17(7): 1415-1420.
- **Caroline G., 2002.** Etude des effets de la pollution métallique (Cd/Zn) sur la structure des communautés de diatomées périphytiques des cours d'eau .Approches expérimentales in situ et en laboratoire .Thèse doctorat. Ecotoxicologie , l'universite bordeaux, 1 :p175.
- **Casotti R., Mazza S., Brunet C., Vantrepotte V., Ianora A., Miralto A., 2005.** Growth inhibition and toxicity of the diatom aldehyde 2-trans, 4-trans-decadienal on the *Thalassiosira weissflogii* (*Baccillariophyceae*). *Journal of Phycology*, 41(1): 7-20.
- **Charbonneaux A., 1993.** Synthèse bibliographique des principales familles de pesticides, p88.

- **Charles D.F., et Smol J.P., 1994.** Long-term chemical changes in lakes –Quantitative inferences from biotic remains in the sediment record. - In: *Environmental Chemistry of La and Reservoirs*. Amer Chemical Soc, 3-31.
- **Cirad-Ca Gec Amatrop., 2000 .** Les herbicides, Document obtenu sur le site Cirad du réseau [http: agroecologie.cirad.fr](http://agroecologie.cirad.fr), p 4.
- **Coombs J., Lauritis J. A., Darley W. M. Volcani B. E., 1968.** Studies on the Biochemistry and Fine Structure of Silica Shell Formation in Diatoms.Z. Pflanzenphysiol. Bd, 59: 274-284.
- **Coss R. A., et Pickett-Heaps J., 1974.** The effects of isopropyl N-Phenyl Carbamate on the green alga *Oedogonium cardiacul*, I. Cell division. *Journal of Cell Biology*, 63: 84-98.
- **Coulibaly H., 2005.** Le SCV (Semis direct sous Couverture Végétale), un élément stratégique de gestion durable des terres agricoles: une expérience française comme base de réflexion pour le Mali. Mémoire (DEPA. France). Chapitre 2 (p13-20).
- **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, p 199.

## D

- Debenest T., 2007.** Caractérisation de l'impact des pollutions agricoles sur les diatomées benthiques. Thèse de doctorat, université Bordeaux, p268.
- **Delabays N., et Bohren C., 2007.** Le glyphosate : bilan de la situation mondiale et analyse de quelques conséquences malherbologiques pour la Suisse. *Revue suisse de viticulture arboriculture horticulture, Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW, Nyon*, Vol. 39 : p 333-340.
- **De Noyelles F., Kettle W. D., Sinn D. E., 1982.** the responses of plankton communities in experimental ponds to atrazine, the most heavily used pesticide in the united states. *Ecology*, 63(5): 1285-1293.
- **Devault D., 2007.** Approche spatio-temporelle de la contamination par les herbicides de prélevée du biotope de la Garonne Moyenne. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, 208 p.
- **Dewick P.M., 1998.** The biosynthesis of shikimate metabolites. *Natural product reports*, 1173-20.

- **Dion S., 2007.** Guide de clœ; sement des ingrédients actifs par groupes chimiques. Québec, ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, ISBN 978-2-550-50750 - 5.
- **Doliner L.H., 1991.** Emploi avant récolte du glyphosate (Roundup), Document de travail, Agriculture Canada, Direction des pesticides, p 107.
- **Dorigo U., et Leboulanger C., 2001.** A pulse-amplitude modulated fluorescence-based method for assessing the effects of photosystem II herbicides on freshwater periphyton. *Journal of Applied Phycology*, (6): 509-515.
- **Dorigo U., Bourrain A., Berard., Leboulanger C., 2004.** Seasonal changes in the sensitivity of river microalgae to atrazine and isoproturon along a contamination gradient. *Science of the Total Environment*, 318, (1-3): 101-114.
- Duke E. L., et Reimann B. E. F., 1977.**The Ultra structure of the diatom cell. The biology of diatoms. In: Werner D. (Eds.), Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 13-45.
- **Duong T.T.,Coste M.,Feurtet-Mazel A., Dang Dk.,2012.** Responses and structural recovery of periphytic diatom communities after short-term disturbance in some river (Hanoi,vietnam).*journal of Applied Phycology*, 24 :1053-1065.10.1007/s10811-011-9733-9.

## E

- **Edgar L. A., et Pickett-Heaps J., 1984.** Valve morphogenesis in the pennate diatom *Navicula cuspidata*. *J Phycol*, 20: 47-61.

## F

- **Fdil F., Aaron J., et Oturan N., 2003.** Dégradation photochimique des herbicides chlorophénoxy alcanoïques en milieux aqueux. *Revue des sciences de l'eau*, Vol. 16, N°1p 123-142.
- **Fortier J.C., et Messier C., 2005.** *Revue en science de l'environnement Vertigo*. Vol 6 n°2 (Canada).
- **Fournier J., 1988.** *Chimie des pesticides*. Ed: Cultures et Techniques, pp 351.

## G

- **Gama A., Yann D., et Henri F., 2006.** Utilisation des herbicides en foret et gestion durable, Ministère de l'Agriculture et de la pêche, Département de la santé des forets et de l'Office national des forets (ONF), Edition Quae, p31-47.

- **Gasnier C., Dumont C., Benachour N., Clair, E., Chagnon M., Séralini G-E., 2009.** Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. *Toxicology*, 262 : 184-191.
- **Gatignol C., et Étienne J.C., 2010.** Pesticide et santé. Rapport d'Office Par le mentaire D'évaluation des choix scientifiques et Technologiques, p262.
- **Gauvrit C., 1996.** Efficacité et sélectivité des herbicides. Institut National de la Recherche Agronomique, Editions Quae, 3<sup>ème</sup> édition, Paris Cedex 07, p1-10.
- Ghosh M., et GaurJ.P., 1998 .**Current velocity and the establishment of stream algal periphyton communities. *Aquatic Botany*, 60(1):1-10.
- **Giesy J.P., Dobson S., Solomon K.R., 2000.** Ecotoxicological assessment for Roundup® Herbicide. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 165:35-120.
- **Gimsing A. I., Borggaard O., Sestoft P., 2004.** Modeling the kinetics of the competitive adsorption and desorption of glyphosate and phosphate on goethite and gibbsite and in soils. *Journal of Environmental Science and Technology*, p 718-722.
- **Goldsborough L. G., Robinson G. G. C., 1986.** Changes in periphytic algal community structure as a consequence of short herbicide exposures. *Hydrobiologia*, (139): 177-192.
- **Gorse I., et Rivard L., 2011.** Bilan des ventes de pesticides au Québec pour l'année 2008. Québec, ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, ISBN 978-2-550-61586-6.
- **Guasch, H., Munoz I., Roses N., Sabater S., 1997.**Changes in atrazine toxicity throughout succession of stream periphyton communities. *Journal of Applied Phycology*, 9(2): 137-146.
- Gustavson K., Mohlenberg F., 2003.** Effects of Exposure Duration of Herbicides on Natural Stream Periphyton Communities and Recovery. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 45(1):0048-0058.

## H

- **Heddadj Dj., Bouvier D., 2012.** Peut-on se passer de glyphosate ? Techniques culturales sans labour, Chambre d'Agriculture de Bretagne, p 34-36.
- **Hellawell J.M., 1978.** Biological surveillance of rivers: a biological monitoring handbook. – Water Research Centre, Hertz, 332.

- **Hoagland K. D., Drenner R. W., Smith J. D., Cross D. R. , 1993.** Fresh-Water Community Responses to Mixtures of Agricultural Pesticides -Effects of Atrazine and Bifenthrin. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12(4): 627-637.

- **Hugh B., et Tardif F.J., 2012.** Herbicide cross résistance in weeds. *Crop Protection*, 35,15-28. In : Imtiaz I., 2013. Etude de l'applicabilité des échantillonneurs passifs POCIS et Chem cat cher pour le suivi des pesticides en milieux aquatiques. Thèse doctorat. Sciences et génie de l'environnement, école nationale supérieur des mines de Saint-Etienne, p284.

### I

- **Ibanez M., Pozo O., Sancho J., Lopez E., et Hernandez F., 2005.** Residue determination of glyphosate, glyphosinate and aminomethylphosphonicacid in water and soil samples by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography*, p 146.

- **Ivorra N., Bremer S., Guasch H., Kraak M.H.S., Admiraal W., 2000.** Differences in the sensitivity of benthic microalgae to Zn and Cd regarding biofilm development and exposure history. *Environ. Toxic. Chem.* 19 (5): 1332-1339).

### J

- **John J., 1998.** Evaluation of attached diatoms as a tool for riverine bio-assessment of water quality - Lwrrdc, 175.

- **Johnson R.E., Tuchman N.C., Peterson C.G., 1997.** Changes in the vertical micro distribution of diatoms within a developing periphyton mat. *J. N. Am. Benthol. Soc*, 16(3): 503-519.

- **Jurgensen T. A., et Hoagland K. D., 1990.** Effects of short term pulses of atrazine on attached algal communities in a small stream. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 19: 617-623.

### K

- **Kasai F., et Hanazato T., 1995.** Effects of the triazine herbicide, simetryn, on freshwater plankton communities in experimental ponds. *Environmental Pollution* , 89(2): 197-202.

- **Kawecka B., 1986.** The effect of light deficiency on communities of sessile algae in the Olczyski stream (Tatra Mts, Poland). *Acta Hydrobiol*, 28: 379-386.

- **Kelly M. G., 2003.** Short term dynamics of diatoms in an upland stream and implications for monitoring eutrophication. *Environmental Pollution*, 125: 117 - 122.



- **Kolpin D., Thurman M., Lee E., Meyer M., Furlong E. et Glassmeyer S., 2005.** Urban contributions of glyphosate and its degradate AMPA to streams in the United States, *Journal of Science of the Total Environment*, Vol. 354, p 191– 193.
- **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.
- **Krammer K., et Lange-Bertalot H., 1986.** Sübwasserflora von Mitteleuropa. Band 2 .In : Gerloff H., Heynig., Mollenhau H., Bacillariophyceae. Teil 1. Naviculaceae.
- **Krieger K. A., Baker D. B., Kramer J. W., 1988.** Effects of herbicides on stream Aufwuchs productivity and nutrient uptake. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 17: 299-306.

## L

- **Lagadic L., Caquet T., Amiard J. C., Ramade F., 1998.** Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. Paris, Tec et Doc.
- **Langlois C., 2006.** fiche Diatomées. Université. Paris. Diderot, Paris.
- **Leboulanger C., Rimet F., Lacotte M. H., and Berard A., 2001.** Effects of atrazine and nicosulfuron on freshwater microalgae. *Environment International*, 26(3): 131-135.
- **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.
- **Lin J.H., Kao W.C., Tsai K.P., Chen C.Y., 2005.** A novel algal toxicity testing technique for assessing the toxicity of both metallic and organic toxicants. *Water Research*, 39(9): 1869-1877.
- **Lock M.A., Wallace R.R., Costerton J.W., Ventullo R.M., Charlton S.E., 1984.** River epilithon: toward a structural-functional model. *Oikos*, 42: 10-22).
- **Lotter A. F., et Birks H. J. B., 1997.** Modern diatom, cladocera, chironomid, and chrysophyte cyst assemblages as quantitative indicators for the reconstruction of past environmental conditions in the Alps. *Climate I. Paleolimnol J*, 18: 395-420.
- **Luttenton M.R., et Rada R.G., 1986.** Effects of disturbance on epiphytic community architecture. *J. Phycol*, 22: 320-326.

## M

- **Marc J., Mulner-Lorillon O., et Bellé R., 2004.** Glyphosate-based pesticides affect cell cycle regulation. *Biology of the Cell*, 96,245-249.
- **Marzabadi M.R., Gruys K.J., Pansegrau P.O., Walker M.C., Yuen, H.K., et Sikorski J.A., 1996.** An EPSP synthase inhibitor joining shikimate 3-phosphate with glyphosate: synthesis and ligand binding studies. *Biochemistry*, 35: 4199-4210.
- **Modesto K.A., et Martinez C.B.B., 2010.** Roundup® causes oxidative stress in liver and inhibits acetylcholinesterase in muscle and brain of the fish *Prochilodus lineatus*. *Chemosphere*, 78: 294-299.
- **Müller U., 1999.** The vertical zonation of adpressed diatoms and other epiphytic algae on *Phragmites australis*. *Eur. Phycol J*, 34: 487-496.

## N

- **Navarro E., Guasch H., Sabater S., 2002.** Use of microbenthic algal communities in ecotoxicological tests for the assessment of waterquality: the Ter river case study. *Journal of Applied Phycology*, 14(1): 41-48.

## O

- Okay O. S., et Gaines A., 1996.** Toxicity of 2,4-D acid to phytoplankton. *Water Research* 30(3): 688-696.

## P

- **Patrick R., 1971.** The effects of increasing light and temperature on the structure of diatom communities. *Limnol. Oceanogr*, 16: 405-421.
- **Patrick., 1977.** Chapter 10: Ecology of fresh water diatoms and diatom communities. - In: Werner D. (ed.) *The Biology of Diatoms*. Bot. Monogr.13. Blackwell Publ., 284-332.
- **Peres F., Florin T., Grollier A., FeurtetMazel M., Coste F., Ribeyre ., Ricard M., Boudou A.,1996.** Effects of the phenylurea herbicide isoproturon on periphytic diatom communities in freshwater indoor microcosms. *Environmental Pollution*, 94(2): 141-152.
- **Pipe A., 1984.** Influence of Five Phenylurea Herbicides on the Diatom *Hantzschia* in a Sandy Loam Soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, (33): 439-443.
- **Pousset J., 2003.** Agriculture sans herbicides (principe et methodes). Edition Agri décisions groupe France Agricole, 1<sup>ère</sup> édition, Paris Cedex, p120-124.
- **Prygiel J., et Coste M., 2000.** Guide méthodologique pour la mise en oeuvre de l'Indice Biologique Diatomées, NF T90-354.

- **Puiseux-Dao S., 1989.** phytoplankton model in ecotoxicology. Aquatic ecotoxicology: fundamental concepts and methodologies. In: boudou A .and f. ribeyre (eds.), crc press, boca raton (florida), ii.

### Q

- **Quéguiner B., 2007.** Structure et Fonctionnement des Ecosystèmes Pélagiques Marins. Retrieved, 12/07, 2007).

### R

- **Regnault-Roger C., Philogène B.J.R et Vincent Ch., 2005.** Biopesticides d'origine végétale. Editions Tec et Doc, Lavoisier, Paris, p 465.

- **Rimet F., 2012.** Recent views on river pollution and diatoms. hydrobiologia 683:1-24.

- **Roemer S.C., et Hoagland K.D., Rosowski J.R., 1984.** Development of a freshwater periphyton community as influenced by diatom mucilages. Can. Bot J. 62: 1799-1813.

- **Rosemond A.D., Mulholland P.J., Brawley S.H., 2000.** Seasonally shifting limitation of stream periphyton: response of algal populations and assemblage biomass and productivity to variation in light, nutrients and herbivores. Canadian Journal Fisheries Aquatic Sciences, 57: 66-75.

- **Round F.E., 1981.** The Ecology of Algae. Cambridge University Press, Cambridge.

- **Round F.E., Crawford R.M., Mann D.G., 1990.** The Diatoms: biology and morphology of the genera. Cambridge Univ. Press, p747.

- **Roubeix.,Pesce S.,Mazzellan., Coste M., Delmas F.,2012.** Variation in periphytic Diatom Tolerance to Agricultural Pesticide in a contaminated River: an Analyse at Different Diversity Level. Fresenius Environmental Bulletin, 21 :2090-2094.

### S

- **Santé Canada., 1987.** Le glyphosate: document technique. Récupéré de <http://www.hc-sc.gc.ca/cwh-semt/pubs/weter-eau/glyphosate/index-fra.php>.

- **Scheyer A., 2000.** Développement d'une méthode d'analyse par CPG/MS/MS de 27 pesticides identifiés dans les phases gazeuses, particulaire et liquide de l'atmosphère. Application à l'étude des variations spatio-temporelles des concentrations dans l'air et dans les eaux de pluie, Chapitre 1 (p8-11 ; p22-27) et chapitre 2 (p30-36).

- **Scheyer A., 2004.** Développement d'une méthode d'analyse par CPG/MS/MS de 27 pesticides identifiés dans les phases gazeuse, particulaire et liquide de l'atmosphère. Application à l'étude des

variations spatio-temporelles des concentrations dans l'air et dans les eaux de pluie. Thèse de doctorat, Discipline: Chimie, Université Louis Pasteur de Strasbourg, p 273.

- **Schmitt-Jansen M., et Altenburger R., 2005.** Toxic effects of isoproturon on periphyton communities - a microcosm study. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 62(3): 539-545.
- **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.
- **Stebbing A.R.D., 1998** .A theory for growth hormesis. *Mutat.Res.*403:249-258. Sun, W-H., G.L., Horst, R.A. Drijber, and T.E. Elthon (2000) Fate of 2,4, 6-trinitro-toluene in axenic and culture systems containing smooth bromegrass. *Environ. Toxicol. chem.* 19:2038-2046.
- **Steinman A.D., 1996.** Effects of grazers on freshwater benthic algae. In: *Algal ecology of fresh water benthic ecosystems*, Aquatic Ecology Series, Stevenson, R.J., Bothwell, M.L., Lowe, R.L., (Eds.), Academic Press, Boston, pp: 341-373.
- **Stevenson R.J., 1983.** Effects of current and conditions simulating autogenically changing micro habitats on benthic diatom immigration. *Ecology*, 64(6): 1514-1524.
- **Stevenson R.J., 1996.** An introduction to algal ecology in fresh water benthic habitats. In: *Algal ecology of freshwater benthic ecosystems*, Aquatic Ecology Series, Stevenson, R.J., Bothwell, M.L., Lowe, R.L., (Eds.), Academic Press, Boston, pp. 3-30.
- **Stevenson R.J., Peterson C.G., Kirschtel D.B., King C.C., Tuchman N.C., 1991.** Density-dependant growth, ecological strategies, and effects of nutrients and shading on benthic diatom succession in streams. *Phycol J*, 27: 59-69).

#### T

- **Townsend C.R., 1989.** The patch dynamics concept of stream community ecology. *Journal of the North American Benthological Society*, 8: 36-50.
- **Tsui M.T.K., et Chu L.M., 2003.** Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere*, 1189-1197.
- **Tzin V., et Galili G., 2010.** New insights into the shikimate and aromatic amino acids biosynthesis pathways in plants. *Molecular Plant*, 3(6), 956-972.

#### V

- **Van Dam H., et Mertens A., 1994.** A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from the Netherlands. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology* 28(1): 117-133.

- **Van den Hoek C., Mann D.G., Jahns H.M., 1995.** Algae: An Introduction to Phycology. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 133-159.

**W**

- **Wang C-Y., 2001.** Effect of glyphosate on aromatic amino acid metabolism in purple nutsedge (*Cyperus rotundus*). *Weed technology*, 15:628-635.

- **Wong P. K., 2000.** Effects of 2, 4-D, glyphosate and paraquat on growth, photosynthesis and chlorophyll-a synthesis of *Scenedesmus quadricauda* Berb 614. *Chemosphere*, 41, 177-182.

- **Weiner J. A., De Lorenzo M. E., and Fulton M. H., 2007.** Atrazine induced species-specific alterations in the subcellular content of microalgal cells. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 87(1): 47-53.

- **Werner D., 1977.** *The Biology of Diatoms*, Blackwell Scientific Publications, Oxford.

- **Whitford L. A., et Schumacher G. J., 1961.** Effects of current on mineral uptake and respiration by a fresh-water alga. *Limnol. Oceanogr*, 6: 423-425.

- **Whitton B.A., 1991.** *Amis of Monitoring*, P5-8.

**Z**

- **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*, 57: p 4867-4871.

# *Les annexes*

## Annex1

Tableaux 01 Résultats du test toxicologique de l'herbicide (Glyphosate) sur la croissance des diatomées 1<sup>er</sup> campagne d'échantillonnage.

		T				1/5				1/10				1/50				1/100				1/1000			
Temps 0	Nombre Diatomée pennée	54	41	66	47																				
	Moyenne	52				52				52				52				52							
	Concentration cellulaire C=n /a .v*fd	<b>1,3*10<sup>6</sup></b>				<b>1,3*10<sup>6</sup></b>				<b>1,3*10<sup>6</sup></b>				<b>1,3*10<sup>6</sup></b>				<b>1,3*10<sup>6</sup></b>							
	PH	7,34				7,34				7,34				7,34				7,34							
25/04/20625	Nombre Diatomée Pennée	58	82	112	49	22	16	32	43	66	98	77	65	90	111	89	120	66	99	90	50	70	67	88	65
	Moyenne	75,25				28,25				76,5				102,5				76,25				72,5			
	C=n /a .v*fd	<b>1,8*10<sup>6</sup></b>				<b>0,7*10<sup>6</sup></b>				<b>1,91*10<sup>6</sup></b>				<b>2,56*10<sup>6</sup></b>				<b>1,90*10<sup>6</sup></b>				<b>1,81*10<sup>6</sup></b>			
	PH	7,7				7,07				7,63				7,27				7,72				7,55			
26/04/2016	Nombre Diatomée pennée	75	68	87	93	12	17	9	6	20	25	14	30	96	100	89	73	57	45	60	39	105	99	120	81
	moyenne	80,75				11				22,25				89,5				50,25				101,25			
	C=n /a .v*fd	<b>2,1*10<sup>6</sup></b>				<b>0,27*10<sup>6</sup></b>				<b>0,56*10<sup>6</sup></b>				<b>2,23*10<sup>6</sup></b>				<b>1,25*10<sup>6</sup></b>				<b>2,53*10<sup>6</sup></b>			
	PH	7,36				7,02				7,21				7,10				7,08				7,30			
27/04/2016	Nombre Diatomée pennée	52	35	77	61	3	0	4	1	11	6	9	4	42	50	28	39	45	41	34	61	85	67	102	91
	moyenne	56,25				2				7,5				39,75				45,25				86,25			
	C=n /a .v*fd	<b>1,4*10<sup>6</sup></b>				<b>0,05*10<sup>6</sup></b>				<b>0,18*10<sup>6</sup></b>				<b>0,99*10<sup>6</sup></b>				<b>1,13*10<sup>6</sup></b>				<b>2,15*10<sup>6</sup></b>			
	PH																								
28/04/2016	Nombre Diatomée	32	29	53	23	0	1	0	0	2	7	4	2	16	9	24	11	28	31	18	22	53	45	60	35
	moyenne	34,25				0,25				3,75				15				24,75				48,25			
	C=n /a .v*fd	<b>0,85*10<sup>6</sup></b>				<b>0,0062*10<sup>6</sup></b>				<b>0,093*10<sup>6</sup></b>				<b>0,37*10<sup>6</sup></b>				<b>0,61*10<sup>6</sup></b>				<b>1,20*10<sup>6</sup></b>			
	PH	7,62				7,05				7,00				7,07				7,29				7,51			

Tableaux 02: Résultats du test toxicologique de l'herbicide (Glyphosate) sur la croissance des diatomées 2<sup>ème</sup> campagne d'échantillonnage.

Temps 0	Nombre Diatomée pennée	T				1/5				1/10				1/50				1/100				1/1000			
		87	127	103	98																				
	moyenne	103,75				103,75				103,75				103,75				103,75				103,75			
	Concentration cellulaire $C=n/a.v*fd$	$2,5*10^6$				$2,5*10^6$				$2,5*10^6$				$2,5*10^6$				$2,5*10^6$				$2,5*10^6$			
	PH	7,46				7,46				7,46				7,46				7,46				7,46			
22/05/2016	Nombre Diatomée pennée	141	125	100	131	39	51	37	30	45	33	40	37	67	127	135	94	105	79	95	81	74	57	66	45
	moyenne	124,75				39,25				38,79				105,75				90				60,5			
	$C=n/a.v*fd$	$3,1*10^6$				$0,98*10^6$				$0,96*10^6$				$2,64*10^6$				$2,25*10^6$				$1,51*10^6$			
	PH	7,39				7,01				7,24				7,04				7,96				7,26			
23/05/2016	Nombre Diatomée pennée	68	89	58	68	32	30	34	28	25	28	30	35	54	70	60	62	50	59	49	68	60	45	49	52
	moyenne	70,75				31				29,5				61,5				44,25				51,5			
	$C=n/a.v*fd$	$1,76*10^6$				$0,77*10^6$				$0,73*10^6$				$1,53*10^6$				$1,1*10^6$				$1,28*10^6$			
	PH	7,15				7,17				7,03				7,02				7,25				7,11			
24/05/2016	Nombre Diatomée pennée	66	50	54	69	18	25	20	29	19	24	21	26	27	35	29	48	54	50	79	48	71	65	52	58
	moyenne	59,75				23				22,5				35,25				57,75				61,5			
	$C=n/a.v*fd$	$1,49*10^6$				$0,57*10^6$				$0,56*10^6$				$0,88*10^6$				$1,44*10^6$				$1,53*10^6$			
	PH	7,20				7,05				7,6				7,75				7,45				7,09			
25/05/2016	Nombre Diatomée	60	63	51	44	7	1	4	2	10	8	18	12	23	16	19	20	57	55	37	46	79	56	77	50
	moyenne	54,5				3,5				12				19,5				48,75				65,5			
	$C=n/a.v*fd$	$1,36*10^6$				$0,87*10^6$				$0,3*10^6$				$0,48*10^6$				$1,21*10^6$				$1,63*10^6$			
	PH	7,18				7,52				7,40				7,10				7,01				7,25			



**Annex2****Tableau 1 :** Résultats des teneurs en nutriments de (1<sup>er</sup> campagne d'échantillonnage)24/4/2016

	Teneur en (mg/l)			Moyenne (mg/l)
	1 <sup>er</sup> échantillon	2 <sup>ème</sup> échantillon	3 <sup>ème</sup> échantillon	
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0.0018	0.0019	0.0018	0.0019
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.705	0.672	0.678	0.685
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.207	0.211	0.195	0.203
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0.0067	0.0068	0.010	0.0080
Azote totale	6.16	6.16	6.16	6.16

**Tableau2 :** Résultats des teneurs en nutriments (2<sup>ème</sup> campagne d'échantillonnage) 21/5/2016

	Teneur en (mg/l)			Moyenne (mg/l)
	1 <sup>er</sup> échantillon	2 <sup>ème</sup> échantillon	3 <sup>ème</sup> échantillon	
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0.0023	0.0021	0.0022	0.0022
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.801	0.195	0.180	0.143
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.273	0.290	0.265	0.273
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0.014	0.016	0.016	0.016
Azote totale	4.2	4.2	4.2	4.2

**Détermination de l'azote ammoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ):**

Méthode ISO N°7150

**I-Principe :** Mesure spectrométrique du composé coloré formé par réaction de l'ammonium avec les ion salicylate et hypochlorite en présence de nitroprussiate de sodium qui forme un complexe vert dont l'absorbance est proportionnelle à la concentration d'azote ammoniacal vert 655nm .

**II-Les Réactifs****II .1.Réactif I :**

- Acide dichlorisocyanurique ..... 2g.
- Hydroxyde de sodium (NaOH) .....32g.
- Eau distillé .....q .s. p 100ml.

**II .2.Réactif II :**

- Tricitrte de sodium ..... 130g.
- Salicylate de sodium .....130g.
- Nitroprussiate de sodium .....0.97g.
- Eau distillé .....q .s. p 100ml.

Conservée dans des flacons en verre brun, les deux solution sont stables pendant 2 semaines.

**III-Préparation de la solution mère étalon:1g /l de  $\text{NH}_4^+$  stable 1mois :****-A partir de chlorure d'ammonium :**

- Chlorure d'ammonium ..... 2 ,970g.
- Eau distillé .....q .s. p 100ml.

**-A partir du sulfate d'ammonium :**

- Sulfate d'ammonium.....4.717g.
- Eau distillé .....q .s. p 100ml.

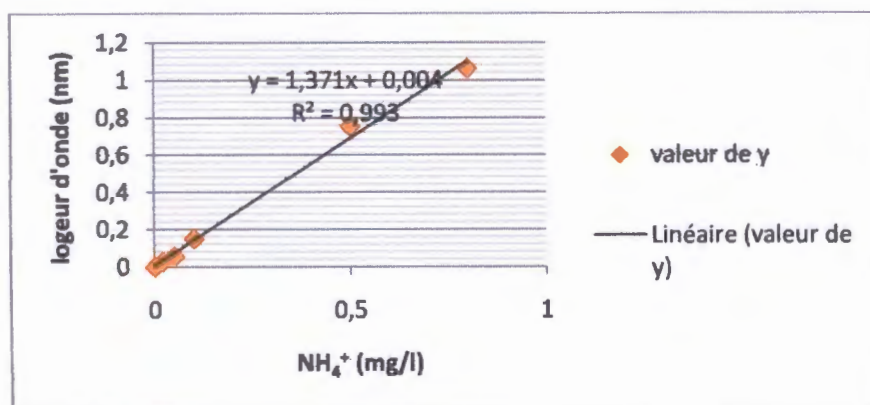
## VI-Préparation de la solution fille étalon : 1g /l et ramener à 1000ml d'eau distillé.

-Prendre 1ml de solution mère à 1g/l et ramener à 100ml d'eau distillé.

-Gamme d'étalonnage :

<b>Solution fille 1g /l</b>	0	1	2,5	5	25	40
<b>Eau distillé (ml)</b>	50	49	47,5	45	25	10
<b>Réactif I (ml)</b>	4	4	4	4	4	4
<b>Réactif II (ml)</b>	4	4	4	4	4	4
Attendre 1h30 Effectuer la lecture à 655nm						
<b>[NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en mg/l]</b>	0	0,02	0,05	0,1	0,5	0,8

- La courbe d'étalonnage :



## V-Mode opératoire :

-Prendre 40ml d'eau analyse contenant jusqu'à 1mg /l  $\text{NH}_4^+$ .

-Ajouter 4ml de réactif I.

-Ajouter 4ml de réactif II et ajouter à 50ml avec  $\text{H}_2\text{O}$  distillée et attendre 1h30. Apparition de la coloration verdâtre indique la présence de :  $\text{NH}_4$  si on soupçonne eau plus chargée, procéder aux dilutions conséquent sur l'échantillon.

**Expression des résultats:** Le résultat est donné directement en mg /l de  $\text{NH}_4^+$ .

**Dosage des nitrites (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) :**

Jean Rodier et coll.2005

**I-Principe:** La diazotation de l' amino- benzènesulfonamide par les nitrites en milieu acide et sa copulation avec le déchlorure de N-(naphtyl-1) diamino-1,2 éthane donne un complexe coloré pourpre susceptible d'un dosage spectrophotométrique.

**II-Réactifs mixte :**

- Acide phosphorique.....100ml.
- Sulfanilamide.....40g.
- N-1 Naphtyl éthylène diamine.....2g.
- Eau distillée.....q.s. p 1000ml.

**III-Solution mère étalon: 0,1g/l de NO<sub>2</sub>**

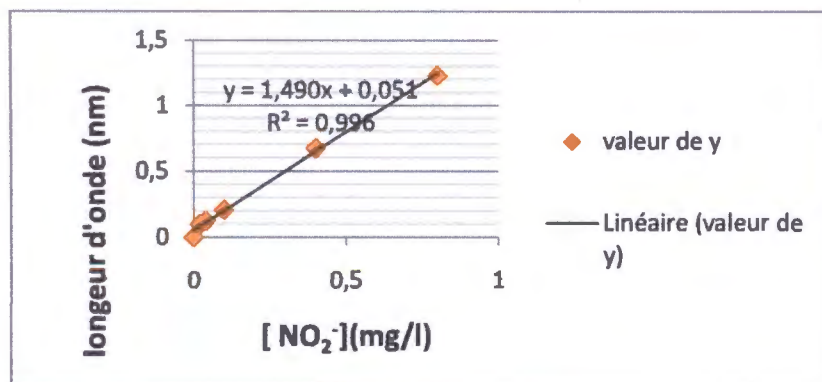
-A partir du nitrite de sodium(NaNO<sub>2</sub>), dissoudre 0.492g de NaNO<sub>2</sub> préalablement séché 2h105°C dans1000ml d'eau distillée pour avoir100mg/l de NO<sub>2</sub>.cette solution est stable Pendant 1mois à l'obscurité et 4°C.

**IV-Solution fille:** à 1mg/l prendre 1ml de solution mère à100mg/l et ramener à1000ml d'eau distillée.

- **La courbe d'étalonnage**

<b>Solution fille</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>20</b>	<b>40</b>
<b>1mg/l(ml)</b>						
<b>Eau distillée(ml)</b>	<b>50</b>	<b>49</b>	<b>48</b>	<b>45</b>	<b>30</b>	<b>10</b>
<b>Réactif mixte (ml)</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
Attendre 10mn pour effectuer les lectures au spectrophotomètre à543nm.						
<b>[NO<sub>2</sub><sup>-</sup>] en mg/l</b>	<b>0</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>	<b>0,1</b>	<b>0,4</b>	<b>0,8</b>

- **La courbe d'étalonnage :**



### V-Mode opératoire :

- Prendre 50ml d'eau à analyser.
- Ajouter 1ml du réactif mixte.
- Apparition de la coloration rose indique la présence des  $\text{NO}_2^-$  à la longueur d'onde de 543nm.

**Expression des résultats:** la courbe donne directement la teneur en azote nitreux( $\text{NO}_2$ ) mg/l.

### Dosage des composés phosphorés ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) :

Jean Rodier et coll. 2005

**I-Principe :** En milieu acide et en présence de molybdate d'ammonium les orthophosphates donnent un complexe phosphomolybdique qui, réduite par l'acide ascorbique, développe une coloration bleu susceptible d'un dosage spectrophotométrique. Le développement de la couleur est accéléré par l'utilisation d'un catalyseur, le tartrate double d'antimoine et de potassium.

### II-Réactifs :

- Solution d'acide sulfurique ( $d=1,84$ ) à 15% Environ en volume.
- Solution de molybdate d'ammonium à 40g /l, filtrer si nécessaire .A conserver en flacon de polyéthylène à 4°C .
- Solution d'acide ascorbique à 20g /l à préparer chaque jour :
- Acide ascorbique.....2g.
- Eau distillée.....q.s. p.100ml.
- Solution double d'antimoine de tartrate et de potassium à 2.8g/L:

-Tartrate double d'antimoine de potassium.....0.28g.

-Eau distillée.....q.s p.100ml.

### III-Réactifs:

-Solution d'acide sulfurique.....50ml.

-Solution double d'antimoine de tartrate et de potassium.....5ml.

-Solution de molybdate d'ammonium.....15ml.

-Eau distillée.....q.s. p.100ml.

### IV-Solution mère étalon du phosphore à 50mg/L :

-Dihydrogénophosphate de potassium desséché au préalable a l'étuve 100 °C.....0.2197g

-Eau distillée.....q .s p.100ml

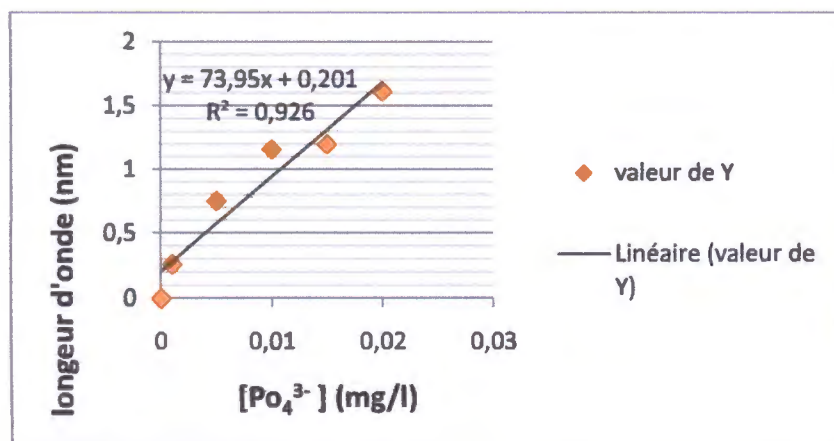
**V-Solution fille étalon du phosphore à 1mg/L:** diluer au 1/50 la solution précédente avec de Eau distillée.

- Etablissement de la courbe d'étalonnage du phosphore.

-Introduire dans une série de fioles jaugées de25ml.

Numéro des fioles	T	I	II	III	IV	V
Solution étalon de phosphore a 1 mg /l	0	1	5	10	15	20
Eau distillée en ml	20	19	15	10	5	0
Correspondance en mg de phosphore	0	0.001	0.005	0.01	0.015	0.02

-Introduire dans chaque fiole 1ml de solution d'acide ascorbique, agiter puis ajouter 4ml de réactif. Mélanger soigneusement, et compléter éventuellement le volume à 25ml attendre30 minutes après la coloration et effectuéc les mesures au spectrophotomètre à la langueur d'onde de 700 nm en cuve de 1cm.

**-Courbe d'étalonnage:****VI-Mode opératoire:**

-Vérifier le PH de l'échantillon qui doit être compris entre 2 et 7. L'ajouter si Nécessaire.

-Introduire 20 ml d'eau de chaque échantillon dans fiole jaugée de 25ml.et poursuivi la courbe l'étalonnage.

**VII-Expression des résultats :**

- La courbe donne tenue en phosphore, exprimée en mg /l pour la prise d'essai.

**Dosage des nitrates ( $NO_3^-$ )**

**Jean Rodier et coll. 2005**

**Principe:** En présence de salicylates de sodium, les nitrates donnent les paritrosalicylates de sodium, coloré en jaune et susceptibles d'un dosage Spectrophotométrique.

**I-Réactifs :**

-Solution de salicylate de sodium à 1% renouveler toutes les 24h

-Acide sulfurique  $H_2SO_4$  concentré (d=1 .84)

-Solution d'hydroxyde de sodium NaOH :

-D'hydroxyde de sodium NaOH.....200g

-Sel disodique de l'acide éthylène diamine tétracétique.....50g

-Eau distillée.....q.s. p.1000ml

Préparé comme suit: Dissoudre avec précaution 200g de NaOH dans 800d 'eau déminéralisée, ajouter 50g de EDAT. ajouté le volume à 1l .conserver cette solution dans un flacon de polyéthylène.

-Solution d'azoture de sodium:

-Azoture de sodium.....0.5g

-Eau distillée.....q.s. p.100ml

## II-solution mère étalon d'azote nitrique 100mg/l:

-Nitrate de potassium anhydre.....0.722g

-Eau distillée.....q.s. p.1000ml.

A renouveler tous les deux mois.

III-solution fille étalon d'azote nitrique 5mg/l. Amener 50ml de solution mère 1000ml avec de l'eau distillée

## IV-La courbe d'étalonnage des nitrates

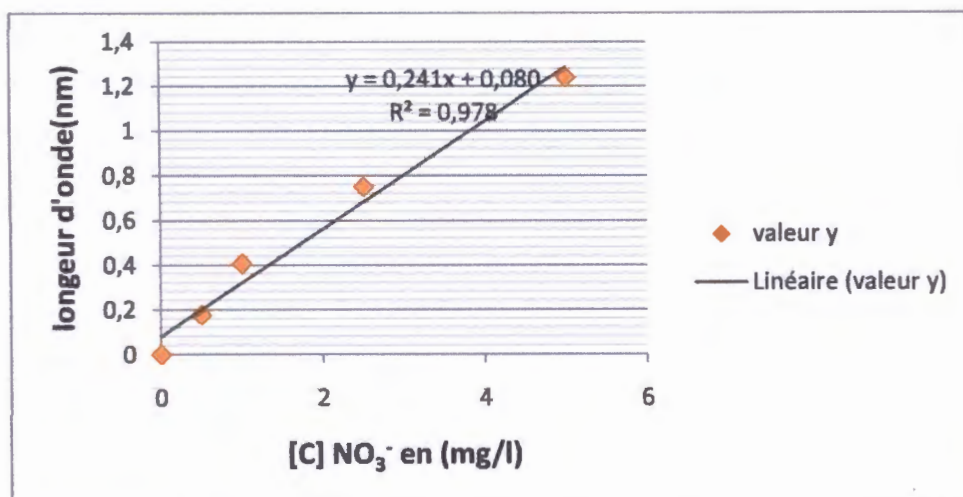
-Dans une série de capsules de 60 ml, introduire successivement.

Numéro de capsules	T	I	II	III	IV
Solution étalon d'azote 5mg/l	0	1	2	5	10
Eau permutée	10	9	8	5	0
Correspondance en mg/l d'azote	0	0.5	1	2.5	5
Solution d'azoture de Na (ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Acide acétique 99%(ml)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2



- Attendre 5mn puis évaporer à sec bain marie ou dans une étuve porté à 70-80C°(ne pas surchauffer ni trop longtemps). Ajouter 1ml de solution de salicylate de sodium, mélanger puis évaporer.
- Laisser refroidir, reprendre le résidu par 1ml d'acide sulfurique concentré ayant soin de l'humecter complètement. Attendre 10mn, puis ajouter 15ml d'eau distillée et 10ml de solution d'hydroxyde de sodium qui développe la couleur jaune.
- Effectuer la lecture au spectrophotomètre a la longueur d'onde 415nm
- Soustraire les unités d'absorbance lues pour les étalons, la valeur relevée par les témoins.
- Sonstruire la courbe d'étalonnage.

#### V- Courbe d'étalonnage:



#### VI-Mode opératoire:

- Introduire 10ml de chaque échantillon dans une de capsule à 60ml.
- Alcaliniser faiblement avec la solution d'hydroxyde de sodium.
- Poursuivre de dosage comme pour la courbe d'étalonnage.

#### VII-Expression des résultats:

Pour une prise d'essai de 10ml, la courbe donne directement la teneur en azote nitrique exprimée en mg/l.

Pour obtenir la teneur en nitrate NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, multiplier se résultat par 4,43.

## Détermination de l'azote totale (Rodier ,2009):

### Azote kjeldahl (NK)

#### **Principe**

- Minéralisation de la matière organique en milieu acide, en présence de catalyseur et a température élevée.
- Ajout d'une solution d'hydroxyde de sodium pour déplacer en ammoniac l'azote ammoniacal forme.
- Entrainement a la vapeur (distillation) de l'ammoniac.
- Dosage par titrimétrie.

#### **Matériel**

- Matras kjeldahl.
- Unité de minéralisation avec système de récupération des fumées.
- Micro burette de 5ml ou burette de précision de 10 ml.

#### **Réactifs**

- Acide sulfurique concentré (98%-densité 1,84).
- Acide borique: solution titrée a 0,05mol/l.
- Acide sulfurique: solution a environ 400g/l.
- Hydroxyde de sodium: solution a environ 400g/l.
- Catalyseur de minéralisation.

#### **Mode opératoire:**

##### ➤ **Minéralisation**

- Introduire 100ml d'échantillon dans matras kjeldahl.
- Ajouter quelques billes de verre pour réguler l'ébullition.
- Ajouter 1g de catalyseur.

-Ajouter 10ml acide sulfurique concentre.

-Place dans le bloc de minéralisation .recouvrir par le système d'extraction des fumées et brancher le système d'extraction.

-Porter lentement à ébullition et évaporer jusqu' a apparition de fumée blanches. Forcer ensuite le dosage pendant environ 2 heures. Le liquide résiduel doit être limpide ; dans le cas contraire, recommencer en diminuant le volume d'échantillon.

-Laisser refroidir quelques minutes.

➤ **Distillation**

-Placer le matras kjeldahl sur le système d'entraînement a la vapeur.

-Ajouter 50ml d'hydroxyde de sodium a 400g/l.

-Pour recueillir le distillat, on placera a la sortie de l'appareillage un erlenmeyer de 250ml contenant 10ml d'acide borique a10g/l.

➤ **Dosage**

Dans l'erlenmeyer qui a recueilli le distillat ,ajouter 2a3 gouttes de l'indicateur Mixte .Titrer avec la solution titrée d'acide sulfurique à 0,05mol/L .

➤ **Bilan**

Concentration en azote kjeldahl ou en ammoniacal, exprimée en mg /L d'azote(N) est donnée par la formule:  **$2(V1-V0) C.1000.14$**

V

C=concentration (en moles /L) de la solution – d'acide sulfurique utilisé pour le dosage.

V1=volume (en ml) d'acide sulfurique utilisé pour le dosage de l'échantillon.

V0=volume(en ml) d'acide sulfurique utilisé pour le dosage de l'essai à blanc.

V= volume(en ml) de' prise d'essai.

## Résumé

Notre étude consiste à faire des tests toxicologique d'un herbicide à large utilisation agricole « Glyphosate » sur les communautés des diatomées, l'échantillonnage a été étalé sur deux campagnes dans le même milieu naturel lentique (la retenue collinaire d'El-Ouana) sur le plan trophique l'état de ce milieu est moyen. D'un autre coté les tests réalisés au laboratoire dans des microcosmes et dans des conditions semi -controlées avec plusieurs dilutions de l'herbicide, nous ont conduit aux résultats suivants : à fortes doses, le Glyphosate possède un effet sur la croissance des diatomées par contre pour les faibles doses ; notre herbicide joue le rôle de stimulateur de croissance.

**Mots clés :** Diatomées, Milieu lentique, Herbicide, Toxicologie.

## Abstract

Our study consists in making tests toxicological of a herbicide wide agricultural use "Glyphosate" on the communities of diatoms, sampling was spread out over two campaigns in the same natural environment lentic (the hill reservoir collinaire of El-Ouana) on the trophic level the state of this medium is average. Of the another with dimensions tests carried out at the laboratory in microcosms and semi-controlées conditions with several dilutions of the herbicide, led us to the following results: with strong amounts, Glyphosate on the other hand has an effect on the growth of the diatoms for low dose; our weed killer plays the role of stimulative of growth.

**Key words:** Diatoms, Lentic environment, Herbicide, Toxicology.

## المخلص

تناولت دراستنا إختبارات لمبيد الأعشاب الأكثر إستعمالا في المجال الفلاحي (الغولوفوزات) على مجموعة الطحالب المجهرية حالة الدياتوميس وذلك بأخذ العينات خلال حملتين من نفس وسط مائي راكد (بحيرة العوانة). على مستوى وسط غذائي متوسط. من ناحية أخرى أجريت التجربة في المخبر بشروط نصف مراقبة مع تخفيفات مختلفة للمبيدات. هذه الدراسة قادتنا إلى النتائج التالية:

في الجرعات الكبيرة، غولوفوزات له تأثير على نمو الدياتوميس على عكس الجرعات منخفضة؛ كما أن هذه المبيدات تلعب دور مشجع في نمو هذه الكائنات.

الكلمات المفتاحية: دياتوميس، المبيدات، وسط مائي راكد، علم التسمم.

