

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار - عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE
LABORATOIRE D'ECOBIOLOGIE DES MILIEUX MARINS ET LITTORAUX

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT
Spécialité : Microbiologie environnementale et sanitaire

Présentée par : Mlle Seridi Lamia

Dynamique et toxicité des cyanobactéries de divers plans d'eau de l'Est Algérien

Directeur de thèse : Mr Kadri Skander Elhadi
Co-directeur de thèse : Mr Bensouilah Mourad

Prof., Université Badji Mokhtar-Annaba
Prof., Université Badji Mokhtar-Annaba

Membres de Jury:

Président : Mr Boukhroufa Mehdi

MCA., Université Badji Mokhtar-Annaba

Examineurs : Mme. Boualleg Chahinez
Mr Soumati Boudjmeaa

Prof., Université de Souk Ahras
Prof., Université de Badji Mokhtar-Annaba

N° DBCH...../2025

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements :

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à toutes les personnes ayant contribué à la réalisation de ce travail de recherche. Tout d'abord, je remercie chaleureusement mon directeur de thèse, le Professeur Kādri Skānder, pour son aide précieuse, ses conseils éclairés et son soutien constant tout au long de ce parcours.

Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude à mon co-directeur, le Professeur Bensouilah, qui m'a fait découvrir tout un univers fascinant autour des cyanobactéries, me rappelant combien l'être humain peut paraître insignifiant face à l'immensité du monde naturel. Son expertise et son accompagnement précieux ont grandement enrichi ma réflexion et guidé mes travaux.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements aux membres du jury. Tout d'abord, je remercie chaleureusement Monsieur Boukhrufa pour avoir accepté de présider le jury, ainsi que Madame Boualeg et Monsieur Soumati pour avoir accepté d'en être membres.

Je souhaite également adresser un grand merci à Madame Guellati Fatma pour son aide et son soutien tout au long de mon parcours.

À mes parents, votre soutien et vos sacrifices. Cette thèse est aussi la vôtre

Je tiens également à remercier toutes les personnes qui m'ont aidé et encouragé tout au long de ce parcours : Doudou, Maya, Hassen, Saber, Mouna, ainsi que le personnel du laboratoire EMMAL pour leur soutien et leur précieuse collaboration.

Liste des abréviations

A : Absorbance.

ACP : Analyse en composantes principales.

BMAA : β -N-méthylamino-L-alanine

Cell : Cellule.

Cyn : cylindrospermopsine

μ l : microlitre

μ m : Micro-mètre

cm : centi-mètre

μ g : micro-grammes

μ m³ : micromètre cube

ELISA : Dosage immuno-enzymatique sur support (enzyme-linked immunosorbent assay)

FO : Fréquence d'occurrence

GF : Glass Fibre

Hm3 : Hecto-mètre cube

J.O.R.A. : Journal Officiel de la République Algérienne

OMS : Organisation Mondiale de Santé

r : Coefficients de corrélation linéaire simple de SPEARMAN

Ha : hectare

Km2 : kilomètre carré

°C : degré Celsius

mg : milligrammes

ml : millilitre

MCs : Microcystine

min : Minutes

MC-LR : microcystines-LR

max : Maximum

min : Minimum

λ : longueur d'onde

ng : nanogramme

nm : nanomètre

NTU : nephelometric turbidity unit

L : Litre

LPS : Lipopolysaccharide

P.N.E.K : Parc National d'El-Kala

Tr : tours UNESCO : organisation des nations unies pour l'éducation, la science et la culture

STX : saxitoxine

WHO : world health organization

Résumé

Ce travail vise à étudier l'influence des paramètres environnementaux sur la dominance des cyanobactéries Nostocales dans les eaux du lac Oubeira à travers l'analyse des paramètres physico-chimiques, l'identification et le dénombrement des cyanobactéries, le dosage de la cylindrospermopsine (CYN) et de la microcystine (MC) dans l'eau et deux organismes aquatiques, ainsi que l'étude morphologique de *Cylindrospermopsis*.

Des prélèvements mensuels ont été réalisés entre octobre 2021 et septembre 2022 sur six stations. Les résultats montrent que *Cylindrospermopsis* domine largement les cyanobactéries collectées (76 %), suivie par *Aphanizomenon* (13,95 %), *Microcystis* (7 %) et *Geitlerinema* (2,05 %). En hiver, *Aphanizomenon* représente plus de 90 % des cyanobactéries, tandis qu'en été et en automne, *Cylindrospermopsis* domine largement (98 % et 93 % respectivement). L'analyse en composantes principales (ACP) montre que *Cylindrospermopsis* est positivement corrélée à la turbidité, la température de l'eau, la conductivité, le pH et les nitrates, tandis qu'*Aphanizomenon* est associée à NH_4^+ . L'analyse en composantes principales révèle que l'Axe 1 est positivement corrélé avec la turbidité, la température de l'eau, la conductivité, le pH, les nitrates, la chlorophylle a et *Cylindrospermopsis*. Il est négativement corrélé avec l'oxygène dissous, la transparence, NO_2^- et les PO_4^- . *Aphanizomenon* est projeté sur le pôle négatif, montrant une corrélation positive avec NH_4^+ et une corrélation négative avec *Geitlerinema*.

Les observations morphologiques de *Cylindrospermopsis* révèlent quatre morphotypes, la majorité des filaments étant dépourvus d'hétérocystes et d'akinètes (>90 %). Les filaments sans hétérocystes et avec uniquement des hétérocystes sont positivement corrélés aux NO_3^- , cond, Turb, pH et $T^\circ \text{ atm}$ de l'eau, mais négativement à : trans et à l'oxygène dissous. En revanche, les filaments avec hétérocystes et akinètes sont liés aux précipitations ($p \leq 0,001$) et PO_4^- , tandis que ceux avec uniquement des akinètes montrent des corrélations négatives avec la température de l'eau et la transparence.

Le dosage et l'analyse des cyanotoxines a révélé la présence de cylindrospermopsine (CYN) extracellulaire et de microcystine (MC) intracellulaire (CYN : 339 ng/L ; MC : 281 ng/L). L'accumulation des cyanotoxines montre que *Sinanodonta woodiana* accumule principalement les microcystines (160 ng/g), tandis que les concentrations de CYN restent faibles (6,17 ng/g). Chez *Cyprinus carpio*, les microcystines se concentrent surtout dans l'hépatopancréas (848 ng/g), deux fois plus que dans les intestins (460 ng/g), soulignant le rôle clé du foie dans la biotransformation des toxines.

Ces résultats mettent en évidence l'impact des facteurs environnementaux sur la dynamique des Nostocales et plus particulièrement *Cylindrospermopsis* et la production de cyanotoxines, offrant ainsi des informations cruciales pour mieux comprendre les risques écologiques et sanitaires liés aux proliférations cyanobactériennes dans le lac Oubeira.

Mots-clés : Nostocales, *Cylindrospermopsis*, cyanotoxines, eutrophisation, paramètres physico-chimiques, morphologie.

Abstract

This study aims to investigate the influence of environmental parameters on the dominance of Nostocales cyanobacteria in the waters of Oubeira lake through the analysis of physicochemical parameters, identification and enumeration of cyanobacteria, quantification of cylindrospermopsin (CYN) and microcystin (MC) in water and two aquatic organisms, as well as the morphological study of *Cylindrospermopsis*.

Monthly water sampling was conducted between October 2021 and September 2022 at six stations. The results show that *Cylindrospermopsis* largely dominates the collected cyanobacteria (76%), followed by *Aphanizomenon* (13.95%), *Microcystis* (7%), and *Geitlerinema* (2.05%). During winter, *Aphanizomenon* represents more than 90% of the cyanobacterial community, while *Cylindrospermopsis*, *Microcystis*, and *Geitlerinema* share the remaining 10%. In summer and autumn, *Cylindrospermopsis* dominates with 98% and 93%, respectively. Principal component analysis (PCA) shows that *Cylindrospermopsis* is positively correlated with turbidity, water temperature, conductivity, pH, and nitrates, while *Aphanizomenon* is associated with ammonium. Principal Component Analysis (PCA) shows that *Cylindrospermopsis* is positively correlated with turbidity, water temperature, conductivity, pH, and nitrates, while *Aphanizomenon* is associated with NH₄⁺. The PCA reveals that Axis 1 is positively correlated with turbidity, water temperature, conductivity, pH, nitrates, chlorophyll a, and *Cylindrospermopsis*. It is negatively correlated with dissolved oxygen, transparency, NO₂⁻, and PO₄⁻. *Aphanizomenon* is projected onto the negative pole, showing a positive correlation with NH₄⁺ and a negative correlation with *Geitlerinema*.

The analysis of cyanotoxins revealed the presence of extracellular cylindrospermopsin (CYN) and intracellular microcystin (MC) (CYN: 339 ng/L; MC: 281 ng/L). Cyanotoxin accumulation shows that *Sinanodonta woodiana* primarily accumulates microcystins (160 ng/g), while CYN concentrations remain low (6.17 ng/g). In *Cyprinus carpio*, microcystins are mainly concentrated in the hepatopancreas (848 ng/g), twice as much as in the intestines (460 ng/g), highlighting the key role of the liver in toxin biotransformation.

Morphological observations of *Cylindrospermopsis* revealed four morphotypes, with most filaments lacking heterocysts and akinetes (>90%). filaments without heterocytes or akinetes, and those with only heterocytes, positively correlated with nitrates, conductivity, turbidity, atmospheric temperature, water temperature, and pH, but negatively with transparency and dissolved oxygen. Conversely, filaments with heterocytes and akinetes were positively correlated with precipitation (Preci) ($p \leq 0.001$), showing a positive correlation with phosphates while filaments with only akinetes displayed negative correlations with WT and Trans

These results highlight the impact of environmental factors on the dynamics of Nostocales, particularly *Cylindrospermopsis*, and the production of cyanotoxins, thus providing crucial information to better understand the ecological and health risks associated with cyanobacterial blooms in Lake Oubeira.

Keywords: Nostocales *Cylindrospermopsis*, cyanotoxins, eutrophication, physico-chemical parameters, morphology.

المخلص

تهدف هذه الدراسة إلى دراسة تأثير المعلمات البيئية على هيمنة Nostocales من نوع نوستوكاليس في مياه بحيرة أوبيرا من خلال تحليل المعلمات الفيزيائية والكيميائية، وتحديد وعدّ السيانوبكتيريا، وقياس السيليندروسيرموبسين (CYN) والمايكروسيستين (MC) في المياه واثنين من الكائنات المائية، بالإضافة إلى الدراسة المورفولوجية لـ *Cylindrospermopsis*.

تم إجراء عينات شهرية بين أكتوبر 2021 وسبتمبر 2022 في ستة محطات. تُظهر النتائج أن *Cylindrospermopsis* يهيمن بشكل كبير على البكتيريا الزرقاء المجموعة (76%)، تليه *Aphanizomenon* (13.95%)، ثم *Microcystis* (7%) و *Geitlerinema* (2.05%). (في الشتاء، تشكل *Aphanizomenon* أكثر من 90% من البكتيريا الزرقاء، بينما في الصيف والخريف يهيمن *Cylindrospermopsis* بشكل ملحوظ (98% و 93% على التوالي). ويُظهر تحليل المكونات الرئيسية (PCA) أن *Cylindrospermopsis* مرتبط إيجابياً بالعكارة ودرجة حرارة الماء والموصلية والرقم الهيدروجيني والنترات، بينما ترتبط *Aphanizomenon* بالأومونيا يُظهر التحليل باستخدام المركبات الرئيسية (PCA) أن *Cylindrospermopsis* مرتبط إيجابياً بالتعكر ودرجة حرارة الماء والتوصيلية و-pH والنترات، في حين أن *Aphanizomenon* مرتبط بـ NH_4^+ يكشف التحليل باستخدام المركبات الرئيسية أن المحور 1 مرتبط إيجابياً بالتعكر ودرجة حرارة الماء والتوصيلية و-pH والنترات والكلوروفيل a و *Cylindrospermopsis*. وهو مرتبط سلباً بالأوكسجين الذائب، والشفافية، و- NO_2 ، و- PO_4 يتم *Aphanizomenon* على القطب السالب، مما يظهر ارتباطاً إيجابياً مع NH_4^+ وارتباطاً سلبياً مع جيتلينرينما.

تم الكشف من خلال التحليل والقياس للسموم الزرقاء عن وجود السيليندروسيرموبسين (CYN) تحت شكل خارجي والخلايا الميكروسيستين (MC) تحت شكل داخلي (CYN: 339) نانوغرام/لتر؛ MC: 281 نانوغرام/لتر. (تُظهر تراكم السموم الزرقاء أن *Sinanodonta woodiana** تجمع بشكل رئيسي الميكروسيستين (160 نانوغرام/غرام)، بينما تبقى تراكيز الـ CYN منخفضة (6,17 نانوغرام/غرام). في *Cyprinus carpio**، يتركز الميكروسيستين بشكل رئيسي في البنكرياس الكبدي (848 نانوغرام/غرام)، أي ضعف تراكيزه في الأمعاء (460 نانوغرام/غرام)، مما يبرز الدور الرئيسي للكبد في التحويل البيولوجي للسموم. أظهرت المشاهدات المورفولوجية لـ *Cylindrospermopsis** أربعة أشكال مورفولوجية، حيث كانت الأغلبية العظمى من الخيوط تقتصر إلى الهتروسيستات والأكينيت (>90%)، وارتبطت هذه الخيوط بالنترات ودرجات حرارة مرتفعة، بينما كانت الخيوط التي تحتوي على الهتروسيستات والأكينيت تتماثل مع الترسيب والفوسفات.

قام تحديد وتحليل السموم الزرقاء بالكشف عن وجود السي ليندروسيرموبسين (CYN) خارج الخلايا والميكروسيستين (MC) داخل الخلايا (CYN: 339) نانوغرام/لتر؛ MC: 281 نانوغرام/لتر. (تُظهر تراكمات السموم الزرقاء أن *Sinanodonta woodiana* تتراكم بها الميكروسيستينات بشكل رئيسي (160 نانوغرام/غرام)، بينما تبقى تراكيز السي ليندروسيرموبسين منخفضة (6,17 نانوغرام/غرام). أما في *Cyprinus carpio*، فتتركز الميكروسيستينات بشكل ملحوظ في البنكرياس الكبدي (848 نانوغرام/غرام)، وهو ضعف التركيز الموجود في الأمعاء (460 نانوغرام/غرام)، مما يبرز الدور الحيوي للكبد في تحويل السموم.

كشفت الملاحظات المورفولوجية لـ *Cylindrospermopsis* عن وجود أربعة أنماط مورفولوجية، حيث إن غالبية الخيوط تخلو من الهتروسيستات بدون هيتروسيتات أو أكينيتات، وتلك التي تحتوي فقط على هيتروسيتات، كانت مرتبطة إيجابياً بالنترات، والتوصيلية، والتعكر، ودرجة حرارة الجو، ودرجة حرارة الماء، و-pH، ولكنها مرتبطة سلباً بالشفافية والأوكسجين الذائب. وعلى العكس، كانت الخفائن التي تحتوي على هيتروسيتات وأكينيتات مرتبطة إيجابياً مع الأمطار ($p \leq 0.001$) (Preci)، مما يظهر ارتباطاً إيجابياً مع الفوسفات، بينما أظهرت الخفائن التي تحتوي فقط على أكينيتات ارتباطات سلبية مع درجة حرارة الماء (WT) والشفافية (Tran).

تسلط هذه النتائج الضوء على تأثير العوامل البيئية على ديناميكيات النوستوكاليس، وبشكل خاص سيليندروسيرموبسين وإنتاج السايونوكسينات، مما يوفر معلومات حاسمة لفهم المخاطر البيئية والصحية المرتبطة بتكاثر السيانوبكتيريا في بحيرة أوبيرا..

الكلمات المفتاحية: Nostocales، *Cylindrospermopsis*، السموم الزرقاء، الإثراء الغذائي، المعلمات الفيزيائية والكيميائية، المورفولوجيا.

Liste des figures

Figures	Titres	page
Fig 1	Diversité morphologique des cyanobactéries.	11
Fig 2	schéma montrant l'exposition des humains et des animaux aux cyanotoxines dans des environnements d'eau douce contaminés par des blooms toxiques de cyanobactéries	22
Fig 3	carte géographique du parc national d'el Kala	24
Fig 4	Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausson (Oubeira)	26
Fig 5	localisations des stations d'échantillonnage au niveau du lac Oubeira (Octobre 2021-Septembre 2022)	28
Fig 6	collecte de l'eau, mesures des paramètres physicochimiques et transparence <i>in situ</i>	29
Fig 7	L'anodonte chinoise (<i>Sinanodonta woodiana</i>)	30
Fig 8	la carpe commune (<i>Cyprinus carpio</i>)	31
Fig 9	filtration des échantillons d'eau destinés au dénombrement, identification et dosage des nutriments et chlorophylle-a	32
Fig 10	mise en place des flacons et dosage des éléments nutritifs.	34
Fig 11	dosage de la chlorophylle-a (étape après centrifugation)	35
Fig 12	identification et dénombrement des cyanobactéries au microscope optique à l'aide de la cellule de Nageotte.	36
Fig 13	Formes géométriques de base pour le calcul du biovolume.	37
Fig 14	Photographie montrant l'exposition des organes de la cavité abdominale de la Carpe commune (<i>Cyprinus carpio</i>).	38
Fig 15	l'anodonte vue face ventrale	38
Fig 16	Variations spatio-temporelles de la température des eaux du lac Oubeira	42
Fig 17	Variations spatio-temporelles des teneurs en oxygène dissous dans les eaux de l'Oubeira	43
Fig 18	Variations spatio-temporelles du pH des eaux de l'Oubeira	43
Fig 19	Variations spatio-temporelles de la conductivité des eaux de l'Oubeira	44
Fig 20	Variations spatio temporelles de la turbidité des eaux de l'Oubeira	45
Fig 21	variations spatiotemporelle de la transparence dans l'oubeira	45
Fig 22	Concentrations en ammonium notées dans les eaux de l'Oubeira	46
Fig 23	Concentrations des nitrates enregistrées dans les eaux de l'Oubeira	47
Fig 24	Concentrations des Nitrites dans les eaux de l'Oubeira	48
Fig 25	Concentrations des Orthophosphates rencontrées dans les eaux de l'Oubeira	48
Fig 26	Teneurs en chlorophylle-a enregistrées dans les eaux de l'Oubeira	49
Fig 27	Abondances relatives des genres identifiés dans les eaux de l'oubeira (2021-2022)	54
Fig 28	variations spatiotemporelles des densités globales des cyanobactéries collectées dans les eaux du lac Oubeira	55
Fig 29	variations spatio-temporelles des densités du genre <i>Cylindrospermopsis</i> rencontrés dans les eaux de l'Oubeira (2021-2022)	56
Fig 30	variations spatiotemporelles du genre <i>Microcystis</i> dans les eaux de l'Oubeira	57

	(2021-2022)	
Fig 31	variations spatiotemporelles du genre <i>Aphanizomenon</i> dans les eaux de l'Oubeira (2021-2022)	58
Fig 32	variations spatiotemporelles du genre <i>Geitlerinema</i> dans les eaux de l'Oubeira (2021-2022)	59
Fig 33	variations spatiotemporelles du groupe Autre dans les eaux de l'Oubeira (2021-2022)	60
Fig 34	les genres les plus abondants en période automnale dans les eaux de l'Oubeira (2021-2022)	61
Fig 35	Les genres les plus abondants en période hivernale dans les eaux de l'Oubeira (2021-2022)	63
Fig 36	Les genres les plus abondants en période printanière dans les eaux de l'Oubeira (2021-2022)	65
Fig 37	les genres les plus abondants en période estivale dans les eaux de l'Oubeira (2021-2022)	66
Fig 38	Comparaison des médianes et des répartitions interquartiles des genres dominants de cyanobactéries selon les saisons (représentée par des boîtes à moustaches)	68
Fig 39	Analyse en composantes principales (ACP) basée sur les variations saisonnières des variables biotiques et abiotiques dans le lac Oubeira, pendant la période d'octobre 2021 à septembre 2022	69
Fig 40	Corrélogramme (corrplot) présentant les corrélations entre les genres de cyanobactéries les plus abondants et les paramètres abiotiques mesurés.	64
Fig 41	Classification ascendante hiérarchique des stations d'échantillonnage en fonction de la variation des paramètres biotiques et abiotiques (lac Oubeira).	
Fig 42	Variations mensuelles de la longueur des filaments de <i>Cylindrospermopsis</i> dans le lac Oubeira 2021-2022	72
Fig 43	Variations mensuelles de la largeur des filaments de <i>Cylindrospermopsis</i> dans le lac Oubeira 2021-2022	72
Fig 44	Formes des extrémités des filaments	73
Fig 45	Proportions des différentes formes d'extrémités des filaments collectés dans les eaux du lac Oubeira (octobre 2021-septembre 2022).	74
Fig 46	Distribution des akinètes libres dans les eaux du lac Oubeira (octobre 2021-septembre 2022).	75
Fig 47	Distribution des hétérocystes libres dans les eaux du lac Oubeira (octobre 2021-septembre 2022).	75
Fig 48	Evolution de la biomasse de <i>C. raciborskii</i> dans les eaux du lac Oubeira (octobre 2021-septembre 2022).	76
Fig 49	Observation microscopique des morphotypes de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> dans le lac Oubeira (2021-2022).	77
Fig 50	Distribution spatiotemporelle des filaments sans akinètes et hétérocystes collectés dans les eaux du lac Oubeira	78
Fig 51	Distribution spatiotemporelle de la biomasse des filaments avec hétérocystes	78

	(lac Oubeira, Octobre 2021- Septembre 2022)	
Fig 52	Distribution spatiotemporelle de la biomasse des filaments avec akinetes (lac Oubeira Octobre 2021-Septembre 2022)	78
Fig 57	Distribution spatiotemporelle de la biomasse des filaments avec akinètes et hétérocystes (lac Oubeira)	80
Fig 58	Analyse en composantes principales (ACP) basée sur les paramètres environnementaux et les morphotypes de <i>Cylindrospermopsis</i> pendant la période d'octobre 2021 à septembre 2022 dans le lac Oubeira.	81
Fig 59	Le coefficient de corrélation de Spearman entre les paramètres environnementaux, les morphotypes de <i>Cylindrospermopsis</i>	82
Fig 60	Concentration de la Cylindrospermopsine extracellulaire dans les eaux du lac Oubeira	83
Fig 61	Concentrations (ng/L) de la microcystine (MC-LR) dans les eaux de l'Oubeira	84
Fig 62	Concentrations de la Cylindrospermopsine chez l'anodonte collectée dans l'Oubeira	84
Fig 63	Concentrations de la MC-LR chez l'anodonte collectée dans l'Oubeira	85
Fig 64	Concentrations de la cylindrospermopsine (CYN) chez la carpe peuplant l'Oubeira	85
Fig 65	Concentrations de la microcystine (MC-LR) chez la carpe peuplant l'Oubeira	86

Liste des tableaux

Tableau	titres	page
Tab 1	Description des ordres des cyanobactéries et leurs principaux genres	8
Tab 2	liste des cyanotoxines et leurs structures chimiques	18-20
Tab 3	Données des températures enregistrées dans la région d'el Kala 2012-2022	25
Tab 4	Données des précipitations enregistrées dans la région d'el Kala 2012-2022	25
Tab 5	Données des vitesses du vent enregistrées dans la région d'el Kala 2012-2022	25
Tab 6	Données de l'humidité relative enregistrées dans la région d'el Kala 2012-2022	25
Tab 7	valeur de l'indice d'aridité et type de climat	26
Tab 8	valeurs moyennes des températures et précipitations (2012-2022)	27
Tab 9	les valeurs limites du système de classification trophique des eaux (selon l'O.C.D.E. (1982).	50
Tab 10	liste des genres identifiés dans les eaux collectées du lac Oubeira (2021-2022)	50
Tab 11	Diversité générique mensuelle des cyanobactéries collectées dans les eaux de l'Oubeira (2021-2022)	52
Tab 12	Fréquences d'occurrence et abondances relatives des genres identifiées	53
Tab 13	Fréquence d'occurrence et abondance relative des cyanobactéries collectées en période automnale	60
Tab 14	Fréquence d'occurrence et abondance relative des cyanobactéries collectées en période hivernale	62
Tab 15	Fréquence d'occurrence et abondance relative des genres recensés au printemps	65
Tab 16	. Fréquence d'occurrence et abondance relative des genres recensés en ét	60
Tab 17	Description statistique des variables environnementales enregistrées dans les eaux de l'Oubeira (2021-2022)	66
Tab 18	comparaison intersaison des valeurs médianes des paramètres physico-chimiques	67

Sommaire

Résumés	page
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
I. Introduction générale	1
1. Généralités sur les cyanobactéries	7
2. Taxonomie	7
3. Organisation structurelle	9
4. Diversité morphologique et reproduction	9
5. Habitat	11
6. Rôle écologique	12
7. Avantages compétitifs des cyanobactéries.	12
8. Facteurs favorisant la croissance des cyanobactéries	13
9. Métabolites secondaires.	15
9.1. Les hépatotoxines	15
9.2. Les neurotoxines	17
9.3. Les dermato toxines et les toxines irritantes	18
10.1 Risques liés aux cyanobactéries.	20
10.1.1. Risques liés à la consommation directe.	20
10.1.2. Risques liés à la bioaccumulation	21
II. Matériels et Méthodes	
1. Description du parc National d'El Kala	23
2. Réseau hydrographique	24
3. Cadre climatique	24
4. Description du site d'étude	27
4.1. Bassin versant du lac Oubeira	27
4.2. Le lac Oubeira	27
5. Stratégie et méthodes d'échantillonnage	28
5.1. in situ	28
5.1.1. Récolte de l'eau et mesures des paramètres physico-chimiques	28
5.1.2. Récolte des organismes aquatiques	29
5.2. Au laboratoire	31
5.2.1. Prétraitement des échantillons d'eau	31
5.2.2. Dosage des nutriments	32
5.2.3. Dosage de la chlorophylle-a	34
5.2.4. Identification et dénombrement des cyanobactéries collectées	35
5.2.5. Etude des morphotypes de <i>Cylindrospermopsis</i>	36
5.2.6 protocoles de dissection	37
5.2.7. Extraction et analyse des cyanotoxines à partir des cyanobactéries et des organismes	39
5.3. Tests statistiques.	40
III. Résultats	

1. Caractéristiques physico-chimiques des eaux du lac Oubeira	42
1.1. Température	42
1.2. Oxygène dissous	43
1.3. Le potentiel d'hydrogène	43
1.4. La conductivité	43
1.5. La turbidité	44
1.6. La transparence	45
1.7. Azote ammoniacal	45
1.8. Nitrates	46
1.9. Nitrites	47
1.10. Orthophosphates	48
1.11. Chlorophylles-a	48
2. Détermination du niveau trophique des eaux du lac Oubeira	49
3. Etude qualitative des cyanobactéries collectées dans les eaux du lac Oubeira	50
3.1. Inventaire	50
3.2. Fréquence d'occurrence et abondances relatives des cyanobactéries rencontrées	51
3.3. Variations spatiotemporelles des cyanobactéries	53
3.4. Distributions spatiotemporelles des cyanobactéries identifiées dans le lac Ouebria	54
3.4.1. <i>Cylindrospermopsis</i>	54
3.4.2. <i>Microcystis</i>	55
3.4.3. <i>Aphanizomenon</i>	56
3.4.4. <i>Geitlerinema</i>	57
3.4.7. Autres	58
3.4. Assemblage saisonnier des genres de cyanobactéries les plus abondants	59
3.5. Analyses statistiques des interactions entre les genres dominants et paramètres physicochimiques.	65
3.5.1. Analyse descriptives des données saisonnières.	66
3.5.2. Comparaison intersaison des paramètres physico-chimiques	66
3.5.3. Comparaison intersaison des genres dominants	66
3.5.4. Influence des paramètres physico-chimiques sur les paramètres biotiques	67
3.5.5. Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)	70
3.6. Caractéristiques morphologiques de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	71
3.6.1 Evolution de la biomasse de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> dans le lac Oubeira.	74
3.6.2. Morphotypes de l'espèce <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	75
3.7.1 Concentrations de la Cylindrospermopsine dans l'eau	82
3.7.2 Concentrations de la microcystine dans l'eau	82
3.8.1 Concentrations des Cyanotoxines chez l'anodonte	82
3.8.2 Concentrations des cyanotoxines chez la carpe	84
IV. Discussion générale	87
V. Conclusion	103
Annexes	105
Références bibliographiques	118

I. Introduction générale

Dans les systèmes écologiques, qu'ils soient naturels ou artificiels, les écosystèmes aquatiques sont souvent considérés comme les plus vastes et les plus stables, jouant un rôle crucial dans l'équilibre des cycles biogéochimiques et la biodiversité (ONU, 2000). Ils comprennent les milieux marins, estuariens, fluviaux et lacustres, et sont d'une importance capitale pour le maintien de la biodiversité, la régulation des cycles biogéochimiques et la fourniture de services écosystémiques. Au sein de ces écosystèmes aquatiques, l'eau représente la ressource la plus précieuse. Elle est essentielle et vitale, non seulement pour l'humanité, mais aussi pour l'ensemble du monde vivant (CE, 2011). Ses deux formes, l'eau de surface (rivières, lacs, eaux côtières et marines) et l'eau souterraine, constituent des ressources inestimables qu'il est impératif de préserver (Jeng, 2007).

L'eutrophisation figure parmi les phénomènes les plus préoccupants affectant les écosystèmes aquatiques. Contrairement aux eaux souterraines, les eaux de surface sont particulièrement vulnérables à ce processus croissant (Miller et al., 2017 ; Huisman et al., 2018). Ce phénomène résulte principalement d'un enrichissement excessif en nutriments, notamment en azote et en phosphore, provoqué par les activités humaines telles que l'agriculture (fertilisation, ruissellement des sols), les rejets urbains (eaux usées) et les activités industrielles (Smith et al., 1999 ; Carpenter et al., 1998). Il se manifeste par des efflorescences de micro-organismes photosynthétiques, principalement des algues et des cyanobactéries, dont l'ampleur et la fréquence sont en constante augmentation (Preece et al., 2017). Ces micro-organismes photosynthétiques, et en particulier les cyanobactéries, suscitent une vive préoccupation en raison des nuisances écologiques et sanitaires qu'ils engendrent (Sabart, 2009 ; Svircev et al., 2017). Ces eubactéries, dont la répartition géographique et écologique est très étendue (Paerl, 2018), prolifèrent particulièrement dans les milieux aquatiques calmes, tels que les barrages, où la stabilité de la colonne d'eau favorise leur développement (Bartram et al., 1999).

La prolifération de ces cyanobactéries induit des perturbations de l'écosystème aquatique en déséquilibrant la composition et la structure des communautés phytoplanctoniques, réduisant généralement la diversité de ces communautés (Steinberg & Gruhl, 1992 ; Steinberg & Hartmann, 1998).

Les efflorescences de cyanobactéries reflètent l'augmentation du phénomène d'eutrophisation dans plusieurs lacs et réservoirs à travers le monde (Paerl et al., 2001 ; Heisler et al., 2008). Ces efflorescences sont le plus souvent monospécifiques, ou constituées de seulement quelques espèces de cyanobactéries (Sarazin et al., 2002 ; Sabart, 2009). La plupart des cyanobactéries possèdent une remarquable capacité d'adaptation à des conditions environnementales extrêmes. Ainsi, certaines espèces du genre *Synechococcus* tolèrent des températures supérieures à 70 °C, tandis que des picocyanobactéries résistent à des pH aussi bas que 4, et *Prochlorococcus* peut s'activer sur une plage d'éclairement allant de moins de 1 à environ 2000 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (Manganelli et al., 2016). Cette flexibilité physiologique, conjuguée à une prolifération rapide, peut entraîner des épisodes d'anoxie : directement, par une consommation intense d'oxygène durant la nuit, ou indirectement, lors de la sénescence des cellules, via la dégradation bactérienne de la matière organique détritique (Paerl, 2001). Ces épisodes anoxiques sont souvent à l'origine de mortalités importantes parmi les organismes aquatiques, en particulier les poissons (Franko, 2009).

Outre les conséquences sur les écosystèmes aquatiques et leur fonctionnement, l'impact de la prolifération des cyanobactéries sur la qualité, la productivité et les usages des écosystèmes aquatiques est souvent très significatif. Les efflorescences de cyanobactéries peuvent engendrer des nuisances esthétiques, olfactives et gustatives (goûts et odeurs de l'eau désagréables) ; ces blooms peuvent aussi colmater les filtres des filières de traitement de l'eau. Ces problèmes peuvent limiter sévèrement les activités de loisirs (activités nautiques, baignades), la pêche, et l'utilisation de l'eau pour l'alimentation en eau potable (Franko, 2009).

La présence des espèces de cyanobactéries toxiques dans les eaux destinées à l'alimentation, l'irrigation et aux activités récréatives pose de graves problèmes pour la santé humaine et l'agriculture, puisqu'elles produisent des substances toxiques (cyanotoxines) qui sont potentiellement hépatotoxiques, neurotoxiques et/ou dermatotoxiques (Funari & Testai, 2008 ; Testai et al., 2016 ; Paerl, 2018).

Les cyanotoxines sont des métabolites secondaires des cyanobactéries toxiques ; elles recouvrent une grande variété de structures chimiques (peptides cycliques, alcaloïdes et lipopolysaccharides) et de propriétés toxiques (neurotoxines, hépatotoxines, dermatotoxines, cytotoxines) (Wiegand & Pflugmacher, 2005 ; Leflaive & Ten-Hage, 2007). Ces toxines sont intracellulaires et synthétisées par les populations de cyanobactéries en croissance, puis libérées dans le milieu à l'occasion de leur sénescence. Les effets des cyanotoxines sur la santé sont principalement observés suite à l'ingestion des eaux contaminées par les cyanobactéries et/ou leurs toxines ; l'eau de boisson peut être contaminée durant le traitement des eaux qui entraîne parfois la libération de la toxine). Les cyanotoxines peuvent pénétrer dans l'organisme par ingestion d'aliments tels que les coquillages et les poissons provenant de sites contaminés ou bien par ingestion des légumes arrosés avec de l'eau contaminée. L'homme peut être contaminé lors de baignades, par ingestion d'eau (voie orale) ou par inhalation d'aérosol lors du ski nautique (voie nasale) (De-Haro, 2008). La contamination de l'homme peut avoir lieu dans des circonstances plus exceptionnelles comme au Brésil, où 76 personnes ont trouvé la mort suite à une dialyse effectuée avec de l'eau contaminée (Duy et al., 2000 ; Dietrich & Hoeger, 2005).

La toxicité de ces substances dépend étroitement de leur concentration dans les plans d'eau (Codd et al., 2014). Parmi les cyanotoxines, les hépatotoxines notamment les microcystines (MC) et la cylindrospermopsine (CYN) sont les plus répandues et dangereuses, s'accumulant dans divers organismes aquatiques (zooplanctons, décapodes, mollusques, poissons, reptiles, oiseaux) et provoquant mortalités, malformations morphologiques, altérations physiologiques et comportementales (Ferraio-Filho et al., 2012).

Les hépatotoxines sont produites dans 40 à 75 % des blooms ; les plus communes étant les microcystines (MCs) (Zurawell et al., 2005). Les microcystines (MCs) ont été nommées d'après *Microcystis*, le premier genre de cyanobactéries associé à leur biosynthèse. Les microcystines sont des peptides cycliques de sept acides aminés, cinq acides aminés non protéiques et deux acides aminés protéiques variables dont les combinaisons multiples font la différence entre plus de 90 variantes de la toxine (Sivonen et Jones, 1999). Les MCs les plus fréquentes ont une masse moléculaire qui se situe entre 900 et 1100 Da (Van Apeldoorn et al., 2007). Les microcystines, reconnues pour leur stabilité exceptionnelle (Jones et Orr, 1994 ; Tsuji et al., 1994), représentent le groupe de toxines le mieux documenté (Vilar et al., 2022 ; De Figueiredo et al., 2004). Elles résistent aux traitements classiques de l'eau (Rositano et Nicholson, 1994) et se trouvent principalement confinées dans les cellules viables, leur concentration étant étroitement liée à l'abondance des espèces productrices. Libérées lors de la sénescence ou de la lyse cellulaire –

induites par des cyanophages, des conditions de croissance défavorables ou des traitements algicides – ces MCs contrastent avec la cylindrospermopsine, laquelle peut être présente à la fois liée aux cellules et dissoute dans l'eau, la forme extracellulaire étant prédominante (Chiswell et al., 1999 ; WHO, 2020 ; Everson et al., 2009). Dans les plans d'eau, la CYN se répartit sur toute la colonne d'eau, avec des concentrations maximales généralement observées dans l'hypolimnion.

Les MCs, une fois absorbées par l'organisme, sont rapidement concentrées dans le foie (Fischer et al., 2000) et se lient à la protéine phosphatase (Gupta et al., 2003). Les MCs sont de puissants inhibiteurs des protéines phosphatases 1 et 2A (PP1 et PP2) de la synthèse des acides aminés sérine et thréonine (Sivonen and Jones, 1999). Parmi les acides aminés que comportent les microcystines, l'acide aminé inhabituel Adda est souvent associé à la toxicité de la molécule; cette chaîne Adda se fixe aux protéines phosphatases 1 et 2A de la synthèse des acides aminés sérine et thréonine et les inhibent; Selon la dose et le poids corporel, l'inhibition de la protéine phosphatase peut conduire successivement à l'accumulation de protéines phosphorylées dans le foie, à la nécrose cellulaire, à une hémorragie massive et à la mort (Kuiper-Goodman et al., 1999). Toutes les variantes structurales des MCs n'ont pas le même niveau de toxicité. Hotto et al, (2007) rapportent que la DL₅₀, 24h intrapéritonéale (ip) chez des souris, peut varier de 25 à plus de 1200 µg/kg poids corporel ; Cette valeur peut différer en fonction de la variante de MCs mais MC-LR est généralement utilisée comme référence. Kuiper-Goodman et al., (1999) rapportent que la dose létale 50 (DL50) de MC-LR, après injection intrapéritonéale (i.p.) chez la souris, varie de 25 à 150 µg/kg (Kuiper-Goodman et al., 1999).

L'exposition aux cyanotoxines, telles que les microcystines et la cylindrospermopsine, a été liée à des épisodes de mortalité aiguë chez les animaux aquatiques, terrestres et même chez l'humain (Azevedo et al., 2002 ; Malbrouck et Kestemont, 2006). Bien que certains organismes aquatiques puissent tolérer la présence de ces toxines, ils agissent souvent comme des réservoirs, concentrant ces substances dans leurs tissus et facilitant leur transmission trophique (Berry et Lind, 2010). Des études ont ainsi démontré que, dans les écosystèmes d'eau douce, les bivalves et les poissons accumulent ces cyanotoxines par ingestion directe du phytoplancton contaminé, par absorption à travers les branchies ou la peau, ou via le transfert trophique (Ibelings et Chorus, 2007).

Si de nombreuses recherches ont rapporté les effets des microcystines sur divers organismes aquatiques (Paskerová et al., 2012), les informations concernant la cylindrospermopsine restent encore limitées.

Enfin, l'eutrophisation, exacerbée par les changements climatiques, conduit également à une réduction de la diversité phytoplanctonique, phénomène préoccupant dans les habitats d'eau douce soumis à d'importantes pressions anthropiques – notamment les changements d'utilisation des terres et l'introduction d'espèces non indigènes envahissantes (Havel et al., 2015 ; Ricciardi & Rasmussen, 1999; Leidenberger et al., 2015 ; Mehnert et al., 2010). Ces espèces, une fois introduites, réussissent souvent à s'établir rapidement, modifiant ainsi la structure et le fonctionnement des écosystèmes locaux. Parmi ces espèces émergentes, la cyanobactérie invasive *Cylindrospermopsis raciborskii* (également désignée *Raphidiopsis raciborskii*) se distingue par sa compétitivité. Sa capacité à fixer l'azote atmosphérique via des hétérocystes, à produire des akinètes résistantes aux conditions défavorables et à synthétiser des cyanotoxines tout cela favorise son installation dans de nouveaux habitats (Burford et al., 2016 ; Moisaner et al., 2002 ; Rzymiski et al., 2014 ; Soares et al., 2013). Originaire des régions tropicales, C.

raciborskii s'est progressivement étendue vers les zones tempérées et a été signalée dans divers environnements – des réservoirs oligotrophes aux lacs hypereutrophes, ainsi que dans de nombreuses rivières à travers le monde (Wilk-Woźniak et al., 2016).

Dans l'Est Algérien, les travaux sur l'inventaire et l'écologie des cyanobactéries ont débuté vers les années 90 et ont permis de révéler la présence d'un grand nombre de genres de cyanobactéries auxquels sont rattachées des espèces reconnues potentiellement toxiques (Amrani et al., 2014 ; Bouaïcha & Nasri, 2004 ; Charifi, 2022 ; Djabourabi et al., 2014 ; El Haouati et al. 2013 ; Guellati et al, 2018 ; Nasri et al., 2008, 2007, 2004 ; Saoudi et al., 2015 et 2017 ; Soumati et al., 2005 ; Touati, 2019).

Les études réalisées dans le lac Oubeira (Arif, 2022) mettent en évidence l'omniprésence du genre *Microcystis*, dominé principalement par l'espèce *Microcystis aeruginosa* représentant ainsi 44.14% de l'abondance relative globale ; Ses proportions saisonnières varient selon l'ordre croissant suivant : 40% (automne), été (44%), hiver (44%), Printemps (52%). Ailleurs en Algérie, dans les eaux de surface de Mexa, Charifi (2022) observe une prédominance de *Microcystis* en hiver, où il constitue 63 % de la densité totale. Le reste de l'année, sa densité diminue, atteignant environ 20 % en automne, 15 % au printemps, et moins de 3 % en été. Toujours à Mexa, lors de la campagne de 2010, Saoudi (2015) rapporte l'absence de *Microcystis* au printemps et sa forte abondance en hiver (janvier) et en automne (octobre), avec des densités dépassant 10 millions de cellules/mL ; toutefois, Lors de la campagne de 2011, *Microcystis* est absent de toutes les stations durant juillet et août, mais en octobre, sa biomasse dépasse à nouveau 10 millions de cellules/mL selon les stations. Dans la retenue du barrage Zit Emba, plus de 92 % de la densité totale de *Microcystis* est observée en été et en automne, représentant respectivement 45,34 % et 47,52 % de la densité globale, tandis qu'en hiver et au printemps, elle est nettement inférieure, avec seulement 4,29 % en hiver et 2,25 % au printemps (Touati, 2019).

La prédominance de *Microcystis* a également été observée dans les retenues de barrages de l'Est algérien utilisées pour l'approvisionnement en eau potable (Guellati et al., 2017 ; Nasri et al., 2007 ; Saoudi et al., 2015) ainsi qu'à l'échelle du Maghreb (El Herry et al., 2008 ; Oudra et al., 2002). Cette espèce est responsable de la formation d'efflorescences en Algérie (Nasri et al., 2007 et 2008 ; Ouarsi et al., 2011 ; Djabourabi et al., 2014 ; Amrani et al., 2014), en Tunisie (El Herry et al., 2008) et au Maroc (Oudra et al., 2002). Selon Harke et al. (2016). Le genre *Microcystis*. est distribué à l'échelle mondiale (Harke et al., 2016) et se développe principalement dans les écosystèmes aquatiques eutrophes et hypereutrophes durant la saison estivale (Mariani et al., 2015 ; Van Wichelen et al., 2016). D'après Wu et al. (2010) et Soares et al. (2012), les proliférations de *Microcystis* sont courantes dans les milieux abritant des cyanobactéries fixatrices d'azote, notamment celles des genres *Aphanizomenon*, *Dolichospermum* et *Cylindrospermopsis*.

Dans le lac Oubeira, l'espèce *Cylindrospermopsis racoborskii* a été identifiée pour la première fois en 2004 (Bouaïcha & Nasri, 2004) ; par la suite, cette espèce a été signalée dans les eaux du lac Oubeira, aussi bien en 2007 par Djabourabi (2014) qu'en 2009 par Boussadia (2015) ; Durant la campagne de 2009, *Cylindrospermopsis*, bien que rencontré dans 5 sur les 6 stations échantillonnées, était considéré comme accessoire. Durant cette campagne, l'espèce *Cylindrospermopsis raciborskii* est rencontrée en période estivale et automnale à des densités comprises entre 220 et plus de 700 000 cell/ml. Durant la campagne de 2015, le genre *Cylindrospermopsis* est considéré comme accessoire et en termes

d'abondance, il représente plus de 3.5% de l'abondance globale ; Il n'est présent que durant 5 mois de l'année (Arif, 2022).

En ce qui concerne les cyanotoxines, il est rapporté, dans les eaux de l'Oubeira, la présence de la microcystine LR à des concentrations comprises entre 0,1 et 0,36 µg d'équivalent par litre d'eau (Bouaicha et Nasri, 2004); ce qui représente, selon Falconer (1998), un risque lors d'exposition chronique. Dans le barrage Mexa, l'utilisation du test ELISA pour le dosage de microcystines intracellulaires de cyanobactéries a montré que les teneurs n'excédaient pas 0,77 µg/l en période de blooms (Saoudi, 2007 ; Ouartsi et al., 2011). C'est dans le réservoir de Ain Zada, que Saoudi et al (2016) montraient pour la première fois la présence de microcystine LR aussi bien dans les eaux brutes que dans les eaux traitées ; ces auteurs notaient, en date du 13 juin 2013, des concentrations en MC LR de l'ordre de 6.3 MC-LR équivalent dans l'eau traitée. Dans les eaux brutes du réservoir de Zit Emba, Touati (2018) note la présence, à longueur d'année, de la microcystine à des concentrations comprises dans l'intervalle (0,04–5,74 ug/L) ; dans les eaux de surface de ce barrage, cet auteur note que c'est en période estivale et automnale que les concentrations de plus de 1 ug MC-LR équivalent /L sont enregistrées.

Partout dans le monde, le déficit en eau par rapport aux besoins de la population ne cesse d'augmenter ; Par ailleurs, cette situation risque de s'aggraver au cours des prochaines années du fait de l'impact des changements climatiques tel que signalé par de nombreux auteurs (Heisler et al, 2008; Reichwaldt et Ghadouani, 2012). Selon O'Neil et al., (2012), l'occurrence et l'intensité des efflorescences de cyanobactéries sont susceptibles d'être favorisées par le réchauffement climatique global.

Pour la surveillance des écosystèmes aquatiques, les méthodologies de surveillance qui ont été développées comprennent toujours un volet d'observation des microalgues sur les sites, les interactions de ces microalgues avec les paramètres environnementaux ainsi que la recherche d'un potentiel toxique et/ou une reconnaissance des toxines via des tests de toxicité ou par voie chimique, biochimique ou immunologique (Franko, 2009).

Ces travaux sont une continuité des études antérieures portant sur les Cyanobactéries et leur dynamique spatio temporelle dans le lac Oubeira dont les eaux sont destinées à l'irrigation et l'exploitation aquacole (collecte de carpes, de barbeaux et d'anguilles)

Le choix de cette thématique repose principalement sur le fait que la connaissance des espèces de cyanobactéries présentes dans les eaux de ces deux réservoirs et leur dynamique spatio-temporelle permettra de mieux évaluer les périodes à risques pour les usagers et de mettre en place un programme de suivi adéquat.

Dans ce contexte, nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- La caractérisation de la qualité physico chimique des eaux d'un lac d'eau douce (le lac Oubeira) en mesurant la température, l'oxygène dissous, le pH, la conductivité, la transparence, la turbidité et les sels nutritifs (nitrate, nitrite, ammonium et phosphore) ;
- L'inventaire des cyanobactéries présentes dans ce plan d'eau et l'étude de leur dynamique spatiale et temporelle ;
- Le dosage, par l'application du test ELISA, de la microcystine LR et la cylindrospermopsine au niveau de l'habitat (eau) et de la biocénose (un mollusque bivalve "anodonte" et un poisson "carpe")
- L'étude de l'influence des paramètres environnementaux mesurés (biotiques et abiotiques) sur le développement et la croissance des cyanobactéries recensées, par l'application d'analyses statistique appropriées en utilisant le logiciel "R".

- L'étude et description de la morphologie de la cyanobactérie *Cylindrospermopsis raciborskii* ainsi que les paramètres qui influencent sa croissance

Organisation de la thèse :

Cette thèse s'articule autour de 4 grandes parties :

Partie I - Synthèse bibliographique : dans cette partie sera présenté l'état des connaissances, dans lequel, nous rappelons les caractéristiques morphologiques et éco-physiologiques des cyanobactéries, les avancées de la recherche, en termes, d'adaptation de ces microorganismes et surtout leur impact socio-économique et écologique afin d'apporter des éléments permettant de mieux comprendre l'occurrence des cyanobactéries et les mesures recommandées.

Partie II - Matériel et méthodes : cette partie comporte une présentation des caractéristiques géomorphologique, pédologiques, hydrauliques et climatologique de la zone d'étude ; elle comprend le matériel ainsi que les différentes méthodes et techniques utilisées pour l'identification des cyanobactéries, leur dénombrement, l'étude des paramètres abiotiques, le dosage de microcystines ainsi que les méthodes statistiques réalisées pour l'explication des résultats obtenus.

Partie III - Résultats : Cette partie traitera a) de la caractérisation physique et chimique de ce plan d'eau ; b) de l'inventaire des cyanobactéries et leur dynamique spatiale et temporelle ; c) de l'installation des nostocales dans les eaux de l'Oubeira ; d) ainsi que l'analyse des biomasses des différents morphotypes de l'espèce *Cylindrospermopsis raciborskii* ; e) le dosage des cyanotoxines (*Cylindrospermopsine* et *Microcystine-LR*) dans deux organismes aquatiques du lac Oubeira (l'anodonte et la carpe). Une attention particulière sera portée à leur accumulation dans différents tissus, et des tests statistiques appropriés seront appliqués pour en analyser les résultats.

Partie IV- discussion de l'ensemble des résultats obtenus ; Nous terminerons le document par une conclusion générale avec recommandation et perspectives et bien sûr les références bibliographiques et des annexes.

Etat des connaissances

1. Généralités sur les cyanobactéries :

Les cyanobactéries, ou algues bleues, sont des micro-organismes aquatiques procaryotes capables de réaliser une photosynthèse, produisant de l'oxygène en utilisant l'eau comme donneur d'électrons. Elles constituent le groupe phytoplanctonique dominant dans les masses d'eau douce eutrophes à l'échelle mondiale et sont présentes sur terre depuis environ 3 milliards d'années (Paerl et Paul, 2012). Grâce à cette longue histoire évolutive, elles ont colonisé une vaste diversité d'écosystèmes, des régions équatoriales jusqu'aux pôles.

À l'état naturel, les cyanobactéries se trouvent en faibles concentrations (moins de 20 000 cellules/mL) dans les milieux aquatiques, sans impacts notables. Cependant, lorsque les conditions environnementales deviennent favorables, certaines espèces peuvent proliférer rapidement et former des efflorescences massives (Marmen et al., 2016). Autrefois classées parmi les végétaux en raison de leur capacité à effectuer la photosynthèse, elles ont ensuite été reclassées comme procaryotes à la suite d'analyses détaillées de leur structure cellulaire, révélant notamment leur coloration Gram négatif et l'absence d'organites intracellulaires tels que les mitochondries et le réticulum endoplasmique.

Elles sont responsables du maintien de la stabilité structurelle et de la fertilité de nombreux milieux aquatiques et terrestres. Elles ont également été recensées dans de nombreuses associations symbiotiques réalisées avec des plantes, des algues, des protistes ainsi que des animaux (Whitton et Potts, 2000) et leurs utilisations dans divers domaines, tels que la pharmacutique, la cosmétique, les bioénergies, et l'agroalimentaire, sont en cours de réflexion et/ou d'optimisation (Singh et al., 2005). Cependant, dans les écosystèmes aquatiques, les efflorescences de cyanobactéries toxiques perturbent fortement le fonctionnement biologique et les usages associés (eau potable, loisirs, pêche). Ces phénomènes, en hausse depuis plusieurs décennies, sont principalement liés à l'eutrophisation anthropique et au réchauffement climatique (O'Neil et al., 2012).

2. Taxonomie

Autrefois désignées sous les noms d'algues bleues, cyanophycées ou cyanophytes, les cyanobactéries appartiennent au règne des bactéries dans l'arbre phylogénétique du vivant (Bernard, 2014). Ce groupe d'organismes, phylogénétiquement ancien, colonise une grande variété d'écosystèmes (Whitton, 2012). Leur classification demeure complexe, et leur système taxonomique a été profondément révisé, notamment grâce aux avancées de la microscopie électronique et aux méthodes moléculaires et génétiques (Komárek et al., 2014).

Basées sur la classification de Komárek et Anagnostidis, (1989) et révisées par Komárek et al. (2014), les Cyanobactéries peuvent être divisées en huit ordres : Chroococcales, Chroococciopsidales, Gloeobacterales, Oscillatoriales, Nostocales, Pleurocapsales, Spirulinales et Synechococcales qui regroupent plus de 2000 espèces. (Tab.1).

Tableau 1 : Description des ordres des cyanobactéries et leurs principaux genres

Ordres	Description brève	Principaux genres
Chroococcales	a été considérablement réduit dans la nouvelle classification proposée par Komárek et al. (2014). Il regroupe plus de 120 espèces (McGregor, 2013) et comprend uniquement les Cyanobactéries de formes coccoïdales qui ont des thylakoïdes plus ou moins irréguliers	<i>Aphanothece</i> , <i>Chroococcus</i> , <i>Gloeocapsa</i> , <i>Gloethece</i> , <i>Gomphosphaeria</i> , <i>Microcystis</i> , <i>Radiocystis</i>
Chroococciopsidales	Les individus de cet ordre vivent généralement dans des environnements extrêmes (Bahl et al., 2011).	<i>Chroococciopsis</i>
Gloeobacterales	Les cyanobactéries de ce taxon monophylétique sont les seules à ne pas posséder de thylakoïdes (Komárek et al., 2014).	<i>Gloeobacter</i>
Oscillatoriales	regroupe des Cyanobactéries filamenteuses, avec des trichomes étroits et des arrangements de thylakoïdes complexes, il comprend près de 50 genres (Strunecký et al., 2013).	<i>Arthrospira</i> , <i>Cyanothece</i> , <i>Lyngbya</i> , <i>Microcoleus</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Phormidium</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Plectonema</i> , <i>Trichodesmium</i>
Nostocales	regroupe généralement des Cyanobactéries filamenteuses, sans vrai embranchement, pouvant produire des hétérocystes et des akinètes, selon les conditions environnementales qui prévalent. Le taxon compte plus de 100 genres et environ 270 espèces marines et d'eau douce. (Komárek et al., 2013).	<i>Aphanizomenon</i> , <i>Calothrix</i> , <i>Cuspidothrix</i> , <i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Dolichospermum</i> (anciennement nommé <i>Anabaena</i>), <i>Fischerella</i> , <i>Gloeotrichia</i> , <i>Nodularia</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Scytonema</i> , <i>Stigonema</i> , <i>Rivularia</i>
Spirulinales	La « spiruline » alimentaire, principalement composée d' <i>Arthrospira platensis</i> , est très différente phylogéniquement et cytologiquement du genre <i>Spirulina</i> . Elle appartient plutôt au genre <i>Arthrospira</i> de l'ordre des Oscillatoriales (Komárek et al., 2014).	<i>Spirulina</i> , <i>Halosprulina</i> et <i>Glaucospira</i>
Synechococcales	est composé de Cyanobactéries unicellulaires, coloniales ou filamenteuses qui sont marines ou d'eau douce. Cet ordre comprend plus de 70 genres. (Komárek et al., 2014).	<i>Aphanocapsa</i> , <i>Chamaesiphon</i> , <i>Coelomoron</i> , <i>Coelosphaeriopsis</i> , <i>Coelosphaerium</i> , <i>Leptolyngbya</i> , <i>Limnothrix</i> , <i>Geitlerinema</i> , <i>Thermosynechococcus</i> , <i>Merismopedia</i> , <i>Planktolyngbya</i> , <i>Prochloron</i> , <i>Pseudanabaena</i> , <i>Prochlorococcus</i> , <i>Romeria</i> ,

		<i>Siphonosphaera</i> , <i>Snowella</i> , <i>Synechococcus</i> , <i>Wolskyella</i> et <i>Woronichiana</i>
Pleurocapsales	est monophylétique, mais le séquençage des différentes espèces qui le compose est encore rudimentaire, car nombre d'entre elles sont difficilement transférables en culture pure (Komárek et al., 2014).	Il comprend une vingtaine de genres dont le plus connu est <i>Pleurocapsa</i> (Whitton, 2011).

3. Organisation structurale

Les cyanobactéries, bien que dépourvues de noyau et d'organites comme les procaryotes, possèdent une paroi cellulaire de type Gram négatif. Elles partagent aussi des caractéristiques avec les cellules végétales eucaryotes, notamment un système photosynthétique complexe comprenant deux photosystèmes activés par des pigments photosynthétiques (Sotton, 2012).

Les photosystèmes des cyanobactéries sont alimentés en photons par la chlorophylle-a et divers caroténoïdes présents dans la membrane des thylakoïdes. Les phycobiliprotéines, situées dans les phycobilisomes en dehors des thylakoïdes, capturent une grande partie de l'énergie lumineuse nécessaire à la photosynthèse (Stanier & Cohen-Bazire, 1977).

Chez certaines espèces filamenteuses, des structures spécialisées comme les akinètes et les hétérocystes sont présentes. Les akinètes, cellules de dormance riches en ADN ainsi qu'en réserves azotées et carbonées, se forment lorsque les conditions environnementales se dégradent, permettant la sporulation une fois les conditions redevenues favorables (Lubzens et al., 2010).

Les hétérocystes, cellules à paroi épaisse, permettent aux cyanobactéries de fixer le diazote atmosphérique (N_2), leur conférant un avantage compétitif face aux autres espèces algales en cas de carence en azote minéral (Carey et al., 2012). Certaines cyanobactéries possèdent également des vésicules à gaz, leur permettant de se déplacer verticalement pour atteindre les strates optimales à la photosynthèse au fil des cycles nyctéméraux et saisonniers (Carey et al., 2012).

4. Diversité morphologique et reproduction :

Les cyanobactéries se distinguent par une grande diversité de formes et de tailles. Elles se répartissent en trois principaux types d'organisation morphologique : i) unicellulaire, ii) coloniale, et iii) filamenteuse pluricellulaire. Les cyanobactéries unicellulaires adoptent des formes variées, notamment sphériques, cylindriques ou ovoïdes. (Fig1)

Les cyanobactéries présentent trois types de cellules distinctes :

- **Les cellules végétatives** : Peu différenciées, elles se caractérisent par une diversité de couleurs due à la composition en pigments photosynthétiques et en substances hélioprotectrices. Elles peuvent contenir des vésicules à gaz ou aérotopes, structures favorisant leur flottabilité et leur déplacement dans la colonne d'eau (Komarek et al., 2003).

- **Les hétérocystes** : À paroi épaisse et contenu homogène, ils adoptent des formes sphériques, cylindriques ou coniques. Leur position dans le trichome peut être intercalaire, terminale (à une ou deux extrémités), ou latérale. Généralement solitaires, ils peuvent apparaître en paire ou, plus rarement, en série. Ces cellules spécialisées, présentes uniquement chez certaines formes filamenteuses et sous des conditions écologiques spécifiques, fixent l'azote moléculaire dissous dans l'eau, le transformant en azote assimilable grâce à une enzyme, la nitrogénase (Wolk, 1996).
- **Les akinètes** : À paroi épaisse, ces cellules jouent un rôle dans la survie des cyanobactéries en conditions défavorables.

La multiplication cellulaire des formes unicellulaires se fait par fission binaire (Bernard, 2014). Les organismes unicellulaires qui ne forment pas de colonies sont souvent des picocyanobactéries, de taille inférieure à 2-3 μm , comme *Synechococcus*. Ces formes unicellulaires peuvent aussi s'agréger dans un mucilage, riche en exopolysaccharides, à la suite de divisions cellulaires multiples. Ces agrégats donnent lieu à des colonies dont la forme, plus ou moins régulière, varie selon les espèces (e.g., *Chroococcales*). (Bourrely, 1985).

Les formes filamenteuses, ou trichomes, résultent de divisions cellulaires sur un plan unique. Elles peuvent être unisériées (*Oscillatoriales*, *Pseudanabaenales*, *Nostocales*) ou plurisériées, comportant une ou plusieurs rangées de cellules jointives. Certaines sont entourées d'une gaine de polysaccharides, d'une couche de mucilage, ou présentent des ramifications, qu'elles soient vraies ou fausses (*Stigonematales*). La dispersion des formes filamenteuses se fait généralement par fragmentation du trichome au niveau de cellules dégénérantes appelées nécridies. (Bourrely, 1985).

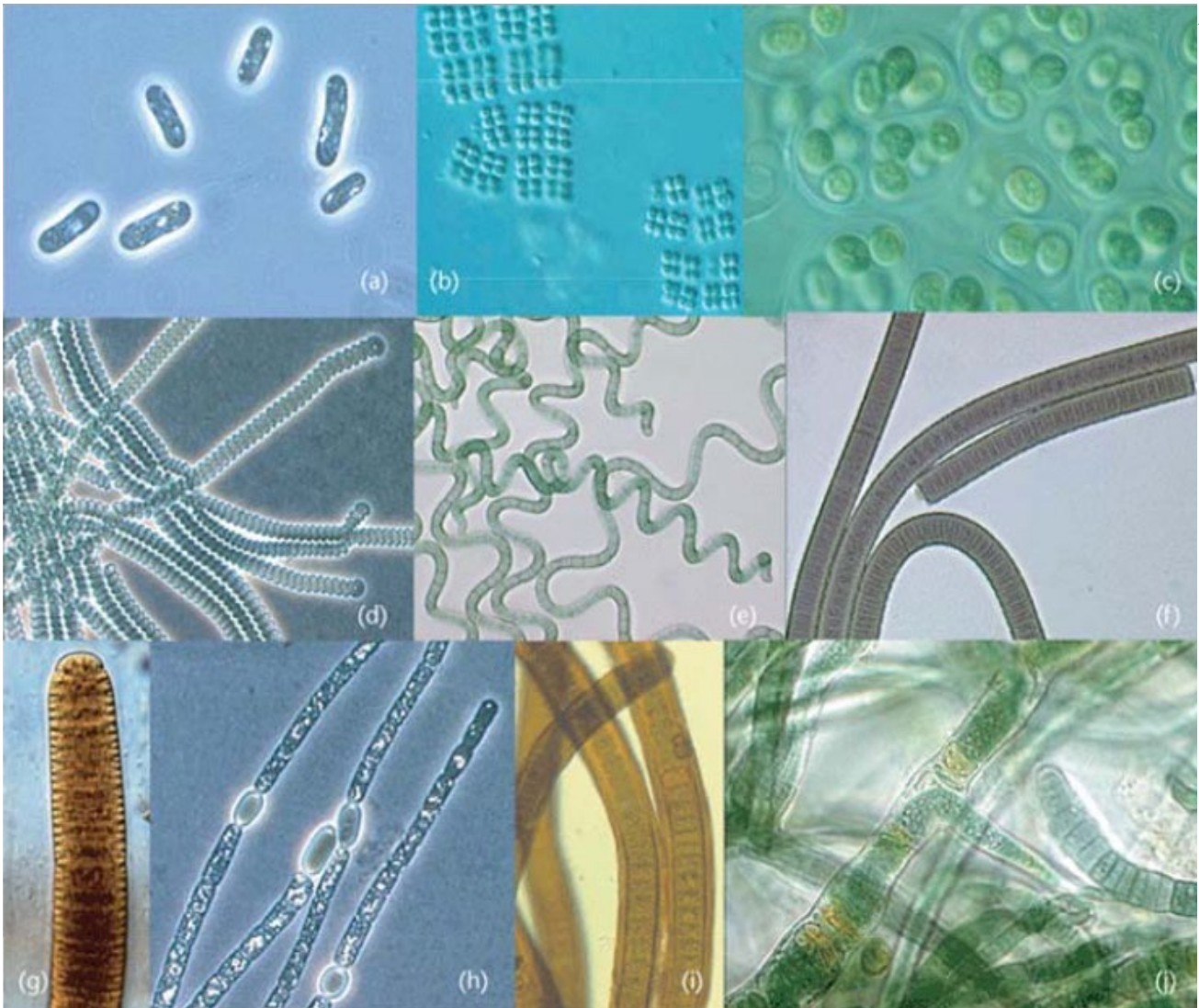


Figure 1 : Diversité morphologique des cyanobactéries. Unicellulaire : (a) cellules uniques de Cyanosphaera, (b) : colonies régulières de Merismopedia punctata, (c) : colonies irrégulières de Gloeotheca. Filamenteuses, sans hétérocystes : (d) Spirulina sp. € Arthrospira sp, (f) Planktothrix sp, (g) Hydrocoleum. Filamenteuses avec hétérocystes : (h) Aphanizomenon flos-aquae, (i) Scytonema sp et (j) Stigonema s, cyanobactérie filamenteuse avec hétérocystes et trichomes branchés.

5. Habitat :

Les cyanobactéries sont présentes dans une grande diversité d'habitats, allant des milieux aquatiques aux environnements désertiques. Elles sont les seuls organismes photosynthétiques capables de survivre dans des eaux thermales à des températures dépassant 56 °C et dans des eaux de pH varié. (Mezouari, 2017). Elles colonisent également les rochers, où elles vivent en symbiose avec des champignons (Brehm et al., 2003), notamment dans les lichens (Miura & Yokota, 2006). Certaines sont endolithes, perforant les roches pour s'y abriter, ou endophytes, se développant dans les feuilles de fougères aquatiques. Dans les milieux aquatiques, elles peuvent être planctoniques, flottant dans la colonne d'eau, ou benthiques, fixées ou proches de divers substrats (roches, coraux, algues, animaux) et parfois enfouies dans les sédiments (Mezouari, 2017).

6. Rôle écologique :

Apparues il y a 2 à 3 milliards d'années (Awramik, 1992), les cyanobactéries sont les premiers organismes à réaliser la photosynthèse oxygénique (Des-Marais, 2000), contribuant à l'oxygénation de l'océan primitif et de l'atmosphère, ce qui a permis le développement de la vie aérobie (Dismukes et al., 2001). Selon la théorie endosymbiotique (Martin & Kowallik, 1999), les chloroplastes des eucaryotes descendraient d'un ancêtre des cyanobactéries (Macfaden, 2001).

Ces organismes jouent encore aujourd'hui un rôle majeur dans le cycle de l'oxygène et la production primaire, notamment dans le picoplancton et le nanoplancton des océans tempérés et tropicaux (Moran, 2007). Certains genres fixent également l'azote atmosphérique, contribuant à des fonctions écologiques et économiques importantes, comme *Dolichospermum* (anciennement *Anabaena*), qui vit en symbiose avec *Azolla*, une fougère aquatique utilisée comme engrais dans les rizières asiatiques (Peters & Meeks, 1989).

Cependant, les cyanobactéries sont aussi associées à des problématiques environnementales et sanitaires liées à leurs proliférations massives en milieu aquatique, appelées « fleurs d'eau », souvent causées par l'eutrophisation des eaux.

7. Avantages compétitifs des cyanobactéries :

Les cyanobactéries possèdent de nombreuses adaptations à l'origine de leur supériorité compétitive dans les milieux aquatiques d'eaux douces (Carey et al., 2012). La dominance des cyanobactéries et l'exclusion compétitive des autres taxons phytoplanctoniques sont principalement observées dans les milieux eutrophes à hypereutrophes (Xie et al., 2005). Toutefois, des proliférations significatives ont également été signalées dans des milieux en phase de ré-oligotrophisation (Jacquet et al., 2005).

7.1. Utilisation de la lumière et adaptations aux conditions lumineuses

Les cyanobactéries disposent de pigments photosynthétiques variés (chlorophylle a, caroténoïdes, phycobiliprotéines) leur permettant d'exploiter un large spectre lumineux, assurant une photosynthèse efficace même à faible intensité lumineuse. Cela leur permet de coloniser des zones profondes sous l'épilimnion ou des eaux turbides (Dokulil et Teubner, 2012). Elles ajustent également leur composition pigmentaire, notamment le ratio phycocyanine/phycoérythrine, selon les conditions lumineuses, un phénomène appelé « adaptation chromatique complémentaire » (Grossman et al., 2003). Par ailleurs, les cyanobactéries de surface protègent contre les UV grâce à la synthèse de composés spécifiques, tels que des analogues de mycosporine, des gaines polysaccharidiques et des caroténoïdes (Sommaruga et al., 2009).

7.2. Migration verticale

Les migrations verticales des cyanobactéries, essentielles à leur domination des habitats, dépendent de leurs vésicules à gaz, du volume de ces vésicules, de la synthèse ou dégradation des composés photosynthétiques, et de la taille des colonies (Carey et al., 2012). Des espèces comme *Planktothrix*, *Anabaena* et *Microcystis* utilisent ces vésicules pour se déplacer entre les eaux de surface lumineuses

et les eaux profondes riches en nutriments. La flottabilité varie selon la lumière : en forte luminosité, l'accumulation d'hydrates de carbone réduit la flottabilité, tandis qu'en faible luminosité, leur consommation et la formation de nouvelles vésicules l'augmentent (Walsby et al., 2006). La disponibilité en azote et phosphore influence également cette flottabilité (Brookes et Ganf, 2001). Par exemple, *Planktothrix rubescens* utilise ses vésicules pour coloniser le métalimnion riche en nutriments, évitant ainsi les conditions stressantes de l'épilimnion (Jacquet et al., 2005).

7.3. Utilisation des nutriments

Les cyanobactéries possèdent diverses inclusions cellulaires qui leur permettent de s'adapter aux faibles concentrations en nutriments. Elles stockent le phosphore sous forme de granules de polyphosphates et l'azote sous forme de cyanophycine (Allen, 1984). De plus, certaines espèces filamenteuses, grâce à leurs hétérocystes, fixent le diazote atmosphérique et le convertissent en azote minéral assimilable via l'action de la nitrogénase.

8. Facteurs favorisant la croissance des cyanobactéries

Le succès écologique et la dominance des cyanobactéries en milieux aquatiques sont principalement liés à des facteurs physicochimiques, à la stabilité de la colonne d'eau et à des conditions météorologiques favorables (Levi, 2006). Si des proliférations de cyanobactéries benthiques ont été signalées dans des lacs oligotrophes suisses (Mez et al., 1997), elles sont plus fréquentes dans les milieux eutrophes enrichis en nutriments, notamment par les activités urbaines et agricoles, et se manifestent souvent lorsque les masses d'eau sont stratifiées en été (Benayache et al., 2019). Ces conditions favorisent la dominance des cyanobactéries grâce à leurs adaptations, telles que la fixation de l'azote atmosphérique et leur capacité à réguler leur flottabilité pour maximiser l'accès à la lumière (Sotton, 2012).

Le réchauffement climatique et l'augmentation des concentrations en CO₂ atmosphérique pourraient également amplifier les proliférations, comme suggéré par des études sur des étés exceptionnellement chauds (Jöhnk et al., 2008) et les effets du CO₂ (Elliott et al., 2005). Cependant, des exceptions, comme l'absence de développement significatif de cyanobactéries dans certains lacs français pendant l'été caniculaire de 2003, montrent que ces hypothèses doivent être prises avec prudence (Sabart, 2009). À ce jour, il reste difficile de prévoir avec précision l'ampleur et la durée des proliférations.

8.1. Facteurs physicochimiques

Les principaux paramètres physicochimiques influençant les blooms cyanobactériens incluent la température de l'eau, la turbidité, la lumière, le pH et la disponibilité en nutriments. La croissance des cyanobactéries se produit généralement à des températures optimales comprises entre 25 et 35 °C (Reynolds & Walsby, 1975). Cependant, des efflorescences ont également été observées à des températures plus basses, tôt au printemps, tard en automne, voire sous un couvert de glace (Reynolds & Walsby, 1975). La réponse des cyanobactéries à de faibles températures varie selon les genres. Par exemple, Robarts & Zohary (1987) ont montré que le genre *Microcystis* est plus fortement affecté par les basses températures que d'autres genres.

Une turbidité modérée favorise la prédominance des cyanobactéries, mais une turbidité excessive peut réduire les teneurs en phosphate et limiter leur croissance. Par ailleurs, des turbulences et des débits d'eau élevés inhibent leur développement en perturbant leur position dans la colonne d'eau (Coute & Bernard, 2001).

Les cyanobactéries peuvent croître à de faibles intensités lumineuses grâce à leurs pigments photosynthétiques, notamment les phycobiliprotéines, qui leur permettent d'utiliser une large partie du spectre lumineux (Huisman et al., 1999). Leur croissance est favorisée par une intensité lumineuse modérée et une bonne oxygénation, mais un éclairage trop intense peut les inhiber (Skulberg, 1984). Certains genres, comme *Microcystis*, s'adaptent mieux aux journées courtes que d'autres, tels que *Dolichospermum* (*Anabaena*).

Les pigments photosynthétiques des cyanobactéries leur permettent de capter la lumière rouge-orangé disponible en profondeur, après le filtrage du violet et du rouge par la chlorophylle-a en surface (Chorus & Bartram, 1999 ; Valentine, 2004). La chlorophylle-a, corrélée à la biomasse des organismes photosynthétiques, est un paramètre clé pour évaluer l'état trophique d'un plan d'eau, conformément aux recommandations de l'OMS (Chorus & Bartram, 1999 ; Brient et al., 2004). De plus, un milieu basique, riche en bicarbonate et carbonate, favorise la croissance des cyanobactéries (Coute & Bernard, 2001). Lors des efflorescences, la photosynthèse intensive réduit le dioxyde de carbone dissout, augmentant le pH et stimulant davantage leur prolifération.

Les pigments des cyanobactéries captent la lumière rouge-orangé en profondeur, après le filtrage des longueurs d'onde par la chlorophylle-a présente en surface (Chorus & Bartram, 1999 ; Valentine, 2004). La chlorophylle-a est corrélée à la biomasse photosynthétique et constitue un paramètre recommandé par l'OMS pour évaluer l'état trophique des eaux (Chorus & Bartram, 1999 ; Brient et al., 2004). Par ailleurs, un milieu basique, riche en bicarbonate et carbonate, favorise leur développement (Coute & Bernard, 2001). Lors des efflorescences, la consommation accrue de dioxyde de carbone dissout augmente le pH, renforçant la prolifération des cyanobactéries.

Un pH alcalin favorise particulièrement la croissance des cyanobactéries, certaines espèces comme celles du genre *Arthrospira* prospérant dans des eaux très minéralisées, chaudes et alcalines, avec des proliférations possibles jusqu'à un pH de 11 (Coute & Bernard, 2001). Cependant, ces organismes peuvent également se développer dans des milieux acides, comme les tourbières (Coute & Bernard, 2001). Lors d'efflorescences, le pH des eaux est généralement compris entre 7 et 10 (Rippka, 1988), cette alcalinisation résultant de la consommation de CO₂ par les cyanobactéries lors de la photosynthèse. Cette activité limite la croissance des autres algues en modifiant les équilibres entre CO₂, H₂CO₃, HCO₃⁻ et CO₃²⁻, augmentant ainsi le pH (Shapiro, 1997).

La disponibilité en nutriments, particulièrement en phosphore et, dans une moindre mesure, en azote, est cruciale pour la croissance des cyanobactéries. Les proliférations entraînent souvent une réduction marquée des concentrations d'azote, que les cyanobactéries compensent en utilisant les nitrates ou en assimilant l'azote atmosphérique, un avantage compétitif sur d'autres phytoplanctons (Chorus & Bartram, 1999 ; Valentine, 2004). Le phosphore, essentiel et souvent limitant en milieu dulçaquicole, est critique pour leur développement, notamment sous forme d'orthophosphates (>50 µg/L), et favorise

les efflorescences dans les milieux eutrophes (Chorus & Mur, 1999). Lorsque le rapport azote/phosphore descend en dessous de 4,5, les cyanobactéries peuvent prospérer même en conditions carencées en azote (Codd & Poon, 1988). Par ailleurs, le fer joue un rôle clé dans la photosynthèse, et son enrichissement favorise la croissance des cyanobactéries au détriment des algues eucaryotes (Hyenstrand et al., 1998).

8.2. Stabilité de la colonne d'eau :

Les eaux calmes et stagnantes comme les eaux de barrages sont habituellement caractérisées par le phénomène de stabilité de leurs colonnes d'eau qui sont généralement stratifiées. Cette caractéristique permet, au moment du développement de l'efflorescence, la sélection des espèces les plus compétitives (Valentine, 2004).

8.3. Conditions météorologiques favorables :

Les conditions météorologiques telles que la température de l'air, la direction du vent dominant, l'ensoleillement, et la pluie sont corrélées aussi bien avec l'abondance des cyanobactéries qu'avec le volume de toxines produit (Brient et al., 2004).

9. Métabolites secondaires

Les cyanobactéries produisent une large variété de petits peptides et oligopeptides, considérés comme des métabolites secondaires sans lien direct avec les fonctions cellulaires primaires, telles que la reproduction (Welker et Von Döhren, 2006). Bien que leurs rôles soient encore mal compris, ces composés confèrent probablement un avantage environnemental aux cyanobactéries. Par exemple, des molécules comme la scytonémine et la mycosporine, agissant comme "écrans solaires", les protègent des rayonnements UV (Gao et Garcia-Pichel, 2011).

Les métabolites secondaires des cyanobactéries, d'une remarquable diversité, sont étudiés pour des applications variées, notamment dans la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques (Nunnery et al., 2010) et le développement de biocarburants (Hellier et al., 2016). Parmi eux, les cyanotoxines représentent une catégorie préoccupante en raison de leur toxicité pour les animaux supérieurs et de leurs impacts sur l'environnement et la santé humaine (Pantelic et al., 2013). Ces toxines, produites principalement lors d'efflorescences cyanobactériennes, incluent des hépatotoxines, neurotoxines et dermatotoxines (Harke et al., 2016). Leur production varie selon les espèces et reste difficile à prédire en milieu naturel malgré les progrès en chimie analytique (Chen et al., 2012) et biologie moléculaire (Rantala-Ylinen et al., 2011).

9.1. Les hépatotoxines

Les hépatotoxines sont les toxines cyanobactériennes les plus couramment détectées lors des blooms et les principales responsables des cas d'intoxications (Sotton, 2012). Elles incluent les microcystines, les nodularines et la cylindrospermopsine. Chez les vertébrés, ces toxines provoquent des lésions hépatiques en inhibant les protéines phosphatases (PP) 1, 2A et 3 (Honkanen et al., 1994). En outre, des effets carcinogènes, génotoxiques, ainsi que des altérations fonctionnelles et structurelles des reins

et des intestins ont également été signalés (Van Apeldoorn et al., 2007).

9.1.1. Les Microcystines

Les cyanobactéries hépatotoxiques telles qu'*Anabaena*, *Microcystis* et *Planktothrix* forment des blooms contenant un mélange de cellules toxiques et non toxiques. Les cellules toxiques possèdent les gènes nécessaires à la synthèse des microcystines (MCs), tandis que les cellules non toxiques ont des clusters de gènes absents, incomplets ou inactivés (Ostermaier et al., 2012). Les microcystines sont des heptapeptides constitués de sept acides aminés, dont deux inhabituels : la N-méthyl-déshydroalanine (Mdha) et l'acide Adda (acide amino-méthoxy-triméthyl-phényldiénoïque). L'acide aminé Adda est crucial pour leur toxicité. (Tab 2) Plus de 246 analogues de microcystines ont été identifiés, le plus fréquent étant la microcystine-LR (Spooft et Arnaud, 2017).

Les microcystines sont des inhibiteurs puissants des phosphatases eucaryotes PP1 et PP2A, ce qui perturbe la phosphorylation des protéines dans les cellules hépatiques (Kuniyoshi et al., 2013). Elles pénètrent dans le foie via les canaux biliaires, provoquant des lésions hépatiques graves. Ces toxines sont également suspectées d'avoir des effets tumoraux promoteurs (Van Apeldoorn et al., 2007).

Les microcystines sont responsables de nombreux cas de mortalité chez les animaux, y compris le bétail, les animaux domestiques et la faune (Stewart et al., 2008). Chez l'homme, elles causent des maladies via l'ingestion d'eau contaminée, le contact cutané ou l'inhalation d'aérosols. Le cas le plus grave a été signalé en 1996 au Brésil, où 60 patients dialysés avec de l'eau contaminée sont décédés des suites d'une toxicité aiguë (Azevedo et al., 2002). Un traitement potentiel basé sur la cholestyramine, un agent qui lie les microcystines et facilite leur excrétion, a montré des résultats prometteurs dans le traitement de la cyanotoxicose (Rankin et al., 2013).

9.1.2. Les nodularines

Les nodularines sont des heptapeptides cycliques présentant des analogies de structure avec les microcystines, dont le groupement Adda (Tab 2). Elles sont essentiellement produites dans les milieux salins (Gehring et al., 2012). Sept variantes ont été décrits à ce jour (Lahrouni et al., 2015). Les nodularines ont été identifiées pour la première fois au sein du genre *Nodularia* (Sivonen et Jones, 1999). En raison de sa similarité structurelle avec les microcystines, les nodularines peuvent présenter des mécanismes moléculaires de toxicité similaires à ceux des microcystines (Lahrouni et al., 2015).

9.1.3. La cylindrospermopsine :

La cylindrospermopsine, un alcaloïde hydrophile de 415 Da, (Tab 2) a été détectée pour la première fois en milieux tropicaux, mais est également présente dans des climats tempérés, notamment en Nouvelle-Zélande, en Europe et sur le continent américain (Falconer et Humpage, 2006). Cette toxine est principalement produite par le genre *Cylindrospermopsis*, mais d'autres genres comme *Aphanizomenon*, *Anabaena*, et *Raphidiopsis* ont également été identifiés comme producteurs. Deux variants sont connus : la 7-épicylindrospermopsine (toxicité équivalente à la molécule mère) et la 7-

desoxycylindrospermopsine (toxicité débattue) (*Looper et al., 2005*).

La cylindrospermopsine agit principalement en inhibant la synthèse protéique, affectant gravement les organes à fort renouvellement protéique, comme le foie, les reins et l'intestin (*Falconer et Humpage, 2006*). Elle est également capable de s'insérer dans l'ADN, causant des cassures chromosomiques et des inhibitions irréversibles de la synthèse protéique.

De plus, la cylindrospermopsine est capable de s'insérer dans la double hélice d'ADN causant des cassures chromosomiques et des inhibitions irréversibles de la synthèse protéique. Ainsi la cylindrospermopsine est considérée comme une molécule cytotoxique, clastogène, mutagène et avec une activité carcinogène potentielle (*Falconer et Humpage, 2006*).

9.2. Les neurotoxines

Les neurotoxines ont une structure chimique de nature alcaloïdique. Elles touchent principalement le système neuromusculaire en provoquant des paralysies musculaires, spécialement du système respiratoire, conduisant à la mort des organismes touchés, en quelques heures voire même quelques minutes (*Chorus & Bartram, 1999*). Les neurotoxines regroupent les anatoxines, les saxitoxines et la β -N-méthylamino-L-alanine (BMAA). (**Tab 2**)

9.2.1. L'anatoxine

L'anatoxine-a est une molécule alcaloïdique produite principalement par les cyanobactéries, notamment les genres *Dolichospermum* (anciennement *Anabaena*), *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Planktothrix* et plus rarement *Microcystis*, C'est une amine secondaire de faible poids moléculaire (165 Da) (*Van Apeldoorn et al., 2007*). (**Tab 2**)

L'anatoxine-a bloque la transmission du stimulus électrique au niveau des jonctions neuromusculaires en induisant une dépolarisation prolongée. Cela empêche la contraction musculaire en bloquant l'acétylcholinestérase, ce qui entraîne une paralysie musculaire (*Briand et al., 2003*). L'homoanatoxine-a (un dérivé méthyle de l'anatoxine-a) a des effets similaires et augmente les flux de Ca^{2+} au niveau des terminaisons nerveuses cholinergiques (*Van Apeldoorn et al., 2007*).

Les effets incluent des arrêts respiratoires, la paralysie musculaire, des faiblesses musculaires et des convulsions, pouvant mener à la mort des organismes intoxiqués par un arrêt respiratoire. La toxicité est particulièrement dangereuse pour les animaux et les humains exposés par ingestion ou contact avec l'eau contaminée (*Van Apeldoorn et al., 2007*). L'anatoxine-a(s), une version phosphorée de l'anatoxine, possède également un mécanisme inhibiteur de l'acétylcholinestérase, amplifiant ces effets toxiques.

9.2.2. Les saxitoxines

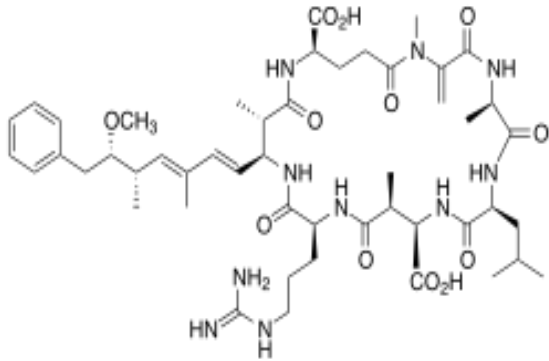
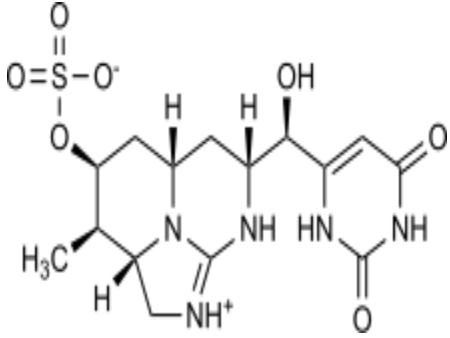
Les saxitoxines furent isolées, pour la première fois, à partir de fruits de mer ayant filtrés des dinoflagellés marins producteurs de ces neurotoxines. Particulièrement, elles sont connues pour les phénomènes d'empoisonnement paralysant observés chez les animaux et les humains (Paralytic

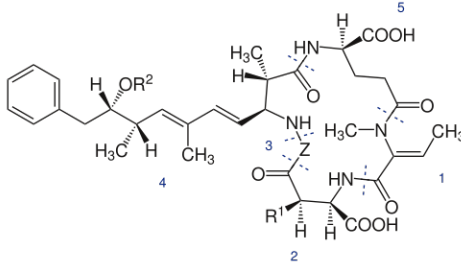
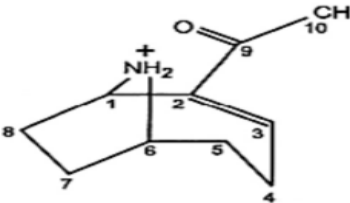
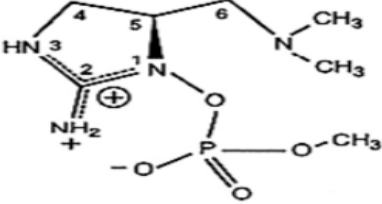
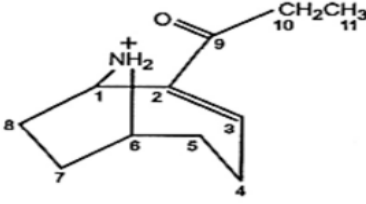
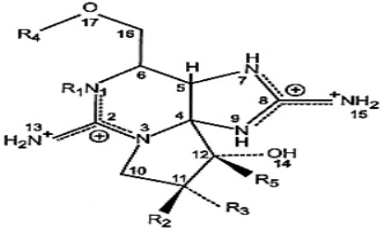
Shellfish Poisoning- PSP) (Briand et al., 2003). Les saxitoxines, regroupent les gonyautoxines (GTXs), les C-toxines, la saxitoxine et la neosaxitoxine (Van Apeldoorn et al., 2007). Ce sont des alcaloïdes à un noyau tétrahydropurique (Figure 7), dont 22 variants ont été répertoriés, en fonction du nombre de groupe SO₃ - dans la molécule (FerrãoFilho & Kozlowsky-Suzuki, 2011). (Tab 2)

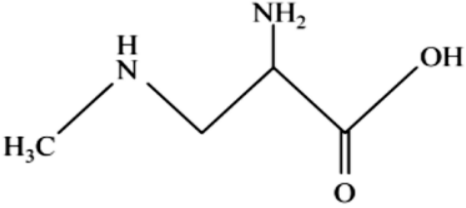
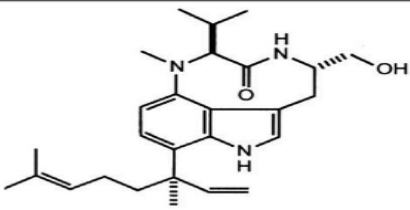
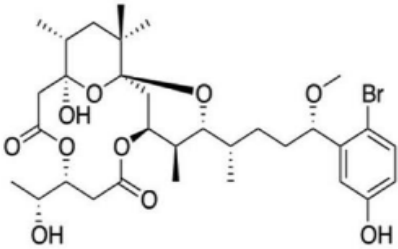
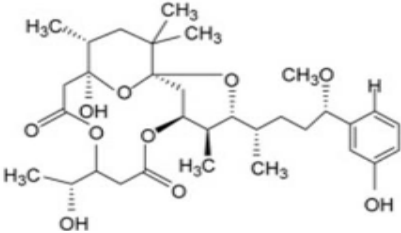
9.3. Les dermatotoxines :

La lyngbyatoxine A, les aplysiatoxines et la debromoaplysiatoxine sont des alcaloïdes présents dans des cyanobactéries benthiques comme *Lyngbya majuscula*, *Oscillatoria nigroviridis* et *Schizothrix calcicola* (Cardellina et al., 1979). Ces toxines sont responsables de graves inflammations gastro-intestinales et d'irritations cutanées. La lyngbyatoxine A partage une structure similaire à celle de la téléocidine A, produite par l'actinomycète *Streptomyces*, et possède un potentiel de promotion tumorale (Fugiki et al., 1984). Les aplysiatoxines et debromoaplysiatoxines sont également des agents promoteurs de tumeurs et activent la protéine kinase C (Fugiki et al., 1990). Les lipopolysaccharides, présents dans la paroi des bactéries Gram-négatif, ont été isolés pour la première fois chez *Anacystis nidulans* (Weise et al., 1970) et sont retrouvés dans de nombreuses cyanobactéries. Ils sont responsables de réactions allergiques et toxiques, notamment des irritations cutanées, chez les animaux et les humains (Sivonen & Jones, 1999). (Tab 2)

Tableau 2 : liste des cyanotoxines et leurs structures chimiques

Toxines	Structures chimiques
Hépatotoxines	<p data-bbox="831 1122 1062 1155">- Microcystines</p>  <p data-bbox="874 1559 1174 1592">- Cylindrospermopsine</p> 

	<p>- Nodularines</p> 
<p>Neurotoxines</p>	<p>- Anatoxine-a</p>  <p>- Homoanatoxine-a</p>  <p>- Anatoxine-a(s)</p>  <p>- Saxitoxines</p> 

	<p>β-N-methylamino-L-alanine (BMAA)</p> 
	<ul style="list-style-type: none"> - Lyngbyatoxin  <ul style="list-style-type: none"> - Aplysiatoxine :  <ul style="list-style-type: none"> - Débromoaplysiatoxine 

10.1. Risques liés aux cyanotoxines

10.1.1. Risques liés à la consommation directe

Les cyanotoxines, produites par les cyanobactéries, représentent un risque direct pour l'homme, principalement par ingestion d'eau contaminée ou par contact lors d'activités récréatives. Les concentrations élevées de cyanobactéries, dépassant 100 $\mu\text{g/L}$ de chlorophylle, peuvent entraîner une forte présence de toxines dans l'eau. Ces toxines sont responsables de plusieurs intoxications humaines et animales. (Fig.3)

En 1996, une grave intoxication au Brésil a conduit à la mort de 50 personnes après des hémodialyses effectuées avec de l'eau contaminée par des microcystines (Azevedo et al., 2002). Des décès d'animaux, tels que des chiens dans le Jura et dans les gorges du Tarn, ont été associés à l'anatoxine-a produite par des cyanobactéries benthiques (*Phormidium*) (Cadel-Six et al., 2007). Les cyanotoxines présentent également un danger dans les exploitations agricoles et les parcs zoologiques lorsque les animaux boivent de l'eau contaminée (Van Apeldoorn et al., 2007).

Les cyanotoxines posent aussi un problème pour la sécurité alimentaire lorsque des cultures maraîchères sont arrosées avec de l'eau toxique (Van apeldoorn et al., 2007). De plus, les proliférations de cyanobactéries peuvent obstruer les filtres des stations de traitement de l'eau potable (Orr PT et al., 2004).

Les aires de baignade et les activités nautiques dans des eaux contenant des efflorescences toxiques représentent un danger pour l'homme, particulièrement pour les enfants. Les sports nautiques, générant des aérosols toxiques, augmentent le risque d'inhalation de toxines. Des études ont montré que l'anatoxine-a, administrée par inhalation, a des effets toxiques plus graves que par ingestion orale (Sivonen et al., 2000). Des problèmes dermatologiques et respiratoires ont été observés chez des personnes ayant fréquenté une plage à Mayotte, où une prolifération de *Lyngbya majuscula* a été associée à des syndromes irritants (Osborne et al., 2007).

Les cyanotoxines comme la lyngbyatoxine A, l'aplysiatoxine et la débromoaplysiatoxine sont des promoteurs de tumeur et induisent des effets biologiques nocifs, tels que la transformation cellulaire et la stimulation de la synthèse d'ADN (Sivonen et al., 2000 ; Osborne et al., 2001).

10.1.2. Risques liés à la bioaccumulation des toxines

Les cyanotoxines ont la capacité de s'accumuler dans les bivalves, mais le risque d'intoxication par ingestion de bivalves d'eau douce reste faible, car ces organismes sont rarement consommés. En revanche, les cyanobactéries vendues sous forme de compléments alimentaires peuvent représenter un risque pour le consommateur, comme l'a mis en évidence une étude (Rellan et al., 2009)

Les poissons d'eau douce sont également susceptibles de bioaccumuler des cyanotoxines (Sotton et al., 2011) bien que le risque pour l'homme associé à la consommation de poissons contaminés soit encore mal évalué, en raison du manque de données disponibles. De même, les informations sur le risque d'intoxication par ingestion de bivalves marins contaminés par les cyanobactéries sont limitées. Actuellement, les cyanobactéries marines, principalement des genres *Synechococcus* et *Prochlorococcus*, ne sont pas considérées comme productrices de toxines (Bernard., 2014).

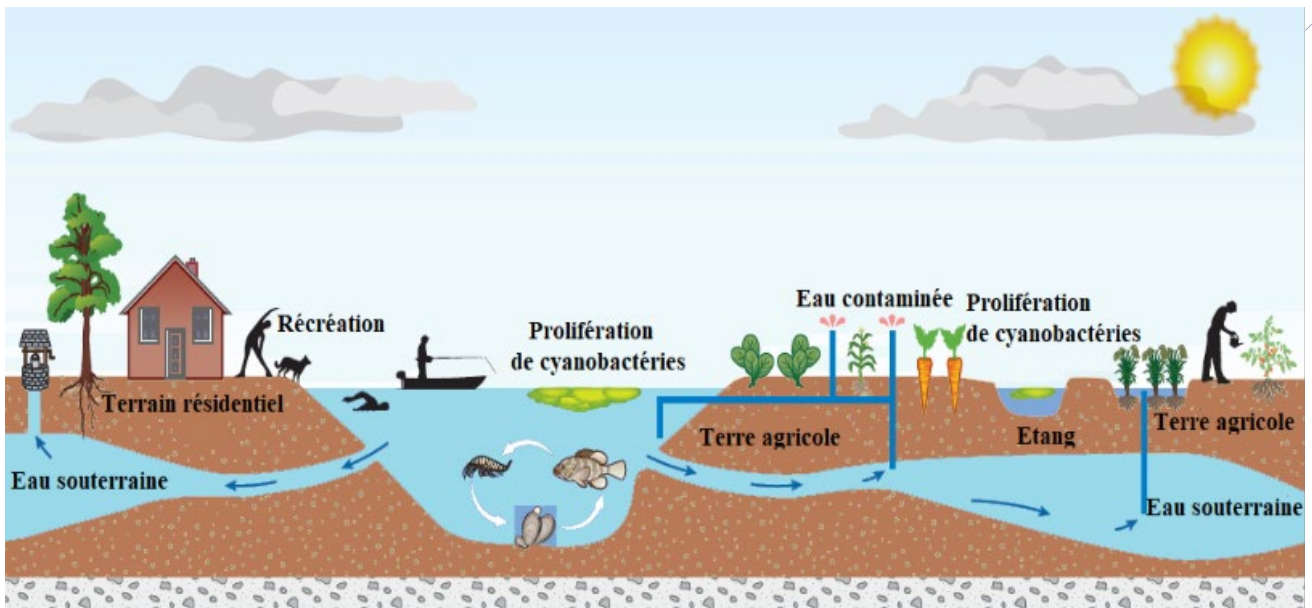


Figure (2) : schéma montrant l'exposition des humains et des animaux aux cyanotoxines dans des environnements d'eau douce contaminés par des blooms toxiques de cyanobactéries : par ingestion (eau et aliments), par contact cutané (baignade, loisirs, travail dans les fermes aquatiques, agriculture) et par inhalation (baignade, loisirs, agriculture, autres activités professionnelles) (Lee et al., 2017).

II. Matériel et Méthodes

1. Description du Parc National d'El Kala

Le Parc National d'El Kala (PNEK), situé dans la wilaya d'El Tarf, au nord-est de l'Algérie, constitue un écosystème clé pour la préservation de la biodiversité et des ressources naturelles. Créé par décret en date du 23 juillet 1983 (décret n° 83-462), il a été reconnu en 1990 comme Réserve de la Biosphère dans le cadre du programme MAB (Man and Biosphere) de l'UNESCO.

S'étendant sur environ 80 000 hectares (36°52'N, 8°27'E), le parc représente près d'un tiers de la superficie totale de la wilaya. Il est délimité par :

- **Au Nord** : la mer Méditerranée ;
- **Au Sud** : les contreforts des monts de la Medjerda ;
- **À l'Est** : la frontière algéro-tunisienne ;
- **À l'Ouest** : la plaine alluviale d'Annaba.

Ce territoire est caractérisé par plusieurs habitats géomorphologiques distincts, qui contribuent à sa richesse et sa diversité :

- **Habitat dunaire** : Le cordon littoral sableux, constitué de formations quaternaires, s'étend sur 40 km le long de la côte. Il comprend quatre niveaux de dunes abritant des espèces animales et végétales adaptées.
- **Habitat littoral** : Ces plaines couvrent environ 40 % de la région, avec un relief plat à ondulé, favorable à des cultures diversifiées et comprenant des cuvettes et dépressions inter-collinaires.
- **Habitat rupicole** : Ce milieu, qui représente environ 15 % de la superficie du parc, inclut collines, formations rocheuses et basses montagnes, offrant un refuge pour une grande variété d'espèces.
- **Habitat forestier** : Les forêts et boisements variés du parc abritent une importante diversité d'espèces animales et végétales.
- **Zones humides** : Les lacs Oubeira, Tonga et des Oiseaux, classés sites Ramsar pour leur importance écologique internationale, constituent des habitats essentiels pour les oiseaux migrateurs, ainsi que pour diverses espèces aquatiques et piscicoles. (Stevensen et al., 1988)

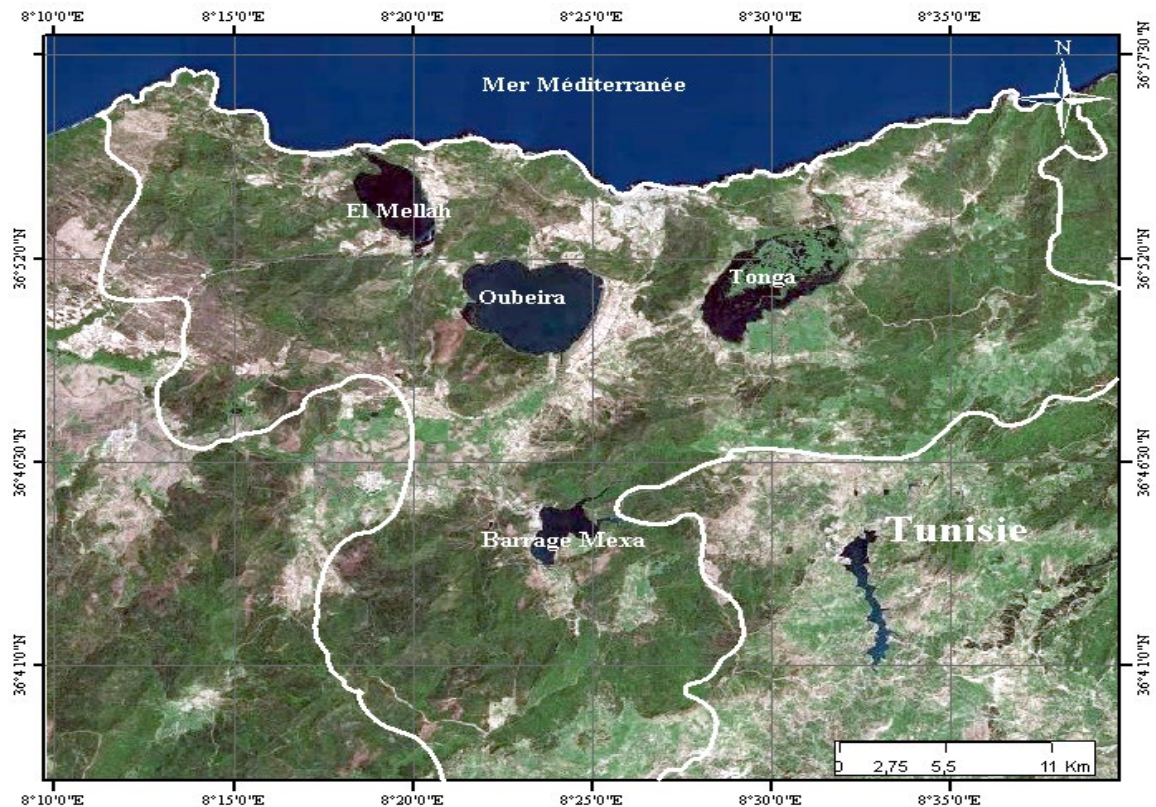


Figure 3 : carte géographique du parc national d'el Kala

2. Réseau hydrographique :

Le Parc National d'El Kala est traversé par un réseau hydrographique complexe et diversifié, comprenant rivières, ruisseaux, lacs, et zones humides. Ce système hydrologique interconnecté, d'une superficie totale de 5 500 hectares, joue un rôle essentiel dans le maintien de l'équilibre écologique du parc et constitue le complexe hydrique le plus diversifié d'Algérie (Belhadj, 1996).

Ce réseau est constitué de plusieurs lacs majeurs, notamment Tonga, Oubeira, Mellah et Mexa, ainsi que de sources telles que Bougles, Bouredim, et Oum El Bhaim, situées au sud-est de la région, avec un débit total de 150 L/s (12 700 m³/jour). Par ailleurs, environ 40 autres sources, réparties à travers le parc et sa périphérie, affichent des débits variables, allant de 0,5 L/s à 10 L/s (Bouazouni, 2004).

Les principaux oueds qui parcourent le parc incluent El-Kebir, El-Areug, Bougous, et El-Aroug, contribuant à la richesse et à la diversité hydrologique du territoire.

3. Cadre Climatique

Pour analyser les conditions météorologiques de la région, une collecte de données sur une période de dix ans (2012-2022) a été effectuée, permettant de mettre en évidence les tendances et variations saisonnières. Ces données proviennent des relevés climatiques de la région d'El Kala, obtenus auprès de l'Office National de la Météorologie (ONM).

3.1. Température

La température constitue un facteur climatique fondamental dans la région étudiée, jouant un rôle déterminant dans la compréhension des paramètres climatiques, notamment pour l'établissement du bilan hydrique (Handouzi, 2011).

D'après les données climatiques présentées dans le tableau (3), la température moyenne maximale est enregistrée au mois d'août, avec une valeur de 31,9°C. À l'inverse, le mois de janvier est le plus froid, avec une température moyenne de 14,3°C. Ces variations traduisent le caractère saisonnier du climat régional.

Tableau 3: Données des températures enregistrées dans la région d'el Kala 2012-2022

	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre
Température	13,1	13,1	14,6	17,3	20,3	25,3	28,4	28,7	26,2	22,7	18,1	14,7
Temp max	15,4	15,6	17,3	20,1	23,5	28,1	31,1	31,9	29,3	25,6	20,6	17,0
temp min	14,3	14,4	16,0	18,7	21,9	26,7	29,8	30,3	27,7	24,2	19,3	15,8

3.2. Précipitations

Les précipitations constituent la composante fondamentale de l'hydrologie et la connaissance de cet apport d'eau au sol est essentielle pour appréhender l'état des réserves en eau du sol, la recharge des nappes et le régime des cours d'eau. (Cosandey et Robinson., 2012).

Tableau 4: Données des précipitations enregistrées dans la région d'el Kala 2012-2022

	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre
précipitations	128	121,27	106,9	70,64	61,64	23,91	8	18,36	51,18	76	139,18	96,273

D'après le tableau (4) on peut observer que les précipitations sont les plus élevées en saison humide c'est à dire durant les mois de Janvier Novembre et Décembre et les plus faibles en Juillet.

3.3. Le Vent

La région d'El Kala est majoritairement influencée par des vents provenant du nord-ouest tout au long de l'année. Toutefois, leur intensité et leur fréquence tendent à diminuer au printemps et en été, laissant place à une prévalence des vents du nord-est. Ces derniers sont généralement associés à des conditions de haute pression atmosphérique et à un temps stable et ensoleillé. En revanche, les vents d'ouest à nord-ouest dominant durant la période froide (automne-hiver) et sont souvent accompagnés de précipitations, conformément aux observations de Seltzer (1946).

Tableau 5 : Données des vitesses du vent enregistrées dans la région d'el Kala 2012-2022

	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre
Vent m/s	6,87	6,79	6,82	5,61	5,56	5,28	5,13	5,03	4,97	4,85	5,86	5,91

Dans le **tableau (5)** les vents les plus violents soufflent en hiver et au début du printemps avec une vitesse moyenne maximale de 6.87 m/s en Janvier (2012-2022).

3.4. Humidité relative %

Tableau 6: Données de l'humidité relative enregistrées dans la région d'el Kala 2012-2022

	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre
Hum %	76,4455	77,236	79,2	77,19	67,97	68,11	65	67,29	73,17	68,6182	69,773	76,5

La région d'Elkala est caractérisé par une hygrométrie relativement élevée, due à la combinaison de marécages, lacs, mer, et forêt dense, ce qui entraîne un pic dont la moyenne mensuelle maximale est enregistrée en Mars 79.2%.

3.5. Diagramme ombrothermique

Le diagramme ombrothermique est un outil utilisé en géographie et en climatologie pour représenter les variations de température et de précipitations au cours de l'année dans une région donnée. Ce diagramme permet d'identifier les périodes sèches et humides, ainsi que les variations saisonnières de la température, en fonction de la pluviométrie et de la température mensuelles moyennes. (Gausson et Bagnouls., 1957)

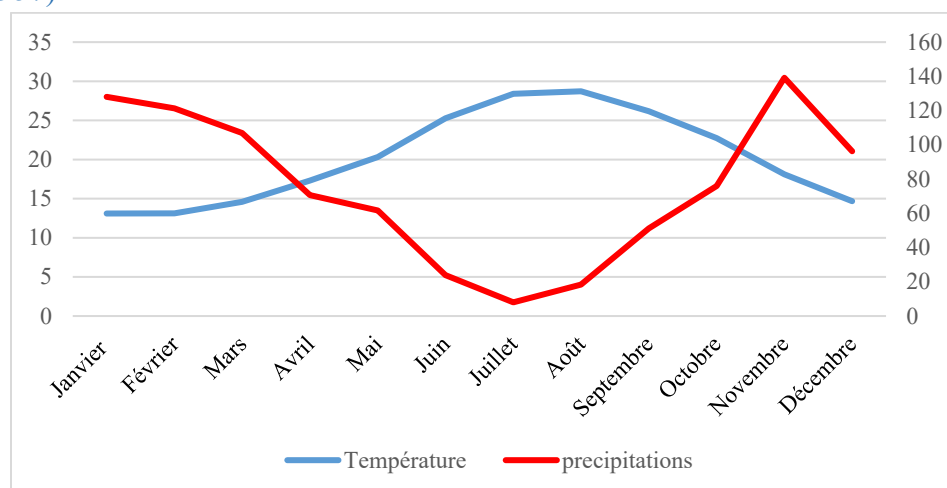


Figure 4 : Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausson (Oubeira)(2012-2022)

Le diagramme ombrothermique de Gausson et Bagnouls pour la période (2012-2022) montre que l'année est répartie en une sèche allant d'Avril à Octobre et une saison humide allant de Novembre à Avril.

3.6. Indice d'aridité

Indice d'aridité ou indice de Martonne (1926), utilisé pour évaluer le niveau de sécheresse climatique d'une région spécifique.

$$I = \frac{P}{(T+10)}$$

P : Les précipitations moyennes annuelles.

T : la température moyenne annuelle.

L'indice de De Martonne correspond à une expression synthétique qui subdivise le climat méditerranéen en cinq étages bioclimatiques, Il est calculé à l'aide de la moyenne annuelle des précipitations (P en mm) et des températures.

Tableau 7: valeur de l'indice d'aridité et type de climat

Valeur de l'indice	type de climat
$0 < I < 5$	hyperaride
$5 < I < 10$	aride
$10 < I < 20$	semi-aride
$20 < I < 30$	subhumide
$30 < I < 55$	humide

Tableau 8 : valeurs moyennes des températures et précipitations (2012-2022)

	Température	Précipitations mm	indice d'aridité
El Kala	20,21	901,36	29,83

L'application de la formule a permis d'obtenir un indice d'aridité de 29,83 pour la période 2012-2022, classant ainsi le climat d'El Kala comme subhumide.

L'analyse des données climatiques révèle que la région d'El Kala présente un climat subhumide méditerranéen, caractérisé par une saison chaude et sèche s'étendant d'avril à octobre, et une saison froide et humide de novembre à mars. Le mois de janvier est le plus froid, avec une température moyenne de 13,1 °C, tandis que le mois d'août est le plus chaud, affichant une moyenne de 28,7 °C.

4. Description du site d'étude :

4.1. Bassin versant du lac Oubeira

Le bassin versant du lac Oubeira est situé à 5km de la région d'El Kala, en Algérie et à 54 km à l'Est d'Annaba, Il se trouve dans le Parc National d'El Kala qui est localisé à l'extrême Nord Est du pays faisant frontière avec la Tunisie et couvre une superficie d'environ 9730 ha, avec un lac central qui représente 22% de la superficie totale du bassin versant. Ce dernier se caractérise par une topographie variée, comprenant des collines et des terrains plats, ainsi que par la présence de nombreux cours d'eau temporaires et permanents qui alimentent le lac.

Les terres dans le bassin versant sont partagées entre le domaine forestier où les parcelles privées sont rares et les terrains agricoles en grande partie de statut privé utilisés essentiellement pour la culture des arachides, le maraîchage et le pâturage (Messerer, 1999). La végétation quant à elle, est dominée par une forêt dense de pins d'Alep et de chênes-lièges, les maquis denses et clairs couvrent respectivement une aire de 1507 ha et 737 ha. Ils sont situés au nord et au sud du bassin versant (MPRH, 2004).

4.2. Le lac oubeira

Le lac Oubeira, le plus grand plan d'eau douce d'Algérie, a été inscrit en tant que site Ramsar en 1983 consacrant ainsi son importance écologique à l'échelle internationale. Doté d'une superficie imposante de 229,110 km² et d'une profondeur moyenne de 1,24 m, ce lac est géographiquement situé aux coordonnées centrales de 36°50'N, 08°23'E. Malgré sa taille considérable, le lac présente une profondeur limitée, rarement dépassant les 1,5 mètres, en raison principalement d'un processus de sédimentation actif (Alayat et al., 2013).

Ce lac endoréique est alimenté par quatre cours d'eau principaux à écoulement permanent et maintient sa vitalité tout au long de l'année, même si le débit de ces oueds diminue pendant la saison sèche sans toutefois disparaître complètement. Parmi ces cours d'eau figurent :

- Oued Demt Rihana au Nord,
- Oued Bou Marchen au Nord,
- Oued Degraâ au Nord-Est, et
- Oued Bou Hchicha au Sud.

En hiver, lors de fortes précipitations, les eaux de l'oued El Kébir atteignent le lac principalement via l'oued Messida. En été, lorsque le niveau de l'oued El Kébir est au plus bas, le système hydrologique s'inverse : l'oued Messida, caractérisé par un écoulement bidirectionnel en fonction des crues et des étiages, alimente alors l'oued El Kébir (Marre, 1987).

5. Stratégie d'échantillonnage :

Le choix des stations d'échantillonnage a été basé sur plusieurs facteurs, notamment l'emplacement des embouchures des oueds, les zones exposées au vent, la présence ou l'absence de macrophytes aquatiques flottants, les zones de pêche locale, ainsi que la proximité des zones forestières ou habitées. D'autres considérations telles que l'accessibilité et la profondeur de l'eau ont également été prises en compte pour assurer la représentativité des échantillons prélevés.

Les prélèvements d'eau brute ont été effectués d'Octobre 2021 à Septembre 2022 à raison d'un prélèvement mensuel, il consiste en un échantillonnage en subsurface dans six stations dont les quatre premières se situent aux embouchures des Oueds (S1 : Demnet Rihana, S2 : Boumerchene, S3 : Dey L'Graa, S4 : Oued Bouhchicha), une station au centre (S5) et la dernière plus éloignée qui se situe dans une zone protégée du vent (S6 : Euch Lahmer). (Figure 5)

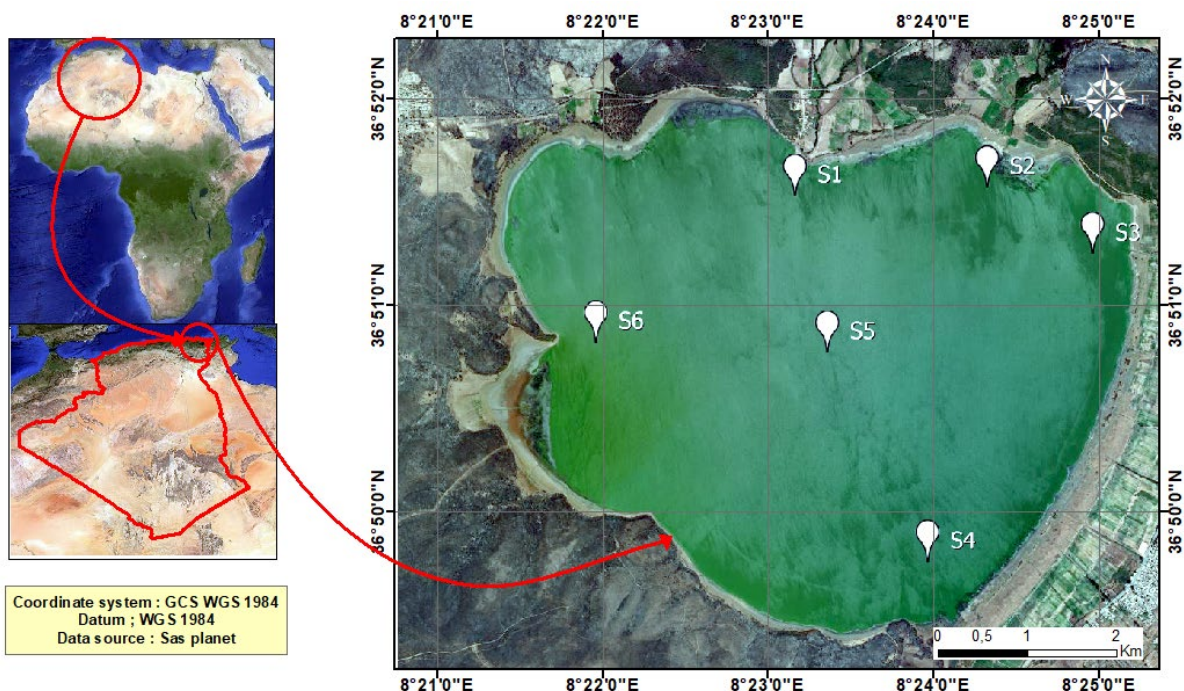


Figure 5 : localisations des stations d'échantillonnage au niveau du lac Oubeira (Octobre 2021-Septembre 2022)

5. Méthodes d'échantillonnage

5.1 *In situ*

5.1.1. Récolte de l'eau et mesure des paramètres physicochimiques

Dans un premier temps, un premier prélèvement d'eau brute destiné à l'identification des cyanobactéries en filtrant 10 litres à travers un filet à planctons de 20 μ m de maille pour voir la diversité des genres, dans une bouteille ambrée et fixé au formaldéhyde à 5% .

Ensuite un second prélèvement à la bouteille de 1.5 L en subsurface, destinée au dénombrement des cyanobactéries, Dosage des sels nutritifs, dosage de la chlorophylle-a et des cyanotoxines et aux mesures de la turbidité. Ces échantillons d'eau sont transportés dans une glacière à 4°C jusqu'à acheminement au laboratoire.

De plus des mesures des paramètres physicochimiques à savoir : la température, le pH, l'oxygène dissous et la conductivité ont été réalisés à l'aide des sondes d'un multiparamètre de **terrain (Multi 3620 IDS SET G, WTW®, Germany)** dans chacune des stations d'échantillonnage. Enfin la mesure de la transparence a été effectuée à l'aide d'un disque de Secchi de 25 cm de diamètre en l'immergeant dans l'eau, la mesure est prise lorsque ce dernier n'est plus visible dans l'eau. La turbidité quant à elle est mesurée au laboratoire à l'aide d'un turbidimètre (**Turb 550 WTW®, Germany**).



Figure 6 : collecte de l'eau, mesures des paramètres physicochimiques et transparence *in situ*

5.1.2. Récolte des organismes aquatiques :

Afin de comprendre le phénomène de bioaccumulation des cyanotoxines chez les organismes vivant dans le lac, deux espèces ont été récolté mensuellement à l'aide d'un pêcheur lors de l'échantillonnage de l'eau ; d'Octobre 2021 à Septembre 2022 pour l'anodonte dans la station 1 et de Novembre 2021 à Juillet 2022 pour la carpe.

Lors de la récolte les individus étaient pris par trois pour chaque espèce de même poids et taille, le poids pour la carpe variait entre 400 et 900g et une taille de 20 à 30cm. Pour l'anodonte le poids était entre 200 et 500g et une taille de 13 à 17cm tout au long de l'année d'échantillonnage.

Suite à cela les individus sont mis dans une glacière à 4 °C jusqu'à acheminement au laboratoire.

Une brève description de l'anodonte et de la carpe est présentée ci-après afin de contextualiser leur échantillonnage.

5.1.2.1 L'anodonte

La grande moule d'eau douce chinoise, *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) (Bivalvia : Unionidae), est l'un des macro-invertébrés aquatiques les plus envahissants au monde en raison de sa plasticité écologique et de sa capacité à coloniser divers habitats aquatiques (Paganelli et al., 2021). Originnaire d'Asie de l'Est, elle s'est propagée accidentellement via la libération de poissons hôtes porteurs de glochidies (stade larvaire parasite) (Spyra et al., 2016). Son identification dans le lac Oubeira a été confirmée récemment (BENSAAD-BEN DJEDID et al., 2023).



Sur le plan taxonomique, *S. woodiana* est classée comme suit :

- **Règne** : Animalia
- **Sous-règne** : Eumetazoa
- **Embranchement** : Mollusca
- **Classe** : Bivalvia
- **Sous-classe** : Palaeoheterodonta
- **Ordre** : Unionida
- **Famille** : Unionidae
- **Genre** : *Sinanodonta*
- **Espèce** : *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834).

Figure 7: L'anodonte chinoise (*Sinanodonta woodiana*)

L'espèce colonise préférentiellement les milieux à faible courant et riches en matière organique (Von Proschwitz, 2008). Tolérante aux variations environnementales et à la pollution, elle filtre activement les particules en suspension, dont les algues et certaines cyanobactéries filamenteuses (Bontes et al., 2016), avec un taux de filtration variant entre 628 et 1875 ml/individu/heure (Straye, 2008).

La reproduction a lieu au printemps et en été, avec une seule génération par an. Les femelles libèrent des glochidies qui parasitent temporairement un poisson hôte avant de devenir juvéniles et de se fixer au substrat aquatique (Hinzmann et al., 2013).

5.1.2.2. La carpe commune

La carpe commune (*Cyprinus carpio*), appartenant à la famille des Cyprinidés, est une espèce de poisson d'eau douce originaire d'Asie centrale, aujourd'hui largement répandue en raison de son importance en aquaculture et en pêche (Balon, 1995). Elle a été introduite dans le lac Oubeira entre 1985 et 1991 pour le développement de l'aquaculture et la régulation de la végétation aquatique. Plus de 22 millions de juvéniles de carpes et de sandres, importés de Hongrie, y ont été relâchés (Meddour et Meddour-Bouderda, 1999).

Sur le plan taxonomique, elle est classée comme suit par (Nelson., 1994) :



- **Phylum** : Cordés
- **Sous classe** : Actinoptérygiens
- **Infra-classe** : Téléostéens
- **Ordre** : Cypriniformes S
- **sous ordre** : Cyprinoides
- **Famille** : Cyprinidé
- **Genre** : *Cyprinus*
- **Espèce** : *Cyprinus carpio* (Linné, 1857)

Figure 8 : la carpe commune (*Cyprinus carpio*)

Cette espèce fréquente les eaux calmes et végétalisées pour le frai et les zones profondes pour l'hivernation (Bruslé & Quignard, 2001). Grégaire, elle évolue en petits groupes et se disperse avec l'âge (Ranson, 2003). La maturité sexuelle est atteinte à 2 ans pour les mâles et 3 ans pour les femelles, avec une reproduction entre mai et août dans des eaux à plus de 18 °C. La ponte atteint 80 000 à 120 000 œufs/kg, incubés en 5 jours (Ranson, 2003).

Omnivore, *C. carpio* se nourrit de phyto- et zooplancton à l'état larvaire, puis d'insectes aquatiques, mollusques, crustacés et détritiques organiques à l'âge adulte. Elle est principalement active au crépuscule et se regroupe en eaux profondes lorsque la température descend sous 8-10 °C (Ranson, 2003).

5.2. Au laboratoire :

5.2.1. Prétraitement des échantillons d'eau :

Les échantillons d'eau destinés à l'identification et au dénombrement des cyanobactéries sont transportés dans une glacière à 4°C au laboratoire, pour les échantillons qui ont été filtrés à travers le filet à planctons sont pour l'identification, un volume de 100ml est filtré à l'aide d'un dispositif de

filtration sous vide à travers un filtre en polycarbonate (CYCLPR PC 47 mm, Allemagne), en revanche pour le dénombrement un volume d'eau (50-200ml) a été filtré aussi à travers ce filtre, puis les cyanobactéries sont récupérées en rinçant le filtre avec 1 mL du filtrat initial, et conservé dans du formaldéhyde à 5%.

Les échantillons destinés aux dosages : des sels nutritifs, de la chlorophylle et des cyanotoxines sont réparties en trois volumes : 200ml, (100-200ml), (600-900ml) respectivement pour chaque paramètre.

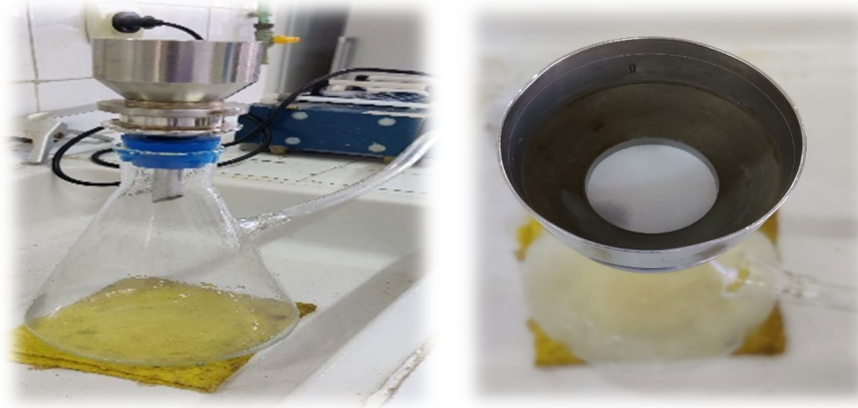


Figure 9: filtration des échantillons d'eau destinés au dénombrement, identification et dosage des nutriments et chlorophylle-a

5.2.2. Dosage des nutriments :

Le dosage des sels nutritifs est une étape essentielle pour évaluer la qualité physico-chimique de l'eau et comprendre les dynamiques trophiques du lac. Les concentrations en azote et en phosphore ont été mesurées pour analyser leur lien avec la prolifération algale. (Annexe 1)

5.2.2.1. Dosage de l'Orthophosphates : (PO₄-)

➤ Principe du dosage par spectrophotométrie :

[Aminot et Kerouel \(2004\)](#) décrivent une méthode colorimétrique pour le dosage des orthophosphates, la forme directement assimilable du phosphore dans les milieux aquatiques. En milieu aquatique, les orthophosphates jouent un rôle déterminant dans les processus d'eutrophisation, car leur disponibilité excessive favorise le développement des cyanobactéries et d'autres algues.

Le principe repose sur la réaction des orthophosphates avec le molybdate d'ammonium et l'antimoine en milieu acide, formant un complexe phosphomolybdique. Ce dernier est réduit par l'acide ascorbique pour générer une coloration bleue, dont l'intensité, mesurée à 880 nm par spectrophotométrie, est proportionnelle à la concentration en orthophosphates.

➤ Protocole expérimental :

- Mettre dans une fiole 50 mL de l'échantillon,
- Ajouter 2 mL du Réactif 1 (solution d'acide ascorbique), mélanger et attendre 15 min.
- Ajouter 2.0 ml du réactif R2'' (solution d'acide Molybdène et d'antimoine), mélanger et ensuite laisser agir 5min mais pas plus de 30 min ; mesure l'absorbance à 880.

Remarque : la préparation de tous les réactifs R1 et R2 est décrite dans Annexe (1).

5.2.2.2. Dosage des Nitrates (NO₃⁻) :

Le nitrate est un ion majeur dans les milieux aquatiques et joue un rôle crucial dans les processus écologiques, notamment en tant qu'élément nutritif pour les plantes aquatiques. Cependant la présence des ions nitrate en quantité importante dans les eaux superficielles et souterraines contribue respectivement à l'eutrophisation des milieux aquatiques et à une dégradation de la ressource en eau (Savary, 2010).

La méthode de dosage des nitrates, selon la norme ISO 7890 (1994), repose sur une réaction colorimétrique qui commence par la réduction des nitrates en nitrites, suivie de la formation d'un complexe azoïque. Cette approche permet de déterminer la concentration en nitrates en mesurant l'absorbance de la solution à une longueur d'onde spécifique, généralement à 540 nm.

➤ Protocole expérimental :

- Mettre de 2 mL de l'échantillon dans une fiole.
- Ajouter 14 ml de mélange des acides et 2 ml solution diméthyl-2,6 phénol, puis le laisser reposer 10 minutes.
- A l'aide de l'appareil spectrophotomètre UV visible, lire les résultats à la longueur d'onde 324 nm.

5.2.2.3. Dosage des Nitrites (NO₂⁻) :

➤ Principe du dosage par spectrophotométrie :

Les ions nitrites sont présents dans le sol, dans les eaux naturelles et dans les plantes mais en quantités relativement faibles (Savary, 2010). Cette forme d'azote minéral est très rare car elle ne constitue qu'un terme de passage entre les formes nitrate et ammonium lors des processus de nitrification et dénitrification (Faurie et al., 1998).

Le dosage des nitrites, selon Aminot et Kerouel (2004), repose sur une méthode colorimétrique fondée sur une réaction de diazotation. Dans cette méthode, les nitrites présents dans l'échantillon réagissent avec le sulphanilamide en milieu acide pour former un composé diazoïque. Ce dernier réagit ensuite avec l'acide naphthyléthylamine pour produire un complexe azoïque coloré. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration en nitrites dans l'échantillon.

➤ Protocole expérimental :

- Mettre 50mL de l'échantillon dans une fiole.
- Ajouter 1ml du réactif R1 (solution de sulfanilamide), mélanger, puis attendre 2 à 5 minutes.
- Ajouter 1ml du réactif R2 (solution de N-naphtyl-éthylènediamine), mélanger, puis laisser agir au moins 10 minutes, mais pas plus de 1 heure.
- Mesurer l'absorbance de l'échantillon à la longueur d'onde de 543 nm.

5.2.2.4. Dosage de l'Ammonium (NH₄⁺) :

La fixation de l'azote correspond à la conversion de l'azote atmosphérique (N₂) en azote utilisable par les organismes végétaux ou animaux. Cette fixation produit de l'ion ammonium (Maxi et al., 2007). assez souvent rencontré dans les eaux naturelles et traduisant habituellement un processus de dégradation incomplète de la matière organique (Rodier et al., 2009).

- Le dosage de l'ammonium, selon Aminot et Kerouel (2004), repose sur une méthode colorimétrique basée sur la réaction de l'ammonium avec l'hypochlorite de sodium en présence

d'un agent de formation de complexe, tel que le phénol ou le salicylate de sodium. Cette réaction produit un complexe coloré, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en ammonium dans l'échantillon.

➤ **Protocole expérimental :**

- Mettre 100 mL d'échantillon dans une fiole.
- Ajouter 5mL du réactif R1' (solution de phénol- nitroprussiate), boucher et bien mélanger.
- Ajouter sans attendre 5 ml du réactif R2' (solution complexante au chlore), boucher et mélanger à nouveau.
- Placer le flacon immédiatement à l'abri de la lumière, à T° ambiante, pendant au moins 6 heures.
- La lecture peut se faire le lendemain.
- Si l'échantillon est visiblement turbide, le centrifuger avant la mesure colorimétrique.
- Mesurer l'absorbance de l'échantillon à une longueur d'onde de 630 nm.

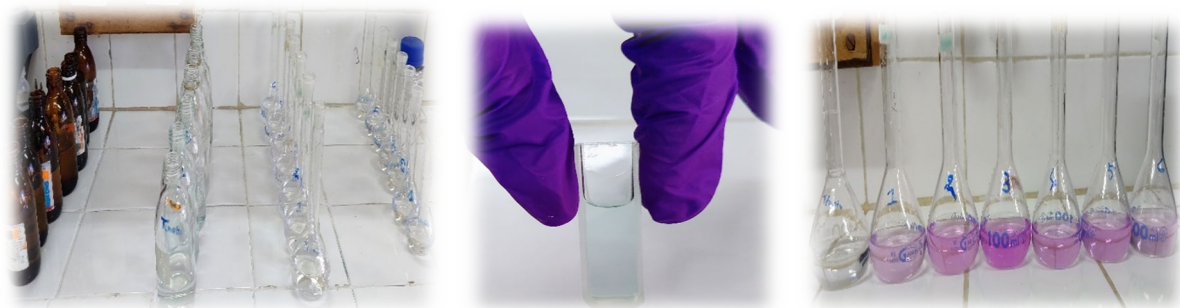


Figure 10 : mise en place des flacons et dosage des éléments nutritifs.

5.2.3. Dosage de la chlorophylle-a dans l'eau :

➤ **Principe du dosage :**

La chlorophylle a est le principal pigment photosynthétique des plantes ; en convertissant l'énergie lumineuse en énergie chimique, elle permet la photosynthèse. C'est un paramètre clé des études du degré d'eutrophisation de l'eau (Aminot & Kérouel, 2004).

La méthode de dosage de la chlorophylle-a par la méthode trichromatique, SCOR/UNESCO repose sur l'extraction des pigments chlorophylliens des échantillons phytoplanctoniques, suivie d'une mesure de l'absorbance à différentes longueurs d'onde pour déterminer la concentration de chlorophylle-a.

➤ **Protocole expérimental :**

- Filtration d'un volume d'eau (100-250mL) à travers un filtre en microfibre de verre Whatman GF/C.
- récupérer le filtre et dissoudre les pigments dans 15 ml l'acétone à 90%.
- maintenir à une T° de 4°C et à l'obscurité pendant une nuit pour l'extraction des chlorophylles
- centrifuger à 3000 tours /minute pendant 20 min en vue de récupérer une solution dépourvue de particules en suspension.
- lire l'absorbance aux trois longueurs d'onde (663nm, 645nm, 630nm).

Formule : Chlorophylle-a ($\mu\text{g/L}$) ==
$$\frac{[(11.64 \times A_{663}) - (2.16 \times A_{645}) - (0.1 \times A_{630}) \times V]}{VL}$$

Où A : l'absorbance mesurée à une des trois longueurs d'onde,
 v : le volume de l'extrait cétonique (mL),
 V : volume filtré
 L : trajet optique (cm).



Figure 11 : dosage de la chlorophylle-a (étape après centrifugation)

5.2.4. Identification et dénombrement des cyanobactéries collectées :

5.2.4.1. Identification :

L'identification des genres de cyanobactéries dans le lac constitue une étape clé pour comprendre la diversité biologique et évaluer la qualité de l'eau.

Pour cela une observation entre lame et lamelle a été effectuée et où a été injectée 50µL de l'échantillon conservé au formaldéhyde. Elle s'est faite à l'aide d'un microscope (**Axiostar Plus, Carl Zeiss, Germany**) équipé d'une caméra UI1240SE (**IDS, Germany**). cette identification est basée sur l'observation des caractéristiques morpho-anatomiques selon les clés d'identification universellement acceptées (**Bourelly, (1985) ; Rippka ,(1988) ; Komárek & Anagnostidis, (1999), Komárek & Anagnostidis, (2005) et Komárek et al., (2014)).**

Les critères retenus sont :

- la structure globale de la micro algue (coloniale ou filamenteuse),
- la forme de la colonie ou du trichome,
- La forme des cellules végétatives et des cellules apicales (filamenteuses),
- La taille et la couleur des cellules,
- Présence ou absence de gaine gélatineuse, d'akinètes et d'hétérocystes.

5.2.4.2. Dénombrement :

Afin d'avoir une estimation du nombre de cellules de cyanobactéries dans nos échantillons, 50µL des échantillons conservés au formaldéhyde ont été injectés dans une cellule de comptage (Nageotte), cette dernière est une grille constituée de 40 bandes qui correspondent à une surface donnée, ce qui permet une estimation du nombre de cellules par millilitre (**Brient et al., 2001**).

Pour les formes filamenteuses (*Cylindrospermopsis, Planktothrix...*) leur nombre de cellules a été estimé en divisant la longueur du filament par la moyenne de la longueur des cellules.

Pour les formes coloniales (*Microcystis, Aphanocapsa, ...*) leur abondance est estimée en se basant sur la surface des colonies et sur la surface moyenne des cellules, en prenant en compte le pourcentage de vide que peut avoir une colonie. Le calcul des abondances cellulaires se fait par les formules suivantes :

$$\text{Nombre de cellule} = \frac{S_1}{S_2} - A$$

S1 : Surface colonial

S2 : Surface cellulaire

A : estimation visuelle de la proportion (x/100) du vide dans la colonie

$$A = \frac{S1}{S2} \times \frac{X}{100}$$

Le nombre de cellules obtenues par ses formules, est introduit dans la formule suivante afin d'avoir une concentration cellulaire par litre :

$$\text{Nombre de cellules}/50\mu\text{L} = \left(\sum \text{Ncell}/b \right) \times 40/50$$

$$\text{Nombre de cellules}/\text{mL} = \frac{\text{Nombre de } \frac{\text{cellules}}{50} \mu\text{L}}{V}$$

\sum Ncell : la somme des cellules dénombrées des différentes colonies ou filaments.

b : le nombre de bande sur lequel nous avons compté 30 individus.

V : volume de l'échantillon filtré en millilitres

40 : Nombre total de bandes de la Nageotte

50 : volume de la cellule de Nageotte (μL).

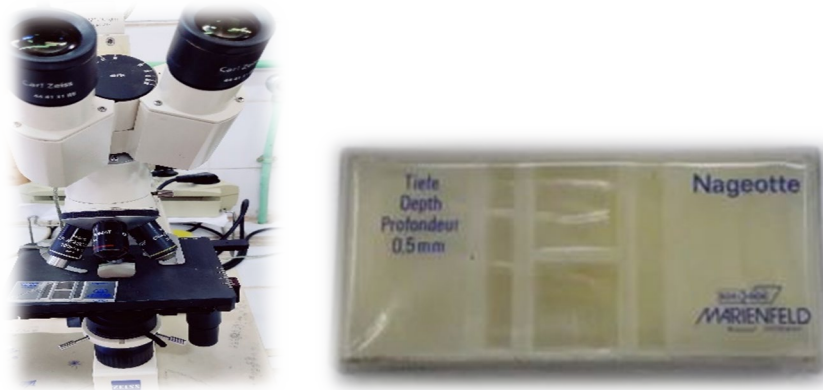


Figure 12: identification et dénombrement des cyanobactéries au microscope optique à l'aide de la cellule de Nageotte.

5.2.5. Etude des morphotypes du genre *Cylindrospermopsis* :

Afin d'étudier les différents morphotypes de *Cylindrospermopsis*, l'estimation de la biomasse a été réalisée à partir du biovolume. Celui-ci a été calculé en mesurant la longueur et la largeur des filaments, en assimilant leurs structures à des formes géométriques spécifiques : cylindrique pour le filament, sphérique pour l'akinète et hémisphérique conique pour l'hétérocyste (Hillebrand et al., 1999) (Fig. 13).

Le biovolume obtenu a ensuite été converti en biomasse en supposant que $10^6 \mu\text{m}^3$ équivaut à $1 \mu\text{g}$. Par ailleurs, les proportions des formes terminales ont été déterminées par l'observation de 100 filaments par échantillon.

$$\text{Volume cylindrique (filament)} = \frac{\pi}{4} \times d^2 \times h$$

$$\text{Volume ellipsoïde (akinète)} = \frac{\pi}{6} \times d^2 \times h$$

$$\text{Volume hémisphérique conique (hétérocyste)} = \frac{\pi}{12} \times d^2 \times h$$

d : diamètre **h** : hauteur.

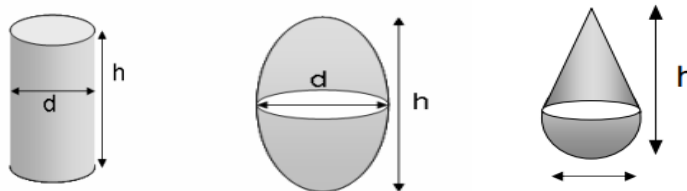


Figure 13 : Formes géométriques de base pour le calcul du biovolume.
A : Cylindre b : ellipsoïde, c : hémisphérique conique

5.2.6. Fréquence d'occurrence (FO%) des genres de cyanobactéries identifiés :

La fréquence d'occurrence est une mesure couramment utilisée pour évaluer la présence relative d'une espèce ou d'un groupe d'organismes dans un environnement donné. Elle est calculée en fonction du nombre de fois où l'espèce est observée par rapport au nombre total de prélèvements effectués, selon les méthodologies décrites par [Bigot et Bodot \(1973\)](#) ainsi que [Guergueb \(2016\)](#).

$$FO\% = \frac{P_i}{P} \times 100$$

F : fréquence d'occurrence ;

P_i : nombre total d'échantillons contenant les espèces prises en considération ; P : nombre total d'échantillons prélevés.

En fonction de la valeur de FO on distingue les catégories suivantes :

100 % l'espèce prise en considération est omniprésente, constantes si $75\% \leq FO < 100\%$, régulières si $50\% \leq FO < 75\%$; accessoires si $25\% \leq FO < 50\%$, accidentelles si $5\% \leq FO < 25\%$, rares si $FO < 5\%$.

➤ Protocole de dissection de l'anodonte et de la carpe :

Afin de prélever l'hépatopancréas et les viscères de la carpe nous avons suivi ce protocole de dissection décrit ci-dessous (figure x) :

- placer le poisson face latérale pour avoir un accès libre à la cavité abdominale.
- faire une incision avec des ciseaux ou un scalpel depuis l'anus jusqu'à la base de l'opercule.
- Effectuer une autre incision perpendiculaire pour élargir l'ouverture.
- Soulever doucement les tissus pour éviter de perforer les organes internes.
- Retirer les intestins en évitant d'endommager d'autres organes
- Localiser l'hépatopancréas sous l'estomac et le retirer délicatement.
- Rincer les organes avec de l'eau distillée afin d'éliminer les impuretés.
- Faire un pool pour chaque organe des trois individus et homogénéiser doucement.
- Faire le transfert des pools dans les flacons adaptés à la lyophilisation
- Une fois lyophilisés, réduire les tissus en poudre fine à l'aide d'un mortier.
- Conservation des échantillons à -20°C jusqu'à l'extraction et l'analyse.

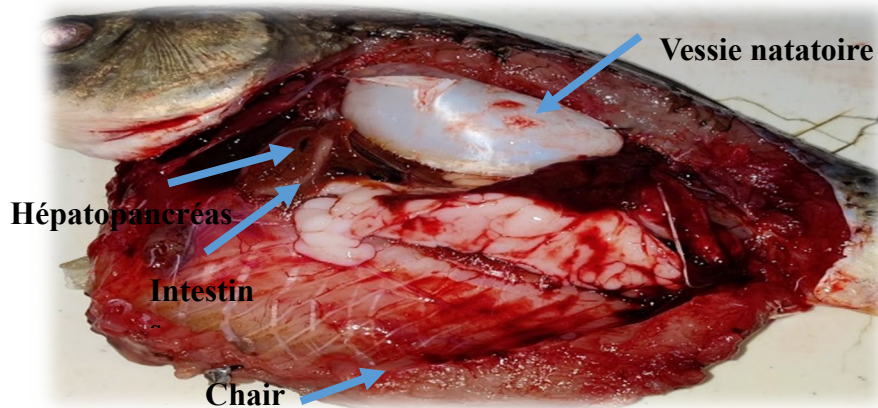


Figure 14 : Photographie montrant l'exposition des organes de la cavité abdominale de la Carpe commune (*Cyprinus carpio*).

➤ **Protocole de dissection de l'anodonte et de l'anodonte :**

Afin de prélever les organes de l'anodonte nous avons suivi le protocole de dissection suivant :

- Placer les trois individus sur une planche, valve la plus plate vers le bas
- A l'aide d'un scalpel, on insère délicatement la lame à travers la charnière
- Sectionner les deux muscles adducteurs du bivalve (antérieur et postérieur) pour ouvrir les deux valves.
- Nettoyer les organes à l'aide de l'eau distillée afin d'éliminer les débris.
- Prélever la totalité des organes des anodonte et les mettre dans un récipient afin de faire un pool.
- Homogénéiser doucement afin d'obtenir un échantillon représentatif
- Transfert du pool d'organes dans des flacons adaptés pour lyophilisation
- Une fois lyophilisés, réduire les tissus en poudre fine à l'aide d'un mortier.
- Conservation des échantillons à -20°C jusqu'à l'extraction et l'analyse.

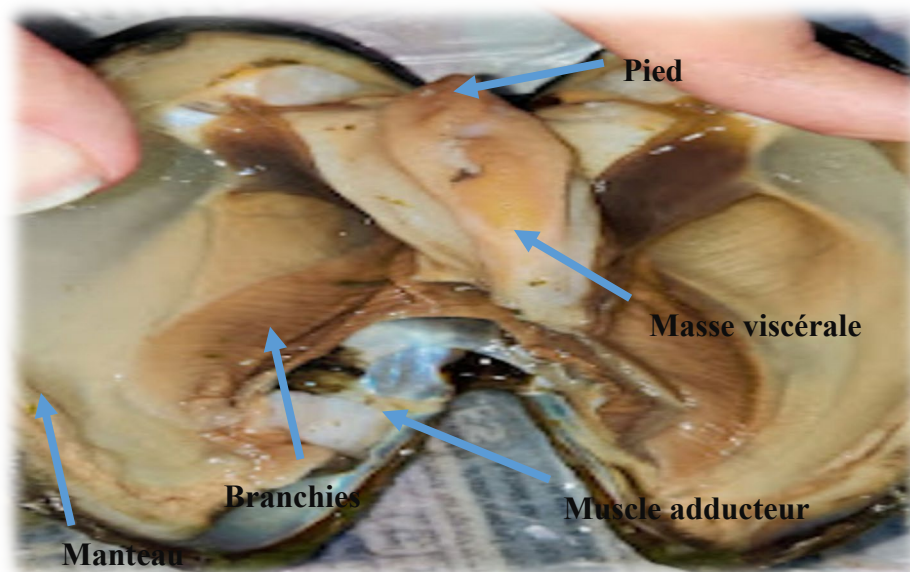


Figure 15 : l'anodonte vue face ventrale

5.2.7. Extraction et analyse des cyanotoxines à partir des cyanobactéries et des organismes aquatiques :

Le dosage de la Cylindrospermopsine et de la microcystine-LR a été effectué par la méthode ELISA. Les protocoles de séparation et d'extraction à partir des cyanobactéries et des organismes seront présentés ci-dessous, tandis que les étapes du test ELISA seront détaillées en annexe 3 et 5.

5.2.7.1. Extraction et analyse de la Cylindrospermopsine à partir des cyanobactéries

Le dosage des cylindrospermopsines a été réalisé par la méthode ELISA sur les échantillons d'eau prélevés mensuellement dans les stations, d'octobre 2021 à septembre 2022. Cette analyse a permis de quantifier à la fois les cylindrospermopsines intracellulaires et extracellulaires présentes dans nos échantillons d'eau. Pour quantifier la cylindrospermopsine (CYN) dans les échantillons d'eau, il est nécessaire de séparer ses fractions intracellulaire et extracellulaire, suivie d'une extraction spécifique de la CYN intracellulaire. Le protocole suivant décrit les différentes étapes de cette analyse.

✓ Séparation des fractions intracellulaire et extracellulaire

1. Un litre d'eau brute a été filtré sous vide à l'aide d'un filtre Whatman GF/C afin de séparer la CYN intracellulaire (retenue sur le filtre) de la CYN extracellulaire (présente dans le filtrat).
2. Le filtrat a été conservé à -18 °C en vue de l'analyse de la CYN extracellulaire.
3. La biomasse retenue sur le filtre a été séchée pendant 3 heures, puis suspendue dans 5 mL d'eau ultrapure avant d'être congelée à -18 °C pour l'extraction de la CYN intracellulaire.

❖ Extraction de la CYN intracellulaire

L'extraction a été réalisée selon la méthode décrite par [Bormans et al. \(2013\)](#), en suivant les étapes suivantes :

1. Décongélation des échantillons préparés.
2. Application d'une ultrasonification en deux cycles de 60 secondes chacun, à une puissance de 130 W, à l'aide d'un sonificateur Sonics (sonde Vibracell 75185).
3. Incubation des échantillons pendant 1 heure dans un bain de glace.
4. Répétition du second cycle de sonification, suivie d'un refroidissement supplémentaire de 1 heure.
5. Centrifugation des échantillons pendant 5 minutes à 4000 tours par minute.
6. Récupération du surnageant contenant la CYN pour les analyses ultérieures

❖ Extraction de la Microcystine LR intracellulaire :

L'extraction de la MC-LR des échantillons d'eau a été faite selon la méthode décrite par [Chorus & Bartram \(1999\)](#). Les étapes sont décrites comme suit :

1. filtration d'un volume d'eau brute (600-1000 mL) à travers un filtre en Microfibre de verre (47 mm, GF/C, Whatman®).
2. L'extraction des microcystines a été réalisée dans 10 mL d'une solution de méthanol : eau à 80% (V : V). Dans tube conique de 15ml.
3. Sonification du mélange (3 cycles de 30s avec un intervalle de 5s entre les cycles).
4. Le mélange est ensuite centrifugé à 4000 rpm pendant 10 mn.

5. faire une dilution 1/6 (moins de 20% de méthanol dans nos échantillons).

5.2.7.2.Extraction des cyanotoxines à partir des organismes :

❖ Extraction de la cylindrospermopsine :

Dans le but d'extraire la cylindrospermopsine des organes, nous avons suivi le protocole selon (Saker et al., 2004).

1. .après lyophilisation, peser 500mg de chaque pool
2. mettre dans un tube conique et ajouter 5mL de MeOH à 100%
3. faire une sonification de 3 cycles sur glace pendant 60sec
4. centrifugation du mélange à 10000g pendant 10 mn
5. récupération du surnageant et le mettre sous rotavap.
6. resuspendre dans 1000µl d'eau pure.

❖ Extraction de la microcystine :

Pour l'extraction de la microcystine des organes, nous avons suivi les étapes du protocoles de (Lance et al., 2006)

2. après lyophilisation, peser 100mg de chaque pool.
3. mettre dans un tube conique et ajouter 1ml de MeOH à 80% et broyer.
4. laisser extraire pendant 12H à 4°C
5. ajouter encore 1ml de MeOH à 80%.
6. sonification du mélange pendant 3cycles de 30 secs avec une intervalle de 5 sec.
7. centrifuger pendant 10mn à 10000g.
8. conservation du surnageant et le résidu a été extrait encore.
9. diluer pour obtenir à moins de 5% de MeOH. Pour l'analyse par immunoessai (Beattie et al., 1998).

5.3 Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées pour évaluer les relations entre les différents paramètres étudiés et pour déterminer la structuration des données, en utilisant des méthodes appropriées afin d'assurer la robustesse et la fiabilité des résultats. Pour cela, nous avons utilisé plusieurs bibliothèques (packages) statistiques et graphiques : MASS, pastecs, FactoExtra et FactoMineR (Husson et al., 2014). Tous les packages ont été téléchargés à partir du site officiel du CRAN (The Comprehensive R Archive Network) : <http://cran.r-project.org/web/packages/>.

La normalité des distributions a été vérifiée préalablement à l'aide du test de Shapiro-Wilk. Étant donné que les distributions étaient majoritairement asymétriques, nous avons opté pour des alternatives non-paramétriques dans notre analyse statistique. Les corrélations entre les séries de paramètres ont été évaluées à l'aide du coefficient de corrélation non-paramétrique de Spearman (r), afin d'analyser l'intensité des relations entre ces paramètres. De plus, des comparaisons inter-stations et inter-saisons ont été réalisées à l'aide du test de Kruskal-Wallis, suivi du test de Mann-Whitney pour comparer deux groupes indépendants d'organismes ne suivant pas une distribution normale. L'analyse en composantes principales (ACP) a également été utilisée comme méthode descriptive et exploratoire pour

caractériser, par une approche multivariée, la structuration des stations du lac Oubeira. Enfin, une analyse hiérarchique a été réalisée pour mieux visualiser les similitudes inter-sites et inter-saisons (Dagnelie, 2007 et 2011).

III. Résultats :

1. Caractéristiques physico-chimiques des eaux du lac Oubeira :

1.1 Température :

Les températures des eaux du lac Oubeira sont comprises entre 11.7°C (en Décembre) et 30°C (en Juillet). L'écart entre les T° maximale et minimale est de l'ordre de 18.3°C et la température moyenne est égale à 20.8°C, et. Les températures inférieures à 20°C sont enregistrées d'Octobre à Mars et celles supérieures à 20°C sont notées d'Avril à Septembre.

L'évolution saisonnière de la température dans les six stations d'échantillonnage suit l'ordre croissant suivant : Hiver (14°C) < Automne (15.75°C) < Printemps (25 °C) < Eté (28.6°C). les T° les plus basses sont relevées dans S3 en automne et en hiver et dans S1 au printemps et en été. Les T° les plus élevées sont notées dans S4 en automne, dans S5 en hiver, dans S6 au printemps et dans S3 en été. **(fig16)**

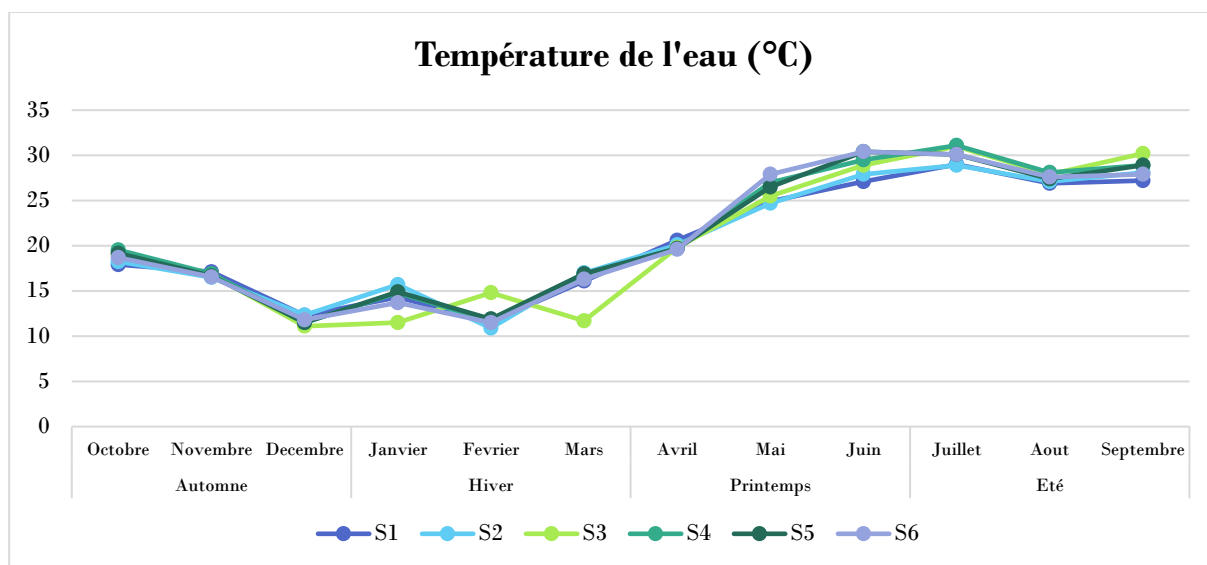


Figure 16 : Variations spatio-temporelles de la température des eaux du lac Oubeira

1.2 Oxygène Dissous :

Les teneurs en oxygène dissous dans les eaux du lac Oubeira oscillent entre 8,29 et 10,85 mg/l ; la moyenne étant de l'ordre de 9,56 mg/l. Les teneurs en oxygène dissous rencontrées dans les différentes stations varient de 9.36 à 9.88 mg/l selon l'ordre décroissant suivant : S4 ≥ S3 ≥ S6 ≥ S5 ≥ S1 ≥ S2 . L'amplitude entre les valeurs maximale et minimale est de l'ordre de 2,56 mg/L.

Les teneurs en oxygène dissous sont basses en été (8.78 mg/l), élevées en hiver (10.23 mg/l) et intermédiaires au printemps (9.53 mg/l) et en automne (9.71 mg/l). Les valeurs les plus basses sont notées dans S2 en automne, dans S1 en été, dans S6 au printemps et dans S3 en hiver. Quant aux valeurs les plus élevées elles sont enregistrées dans S5 pour l'ensemble des saisons. **(fig.17)**

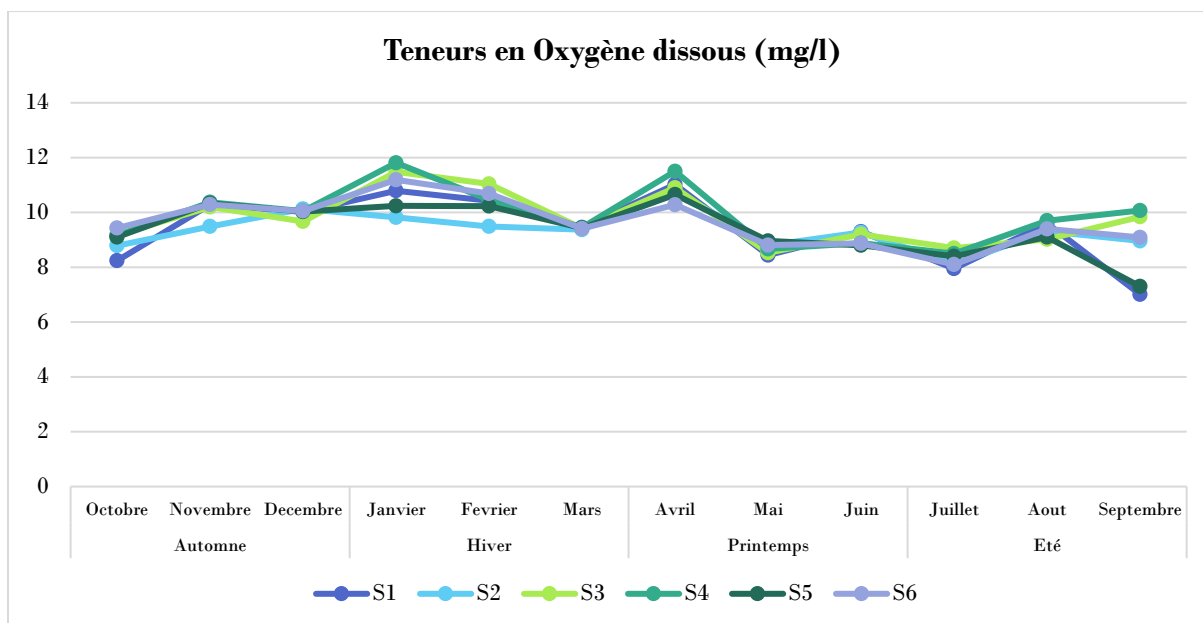


Figure 17 : Variations spatio-temporelles des teneurs en oxygène dissous dans les eaux de l’Oubeira

1.3 Le potentiel d’hydrogène (pH) :

Les eaux du lac Oubeira sont alcalines, car le pH moyen est de l’ordre de 8.86 et les valeurs enregistrées varient de 8,02 (en décembre) à 9,38 (en juin). Les valeurs moyennes notées dans les six stations restent assez proches, l’écart étant de seulement 0.24).

Les valeurs saisonnières les plus basses sont relevées en hiver (8,53) et en automne (8,55), tandis que les plus élevées sont enregistrées au printemps (9,14) et en été (9,22). Les valeurs les plus basses sont enregistrées dans S5 (en automne), dans S1 (en hiver et au printemps) et dans S2 (en été) ; quant aux valeurs les plus élevées, elles sont relevées dans S3 (en automne), dans S5 (en hiver et au printemps) et dans S3 (en été). (fig.18)

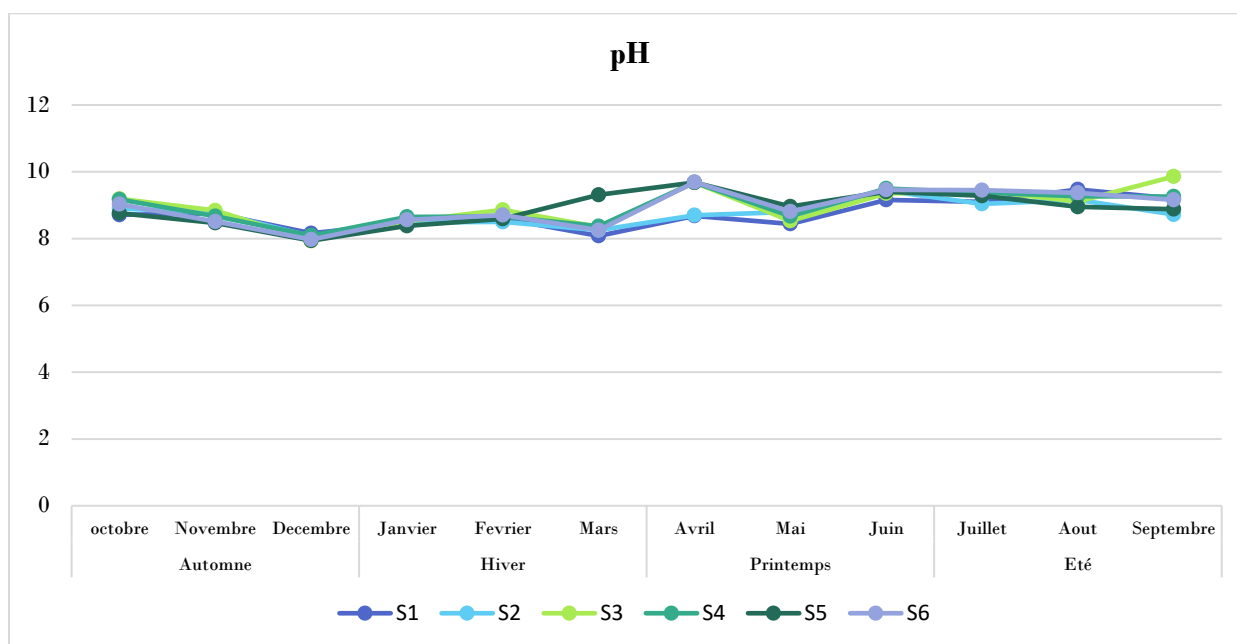


Figure 18: Variations spatio-temporelles du pH des eaux de l’Oubeira

1.4 La conductivité

Les valeurs de la conductivité des eaux du lac Oubeira varient de 650,5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (en janvier) à 998 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (en septembre) ; l'écart entre les valeurs extrêmes est de l'ordre de 348,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ quant à la valeur moyenne annuelle elle est égale à 739 $\mu\text{S}/\text{cm}$. La valeur moyenne de la conductivité la plus élevée est notée dans S3 et la plus basse dans S1 selon l'ordre décroissant suivant : $S3 \geq S4 \geq S5 \geq S2 \geq S6 \geq S1$.

Les valeurs de saisons sont de l'ordre de 660 $\mu\text{S}/\text{cm}$, en hiver), 694 $\mu\text{S}/\text{cm}$ au printemps, 713 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en automne été, et 884 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en été. La conductivité des eaux de l'Oubeira montre les valeurs les plus basses dans S1 (en automne, au printemps et en été) et dans S6 (en hiver) ; quant aux valeurs les plus fortes elles sont notées dans S5 (automne - été) et dans S4 (hiver – printemps). **(fig.19)**

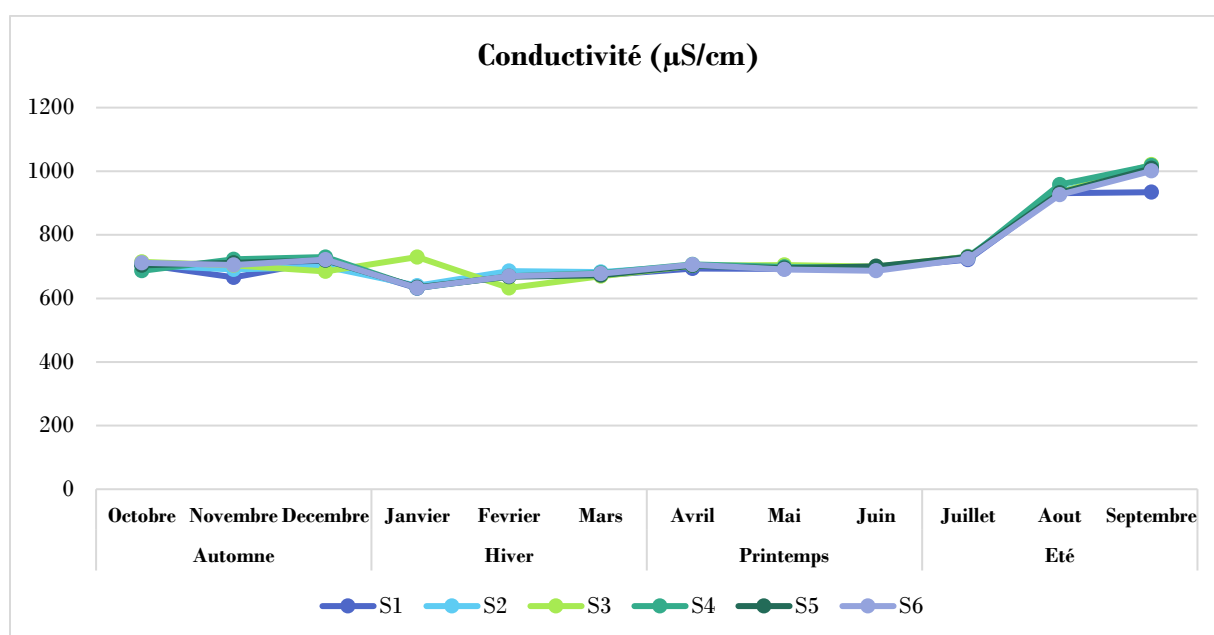


Figure 19 : Variations spatio-temporelles de la conductivité des eaux de l'Oubeira

1.5 La turbidité

La turbidité des eaux de l'Oubeira varie de 64 (en février) à 398 NTU (en août) avec une moyenne annuelle égale à 152 NTU ; Les valeurs de la turbidité suivent l'ordre croissant suivant : $S5 \leq S3 \leq S6 \leq S2 \leq S4 \leq S1$; Les valeurs inférieures à 100 NTU sont enregistrées en hiver et celles de plus de 200 NTU en été ; des valeurs intermédiaires (143 NTU) sont relevées en automne et au printemps). Les valeurs les basses sont rencontrées dans S6 (en automne, printemps et été) et dans S5 (en hiver). Les stations qui abritent de fortes turbidités sont S1 (en automne et en été), S4 (en hiver) et S5 (au printemps) **(fig.20)**

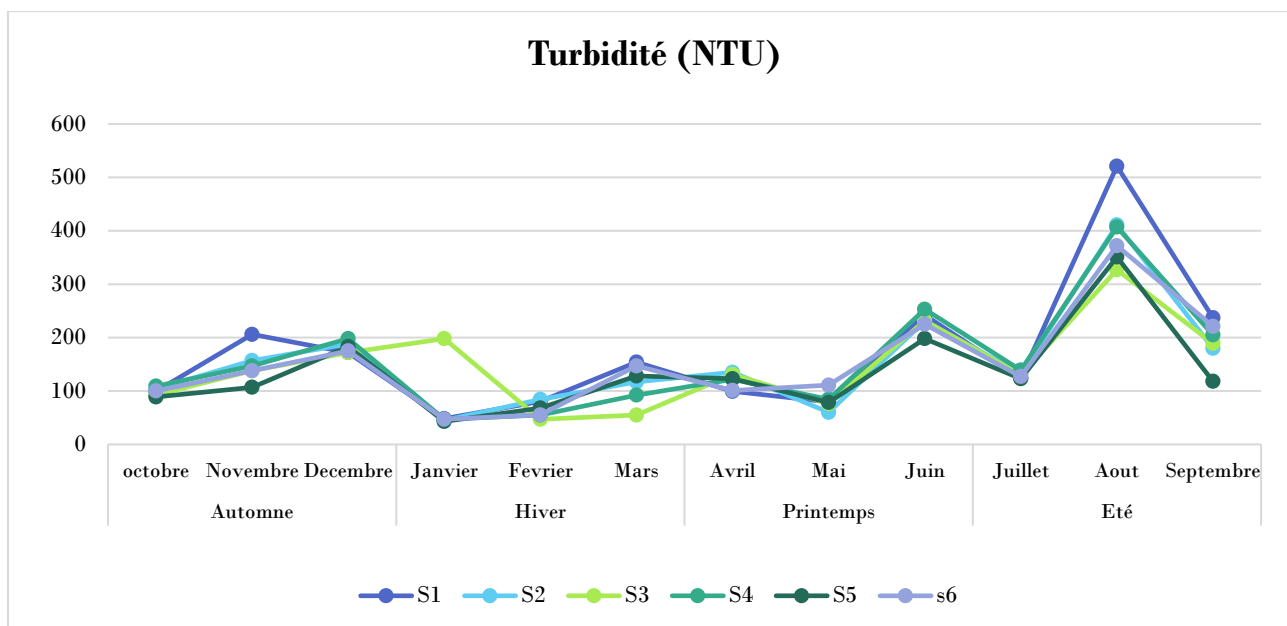


Figure 20: Variations spatio temporelles de la turbidité des eaux de l’Oubeira

1.6 La transparence :

La transparence des eaux du lac Oubeira varie de 9,16 cm (en septembre) à 25 cm (en janvier) ; la valeur moyenne annuelle est de l’ordre de 14,53 cm. L’ensemble des stations abritent des valeurs de la transparence inférieures à 15cm sauf dans S4 et S6 (15.2 et 15.08 cm respectivement). Les valeurs de saison suivent l’ordre décroissant suivant : hiver (proche de 21cm) ≥ printemps (15.33 cm) ≥ automne (13 cm) ≥ été (11.33 cm).

Les valeurs les plus élevées, supérieures à 15 cm, sont observées dans S6 (en été, au printemps et en automne) et dans S4 (en hiver) ; quant aux valeurs les plus basses elles sont relevées dans S1 durant les 4 saisons. (fig.21)

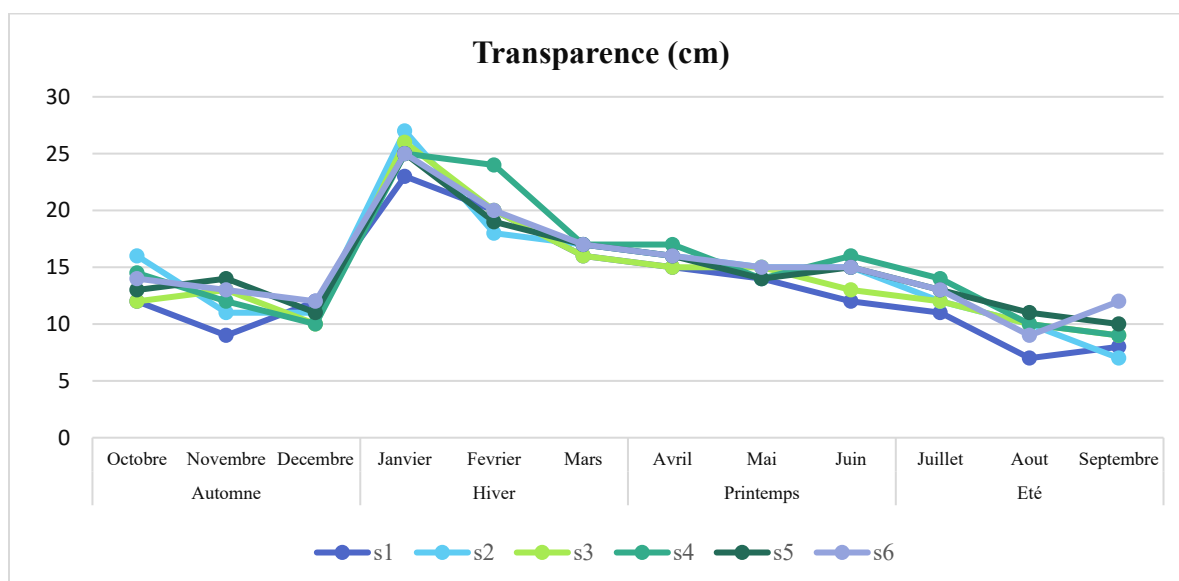


Figure 21 : variations spatiotemporelle de la transparence dans l’oubeira

1.7 Ammonium :

Dans les eaux du lac Oubeira, les concentrations en ammonium varient de 16 µg/L (en avril) à 58 µg/L (en janvier), à l'exception de deux pics enregistrés en décembre (312 µg/L) et en mars (221,4 µg/L) ; La concentration moyenne annuelle est égale à 74 µg/L. La distribution spatiale des teneurs en ammonium varie d'une station à l'autre : S4 (47 µg/L) ≤ S6 (64 µg/L) ≤ S3 (67 µg/L) ≤ S2 (76 µg/L) ≤ S5 (77 µg/L) ≤ S1 (113 µg/L).

Les valeurs saisonnières montrent des variations illustrées par des concentrations de plus de 100 µg/L en automne (127 µg/L) et en hiver (101 µg/L) ; les valeurs estivales ne représentent que 46 µg/L, quant à celles du printemps, elles sont les plus basses (21 µg/L). Les teneurs en ammonium les plus basses sont notées dans S4 (automne, hiver, été) et dans S3 (printemps) et les plus élevées dans S1 (hiver, été), dans S2 (printemps), dans S5 (automne). (fig.22)

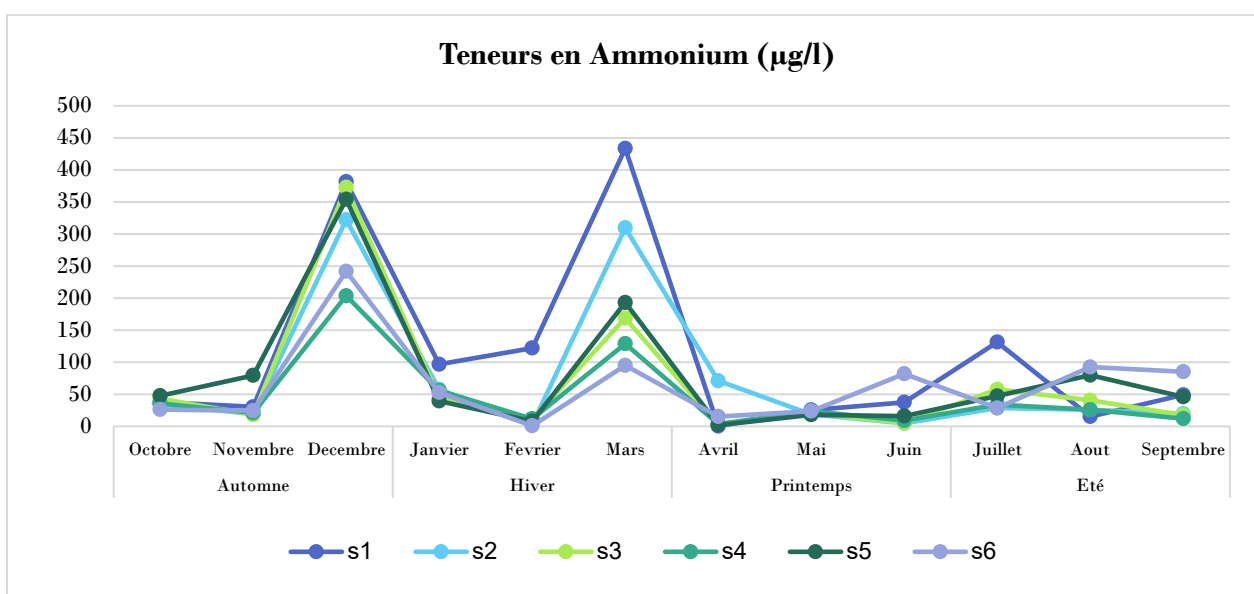


Figure 22 : Concentrations en ammonium notées dans les eaux de l'Oubeira

1.8 Les Nitrates :

Le dosage des nitrates, dans les eaux du lac Oubeira, révèle la présence de cet élément à concentrations variables selon les stations et les mois de l'année. Les valeurs enregistrées oscillent entre 325 µg/L (en mars) et 1341 µg/L (en septembre). Les concentrations inférieures à 1000 µg/L sont observées d'octobre à juillet, tandis que celles dépassant ce seuil sont notées en août et septembre. Des pics supérieurs à 600 µg/L, sont relevés en décembre (1054 µg/L), février (721 µg/L), août (681 µg/L) et septembre (800 µg/L).

Les teneurs moyennes en nitrates restent comprises entre 600 et 700 µg/L dans l'ensemble des stations ; toutefois, la distribution spatiale de cet élément suit l'ordre croissant suivant : S5 (611 µg/L) ≤ S2 (618 µg/L) ≤ S4 (628 µg/L) ≤ S6 (648 µg/L) ≤ S1 (655 µg/L) ≤ S3 (684 µg/L)

Les teneurs en nitrates enregistrées durant les saisons montrent de gros écarts ; en période estivale, elles varient de 924 à 1126 µg/L (la moyenne étant de l'ordre de 1028 µg/L) ; en période automnale, la moyenne de saison est égale à 530 µg/L et les teneurs varient de 367 à 641 µg/L ; Au printemps et

en hiver, les teneurs moyennes en nitrates sont très proches (502 et 501 $\mu\text{g/L}$ respectivement) ; toutefois, les valeurs varient de 461 à 570 $\mu\text{g/L}$ au printemps et sont comprises entre 419 et 649 $\mu\text{g/L}$ en hiver. Les valeurs les plus basses sont rencontrées dans S1 (en automne), dans S5 (en hiver), dans S3 (au printemps), dans S4 (en été) ; en ce qui concerne les valeurs les plus élevées, elles sont enregistrées dans S1 (en hiver et en été), dans S3 (en automne) et dans S6 (au printemps). (fig23)

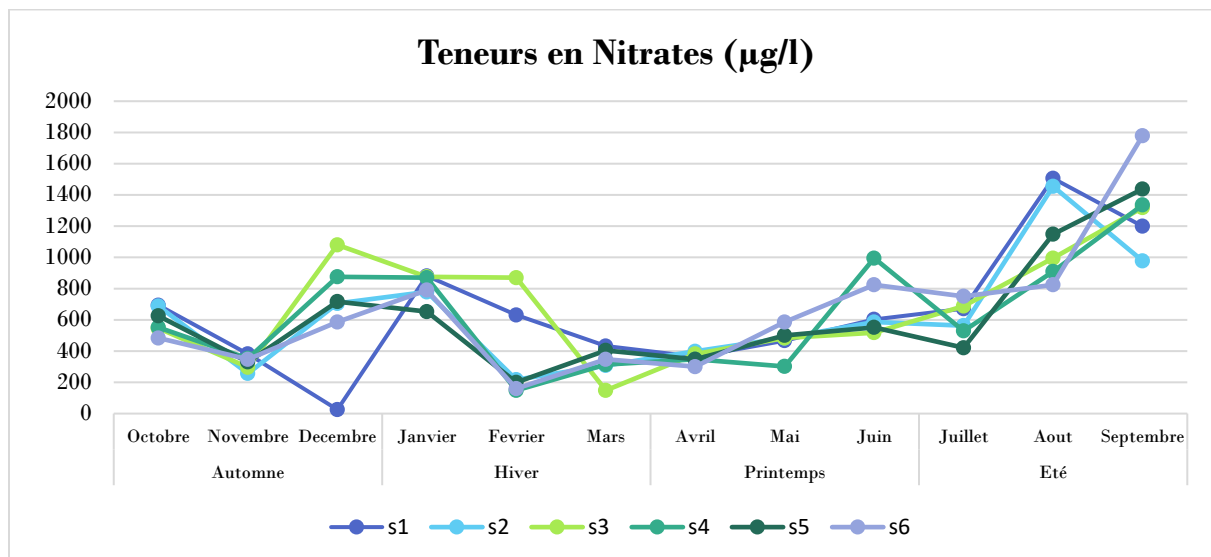


Figure 23 : Concentrations des nitrates enregistrées dans les eaux de l'Oubeira

1.9 Nitrites

Les concentrations en nitrites dans les eaux du lac Oubeira varient de 9,1 $\mu\text{g/L}$ (en novembre) à 46 $\mu\text{g/L}$ (en décembre), à l'exception de deux pics enregistrés en janvier (68,13 $\mu\text{g/L}$) et en mars (66 $\mu\text{g/L}$). Des écarts importants entre les stations sont observés en mars (158,5 $\mu\text{g/L}$), en février (73,54 $\mu\text{g/L}$), en janvier (57,2 $\mu\text{g/L}$) et en décembre (45 $\mu\text{g/L}$). Le reste de l'année, les concentrations restent inférieures à 25 $\mu\text{g/L}$. la concentration moyenne en nitrites est égale à 25.24 $\mu\text{g/L}$. Le classement des stations selon leur teneur en nitrites suit l'ordre croissant suivant : $S5 \leq S4 \leq S6 \leq S3 \leq S2 \leq S1$.

Les valeurs saisonnières mettent en évidence une augmentation progressive des concentrations en nitrites selon l'ordre suivant : printemps (12,5 $\mu\text{g/L}$) < été (13,03 $\mu\text{g/L}$) < automne (23,63 $\mu\text{g/L}$) < hiver (51,75 $\mu\text{g/L}$). Les teneurs en nitrites les plus basses sont relevées dans S2 (en été et au printemps), dans S6 et S5 respectivement en automne et en hiver ; Des valeurs élevées en nitrites sont enregistrées dans S3 et S4 (respectivement en automne et au printemps) et dans S1 (en hiver et en été). (fig.24)

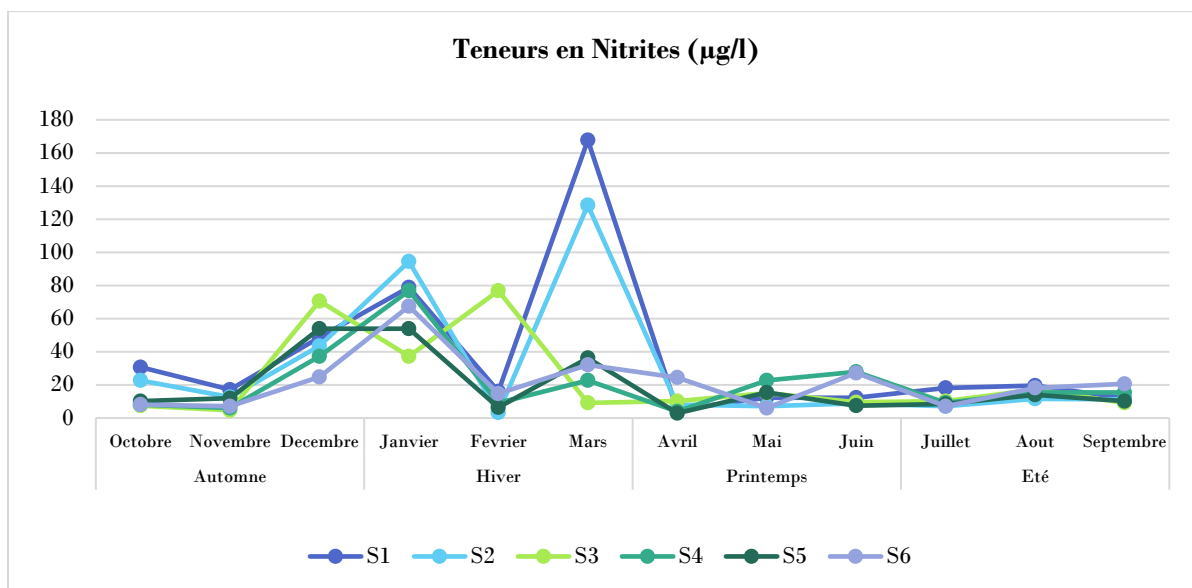


Figure 24 : Concentrations des Nitrites dans les eaux de l’Oubeira

1.10 Les Orthophosphates :

Dans les eaux du lac Oubeira, à l’exception des deux pics enregistrés en février (155,8 µg/L) et en mars (124 µg/L), les concentrations en orthophosphates varient de 0 à 49,39 µg/L ; La concentration moyenne annuelle atteint 35,78 µg/L. Des concentrations inférieures à 10 µg/L sont observées en janvier et d’avril à septembre, tandis que des valeurs plus élevées sont notées durant le reste de l’année. La distribution spatiale des teneurs en orthophosphates relevées dans les stations a lieu selon l’ordre suivant : $S3 \leq S2 \leq S6 \leq S5 \leq S4 \leq S1$.

D’un point de vue saisonnier, les concentrations en orthophosphates sont élevées en hiver (96,14 µg/L) et en automne (40,65 µg/L) ; Les concentrations de cet élément montrent de fortes baisses illustrées par l’enregistrement de valeurs de l’ordre de 5,65 et 07 µg/L respectivement au printemps et en été. Les valeurs les plus basses sont relevées dans S6 (en automne) et dans S3 (en hiver, printemps et été) et les plus élevées dans S4, S1, S3 et S6 respectivement en automne, en hiver, au printemps et en été. (fig.25)

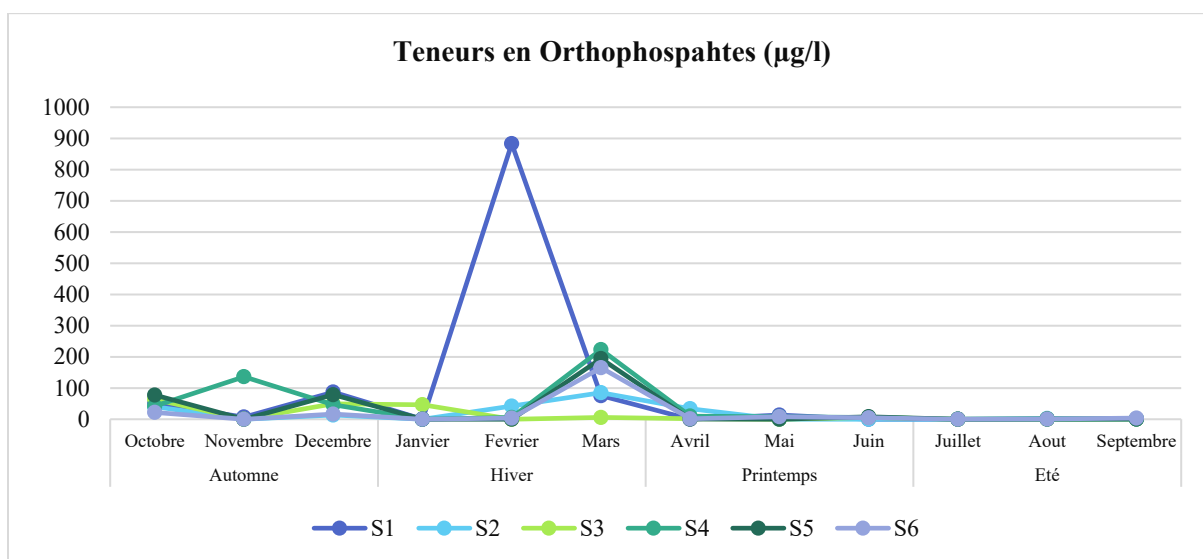


Figure 25 : Concentrations des Orthophosphates rencontrées dans les eaux de l’Oubeira

1.11 Chlorophylle-a :

Les eaux du lac Oubeira abritent des concentrations en chlorophylle-a comprises entre 67 et 1142 $\mu\text{g/L}$; la teneur moyenne est de l'ordre de 358 $\mu\text{g/L}$. La chlorophylle montre des teneurs de plus de 200 $\mu\text{g/L}$ du mois de juin au mois de novembre ; il est utile de signaler les pics de plus de 1000 $\mu\text{g/L}$ enregistrés en août et en septembre (1142 et 1085 $\mu\text{g/L}$ respectivement). Par ailleurs, la teneur en chlorophylle est le plus souvent comprise entre 350 et 360 $\mu\text{g/L}$ et montre une distribution spatiale qui suit l'ordre suivant : $S4 \leq S1 \leq S3 \leq S2 \leq S6 \leq S5$.

La chlorophylle montre les concentrations les plus élevées en été (912 $\mu\text{g/L}$) et dans une moindre mesure en automne (267 $\mu\text{g/L}$) et au printemps (162 $\mu\text{g/L}$) ; c'est, en revanche, en hiver que la concentration en chlorophylle atteint sa valeur la plus basse (90 $\mu\text{g/L}$). Les concentrations en chlorophylle les plus basses sont relevées dans S4, S2, S1 et S3 respectivement en automne, en hiver, au printemps et en été ; quant aux teneurs les plus fortes elles sont notées dans S6 (en automne), dans S5 (en été) et dans S3 (en hiver et au printemps). (fig.26)

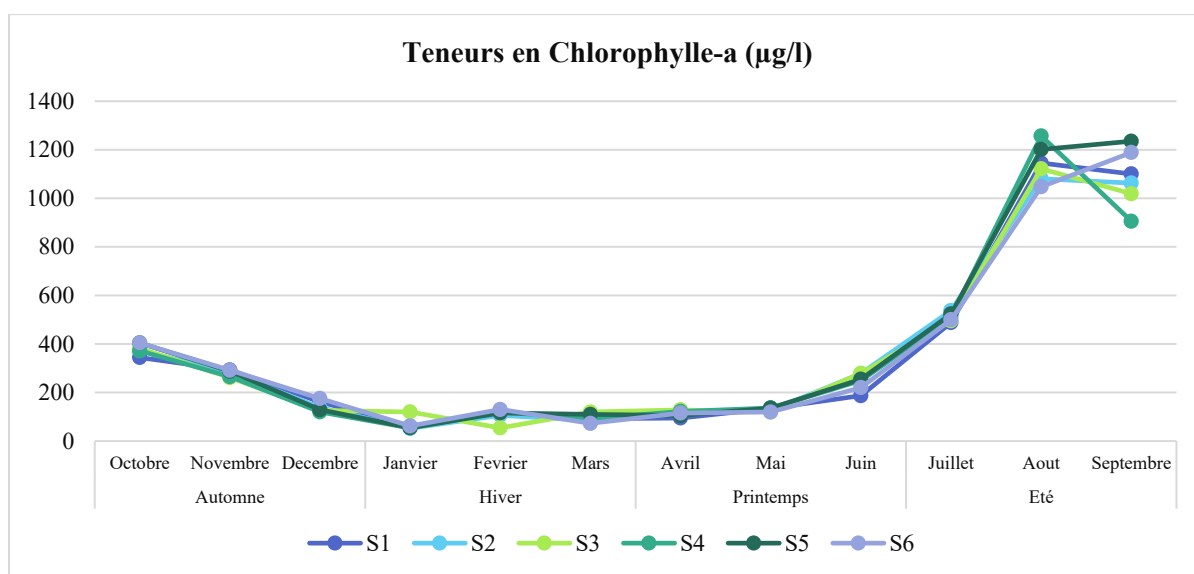


Figure 27: Teneurs en chlorophylle-a enregistrées dans les eaux de l'Oubeira

2. Détermination du niveau trophique des eaux du lac Oubeira :

La caractérisation du niveau trophique d'un écosystème aquatique est essentielle pour comprendre son fonctionnement écologique, son état de santé et sa capacité à répondre aux pressions anthropiques. Le niveau trophique est déterminé par une combinaison de paramètres physico-chimiques et biologiques, incluant notamment la concentration en nutriments (phosphore total), la production primaire (teneur en chlorophylle-a) et la transparence de l'eau, suivant les valeurs limites du système de classification trophique des eaux selon l'O.C.D.E. (1982). Dans le cadre de cette étude, nous nous sommes appuyés sur deux critères principaux : la chlorophylle-a et la transparence de l'eau. Le phosphore total n'a pas été pris en compte, car seules les concentrations d'orthophosphates ont été dosées. Les concentrations moyennes de chlorophylle-a dans le lac Oubeira s'élèvent à $358 \pm 356,6 \mu\text{g/L}$, dépassant largement la norme établie par l'OCDE. Elles se situent ainsi dans la catégorie hypereutrophe ($> 25 \mu\text{g/L}$). De même, les valeurs maximales de chlorophylle-a excèdent également le seuil de $75 \mu\text{g/L}$, confirmant ce niveau trophique. Quant à la transparence, la valeur moyenne enregistrée est de $0,14 \pm 0,04 \text{ m}$, avec un minimum de $0,07 \text{ m}$. Ces valeurs restent bien en dessous des seuils définis pour un état hypereutrophe

Tableau 9: les valeurs limites du système de classification trophique des eaux (selon l'O.C.D.E. (1982)).

paramètres	Niveau trophique				
	hyper-oligotrophe	Oligotrophe	Mésotrophe	eutrophe	hypereutrophe
Phosphore total µg/l	<4	<10	10-35	35-100	>100
Chlorophylle-a µg/l (moy)	<1	<2,5	2,5-8	8-25	>25
Chlorophylle-a µg/l (max)	<2	<8	8-25	25-75	>75
Disque de Secchi (m)(moy)	<3	<6	3-6	3-1,5	>1,5
Disque de Secchi (m)(min)	<4	<3	3-5	1,5-0,7	>0,7

3. Etude qualitative des cyanobactéries dans les eaux du lac Oubeira

3.1 Inventaire

L'examen microscopique des caractères morfo-anatomiques des cyanobactéries collectées dans les eaux du lac Oubeira nous a permis d'identifier 20 genres répertoriés en 6 ordres : parmi lesquels 5 ordres sont des filamenteux (Nostocales, Oscillatoriales, Leptolyngbiales, Pseudanabaenales et Spirulinales) et 2 ordres coloniales (Chroococcales, Synechococcales).

En termes de proportions, ce sont les Nostocales qui sont les plus abondants (90.5%) et sont suivis des Chroococcales (4.9%), Oscillatoriales (3.1%) les autres ordres quant à eux font 1.2%. En ce qui concerne la variété ce sont les Chroococcales et les Synechococcales qui sont les plus diversifiés, représentés par cinq genres pour chaque ordre, suivi des Nostocales et des Oscillatoriales qui sont représentés par trois genres chacun, les pseudanabaenales sont représentés par deux genres et enfin les leptolyngbiales et spirulinales sont représentés par un genre chacun. (Annexe 4)

Dans le **tableau 10** sont présentés les principaux genres rencontrés dans les eaux du lac Oubeira.

Tableau 10 : liste des genres identifiés dans les eaux collectées du lac Oubeira (2021-2022)

Ordres	Genres
Nostocales	<i>Cylindrospermopsis, Aphanizomenon, Dolichospermum</i>
Oscillatoriales	<i>Planktothrix, Oscillatoria, Geitlerinema</i>
Chroococcales	<i>Microcystis, Aphanocapsa, Aphanothece, Chroococcus, Gomphosphaeria</i>
Synechococcales	<i>Merismopedia, Coelomonon, Synechocystis, Snowella, Woronichinia</i>
Leptolyngbyales	<i>Planktolynghya</i>
Pseudanabaenales	<i>Pseudanabaena, Limnothrix,</i>
Spirulinales	<i>Spirulina</i>

Les genres rencontrés dans les eaux du lac Oubeira durant les mois d'étude sont présentés dans le

tableau (11). La présence des genres varie d'un mois à l'autre. Le nombre de genres le plus faible (8) a été observé en août et le plus élevé (16) en avril et en mai. La plus grande diversité a été notée en octobre, avec 19 genres. En termes de formes de cyanobactéries, ce sont les genres filamenteux qui ont dominé les eaux du lac pendant 9 mois (d'octobre à janvier, en mars et de mai à septembre). En octobre, le nombre de genres coloniaux a dépassé celui des genres filamenteux ; en février et avril, ces deux formes étaient en nombre égal.

Tableau 11 : Diversité générique mensuelle des cyanobactéries collectées dans les eaux de l’Oubeira (2021-2022)

	Filamenteuse	coloniales
Octobre (9f, 10c)	<i>Cylindrospermopsis, Planktothrix, Planktolyngbya, Spirulina, Limnothrix</i>	<i>Aphanizomenon, Oscillatoria, Pseudanabaena,</i> <i>Microcystis, Merismopedia, Coelomoron, Aphanocapsa, Aphanothece, Synechocystis, Snowella, Chroococcus, Gomphosphaeria, Woroninichinia</i>
Novembre (7f, 6c)	<i>Cylindrospermopsis, Planktothrix, Planktolyngbya, Pseudanabaena</i>	<i>Aphanizomenon, Oscillatoria,</i> <i>Microcystis, Merismopedia, Coelomoron, Aphanocapsa, Aphanothece, Woroninichinia</i>
Décembre (7f, 6c)	<i>Cylindrospermopsis, Planktothrix, Planktolyngbya, Pseudanabaena</i>	<i>Aphanizomenon, Oscillatoria,</i> <i>Microcystis, Merismopedia, Aphanocapsa, Aphanothece, Snowella, Woroninichinia</i>
Janvier (8f, 3c)	<i>Cylindrospermopsis, Planktothrix, Planktolyngbya, Pseudanabaena, Spirulina</i>	<i>Aphanizomenon, Oscillatoria,</i> <i>Microcystis, Merismopedia, Woroninichinia</i>
Février (6f, 6c)	<i>Cylindrospermopsis, Geitlerinema, Pseudanabaena, Spirulina</i>	<i>Aphanizomenon, Planktolyngbya,</i> <i>Microcystis, Merismopedia, Aphanocapsa, Synechocystis, Chroococcus, Gomphosphaeria</i>
Mars (8f, 6c)	<i>Cylindrospermopsis, Geitlerinema, Oscillatoria, Planktolyngbya, Pseudanabaena, Spirulina, Dolichospermum</i>	<i>Aphanizomenon,</i> <i>Microcystis, Merismopedia, Aphanocapsa, Aphanothece, Chroococcus, Gomphosphaeria</i>
Avril (8f, 8c)	<i>Cylindrospermopsis, Planktothrix, Geitlerinema, Planktolyngbya, Pseudanabaena, Spirulina, Dolichospermum</i>	<i>Aphanizomenon,</i> <i>Microcystis, Merismopedia, Coelomoron, Aphanocapsa, Synechocystis, Snowella, Chroococcus, Gomphosphaeria</i>
Mai (7f, 5c)	<i>Cylindrospermopsis, Geitlerinema, Oscillatoria, Pseudanabaena, Spirulina,</i>	<i>Planktothrix, Planktolyngbya,</i> <i>Microcystis, Merismopedia, Coelomoron, Aphanocapsa, Chroococcus</i>
Juin (6f, 5c)	<i>Cylindrospermopsis, Geitlerinema, Oscillatoria, Spirulina</i>	<i>Planktothrix, Planktolyngbya,</i> <i>Microcystis, Merismopedia, Coelomoron, Aphanocapsa, Aphanothece</i>
Juillet (7f, 6c)	<i>Cylindrospermopsis, Geitlerinema, Pseudanabaena, Dolichospermum</i>	<i>Planktothrix, Planktolyngbya, Spirulina,</i> <i>Microcystis, Merismopedia, Coelomoron, Aphanocapsa, Aphanothece, Gomphosphaeria</i>
Août (5f, 2c)	<i>Cylindrospermopsis, Planktothrix, Oscillatoria, Dolichospermum</i>	<i>Spirulina,</i> <i>Microcystis, Merismopedia, Aphanocapsa</i>
Septembre (6f, 3c)	<i>Cylindrospermopsis, Geitlerinema, Oscillatoria, Spirulina</i>	<i>Planktothrix, Planktolyngbya,</i> <i>Microcystis, Merismopedia, Aphanocapsa</i>

3.2 Fréquence d'occurrence et abondances relatives des cyanobactéries rencontrées :

L'évaluation de la fréquence d'occurrence des genres recensés dans les eaux de l'Oubeira, met en évidence la présence constante de *Cylindrospermopsis* et *Microcystis*, la régularité d'*Aphanizomenon*, *Planktothrix*, *Geitlerinema*, *Planktolyngbya* et *Merismopedia*, en revanche *Oscillatoria*, *Pseudanabaena* et *Aphanocapsa* sont accessoires et *Coelomoron*, *Aphanothece*, *Synechocystis*, *Chroococcus*, *Gomposphaeria* et *Dolichospermum* sont accidentels, le reste des genres *Limnothrix*, *Snowella* et *Woronichinia* sont rares. (Tab.12)

En terme d'abondances relatives c'est le genre *Cylindrospermopsis* qui est le plus abondant, il représente à lui seul plus 76.51%, suivi du genre *Aphanizomenon* qui représente 13.9%, le genre *Microcystis* vient en troisième position avec 4.13% puis *Geitlerinema* qui représente 2.05%, les genres *Planktothrix* et *Aphanocapsa* représentent 0.87%, 0.59% respectivement ; les proportions restantes (1.87%) représenteraient les genres (*Oscillatoria*, *Planktolyngbya*, *Pseudanabaena*, *Merismopedia*, *Spirulina*, *Coelomoron*, *Aphanothece*, *Synechocystis*, *Limnothrix*, *Chroococcus*, *Snowella*, *Dolichospermum*, *Woronichinia*).

Tableau 12 : Fréquences d'occurrence et abondances relatives des genres identifiés

N°	Genres	AR%	FO%	Observations
1	<i>Cylindrospermopsis</i>	76,51	94,4	Constant
2	<i>Microcystis</i>	4,13	90,3	
3	<i>Aphanizomenon</i>	13,90	58,3	
4	<i>Planktothrix</i>	0,87	63,9	régulier
5	<i>Planktolyngbya</i>	0,41	59,7	
6	<i>Geitlerinema</i>	2,05	69,4	
7	<i>Merismopedia</i>	0,22	69,4	
8	<i>Oscillatoria</i>	0,29	34,7	accessoire
9	<i>Pseudanabaena</i>	0,12	37,5	
10	<i>Spirulina</i>	0,06	36,1	
11	<i>Aphanocapsa</i>	0,59	29,2	accidentel
12	<i>Coelomoron</i>	0,33	23,6	
13	<i>Aphanothece</i>	0,06	6,9	
14	<i>Synechocystis</i>	0,06	6,9	
15	<i>Chroococcus</i>	0,17	13,9	
16	<i>Gomposphaeria</i>	0,02	12,5	
17	<i>Dolichospermum</i>	0,01	11,1	rare
18	<i>Limnothrix</i>	0,01	2,8	
19	<i>Snowella</i>	0,05	4,2	
20	<i>Woronichinia</i>	0,07	2,8	

Omniprésent : F% = 100 % ; Constant : $75 \leq F\% < 100$; Régulier : $50 \leq F\% < 75$; Accessoire : $25 \leq F\% < 50$; accidentelles si $5 \leq FO < 25$ Rare : $0 \leq F\% < 5$.

La figure (27) représente les abondances relatives mensuelles des genres rencontrés dans les eaux du lac Oubeira. Dans cette partie nous tiendrons compte des genres qui ont une abondance relative globale supérieure à 2% ; ce qui nous donne un total de quatre genres : *Cylindrospermopsis*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* et *Geitlerinema*.

Il ressort de la figure () que le genre *Cylindrospermopsis* prédomine pendant presque toute l'année sauf pendant les mois de Janvier, Février, Avril et Mai où les abondances relatives mensuelles sont de 17%, 3.22%, 3.19%, 2.49%. Ce n'est qu'en période automnale et estivale que les abondances sont supérieures à 70%. Pour les mois de Mars et Juin les AR% sont de 35 et 65 % respectivement

Le genre *Aphanizomenon* prédomine uniquement pendant la période hivernale, atteignant une abondance relative (AR%) de 92 % en février et de 71 % en janvier. À partir de mars, ses abondances diminuent progressivement, passant à 15 % en mars et à 7,38 % en avril, avant de disparaître complètement le reste du cycle d'étude. En automne, les abondances sont extrêmement faibles, comprises entre 0,26 % et 1,17 %.

Le genre *Microcystis* est présent tout au long de l'année, mais à des proportions variables. Sa dominance est notable uniquement au printemps, où il atteint plus de 28 % d'abondance relative. Pendant le reste de l'année, *Microcystis* est peu abondant, car ses proportions varient de 0,86 % (en septembre) à 12 % (en juillet).

Le genre *Geitlerinema* est également détecté tout au long de l'année, à l'exception du mois d'août. Ses abondances relatives sont globalement faibles, mais augmentent de manière significative au printemps, avec des valeurs comprises entre 11,9 % et 39 %. En dehors de cette période, ses abondances ne dépassent pas 4 %.

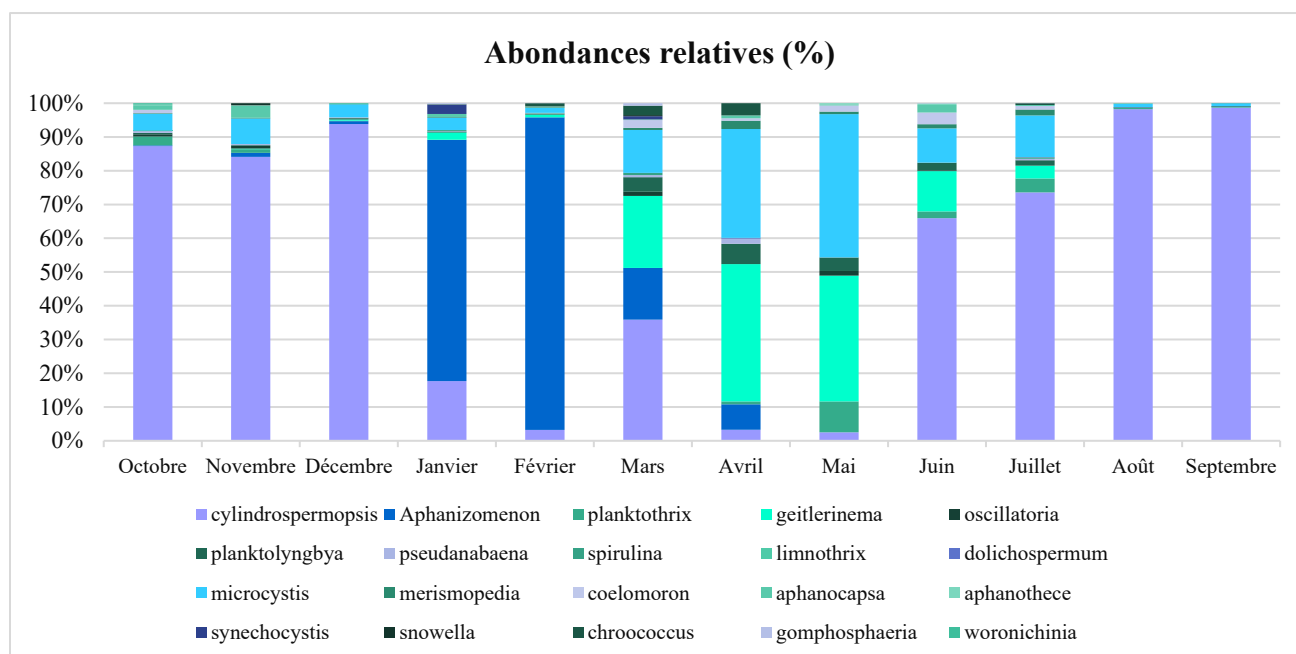


Figure 27: Abondances relatives des genres identifiés dans les eaux de l'oubeira (2021-2022)

3.3 Variations spatiotemporelles des cyanobactéries :

Les densités mensuelles globales des cyanobactéries sont représentées dans la figure () ; les densités varient de 4351 cell/mL (en Mars dans la station 6) à 1547960 cell/mL (en août dans la station 1). L'abondance saisonnière varie selon l'ordre croissant : Printemps (10.36%) < Hiver (12.98%) < Automne (22.76%) < été (53.87%). (fig.28)

En période automnale, les densités de cyanobactéries varient entre 152120 cellules/mL et 676200 cellules/mL. Des pics dépassant 500000 cellules/mL sont enregistrés en octobre dans les stations 1 (510552 cellules/mL) et 2 (676200 cellules/mL), ainsi qu'en décembre dans les stations 1 (611759 cellules/mL), 2 (565719 cellules/mL) et 3 (547747 cellules/mL). En dehors de ces pics, les densités relevées dans les autres stations, pendant ces trois mois, fluctuent entre 250000 cellules/mL et 485000 cellules/mL, à l'exception de la station 5, qui enregistre, en décembre, la valeur la plus basse de la saison (152120 cellules/mL).

En période hivernale, les densités les plus élevées sont notées au mois de Février dans les six stations ; nous notons, en effet, un pic de 1200000 cell/mL dans S3, et des valeurs qui oscillent entre 370 000 cell/mL et 580 000 cell/mL dans le reste des stations. Durant le mois de Janvier les densités fluctuent entre 93 000cell/mL et 142 000cell/mL sauf dans S1 (26 400cell/mL). Ce n'est qu'au mois de Mars que les densités les plus basses sont enregistrées ; dans l'ensemble des stations, les valeurs oscillent entre 4300 et 19 800 cell/mL sauf dans S1.

Durant la période printanière, les densités de cyanobactéries oscillent entre 16 000 et 430 000 cell/mL ; les valeurs les plus basses (moins de 45 000 cell/mL) sont notées en avril ; en revanche, deux pics significatifs ont été relevés en juin dans les stations 2 et 6 (430 000 cell/mL et 319 000 cell/mL, respectivement) alors que dans le reste des stations, les valeurs restent comprises entre 86 000 et 180 000 cell/mL. Quant au mois de mai, les densités varient de 86 000 à 188 000 cell/mL.

Durant la période estivale, les densités de cyanobactéries oscillent entre 93 000 et 225 000 cell/mL en juillet et dépassent le seuil du million de cell/mL en août et en septembre que les valeurs dépassent le seuil du million de cell/mL. En août, des pics sont relevés dans S1 (1 540 000 cell/mL), dans S4 (1 520 000 cell/mL) et dans S3 (1 369 000 cell/mL). En septembre, les pics de l'ordre de 1 230 320, 1 504 440 et 1 488 200 cellules/mL sont relevés dans S4, S5 et S6 respectivement.

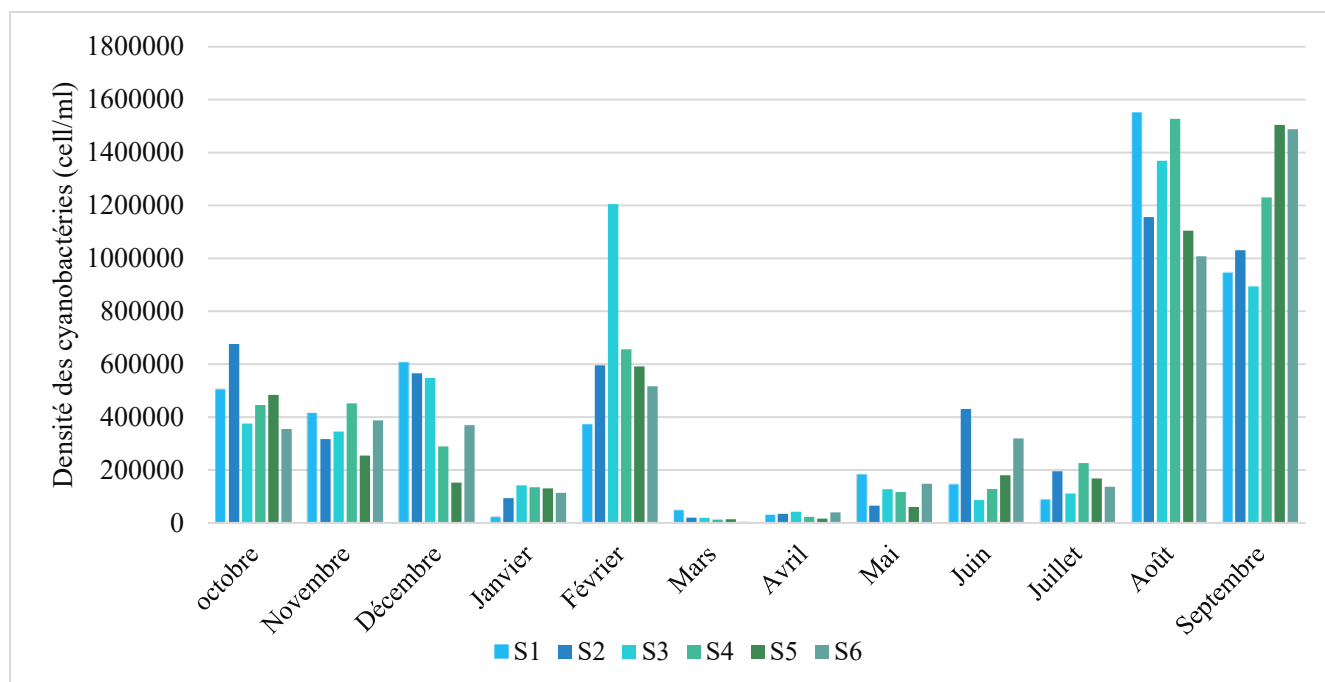


Figure 28 : variations spatiotemporelles des densités globales des cyanobactéries collectées dans les eaux du lac Oubeira

3.4 Distributions spatio-temporelles des cyanobactéries identifiées dans le lac Oubeira :

3.4.1 *Cylindrospermopsis*

Ce genre représente à lui seul plus de 76.51% de l'abondance relative globale, il n'est pas présent en Février dans S2 et S5, en Avril dans S6 et en Mai dans S1. Ses valeurs varient entre 1135 et 1 516 920 cell/mL durant toute l'année, en termes de proportions par rapport à la densité globale des cyanobactéries collectées dans le lac Oubeira *Cylindrospermopsis* représente : 6% (Hiver), 40.12% (Printemps) , 88.35% (Automne) et 96.97% (été). (fig.29)

Durant la période hivernale, les densités de *Cylindrospermopsis* sont relativement faibles, allant de 135 cellules/mL (dans S5) à 99 205 cellules/mL (dans S3) en janvier. En février, bien que les densités augmentent dans certaines stations, *Cylindrospermopsis* est absent dans les stations 2 et 5.

Durant le printemps, les densités de *Cylindrospermopsis* sont comprises entre 360 cell/mL (dans S6 en Mai) et 323 497 cell/mL (dans S2 en Juin) ; Des densités nulles sont relevées dans S6 et S1 en Avril et en Mai respectivement.

La période automnale se distingue par une forte abondance de *Cylindrospermopsis*, illustrée par des densités de plus de 140 000 cellules/mL dans l'ensemble des stations. Les valeurs varient entre 145 800 cellules/mL (dans S5 en décembre) et 618 820 cellules/mL (dans S2 en octobre). Deux autres pics significatifs sont enregistrés en décembre (81 846 cellules/mL dans S1) et 540 740 cellules/mL (dans S5).

L'abondance de *Cylindrospermopsis* est particulièrement élevée durant la période estivale. Une augmentation notable est observée dès le mois de juillet, où les valeurs sont comprises entre 58 613 cell/mL (dans S1) et 193 300 cell/mL (dans S4). En août, les valeurs dépassent 900 000 cell/mL et atteignent deux pics de l'ordre de 1 516 920 cell/mL dans S1 et S4. Enfin, en septembre, deux autres pics de l'ordre de 1 491 680 cell/mL et 1 474 080 cell/mL sont enregistrés respectivement dans S5 et S6.

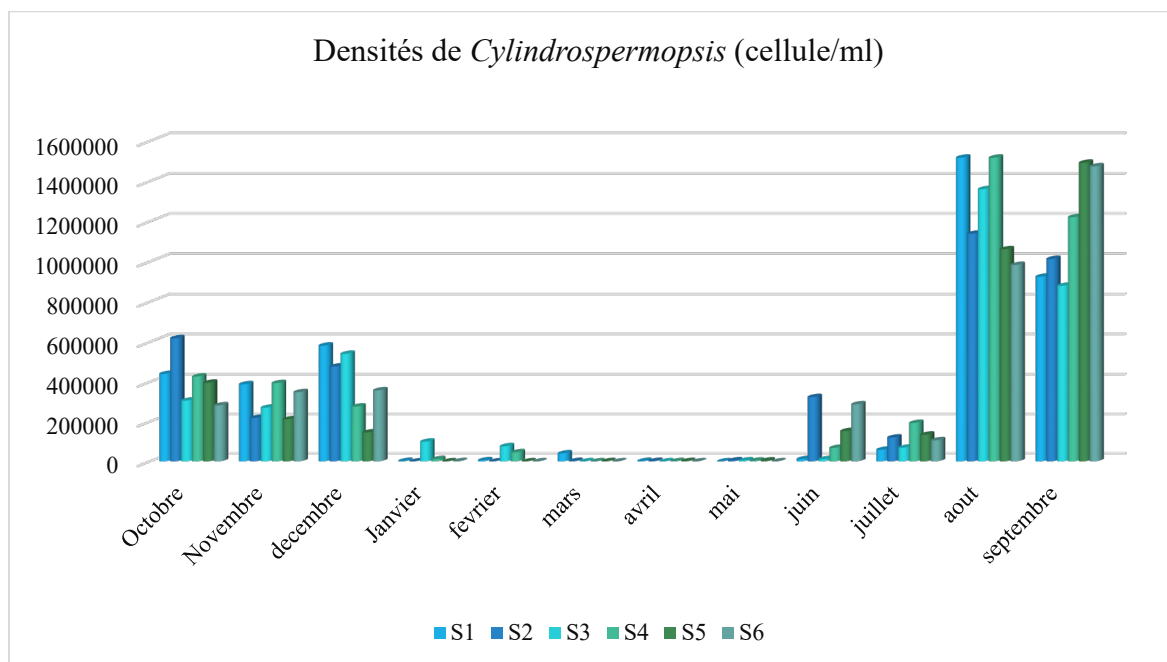


Figure 29: variations spatio-temporelles des densités du genre *Cylindrospermopsis* rencontrés dans les eaux de l'Oubeira (2021-2022)

3.4.2. *Microcystis*

Le genre *Microcystis* représente 4.13% de l'abondance relative globale ; en termes de proportions, les densités de *Microcystis* suivent l'ordre croissant suivant : 1.61% (été), 2.06 (Hiver), 5.34% (automne) et 22.45% au printemps. **(fig.30)**

Durant l'été, *Microcystis* est présent dans toutes les stations avec des densités variables selon les mois et les stations ; les densités varient de 5 100 cell/mL (dans S6) à 48 560 cell/mL (dans S2) en juillet, elles oscillent entre 3 080 cell/mL (s3) et 21 560 cell/mL (s5) en août, et baissent jusqu'à atteindre des densités comprises entre 6080 cell/mL et 16773 cell/mL en Septembre.

Durant la période hivernale, les valeurs ne dépassent pas les 20 000 cell/mL dans l'ensemble des stations ; les densités ne dépassent pas 1029 cell/ml en Janvier (S2), 19591 cell/mL en Février (S3) et 7070 Cell/mL en mars.

En automne, les densités atteignent un pic à 37 580 cell/mL en octobre (dans S5) ; les densités sont comprises entre 15 400 cell/mL (s6) et 63 451 cell/mL (s2) en Novembre et entre 1747 cell/mL (s4) et 75 730cell/mL (s2) en Décembre.

La période printanière quant à elle, représente la période où *Microcystis* est le plus abondant, les valeurs sont comprises entre 860cell/mL S5 en Avril et 100460 cell/mL (s1) en Mai. En avril, les densités oscillent entre 860 cell/mL (s5) et 18 684 cell/mL (s3). En mai, les valeurs montrent une augmentation notable et restent comprises entre 4 140 cell/mL (s5) et 100 460 cell/mL (s1) ; En juin, les densités varient de 5 160 cell/mL (s1) à 51 968 cell/mL (s3).

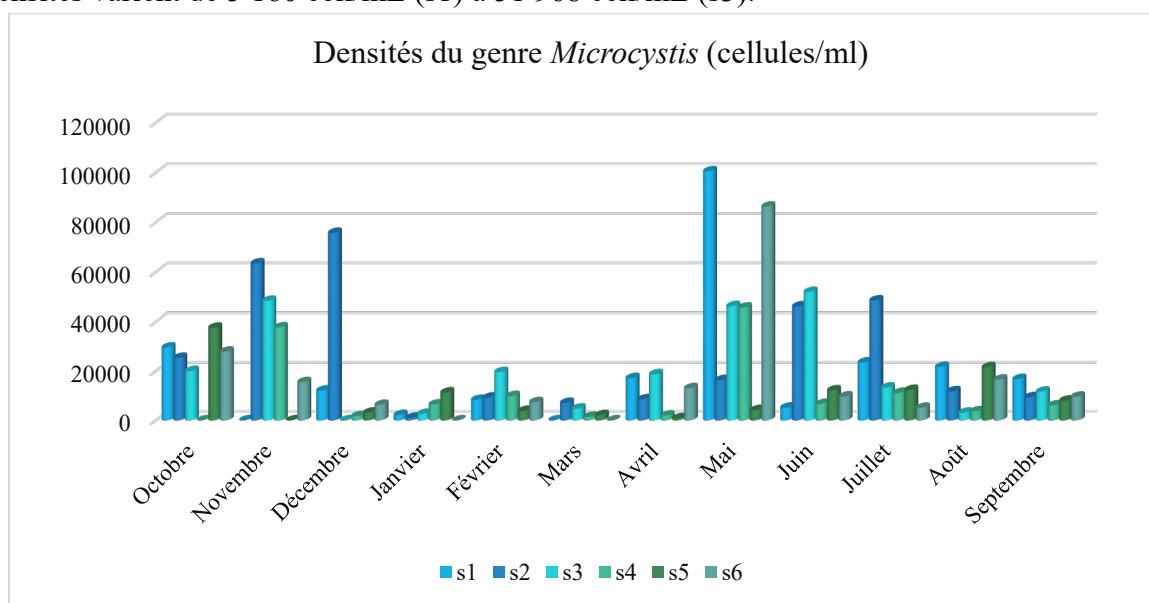


Figure 30 : variations spatiotemporelles du genre *Microcystis* dans les eaux de l'Oubeira (2021-2022)

3.4.3 *Aphanizomenon*

Le genre *Aphanizomenon* représente 13.95 % de l'abondance relative globale ; il est absent en été ; en termes de proportions les valeurs suivent l'ordre croissant suivant : 0.64% (printemps), 0.73% (automne), 87.71% (Hiver). **(fig.31)**

Pendant la période hivernale, *Aphanizomenon* montre les densités les plus élevées, ce dernier est présent dans toutes les stations, surtout au mois de Février où les valeurs dépassent 350 000 cell/mL et sont le plus souvent proche de 500 000 Cell/mL à l'exception du pic de plus de 1 million de Cell/mL enregistré dans S3. En Janvier les valeurs sont comprises entre 9200 cell/mL (S1) et 116 900 cell/mL

(S5) quant au mois de Mars on note une diminution qui se traduit par l'enregistrement de densités comprises entre 930cell/mL (s4) et 6058 cell/mL (S3).

Durant l'automne, il est présent dans presque toutes les stations à l'exception de la station 2 et la station 3 en Octobre. Les densités à cette période sont comprises entre 960cell/mL (s4 en Octobre) et 8400 cell/mL (s6 en Novembre).

Durant le printemps, *Aphanizomenon* n'est présent qu'au mois d'Avril avec des densités plus faibles comprises entre 1300 cell/ml dans la station 1 et 3100 cell/mL dans la station 3.

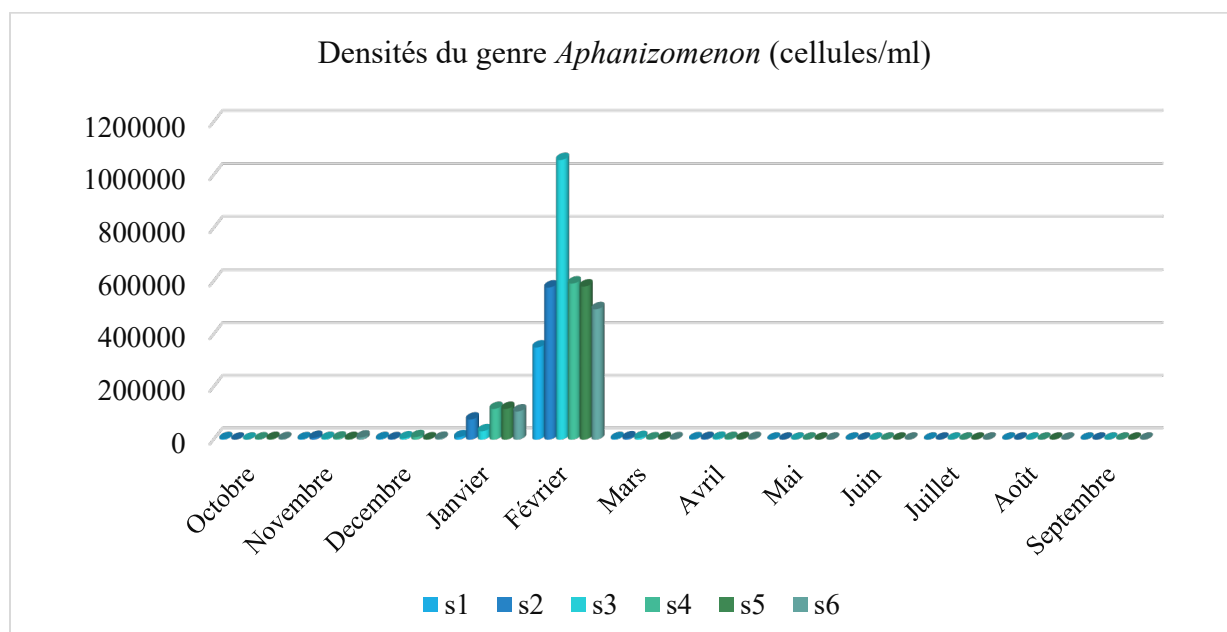


Figure 31 : variations spatiotemporelles du genre *Aphanizomenon* dans les eaux de l'Oubeira (2021-2022)

Geitlerinema

Dans les eaux du lac Oubeira, le genre *Geitlerinema* représente 2.05% de l'abondance relative globale, l'évolution de l'abondance saisonnière suit l'ordre croissant suivant : (0.19%) Automne, été (0.23%), Hiver (1.52%) et Printemps (22.57%). (**fig.32**)

Durant l'automne, les valeurs des densités de ce genre varient selon les stations et les mois, elles sont comprises entre 720 cell/mL (S1 en Décembre) et 64800 cell/mL (S5 en Octobre) ; il est assez fortement présent dans S4 et S5 durant la période automnale.

Durant l'été, les densités sont comprises entre 610cell/mL (s2) en Juillet et 39342 cell/mL (S4) en Aout ; ce sont toujours les stations S4 et S5 qui abritent les densités de saison les plus élevées ; les pics estivaux sont relevés dans S4

Durant la période hivernale, *Geitlerinema* présentent des densités qui varient de 1240 cell/mL (S1) à 37 142 cell/mL (S5) en Janvier. Les pics sont relevés dans S5 en janvier et en février et dans S4 et en mars

La période printanière présente des abondances plus élevées que celles enregistrées durant les autres périodes ; *Geitlerinema* montre des densités comprises entre 1055 cell/mL (s3) en Avril et 61762 cell/mL (s4) en Juin. A cette période de l'année, le plus grand nombre de pics est noté dans S4.

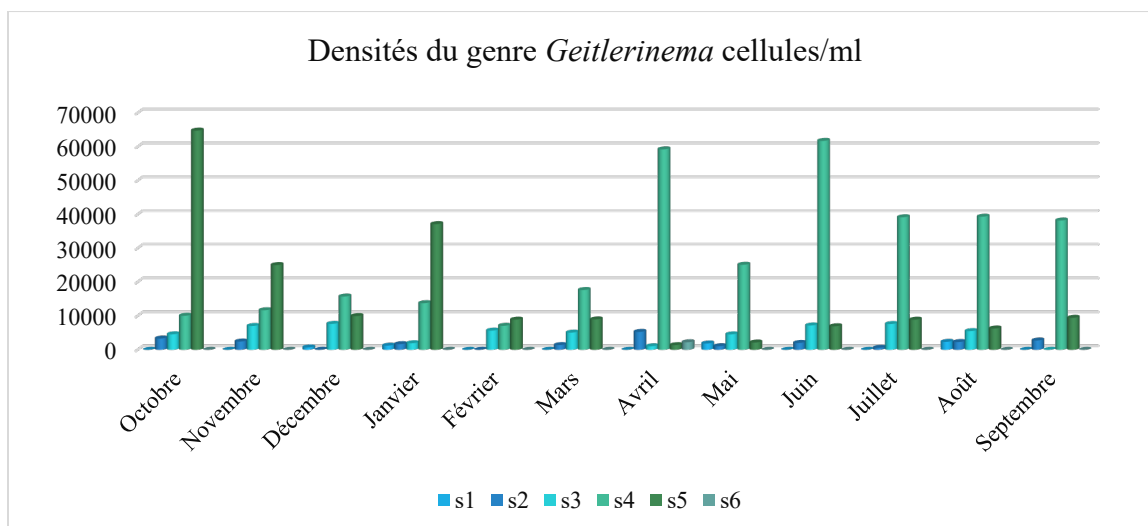


Figure 32: variations spatiotemporelles du genre *Geitlerinema* dans les eaux de l’Oubeira (2021-2022)

3.4.7 Autres

Le groupe Autres enregistre 3.41% de l’abondance relative globale, il englobe 16 genres (*Planktothrix*, *Aphanocapsa*, *Oscillatoria*, *Planltolyngbya* *Pseudanabaena*, *Merimopedia*, *Spirulina*, *Coelomoron*, *Aphanothece*, *Synechocystis* *Limnothrix*, *Chroococcus*, *Gomphosphaeria*, *Snowella*, *Dolichospermum* et *Woronichinia*) et représente, en termes d’abondance, moins de 2%. (**fig.33**)

En période automnale, les densités du groupe "Autres" varient entre 0 cell/mL (station 4, décembre) et 48 080 cell/mL (station 5, octobre). L’abondance relative saisonnière est de 6 %. Les valeurs les plus faibles sont enregistrées en décembre (4 433 cell/mL), tandis que les plus élevées sont notées en novembre (25 185 cell/mL). Durant cette période, les genres identifiés sont *Planktothrix*, *Aphanocapsa*, *Oscillatoria*, *Planktolyngbya*, *Merismopedia*, *Pseudanabaena*, *Spirulina*, *Coelomoron*, *Snowella*, *Limnothrix* et *Woronichinia*.

En hiver, un pic de 44 138 cell/mL est observé en février (station 3), tandis que les densités les plus basses sont enregistrées en janvier (110 cell/mL, station 4). Les autres stations affichent des valeurs comprises entre 186 et 14 639 cell/mL. L’abondance relative hivernale est de 4,18 %, avec une composition similaire à celle de l’automne, incluant les genres *Planktothrix*, *Aphanocapsa*, *Oscillatoria*, *Planktolyngbya*, *Merismopedia*, *Pseudanabaena*, *Spirulina*, *Coelomoron* et *Snowella*.

Au printemps, trois pics d’abondance sont enregistrés : 28 671 cell/mL en mai (station 1), 69 600 cell/mL en juin (station 1), et 36 180 cell/mL en juin (station 2). L’abondance relative atteint 16 %. La diversité taxonomique s’enrichit avec l’ajout du genre *Aphanothece*, *Chroococcus* et *Gomphosphaeria*, en plus des genres déjà présents en hiver et en automne.

En été, l’abondance relative du groupe "Autres" est plus faible (1,11 %), et les densités oscillent entre 2 719 cell/mL (station 3, septembre) et 24 840 cell/mL (station 2, juillet). Les genres observés incluent *Planktothrix*, *Oscillatoria*, *Planktolyngbya*, *Pseudanabaena*, *Merismopedia*, *Spirulina*, *Coelomoron*, *Aphanocapsa*, *Chroococcus* et *Dolichospermum*

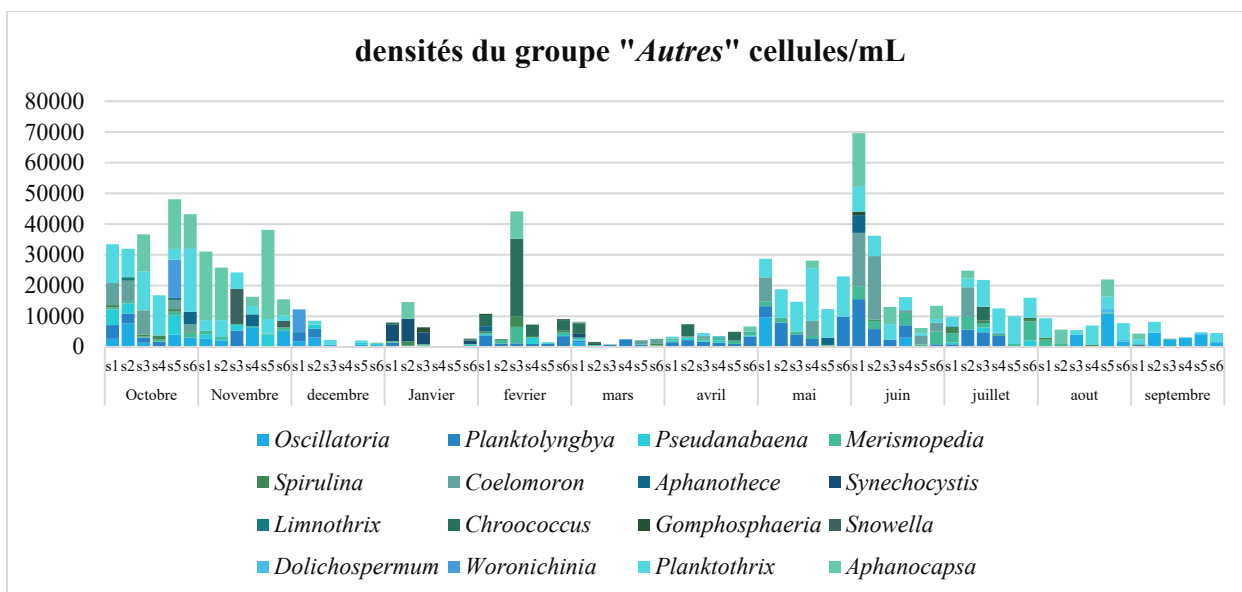


Figure 33 : variations spatiotemporelles du groupe Autre dans les eaux de l’Oubeira (2021-2022)

3.4 Assemblage saisonnier des genres de cyanobactéries les plus abondants

Dans cette partie il est question de genres qui comptabilisent, en termes d’abondances relatives, plus de 1% de l’abondance globale de saison.

3.4.1 En période automnale

➤ **Fréquence d’occurrence :**

Durant la campagne automnale (**tab.13**), 16 genres ont été recensés dans les eaux du lac Oubeira, le calcul de la fréquence d’occurrence montre l’omniprésence de *Cylindrospermopsis*, la constance des genres *Microcystis*, *Aphanizomenon*, *Planktothrix*, *Oscillatoria* et *Merismopedia* la régularité de *Planktolyngbya* et *Pseudanabaena*. Les genres accessoires sont : *Geitlerinema* et *Aphanocapsa*. Quant aux genres accidentels : *Spirulina*, *Coelomoron*, *Aphanothece*, *Limnothrix*, *Snowella* et *Woronichinia*

Tableau 13 : Fréquence d'occurrence et abondance relative des cyanobactéries collectées en période automnale

	AR%	FO%	Observation
<i>Cylindrospermopsis</i>	88,35	100	omni
<i>Microcystis</i>	5,34	83	const
<i>Aphanizomenon</i>	0,73	92	const
<i>Planktothrix</i>	1,31	92	const
<i>Geitlerinema</i>	0,19	33	access
<i>Oscillatoria</i>	0,55	79	const
<i>Planktolyngbya</i>	0,30	58	regulier
<i>Pseudanabaena</i>	0,32	67	regulier
<i>Merismopedia</i>	0,12	79	const
<i>Spirulina</i>	0,05	21	accid
<i>Coelomoron</i>	0,35	21	accid
<i>Aphanocapsa</i>	1,53	33	access
<i>Aphanothece</i>	0,10	8	accid

<i>Limnothrix</i>	0,02	8	accid
<i>Snowella</i>	0,17	8	accid
<i>Woronichinia</i>	0,26	8	accid

Omniprésent : F% = 100 % ; Constant : 75 ≤ F% ≤ 100 ; Régulier : 50 ≤ F% ≤ 75 ; Accessoire : 25 ≤ F% ≤ 50 ; Rare : 0 ≤ F% ≤ 25.

Les genres dont l’abondance relative dépasse 1% (de l’abondance globale des cyanobactéries collectées en période automnale) sont *Cylindrospermopsis* (plus de 88%), *Microcystis* (plus de 5%), *Aphanocapsa* (plus de 1,5%) et *Planktothrix* (plus de 1,3%).

Le genre *Cylindrospermopsis* est rencontré dans l’ensemble des échantillons à des densités variant de 251 000 à 470 000 cellules/mL (la moyenne saisonnière étant de l’ordre de 371 000 Cell/mL). La distribution spatiale des densités de *Cylindrospermopsis* suit l’ordre décroissant suivant S1 ≥ S2 ≥ S3 ≥ S4 ≥ S6 ≥ S5 ; nous notons, en effet, des densités moyennes de plus de 400 000 Cell/mL dans S1 et S2, et celles comprises entre 300 000 et 400 000 Cell/mL dans S3, S4 et S6 ; la valeur la plus basse (moins de 300 000 Cell/mL) étant relevée dans S5. (fig.34)

Microcystis, avec une abondance relative de l’ordre de 5.34%, vient en deuxième position en montrant des densités comprises entre 13 148 et 54 853 cellules/mL et une densité moyenne de saison de l’ordre de 22470 Cell/mL. La distribution spatiale des densités de *Microcystis* suit l’ordre décroissant suivant : S2 ≥ S3 ≥ S6 ≥ S1 ≥ S5 ≥ S4 ; les densités varient de 13000 à 14 000 Cell/mL dans S1, S5 et S4 et dépassent 50 000, 22700 et 16500 Cell/mL respectivement dans S2, S3 et S6.

Aphanocapsa est collecté dans seulement 50% des échantillons et représente 1,5% de l’abondance de saison ; il montre une densité moyenne de l’ordre de 6430 Cell/mL et des densités par station comprises entre 3000 et 29000 Cell/mL (7 échantillons sur les 9 abritent plus de 10000 Cell/mL).

Le genre *Planktothrix*, bien que présent dans 16 sur les 18 échantillons, il ne représente, en termes d’abondances relatives, que seulement 1,31 % avec des densités qui oscillent entre 3 031 et 7 495 cellules/mL (densité moyenne de l’ordre de 5500 Cell/mL). Il est surtout présent dans S6, S1, S3 et S4.

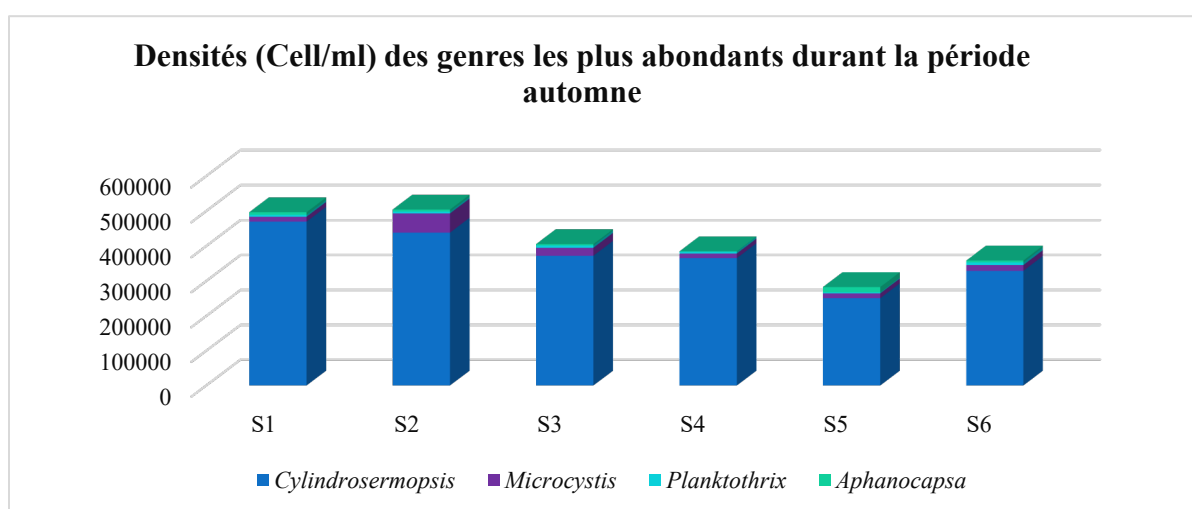


Figure 34 : Les genres les plus abondants durant la période automnale (Oubeira 2021-2022)

3.4.2 En période hivernale :

➤ Fréquence d'occurrence

Le calcul des fréquences d'occurrence des 18 genres rencontrés dans les eaux de l'Oubeira(tab.14), fait apparaître l'omniprésence d'Aphanizomenon, la constance des genres *Cylindrospermopsis*, *Microcystis*, *Geitlerinema*, et *Planktolyngbya*, la régularité de *Pseudanabaena*, *Merismopedia* et *Spirulina*. Les genres accidentels sont représentés par *Gomphosphaeria*, *Chroococcus*, *Synechocystis*, *Aphanocapsa*, *Coelomoron* et *Oscillatoria*. Les genres *Dolichospermum*, *Snowella*, *Aphanothece*, *Planktothrix* sont considérés comme rares.

Tableau 14 : Fréquence d'occurrence et abondance relative des cyanobactéries collectées en période hivernale

Genres	AR%	FO%	obs
<i>Cylindrospermopsis</i>	6,04	92	const
<i>Microcystis</i>	2,06	88	const
<i>Aphanizomenon</i>	87,71	100	omni
<i>Planktothrix</i>	0,00	4	rare
<i>Geitlerinema</i>	1,53	96	const
<i>Oscillatoria</i>	0,03	8	accid
<i>Planktolyngbya</i>	0,39	83	const
<i>Pseudanabaena</i>	0,11	58	regulier
<i>Merismopedia</i>	0,20	67	regulier
<i>Spirulina</i>	0,16	71	regulier
<i>Coelomoron</i>	0,06	8	accid
<i>Aphanocapsa</i>	0,31	13	accid
<i>Aphanothece</i>	0,04	4	rare
<i>Synechocystis</i>	0,40	21	accid
<i>Chroococcus</i>	0,86	29	accid
<i>Gomphosphaeria</i>	0,08	29	accid
<i>Snowella</i>	0,01	4	rare
<i>Dolichospermum</i>	0,00	4	rare

Durant la saison hivernale, *Aphanizomenon* domine largement, représentant en termes d'abondance relative presque 88% de l'abondance saisonnière totale avec une densité moyenne de saison de l'ordre de 229 380 cellules/mL. Selon la station les densités d'*Aphanizomenon* varient entre 120 060 et 365 136 cellules/mL et suivent l'ordre décroissant suivant : S3 ≥ S4 ≥ S5 ≥ S2 ≥ S6 ≥ S1.

En période hivernale, la présence de *Cylindrospermopsis* est illustrée par une abondance relative de l'ordre de 6% et une densité moyenne de saison proche de 15 800 Cell/mL ; il affiche 2 pics de l'ordre de 58500 et 15800 Cell/mL respectivement dans S5 et S1.

Microcystis est peu abondant car il représente à peine 2% de l'abondance globale des cyanobactéries collectées en hiver ; il est présent à des densités comprises entre 2457 et 8992 Cell/mL et comptabilise une densité moyenne de l'ordre de 5400 Cell/mL ; des densités de plus de 5000 Cell/mL sont

enregistrées dans S2, S3, S4 et S5. *Geitlerinema* montre une densité moyenne de l'ordre de 4000 Cell/mL et une abondance relative proche de 1.5% de l'abondance globale de saison ; Il enregistre, dans pratiquement 50% des échantillons, des densités de plus de 4000 Cell/mL. (fig.35)

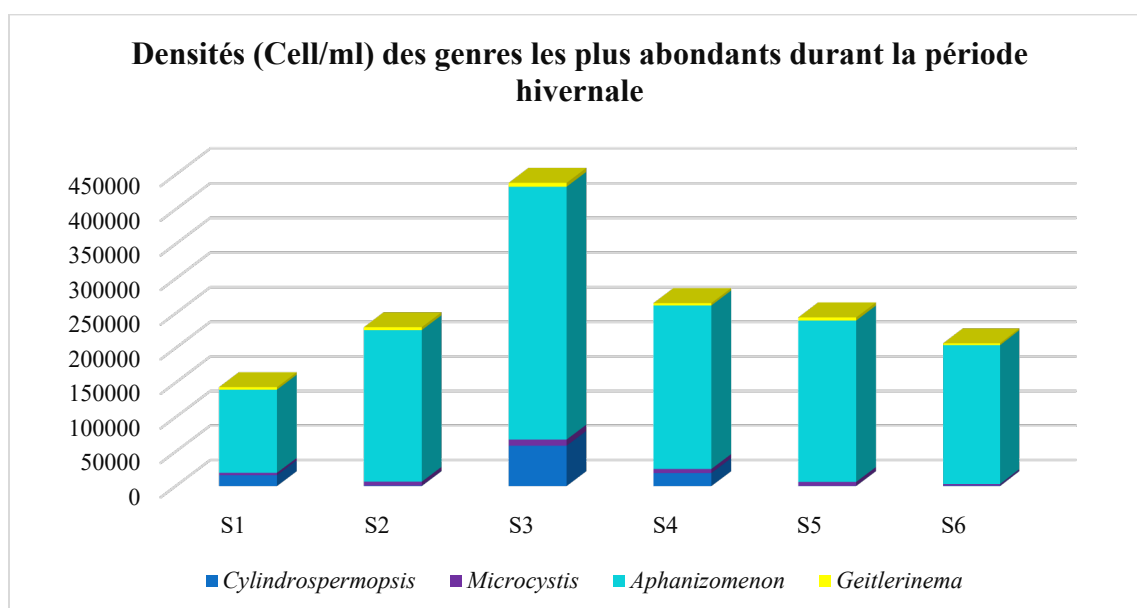


Figure 35 : Les genres de Cyanobactéries les plus abondants dans l'Oubeira en période hivernale
3.4.3 En période printanière :

➤ **Fréquence d'occurrence**

Le calcul de la fréquence d'occurrence des 17 genres collectés au printemps fait apparaître (tab.15), l'omniprésence de *Microcystis* et *Geitlerinema*, la constance de *Cylindrospermopsis*, *Planktothrix*, *Planktolyngbya* et *Merismopedia* ; on note la régularité de seulement *Coelomoron*, les genres *Aphanizomenon*, *Pseudanabaena*, et *Aphanocapsa* sont accessoires. Quant aux genres *Oscillatoria*, *Aphanothece*, *Chroococcus*, *Snowella* et *Dolichospermum* ils sont considérés comme accidentels. Le genre *Gomphosphaeria* est, quant à lui, rare.

Tableau 15 : Fréquence d'occurrence et abondance relative des genres recensés au printemps.

	AR%	FO%	
<i>Cylindrospermopsis</i>	40,13	91,67	const
<i>Microcystis</i>	22,46	100,00	omni
<i>Aphanizomenon</i>	0,64	25,00	access
<i>Planktothrix</i>	4,21	83,33	const
<i>Geitlerinema</i>	22,57	100,00	omni
<i>Oscillatoria</i>	0,58	8,33	accid
<i>Planktolyngbya</i>	3,11	91,67	const
<i>Pseudanabaena</i>	0,14	25,00	access
<i>Merismopedia</i>	1,18	91,67	const
<i>Spirulina</i>	0,03	12,50	accid
<i>Coelomoron</i>	2,67	62,50	regulier
<i>Aphanocapsa</i>	1,52	25,00	access
<i>Aphanothece</i>	0,37	8,33	accid

<i>Chroococcus</i>	0,31	8,33	accid
<i>Gomphosphaeria</i>	0,05	4,17	rare
<i>Snowella</i>	0,00	0,00	accid
<i>Dolichospermum</i>	0,02	12,50	accid

Au printemps, huit genres de cyanobactéries montrent une abondance relative supérieure à 1 %. *Cylindrospermopsis* domine avec une abondance relative saisonnière de 40,13 %, des densités variant de 4413 à 109 997 cellules/mL, et une densité moyenne de l'ordre de 48 760 cellules/mL. La distribution spatiale de *Cylindrospermopsis* suit l'ordre décroissant suivant : S2 ≥ S6 ≥ S5 ≥ S4 ≥ S3 ≥ S1.

Geitlerinema montre une abondance relative de l'ordre de 22,57 % et une densité moyenne de l'ordre de 27 430 cellules/mL; Ses densités oscillent entre 18 451 et 44 704 cellules/mL et suivent l'ordre décroissant suivant : S1 ≥ S4 ≥ S2 ≥ S6 ≥ S2 ≥ S5. (fig.26)

En période printanière, *Microcystis* représente 22,46 % de l'abondance relative globale de saison, une densité moyenne de l'ordre de 27290 Cel/mL, et des densités comprises entre 5 720 et 40 920 cellules/mL. Les densités moyennes de chaque station suivent l'ordre décroissant suivant : S1 ≥ S3 ≥ S6 ≥ S2 ≥ S4 ≥ S5

Planktothrix présente une abondance relative de l'ordre de 4,21 % et des densités variant entre 3 407 et 7 137 cellules/mL (densité moyenne = 5118 Cell/mL). Les densités relevées dans chaque station suivent l'ordre décroissant suivant : S4 ≥ S2 ≥ S3 ≥ S1 ≥ S6 ≥ S5.

Planktolyngbya et *Coelomoron* affichent des abondances relatives respectives de l'ordre de 3,11 % et 2,67 %, avec des densités moyennes assez proches (de l'ordre de 3782 et 3250 Cell/mL respectivement) ; les densités les plus élevées sont rencontrées dans S1 et S2, ceci aussi bien pour *Planktolyngbya* que pour *Coelomoron*. Quant à *Aphanocapsa*, il enregistre une abondance de 1.52% avec des densités moyennes entre 0 et 5820 Cellules/mL

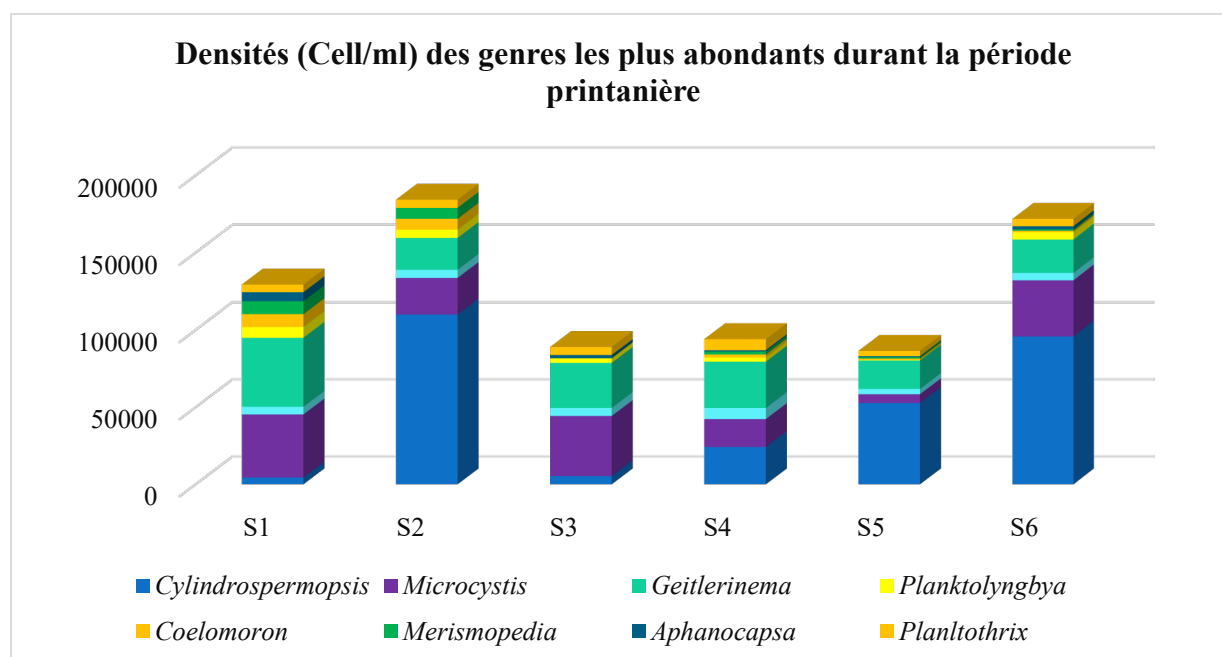


Figure 36 : Les genres de Cyanobactéries les plus abondants dans l'Oubeira en période printanière

3.4.4 En période estivale :

➤ Fréquence d'occurrence

Sur les 14 genres recensés dans les eaux du lac Oubeira (tab.16), le calcul de la fréquence d'occurrence nous montre l'omniprésence de *Cylindrospermopsis* et *Microcystis*, la constance de *Planktothrix*, la régularité de *Merismopedia* et *Spirulina*. Les genres *Geitlerinema*, *Oscillatoria* sont considérés comme accessoires, les genres *Planktolyngbya*, *Pseudanabaena* et *Aphanocapsa* sont accidentels. Les deux genres restants *Coelomoron* et *Chroococcus* sont rares.

Tableau 16 : Fréquence d'occurrence et abondance relative des genres recensés en été

	AR	FO	
<i>Cylindrospermopsis</i>	96,97	100	omni
<i>Microcystis</i>	1,61	100	omni
<i>Planktothrix</i>	0,44	87,50	const
<i>Geitlerinema</i>	0,24	29,17	access
<i>Oscillatoria</i>	0,21	33,33	access
<i>Planktolyngbya</i>	0,10	20,83	accid
<i>Pseudanabaena</i>	0,03	12,50	accid
<i>Merismopedia</i>	0,13	70,83	regulier
<i>Spirulina</i>	0,03	45,83	regulier
<i>Coelomoron</i>	0,06	4,17	rare
<i>Aphanocapsa</i>	0,09	16,67	accid
<i>Chroococcus</i>	0,03	4,17	rare
<i>Gomphosphaeria</i>	0,00	4,16	rare
<i>Dolichospermum</i>	0,02	16,67	accid

En été, *Cylindrospermopsis* est omniprésent dans les eaux à des densités comprises entre 833 000 et 977 000 cellules/mL et une densité moyenne de l'ordre de 847 000 cellules/mL; il représente, à lui seul, 97 % de l'abondance saisonnière totale. La distribution spatiale des densités de *Cylindrospermopsis* suit l'ordre croissant suivant : S2 ≤ S3 ≤ S1 ≤ S6 ≤ S5 ≤ S4. Le genre *Microcystis* quant à lui représente 1.63% de l'abondance relative saisonnières avec des densités comprises entre 6960 et 23248 cellules/mL et une densité moyenne de l'ordre de 14096 cellules/mL ; les densités enregistrées par *Microcystis* dans les différentes stations suivent l'ordre croissant suivant : S4 ≤ S3 ≤ S6 ≤ S5 ≤ S1 ≤ S2. (fig.37)

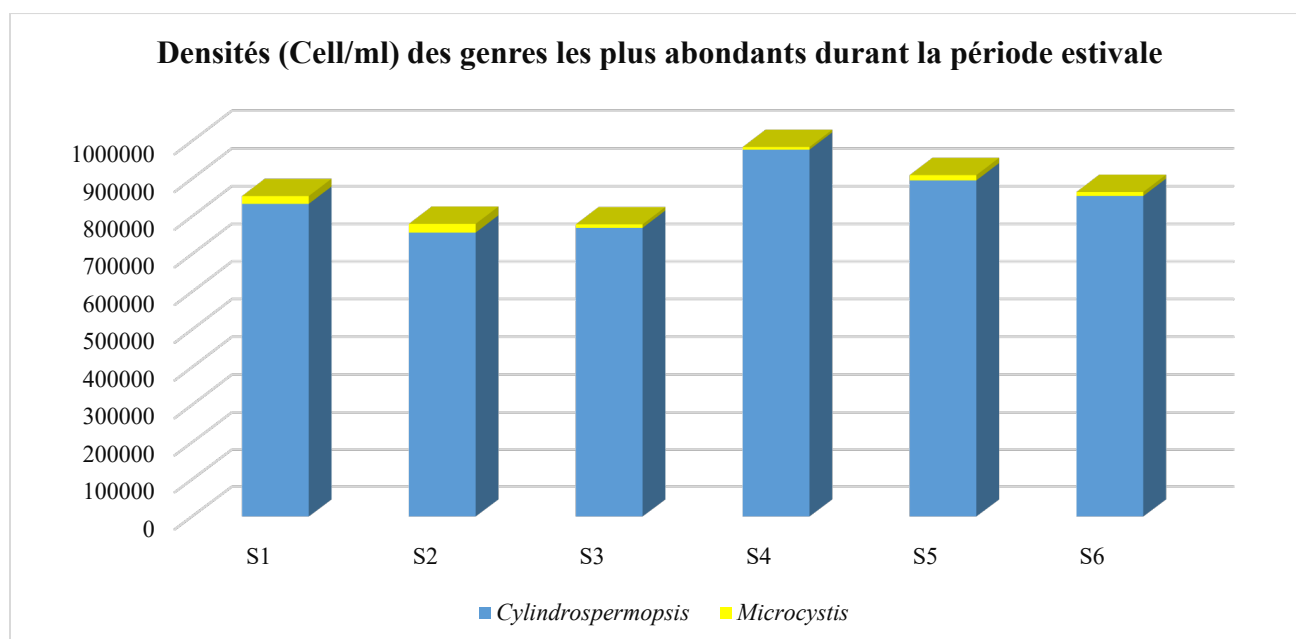


Figure 37 : Les genres de Cyanobactéries les plus abondants dans l’Oubeira en période estivale

3.5 Analyses statistiques des interactions entre les genres dominants et paramètres physicochimiques

3.5.1 Analyses descriptives des données saisonnières

Le tableau 17 présente les résultats des analyses descriptives (moyenne, écart type, médiane, valeurs minimale et maximale, et coefficient de variation) de 11 variables abiotiques et biotiques mesurées saisonnièrement dans les eaux du lac Oubeira.

Tableau 17 : Description statistique des variables environnementales enregistrées dans les eaux de l’Oubeira (2021-2022)

Paramètres	Automne	Hiver	Printemps	été
Température (°C)	15,75 ± 3,06	14,25 ± 2,26	25,01 ± 4,03	28,68 ± 1,33
Oxygène dissous (mg/L)	9,71 ± 0,61	10,23 ± 0,8	9,53 ± 1	8,78 ± 0,85
pH	8,55 ± 0,42	8,53 ± 0,26	9,14 ± 0,44	9,22 ± 0,25
Conductivité (µS/cm)	705,94 ± 15,9	661,88 ± 20,57	698,38 ± 5,5	887,61 ± 120,67
Transparence (cm)	12,19 ± 1,75	20,66 ± 3,83	14,88 ± 1,18	10,38 ± 2,03
Turbidité (NTU)	143,05 ± 39,68	80,39 ± 37,55	143,4 ± 66,8	239,72 ± 125,96
Nitrites (µg/l)	23.63± 7.02	50.63± 24.28	12.56± 4.91	13.03± 2.54
Nitrates (µg/l)	562.36 ± 55.51	473 ± 86.99	502.34 ± 45.7	1028 ± 78.09
Ammonium (µg/l)	127.42 ± 29.82	101.8 ± 61.8	21.07 ± 12.46	46.48 ± 20.11
Orthophosphates (µg/l)	40.88 ± 23.04	13.6 ± 2,23	5.65 ± 2.1	1.18 ± 0.79
Chlorophylle-a (µg/l)	267,33 ± 102,18	90,12 ± 30,02	162,6 ± 63	912,29 ± 304,12

3.5.2 Comparaison intersaison des paramètres physico-chimiques :

Le test de Kruskal-Wallis a révélé des différences hautement significatives ($p < 0,001$) entre les saisons pour tous les paramètres (WT°, pH, DO, Cond, Trans, Turb, NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻, PO₄ et Chl-a), (Tab.18)

Tableau 18 : comparaison intersaison des valeurs médianes des paramètres physico-chimiques.

Paramètres	Intersaison		
	χ^2 (value)	P (value)	df
Temp (°C)	21.60	0.00	3
pH	17.18	0.00	3
DO (mg/L)	17.46	0.00	3
Cond ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	20.05	0.00	3
Trans (cm)	21.11	0.00	3
Turb	19.44	0.00	3
NH ₄ -N ($\mu\text{g}/\text{L}$)	17.58	0.00	3
NO ₂ -N ($\mu\text{g}/\text{L}$)	17.25	0.00	3
NO ₃ -N ($\mu\text{g}/\text{L}$)	16.479	0.00	3
PO ₄ -P ($\mu\text{g}/\text{L}$)	20.52	0.00	3
Chl-a ($\mu\text{g}/\text{L}$)	21.6	0.00	3

χ^2_{obs} : valeur du khi-deux observée ; df : degrés de liberté ; P : valeur de probabilité ; la valeur « Kruskal-Wallis chi-squared » rapportée par la fonction R est égale à la statistique H calculée dans le test. Niveau de signification : $P > 0,05$: différence non significative ; $P < 0,05$: différence significative ; $P < 0,01$: différence hautement significative ; $P < 0,001$: différence très hautement significative). Temp: température de l'eau ; pH : potentiel hydrogène ; DO : oxygène dissous ; Cond : conductivité ; Trans : transparence de l'eau ; Turb : turbidité ; NH₄-N : ammonium ; NO₂-N : nitrite ; NO₃-N : nitrate ; PO₄-P : orthophosphate ; Chl-a : chlorophylle a.

3.5.3 Comparaison intersaison des genres dominants

Les comparaisons intersaisons des quatre genres dominants sont représentées dans la **figure (38)**.

- ✚ Le genre *Cylindrospermopsis* montre des différences **très hautement significatives** ($p \leq 0.0001$) entre le printemps et l'été et le printemps et l'automne ; *Cylindrospermopsis* montre, par ailleurs, des différences hautement significatives ($p \leq 0.001$) entre l'hiver et l'automne, des différences très significatives ($p \leq 0.01$) entre l'hiver et l'été et des différences significatives ($p \leq 0.05$) entre l'hiver et le printemps.
- ✚ La présence du genre *Aphanizomenon* est illustrée par des différences **très hautement significatives** ($p \leq 0.0001$) entre l'hiver et les 3 autres saisons (printemps, été et automne) ; ce genre montre aussi des différences **très hautement significatives** ($p \leq 0.0001$) entre l'été et le printemps et hautement significative ($p \leq 0.001$) entre l'été et l'automne.
- ✚ Le genre *Geitlerinema*, montre des différences significatives ($p \leq 0.05$) entre le printemps et l'été et des différences hautement significatives ($p \leq 0.001$) entre le printemps et l'hiver ; En ce qui concerne les différences rencontrées entre le printemps et l'automne elles sont **très hautement significatives** ($p \leq 0.0001$). *Geitlerinema* montre, par ailleurs, des différences **très hautement significatives** ($p \leq 0.0001$) entre l'automne et l'hiver et très significatives entre l'automne et l'été.
- ✚ En ce qui concerne le genre *Microcystis*, les différences entre l'hiver et l'automne sont significatives ($p \leq 0.05$) et celles rencontrées entre l'hiver et l'été sont très significatives ($p \leq 0.01$)

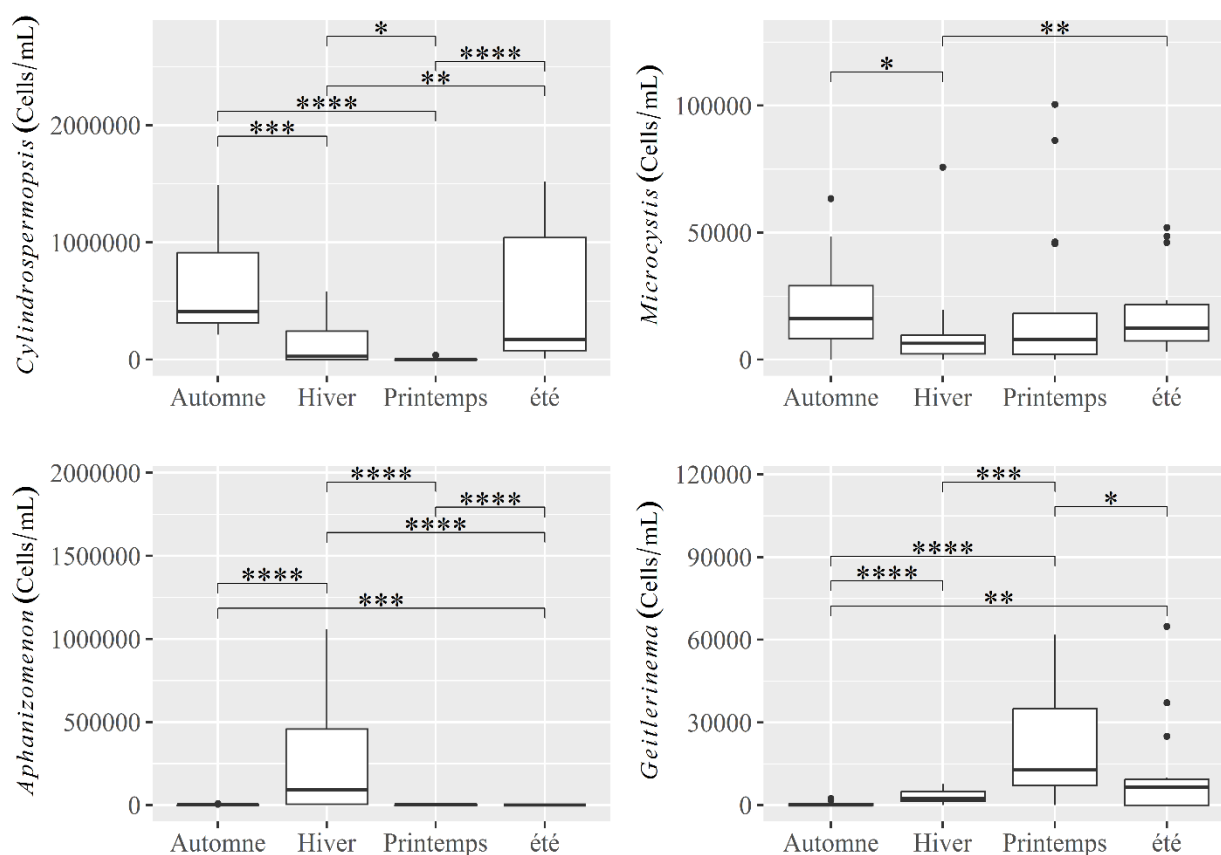


Figure 38 : Comparaison des médianes et des répartitions interquartiles des genres dominants de cyanobactéries selon les saisons (représentée par des boîtes à moustaches)

3.5.4 Influence des paramètres physico-chimiques sur les paramètres biotiques :

L'ACP (Analyse en Composantes Principales) a été utilisé pour modéliser les relations linéaires entre les variables biotiques et abiotiques afin de caractériser la qualité des eaux de surface du lac Oubeira. Les variables « densités des quatre genres de cyanobactéries » ont été intégrées comme variables quantitatives supplémentaires dans l'ACP à l'aide du package FactoMineR.

Le plan factoriel des deux premiers axes principaux révèle une variation inter saison marquée, avec les deux axes expliquant ensemble 84,14 % de la variance totale (**Fig. 39a**). Le premier axe explique 66,52 % de la variance totale ; il est positivement corrélé avec la turbidité ($r=0,94$, $\cos^2=0,88$), la température de l'eau ($r=0,91$, $\cos^2=0,83$), la conductivité ($r=0,91$, $\cos^2=0,83$), le pH ($r=0,80$, $\cos^2=0,64$) et le $\text{NO}_3\text{-N}$ ($r=0,82$, $\cos^2=0,67$). Sur ce même axe, se projettent la chlorophylle-a ($r=0,89$, $\cos^2=0,79$) et *Cylindrospermopsis* ($r=0,81$, $\cos^2=0,67$). Cet axe est négativement corrélé avec l'oxygène dissous ($r=-0,86$, $\cos^2=0,74$), la transparence ($r=-0,81$, $\cos^2=0,66$), le $\text{NO}_2\text{-N}$ ($r=-0,7$, $\cos^2=0,5$) et le $\text{PO}_4\text{-P}$ ($r=-0,65$, $\cos^2=0,42$) ; sur ce pôle négatif, la projection du genre *Aphanizomenon* ($r=-0,65$, $\cos^2=0,42$) est notée.

Le deuxième axe explique 17,62 % de la variance totale ; il est positivement corrélé avec $\text{NH}_4\text{-N}$ ($r=0,74$, $\cos^2=0,55$) et négativement corrélé avec *Geitlerinema* ($r=-0,68$, $\cos^2=0,46$) (Fig. 39a).

En ce qui concerne la variation temporelle (fig 39.b), sur le pôle positif de l'axe 1, se projette la saison estivale ; cette dernière se caractérise par des températures élevées, une turbidité accrue, une conductivité élevée, ainsi que des concentrations élevées de chlorophylle-a et une abondance notable de *Cylindrospermopsis*. Sur le pôle négatif de l'axe 1, nous notons la projection de la saison hivernale durant laquelle les eaux présentent des valeurs élevées en oxygène dissous, en transparence, de NO₂-N et de PO₄-P, qui semblent favoriser la prolifération du genre *Aphanizomenon* à cette période de l'année.

Sur le pôle positif de l'axe 2, la saison automnale est projetée, période durant laquelle les concentrations de NH₄ sont les plus élevées. Sur le pôle négatif de l'axe 2, la saison printanière se projette ; cette période se caractérise par la forte présence du genre *Geitlerinema*. (fig39b)

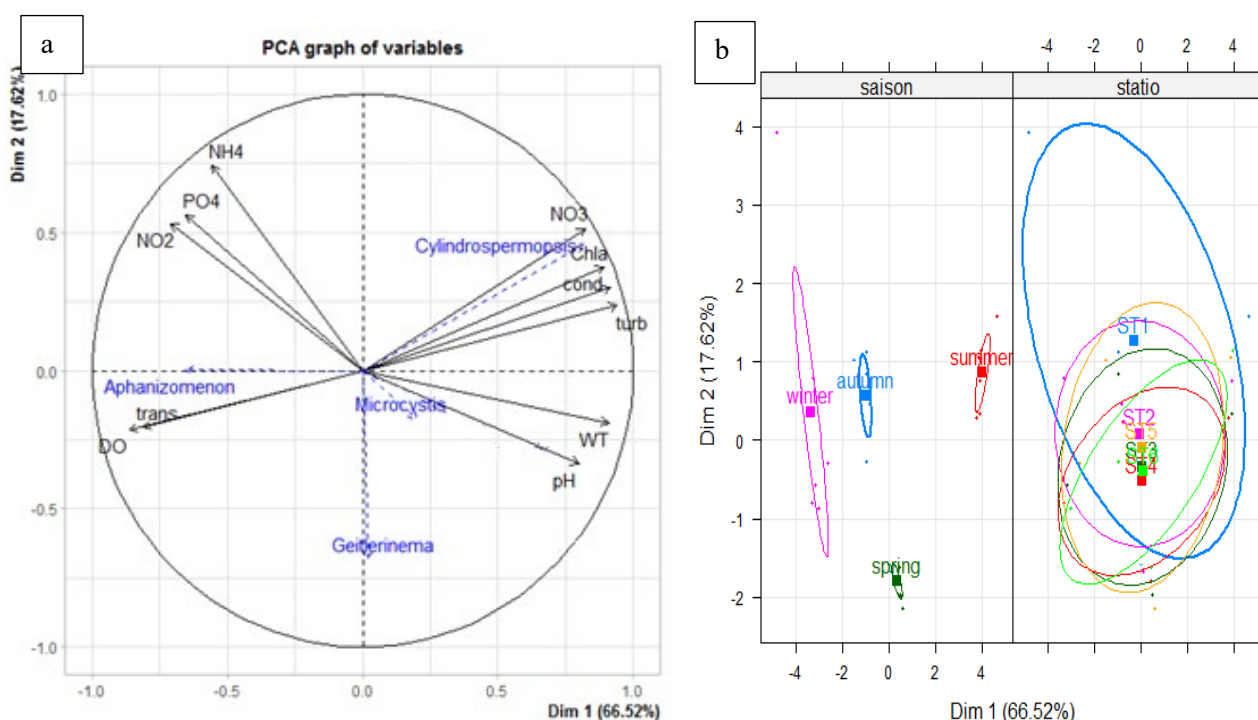


Figure (39) : Analyse en composantes principales (ACP) basée sur les variations saisonnières des variables biotiques et abiotiques dans le lac Oubeira, pendant la période d'octobre 2021 à septembre 2022. Turb : Turbidité (NTU) ; NH₄-N : ammonium (µg/L) ; NO₂-N : nitrite (µg/L) ; NO₃-N : nitrate (µg/L) ; pH : potentiel hydrogène ; PO₄-P : orthophosphate (µg/L) ; WT : température de l'eau (°C) ; Trans : transparence (cm) ; Chl a : chlorophylle a (µg/L) ; Cond : conductivité (µs/cm) ; DO : oxygène dissous (mg/L).

Les résultats du test de corrélation de Spearman (fig.40) (Annexe 2) font apparaître que :

- *Cylindrospermopsis* présente une corrélation positive avec la chlorophylle-a ($r = 0,91$, $p \leq 0,0001$), la conductivité ($r = 0,82$, $p \leq 0,0001$), les nitrates (NO₃) ($r = 0,82$, $p \leq 0,0001$), la turbidité ($r = 0,79$, $p \leq 0,0001$), la température ($r = 0,67$, $p = 0,0003$) et *Microcystis* ($r = 0,40$, $p \leq 0,05$). Cependant, *Cylindrospermopsis* présente des corrélations négatives avec la transparence ($r = -0,86$, $p \leq 0,0001$), l'oxygène dissous ($r = -0,67$, $p = 0,0003$), les

orthophosphates (PO4) ($r = -0,58, p = 0,002$), *Aphanizomenon* ($r = -0,65, p = 0,0005$) et *Geitlerinema* ($r = -0,57, p = 0,002$). (Annexe 2)

- Le genre *Aphanizomenon* est positivement corrélé aux orthophosphates (PO4) ($r = 0,91, p \leq 0,0001$), à l'oxygène dissous ($r = 0,87, p \leq 0,0001$), à la transparence ($r = 0,75, p \leq 0,0001$), aux nitrites (NO2) ($r = 0,75, p \leq 0,0001$) et à l'ammonium (NH4) ($r = 0,54, p = 0,006$). En revanche, *Aphanizomenon* présente des corrélations négatives avec la température ($r = -0,93, p \leq 0,0001$), la turbidité ($r = -0,85, p \leq 0,0001$), le pH ($r = -0,75, p \leq 0,0001$), la conductivité ($r = -0,75, p \leq 0,0001$), la chlorophylle-a ($r = -0,74, p \leq 0,0001$) et les nitrates (NO3) ($r = -0,66, p = 0,0004$).
- Le genre *Microcystis* présente une corrélation positive avec la turbidité ($r = 0,48, p \leq 0,05$), la chlorophylle-a ($r = 0,48, p \leq 0,05$), la conductivité ($r = 0,40, p \leq 0,05$) et *Cylindrospermopsis* ($r = 0,40, p \leq 0,05$). Toutefois, *Microcystis* montre des corrélations négatives avec l'oxygène dissous ($r = -0,40, p \leq 0,05$) et la transparence ($r = -0,41, p \leq 0,05$).
- Le genre *Geitlerinema* présente une corrélation négative avec la chlorophylle-a ($r = -0,55, p = 0,005$), l'ammonium (NH4) ($r = -0,54, p = 0,006$), les nitrates (NO3) ($r = -0,46, p \leq 0,05$), la conductivité ($r = -0,44, p \leq 0,05$) et *Cylindrospermopsis* ($r = -0,57, p = 0,003$). En revanche, *Geitlerinema* présente une corrélation positive avec la transparence ($r = 0,58, p = 0,002$).

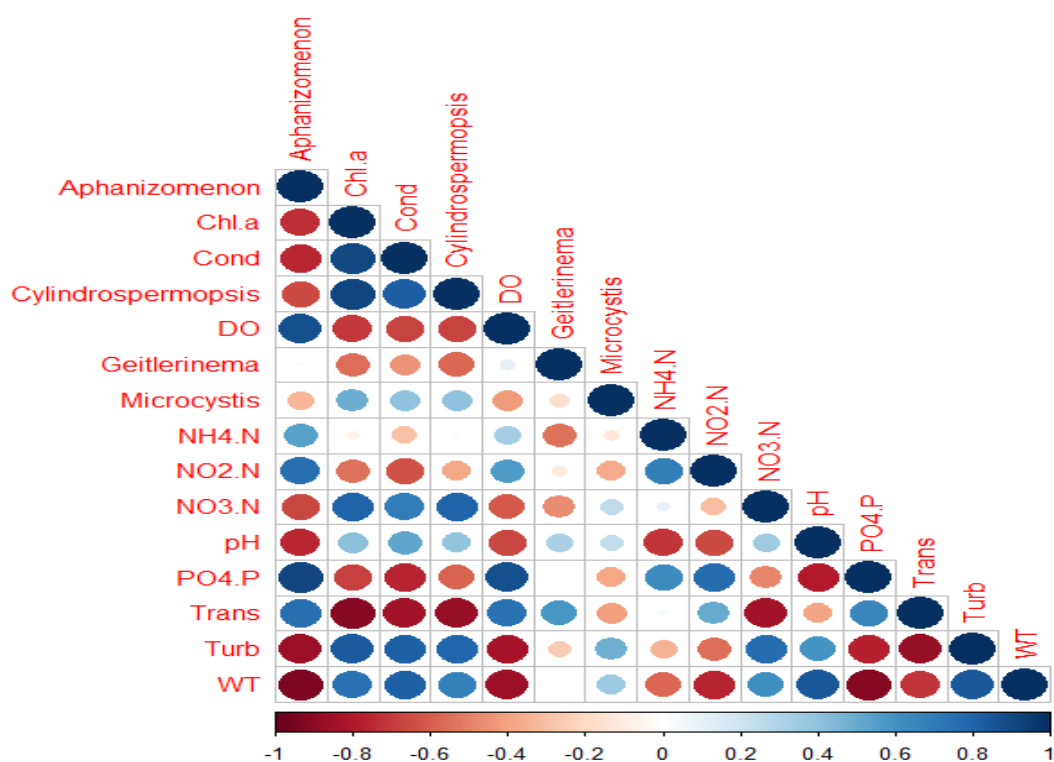


Figure 40 : Corrélogramme (corrplot) présentant les corrélations entre les genres de cyanobactéries les plus abondants et les paramètres abiotiques mesurés. Couleur bleue : corrélation positive ; couleur rouge : corrélation négative ; absence de couleur : corrélation non significative.

Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)

L'analyse du dendrogramme, basée sur les distances euclidiennes entre les stations du lac Oubeira, révèle l'existence de deux clusters (Fig. 41). Le premier cluster regroupe les stations 1 et 3, qui se distinguent par des concentrations de nutriments plus élevées, dues aux apports provenant des oueds, ainsi qu'une densité élevée en cyanobactéries (*Cylindrospermopsis* dans S1 en période automnale ;

Aphanizomenon dans S3 en période hivernale). Le deuxième cluster regroupe le reste des stations ; le regroupement de la station 2 et la station 6 semble illustrer l'assemblage des genres en période printanière. Le rapprochement des stations 4 et 5 traduit la forte présence de *Cylindropsermopsis* en période estivale.

En général, la typologie des dendrogrammes issus de l'ACM est en accord avec les plans factoriels des ACP, qui illustrent la variation des paramètres biotiques et abiotiques ainsi que la structuration des relations inter-stations au niveau du lac Oubeira.

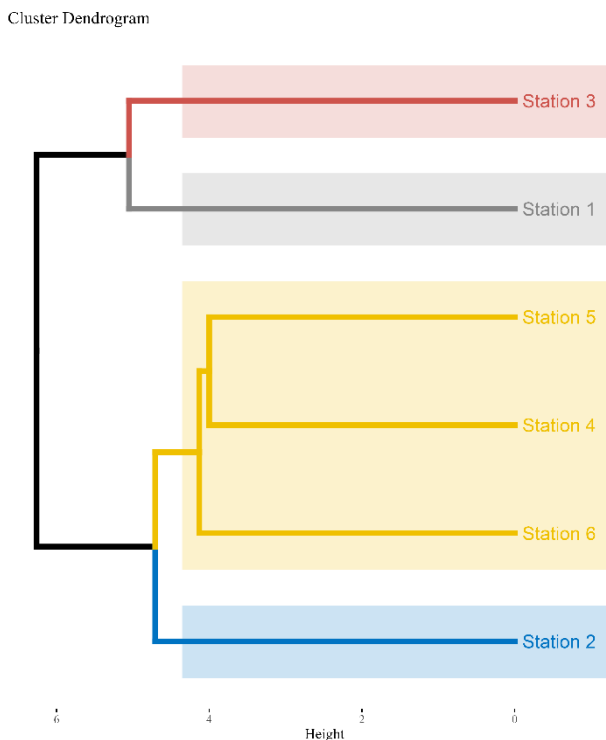


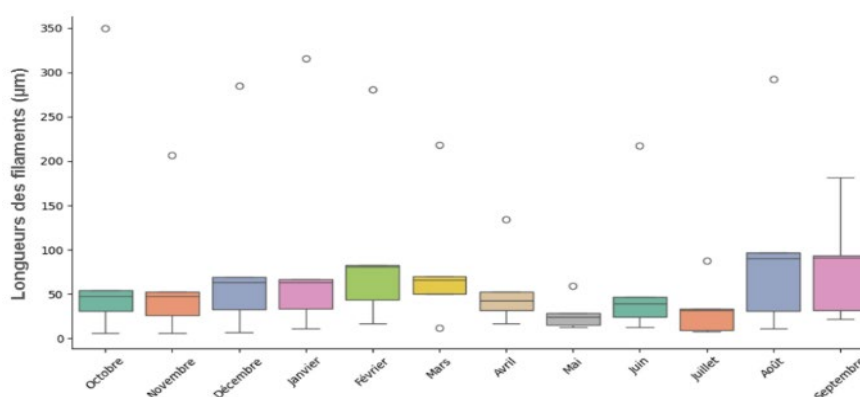
Figure 41 : Classification ascendante hiérarchique des stations d'échantillonnage en fonction de la variation des paramètres biotiques et abiotiques (lac Oubeira).

3.9 Caractérisation morphologique

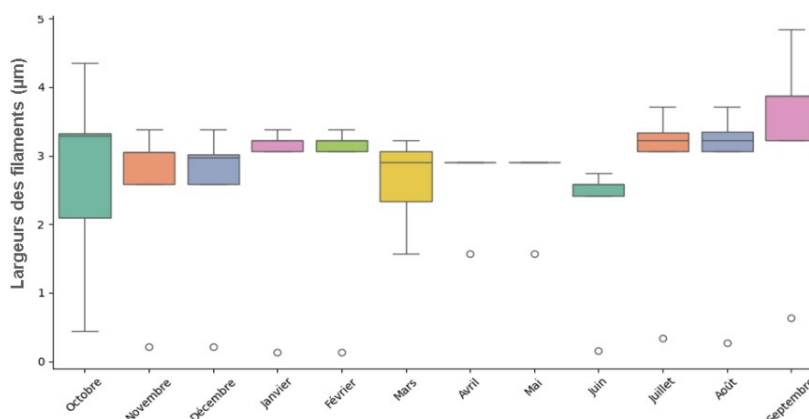
3.9.1 Dimensions des filaments :

Les filaments de *Cylindrospermopsis raciborskii* collectés dans les eaux du lac Oubeira montrent une longueur comprise entre 6 et 349 μm (la moyenne étant de l'ordre de $64,6 \pm 22,49 \mu\text{m}$) et une largeur qui varie de 2,09 à 4,83 μm de diamètre dont la moyenne est égale à $3,11 \mu\text{m} (\pm 0,38)$ (fig 43)

La longueur des filaments de *Cylindrospermopsis raciborskii* varie selon la période de l'année ; Les filaments les plus longs sont rencontrés durant les mois de février ($83,03 \pm 43,89 \mu\text{m}$), août ($97 \pm 31,12 \mu\text{m}$) et septembre ($93,49 \pm 21,61 \mu\text{m}$). Les filaments les plus courts sont collectés durant les mois de mai ($28,47 \mu\text{m}$), juin ($46,61 \mu\text{m}$) et juillet ($33,39 \mu\text{m}$) (Fig 44). Durant le reste de l'année, la longueur moyenne des filaments varie de 50 à 70 μm .



Figure(42) : Variations mensuelles de la longueur des filaments de *Cylindrospermopsis* dans le lac Oubeira 2021-2022 : les box plot illustrent la médiane, la moyenne ainsi que les valeurs minimales et maximales des données.



Figure(43) : Variations mensuelles de la largeur des filaments de *Cylindrospermopsis* dans le lac Oubeira 2021-2022 : les box plot illustrent la médiane, la moyenne ainsi que les valeurs minimales et maximales des données.

Les filaments de *Cylindrospermopsis raciborskii* montrent une largeur moyenne variable selon la période de l'année ; Les filaments de moins de 3 μm de largeur sont rencontrés durant la période

s'étalant de mars à juin ; quant à ceux dont la largeur moyenne dépasse $3.3 \mu\text{m}$ ils sont rencontrés durant la période s'étalant de juillet à octobre ; la valeur maximale ($3.87 \pm 0,63 \mu\text{m}$) étant enregistrée en septembre (Fig.44).

3.9.2 Forme des filaments

Tout au long de ce cycle d'étude, à l'exception d'une petite fraction de filaments légèrement courbés, les filaments observés étaient majoritairement droits ; aucun filament spiralé n'a été noté. Cependant, des différences ont été observées aux extrémités des filaments ; en effet, nous avons constaté que l'extrémité des filaments pouvait être soit allongée, fine et pointue (Fig. 44b, "extrémité en forme d'aiguille"), conique avec un apex moins pointu (Fig. 44a, "extrémité en forme de crayon"), allongée avec un apex arrondi (Fig. 44c, "forme intermédiaire"), ou arrondie (Fig. 44d, "forme arrondie").

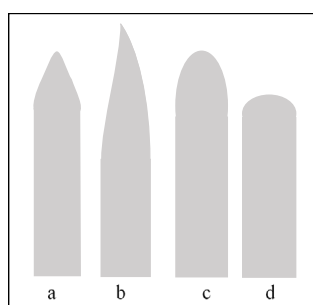


Figure 44 : Formes des extrémités des filaments (a : forme de crayon, b : forme d'aiguille, c : forme intermédiaire, d : arrondie).

La forme intermédiaire est le type d'extrémité de filament le plus fréquemment observé ; cette forme intermédiaire représente plus de 40 % des filaments. Des proportions comprises entre 50 et 70 % ont été notées dans 46 % des échantillons ; cependant, les plus faibles proportions ont été observées en octobre, de janvier à mars et en juillet (30 - 40 %). Ce type d'extrémité de filament (forme intermédiaire) n'est pas rencontré en avril et en mai.

Les filaments aux extrémités arrondies sont présents tout au long du cycle et représentent plus de 38% des trichomes examinés. Ce type de filament montre ses plus fortes proportions de janvier à mai, période pendant laquelle il enregistre une augmentation progressive de 35 à 100 %. Il est modérément présent (20 à 30 %) de septembre à décembre et très faiblement représenté en juillet (5%) et en août (15%).

Les filaments dont l'extrémité est en forme de crayon représentent 16 % des filaments collectés. Le type de filament à extrémité en forme de crayon n'est pas présent dans les échantillons prélevés en mars, avril et mai mais il atteint ses plus fortes proportions en juin et en juillet (30 et 45% respectivement) et montre des proportions comprises entre 5 et 20% durant le reste du cycle (Fig. 3).

Les filaments dont les extrémités sont en forme d'aiguille sont les moins fréquents car ils ne représentent que 5% de l'abondance globale. Ils sont absents de février à juin et représentent, selon le mois, entre 5 et 15 % de juillet à janvier (Fig. 45).

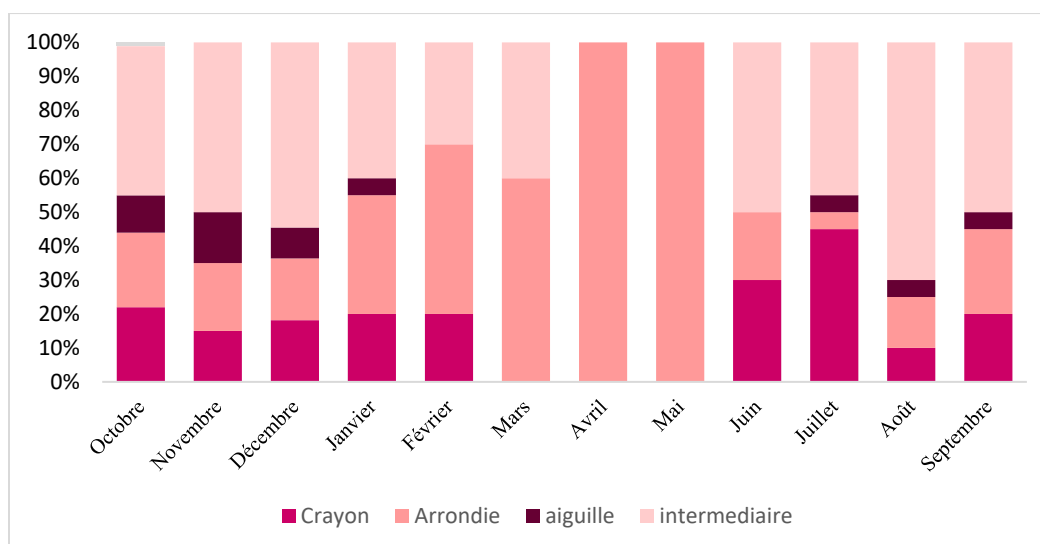


Figure 45: Proportions des différentes formes d'extrémités des filaments collectés dans les eaux du lac Oubeira (octobre 2021-septembre 2022).

3.9.3 Composantes du filament : Cellule végétative, Akinète et Hétérocyste

Cellule végétative

Les cellules végétatives observées dans les filaments varient de 6,03 à 18,75 μm de longueur et de 2,09 à 4,83 μm de largeur. De plus, les cellules situées au centre du filament sont nettement plus longues que celles présentes aux extrémités. Certaines cellules peuvent contenir des inclusions granuleuses, visibles au microscope sans coloration, apparaissant sous forme de points dans le cytoplasme.

Akinètes

Les akinètes présentent une forme elliptique à oblongue et contiennent des inclusions granuleuses dans leur cytoplasme. Les akinètes mesurées affichent une longueur allant de 13,5 à 18,6 μm et une largeur comprise entre 3,8 et 4,2 μm . Dans le filament, l'akinète peut être trouvée près d'une cellule végétative ou précédant l'hétérocyste. En général, une seule akinète est présente par filament, mais certains filaments peuvent en contenir deux. Des akinètes libres peuvent également être observées entre septembre et décembre, avec une concentration maximale (supérieure à 700 $\mu\text{g/L}$) en octobre (Fig. 46).

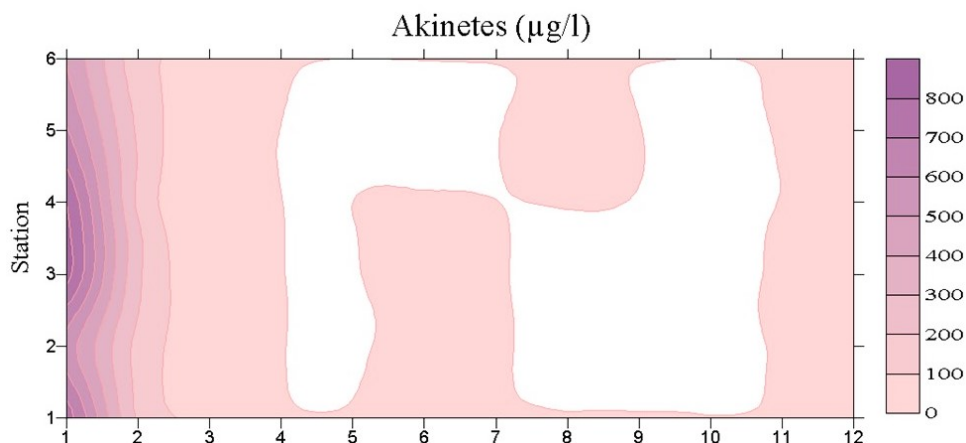


Figure 46 : Distribution des akinètes libres dans les eaux du lac Oubeira (octobre 2021-septembre 2022).

Hétérocystes

Les hétérocystes, quant à eux, se distinguent des akinètes et des cellules végétatives par leur forme conique ou ovale, l'absence de granules dans le cytoplasme et leur plus petite taille (3,75 à 5,6 µm de longueur et 2,9 à 3,8 µm de largeur). L'hétérocyste est systématiquement positionné à l'extrémité du filament, mais il peut également être observé sous forme libre de mai à juillet et en septembre et octobre (Fig. 47). C'est en juillet que sa biomasse atteint sa valeur maximale (244 µg/L)

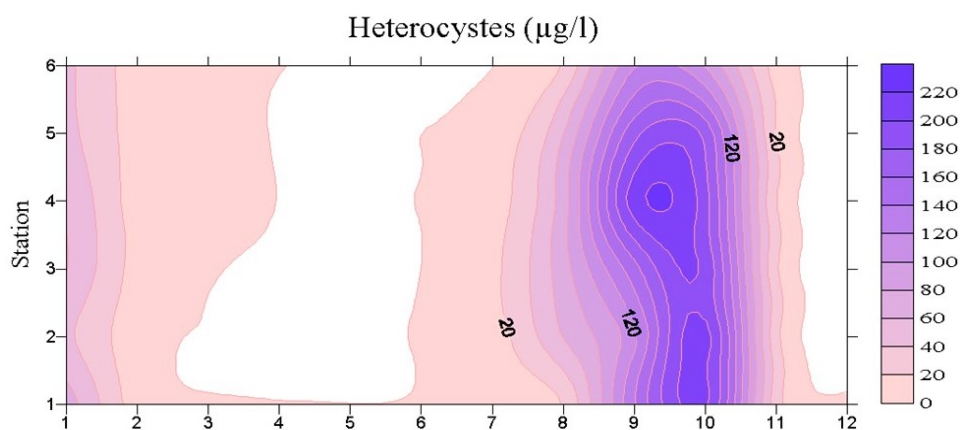


Figure 47: Distribution des hétérocystes libres dans les eaux du lac Oubeira (octobre 2021-septembre 2022).

3.10 Evolution de la biomasse de *Cylindrospermopsis raciborskii* dans le lac Oubeira

Il ressort de la Fig. 48, que *C. raciborskii* est présent dans presque tous les échantillons, à l'exception de la période hivernale ou son absence est notée dans quelques stations. Les valeurs de la biomasse varient de 4.15 à 45 689 $\mu\text{g/L}$. L'évolution de la biomasse de *C. raciborskii* comprend quatre phases :

- La première phase correspond à la période s'étalant de janvier à mai ; elle se caractérise par l'enregistrement des valeurs les plus basses (entre 4.15 et 2 900 $\mu\text{g/L}$);
- La seconde phase est illustrée par une augmentation notable de la biomasse en juin - juillet ; les valeurs enregistrées en juin varient de 190 à 9646 $\mu\text{g/L}$ respectivement dans la station 1 et dans la station 2.
- La troisième phase s'illustre par une croissance exponentielle de la biomasse et l'atteinte de valeurs de l'ordre de 45 600 et 45 200 $\mu\text{g/L}$ en août et septembre dans les stations 1 et 5 respectivement
- La quatrième phase est considérée comme stationnaire du fait que la croissance de *Cylindrospermopsis* se stabilise d'octobre à décembre, formant un plateau avec une biomasse oscillant entre 19 900 $\mu\text{g/L}$ dans S2 en Octobre et 4 747 $\mu\text{g/L}$ dans S5 en Décembre (Fig. 48).

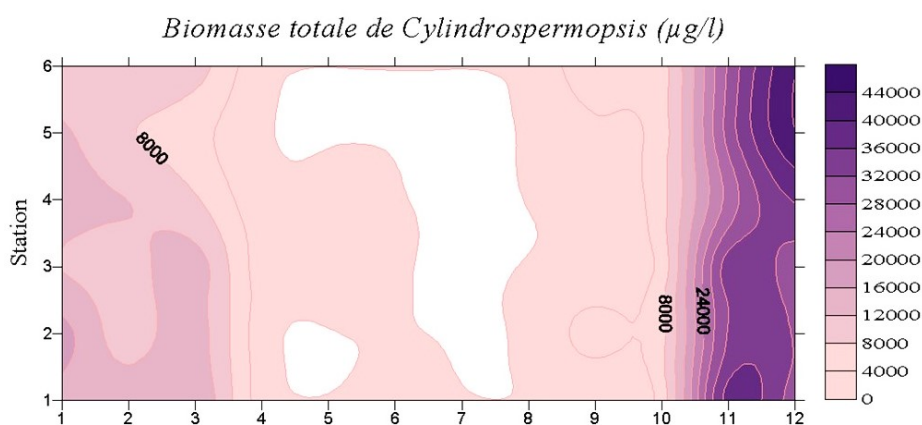


Figure 48 : Evolution de la biomasse de *C. raciborskii* dans les eaux du lac Oubeira (octobre 2021 - septembre 2022).

3.10.1 Morphotypes de l'espèce *Cylindrospermopsis raciborskii*

Dans les eaux du lac Oubeira, l'espèce *Cylindrospermopsis raciborskii* est présente sous différents "morphotypes". Le filament, en plus des cellules végétatives qui le composent, peut inclure soit un hétérocyste et une akinète (Fig.6 e-f), soit uniquement l'hétérocyste (Fig.6c), soit uniquement l'akinète (Fig.6d), ou bien dépourvu des deux (Fig.6 a-b).

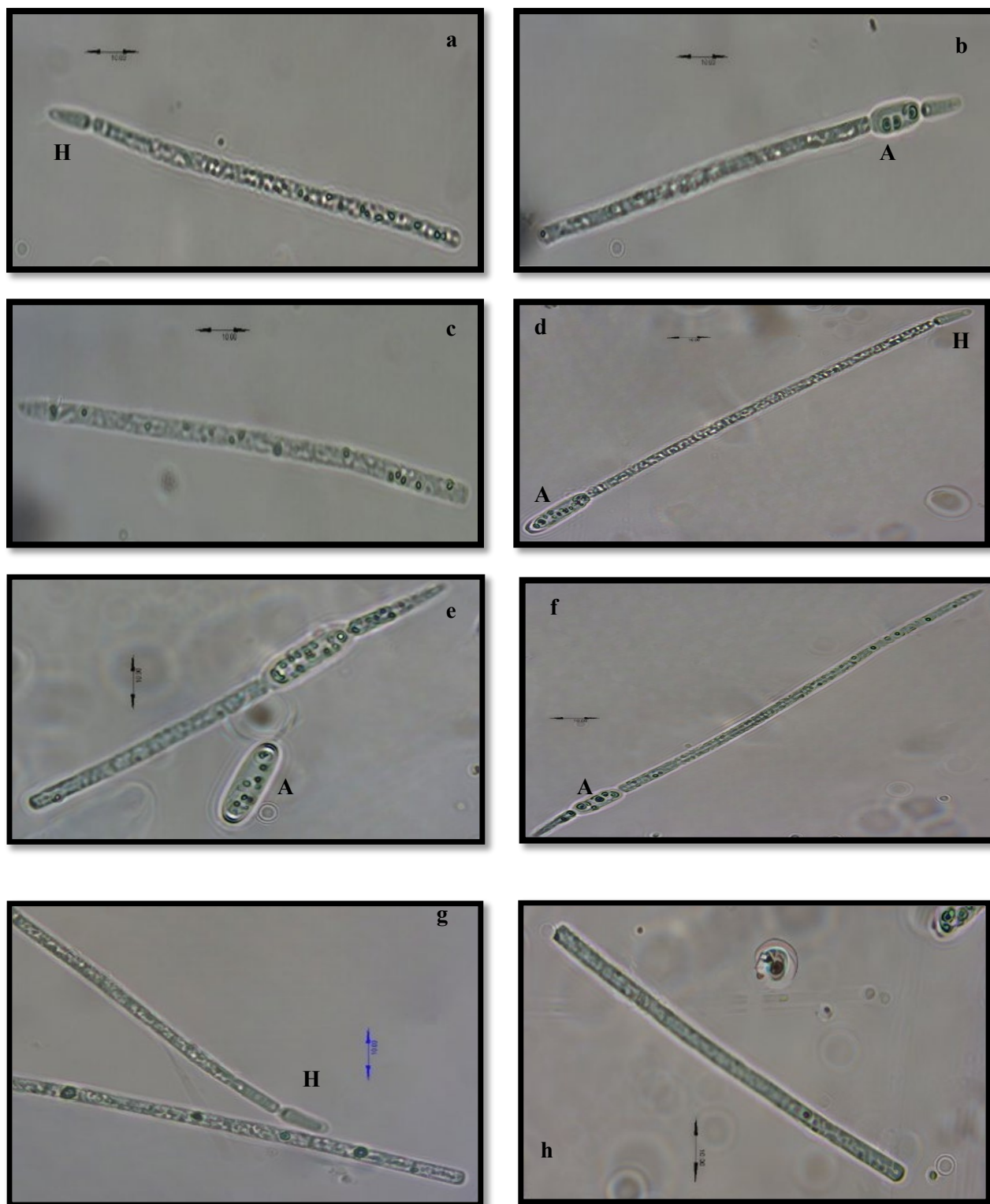


Figure 49 : Observation microscopique des morphotypes de *Cylindrospermopsis raciborskii* dans le lac Oubeira (2021-2022). (c,h,g) Trichome solitaire, (a,g) Trichome avec hétérocyste, (e,f) Trichome avec akinète, (b,d) Trichome avec hétérocyste et akinète. H : Hétérocyste, A : Akinète. Échelle : 10 μm .

➤ **Filaments sans akinètes et heterocystes :**

Les filaments dépourvus d'akinètes et d'hétérocystes sont présents tout au long de la période d'étude et représentent, en termes d'abondance, plus de 90 % de l'abondance globale ; Leur biomasse est comprise entre 4 et 44 947 µg/l. Les concentrations des filaments dépourvus d'akinètes et d'hétérocystes varient : de 4 à 2 939 µg/L de janvier à mai, de 297 à 9 714 µg/L en Juin-juillet, de 24 187 à 44 947 µg/L en août - septembre et de 4 214 à 16 605 µg/L d'octobre à décembre. Le pic enregistré en août par ce type de filament représente, en termes d'abondance mensuelle, 87% de l'abondance globale enregistrée durant ce mois (Fig. 50).

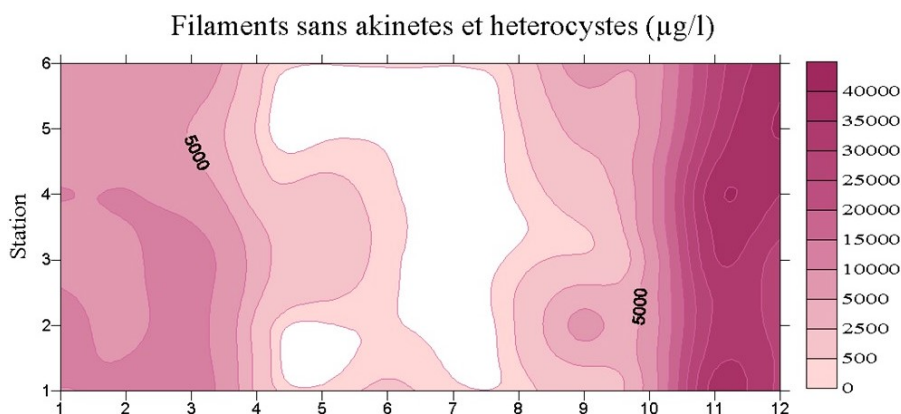


Figure 50 : Distribution spatiotemporelle des filaments sans akinètes et heterocystes collectés dans les eaux du lac Oubeira

➤ **Filaments avec Heterocystes :**

Les filaments avec hétérocystes constituent 5,93 % de l'abondance globale du fait de leur absence de novembre à juillet dans 69% des stations ; durant cette période de l'année, des biomasses de plus de 50 µg/L sont enregistrées dans seulement 15% des stations. Les filaments avec hétérocystes sont présents dans l'ensemble des stations du mois d'août à octobre ou ils enregistrent les biomasses les plus fortes ; durant cette période les valeurs varient de 470 à 1 400 µg/L en août, de 1 100 à 5 500 µg/L en septembre et de 500 à 1 700 µg/L en octobre (fig 51.).

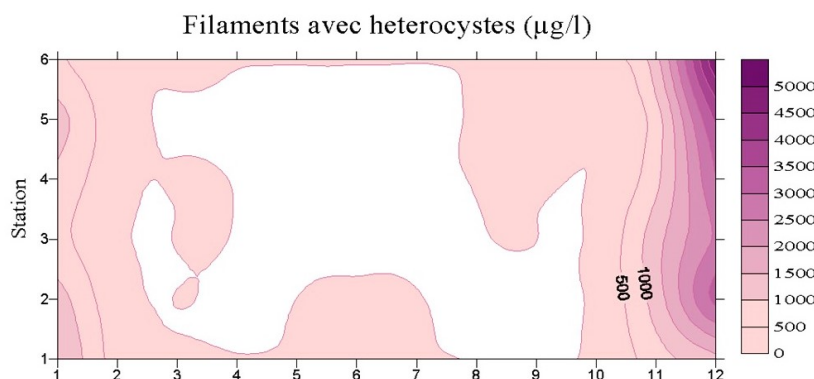


Figure 51 : Distribution spatiotemporelle de la biomasse des filaments avec hétérocystes (lac Oubeira, Octobre 2021- Septembre 2022)

➤ Filaments avec akinètes

Les filaments avec akinètes représentent moins de 2 % de l'abondance totale du fait de leur présence dans les eaux de l'Oubeira uniquement de septembre à décembre ; Durant cette période, les biomasses les plus faibles sont notées en septembre ; les valeurs enregistrées fluctuent entre 10 et 47 $\mu\text{g/L}$; la moyenne étant égale à 26 $\mu\text{g/L}$. Quant aux biomasses les plus fortes, elles sont relevées en octobre : les valeurs oscillent entre 520 et 2245 $\mu\text{g/L}$; la moyenne étant de l'ordre de 1170 $\mu\text{g/L}$. Les valeurs moyennes de la biomasse enregistrées en novembre et en décembre sont de l'ordre de 574 et 649 $\mu\text{g/L}$ respectivement (fig.). Les biomasses sont comprises entre 246 et 900 $\mu\text{g/L}$ en novembre et entre 200 et 1114 $\mu\text{g/L}$ en décembre. C'est dans la station S2 que sont notées les valeurs maximales relevées en septembre, octobre et décembre ; quant à celle de novembre, c'est la station S3 qui l'abrite.

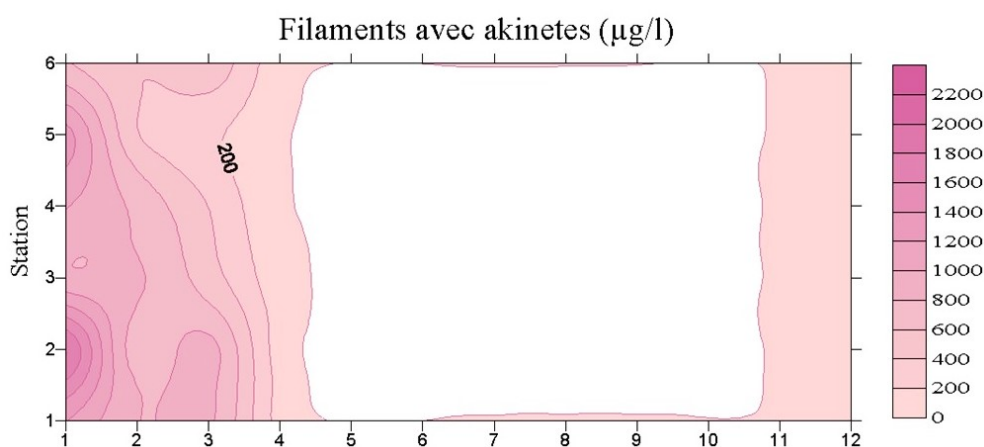


Figure 52 : Distribution spatiotemporelle de la biomasse des filaments avec akinètes (lac Oubeira Octobre 2021-Septembre 2022)

➤ Filaments avec akinètes et heterocystes :

Les filaments avec akinètes et hétérocystes sont les moins fréquents car ils ne représentent que 0.69% de l'abondance globale. Ce type de filament est absent dans 86% des stations ; sa présence est notée en période automnale surtout en octobre où il enregistre une biomasse moyenne proche de 1000 $\mu\text{g/L}$; les valeurs relevées dans les 6 stations oscillent entre 156 et 1812 $\mu\text{g/L}$; toutefois, les biomasses de plus de 1000 $\mu\text{g/L}$ sont rencontrées dans les stations S1, S2 et S5. En novembre et en décembre, les filaments avec akinètes et hétérocystes ne sont rencontrés que dans 4 stations à des biomasses qui varient de 5 à 25 $\mu\text{g/L}$.

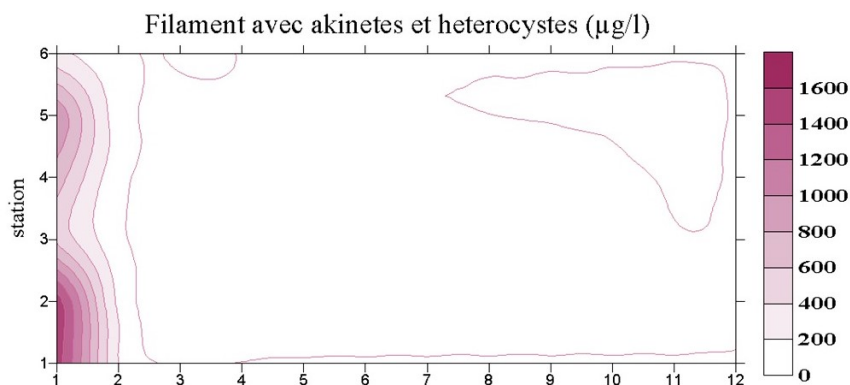


Figure 53 : Distribution spatiotemporelle de la biomasse des filaments avec akinètes et hétérocystes (lac Oubeira)

ACP :

Nous avons utilisé une analyse en composantes principales (ACP) pour évaluer les facteurs physico-chimiques associés aux morphotypes de *Cylindrospermopsis* dans le lac Oubeira. Les deux premiers axes, correspondant aux valeurs propres les plus élevées, expliquent respectivement 35,4 % et 16,9 % de la variance totale des données.

Le premier axe de l'ACP est principalement représenté par : une influence positive de la température atmosphérique ($r = 0,97$; $\cos^2 = 0,94$), de la température de l'eau (WT) ($r = 0,87$; $\cos^2 = 0,75$), et de la conductivité ($r = 0,83$; $\cos^2 = 0,69$),

Ainsi que par une influence négative de : l'oxygène dissous (DO) ($r = -0,594$; $\cos^2 = 0,35$), et de la transparence de l'eau ($r = -0,67$; $\cos^2 = 0,45$).

Le deuxième axe est principalement influencé par : les précipitations ($r = 0,78$; $\cos^2 = 0,62$), les filaments avec akinètes (FA) ($r = 0,73$; $\cos^2 = 0,53$), les filaments avec akinètes et hétérocystes (FAH) ($r = 0,53$; $\cos^2 = 0,33$), et l'ammonium (NH_4^+) ($r = 0,59$; $\cos^2 = 0,35$).

L'ACP indique que les **FA et FAH** sont liés aux **précipitations**, et dans une moindre mesure à **NH_4^+** .

Le filament simple **F** ne peut être regroupé avec aucun autre paramètre et ne semble pas influencé par les autres variables mesurées (Fig. 54B).

Concernant l'ordination spatiale, le graphique des individus (**figure 54A**) montre que les stations ne forment pas de groupes distincts, ce qui indique un haut degré d'homogénéité entre les stations.

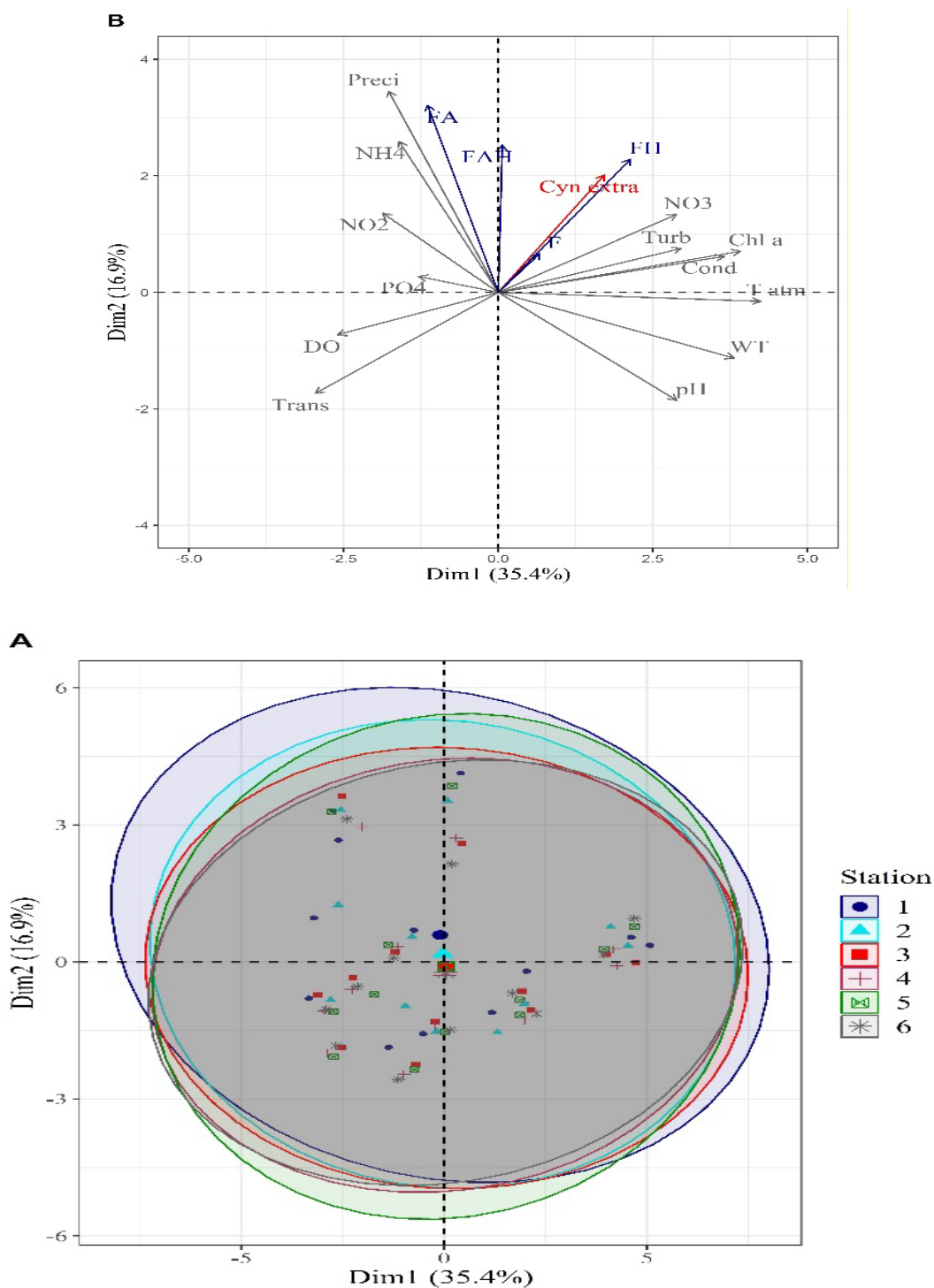


Figure 54: Analyse en composantes principales (ACP) basée sur les paramètres environnementaux et les morphotypes de *Cylindrospermopsis* pendant la période d'octobre 2021 à septembre 2022 dans le lac Oubeira. Abréviations des domaines : FAH: filaments avec akinètes et hétérocystes; FA: filaments avec akinètes; FH: filaments avec hétérocystes; F: filaments sans hétérocystes ni akinètes; NH₄⁺: Ammonium, NO₂⁻: Nitrites, NO₃⁻: Nitrates; PO₄: Orthophosphates; WT^o: température de l'eau; pH: potentiel hydrogène; DO: oxygène dissous; cond: conductivité; trans: transparence; Turb: turbidité; T^o atm: température atmosphérique; preci: précipitations; CYN extra: cylindrospermopsine extracellulaire.

Les résultats du test de corrélation de Spearman entre les morphotypes de *Cylindrospermopsis* et les variables environnementales sont présentés dans la figure 59 et (Annexe 2) Il ressort de ce tableau que :

- Les filaments dépourvus d'hétérocytes et d'akinètes (F) sont positivement corrélés avec les nitrates (NO₃), la conductivité (Cond), la turbidité (Turb) et la température atmosphérique (T atm) ($p \leq 0,001$), avec la température de l'eau (WT) ($p < 0,01$) et avec le pH ($p < 0,05$). En revanche, ce type de filament montre des corrélations négatives avec la transparence (Trans) ($p \leq 0,001$) et l'oxygène dissous (DO) ($p \leq 0,05$).
- Les filaments pourvus d'hétérocytes (FH) montrent des corrélations positives ($p \leq 0,001$) avec NO₃, WT, pH, Cond, Turb, et T atm, mais des corrélations négatives ($p \leq 0,001$) avec DO et Trans.
- Les filaments pourvus d'akinètes (FA) sont négativement corrélés avec Trans ($p \leq 0,001$) et WT ($p < 0,01$) et montrent des corrélations positives avec les précipitations ($p \leq 0,001$) et Cond ($p < 0,01$).
- Les filaments pourvus d'hétérocytes et d'akinètes (FAH) sont positivement corrélés avec les précipitations ($p \leq 0,001$) et les orthophosphates (PO₄) ($p < 0,01$).

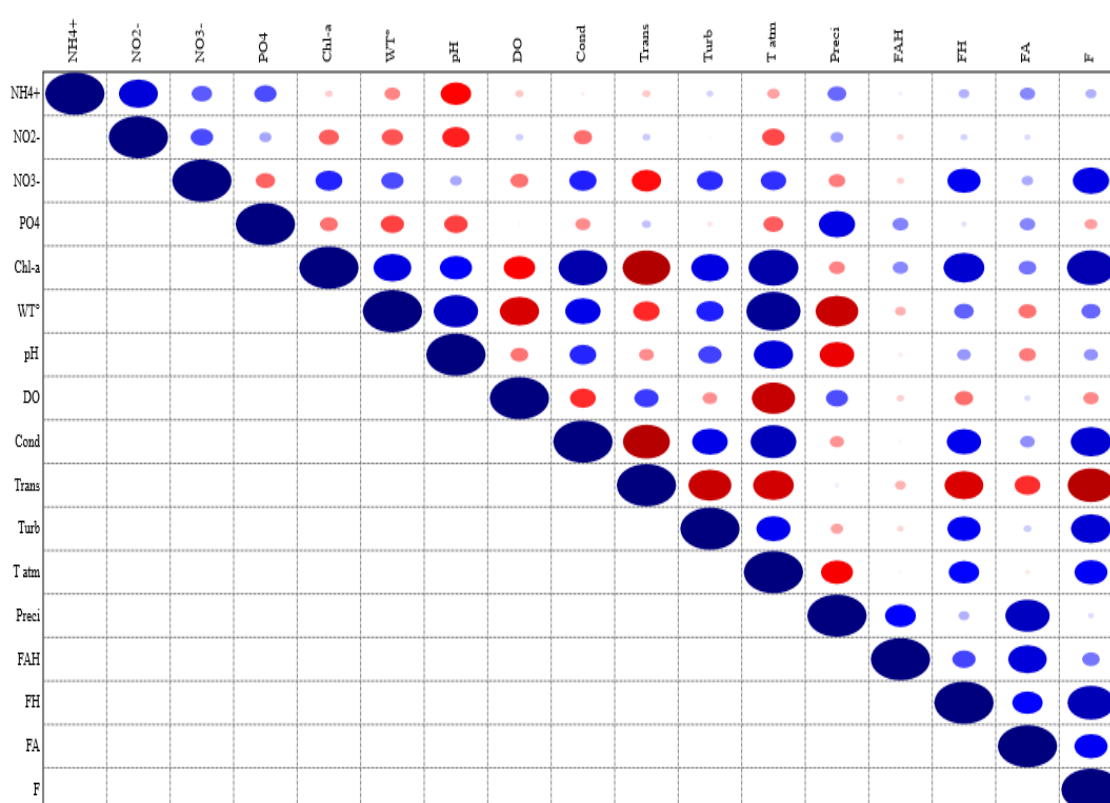


Figure 59 : Le coefficient de corrélation de Spearman entre les paramètres environnementaux, les morphotypes de *Cylindrospermopsis*. FAH : filaments pourvus d'hétérocystes et d'akinètes ; F : filaments dépourvus d'hétérocystes et d'akinètes ; FA : filaments pourvu d'akinètes ; FH : filaments pourvus d'hétérocystes. NH₄⁺ : ammonium, NO₂⁻ : nitrites, NO₃⁻ : nitrates, PO₄ : orthophosphates, WT° : température de l'eau, pH : potentiel hydrogène, DO : oxygène dissous, cond : conductivité, trans : transparence, Turb : turbidité, T° atm : température atmosphérique, preci : précipitations.

3.7 Concentrations des cyanotoxines dans les eaux de l'Oubeira

Les résultats des analyses par ELISA des cyanotoxines contenues dans les eaux du lac Oubeira, ont permis de quantifier deux toxines : la cylindrospermopsine (CYN) et la microcystine-LR (MC-LR).

3.7.1 Concentrations de la Cylindrospermopsine dans l'eau :

Plus de la moitié des échantillons d'eau présentent des concentrations en CYN inférieures à la limite de détection (< 50 ng/L). La CYN est présente dans 83 et 92% des échantillons d'eau prélevés dans S6 et S2 respectivement ; en revanche, sa présence est notée dans 50 et 17% des échantillons réalisés respectivement dans S1 et S5. La concentration moyenne en CYN relevée dans chaque station varie selon l'ordre décroissant suivant ; S6 (364 ng/L) ≥ S2 (321 ng/L) ≥ S1 (64 ng/L) ≥ S5 (37 ng/L).

Les concentrations en CYN varient de 96 à 633 ng/L dans S2 et de 18 à 925 ng/L dans S6 ; Dans S5 un pic de l'ordre de 443 ng/L est noté en octobre ; dans S1, c'est en octobre et en août que sont relevés 2 pics de l'ordre de 327 et 233 ng/L respectivement.

Le plus grand nombre d'échantillons dont la concentration en CYN dépasse 500 ng/L est noté dans S6 (6/10) et S2 (4/11) ; nous notons, en effet, des pics de plus de 500 ng/L en octobre (dans S1 et S2), en novembre, décembre (dans S2), en juin (S6), en juillet (S2 et S6), en août et en septembre (S6).

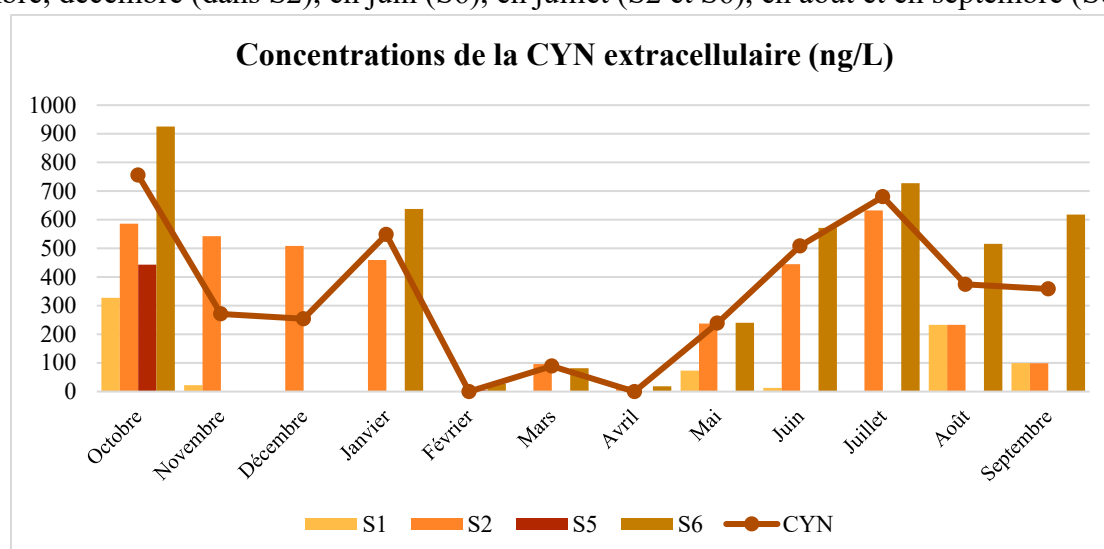


Figure 60: Concentration de la Cylindrospermopsine extracellulaire dans les eaux du lac Oubeira

3.7.2 Concentrations de la MC-LR dans le compartiment eau :

Dans les eaux de l'Oubeira, la microcystine (MC LR) est rencontrée dans plus de 89% des échantillons ; elle est, en effet, moins présente dans S2 (8 sur les 12 échantillons) et S5 (11 sur les 12 échantillons) ; Le calcul de la concentration moyenne de microcystine par station fait apparaître la forte présence de MC LR dans S1 par rapport aux 2 autres stations (S1 (321 ng/L) ≥ S5 (288 ng/L) ≥ S2 (210 ng/L)). Le plus grand nombre d'échantillons dont la concentration dépasse 300 ng/L est noté dans S1 (8/12), ensuite vient S5 (4/12) et enfin S2 (3/12). Les pics de plus de 400 ng.L sont enregistrées en octobre, novembre et décembre dans l'ensemble des stations, en mai dans S2, en juin dans S5 et en juillet dans S1. Quant aux concentrations en MC LR les plus basses, elles sont relevées en janvier-février et en août-septembre.

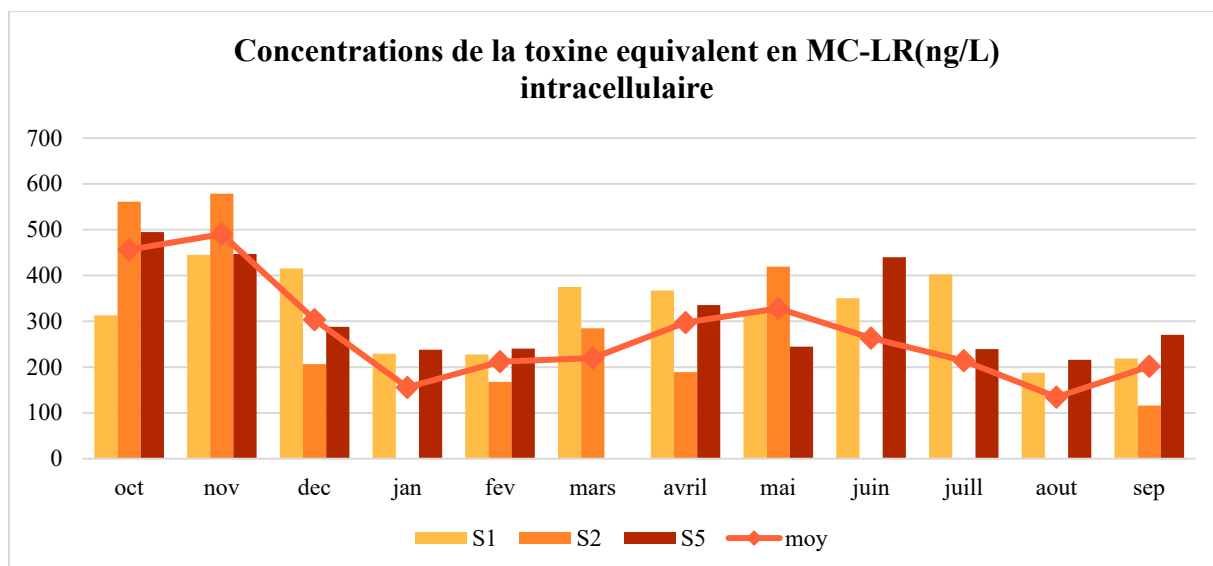


Figure 61: Concentrations (ng/L) de la microcystine (MC-LR) dans les eaux de l’Oubeira

3.8.1.1 Concentrations de la Cylindrospermopsine chez l’anodonte :

Chez l’anodonte, la CYN est rencontrée dans plus de 83% des échantillons examinés à des concentrations comprises entre 0.83 et 16.2 ng/g. Les concentrations de plus de 10 ng/g de CYN et celles de moins de 2 ng/g de CYN concernent respectivement 40 et 30% des échantillons. Des valeurs comprises entre 4 et 5.5 ng/g de CYN sont enregistrées dans les échantillons de décembre, avril et juin. Les pics sont notés en novembre (16.2 ng/g), en mai (16.1 ng/g), en juillet et en août (12 ng/g chaque mois).

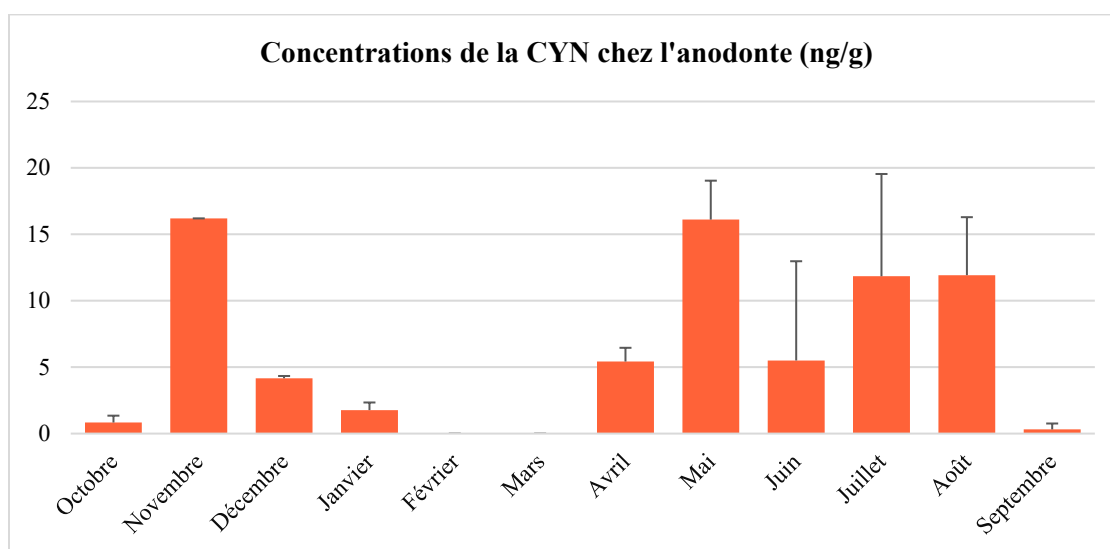


Figure 62 : Concentrations de la Cylindrospermopsine chez l’anodonte collectée dans l’Oubeira

3.8.1.2 Concentrations de la microcystine LR chez l’anodonte :

La figure 63 montre les concentrations mensuelles de la microcystines (MC LR) enregistrées chez les anodontes collectées dans le lac Oubeira. La microcystine est décelée dans seulement 75% des échantillons examinés à des concentrations comprises entre 54 et 702 ng équivalent en MC-LR/g. les concentrations de moins de 100 ng équivalent en MC-LR/g représentent plus de 55% des échantillons (de décembre à février, en mai et en juillet) et celles comprises entre 100 et 200 ng équivalent en MC-LR/g concernent les échantillons de juin et août (174 et 143 ng équivalent en MC-LR/g

respectivement). Quant aux concentrations maximales, elles sont enregistrées en mars et en septembre (702 et 546 ng équivalent en MC-LR/g).

Le test de Mann-Whitney a révélé une différence significative entre les concentrations de microcystine-LR (MC-LR) mesurées dans les deux groupes comparés ($p < 0.05$).

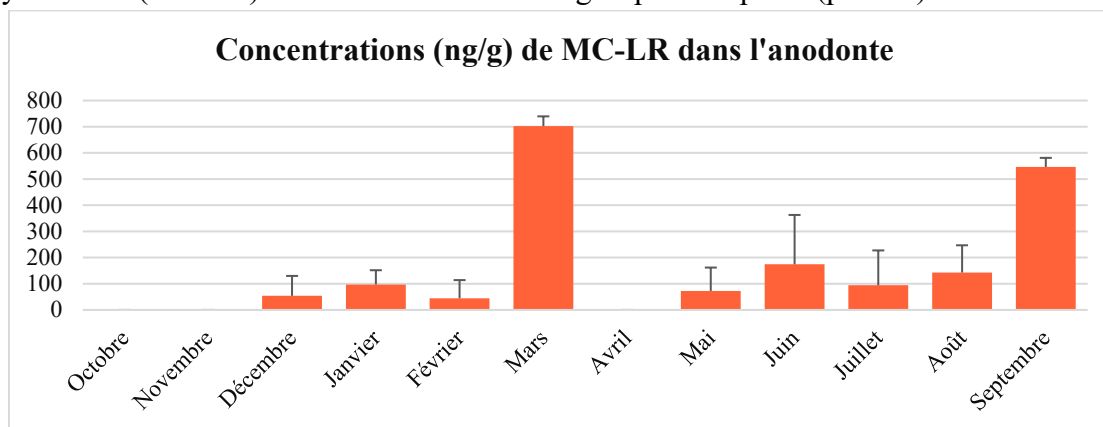


Figure 63 : Concentrations de la MC-LR chez l’anodonte collectée dans l’Oubeira

3.8.2.1 Concentrations de la Cylindrospermopsine chez la Carpe :

La concentration en CYN rencontrée dans le foie de carpe varie de 16 et 36 ng/g ; Les concentrations de plus de 25 ng/g sont enregistrées dans les deux tiers des organes examinés ; des pics de plus de 28 ng/g sont relevés en décembre, juin et juillet (28, 36 et 35 ng/g respectivement). Les valeurs les plus basses sont notées en novembre, février et mai (17, 19 et 16 ng/g respectivement).

Dans les viscères de la carpe, la concentration en CYN est comprise entre 12 et 31 ng/g ; Les concentrations les plus basses (moins de 20 ng/g) sont rencontrés en février, mai et juin et les plus élevées (plus de 25 ng/g) sont enregistrées en mars, juillet, novembre et décembre (soit 44% des échantillons); des valeurs intermédiaires sont notées en janvier et en avril.

Les résultats du test de Mann-Whitney indiquent une différence significative entre les concentrations de cylindrospermopsine (CYN) mesurées dans l’eau et dans les organes (foies et viscères) de la carpe ($p = 0.05$).

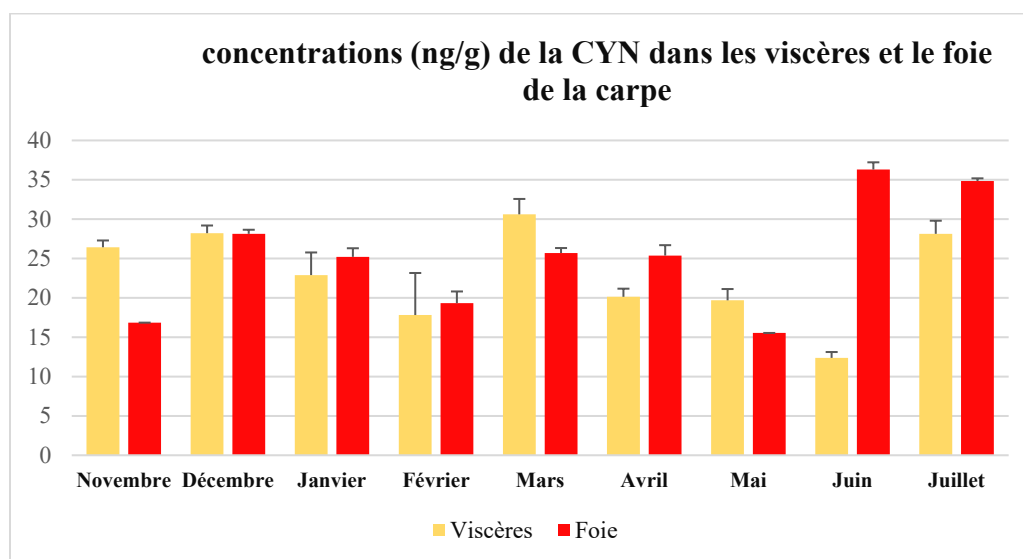


Figure 64: Concentrations de la cylindrospermopsine (CYN) chez la carpe peuplant l’Oubeira

3.8.2.2 Concentrations de la microcystine (MC-LR) chez la carpe

Il ressort de la figure 65 que la MCLR est beaucoup plus présente dans le foie que dans les viscères ; Elle est présente dans les neuf hépatopancréas analysés contre seulement 8 viscères ; en termes de concentration moyenne, nous notons des valeurs de l'ordre de 849 et 461 ng équivalent en MC-LR/g respectivement dans le foies et les viscères.

Dans les viscères, la concentration en MC LR varie de 0 à 1758 ng équivalent en MC-LR/g ; La MC LR montre des pics de concentration supérieure à 1000 ng équivalent en MC-LR/g en novembre (1174 ng équivalent en MC-LR/g) et en décembre (1758 ng équivalent en MC-LR/g) ; les concentrations les plus basses sont relevées en janvier et juillet (31 et 13 ng équivalent en MC-LR/g respectivement). Des valeurs comprises entre 200 et 400 ng équivalent en MC-LR/g sont enregistrées durant la période s'étalant de mars à mai.

Dans l'hépatopancreas, la concentration en MC LR est comprise entre 380 et 1628 ng équivalent en MC-LR/g ; Les concentrations de plus de 1000 ng équivalent en MC-LR/g sont enregistrées dans un tiers des échantillons en décembre, février et mars (1628, 1095 et 1400 ng équivalent en MC-LR/g respectivement) ; Des concentrations de l'ordre de 957, 578 et 732 ng équivalent en MC-LR/g sont relevées en novembre, mai et juillet respectivement. Les plus basses concentrations (comprises entre 380 et 500 ng équivalent en MC-LR/g) sont notées en janvier, avril et juin (420, 448 et 380 ng équivalent en MC-LR/g respectivement).

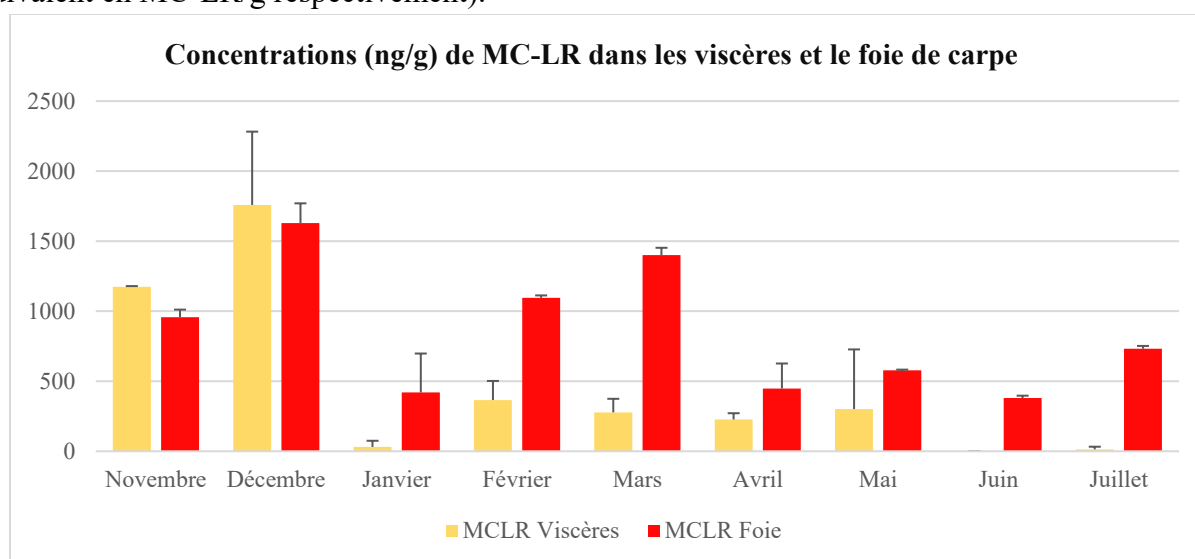


Figure 65 : Concentrations de la microcystine (MC-LR) chez la carpe peuplant l'Oubeira

- **Comparaison des concentrations de microcystine-LR entre l'eau, les intestins et le foie**

Le test de Kruskal-Wallis a révélé une différence significative des concentrations de microcystine-LR entre les trois groupes ($p < 0.001$). Ces résultats suggèrent que les concentrations de MC-LR varient significativement en fonction des compartiments étudiés, ce qui pourrait refléter une bioaccumulation dans les tissus des organismes

- **Comparaison des concentrations de cylindrospermopsine entre l'eau, les intestins et le foie**

Le test de Kruskal-Wallis a révélé une différence significative des concentrations de cylindrospermopsine entre les trois ($p < 0.001$). Cela suggère que l'accumulation de cette cyanotoxine peut être influencée par le compartiment biologique, avec une concentration possiblement plus élevée dans certains tissus.

Discussion

Qualité physico-chimique des eaux du lac Oubeira

Les lacs jouent un rôle crucial dans l'équilibre écologique et hydrologique des environnements aquatiques. Cependant, de nombreux lacs subissent aujourd'hui une eutrophisation accélérée, souvent favorisée par des apports excessifs de nutriments tels que l'azote et le phosphore. L'une des principales nuisances associées aux lacs eutrophes est la dominance du phytoplancton par les cyanobactéries, avec, dans certains cas, la formation de floraisons toxiques (Paerl et al., 2001). Dans ce contexte, l'examen des paramètres physico-chimiques de la qualité de l'eau devient essentiel. Il permet, non seulement, d'évaluer l'état de ces ressources, mais aussi de contribuer à leur gestion et à leur restauration, en offrant une meilleure compréhension des facteurs influençant la santé des écosystèmes aquatiques (Islam et al., 2018).

La température constitue l'un des facteurs clés pour comprendre l'influence des paramètres physico-chimiques sur la biodiversité d'un plan d'eau ; les températures enregistrées dans les eaux du lac Oubeira font apparaître une période chaude estivale et une période froide hivernale avec une température maximale de 31.1° et une température minimale de 10.9° (écarts de 20.2°C). Les variations mensuelles de la température de l'eau du lac suivent l'évolution des températures atmosphériques (Jacobsen et Dangles 2017). Selon Delince (1992), la température est un facteur déterminant qui agit sur la solubilité des sels et des gaz dissous (tel que l'oxygène dissous) ; ces derniers agissent, à leurs tours, sur l'ensemble de l'écosystème (Aminot, 1983).

Les eaux de l'Oubeira bénéficient d'une bonne oxygénation, non seulement en hiver, mais aussi en automne et au printemps ; les concentrations baissent en été. Les valeurs sont comprises entre 7 et 11.81mg/L. Cette variation s'explique par le fait que les niveaux les plus élevés d'oxygène dissous se produisent à des températures de l'eau basses ou modérées et les plus faibles lors de fortes températures des eaux. La température des eaux du lac Oubeira montre une corrélation négative très hautement significative ($p \leq 0,0001$) avec la teneur en oxygène dissous. Autre point important, c'est l'influence de l'activité photosynthétique des végétaux aquatiques et des microalgues sur la quantité d'oxygène dissous (Eisenstadt et al., 2010).

Un des paramètres fondamentaux dans l'évaluation de la qualité de l'eau est le pH. Il influence directement les processus biologiques et chimiques au sein des écosystèmes aquatiques, et peut être affecté par divers facteurs tels que la température, la salinité et l'activité photosynthétique. Le pH est une variable-clé : il tend à diminuer en cas d'acidification et à augmenter dans les environnements touchés par l'eutrophisation (Moss et al., 2003). Les eaux du lac Oubeira pendant cette période d'étude sont alcalines, elles fluctuent entre 7.93 et 9.86 ; les valeurs de plus de 9 sont notées au printemps et en été. D'après Shapiro (1997), les cyanobactéries peuvent se développer dans des conditions de pH élevé. Toutefois, ce n'est pas le pH élevé qui déclencherait les floraisons, mais il favoriserait plutôt leur maintien. En effet, les floraisons consommeraient d'abord le carbone inorganique dissous (CID), ce qui entraînerait des conditions avantageuses pour ces organismes.

La conductivité est utilisée pour mesurer la présence de matières inorganiques dans l'eau ; elle indique la présence de solides dissous totaux dans l'eau tels que les alcalis, les chlorures, les sulfures et les composés carbonatés (EPA, 2012). Elle est considérée comme un indicateur essentiel de la pollution physique et permet d'évaluer la qualité des communautés biologiques aquatiques dans les ressources en eau (Manjula et al., 2019). Les valeurs de la conductivité dans les eaux de l'Oubeira fluctuent entre 630 et 1021 μ S/cm, les variations saisonnières suivent l'ordre croissant suivant : en hiver (661.88 μ S/cm) Printemps (698.38 μ S/cm) Automne (705.94 μ S/cm) et l'été (887 μ S/cm). L'augmentation de la conductivité pendant la période estivale peut être attribuée à la température de l'eau, qui, selon Wetzel et al. (2001), influence la vitesse des ions. En effet, une élévation de 1°C de la température de l'eau entraîne une augmentation de 2 % de sa conductivité, en raison de l'accélération des mouvements des molécules d'eau et les ions se déplacent plus rapidement, ce qui facilite leur dissociation et leur diffusion.

Par ailleurs, le bassin versant du lac a été affecté par un incendie forestier durant la période estivale.

Plusieurs études ont montré que les précipitations qui surviennent après un incendie, drainent, par ruissellement, les cendres et les couches superficielles du sol dans les systèmes aquatiques, entraînant des impacts complexes sur la qualité de l'eau, notamment une augmentation de la turbidité, du pH et de la conductivité (Bixby et al., 2015). En effet, Brito et al. (2021) ainsi que Mansilha et al. (2017) rapportent que la déposition atmosphérique et le ruissellement des produits de combustion ont un impact majeur sur la qualité de l'eau de surface, en augmentant les concentrations en As, K⁻, Ca²⁺, Mg²⁺, NO₃⁻, SO₄²⁻ et Sr, ce qui contribue à l'augmentation de la conductivité électrique. La conductivité relevée dans les eaux du lac Oubeira montre une corrélation positive très hautement significative avec la température des eaux et la turbidité ($p \leq 0,0001$).

La transparence de l'eau représente un autre indicateur essentiel de la qualité de l'eau et de son état trophique ; Elle tend à diminuer avec l'augmentation de la quantité d'algues, de carbone organique dissous ou de matières en suspension (MDDELCC 2015a). Les particules en suspension dans l'eau obstruent la progression de la lumière dans l'eau et diminuent ainsi sa transparence (MDDEP et CREL 2012). Les valeurs de la transparence des eaux du lac Oubeira évoluent de manière similaire dans les stations elles sont comprises entre 7 et 27cm ; les plus élevées sont enregistrées en période hivernale (Janvier), dépassant les 20cm, tandis que les valeurs les plus basses sont notées en période estivale. Les faibles valeurs de transparence enregistrées au cours des périodes estivale et automnale pourraient être attribuées à la forte densité de microalgues observées durant ces périodes (Gaujous, 1995). La transparence montre une corrélation négative très hautement significative avec la chlorophylle-a et le genre *Cylindrospermopsis*.

Cette diminution de la transparence est étroitement liée à l'augmentation de la turbidité, résultant principalement de la suspension des particules fines dans la colonne d'eau. Les valeurs de la turbidité enregistrées dans les eaux du lac fluctuent entre 43 et 521 NTU. Ce phénomène est particulièrement marqué en période estivale, notamment au mois d'août, après les incendies. Les effets post-incendie, liés au ruissellement des cendres, peuvent en effet provoquer des modifications significatives de la turbidité des eaux (Shakesby et Doerr, 2006).

L'évaluation des concentrations des éléments nutritifs est essentielle pour comprendre leur impact sur la production primaire, la dynamique phytoplanctonique et les processus d'eutrophisation, fournissant ainsi des informations cruciales sur la qualité et le fonctionnement des écosystèmes aquatiques (Smith & Schindler, 2009).

Le phytoplancton, pour sa croissance a besoin de divers nutriments, notamment le carbone, l'azote, le phosphore, et la silice, ainsi que des oligo-éléments comme le fer, le cuivre, le zinc ou le manganèse. En milieu aquatique, le phosphore est généralement considéré comme le principal facteur limitant la croissance végétale (Dodds, 2002).

Contrairement à l'azote, le cycle du phosphore ne comporte pas de phase gazeuse ni de réservoir atmosphérique. Bien que lié aux sédiments, le phosphore peut être remis en suspension, notamment sous sa forme inorganique dominante, l'ion phosphate (PO₄³⁻). L'interaction entre le phosphate et le fer joue un rôle déterminant dans la régulation des concentrations de phosphore dans les lacs (Dodds, 2002). Dans le lac Oubeira, les concentrations d'orthophosphates varient selon les mois et les stations, oscillant entre 0 et 300 µg/L, à l'exception de la station 1 qui atteint 900 µg/L en février. Cette augmentation soudaine pourrait s'expliquer par : i) L'exposition de la station 1 aux vents, favorisant le remaniement des sédiments et la libération du phosphore dans la colonne d'eau (Shen et al., 2013) ii) Les apports urbains enrichis en nutriments au niveau de la station 1 provenant de l'Oued Demnet Rihane.

L'azote est l'un des éléments les plus abondants dans les cellules vivantes (Horne et Goldman, 1994) et constitue également le principal composant de l'atmosphère terrestre (78 %). Sous sa forme

moléculaire diatomique (N_2), il est cependant inaccessible à la majorité des organismes. Certaines espèces, notamment les cyanobactéries, possèdent la capacité de fixer l'azote atmosphérique et de le transformer en une forme biodisponible. En milieu aquatique, l'azote se présente sous diverses formes : moléculaire (N_2), ions nitrates (NO_3^-), nitrites (NO_2^-) et ammonium (NH_4^+), ainsi qu'au sein de molécules organiques provenant des organismes vivants (protéines, acides aminés, etc.)

Les concentrations en Ammonium dans les eaux de l'Oubeira varient entre 0.42 et 433 μ g/L, avec deux pics l'un au mois de Décembre (178 μ g/L) et l'autre au mois de Mars (338 μ g/l) ; les concentrations suivent l'ordre croissant suivant : Printemps (21.07), été (46.48 μ g/l), Hiver (101.8), Automne (127.42). La détection de pics d'ammonium dans les eaux de l'oubeira pourrait s'expliquer par une contamination récente due à la décomposition de matière organique (Pajares et al., 2017), à la libération de matière inorganique provenant du sol, à l'excrétion des organismes vivants, et, dans une moindre mesure, à une faible absorption par les végétaux aquatiques.

Les nitrites jouent un rôle clé dans le cycle de l'azote, intervenant comme étape intermédiaire entre l'azote ammoniacal et les nitrates. Leur présence résulte soit de l'oxydation bactérienne de l'azote ammoniacal, soit de la réduction des nitrates. Étant une forme transitoire, ils sont rapidement oxydés en nitrates, ce qui explique leur rareté et leurs faibles concentrations dans l'eau. Les eaux de l'Oubeira abritent des teneurs en nitrites comprises entre 2.91 et 167.7 μ g/l ; les concentrations les plus élevées étant notées en Hiver. Cette augmentation des nitrites est due aux rejets urbains des agglomérations, chargés en éléments organiques, aux détergents utilisés dans les activités ménagères et au lessivage des sols riches en matières fécales animales et humaines ainsi qu'à l'effet de l'oxydation de l'ion ammonium (Baumont et al., 2000).

Les nitrates correspondent à la phase finale du processus d'oxydation de l'azote. Les concentrations en nitrates enregistrées dans les eaux de l'Oubeira fluctuent entre 148 et 1778 μ g/L ; les concentrations saisonnières suivent l'ordre croissant : Hiver (473 μ g/L), Printemps (502.34 μ g/L), Automne (562.36 μ g/L), l'été (1028 μ g/L). Les pics enregistrés en période estivale pourraient avoir pour origine les cendres libérés lors des incendies de forêt survenues à cette période ; De nombreux travaux ont, en effet, montré que la combustion de la matière organique tend à libérer de grandes quantités de composés azotés (comme NO_3^-) et de SO_4^{2-} (Wang et al., 2023).

La chlorophylle a est un paramètre clé pour évaluer la biomasse phytoplanctonique ainsi que le niveau trophique des écosystèmes aquatiques. Ce pigment, de nature protéique, joue un rôle central dans le processus de photosynthèse en captant l'énergie lumineuse nécessaire à la production de matière organique. Parmi les divers pigments photosynthétiques, tels que les chlorophylles, les caroténoïdes et les biliprotéines, la chlorophylle a se distingue par son abondance universelle chez les organismes photosynthétiques, incluant les algues et les cyanobactéries (Wetzel, 2001)

Les concentrations de chlorophylle a mesurées dans les eaux du lac Oubeira varient de 52 à 1256 μ g/L ; les valeurs saisonnières suivent l'ordre croissant suivant : hiver (90.12 μ g/L), printemps (162.6 μ g/L), automne (267.33 μ g/L), été (912.29 μ g/L). En été, les concentrations atteignent des niveaux cinq fois supérieurs à ceux enregistrés au printemps, suggérant que l'augmentation de la biomasse algale dans le lac Oubeira serait principalement attribuable à des apports élevés en azote. Cette hypothèse est soutenue par les corrélations positives très hautement significatives ($p \leq 0,0001$) observées entre la chlorophyll-a, les nitrates, la température de l'eau et le genre *Cylindrospermopsis*.

Selon Sondergaard et al. (2003), l'enrichissement en azote et en phosphore entraîne généralement une augmentation de la biomasse végétale et de la turbidité de l'eau. Ce phénomène peut réduire la transparence et provoquer des changements biologiques indésirables, tels que des modifications dans la structure des communautés d'espèces. À l'inverse, les faibles concentrations de chlorophylle a

enregistrées en hiver peuvent être attribuées aux basses températures et aux phénomènes de dilution, qui limitent le développement des communautés phytoplanctoniques (Huszar & Reynolds, 1997).

Afin d'évaluer le niveau trophique du lac Oubeira, la concentration en chlorophylle-a a été utilisée comme un indicateur clé, conformément à l'approche proposée par Ramade (1999). En effet, cette mesure constitue un bon indice du degré d'eutrophisation. Pour caractériser l'état trophique des lacs, le système élaboré par l'O.C.D.E. (1982) a été adopté ; Ce système combine les données sur la concentration en nutriments et la biomasse algale. Dans notre cas, seules les concentrations de chlorophylle *a* et les mesures de la transparence ont été prises en compte. Le phosphore total n'a pas été inclus dans l'analyse, car seuls les orthophosphates ont été dosés. Sur la base de cette grille diagnostique (tab. X), le lac Oubeira peut être classé dans la catégorie hypereutrophe.

Les cyanobactéries du lac Oubeira

L'examen microscopique des caractères morfo-anatomiques des cyanobactéries collectées dans les eaux du lac Oubeira a permis d'identifier 20 genres rattachés à 7 ordres ; certains sont de formes coloniales : Chroococcales (*Microcystis*, *Aphanocapsa*, *Aphanothece*, *Chroococcus*, *Gomphosphaeria*), Synechococcales (*Merismopedia*, *Coelomonon*, *Synechocystis*, *Snowella*, *Woronichinia*) et d'autres de formes filamenteuses : Nostocales (*Cylindrospermopsis*, *Aphanizomenon*, *Dolichospermum*), Oscillatoriales (*Planktothrix*, *Oscillatoria*, *Geitlerinema*), Leptolyngbyales (*Planktolyngbya*), Spirulinales (*Spirulina*), Pseudanabaenales (*Pseudanabaena*, *Limnothrix*).

Sur les 20 genres identifiés, 10 sont reconnus potentiellement toxiques : *Cylindrospermopsis*, *Aphanizomenon*, *Dolichospermum*, *Planktothrix*, *Oscillatoria*, *Geitlerinema*, *Microcystis*, *Woronichinia*, *Pseudanabaena*, et *Limnothrix*. Il est utile de signaler, pour la première fois, la présence du genre *Geitlerinema* dans les eaux du lac Oubeira

Le calcul de la densité mensuelle des cyanobactéries collectées dans les eaux du lac Oubeira révèle des densités comprises entre 4 351 et 1 547 960 cellules/mL. Des densités inférieures à 100 000 cellules/mL sont rencontrées dans plus de 25 % des échantillons de mars et avril ; Les densités comprises entre 100 000 et 500 000 cellules/mL concernent 44 % des échantillons prélevés en période automnale, hivernale et au début de l'été ; des densités supérieures à 500 000 cellules/mL sont principalement enregistrées en période estivale et concernent des densités supérieures à 500 000 cellules/mL, enregistrées dans 30 % des échantillons surtout en période estivale.

Selon les recommandations de l'OMS (Chorus et Bartram, 1999) les eaux du lac Oubeira se situent au niveau d'alerte 1 en mars et avril et passent au niveau d'alerte 2 durant le reste de l'année. Cette réglementation repose sur les risques associés aux cyanobactéries, qui produisent de nombreux métabolites secondaires, notamment des cyanotoxines, reconnus pour leur toxicité envers la santé humaine et animale (Codd et al., 2017).

L'estimation de la fréquence d'occurrence des genres de cyanobactéries recensées met en évidence la constance des genres *Cylindrospermopsis* et *Microcystis*, la régularité d'*Aphanizomenon*, *Planktothrix*, *Geitlerinema*, *Planktolyngbya* et *Merismopedia*. Les genres considérés comme accessoires sont *Oscillatoria*, *Pseudanabaena* et *Aphanocapsa* et ceux qui sont accidentels sont *Coelomonon*, *Aphanothece*, *Synechocystis*, *Chroococcus*, *Gomphosphaeria* et *Dolichospermum*. Le reste des genres *Limnothrix*, *Snowella* et *Woronichinia* sont rares.

Dans ce même plan d'eau, [Arif \(2022\)](#) souligne l'omniprésence de *Microcystis*, ainsi que la régularité d'*Aphanizomenon*, tandis que *Cylindrospermopsis* y est considéré comme accessoire. En revanche, [Boussadia \(2015\)](#) note la régularité de *Microcystis*, mais classe *Aphanizomenon* et *Cylindrospermopsis* parmi les genres accessoires.

Les résultats de travaux expérimentaux menés par [Schindler et al., \(2008\)](#) et [Schindler, \(2012\)](#) ont suggéré que la réduction des apports en azote et l'augmentation de ceux de P conduirait au remplacement de cyanobactérie non fixatrice de N₂ (tel que *Microcystis*) par des fleurs d'eau de cyanobactéries fixatrices de N₂ (telles que *Cylindrospermopsis*, *Aphanizomenon*, *Dolichospermum/Anabaena*, *Nodularia*).

Certaines cyanobactéries se distinguent par des particularités physiologiques qui leur confèrent un avantage sur d'autres espèces. Elles peuvent former des akinètes (cellules dormantes servant de réserve) pour survivre à des conditions défavorables, utiliser des hétérocystes (cellules spécialisées) pour fixer l'azote atmosphérique, et ajuster leur position dans la colonne d'eau grâce à des vacuoles gazeuses, améliorant ainsi leur flottabilité ([Komarek & Anagnostidis, 1999, 2005](#)). Ces adaptations leur permettent de tirer parti de conditions environnementales favorables au développement des cyanobactéries, telles que la disponibilité des nutriments, une température élevée, un rayonnement solaire intense, une colonne d'eau stable et un pH élevé ([Paerl & Otten, 2013](#)).

Par ailleurs, en termes d'abondances relatives, plus de 97% de l'abondance globale des cyanobactéries identifiées sont représentés par 4 genres : *Cylindrospermopsis* (76.51%) *Microcystis* (4.13%) *Aphanizomenon* (13.9%) et *Geitlerinema* (2.05%). Les 16 genres restants représentent moins de 3% de la densité globale. Il est à noter l'établissement des deux genres invasifs dans les eaux du lac Oubeira, qui semble plus que probable, car en termes d'abondance de saison *Cylindrospermopsis* et *Aphanizomenon* représentent à eux deux 94% en hiver, 43% au printemps, 98% en été et 89% en automne.

Le genre *Cylindrospermopsis* est représenté par l'espèce *Cylindrospermopsis raciborskii*. Initialement observée dans les climats tropicaux et subtropicaux, cette espèce a, au fil du temps, étendu son aire de répartition aux climats tempérés et à l'ensemble des continents, à l'exception de l'Antarctique ([Sinha et al., 2012](#) ; [Antunes et al., 2015](#) ; [Burford et al., 2016](#)). Sa présence a été signalée, pour la première fois, dans les eaux de l'Oubeira par [Bouaicha et Nasri, \(2004\)](#), ensuite par [Boussadia, \(2015\)](#) et [Arif, \(2022\)](#).

Il ressort de cette étude, qu'en termes d'abondance relative et de fréquence d'occurrence, à l'exception de la période hivernale, le genre *Cylindrospermopsis* domine tout au long de l'année avec une abondance relative globale atteignant 76,51%. Par ailleurs, les abondances de plus de 70 %, sont enregistrées durant la période s'étalant de juillet à décembre.

En termes d'abondance, *Cylindrospermopsis* présente des proportions saisonnières qui suivent l'ordre croissant suivant : Hiver (6%) ≤ Printemps (40%) ≤ Automne (plus de 88%) ≤ Été (proche de 98%). En ce qui concerne les densités moyennes saisonnières, en hiver, elles ne dépassent pas 16 000 cellules/mL, au printemps elles passent à 48 000 cellules/mL, en automne, elles atteignent plus de 371 000 cellules/mL et en été elles culminent à 848 000 cellules/mL. Dans de précédents travaux réalisés dans le lac Oubeira, *Cylindrospermopsis* est considéré comme accessoire par [Arif \(2022\)](#) et [Boussadia \(2015\)](#) ; le premier auteur, note la présence de *Cylindrospermopsis* durant 5 mois de l'année et l'atteinte d'un pic de l'ordre de 136 000 cell/ml en Octobre ; Le second auteur rapporte la présence de *Cylindrospermopsis* en période estivale et automnale à une densité maximale de 700 000 cell/ml en Octobre.

Les résultats de l'analyse en Composantes Principales montrent que les deux premiers axes principaux expliquent ensemble 84.14% de cette variation totale (66.52% pour l'axe 1 et 17.62% pour l'axe 2). Sur le pôle positif de l'axe 1 nous notons la projection de la saison estivale dont les eaux se caractérisent par des valeurs élevées de la Température, de la conductivité, de la turbidité, du pH et des concentrations en nitrates, en chlorophylle a et la forte présence de l'espèce *Cylindrospermopsis raciborskii*. Sur le pôle négatif de l'axe 1, se projette la saison hivernale durant laquelle les eaux montrent des valeurs élevées de l'oxygène dissous, de la transparence, des nitrites, des orthophosphates.

La forte corrélation positive de *C. raciborskii* avec la Température et la turbidité des eaux de l'Oubeira est confortée par les résultats de nombreux travaux ; [Antunes et al \(2015\)](#) rapportent que, dans le cadre de sa stratégie de survie, *C. raciborskii* est connu pour sa grande tolérance à la température et au régime lumineux.

De nombreuses études montrent que dans les régions subtropicales, *C. raciborskii* domine pendant toute la période estivale ([Bouvy et al., 2000](#) ; [Burford et O'Donohue, 2006](#) ; [Burford et al., 2007](#)). Selon [Briand et al \(2004\)](#), *Cylindrospermopsis* serait tolérant à une large gamme de climats (de tropicaux à tempérés). Bien que de nombreuses études aient suggéré que la température optimale de l'eau pour l'espèce se situe entre 25 et 35 °C ([Saker & Eaglesham, 1999](#) ; [Briand et al., 2004](#) ; [Mehner et al., 2010](#)). En effet la température minimale de croissance de *C. raciborskii* oscille entre 11 et 15°C ([Thomas & Litchman, 2016](#)) ; après l'hivernage au fond du lac, la germination des akinetes se produit au printemps à des températures comprises entre 22–23°C ([Briand et al., 2002](#)), et la croissance maximale est favorisée par des températures comprises entre 25 et 32°C ([Recknagel et al., 2014](#)) ce qui est en accord avec les données sur les efflorescences de *C. raciborskii* obtenues dans le cadre de cette étude ; l'efflorescence de *C. raciborskii* débute au printemps, quand la T° dépasse 20°C, et atteint son maximum en période estivale quand la T° se rapproche de 29°C pour ensuite montrer une baisse de densité avec la baisse de la température en période automnale.

De récentes études démontrent que la température et la lumière ont un effet synergique sur les taux de croissance des *R. raciborskii* ([Kehoe et al., 2015](#) ; [Xiao et al., 2020](#)).

De nombreux auteurs rapportent que *Cylindrospermopsis raciborskii* peut absorber un large spectre de lumière grâce à l'adaptation chromatique et à la capacité d'augmenter la concentration de phycobiliprotéines ([Padisák, 1997](#) ; [Burford & Davis, 2011](#) ; [Beamud et al., 2016](#)). Cette tolérance à l'ombre lui permet d'être plus compétitif dans les eaux très troubles et de croître fortement dans des eaux de l'Oubeira en période estivale où la température et la turbidité sont à leur niveau le plus élevé ; Cette adaptation de *C. raciborskii* explique ainsi les corrélations positives et négatives qu'il montre respectivement avec la turbidité et la transparence des eaux de l'Oubeira. En Bulgarie, [Dochin \(2022\)](#) notait de faibles biomasses dans les réservoirs présentant une transparence des eaux élevées. Chez *C. raciborskii*, [Wu et al, \(2009\)](#) rapportent que les concentrations en caroténoïdes et en phycoblines, ainsi que les activités photosynthétiques, étaient significativement plus élevées que chez *Microcystis* et *Aphanizomenon* ; ce qui semble renforcer la domination de *C. raciborskii* dans le lac Oubeira.

Dans les eaux de l'Oubeira, *C. raciborskii* est fortement abondant en période estivale quand la conductivité atteint sa valeur maximale. Nos résultats sont confortés par ceux de [Kokocinski et al \(2017\)](#) qui rapportent que la biomasse de *C. raciborskii* varie positivement avec la conductivité des eaux de certains lacs de Pologne et de Lituanie ainsi que par ceux de [Dochin \(2022\)](#) dans des réservoirs de Bulgarie.

C. raciborskii a une préférence pour les valeurs de pH élevées tel que noté dans les eaux de l'Oubeira qui affichent un pH compris entre 8.5 et 9.15 ; ce résultat est conforté par [Bouvy et al \(1999\)](#) qui notent une forte croissance de *C. raciborskii* à des pH variant de 8.1 à 9.4. Cette tolérance à un pH élevé peut être dû à un effet direct du pH, du fait que le taux de CO₂ baisse quand augmente le pH ; ce qui limiterait la disponibilité du CO₂ pour le phytoplancton ; Par ailleurs, l'augmentation du pH reflète une intense activité cyanobactérienne photosynthétique, due à des proliférations, qui élimine

l'ion H⁺ de l'eau (Wiedner et al., 2007 ; Yamamoto & Shiah, 2012 et Karadžić et al. 2013). Par ailleurs, *C. raciborskii*, est capable d'utiliser d'autres sources de carbone, telle que HCO₃ lorsque celles-ci sont présentes ; il devient ainsi un bon compétiteur quand les niveaux de CO₂ sont bas et le pH élevé (Holland et al., 2012 ; Burford et al., 2016). Selon Pierangelini et al. (2014) *C. raciborskii* présente une réorganisation majeure de son appareil photosynthétique, tant dans sa fonction que dans sa structure, en réponse à l'augmentation des concentrations de CO₂.

La croissance de *C. raciborskii*, en particulier sa capacité à former des efflorescences, serait influencée par les concentrations de certains nutriments généralement observées dans les environnements eutrophes (Yang et al., 2017) tel que le lac Oubeira ; car selon Chislock et al., (2014), en milieu eutrophe, la dominance de *C. raciborskii* est notée aussi bien quand le rapport N:P est soit très élevé, soit très faible. Moisander et al., (2012) rapportent que pour répondre aux variations environnementales de l'azote, *C. raciborskii* pouvait alterner entre la fixation de N₂, en étant diazotrophe, et l'assimilation de l'azote inorganique dissous ; De nombreuses études rapportent que les taux de croissance étaient plus rapides avec l'ammoniac, puis le nitrate et enfin l'urée (Sprober et al., 2003 ; Ammar et al., 2014 ; Figueredo et al., 2014). Dans le cadre de cette étude, *C. raciborskii* montre une forte corrélation positive avec NO₃ ; Sa capacité d'assimilation de NO₃ lui confère un avantage écologique, en particulier sur les espèces non-fixatrices de N₂, et lui permet, ainsi, d'être fortement abondant dans les eaux de l'Oubeira, surtout en période estivale, quand les teneurs en cet élément sont les plus élevées.

Selon Kenesi et al., (2009) *C. raciborskii* a la capacité de croître plus rapidement et de maintenir une biomasse élevée dans des conditions limitées en phosphore si NH₄ ou NO₃ sont disponibles ; ce qui conforte nos résultats sur la forte biomasse enregistrée en été au moment où les eaux de l'Oubeira abritaient les teneurs maximales en NO₃ et minimale en PO₄.

Plusieurs études ont montré que *R. raciborskii* a une forte affinité d'absorption pour le phosphore inorganique dissous (Istvánovics et al., 2000 ; Wu et al., 2009) et une capacité élevée de stockage du phosphore (Willis et al., 2017), ainsi qu'une capacité à piéger le phosphore organique dissous (Bai et al., 2014). Par ailleurs, *C. raciborskii* semble capable de réguler son métabolisme physiologique et de s'adapter aux faibles concentrations ambiantes de DIP, par une augmentation de la phosphatase alcaline (ALP) qui selon Wu et al (2012) représenterait un mécanisme de défense utilisé pour pallier à la limitation du P (Wu et al., 2012). Il a été démontré que l'absorption et la transformation efficaces du P par *C. raciborskii* étaient plus importantes que chez *Microcystis aeruginosa* et *Aphanizomenon flos-aquae* (Wu et al., 2009 ; Bai et al, 2020). De récents travaux ont montré que la carence en phosphore stimule la dominance de *R. raciborskii* en facilitant la sécrétion de phosphatase alcaline induite par la cylindrospermopsine (Lu et al. 2021).

Les résultats de l'étude d'Antunes et al. (2012) ont montré la manifestation d'une plus grande activité allélopathique, chez la souche allélopathique (LEGE 99043) soumise à un déficit en phosphore, à une température et une intensité lumineuse élevées ; ce qui suggère que l'allélopathie écophysiologique pourrait avoir un degré élevé de pertinence. Selon Mello et al (2012), l'allélopathie peut également jouer un rôle dans la domination de *C. raciborskii*. L'inhibition de la croissance de *M. aeruginosa* a été observée après son exposition à des exsudats de cultures mixtes avec une proportion élevée de *C. raciborskii* (Mello et al., 2012). Ce résultat démontre que l'allélopathie peut également jouer un rôle important dans l'explication de la dynamique saisonnière de l'espèce. D'autre part, *C. raciborskii* a montré la capacité de surmonter *Microcystis sp.* dans une culture mixte par la production de composés, non encore caractérisés comme allélopathiques, qui imitent l'action de la cylindrospermopsine (Burford et al., 2016 ; Rzymiski et al., 2014).

Une analyse des exigences environnementales de l'espèce de *C. raciborskii* démontrent sa grande capacité à survivre dans diverses conditions. La réussite écologique de *Cylindrospermopsis* peut être attribuée à la capacité de tolérer une gamme de conditions environnementales (Chonudomkul et al., 2004 ; Fuentes et al., 2010 ; Bonilla et al., 2012 ; Gomes et al., 2013 ; Soares et al., 2013 ; Pierangelini et al., 2014b ; Antunes et al., 2015 ; Xiao et al., 2017). Certains auteurs suggèrent que le degré élevé

de plasticité phénotypique faciliterait la propagation dans de nouvelles régions géographiques ; ceci grâce à un large éventail de préadaptations ou de variations génétiques au sein de l'espèce (Burford et al, 2016 ; Bolius et al, 2017).

Dans les eaux du lac Oubeira, le genre *Aphanizomenon* est représenté seulement par l'espèce *Aphanizomenon flos-Aquae*, bien que régulier il ne représente que 13.9% de l'abondance globale ; il n'est pas rencontré en été et en termes de proportions saisonnières, les valeurs suivent l'ordre croissant suivant : 0.64% (printemps), 0.73% (automne), 87.71% (Hiver). En janvier, *Aphanizomenon* montre des densités comprises entre 9 200 et 116 900 cell/mL, en février elles sont maximales et dépassent 350 000 cell/mL, en mars, elles diminuent pour se situer entre 930 et 6 058 cell/mL.

Les résultats de l'analyse en composantes principales montrent que sur le pôle négatif de l'axe 1, se projette la saison hivernale durant laquelle les eaux montrent des valeurs élevées de l'oxygène dissous, de la transparence, des nitrites, des orthophosphates auxquelles est associée la forte présence de l'espèce *Aphanizomenon flos-aquae*.

Le genre *Aphanizomenon* a une distribution mondiale (Rajaniemi et al. 2005). Il est hétérogène et comprend au moins cinq taxons distincts avec des différences phylogénétiques notables (*Aphanizomenon*, *Anabaena-like cluster A*, *Cuspidrothrix*, *Sphaerospermopsis* et *Chrysochlorum*) ;

Les *Aphanizomenon spp*, se distinguent par leur grande plasticité écologique et leur capacité à coloniser des zones climatiques plus froides. Cirès et Ballot (2016) rapportent que les souches de ces cinq espèces présentent une croissance végétative positive dans une large gamme de températures (15-30°C). Dans le cadre de cette étude *Aphanizomenon* présente des corrélations négatives avec la température ($p \leq 0,0001$), Selon des études, *Aphanizomenon gracile/flos-aquae* est la seule espèce capable de se développer à des températures proches de 10°C ou inférieures (Mehnert et al., 2010), tandis que *Chrysochlorum ovalisporum* et *S. aphanizomenoides* se révèlent être des compétiteurs bien plus performants à des températures élevées, supérieures à 30°C, voire proches de 35°C (Hadas et al., 2002 ; Cirès et al., 2011 ; Mehnert et al., 2010). Cette adaptation est corroborée par l'observation de proliférations d'*Aph. flos-aquae* en hiver, sous la glace du lac Stechlin, en Allemagne (Uveges et al., 2012) ou de fleurs d'eau de *Chrysochlorum ovalisporum* dans plusieurs lacs méditerranéens dont la température de l'eau est supérieure à 30°C (Gkelis et al., 2005).

L'espèce *Aphanizomenon flos-aquae* est planctonique et prolifère principalement dans les réservoirs eutrophes (Komárek, 2013). Selon Preussel et al. (2009), cette espèce présente une croissance positive dans une large gamme de températures (16-25 °C) et peut également se développer à des températures inférieures à 10 °C, comme le rapportent Uveges et al. (2012). De plus, Mehnert et al. (2010) soulignent que *A. flos-aquae* bénéficie d'un avantage compétitif dans des conditions de faible intensité lumineuse. Dans les eaux de l'Oubeira, le genre *Aphanizomenon* présente des corrélations positives avec les orthophosphates, les nitrites ($p \leq 0,0001$) et l'ammonium ($p = 0,006$) et négatives avec les nitrates ($p = 0,0004$).

Cires & Ballot, (2016) notaient que la croissance d'*Aphanizomenon flos aquae*, était positivement corrélée à la disponibilité de l'azote dans le milieu de croissance malgré sa diazotrophie (fixe le N₂ atmosphérique, grâce aux hétérocystes) ; Du fait que le coût énergétique de la fixation du N₂ soit élevé, *A. flos aquae*, montre des préférences pour l'azote combiné quand il est disponible. Une étude de terrain réalisée par Dolman et al. (2012) dans 102 lacs allemands suggère que l'espèce *Aphanizomenon flos-aquae* a besoin de concentrations d'azote plus faibles pour développer des populations pertinentes et représenterait ainsi un fixateur de N₂ plus efficace que l'espèce *Aphanizomenon gracile* présente dans les mêmes lacs.

Nos résultats montrent, par ailleurs, que l'espèce *A. flos aquae* est positivement corrélé avec le PO₄ ($p \leq 0,0001$). Ceci est conforté par les observations de [Figueredo et al., \(2004\)](#) qui notent dans des conditions de rapport TN : TP (azote total : phosphore total) élevé, cette souche a montré une croissance réduite et n'a presque pas poussé dans un milieu privé de phosphate (avec des conditions de saturation en nitrates). Plusieurs études ont rapporté que la croissance des cyanobactéries filamenteuses fixatrices d'azote dépend fortement des concentrations de phosphore ([Lehtimäki et al., 1997](#) ; [Rapala et al., 1997](#)), et selon [Oliver et al, \(2000\)](#), le développement, en particulier, de *A. flos-aquae* serait lié à de faibles rapports TN : TP ; L'absence de proliférations de cyanobactéries fixatrices d'azote dans des environnements avec des rapports N:P élevés s'expliquerait par le faible avantage compétitif de ces cyanobactéries filamenteuses sous limitation de phosphore ([Oliver et al, 2000](#)).

Dans les eaux de l'Oubeira, on note la présence constante du genre *Microcystis* avec une abondance relative de 4.13%, en termes de proportions les densités suivent l'ordre suivant : 1.61% (été), 2.06 (Hiver), 5.34% (automne) et 22.45% au printemps.

Les études précédentes réalisées dans le lac Oubeira ([Arif, 2022](#)) mettent en évidence l'omniprésence du genre *Microcystis*, dominé principalement par l'espèce *Microcystis aeruginosa* représentant ainsi 44.14% de l'abondance relative globale. Ses proportions saisonnières varient selon l'ordre croissant suivant : 40% (automne), été (44%), hiver (44%), Printemps (52%).

Le genre *Microcystis* est distribué à l'échelle mondiale ([Harke et al., 2016](#)) et se développe principalement dans les écosystèmes aquatiques eutrophes et hypereutrophes durant la saison estivale ([Mariani et al., 2015](#) ; [Van Wichelen et al., 2016](#)). D'après [Wu et al. \(2010\)](#) et [Soares et al. \(2012\)](#), les proliférations de *Microcystis* sont courantes dans les milieux abritant des cyanobactéries fixatrices d'azote, notamment celles des genres *Aphanizomenon*, *Dolichospermum* et *Cylindrospermopsis*.

Les résultats des analyses statistiques dans notre étude montrent que *Microcystis* est corrélé positivement avec la turbidité, conductivité, la chlorophylle-a et avec *Cylindrospermopsis* ($p \leq 0,05$) ; il est, en revanche, corrélé négativement avec l'oxygène dissous et la transparence ($p \leq 0,05$). Toutefois, il ne montre aucune corrélation avec les éléments nutritifs NO₃, NH₄, NO₂ et PO₄.

De nombreuses études suggèrent que dans des conditions de faible disponibilité en azote (N) combinées à des niveaux élevés de phosphore (P), *Microcystis* (cyanobactérie non fixatrice de N₂) pourrait être remplacée par des espèces fixatrices de N₂, telles que *Dolichospermum/Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis* ou *Nodularia*, renforçant ainsi la dynamique des fleurs d'eau cyanobactériennes. Ce qui est en partie le cas dans notre étude, où on note la prédominance des deux espèces de *Cylindrospermopsis raciborskii* et *Aphanizomenon flos-aquae* et *Microcystis* qui vient en troisième position en termes d'abondances relatives. Cela dit on note une corrélation positive entre *Cylindrospermopsis* et *Microcystis*, qui pourrait indiquer une concurrence ou une coexistence entre ces deux genres, [Brito et al. \(2018\)](#) ont mené des semi-cultures continues sous trois conditions de pH différentes, avec et sans aération, et avec et sans ajout de bicarbonate. Les résultats ont montré que *C. raciborskii* était favorisé par l'aération, tandis que l'ajout de bicarbonate favorisait la croissance de *M. aeruginosa*, entraînant des changements de dominance entre les deux espèces selon les conditions. Certaines études menées par ([Harke et al., 2016](#) ; [Pobel et al., 2011](#)), dans les eaux des zones tempérées rapportent que le genre *Microcystis* est associé à *Dolichospermum* et *Aphanizomenon*.

Morphologie de *Cylindrospermopsis raciborskii*

L'examen des filaments prélevés dans les échantillons d'eau du lac Oubeira montre qu'ils sont composés de : i) cellules végétatives, plus longues que larges, qui peuvent contenir des inclusions granuleuses visibles au microscope sans coloration, apparaissant sous forme de points dans le cytoplasme ; ii) hétérocystes, présents à l'extrémité du filament, de forme conique ou ovale, ne présentant pas de granules dans le cytoplasme ; l'hétérocyste peut également être rencontré sous forme libre ; iii) akinetes, de forme elliptique à oblongue et présentant des inclusions granuleuses dans leur cytoplasme ; généralement, un seul akinete est présent par filament et est situé près d'une cellule végétative ou précédant l'hétérocyste ; de plus, des akinetes libres sont parfois rencontrés.

Dans les eaux de l'Oubeira, à l'exception d'une petite fraction de filaments légèrement courbés, les filaments rencontrés sont le plus souvent droits, et aucun filament enroulé n'a été observé ; cette observation est soutenue par les résultats de Dvorak concernant les trichomes de *Cylindrospermopsis* sp. D'Olomouc en République tchèque ou ceux du lac Nero en Russie (Sidelev et al., 2020) et les populations naturelles du lac Karla, du réservoir de Kalamaki (Gkelis et al., 2017) et du lac Kastoria (Moustaka-Gouni et al., 2009).

La présence d'akinetes et de trichomes uniquement droits chez les individus prélevés dans les eaux de l'Oubeira les rend morphologiquement similaires aux souches de *R. raciborskii* provenant du Portugal (Saker et al., 2004), de France (Druart & Briand, 2002), d'Allemagne (Fastner et al., 2003 ; Haande et al., 2008) et de Hongrie (Padisák, 2003). En effet, certaines souches asiatiques et tropicales de cette espèce se caractérisent par des trichomes enroulés ou flexueux et l'absence d'akinetes (Singh, 1962 ; Chonudomkul et al., 2004 ; Wu et al., 2011 ; Zarenezhad et al., 2012). Shafik et al. (2003) notent la présence de trichomes flexibles, mesurant plus de 3 mm de long, avec des ondulations ou des courbures observées uniquement en culture. Selon ces auteurs, cette forme et cette longueur ne sont atteintes qu'en présence d'une concentration élevée de NH₄ ou lorsqu'on approche du taux de croissance maximal. De telles observations montrent qu'en nature, *C. raciborskii* développe rarement des conditions proches de son taux de croissance maximal.

Les caractéristiques morphologiques des filaments collectés dans les eaux de l'Oubeira correspondent fortement à celles de l'espèce *C. raciborskii*, que de nombreux auteurs ont collectée dans diverses zones géographiques (Singh, 1962 ; Horecká & Komárek, 1979 ; Hindák, 1988 ; Padisák, 1990/1991 ; Komárek & Komárková, 2003 ; Dvorak & Hasler, 2008 ; Piccini et al., 2011 ; Panou et al., 2018 ; Sidelev et al., 2020).

Les cellules végétatives sont cylindriques, et tous les auteurs mentionnés s'accordent à dire qu'elles sont plus longues que larges ; selon Singh (1962), la longueur est six à huit fois celle de la largeur, et selon Dvorak & Hasler (2008), elle peut atteindre jusqu'à dix fois. Les hétérocystes, présents à une extrémité du trichome, et les akinetes, solitaires ou par paires, sont généralement séparés des hétérocystes par 1 à 3 cellules végétatives. Les akinetes se distinguent des cellules végétatives par leur membrane plus épaisse, leur forme elliptique à oblongue et la présence d'inclusions granuleuses dans leur cytoplasme.

Cependant, c'est aux extrémités des filaments que différentes formes sont notées ; néanmoins, les formes intermédiaires et arrondies représentent 80 % des filaments examinés. Les filaments aux formes intermédiaires sont rarement présents de janvier à mars et sont absents en avril et mai. En revanche, ceux avec des extrémités arrondies sont présents tout au long de l'année, mais sont très prévalents (50 % à 100 %) de février à mai. Les formes en forme de crayon et en forme d'aiguille ne représentent que 15 % et 5 %, respectivement, et sont rencontrées de juin à février. Les changements saisonniers dans la morphologie des trichomes rapportés dans cette étude sont très similaires à ceux décrits pour *C. raciborskii* en Inde par [Singh \(1962\)](#).

Les filaments trouvés tout au long de l'année dans les eaux d'Oubeira sont ceux qui sont dépourvus d'hétérocystes et d'akinetes ; ce type de filament est très présent de juin à décembre pendant l'épanouissement de *C. raciborskii*. Ce type de filament (sans hétérocystes et akinetes) montre une corrélation positive très significative ($p \leq 0,001$) avec NO₃, Conductivité, Turbidité, et T°_{atm}, une corrélation hautement significative ($P < 0,01$) avec WT, et une corrélation significative ($P < 0,05$) avec le pH. Ce type de filament (F), en revanche, présente des corrélations négatives avec la Trans ($p \leq 0,001$) et avec l'Oxygène Dissous ($p \leq 0,05$).

Les filaments pourvus uniquement des hétérocystes sont rencontrés durant la période s'étalant d'août à octobre ; cela correspond à la période où les valeurs de biomasse les plus élevées de *C. raciborskii* sont atteintes. Les filaments avec hétérocystes sont positivement corrélés ($p \leq 0,001$) avec NO₃⁻, WT, pH, conductivité, turbidité, T°_{atm}, et négativement ($p \leq 0,001$) avec l'Oxygène Dissous et la Trans. Le développement des hétérocystes et leur fréquence dépendent des conditions environnementales, en particulier de l'absorption de l'azote et du métabolisme de l'azote et du carbone ([Komarek & Agnostidis, 1989](#)). Dans le cas de *C. raciborskii*, les hétérocystes se forment à tous les taux de croissance et à des concentrations élevées de NO₃ ou de NH₄ ([Shafik et al., 2001](#)). Le volume et le nombre d'hétérocystes diminuent avec l'augmentation de la concentration de NH₄. Cela signifie que l'effet de l'ammonium sur la formation et la taille des hétérocystes varie selon la souche testée, tout comme l'effet du nitrate ([Layzell et al., 1985](#) ; [Meeks et al., 1983](#)). En culture, sous régime pulsé (NPR), [Shafik et al. \(2003\)](#) notent la formation d'hétérocystes plus gros avec un faible nombre d'hétérocystes par trichome.

Dans les eaux de l'Oubeira, les filaments de *C. raciborskii* sont présents dans la colonne d'eau tout au long de l'année, comme le rapportent [Xiao et al. \(2021, 2022\)](#) et [Zheng et al. \(2023\)](#) dans des eaux tropicales et subtropicales chaudes. Des épanchements annuels ont été enregistrés dans des réservoirs stratifiés avec des températures de l'eau supérieures à 16°C ([Xiao et al., 2022](#)). Dans ce plan d'eau, avec l'augmentation de la température qui se produit au printemps, la reproduction végétative par fragmentation est suivie d'une division cellulaire et d'une élévation des fragments, permettant à la population été-automne d'atteindre des densités de filaments très élevées, illustrées par les efflorescences d'août et septembre et l'atteinte des biomasses les plus élevées. Ce pic est suivi d'un déclin de la biomasse lié à la chute de température et à des conditions environnementales devenant défavorables, favorisant le développement des akinetes, des cellules dormantes cruciales pour la persistance de l'espèce, comme l'ont rapporté des études dans des régions froides et tempérées ([Padisák, 1997, 2003](#); [Komárková et al., 1999](#)). L'observation de stratégies similaires par *C. raciborskii* a été rapportée dans des lacs subtropicaux par [Tucci & Sant'Anna \(2003\)](#). En ce qui concerne le

déclencheur de la formation d'akinetes, Moore et al. (2004) suggèrent qu'elle est initiée par un choc thermique initial illustré par une chute de température de 25 à 15°C ; ils notent également que le phosphore est nécessaire à la croissance ultérieure et au développement complet des akinetes. L'analyse statistique montre que les filaments contenant à la fois des akinetes et des hétérocystes sont positivement corrélés avec les précipitations ($p \leq 0,001$) et avec PO₄ ($p \leq 0,01$). Ces caractéristiques confèrent à *C. raciborskii* un avantage compétitif sur d'autres cyanobactéries ; ce qui lui permet de former des efflorescences dans des conditions de nutriments limités (Zheng et al. 2023).

Cyanotoxines et leurs accumulations dans les organismes aquatiques

Dans cette partie, nous avons dosé les concentrations de deux cyanotoxines majeures, la cylindrospermopsine et la microcystine, dans les eaux ainsi que dans deux organismes aquatiques peuplant le lac Oubeira : la carpe (*Cyprinus carpio*), un poisson omnivore, et l'anodonte (*Anodonta sp.*), un mollusque bivalve filtreur. Cette recherche des toxines aussi bien dans l'habitat que dans la biocénose a pour objectifs de mieux comprendre les interactions entre la prolifération des cyanobactéries et les concentrations en toxines dans les différents compartiments du lac

Il importe de rappeler que la cylindrospermopsine (CYN) et la microcystine (MC) figurent parmi les toxines les plus abondamment produites par les cyanobactéries dans les eaux douces. Toutes deux sont classées comme hépatotoxines en raison de leurs effets toxiques ciblant principalement le foie et la CYN se distingue par son potentiel génotoxique (Žegura et al., 2011).

Les microcystines, sont les plus fréquemment signalées ; À ce jour, plus de 250 variantes chimiques différentes de MC ont été identifiées, et parmi celles-ci, la variante MC-LR est la plus courante et la plus étudiée sur le plan toxicologique (Spooft et Catherine, 2017 ; Bouaïcha et al., 2019). Elles sont généralement produites par diverses espèces de cyanobactéries telles que *Anabaenopsis*, *Microcystis* (ordre des Chroococcales), *Dolichospermum*, *Nostoc* (ordre des Nostocales), *Oscillatoria* et *Planktothrix* (ordre des Oscillatoriales), (Nowruzi et Porzani, 2021 ; Kesari et al., 2022).

Dans les eaux de l'Oubeira, nous sommes confrontés à la présence de quatre genres producteurs de cette toxine ; Cette présence est illustrée par des densités moyennes et des abondances relatives variables selon le genre : *Microcystis* (AR=4.13% ; densité moyenne = 17312 cellules/mL), *Planktothrix* (AR=0.87% ; densité moyenne = 3630 cellules/mL), *Oscillatoria* (AR=0.29% ; densité moyenne = 1228 cell/mL) et *Dolichospermum* (AR=0.01% ; densité moyenne = 45cell/mL).

A l'échelle mondiale, après les microcystines (MCs), c'est la cylindrospermopsine (CYN) qui est la plus largement détectée dans les eaux douces (Antunes et al., 2015). Chimiquement, il s'agit d'un alcaloïde qui présente quelques variantes naturelles (Ohtani et al., 1992 ; Kokocinski et al., 2017). La cylindrospermopsine (CYN) est produite par diverses souches d'espèces de cyanobactéries, principalement au sein de l'ordre des Nostocales (*Dolichospermum*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Raphidiopsis*, *Umezakia*) et des Oscillatoriales (*Lyngbya*, *Oscillatoria*) (De la Cruz et al., 2020). D'après Antunes et al., (2015), en Asie, en Australie et en Nouvelle-Zélande, *Cylindrospermopsis raciborskii* est le principal producteur de CYN, tandis qu'en Europe et en Amérique, ce rôle est majoritairement joué par *Aphanizomenon* et *Dolichospermum* (anciennement *Anabaena*).

Les résultats de l'analyse de la cylindrospermopsine (CYN) a révélé la présence exclusive de la forme extracellulaire de cette toxine ; dans les eaux de l'Oubeira, les 4 genres susceptibles de produire CYN montrent des densités et des abondances relatives variables ; *Cylindrospermopsis* (AR=76% ; densité moyenne = 320000cell/mL), *Aphanizomenon* (AR = 13,9% ; densité moyenne = 58315 cell/ml), *Oscillatoria* (AR = 0,29 % ; densité moyenne = 1228 cell/mL) et *Dolichospermum* (AR = 0,01% ; densité moyenne = 48 cell/mL) ; Cette forte présence de *Cylindrospermopsis* et dans une moindre mesure celle d'*Aphanizomenon* indiquerait l'implication probable de ces 2 genres dans la production de CYN.

De nombreux auteurs ont rapporté la co-occurrence de deux ou plusieurs cyanotoxines dans des réservoirs d'eau douce, telles que la co-occurrence de CYN, MC et nodularine dans le lac Victoria en Tanzanie (Mchau et al., 2021), CYN, MC et saxitoxine dans le lac Taihu en Chine (Li et al., 2022), et anatoxine-a et MC dans le lac de Gardé en Italie (Cerasino et Salmaso, 2020) et MC et CYN dans deux réservoirs au Sri Lanka (Gunawardana et al., 2022).

Dans les eaux de l'Oubeira, les concentrations en CYN sont comprises entre 0 et 925ng/L et celles de MC LR intracellulaire oscillent entre 0 et 578ng /L ; les concentrations les plus élevées en CYN sont enregistrées en période automnale et estivale et celles de MC LR en période automnale et printanière. En Algérie, la présence de cylindrospermopsine dans les eaux superficielles n'a pas été rapportée ; l'étude menée dans les eaux du barrage d'Aïn Zada, par Saoudi et al. (2017) a révélé la présence d'*Oscillatoria* (un des producteurs de la CYN) et la prédominance de *Planktothrix agardhii* sans toutefois détecter la cylindrospermopsine ; Ces mêmes auteurs, rapportent des concentrations de MC-LR intracellulaire comprises entre 12,1 µg/L et 19,6 µg/L et celle de MC LR extracellulaire de l'ordre de 6,3 µg/L.

Dans les eaux du lac Oubeira durant la campagne de 2015, Arif et al., (2022) signalent la présence de la microcystine à des teneurs comprises entre 0.62 et 19.14µg/L ; ces auteurs rapportent, par ailleurs, une corrélation positive de la microcystine avec les genres *Microcystis* et *Planktothrix*. Dans ces mêmes eaux, des teneurs en microcystine comprises entre 0.028 et 13.4 µg équivalent MC-LR/L sont notées par Amrani et al., (2012). Des travaux antérieurs menés par Nasri et al., (2004) rapportent des teneurs de l'ordre de 1070, 522 et 444 µg/l respectivement en avril, mai et août de l'année 2000 ; ces derniers signalent, toutefois, un pic de l'ordre de 29,163 µg/l au mois d'août de l'année 2001.

Dans l'environnement, les microcystines (MC) sont modérément résistantes à la dégradation chimique et microbienne ; en revanche, la cylindrospermopsine (CYN) est hautement résistante à la dégradation (Chiswell et al., 1999 ; Massey et Yang, 2020) et de ce fait, sa concentration dissoute peut être élevée même si sa concentration intracellulaire est basse. Par ailleurs, elle peut persister longtemps après la disparition des cyanobactéries productrices de CYN (WHO, 2019). Selon Rucker et al. (2007) et Bormans et al. (2014), la concentration extracellulaire de CYN peut constituer jusqu'à 90 % de la CYN totale disponible, car la CYN extracellulaire tend à être significativement plus élevée que la CYN intracellulaire. Dans les eaux européennes, les concentrations de CYN particulaire (intracellulaire) et dissoute (extracellulaire) sont généralement observées entre avril et septembre.

Dans ce contexte, la persistance environnementale des microcystines (MC) et de la cylindrospermopsine (CYN) ne se limite pas à leur présence dans les eaux de surface, mais englobe également leur potentiel de bioaccumulation dans les organismes aquatiques. De nombreuses études ont démontré que les cyanotoxines peuvent s'accumuler dans ces organismes (Li et al., 2004 ; Sipia et al., 2001 ; Negri & Jones, 1995). La contamination peut survenir soit par voie transdermique, soit par ingestion via l'alimentation.

Afin de mieux comprendre ce processus, nous avons réalisé un échantillonnage ciblé de deux organismes aquatiques : la carpe (*Cyprinus carpio*) et l'anodonte (*Sinanodonta woodiana*). Les analyses ont révélé que, chez *Sinanodonta*, les concentrations de cylindrospermopsine varient entre 0,31 et 16,2 ng/g de poids secs et celles des microcystines entre 44 et 702 ng/g de poids secs ; les concentrations en CYN les plus élevées sont notées en Novembre, Mai, juillet et Aout et celles des microcystines en Mars et en Septembre. Le test de Mann-Whitney a mis en évidence une différence significative entre les teneurs en cyanotoxines (CYN et MC LR) dans l'eau et celles retrouvées dans les tissus des anodontes ($p < 0,05$).

Les bivalves se nourrissent en filtrant l'eau et en sélectionnant des particules nutritives de petite taille (<100 µm) ; Bien que leur broutage soit principalement déterminé par la taille des particules et des cellules phytoplanctoniques, d'autres facteurs comme la qualité de la nourriture, notamment sa teneur

en acides gras polyinsaturés (PUFAs) et en toxines, influencent également l'assimilation des particules par les bivalves (Pires et al., 2002 ; Dionision et al., 2005).

Les données sur la bioaccumulation de la CYN chez les organismes aquatiques, et particulièrement chez les invertébrés dans leur milieu naturel, restent limitées. Saker et Eaglesham (1999) ont observé des concentrations de CYN atteignant 4,3 µg/g (poids sec) dans l'hépatopancréas et 0,9 µg/g (poids sec) dans les tissus musculaires des écrevisses *Cherax quadricarinatus*, récoltées dans un bassin d'aquaculture infesté par une efflorescence de *Cylindrospermopsis raciborskii* ou les concentrations en CYN étaient de l'ordre de 589µg/l ; ces auteurs, rapportent que 93 % de cette teneur en CYN étaient localisés dans les cellules cyanobactériennes et seulement 7 % dissous dans l'eau. Après exposition d'*Anodonta cygnea*, pendant 16 jours, à des cultures de *Cylindrospermopsis raciborskii*, les spécimens ont accumulé des concentrations de CYN de l'ordre de 2,52 mg/g de poids sec de tissus (Saker et al. 2004). Ces concentrations en CYN enregistrées chez *Anodonta cygnea* et *Cherax quadricarinatus* apparaissent nettement plus élevées que celles notées chez l'Anodonte de l'Oubeira ; selon Naddafi et al., (2007) les grandes moules telles que l'Anodonte semblent préférer les cyanobactéries à d'autres groupes de phytoplancton ou au détritus ; les faibles teneurs accumulées chez l'Anodonte de l'Oubeira s'expliqueraient ainsi par l'accumulation de CYN extracellulaire car la CYN intracellulaire n'a pas été détectée.

En ce qui concerne les Microcystines, nos résultats des concentrations sont comprises entre 0 et 712 ng/g (poids sec) Les valeurs les plus basses sont enregistrées en Février avec ng/g. les autres mois de l'année enregistrent des concentrations qui varient entre 53ng en Décembre et 174ng/g en Juin.

Selon de nombreux auteurs, l'accumulation des microcystines chez les espèces du genre *Anodonta* auraient pour origine l'ingestion de cyanobactéries coloniales (par ex., *Microcystis*) ou filamenteuses tel que *Planktothrix* (Gkelis et al., 2006 ; Dionisio Pires et al., 2007 ; Barda et al., 2015 ; Bontes et al., 2016 ; Lauceri et al., 2017 ; Lepoutre et al., 2020 ; Lance et al., 2021).

Une étude réalisée, par Barda et al (2015), dans le golfe de Riga, en Lettonie, a montré que parmi divers organismes aquatiques (poissons, gastéropodes et autres bivalves) l'espèce *A. anatina* accumulait les concentrations les plus élevées de MCs (de 0,5 à 88 µg/g de poids sec). Une étude, menée en laboratoire, montre la capacité de *Anodonta anatina* à ingérer des cyanobactéries, à accumuler des MCs et à détecter une contamination environnementale aussi faible que 1 µg/L (Lepoutre et al., 2020) ; cette capacité d'*Anodonta anatina* à détecter de faibles niveaux de contamination par les MCs a été démontrée, in situ, par Lance et al., (2021) ; ces auteurs affirment que l'espèce *Anodonta anatina* est un bioindicateur efficace capable d'intégrer les MCs intracellulaires sur des périodes prolongées, même à des niveaux de contamination variables. Nos résultats suggèrent que l'espèce *Anodonta* présente dans le lac Oubeira pourrait jouer un rôle clé en tant que bioindicateur sensible, reflétant les variations des niveaux de contamination par les MCs dans cet écosystème.

En ce qui concerne l'étude de l'accumulation de ses deux cyanotoxines (CYN et MC LR) chez la carpe (*Cyprinus carpio*), nous avons effectué leur dosage dans le foie et les viscères. Le choix de ses organes pour l'analyse des cyanotoxines repose sur leur rôle physiologique dans l'accumulation et la biotransformation des toxines. (Falconer et Humpage, 2006 ; Ernst et al., 2006 ; Papadimitriou et al., 2012).

Chez la carpe, les concentrations de CYN sont comprises entre 12.37ng/g et 30.61ng/g de poids sec dans les intestins et entre 15.53 et 36.3 ng/g de poids secs dans l'hépatopancréas.

Le test de Mann-Whitney révèle l'existence d'une différence significative entre les concentrations en CYN enregistrées dans les trois compartiments (eau, intestins et hépatopancréas). Le test de Kruskal-Wallis a révélé une différence significative des concentrations entre les trois groupes (Foie, intestins et eau) ($p < 0.001$). Cela suggère que les concentrations de CYN varient selon les organes étudiés et qu'elles ne sont pas réparties uniformément.

Chez cinq poissons arc-en-ciel (*Melanotaenia eachamensis*) prélevés dans un étang à écrevisses, durant une floraison de *Cylindrospermopsis*, Saker et Eaglesham (1999) ont détecté la présence de CYN dans les viscères à une concentration de l'ordre de 1,2 µg/g de poids sec (PS) ; ces mêmes auteurs, lors d'études au laboratoire, ont montré que la CYN n'était pas détectable dans les tissus musculaires mais était présente dans l'hépatopancréas à raison de 0,2 µg/g de tissu lyophilisé.

Pendant une floraison d'*Aphanizomenon ovalisporum* survenue dans le lac Albano (Italie) Messineo et al. (2009) ont mesuré l'accumulation de CYN chez deux truites brunes (*Salmo trutta*) ; ces auteurs notent des concentrations qui suivent l'ordre décroissant suivant : viscères (0,6–2,7 ng/g poids frais), muscles (0,1–0,8 ng/g poids frais) et ovaires (0,07 ng/g poids frais).

Chez Tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposée à la CYN de manière aiguë et subchronique, Guzman-Guillén et al., (2014) notent, après application de la coloration immunohistochimique l'accumulation de cette toxine de CYN, a été observée dans divers tissus selon l'ordre suivant : foie > rein > intestin > branchies.

Il y a peu d'études qui traitent sur la bioaccumulation de la CYN dans les organes encore moins de son mécanisme toxique. À de faibles concentrations, la toxicité de la CYN semble se traduire par l'inhibition rapide et irréversible de la synthèse des protéines ; en revanche, à des concentrations plus élevées, un processus toxique rapide impliquant le cytochrome P-450 (CYP450) pourrait être le mécanisme principal (Froschio et al. 2003 ; Falconer et Humpage 2006). D'autres auteurs ont rapporté que la CYN provoque une diminution de la synthèse du glutathion (GSH) (Runnegar et al. 1994), induisant ainsi un stress oxydatif (Guzmán-Guilén et al. 2013a, b).

Chez la carpe de l'Oubeira, les teneurs en microcystine, dans l'hépatopancréas, varient de 379 à 1628 ng équivalent MC-LR/g et dans les viscères elles oscillent entre 0 et 1758 ng équivalent en MC-LR/g. Dans l'hépatopancréas, à l'exception des pics de décembre et mars, les teneurs restent, le plus souvent, inférieures à 1200ng/g ; Quant aux viscères, La MC LR montre deux pics en novembre et en décembre (1174 et 1758 ng équivalent en MC-LR/g respectivement).

Chez la carpe (*Cyprinus carpio*) pêchée dans le lac Oubeira en 2011, Amrani et al., (2015) rapportent la présence de microcystine à des concentrations qui varient de 371 à 3059 ng équivalent MC-LR/g (poids sec) dans les viscères et des teneurs comprises entre 343 à 771 ng équivalent MC-LR/g (poids sec) dans l'hépatopancréas. Chez l'anguille (*Anguilla anguilla*) peuplant le même lac, ces mêmes auteurs, rapportent des concentrations comprises entre 86 et 233 ng équivalent MC-LR/g (poids sec) dans l'hépatopancréas et entre 66 à 233 ng équivalent MC-LR/g (poids sec) dans les viscères. Toujours dans ce même plan d'eau, chez deux espèces de tortues (*Emys orbicularis*) et (*Mauremys leprosa*), Nasri et al., (2008) enregistrent dans l'hépatopancréas 0.30 et 0.27 µg équivalent MC-LR/g (poids sec) respectivement ; alors que dans les intestins, les concentrations sont de l'ordre de 0.006 µg et 0.02 µg équivalent MC-LR/g (poids sec) respectivement chez *E. orbicularis* et *M. leprosa*.

De nombreux auteurs considèrent l'hépatopancréas comme l'organe cible principal pour

l'accumulation de microcystines (MC) ensuite viennent d'autres organes irrigués par le sang (Shahmohamadloo et al., 2022, Cazenave et al., 2005 ; Ernst et al., 2006 ; Papadimitriou et al., 2012). Dans le sang, les MCs vont être transportées par la veine porte vers le foie où elles vont être absorbées par les OATPs dans les hépatocytes et accumulées préférentiellement (Fischer et al., 2005). D'après Falconer (1993), les microcystines sont transportées par les acides biliaires à partir de l'intestin où elles vont être absorbées et orientées vers le foie, dans lequel elles s'accumulent et inhibent les protéines phosphatases 1, 2A ou 3 (PP1, PP2A, PP3) (Zurawell et al., 2005). Cependant, les MCs sont également capables de s'accumuler dans les reins, la bile, le sang, les intestins, les muscles et le cerveau des poissons exposés aux cyanobactéries (Xie et al., 2004 ; Cazenave et al., 2005 ; Ferrão-Filho et KozlowskySuzuki, 2011).

L'accumulation de la microcystine-LR dans le foie de souris (Ito et al., 2000 ; Guzman & Solter, 2002), les tissus hépato-pancréatiques de la carpe (Fischer & Dietrich, 2000) et les tissus du foie de la truite arc-en-ciel (Fischer et al., 2000) a été également confirmée par des méthodes immunohistochimiques suite à la détection de liaisons covalentes entre la toxine et certaines protéines cellulaires.

Conclusion générale

Cette étude met en évidence plusieurs aspects :

- L'évaluation de l'état trophique du lac Oubeira, basée sur le système de classification de l'OCDE (1982), indique qu'il s'agit d'un lac hypereutrophe, marqué par une forte production biologique, une transparence réduite
- L'inventaire des cyanobactéries a permis d'identifier 20 genres, avec une première observation du genre *Geitlerinema* dans ces eaux. Parmi eux, *Cylindrospermopsis* et *Microcystis* sont présents de manière constante, tandis qu'*Aphanizomenon*, *Planktothrix*, *Geitlerinema*, *Planktolyngbya* et *Merismopedia* sont régulièrement observés. D'autres genres, comme *Oscillatoria*, *Pseudanabaena* et *Aphanocapsa*, sont occasionnels, alors que *Coelomoron*, *Aphanothece*, *Synechocystis*, *Chroococcus*, *Gomphosphaeria* et *Dolichospermum* sont accidentels. *Limnothrix*, *Snowella* et *Woronichinia* sont rares.
- En termes d'abondance relative, les Nostocales dominent largement la communauté cyanobactérienne du lac : *Cylindrospermopsis* représente 76,51 % de l'abondance totale, suivi d'*Aphanizomenon* (13,9 %), *Microcystis* (4,13 %) et *Geitlerinema* (2,05 %). Cette dominance s'explique par une forte capacité d'adaptation aux conditions environnementales locales. *Aphanizomenon* domine en hiver, tandis que *Cylindrospermopsis* prend le relais le reste de l'année.
- La prolifération de *Cylindrospermopsis* semble favorisée par sa tolérance élevée aux températures, une eau riche en électrolytes et turbide, ainsi que par sa flexibilité dans l'assimilation des nutriments (azote et phosphore).
- L'analyse des cyanotoxines a confirmé la présence de deux toxines : la cylindrospermopsine (CYN), majoritairement sous forme extracellulaire, et la microcystine (MC), principalement intracellulaire. Malgré la dominance des producteurs de CYN, les concentrations de MC dans l'eau restent élevées, avec des valeurs moyennes comparables (CYN : 339 ng/L ; MC : 281 ng équivalent MC-LR/L).
- L'accumulation des cyanotoxines dans les organismes révèle des tendances marquées : *Sinanodonta woodiana* et *Cyprinus carpio* accumulent principalement les MC intracellulaires, en lien avec leurs modes d'alimentation respectifs. Les concentrations moyennes de MC dans *S. woodiana* atteignent 160 ng/g, tandis que les CYN extracellulaires restent faibles (6,17 ng/g). Chez *C. carpio*, les toxines s'accumulent de manière similaire dans l'hépatopancréas et les intestins (25 ng/g et 22 ng/g pour la CYN). En revanche, la concentration de MC dans l'hépatopancréas (848 ng/g) est environ deux fois supérieure à celle des intestins (460 ng/g), suggérant un rôle majeur du foie dans la biotransformation et le stockage de cette toxine.
- L'observation annuelle de *Cylindrospermopsis* a mis en évidence des variations morphologiques tout au long de son cycle de croissance. La présence ou l'absence d'hétérocytes et d'akinetes semble influencée par les conditions environnementales et la disponibilité des nutriments.
- Enfin, *Cylindrospermopsis* adopte deux stratégies de survie dans le lac Oubeira : (1) une reproduction végétative par fragmentation, favorisant un pic de biomasse en août-septembre ; (2) la production d'akinetes en réponse aux conditions défavorables, garantissant la pérennité de l'espèce

Une gestion efficace du lac Oubeira nécessite la mise en place de solutions adaptées afin de limiter son hypereutrophisation et d'atténuer ses déséquilibres écologiques :

- La limitation des apports domestiques enrichis en phosphore est cruciale pour réduire l'eutrophisation des eaux de l'Oubeira.

- Améliorer les infrastructures de traitement des eaux usées en adoptant des technologies performantes qui permettent de capter et de réduire efficacement le phosphore avant son rejet.
- La diminution de l'utilisation des engrais riches en azote par l'optimisation des doses d'engrais et l'utilisation d'engrais organiques.
- Le dragage des sédiments, associé à leur valorisation dans la fabrication de matériaux de maçonnerie, constitue une solution innovante et durable pour réduire la charge en nutriments du lac tout en transformant un résidu en ressource utile.
- Pour éliminer les cyanotoxines extracellulaires, l'ozone est le traitement le plus efficace, tant pour les microcystines, que pour l'anatoxine-a et la cylindrospermopsine. Le chlore est efficace contre les microcystines et la cylindrospermopsine, mais pas pour l'anatoxine-a.

En perspectives, il serait judicieux de :

- Il serait pertinent de mener une étude continue sur l'évolution et la dynamique de croissance des cyanobactéries dans le lac Oubeira, afin de mieux comprendre les facteurs environnementaux influençant leur développement et de déterminer si *Cylindrospermopsis* reste dominant sur le long terme ou si sa prévalence est spécifique à la période étudiée.
- Il est essentiel de poursuivre les recherches avec des cultures pures continues et des analyses moléculaires pour mieux comprendre la diversité morphologique de *Cylindrospermopsis* et caractériser les gènes responsables de la biosynthèse de la cylindrospermopsine.
- S'intéresser aux espèces de cyanobactéries benthiques qui pourraient constituer un inoculum pour d'éventuelles efflorescences.
- Etendre le dosage des cyanotoxines aux plantes et aux cultures agricoles irriguées avec l'eau du lac Oubeira, afin d'évaluer leur potentiel de bioaccumulation et les risques associés pour la chaîne alimentaire et la santé humaine.

Annexe 1

- Préparation de la gamme étalon pour la quantification des nitrites (Aminot & Kérouel, 2004)

- Solution étalon concentrée de nitrite à 5000 $\mu\text{mol/L}$ (1 ml contient 5 μmol de nitrite)

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> - Nitrite de sodium anhydre (NaNO_2, $M=69\text{g/mol}$). - Eau déminéralisée 	<ul style="list-style-type: none"> - Sécher le nitrite de sodium à 100 °C pendant 1 heure. Peser 0,345 g et le dissoudre dans 1000 mL d'eau déminéralisée dans une fiole jaugée. Transférer la solution dans un flacon de stockage. - Conserver à température ambiante, à l'abri de la lumière, et renouveler la solution chaque mois.

Solution étalon diluée de nitrite à 50 $\mu\text{mol/L}$ (1 ml contient 0.05 μmol de nitrite)

- **Mode opératoire**
- Diluer 100 fois la solution étalon concentrée pour préparer la solution étalon diluée.
- La solution étalon diluée est à préparer extemporanément, car elle se conserve seulement quelques heures.

Préparation des solutions étalons pour différentes concentrations :

- **Pour une concentration de 0,1 $\mu\text{mol/L}$** : ajouter 1 mL de la solution étalon diluée à 50 $\mu\text{mol/L}$ dans une fiole jaugée de 500 mL, puis compléter avec de l'eau déminéralisée.
- **Pour une concentration de 0,2 $\mu\text{mol/L}$** : ajouter 2 mL de la solution étalon diluée à 50 $\mu\text{mol/L}$ dans une fiole jaugée de 500 mL, puis compléter avec de l'eau déminéralisée.
- **Pour une concentration de 0,5 $\mu\text{mol/L}$** : ajouter 5 mL de la solution étalon diluée à 50 $\mu\text{mol/L}$ dans une fiole jaugée de 500 mL, puis compléter avec de l'eau déminéralisée.
- **Pour une concentration de 1,0 $\mu\text{mol/L}$** : ajouter 10 mL de la solution étalon diluée à 50 $\mu\text{mol/L}$ dans une fiole jaugée de 500 mL, puis compléter avec de l'eau déminéralisée.

Les réactifs de dosage des nitrites

- Réactif R1 (solution de sulfanilamide)

Produits utilisés	Mode opératoire
<input type="checkbox"/> HCl fumant (37%, 1.19Kg/L). <input type="checkbox"/> Sulfanilamide ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$; $M=172\text{g/mol}$) <input type="checkbox"/> Eau déminéralisée	<ul style="list-style-type: none"> • Diluer 100 mL d'acide chlorhydrique dans 500 mL d'eau déminéralisée. • Ajouter 10 g de sulfanilamide et dissoudre complètement, puis compléter le volume à 1 litre. • Conserver la solution R1 à l'abri de la lumière. Elle est stable pendant plusieurs mois.

- Réactif R2 : (solution de N-naphtyl-éthylènediamine)

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> - Dichlorohydrate de N-(1-naphtyl)éthylènediamine (NED) ($\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2$, 2 HCl, $M=259\text{g/mol}$). <input type="checkbox"/> Eau déminéralisée 	<ul style="list-style-type: none"> • Dissoudre 1 g de N-(1-naphtyl)-éthylènediamine (NES) dans 1 litre d'eau déminéralisée.

	<ul style="list-style-type: none"> • Conserver la solution R2 au réfrigérateur, à l'abri de la lumière, et la renouveler chaque mois ou dès l'apparition d'une coloration brune.
--	---

➤ **Préparation de la gamme des étalons pour la quantification de l'azote ammoniacal (Aminot & Kérouel, 2004)**

- Solution étalon concentrée d'ammonium à 10 000 $\mu\text{mol/L}$ (1 ml contient 10 μmol d'ammonium).

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> - Sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $M=132.14\text{g/mol}$. <input type="checkbox"/> Eau déminéralisée 	<ul style="list-style-type: none"> - Sécher du sulfate d'ammonium à $(105^\circ\text{C}, 1 \text{ heure})$. - Peser 0.661 g de sulfate d'ammonium pour 1000 ml de solution préparée en fiole jaugée, avec de l'eau déminéralisée. - Conserver à T° ambiante et à l'abri de la lumière

Solution étalon diluée d'ammonium à 500 $\mu\text{mol/L}$ (1 ml contient 0.5 μmol d'ammonium).

Mode opératoire :

- Diluer la solution étalon concentrée 20 fois pour obtenir la solution étalon diluée.
- Cette solution doit être préparée juste avant son utilisation.

Préparation des solutions étalons d'ammonium :

- **Pour une concentration de 0,2 $\mu\text{mol/L}$** : prélever 0,2 mL de la solution étalon diluée à 500 $\mu\text{mol/L}$ et compléter à 500 mL avec de l'eau déminéralisée dans une fiole jaugée.
- **Pour une concentration de 0,5 $\mu\text{mol/L}$** : prélever 0,5 mL de la solution étalon diluée à 500 $\mu\text{mol/L}$ et compléter à 500 mL avec de l'eau déminéralisée.
- **Pour une concentration de 1 $\mu\text{mol/L}$** : prélever 1 mL de la solution étalon diluée à 500 $\mu\text{mol/L}$ et compléter à 500 mL avec de l'eau déminéralisée.
- **Pour une concentration de 2 $\mu\text{mol/L}$** : prélever 2 mL de la solution étalon diluée à 500 $\mu\text{mol/L}$ et compléter à 500 mL avec de l'eau déminéralisée.
- **Pour une concentration de 5 $\mu\text{mol/L}$** : prélever 5 mL de la solution étalon diluée à 500 $\mu\text{mol/L}$ et compléter à 500 mL avec de l'eau déminéralisée.

Les réactifs de dosage de l'azote ammoniacal

Les réactifs se préparent directement dans leur flacon de stockage.

- **Réactif R1' (solution de phénol- nitroprussiate)**

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> - Phénol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$, $M=94.1\text{g/mol}$) - Nitroprussiate de sodium dihydraté (NP, $\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $M=298\text{g/mol}$) - Eau déminéralisée 	<ul style="list-style-type: none"> - Dissoudre dans 800 ml d'eau déminéralisé 65g de phénol, en flacon verre. - Ajouter et dissoudre 1.5 g de NP, puis compléter à 1 litre - Conserver la solution au réfrigérateur (stable pendant 2 à 3 semaines).

	- Renouveler la solution si elle prend une teinte verdâtre.
--	---

Solution alcaline complexante

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> - Citrate trisodique dihydraté (Na₃C₆H₅O₇ · 2H₂O, M= 294.1 g/mol). - Soude (NaOH, M= 40 g/mol). - Eau déminéralisée 	<ul style="list-style-type: none"> • Dissoudre dans 800 ml d'eau 375 g de citrate et 30 g de soude déminéralisée dans un flacon en plastique et compléter à 1 litre. Cette solution est stable pendant plusieurs mois à température ambiante.

- Réactif R2' (solution complexante)

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> - Dichloroisocyanurate de sodium dihydraté (DCI, C₃Cl₂N₃NaO₃ · 2H₂O, M=256g/mol). - Eau déminéralisée 	<ul style="list-style-type: none"> • Préparer uniquement la quantité nécessaire pour la série d'analyses. • Ajouter 8 g de DCI par litre à la solution complexante. • Conserver au réfrigérateur. Cette solution ne peut être utilisée que pendant une semaine.

Préparation de la gamme des étalons pour la quantification de l'orthophosphate (Aminot & Kérouel, 2004)**- Solution étalon concentré de phosphate à 5000µmol/l**

Produits utilisés	Mode opératoire
- Dihydrogénophosphate de potassium anhydre (KH ₂ PO ₄)	<ul style="list-style-type: none"> • Sécher le KH₂PO₄ à 105 °C pendant 1 heure. • Peser 0,6805 g de KH₂PO₄ et dissoudre dans 1000 mL d'eau distillée pour préparer la solution. • Transférer la solution dans un flacon en verre ou en plastique.

Solution étalon diluée phosphate à 50µm/l : Diluer 100 fois la solution concentrée.

- L'étalonnage doit de préférence être effectué avec de l'eau de mer pauvre en PO₄, ou en diluant 5 à 10 fois de l'eau de mer côtière avec de l'eau déminéralisée.
- Préparer une gamme étalon correspondant aux concentrations 0,1-0,2-0,5-1,0 µmol/L dans des fioles jaugées de 500 mL. Il faudra ajouter 1-2-5-10 mL de la solution étalon, puis compléter au volume avec de l'eau diluée.

Les réactifs de dosage de l'orthophosphate

Les réactifs se préparent directement dans leur flacon de stockage.

- Acide sulfurique 2.9 mol/l.

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> - Acide sulfurique - Eau déminéralisée. 	<ul style="list-style-type: none"> - Pour préparer 1000 mL, ajouter lentement et en agitant constamment 160 mL d'acide sulfurique dans 800 mL d'eau déminéralisée. - Compléter le volume après refroidissement.

	- Conserver la solution au réfrigérateur. Elle se conserve indéfiniment.
--	--

- **Réactif R1'' (solution d'acide ascorbique)**

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> - Acide sulfurique (2.9 mol/l*) - Acide ascorbique 	<ul style="list-style-type: none"> • Dissoudre 5 g d'acide ascorbique dans 100 mL d'acide sulfurique 2,9 mol/L. • Conserver la solution au réfrigérateur. Elle reste stable pendant quelques semaines, à renouveler si elle brunit.

Réactifs R2'' (solution d'acide Molybdène et d'antimoine)

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> - Acide sulfurique (2.9 mol/l*) - Héptamolybdate d'ammonium tétrahydraté. - Oxytartrate d'antimoine (III) et de potassium 	<ul style="list-style-type: none"> • Dissoudre 13 g de molybdate d'ammonium dans 450 mL d'acide sulfurique 2,9 mol/L. • Dissoudre 0,3 g d'oxytartrate d'antimoine dans 50 mL d'eau déminéralisée, puis ajouter cette solution à celle de molybdate et bien mélanger. • Conserver la solution à température ambiante. Elle est stable pendant plusieurs mois..

➤ **Préparation de la gamme des étalons des nitrates : (ISO, 1994)**

- Solution étalon mère à 1000 mg/l d'azote :

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> - Nitrate de potassium 	<ul style="list-style-type: none"> • Sécher à 105°C pendant 2 heures. • Dissoudre ensuite dans de l'eau distillée.

• **Préparation des réactifs**

- **Réactif 1 :**

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> - Diméthyl 2-6 phénol - Acide acétique 	Dissoudre le D2.6Phénol dans l'Acide acétique

Réactif 2 :

Produits utilisés	Mode opératoire
<ul style="list-style-type: none"> - Mélange acide (H₂SO₄) - Acide orthophosphorique - Acide sulfamique 	<ul style="list-style-type: none"> • Mélanger avec précaution 400 mL d'acide sulfurique (H₂SO₄) à 18 mol/L avec 400 mL d'acide orthophosphorique (H₃PO₄). • Refroidir le mélange, puis ajouter 0,032 g d'acide sulfamique. • Conserver dans une bouteille en verre bien bouchée.

Annexe 2

	Apha	Chla	cond	Cylindr	DO	Geit	Micro	NH4	NO2	NO3	pH	PO4	trans	turb	WT
Apha	1.0000	-0.7400	-0.7596	-0.6585	0.8771	0.0280	-0.3378	0.5415	0.7506	-0.6665	-0.7506	0.9195	0.7582	-0.8504	-0.9396
Chla	<.0001	1.0000	0.9004	0.9130	-0.7055	-0.5522	0.4930	-0.0704	-0.5485	0.8045	0.4181	-0.6874	-0.9120	0.8313	0.7406
cond	<.0001	<.0001	1.0000	0.8286	-0.6778	-0.4498	0.4089	-0.2901	-0.6336	0.6952	0.5219	-0.7653	-0.8418	0.8169	0.8157
Cylindr	0.0005	<.0001	<.0001	1.0000	-0.6716	-0.5765	0.4078	0.0287	-0.3832	0.8041	0.3907	-0.5829	-0.8632	0.7948	0.6771
DO	<.0001	0.0001	0.0003	0.0003	1.0000	0.1135	-0.4258	0.3419	0.5683	-0.6113	-0.6627	0.8743	0.7458	-0.8208	-0.8588
Geit	0.8965	0.0051	0.0274	0.0032	0.5974	1.0000	-0.1739	-0.5443	-0.1109	-0.4649	0.3263	-0.0152	0.5806	-0.2548	0.0122
Micro	0.1064	0.0144	0.0473	0.0479	0.0380	0.4164	1.0000	-0.1296	-0.3771	0.2548	0.2445	-0.3882	-0.4177	0.4861	0.3701
NH4	0.0063	0.7436	0.1691	0.8941	0.1020	0.0060	0.5462	1.0000	0.6846	0.1078	-0.7144	0.6339	0.0492	-0.3443	-0.5771
NO2	<.0001	0.0055	0.0009	0.0645	0.0038	0.6059	0.0693	0.0002	1.0000	-0.3030	-0.6564	0.7662	0.5011	-0.5559	-0.7603
NO3	0.0004	<.0001	0.0002	<.0001	0.0015	0.0221	0.2295	0.6159	0.1500	1.0000	0.3549	-0.4850	-0.8345	0.7684	0.6198
pH	<.0001	0.0420	0.0089	0.0591	0.0004	0.1197	0.2495	<.0001	0.0005	0.0888	1.0000	-0.7903	-0.3968	0.5978	0.8407
PO4	<.0001	0.0002	<.0001	0.0028	<.0001	0.9436	0.0609	0.0009	<.0001	0.0163	<.0001	1.0000	0.6550	-0.7763	-0.9198
trans	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0029	0.0423	0.8194	0.0126	<.0001	0.0549	0.0005	1.0000	-0.8650	-0.7162
turb	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.2296	0.0160	0.0994	0.0048	<.0001	0.0020	<.0001	<.0001	1.0000	0.8476
WT	<.0001	<.0001	<.0001	0.0003	<.0001	0.9550	0.0751	0.0032	<.0001	0.0012	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	1.0000

Apha : Aphanizomenon, *Clindro* : Cylindrospermopsis, *Micro* : Micrpscystis, *Geit* : Geitlerinema

NH4+ : Ammonium, NO2- : Nitrites, NO3- : Nitrates, PO4 : Orthophosphates, WT° : température de l'eau, pH : potentiel hydrogène, DO : oxygène dissous, cond : conductivité, trans : transparence, Turb : turbidité, T° atm : température atmosphérique, preci : précipitations.

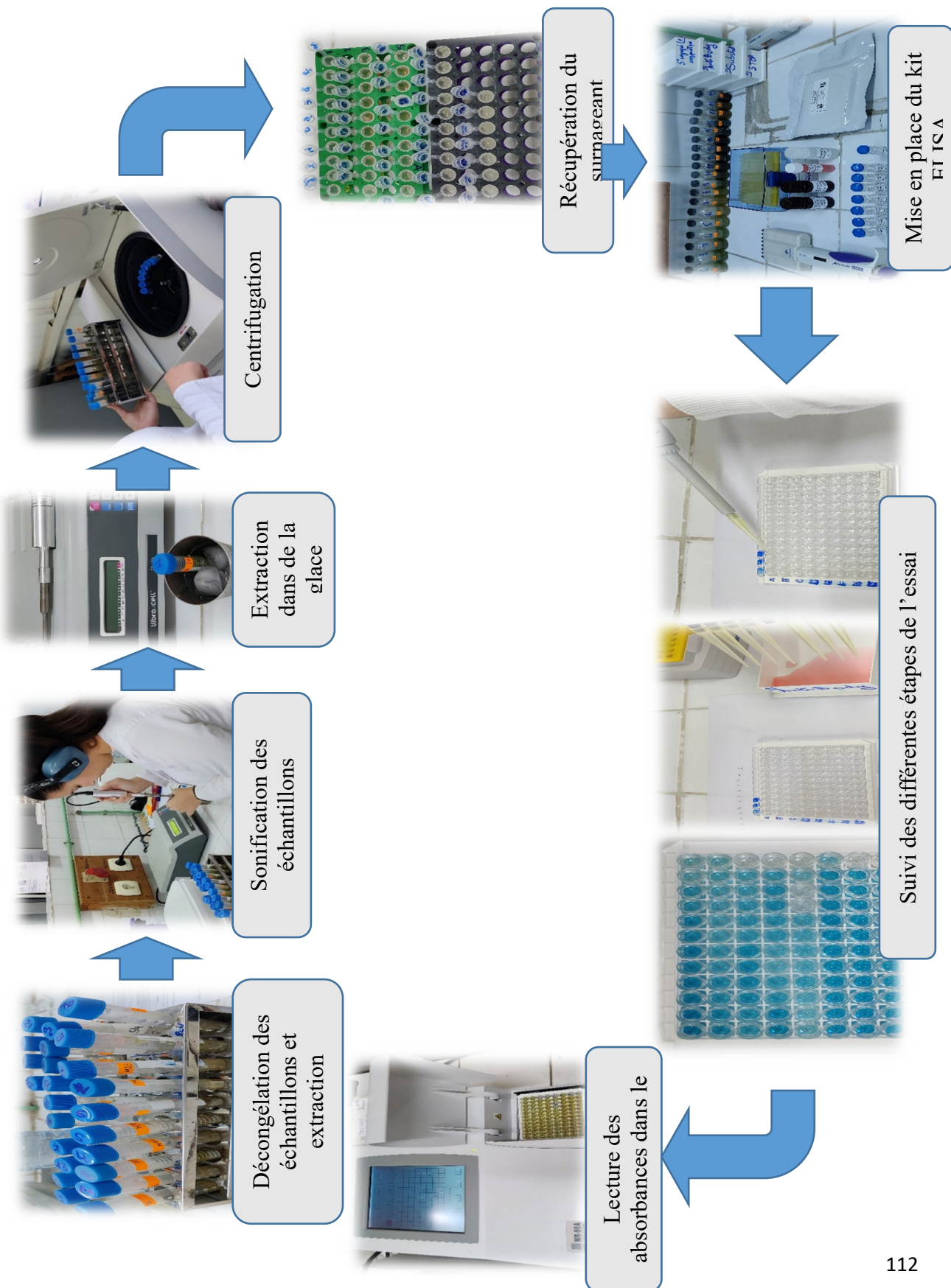
	NH4+	NO2-	NO3-	PO4	WT°	pH	OD	cond	trans	turb	T° atm	preci	FAH	FH	FA	F
NH4+																
NO2-	0,62 ***															
NO3-	0,24	0,31 **														
PO4	0,31 **	0,15	-0,30 **													
WT°	-0,23 *	-0,31 **	0,38 **	-0,38 ***												
pH	-0,50 ***	-0,41 ***	0,23 *	-0,33 **	0,70 **											
OD	-0,10	0,09	-0,26 *	-0,005	-0,66 ***	-0,25										
cond	-0,07	-0,26 *	0,51 ***	-0,21	0,55 ***	0,48 ***	-0,39 ***									
trans	-0,04	0,09	-0,53 ***	0,13	-0,43 ***	-0,29 **	0,34 **	-0,78 ***								
turb	0,02	-0,01	0,49 ***	-0,09	0,45 ***	0,43 ***	-0,21	0,65 ***	-0,73 ***							
T° atm	-0,17	-0,33 **	0,47 ***	-0,34 **	0,90 ***	0,64 ***	-0,69 ***	0,78 ***	-0,69 ***	0,59 ***						
preci	0,28 *	0,18	-0,28*	0,56 ***	-0,74 ***	-0,56 ***	0,40 ***	-0,26 *	0,09	-0,26 *	-0,57 ***					
FAH	0,04	-0,07	-0,12	0,24 *	-0,18	-0,07	-0,07	-0,03	-0,10	-0,11	-0,06 ***	0,49 ***				
FH	0,07	0,05	0,60 ***	0,02	0,31 **	0,29 **	-0,28 *	0,65 ***	-0,67 ***	0,61 ***	0,54 ***	0,05	0,26 *			
FA	0,19	0,05	0,20	0,21	-0,27 *	-0,19	0,07	0,27 *	-0,43 ***	0,13	-0,01	0,68 ***	0,59 ***	0,50 ***		
F	0,09	-0,009	0,65 ***	-0,21	0,33 **	0,27 *	-0,23	0,71 ***	-0,80 ***	0,71 ***	0,60 ***	-0,02	0,19	0,80 ***	0,53 ***	

($p \leq 0,05$) * : corrélation significative, ($p < 0,01$) ** : hautement significatif, ($p < 0,001$) *** : très hautement significatif.

FAH : filaments avec hétérocystes et akinètes ; F : filaments sans hétérocystes ni akinètes ; FA : filaments avec akinètes ; FH : filaments avec hétérocystes. NH4+ : Ammonium, NO2- : Nitrites, NO3- : Nitrates, PO4 : Orthophosphates, WT° : température de l'eau, pH : potentiel hydrogène, DO : oxygène dissous, cond : conductivité, trans : transparence, Turb : turbidité, T° atm : température atmosphérique, preci : précipitations

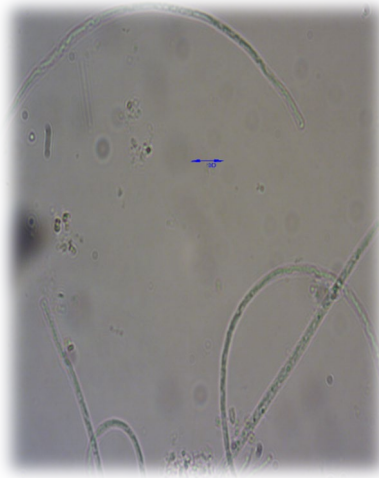
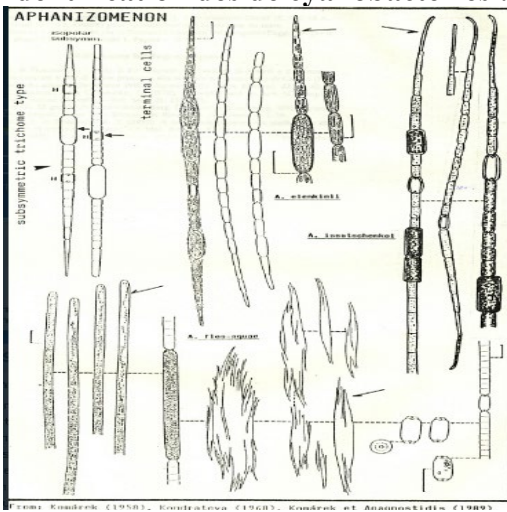
Annexe 3

Figure : différentes étapes d'extraction des cyanotoxines et le dosage par ELISA



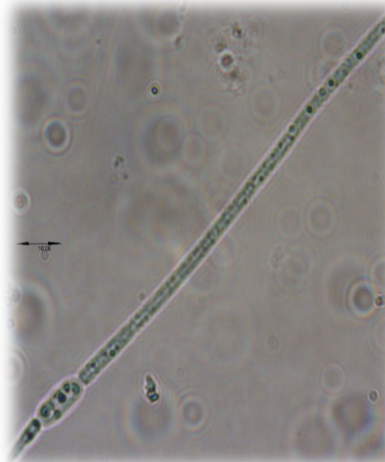
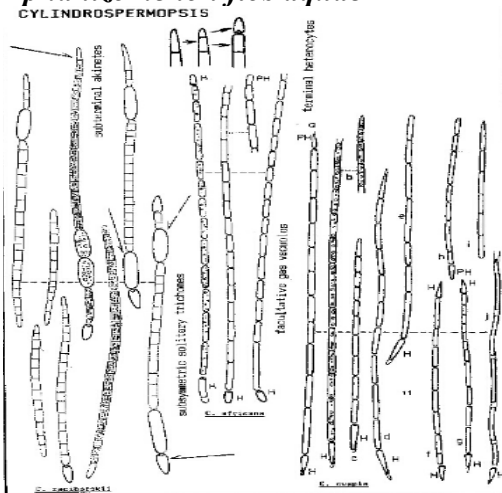
Annexe 4

Identification des de cyanobactéries :



Aphaniizomenon flos aquae

CYLINDROSPERMOPSIS



Cylindrospermopsis raciborskii

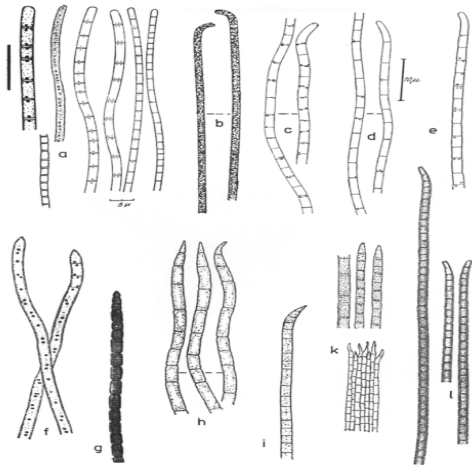
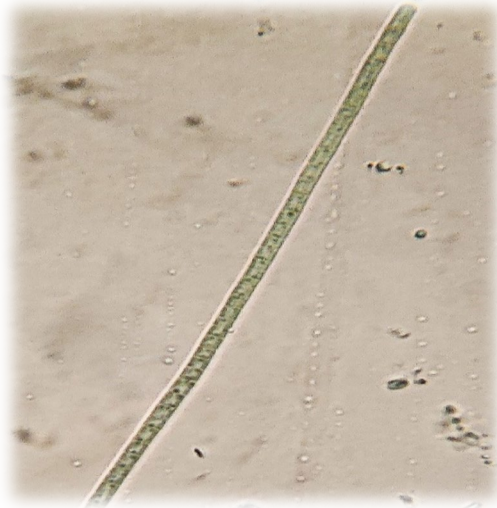
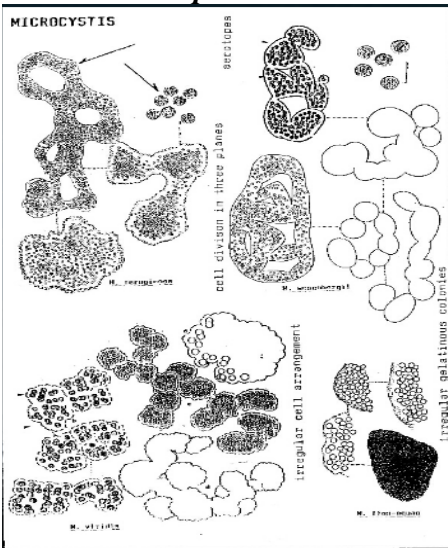


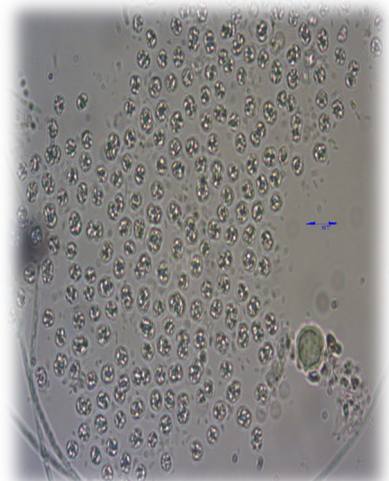
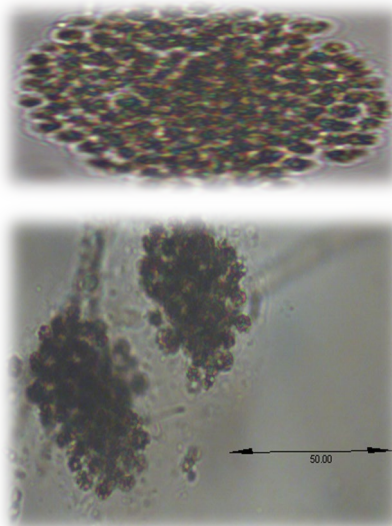
Fig. 3. a *Geitlerinema amphibium* (after ANAGNOSTIDIS & al., GOMONT, and ANAGNOSTIDIS); b *G. janssensense* (after VOICK); c *G. carolinense* (after GEITLER); d *G. pseudocutissimum* (after GEITLER); e *G. tenuerivum* (after WOLOSOVSKAYA); f *G. oca* (after COMLANS); g *G. numidicum* (after ANAGNOSTIDIS); h *G. claricentronum* (after GARDNER); i *G. varlei* (after GARDNER); j *G. calcutense* (after BISHAY); k *G. exilis* (after SCUDA)



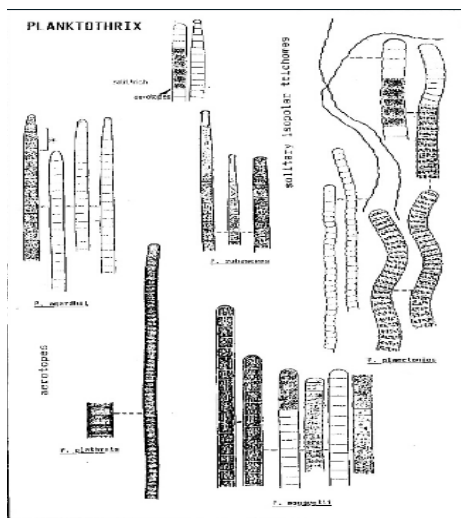
Geitlerinema sp



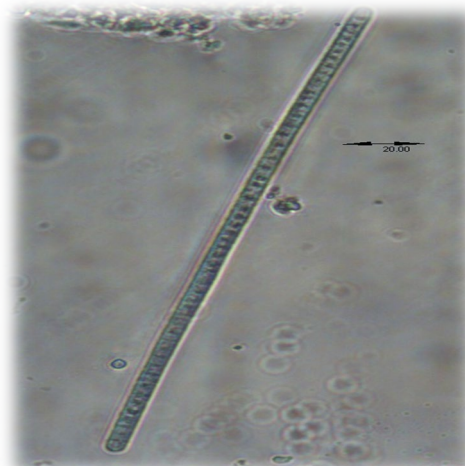
From: LUTHER (1961), Prasad (1980).



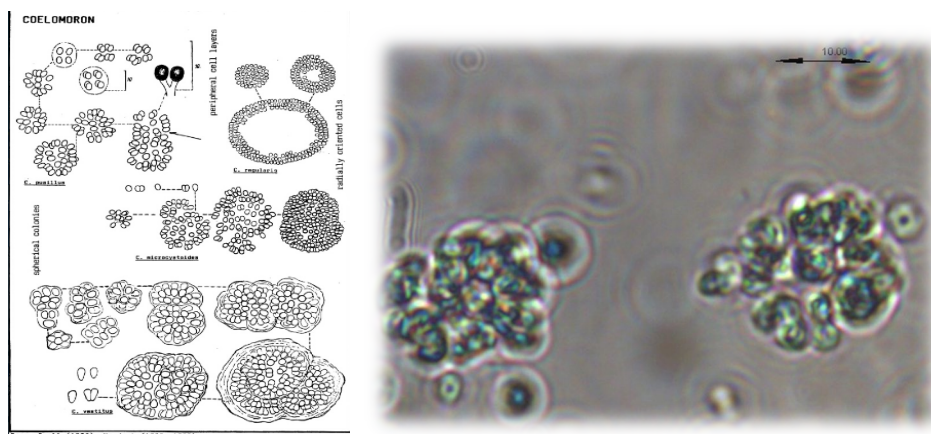
Microcystis sp



From: Prasad (1982), Singh (1984, 1986), Prasad (1988, 1989), Prasad, ex. Sinigrova (1992), Gopinath et al. (1994).



Planktothrix



Coelomoron

Annexe 5

Dosage des cylindrospermopsines (ELISA) :

Matériel fourni

1. Plaque de microtitration (12 X 8 bandes) recouverte d'un second anticorps (chèvre anti-lapin)
2. Standards (7) : 0, 0.05, 0.10, 0.25, 0.50, 1.0, 2.0 ppb, 1.5 mL chacun
3. Contrôle : 0.75 ± 0.15 ppb, 1.5 mL, préparé à partir d'une source secondaire, pour être utilisé comme standard de contrôle de qualité (QCS) (QCS)
4. Diluant d'échantillon, 25 mL, à utiliser comme blanc de réactif de laboratoire (BRL) et pour la dilution des échantillons au-dessus de la plage de la courbe standard.
la courbe standard
5. Solution de conjugué Cylindrospermopsin-HRP (Vortex avant utilisation.), 6 mL
6. Solution d'anticorps (lapin anti-Cylindrospermopsin), 6 mL
7. Tampon de lavage (5X) concentré, 100 ml, doit être dilué avant utilisation, voir Préparation du test (Section E).
8. Solution de substrat (couleur) (TMB), 12 mL
9. Solution d'arrêt, 12 mL

. Préparation du test

1. Laissez les réactifs et les échantillons atteindre la température ambiante avant de les utiliser.
2. Retirez de la pochette refermable le nombre de bandes de plaques de microtitration nécessaires. Les bandes restantes sont conservées dans la pochette avec le déshydratant (bien fermée).
3. Les solutions d'étalons, de contrôle, de diluant d'échantillon (LRB), d'anticorps, de conjugué enzymatique, de substrat et d'arrêt sont prêtes à l'emploi et ne nécessitent aucune autre opération. sont prêtes à l'emploi et ne nécessitent aucune dilution supplémentaire.
4. Diluer le tampon de lavage (5X) concentré dans un rapport de 1:5 avec de l'eau désionisée ou distillée. Si vous utilisez le flacon entier (100 ml), ajouter à 400 ml d'eau déionisée ou distillée et mélanger soigneusement.
5. La solution d'arrêt doit être manipulée avec précaution car elle contient du H₂SO₄ dilué.

- Procédure d'essai

1. Ajouter 50 μ L de standards, de contrôle (QCS), de LRB ou d'échantillons dans les puits des bandes de test, en suivant le schéma de travail prévu. Il est recommandé de réaliser l'analyse en double ou en triple.

2. Passer au vortex la solution de conjugué enzymatique. Ajouter successivement 50 µl de la solution de conjugué enzymatique dans les différents puits à l'aide d'une pompe multicanaux. successivement à l'aide d'une pipette à répétition multicanaux, pas à pas ou électronique.
3. Ajouter successivement 50 µl de la solution d'anticorps dans les différents puits à l'aide d'une pipette multicanaux, pas à pas ou électronique.
- 4 Couvrir les puits avec du parafilm ou du ruban adhésif, puis mélanger le contenu en effectuant un mouvement circulaire du porte-bande sur la table pendant 30 secondes.
5. Veiller à ne pas renverser le contenu. Incuber les bandes pendant 45 minutes à température ambiante.
6. Retirer le couvercle,
7. décanter le contenu des puits dans un évier, et éponger la plaque inversée sur une pile de serviettes en papier.
8. Laver les bandes quatre fois avec le tampon de lavage dilué, en utilisant au moins 250 µL de tampon 1X pour chaque puits à chaque étape de lavage.
9. Après chaque étape de lavage, retourner la plaque et la tapoter délicatement sur une pile de serviettes en papier pour éliminer l'excès de liquide.
10. Après le dernier lavage/éponger, vérifier que le tampon n'est pas resté dans les puits et, si nécessaire, l'éliminer par un épandage supplémentaire.
11. Ajouter successivement 100 µl de solution de substrat (couleur) dans chaque puits à l'aide d'une pipette multicanaux, pas à pas ou électronique.
12. Couvrir les puits avec du parafilm ou du ruban adhésif, puis mélanger le contenu en déplaçant le support de bandelette par un mouvement circulaire sur la paillasse pendant plusieurs minutes..
13. Veiller à ne pas renverser le contenu. Incuber les bandes pendant 30 à 45 minutes à température ambiante.
14. Protéger les bandes de la lumière du soleil.
15. Ajouter 100 µl de solution d'arrêt dans les puits dans le même ordre que pour la solution de substrat (couleur) à l'aide d'une pipette à répétition multicanaux, pas à pas ou électronique.
16. Lire l'absorbance à 450 nm à l'aide d'un photomètre ELISA pour microplaques dans les 15 minutes suivant l'ajout de la solution d'arrêt.

➤ **Dosage des Microcystines par ELISA :**

- Matériel fourni

1. Plaque de microtitration (12 X 8 bandes) recouverte d'un analogue de Microcystines conjugué à une protéine
2. Standards (6) : 0, 0,15, 0,40, 1,0, 2,0, 5,0 ppb, 1,5 mL chacun
3. Contrôle : 0.75 ± 0.185 ppb, 1.5 mL, préparé à partir d'une source secondaire, pour utilisation comme standard de contrôle de qualité (QCS).
4. Diluant d'échantillon, 25 mL, à utiliser comme blanc de réactif de laboratoire (BRL) et pour la dilution des échantillons au-dessus de la plage de la courbe standard.
de la courbe standard
5. Solution d'anticorps, 6 ml
6. Solution de conjugué anti-mouton-HRP, 12 mL
7. Tampon de lavage (5X) concentré, 100 ml, doit être dilué avant utilisation, voir Préparation du test (Section E).
8. Solution de substrat (couleur) (TMB), 12 mL
9. Solution d'arrêt, 6 mL.

Préparation du test

1. Laissez les réactifs et les échantillons atteindre la température ambiante avant de les utiliser.
2. Retirez de la pochette refermable le nombre de bandes de plaques de microtitration nécessaires. Les

bandes restantes sont conservées

dans la pochette avec le déshydratant (hermétiquement fermée).

3. Les solutions de standards, de contrôle, de diluant d'échantillon, d'anticorps, de conjugué enzymatique, de substrat et d'arrêt sont prêtes à l'emploi et ne nécessitent aucune dilution supplémentaire.

4. Diluer le tampon de lavage (5X) concentré dans un rapport de 1:5 avec de l'eau désionisée ou distillée. Si vous utilisez le flacon entier (100 ml), ajouter à 400 ml d'eau déionisée ou distillée et mélanger soigneusement.

5. La plaque de microtitration se compose de 12 bandes de 8 puits, qui peuvent être utilisés individuellement pour le test.

6. Les standards doivent être exécutés avec chaque test. Ne jamais utiliser les valeurs des étalons qui ont été déterminées dans un test effectué précédemment.

Procédure d'essai

1. Ajouter 50 µl de solutions standard, de contrôle ou d'échantillons dans les puits des bandes de test selon le schéma de travail indiqué.

L'analyse en double ou en triple est recommandée.

2. Ajouter successivement 50 µL de la solution d'anticorps dans les puits individuels à l'aide d'une pipette multicanal ou d'une pipette pas à pas.

Couvrir les puits avec du parafilm ou du ruban adhésif et mélanger le contenu en déplaçant le porte-bande dans mouvement circulaire sur la paillasse pendant 30 secondes. Veuillez à ne pas renverser le contenu. Incuber les bandes pendant 90 minutes à température ambiante.

3. Retirer le couvercle, décanté le contenu des puits dans un évier et éponger la plaque inversée sur une pile de serviettes en papier.

4. Lavez les bandes trois fois en utilisant le tampon de lavage dilué. Veuillez utiliser au moins un volume de 250µL de tampon de lavage 1X pour chaque puits et chaque étape de lavage. Tamponner la plaque inversée après chaque étape de lavage sur une pile de serviettes en papier. Après le dernier lavage/éponger, vérifiez s'il reste du tampon dans les puits et, si nécessaire, retirez-le en faisant un épandage supplémentaire.

si nécessaire, l'éliminer par un buvardage supplémentaire.

5. Ajouter successivement 100 µl de la solution de conjugué enzymatique dans chaque puits à l'aide d'une pipette multicanaux ou d'une pipette pas à pas.

6. Couvrir les puits avec du parafilm ou du ruban adhésif et mélanger le contenu en déplaçant le support de la bandelette dans un mouvement circulaire sur la paillasse.

7. Incuber les bandes pendant 30 minutes à température ambiante.

8. Retirez le couvercle, décantez le contenu des puits dans un évier et épongez la plaque inversée sur une pile de serviettes en papier.

9. Lavez les bandes. Veuillez utiliser au moins un volume de 250 µL de tampon de lavage 1X pour chaque puits et chaque étape de lavage.

10. Tamponner la plaque inversée après chaque étape de lavage sur une pile de serviettes en papier. Après le dernier lavage/éponger, vérifiez s'il reste du tampon dans les puits et, si nécessaire, retirez-le en faisant un épandage supplémentaire.

11. Ajouter successivement 100 µl de solution de substrat (couleur) dans les puits individuels à l'aide d'une pipette multicanaux ou d'une pipette pas à pas.

12. Couvrir les puits avec du parafilm ou du ruban adhésif et mélanger le contenu en déplaçant le support de la bandelette dans un mouvement circulaire sur la paillasse pendant 30 secondes.

13. Veuillez à ne pas renverser le contenu. Incuber les bandes pendant 20-30 minutes à température ambiante. Protégez les bandes de la lumière du soleil.

14. Ajouter 50 µl de solution d'arrêt dans les puits dans le même ordre que pour la solution de substrat (couleur) en utilisant une pipette multicanaux ou une pipette pas à pas.

15. Lire l'absorbance à 450 nm à l'aide d'un photomètre ELISA pour microplaques dans les 15 minutes

suivant l'ajout de la solution d'arrêt.

Références bibliographiques

A

1. Alayat H., (2013) Evolution spatiale des caractéristiques physico-chimiques des eaux du lac Oubeira impose par les conditions sévères de la sécheresse (extrême N-E Algérien). *European Scientific Journal* December 2013 edition vol.9, No.36 ISSN: 1857-7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431
2. Allen, M. M., 1984. Cyanobacterial cell inclusions. *Annual review of microbiology* 38: 1–25.
3. Amado L, Monserrat J (2010) Oxidative stress generation by microcystins in aquatic animals: why and how. *Environ Int* 36:226–235.
4. Aminot, A., & Chaussepied, M. (1983). *Manuel des analyses chimiques en milieu marin*. CNEXO, Brest, 395 pages.
5. Aminot, A., et Kérouel, R. (2004) *Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses*. Ifremer. p :155-276.
6. Ammar, M., Comte, K., Chi Tran, T.D. And Bour, M.E. 2014 Initial growth phases of two bloom forming cyanobacteria (*Cylindrospermopsis raciborskii* and *Planktothrix agardhii*) in monocultures and mixed cultures depending on light and nutrient conditions. *Annales de Limnologie*, 2014, 50(3), 231-240.
7. Amrani, A., Nasri, H., Azzouz, A., et al, (2014). Variation in cyanobacterial hepatotoxin (microcystin) content of water samples and two species of fishes collected from a shallow lake in Algeria. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 66(3), 379-389. <https://doi.org/10.1007/s00244-013-99932>
8. Antunes, J.T., Leao, P.N. & Vasconcelos, V.M. (2015). *Cylindrospermopsis raciborskii*: Review of the distribution, phylogeography, and ecophysiology of a global invasive species. *Frontiers in Microbiology*, 6(13). DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00473>
9. ANTUNES, J.T., LEÃO, P.N. and VASCONCELOS, V.M. Influence of biotic and abiotic factors on the allelopathic activity of the Cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* Strain LEGE 99043. *Microbial Ecology*, 2012, 64(3), 584-592. <http://dx.doi.org/10.1007/s00248-012-0061-7>. PMID:22562107.
10. Arif, S., Djebbari, N., Belhaoues, S., Touati, H., Bensouilah, M. 2022. Spatio-temporal dynamics of cyanobacterial abundance and toxicity in a Mediterranean hypereutrophic lake. *Journal of Oceanology and Limnology*, 41, 1834–1848 (2023).
11. Awramik, S. M., 1992. The oldest records of photosynthesis. *Photosynth. Res.* 33:75-89.
12. Azevedo SMFO, Carmichael WW, Jochimsen EM, Rinehart KL, Lau S, Shaw GR and Eaglesham G K. (2002). Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru. *Brazil Toxicology*, (181-182), 441-446.

B

13. Bagnouls, F., & Gaussen, H. (1957). Les climats biologiques et leur classification. In *Annales de géographie* (Vol. 66, No. 355, pp. 193-220). Armand Colin.
14. Bagnouls, F., & Gaussen, H. (1957). Les climats biologiques et leur classification. In *Annales de géographie* (Vol. 66, No. 355, pp. 193-220). Armand Colin.
15. Bahl J., Lau M. C. Y., Smith G. J. D., Vijaykrishna D., Cary S. C., Lacap D. C., Lee C. K., Papke R. T., Warren-Rhodes K. A., Wong F. K. Y., McKay C. P. & Pointing S. B., 2011.- Ancient origins determine global biogeography of hot and cold desert cyanobacteria. *Nature Communications*, 2 : 1 - 6.
16. Bai, F., Liu, R., Yang, Y., Ran, X., Shi, J. and Wu, Z. (2014). Dissolved organic phosphorus use by the invasive freshwater diazotroph cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Harmful Algae*, 39, 112-120. <http://dx.doi.org/10.1016/j>.
17. Baldia, S. F., Evangelista, A. D., Aralar, E. V., & Santiago, A. E. (2007). Nitrogen and phosphorus utilization in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* isolated from Laguna de Bay, Philippines. *Journal of applied phycology*, 19, 607-613.
18. Barda, L., Kankaanpää, H., Purina, I., Balode, M., Sjøvall, O., Meriluoto, J., 2015. Bioaccumulation of hepatotoxins-a considerable risk in the Latvian environment. *Environ. Pollut.* 196, 313–320.
19. Bartram, J., Carmichael, W. W., Chorus, I., Jones, J. & Skulberg, O. M., 1999. Introduction. In I. Chorus, J. Bartram [eds.], *Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*. WHO, New York.

20. Beamud, G., Vico, P., Haakonsson, S., de la Escalera, G. M., Piccini, C., Brena, B. M., et al. (2016). Influence of UV-B radiation on the fitness and toxin expression of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Hydrobiologia* 763, 161–172.
21. Belhadj, G. (1996) Contribution à la cartographie des Orthocénoses en Algérie : Atlas de l'avifaune nicheuse du parc national d'El Kala. Thèse de magister, I.N.A, Harrach, Alger, 207 p.
22. Benayache, N. Y., Nguyen-Quang, T., Hushchyna, K., McLellan, K., Afri-Mehennaoui, F. Z. & Bouaicha, N., 2019. An overview of cyanobacteria harmful algal bloom (CyanoHAB) issues in freshwater ecosystems. IntechOpen.
23. Bernard, C., 2014. Micro-organismes pathogènes de l'eau : les cyanobactéries et leurs toxines. Dossier scientifique. Revue Francophone des Laboratoires N°460. Elsevier Masson SAS. 16 p.
24. Berry, J.P., Lind, O., 2010. First evidence of “paralytic shellfish toxins” and cylindrospermopsin in a Mexican freshwater system, Lago Catemaco, and apparent bioaccumulation of the toxins in “tegologo” snails (*Pomacea patula catemacensis*). *Toxicon* 55, 930–938.
25. Bigot, L., & Bodot, P. (1973). Méthodes d'étude des peuplements végétaux et animaux des milieux aquatiques. Éditions Masson, Paris.
26. Bixby, R. J., Cooper, S. D., Gresswell, R. E., Brown, L. E., Dahm, C. N., & Dwire, K. A. (2015). Fire effects on aquatic ecosystems: an assessment of the current state of the science. *Freshwater Science*, 34(4), 1340–1350.
27. Bolius, S., Wiedner, C. and Weithoff, G. (2017). High local trait variability in a globally invasive cyanobacterium. *Freshwater Biology*, 62 (11), 1879-1890. <http://dx.doi.org/10.1111/fwb.13028>.
28. Bontes, B., Verschoor, A., Dionisio Pires, M., Van Donk, E., Ibelings, B.W., 2016. Functional response of *Anodonta anatina* feeding on a green alga and four strains of cyanobacteria, differing in shape, size and Toxicity. From book “Shallow Lakes in a Changing World. In: Proceedings of the 5th International Symposium on Shallow Lakes, held at Dalfsen, the Netherlands, pp. 191–204, 5–9 June 2005.
29. Bormans, M., Lengronne, M., Brient, L., Duval, C., 2013. Cylindrospermopsin accumulation and release by the benthic cyanobacterium *Oscillatoria sp.* PCC 6506 under different light conditions and growth phases. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 92, 243-247.
30. Bouaicha N, Nasri A B. 2004. First report of cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* from Algerian freshwaters. *Environmental Toxicology*, 19(5): 541-543.
31. Bouaïcha, N., Mile, C.O., Beach, D.G., Labidi, Z., Djabri, A., Benayache, N.Y., et al. (2019). Structural diversity, characterization and toxicology of microcystins. *Toxins*. 11:714. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins11120714>
32. Bouazoune, O. (2004). Parc National d'El Kala : Etude socio-économique du PNEK. Projet Régional pour le Développement d'Aires marines et côtières Protégées dans la région de la Méditerranée (Med MPA). Centre d'Activités Régionales pour les Aires Spécialement Protégées.
33. Bourrelly, P. (1985). Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome III : Les algues bleues et rouges, les Eugléniens, Péridiniens et Cryptomonadines. Éditions Boubée, Paris, 606 p.
34. Boussadia, M. I., Sehli N., Bousbia, A., Ouzrout, R., & Bensouilah, M. (2015). The effect of environmental factors on cyanobacteria abundance in Oubeira lake (Northeast Algeria). *Research Journal of Fisheries and Hydrobiology*, 10(14), 157–168.
35. Bouvy, M., Molica, R., De Oliveira, S., Marinho, M., & Beker, B. (1999). Dynamics of a toxic cyanobacterial bloom (*Cylindrospermopsis raciborskii*) in a shallow reservoir in the semi-arid region of northeast Brazil. *Aquatic Microbial Ecology*, 20(3), 285-297.
36. Brehm, U., Krumbein, W. E. & Paliniska, K. A., 2003. Microbial spheres: a novel cyanobacterial-diatom symbiosis. *Naturwissenschaften* 90:136-140.
37. Briand JF, Leboulanger C, Humbert JF, Bernard C, Dufour P (2004) *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) invasion at mid-latitudes: selection, wide physiological tolerance, or global warming? *J Phycol* 40:231–238.
38. Brient, L., Vézic, C., & Bertru, G. 2001. Evaluation des efflorescences à cyanobactéries dans des eaux de cours d'eau et plans d'eau breton. Université de Rennes 1. pp 80.
39. Brito, D.Q., Santos, L.H.G., Passos, C.J.S. et al. Short-Term Effects of Wildfire Ash on Water Quality Parameters: A Laboratory Approach. *Bull Environ Contam Toxicol* 107, 500–505 (2021)
40. Brookes, J. D. & Ganf, G. G., 2001. Variations in the buoyancy response of *Microcystis aeruginosa* to nitrogen, phosphorus and light. *Journal of Plankton Research* 23: 1399–1411.

41. Burford, M. A., McNeale, K. L., & McKenzie-Smith, F. J. (2006). The role of nitrogen in promoting the toxic cyanophyte *Cylindrospermopsis raciborskii* in a subtropical water reservoir. *Freshwater Biology*, 51(11), 2143-2153
42. Burford, M.A., Beardall, J., Willis, A., Orr, P.T., Magalhaes, V.F., Rangel, L.M., Azevedo, S. M. F. O. E., & Neilan, B.A. (2016). Understanding the winning strategies used by the bloom-forming cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Harmful Algae*, 54, 44–53. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.10.012>.

C

43. Cadel-Six S, Peyraud-Thomas C, Brient L, et al. Different genotypes of anatoxin-producing cyanobacteria coexist in the Tarn River, France. *Appl Environ Microbiol*. 2007;73: 7605-7614.
44. Cardellina, J. H., Marner, F. J. & Moore, R. E., 1979. Seaweed dermatitis, structure of lyngbyatoxin A. *Science* 204, 193-195.
45. CE, 2011. L'eau, une ressource pour la vie : comment la directive-cadre sur l'eau contribue à protéger les ressources de l'Europe. Commission européenne. Luxembourg: Office des publications de l'Union européenne. 25 p.
46. Chen J., Yan T., Xu J., He S., Zhao P. & Yan X., 2012.- Simultaneous determination of toxins in algae and water samples by high-performance liquid chromatography with triple quadrupole mass spectrometry. *Journal Separation Sciences*, 35 : 1094 - 1101.
47. Chislock, M.F., Sharp, K.L. And Wilson, A.E. (2014) *Cylindrospermopsis raciborskii* dominates under very low and high nitrogen-to-phosphorus ratios. *Water Research*, 49, 207-214. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2013.11.02>
48. Chiswell, R.K., Shaw, G.R., Eaglesham, G., Smith, M.J., Norris, R.L., Seawright, A.A. & Moore, M.R. (1999). Stability of cylindrospermopsin, the toxin from the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*: Effect of pH, temperature, and sunlight on decomposition. *Environmental Toxicology*. 14, pp.155–161. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1522-7278\(199902\)14:13.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1522-7278(199902)14:13.0.CO;2-Z).
49. Chonudomkul, D., Yongmanitchai, W., Theeragool, G., Kawachi, M., Kasai, F., Kaya, K., Watanabe, M.M., 2004. Morphology, genetic diversity, temperature tolerance and toxicity of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanobacteria) strains from Thailand and Japan. *FEMS (Fed. Eur. Microbiol. Soc.) Microbiol. Ecol.* 48 (3), 345-355. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.02.014>.
50. Chorus, E.I.; Bartram, J. *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management*; E&FN Spon: London, UK, 1999; Chapter 8; pp. 235–273. 3.
51. Cirés, S., & Ballot, A. (2016). A review of the phylogeny, ecology and toxin production of bloom-forming *Aphanizomenon* spp. and related species within the Nostocales (cyanobacteria). *Harmful Algae*, 54, 21–43. doi:10.1016/j.hal.2015.09.007.
52. Cirés, S., Wörmer, L., Timón, J., Wiedner, C., & Quesada, A. (2011). Cylindrospermopsin production and release by the potentially invasive cyanobacterium *Aphanizomenon ovalisporum* under temperature and light gradients. *Harmful Algae*, 10(6), 668-675.
53. Codd, G. A. & Metcalf, J. S., 2014. Toxic and non-toxic cyanobacteria: evolving concepts. *Perspectives in Phycology*, 1(1), 3–5.
54. Codd, G.A.; Vasconcelos, V.M. Accumulation and depuration of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in the freshwater mussel *Anodonta cygnea*. *Toxicon* 2004, 43, 185–194.14.
55. Coute, A. & Bernard, C., 2001. Les cyanobactéries toxiques. In: *Toxines d'algues dans l'alimentation*, Frémy, J. M. & Lassus, P. (Ed), Ifremer, Brest, 21-37.

D

56. De Figueiredo, D.R.; Azeiteiro, U.M.; Esteves, S.M.; Gonçalves, F.J.; Pereira, M.J. Microcystin-producing blooms—A serious global public health issue. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2004, 59, 151–163.
57. de la Cruz, A. A., Kaloudis, H. A., Chernoff, N., Hill, D., Antoniou, M. G., He, X. (2013). A review on cylindrospermopsin: the global occurrence, detection, toxicity and degradation of a potent cyanotoxin. *Environ. Sci. Process. Impacts* 15, 1979–2003.
58. De la Cruz, A. A., N. Chernoff, J. L. Sinclair, D. Hill, D. L. Diggs and A. T. Lynch (2020). Introduction to cyanobacteria and cyanotoxins. *Water treatment for purification from cyanobacteria and cyanotoxins: 1-35*. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781118928677.ch1>
59. De Martonne, E. (1926). Aréisme et indice d'aridité. *Comptes rendus Acad. Sci.*, 181.1395-1398.
60. Delince, G. (1992). *The Ecology of the Fish Pond Ecosystem: With Special Reference to Africa*. Springer Science & Business Media, 230 p.

61. Dismukes, G. C., Klimov, V. V., Baranov, S. V., Kozlov, Y. N., Dasgupta, J. & Tyryshkin, A., 2001. The origin of atmospheric oxygen on Earth: The innovation of oxygenic photosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98:2170-2175.
62. Djabourabi, A., Sehili, N., Boussadia, M., Samar, F., & Bensouilah, M. (2014). Fluctuations des Paramètres Physico Chimiques et des Communautés Phytoplanctoniques dans le lac Oubeira (Nord-Est Algérien). *European Journal of Scientific Research*, 118(2), 183-196.
63. Dochin, K., 2022. The dominance of invasive algae *Raphidiopsis raciborskii* in lowland reservoirs in Bulgaria. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 28(1), pp.158–165.
64. Dodds, W. K. (2002). *Freshwater Ecology: Concepts and Environmental Applications* (pp. 1-400). Academic Press.
65. Dokulil, M. T., & Teubner, K. (2000). Cyanobacterial dominance in lakes. *Hydrobiologia*, 438(1-3), 1-12.
66. Dokulil, M. T., & Teubner, K., 2012. Deep living *Planktothrix rubescens* modulated by environmental constraints and climate forcing. *Hydrobiologia* 698: 29-46.
67. Dolman, A. M., Rücker, J., Pick, F. R., Fastner, J., Rohrlack, T., Mischke, U., & Wiedner, C. (2012). Cyanobacteria and cyanotoxins: the influence of nitrogen versus phosphorus. *PloS one*, 7(6), e38757.
68. Druart, J., & Briand, J.-F. (2002). First record of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju (Cyanobacteria) in a lotic system in France. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*, 38(4), 339–342.
69. Dvoračková, P. & P. Hasler, 2007. Occurrence and morphological variability of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Wolosz.) Seenayya et Subba Raju (Cyanophyta, Nostocales) near Olomouc in 2006. *Fottea* 7: 39–42.

E

70. Eisenstadt, D., et al. (2010). "The contribution of photosynthesis to dissolved oxygen dynamics in aquatic systems." *Journal of Aquatic Sciences*, 65(3), 456-467.
71. El Herry, S., Fathalli, A., Rejeb, A. J. B., & Bouaïcha, N. (2008). Seasonal occurrence and toxicity of *Microcystis* spp. and *Oscillatoria tenuis* in the Lebna Dam, Tunisia. *Water Research*, 42(4-5), 1263-1273.
72. Elliott, J. A., Thackeray, S. J., Huntingford, C. & Jones, R. G., 2005. Combining a regional climate model with a phytoplankton community model to predict future changes in phytoplankton in lakes. *Freshwater Biol.* 50:1404-1411.
73. Everson S, Larelle Fabbro A, Kinnear S, Eaglesham G, Wright P. 2009. Distribution of the cyanobacterial toxins cylindrospermopsin and deoxycylindrospermopsin in a stratified lake in north-eastern New South Wales, Australia. *Mar. Freshwat. Res.* 60: 25–33.

F

74. Falconer, I., Humpage, A.R., 2006. Cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water supplies: cylindrospermopsins. *Environ. Toxicol.* 21, 299–304.
75. Faurie C., Ferra C., Médorin P., Dévaux J., 1998 - *Écologie : Approche scientifique et pratique*, Technique et pratique, Paris ; 333p.
76. Ferrão-Filho ADS, Kozłowski-Suzuki B (2011) Cyanotoxins: bioaccumulation and effects on aquatic animals. *Mar Drugs* 9:2729–2772
77. Ferrão-Filho A.S., Herrera N.A., Echeverri L.F. (2012). Microcystin accumulation in cladocerans: First evidence of MC uptake from aqueous extracts of a natural bloom sample. *Toxicon* 87, 26-31.
78. Figueredo, C.C., Von Rückert, G., Cupertino, A., Pontes, M.A., Fernandes, L.A., Ribeiro, S.G. and Maran, N.R.C. (2014). Lack of nitrogen as a causing agent of *Cylindrospermopsis raciborskii* intermittent blooms in a small tropical reservoir. *FEMS Microbiology Ecology*, 87(3), 557-567. <http://dx.doi.org/10.1111/1574-6941.12243>.
79. Fischer W.J., Dietrich D.R. (2000). Pathological and biochemical characterization of microcystin-induced hepatopancreas and kidney damage in carp (*Cyprinus carpio*). *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 164 : 73–81.
80. Fischer W.J., Hitzfeld B.C., Tencalla F., Eriksson J.E., Mikhailov A. et Dietrich D.R. (2000). Microcystin-LR toxicodynamics, induced pathology, and immunohistochemical localization in livers of bluegreen algae exposed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicological Sciences* 54, 365–373.
81. Fischer, W.J.; Altheimer, S.; Cattori, V.; Meier, P.J.; Dietrich, D.R.; Hagenbuch, B. Organic anion transporting polypeptides expressed in liver and brain mediate uptake of microcystin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2005, 203, 257–263.

82. Franko, D., 2009. Etude de la toxicité d'une cyanotoxine, la Microcystine-LR sur l'embryon de Médaka (*Oryziaslatipes*) en balnéation, vers une application aux efflorescences à cyanobactéries. Thèse de doctorat, spécialité : Ecotoxicologie. Museum National d'Histoire Naturelle. Ecole Doctorale Sciences de la Nature et de l'Homme. 171 p.
83. Fuentes, M.S., Rick, J.J., & Hasenstein, K.H. (2010). Occurrence of a *Cylindrospermopsis* bloom in Louisiana. *Journal of Great Lakes Research*, 36(3), 458–464. doi:10.1016/j.jglr.2010.05.00.

G

84. Gao Q. & Garcia-Pichel F., 2011.- Microbial ultraviolet sunscreens. *Nature Review Microbiology*, 9 : 791 - 802.
85. Gaujous, D. (1995). La pollution des milieux aquatiques: aide-mémoire. Technique & Documentation Lavoisier.
86. Gehringer M., Adler L., Roberts A. A., Moffitt M. C., Mihali T. K., Mills T. J. T., Fieker C. & Neilan B. A., 2012.- Nodularin, a cyanobacterial toxin, is synthesized in planta by symbiotic *Nostoc* sp. *International Society for Microbial Ecology*, 12 : 1834 - 1647.
87. Gkelis, S., Moustaka-Gouni, M., Sivonen, K., & Lanaras, T. (2005). First report of the cyanobacterium *Aphanizomenon ovalisporum* Forti in two Greek lakes and cyanotoxin occurrence. *Journal of Plankton Research*, 27(12), 1295-1300.
88. Gkelis, S., Panou, M., Chronis, I., Zervou, S.K., Christophoridis, C., Manolidi, K., Ntislidou, C., Triantis, T.M., Kaloudis, T., Hiskia, A., Kagalou, I., Lazaridou, M., 2017. Monitoring a newly re-born patient: water quality and cyanotoxin occurrence in a reconstructed shallow Mediterranean lake. *Adv. Oceanogr. Limnol.* 8.
89. Gomes, A.M.A., Marinho, M.M. and Azevedo, S.M.F.O. (2013). Which factors are related to the success of *Cylindrospermopsis raciborskii* in Brazilian aquatic systems? In A.S. FERRÃO-FILHO, ed. *Cyanobacteria: ecology, toxicology and management*. New York: Nova Science Publishers, pp. 73-94.
90. Grossman, A. R., Bogorad, L., Bryant, D., Cobley, J., Conley, P., Federspiel, N., Glazer, A., Kehoe, D., Lagarias, C., Lemaux, P., Schaefer, M. & Marsac, N. T. D., 2003. A molecular understanding of complementary chromatic adaptation. *Photosynthesis Research* 76: 207–215.
91. Guellati, F. Z., Touati, H., Tambosco, K., Quiblier, C., Humbert, J. F., & Bensouilah, M. (2017). Unusual cohabitation and competition between *Planktothrix rubescens* and *Microcystis* sp. (cyanobacteria) in a subtropical reservoir (Hammam Debagh) located in Algeria. *PloS one*, 12(8), e0183540.
- 92., R.E.; Solter, P.F. Characterization of sublethal microcystin-LR exposure in mice. *Vet. Pathol.* 2002, 39, 17–26..
93. Guzmán-Guillén, R., Gutiérrez-Praena, D., de los Ángeles Risalde, M., Moyano, R., Prieto, A., Pichardo, S., ... Cameán, A. (2014). Immunohistochemical Approach to Study *Cylindrospermopsis* Distribution in *Tilapia* (*Oreochromis niloticus*) under Different Exposure Conditions. *Toxins*, 6(1), 283–303. doi:10.3390/toxins6010283.

H

94. Haande, S., Rohrlack, T., Ballot, A., Røberg, K., Skulberg, R., Beck, M., & Wiedner, C. (2008). Genetic characterisation of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanobacteria) isolates from Africa and Europe. *Harmful Algae*, 7(5), 692–701.
95. Handouzi, M. A. 2011. Evolution du chimisme des eaux du barrage Mexanna (Nord-Est Algérie). Mémoire de magister en Hydrogéologie. Faculté des Sciences de la Terre. Département de Géologie. Université Badji Mokhtar-Annaba. PP. 101
96. Harke, M. J., & Gobler, C. J. (2013). Global transcriptional responses of the toxic cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*, to nitrogen stress, phosphorus stress, and growth on organic matter. *PLoS One*, 8(7), e69834. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069834>.
97. Harke, M. J., Steffen M. M., Gobler C. J., Otten T. G., Wilhelm S. W., Wood S. A., Paerl H. W. (2016). A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis* spp. *Harmful Algae*, 54, 4-20.
98. Havel, J.E., Kovalenko, K.E., Thomaz, S.M., Amalfitano, S., & Kats, L.B. (2015). Aquatic invasive species: challenges for the future. *Hydrobiologia*, 750(1), 147–170. <https://doi.org/10.1007/s10750-014-2166-0>

99. Hellier P., Purton S. & Ladommatos N., 2015.- Molecular structure of photosynthetic microbial biofuels for improved engine combustion and emissions characteristics. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 49 : 1 - 12.
100. Herkovits J., Castañaga L. A., D'Eramo J. L. & Jourani V. P., 2015. Living organisms influence on environmental conditions: pH modulation by amphibian embryos versus aluminum toxicity. *Chemosphere* 139: 210-215.
101. Hillebrand, H., C.-D. Duřselen, D. Kirschtel, U. Pollinger & T. Zohary, 1999. Biovolume calculations for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 25: 403–424.
102. Hoffmann L., Komárek J. & Kařtovsky J., 2005.- System of Cyanoprokaryotes (Cyanobacteria). State 2004. *Algological Studies*, 117 : 95 - 115.
103. Honkanen, R. E., Codispoti, B. A., Tse, K. & Boynton, A. L. 1994. Characterization of natural toxins with inhibitory activity against serine/threonine protein phosphatase.
104. Horecká, M. & J. Komárek, 1979. Taxonomic position of three planktonic blue-green algae from the genera *Aphanizomenon* and *Cylindrospermopsis*. *Preslia*, Praha 51: 289–312.
105. Horne, A. J., & Goldman, C. R. (1994). *Limnology*. 2nd ed. McGraw-Hill.
106. Hu, M.; Wu, F.; Yuan, M.; Liu, Q.; Wang, Y. Combined effects of toxic cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* and hypoxia on the physiological responses of triangle sail mussel *Hyriopsis cumingii*. *J. Hazard. Mater.* 2016, 306, 24–33
107. Huisman, J., Codd, G. A., Paerl, H. W., Ibelings, B. W., Verspagen, J. M. H. & Visser, P. M., 2018. Cyanobacterial blooms. *Nat. Rev. Microbiol*, 16.
108. Huisman, J., Jonker, R. R., Zonneveld, C. & Weissing, F. J., 1999. Competition for light between phytoplankton species: experimental tests of mechanistic theory. *Ecology* 80, 211-222.
109. Huszar, V. L. M., & Reynolds, C. S. (1997). The role of temperature in the seasonal succession of phytoplankton in temperate lakes. *Hydrobiologia*, 349(1-3), 1-19.
110. Hyenstrand, P., Blomqvist, P. & Petterson, A., 1998. Factors determining cyanobacterial success in aquatic systems. *Archiv für Hydrobiologie Special Issues in Advanced Limnology*. 51: 41-62. Brient, L., Legeas, M., Leitao, M. & Peigner, P., 2004. Etude interrégionale grand ouest sur les cyanobactéries en eau douce. Université de Rennes 1. pp.82.
- I**
111. Islam JB, Akter S, Bhowmick AC, Uddin MN, Sarkar M. 2018. Hydro-environmental pollution of Turag River in Bangladesh. *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.* 53(3), 161-168.
112. ISO/TC 147 (International Organization for Standardization) (1994). *Environment: water quality. Chemical methods ISO. Standards Compendium, Volume 2. 1st edition.*
113. Istvánovics V., Shafik H.M., Présing M., Juhos S. (2000). Growth and phosphate uptake kinetics of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanophyceae) in throughflow cultures. *Freshw. Biol.* 43, 257–275 doi :10.1046/j.1365-2427.2000.00549.x
114. Ito, E., Kondo, F. Terao, K. et Harada, K. (1997). Neoplastic nodular formation in mouse liver induced by repeated intraperitoneal injections of microcystin-LR. *Toxicon*, 35, 1453-7.
- J**
115. Jacobsen D. & Dangles O., 2017. *Ecology of high altitude waters*. Oxford University Press, 272 pp.
116. Jacquet, S., Briand, J.-F., Leboulanger, C., Avois-Jacquet, C., Oberhaus, L., Tassin, B., Vinçon-Leite, B., Paolini, G., Druart, J.-C., Anneville, O. & Humbert, J.-F., 2005. The proliferation of the toxic cyanobacterium *Planktothrix rubescens* following restoration of the largest natural French lake (Lac du Bourget). *Harmful Algae* 4: 651–672.
117. Jacquet, S., Briand, J.-F., Leboulanger, C., Avois-Jacquet, C., Oberhaus, L., Tassin, B., Vinçon-Leite, B., Paolini, G., Druart, J.-C., Anneville, O. & Humbert, J.-F., 2005. The proliferation of the toxic cyanobacterium *Planktothrix rubescens* following restoration of the largest natural French lake (Lac du Bourget). *Harmful Algae* 4: 651–672.
118. Jeng, H., 2007. *Encyclopedia of Cancer and Society*. Ed. Graham Colditz. Los Angeles. Sage Publications Inc. 2: 695-697.
119. Jöhnk, K. D., Huisman, J., Sharples, J., Sommeijer, B., Visser, P. M. & Stroom, J. M., 2008. Summer heatwaves promote blooms of harmful cyanobacteria. *Global Change Biol.* 14:495- 512.

120. Jones, G.J., Orr, P.T., 1994. Release and degradation of microcystin following algicide treatment of a *Microcystis aeruginosa* bloom in a recreational lake, as determined by HPLC and protein phosphatase inhibition assay. *Water Res.* 28 (4), 871—876

K

121. Karadžić, V., Simić, G. S., Natić, D., Ržaničanin, A., Ćirić, M., & Gačić, Z. (2013). Changes in the phytoplankton community and dominance of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Wolosz.) Subba Raju in a temperate lowland river (Ponjavica, Serbia). *Hydrobiologia*, 711(1), 43–60. <https://doi.org/10.1007/s10750-013-1460-6>.
122. KEHOE, M., O'BRIEN, K., GRINHAM, A. and BURFORD, M. Primary production of lake phytoplankton, dominated by the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*, in response to irradiance and temperature. *Inland Waters*, 2015, 5(2), 93-100. <http://dx.doi.org/10.5268/IW5.2.778>.
123. Kenesi, G., Shafik, H. M., Kovács, A. W., Herodek, S., & Présing, M. (2008). Effect of nitrogen forms on growth, cell composition and N₂ fixation of *Cylindrospermopsis raciborskii* in phosphorus-limited chemostat cultures. *Hydrobiologia*, 623 (1), 191-202. <https://doi.org/10.1007/s10750-008-9657-9>.
124. Kesari, V., S. Kumar, I. Yadav, A. Chatterjee, S. Rai and Pandey, S. (2022). Ganga river water quality assessment using combined approaches: physico-chemical parameters and cyanobacterial toxicity detection with special reference to microcystins and molecular characterization of microcystin synthetase (mcy) genes carrying cyanobacteria. *Environmental Science and Pollution Research*. 29(9), pp.13122- 13140. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16589-1>
125. Kokocinski, M., Maria Cameán, A., Carmeli, S., Guzmán-Guillén, R., Jos, A., MankiewiczBoczek, J., Metcalf, J., Moreno, I, Isabel Prieto, A. & Sukenik, A. (2017). *Cylindrospermopsis* and congeners. *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*. 12, pp.127–137.
126. Komárek J, Anagnostidis K. 2005. Cyanoprokaryota: Part 2: Oscillatoriales Süßwasserflora von Mitteleuropa freshwater flora of Central Europe. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Germany.
127. Komárek J. & Anagnostidis K., 1989.- Modern approach to the classification system of Cyanophytes 4- Nostocales. *Algological Studies / Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes 56* : 247 - 345.
128. Komarek J. Kastovsky J. Mares J. Johansen J. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach // *Preslia*. _ 1985. _ Vol. 86, No. 4. _ P. 295_ 335
129. Komárek J., Kaštovský J., Mareš J. & Johansen J R., 2014.- Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera), using a polyphasic approach. *Preslia*, 86 : 295 - 335.
130. Komarek, J., & Anagnostidis, K. 1999. Cyanoprokaryota: Part 1: Chroococcales. Süßwasser flora von Mitteleuropa Freshwater Flora of Central Europe. Germany: Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg.
131. Komarek, J., & Anagnostidis, K. 2005. Cyanoprokaryota: Part 2: Oscillatoriales Süßwasserflora von Mitteleuropa Freshwater Flora of Central Europe. Germany: Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg.
132. Komárek, J., & Hauer, T. (2013). *CyanoDB*. cz-On-line database of cyanobacterial genera.-World-wide electronic publication, Univ. of South Bohemia & Inst. of Botany AS CR.
133. Komárek, J., & Komárková, J. (2003): Phenotype diversity of the cyanoprokaryotic genus *Cylindrospermopsis* (Nostocales); review 2002. *Czech Phycology (Olomouc)* 3: 1-30.
134. Komárek, J., Kling, H. (1991) Variation in six planktonic cyanophyte genera in Lake Victoria (East Africa). *Algol. Stud.* 61, 21–45. Komárek, J., Azevedo, S. M. F. O., Domingos, P., Komárková, J. & Tichy, M. 2001. Background of the Caruaru tragedy; a case taxonomic study of toxic cyanobacteria. *Algol. Stud.* 103:9–29.
135. Kozłowski-Suzuki, B., Wilson, A.E., Ferrao-Filho, A.S., (2012). Bio-magnification or biodilution of microcystins in aquatic foodwebs? Meta-analyses of laboratory and field studies. *Harmful Algae* 18, 47 e 55.
136. Kuniyoshi T. M., Sevilla E., Bes M. T., Fillat M. F. & Peleato M. L., 2013.- Phosphate deficiency (N/P 40 : 1) induces mcyD transcription and microcystin synthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806. *Plant Physiology and Biochemistry*, 65 : 120 - 124.

L

137. Lacaze J. C., 1996. *L'eutrophisation des eaux marines et continentales*. Editions Ellipses, Paris, 191 pp.

138. Lahrouni M., Oufdou. & Oudra B., 2015.- Occurrence of cyanobacteria producing toxins in irrigation freshwaters: which impacts on crop quality and public health? *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 6 : 2986 - 3001.
139. Lance, E., Neffling, M.R., G'érard, C., Meriluoto, J., Bormans, M., 2010. Accumulation of free and covalently bound microcystins in tissues of *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda) following toxic cyanobacteria or dissolved microcystin-LR exposure. *Environ. Pollut.* 158, 674–680.
140. Lauceri, R., Austoni, M., Caviglia, F., Kamburska, L., Lami, A., Morabito, G., Pflueger, V., Silva Benavides, A.M., Tonolla, M., Torzillo, G., Riccardi, N., 2017. Coupling a bio-accumulator organism and MALDI-TOF MS: an early warning detection system for microcystins in water bodies. *J. Appl. Phycol.* 29 (6), 2979–2988.
141. Lee, J., Lee, S., & Jiang, X. (2017). Cyanobacterial toxins in freshwater and food: important sources of exposure to humans. *Annual review of food science and technology*, 8, 281-304.
142. Leitão, M., & Couté, A. (2005). Guide pratique des cyanobactéries planctoniques du Grand Ouest de la France: manuel pour les prélèvements et la reconnaissance à l'usage des gestionnaires des eaux de surface: caractéristiques, échantillonnage, identification. Agence de l'eau Seine-Normandie.
143. Lepoutre, A., Grillot, T., Jean, S., Geffard, A., Lance, E., 2020. Bioaccumulation of free and total MCs by freshwater bivalves as indicator of water contamination by microcystin-producing cyanobacteria? *Appl. Sci.* 10 (10), 3426.
144. Levi, Y., Harvey, M. & Cervantès, P., 2006. Evaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et de leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autre activités réactives. *Afssa - Afsset*. pp. 277.
145. Li, H., Gu, X., Chen, H., Mao, Z., Shen, R., Zeng, Q. and Ge, Y. 2022. Co-occurrence of multiple cyanotoxins and taste-and-odor compounds in the large eutrophic Lake Taihu, China: Dynamics, driving factors, and challenges for risk assessment. *Environmental Pollution* 294, 118594. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118594>
146. Litchman, E., 2010. Invisible invaders: non-pathogenic invasive microbes in aquatic and terrestrial ecosystems. *Ecol. Lett.* 13 (12), 1560-1572.
147. Looper, R. E., Runnegar, M. T. C. & Williams. R. M., 2005. Synthesis of the putative structure of 7-deoxycylindrospermopsin: C7 oxygenation is not required for the inhibition of protein synthesis. *Angewandte Chemie (International ed. in English)* 44: 3879–81.
148. Lu, Z., Lei, L., Lu, Y., Peng, L., & Han, B. (2021). Phosphorus deficiency stimulates dominance of *Cylindrospermopsis* through facilitating cylindrospermopsin-induced alkaline phosphatase secretion: Integrating field and laboratory-based evidences. *Environmental Pollution*, 290, 117946. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117946>.

M

149. Manjula P, Warriar CU. 2019. Evaluation of water quality of Thuthapuzha Sub-basin of Bharathapuzha, Kerala, India. *App WaSci* 9, 70.
150. Mansilha C, Duarte CG, Melo A, Ribeiro J, Flores D, Marques JE (2017) Impact of wildfire on water quality in Caramulo Mountain ridge (Central Portugal). *Sustain Resour Manag* 5:319–331
151. Marmen S., Aharonovich D., Grossowicz M., Blank L., Yacobi Y. & Sher D., 2016.- Distribution and habitat specificity of potentially toxic *Microcystis* across climate, land and water use gradients. *Frontiers in Microbiology*, 7 : 271 - 285.
152. Marre, A. (1987) Etude géomorphologique du Tell oriental algérien de Collo à la frontière Tunisienne. Thèse Doct. Université d'Aix-Marseille, 559 p + cartes.
153. Martin, W. & Kowalik, K. V., 1999. Annotated English translation of Mereschkowsky's 1905 paper 'Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche. *Eur. J. Phycol.* 34:287-295.
154. Massey, I. Y. and Yang, F. (2020). A mini review on microcystins and bacterial degradation. *Toxins* 12(4), pp. 268. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins12040268>.
155. Maxi F., Laurent E., Marc D.R., Ariane P., 2007- Géologie, Dunod, Paris ; 223p.
156. McGregor G. B., 2013.- Freshwater cyanobacteria of North-Eastern Australia : 2. Chroococcales, 133 : 1 - 130.
157. Mchau, G. J., R. Machunda, M. Kimanya, E. Makule, Y. Y. Gong, E. Mpolya, J. P. Meneely, C. T. Elliott and B. Greer (2021). First report of the co-occurrence of cylindrospermopsin,

- nodularin and microcystins in the freshwaters of Lake Victoria, Tanzania. *Exposure and Health* 13(2), pp.185-194. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12403-020-00372-7>.
158. MDDEP et CREL. (2012). Évaluation de l'état trophique et de la qualité de l'eau dans les lacs du bassin versant de la rivière L'Assomption. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs et Conseil régional de l'environnement de Lanaudière.
159. Meeks, J. C., Wycoff, K. L., Chapman, J. S., Enderlin, C. S. (1983) Regulation of expression of nitrate and dinitrogen assimilation by *Anabaena* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 45, 1351–1359.
160. Mehnert, G., Leunert, F., Cirés, S., Jöhnk, K. D., Rücker, J., Nixdorf, B., & Wiedner, C. (2010). Competitiveness of invasive and native cyanobacteria from temperate freshwaters under various light and temperature conditions. *Journal of Plankton Research*, 32(7), 1009–1021. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbq033>.
161. Mello M. M., Soares M. C. S., Roland F., Lüring M. (2012). Growth inhibition and colony formation in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* induced by the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *J. Plankton Res.* 34, 987–994 <https://doi.org/10.1093/plankt/fbs056>.
162. Messerer Y, 1999 : Etude morpho métrique et hydrographique du complexe lacustre d'El Kala, cas du lac Oubeira et du lac Mellah. Thèse de Magistère, Univ. Annaba.123p
163. Messineo, V.; Melchiorre, S.; Di Corcia, A.; Gallo, P.; Bruno, M. Seasonal succession of *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Aphanizomenon Ovalisporum* blooms with cylindrospermopsin occurrence in the volcanic Lake Albano, Central Italy. *Environ. Toxicol.* 2010, 25, 18–27.
164. Mez, K., Beattie, K. A., Codd, G. A., Hanselmann, K., Hauser, B., Naegeli, H. & Preisig, H. R., 1997. Identification of a microcystin in benthic cyanobacteria linked to cattle deaths on alpine pastures in Switzerland. *Eur. J. Phycol.* 32:111-117.
165. Mezouari S. (2017). Isolation and characterization of microorganisms of biotechnological interest in the region of Sidi Bel Abbes. Thesis of the Djillali Liabes University of Sidi Bel Abbes, Algeria, 35-36.
166. Miller, T. R., Beversdorf, L. J., Weirich, C. A. & Bartlett, S. L., 2017. Cyanobacterial Toxins of the Laurentian Great Lakes, Their Toxicological Effects, and Numerical Limits in Drinking Water. *Mar. Drugs* J., 15, 160.
167. Ministère Du Développement Durable, De L'environnement Et De La Lutte Contre Les Changements Climatiques (Mddelcc). 2015b. Le réseau de surveillance volontaire des lacs: Les méthodes. En ligne: <http://www.mddelcc.gouv.qc.ca/eau/rsvl/methodes.htm>. Consulté le 18 février 2015.
168. Miura, S. & Yokota, A., 2006. Isolation and characterization of cyanobacteria from lichen. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 52:365-374.
169. Mohamed Z.A., Carmichael W.W. et Hussein A.A. (2003). Estimation of microcystins in the freshwater fish *Oreochromis niloticus* in an Egyptian fish farm containing a *Microcystis* bloom. *Environ. Toxicol.* 18 (2), 137–141.
170. Moisaner, P.H., Cheshire, L.A., Braddy, J., Calandrino, E.S., Hoffman, M., Piehler, M.F., and Pearl, H.W. (2012), Facultative diazotrophy increases *Cylindrospermopsis raciborskii* competitiveness under fluctuating nitrogen availability. *FEMS Microbiology Ecology*, 79(3), 800-811. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01264.x>. PMID:22126519.
171. Moore D, McGregor G, Shaw G (2004) Morphological changes during akinete germination in *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, cyanobacteria). *J Phycol* 40:1098–1105.
172. Moss, B., Kosten, S., Meerhoff, M., Battarbee, R. W., Jeppesen, E., Mazzeo, N., ... & Scheffer, M. (2011). Allied attack: climate change and eutrophication. *Inland waters*, 1(2), 101-105.
173. Moustaka-Gouni, M., Kormas, K., Vardaka, E., Katsiapi, M., Gkelis, S., 2009. *Raphidiopsis mediterranea* Skuja represents non-heterocytous life-cycle stages of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju in Lake Kastoria (Greece), its type locality: evidence by morphological and phylogenetic analysis. *Harmful Algae* 8, 864–872.
174. MPRH. (2004). Ministère de la pêche et des ressources halieutiques. Projet : connaissance des biomasses des lacs de la wilaya d'El Tarf et établissement des règles de gestion''. Rapport D'expertise N°1, Fonctionnement des lacs. p.172.

N

175. Naddafi, R.; Pettersson, K.; Eklöv, P. The effect of seasonal variation in selective feeding by zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) on phytoplankton community composition. *Freshw. Biol.* 2007, 52, 823–842.
176. Nasri H., El Herry S. et Bouaïcha N. (2008). First reported case of turtle deaths during a toxic *Microcystis* spp. bloom in Lake Oubeïra, Algeria. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 71 : 535–544.
177. Nasri, H., Bouaïcha, N., & Harche, M. K. (2007). A new morphospecies of *Microcystis* sp. forming bloom in the Cheffia dam (Algeria): Seasonal variation of microcystin concentrations in raw water and their removal in a full-scale treatment plant. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 22(4), 347356.
178. Negri, A. P. et Jones, G. J. (1995). Bioaccumulation of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins from the cyanobacterium *Anabaena circinalis* by the freshwater mussel *Alathyria condola*. *Toxicon*, 33 (5), 667-678.
179. Nowruzzi, B. and S. J. Porzani (2021). Toxic compounds produced by cyanobacteria belonging to several species of the order Nostocales: A review. *Journal of Applied Toxicology* 41(4), pp.510-548. DOI: <https://doi.org/10.1002/jat.4088>
180. Nunnery J. K., Mevers E. & Gerwick W H., 2010.- Biologically active secondary metabolites from marine cyanobacteria. *Current Opinion Biotechnology*, 21 : 787 - 793.
181. Ohtani, I., Moore, R.E. & Runnegar, M. (1992). *Cylindrospermopsin*: A potent hepatotoxin from the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Chemical Information* 114, pp.7941–7942. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja00046a067>

O

182. Oliver, R.D., Hamilton, D.P., Brookes, J.D. and Ganf, G. G. (2012) Physiology, blooms and prediction of planktonic cyanobacteria. In B. A. Whitton (Ed.), *Ecology of Cyanobacteria II: Their diversity in space and time*. London: Springer. p 155-194.
183. ONU, 2000. L'avenir de l'environnement mondial, Programme des Nations Unies pour l'environnement et DeBoeck Université.
184. Orr PT, Jones GJ, Hamilton GR. Removal of saxitoxins from drinking water by granular activated carbon, ozone and hydrogen peroxide - implications for compliance with the Australian drinking water guidelines. *Water Res* 2004;38: 4455-61.
185. Ostermaier V., Schanz F., Köster O. & Kurmayer R., 2012.- Stability of toxin gene proportion in red-pigmented populations of the cyanobacterium *Planktothrix* during 29 years of re-oligotrophication of Lake Zürich. *BioMed Central Biology*, 10 : 1 - 16.

P

186. Padiśák J (1997) *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Arch Hydrobiol* 107:563–593
187. Padiśák, J., 2003. Estimation of minimum sedimentary inoculum (akinetete) pool of *Cylindrospermopsis raciborskii*: a morphology and life-cycle based method. *Hydrobiologia* 502, 389–394.
188. Paerl, H. W., 2018. Why does N-limitation persist in the world's marine waters? *Marine Chemistry*, 206, 1–6.
189. Paerl, H. W., Fulton, R. S., Moisaner, P. H. & Dyble, J., 2001. Harmful freshwater algal blooms, with an emphasis on Cyanobacteria. *The Scientific World*, 1: 76–113.
190. Pajares S., Merino-Ibarra M., Macek M., Alcocer J. (2017). Vertical and seasonal distribution of picoplankton and functional nitrogen genes in a high-altitude warm-monomictic tropical lake. *Freshwater Biol*, 00, 1–14.
191. Panou, M., Zervou, S.K., Kaloudis, T., Hiskia, A., Gkelis, S., 2018. A Greek *Cylindrospermopsis raciborskii* strain: missing link in tropic invader's phylogeography tale. *Harmful Algae* 80, 96–106.
192. Papadimitriou, T.; Kagalou, I.; Stalikas, C.; Pilidis, G.; Leonardos, I.D. Assessment of microcystins distribution and biomagnification in tissues of the aquatic food web compartments from a shallow lake and potential risks for public health. *Ecotoxicology* 2012, 21, 1155–1166
193. Peters, G. A. & Meeks, J. C., 1989. The *Azolla*-*Anabaena* symbiosis - Basic Biology. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.* 40:193-210.

194. Piccini, C., Aubriot, L., Fabre, A., Amaral, V., Gonzalez-Piana, M., Giani, A., Bonilla, S., 2011. Genetic and eco-physiological differences of South American *Cylindrospermopsis raciborskii* isolates support the hypothesis of multiple ecotypes. *Harmful Algae* 10 (6), 644-653.
195. Pierangelini M., Stojkovic S., Orr P. T., Beardall J. (2014). Photosynthetic characteristics of two *Cylindrospermopsis raciborskii* strains differing in their toxicity. *J. Phycol.* 50, 292–302. Doi : 10.1111/jpy.12157.
196. Pires, L.M.D.; Van Donk, E. Comparing grazing by *Dreissena polymorpha* on phytoplankton in the presence of toxic and non-toxic cyanobacteria. *Freshw. Biol.* 2002, 47, 1855–1865.
- Q**
- R**
197. Rajaniemi, P., Hrouzek, P., Kaštovska, K., Willame, R., Rantala, A., Hoffmann, L., ... & Sivonen, K. (2005). Phylogenetic and morphological evaluation of the genera *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Trichormus* and *Nostoc* (Nostocales, Cyanobacteria). *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 55(1), 11-26.
198. Rankin K., Alroy K., Kudela R., Oates S., Murray M. & Miller M., 2013.- Treatment of cyanobacterial (microcystin) toxicosis using oral cholestyramine: case report of a dog from Montana. *Toxins*, 5 : 1051 - 1063.
199. Rantala-Ylinen A., Kana S., Wang H., Rouhiainen L., Wahlsten M., Rizzi E., Berg K., Gugger M. & Sivonen K., 2011.- Anatoxin-a synthetase gene cluster of the *Cyanobacterium Anabaena* sp. strain 37 and molecular methods to detect potential producers. *Applied of Environmental Microbiology*, 77 : 7271 - 7278.
200. Rapala, J., Sivonen, K., Lyra, C. and Niemelä, S.I. (1997) Variation of microcystins, cyanobacterial hepatotoxins, in *Anabaena* sp. as a function of growth stimuli. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 63, n° 6, p. 2206-2212.
201. Recknagel, F., Orr, P.T. and Cao, H. 2014. Inductive reasoning and forecasting of population dynamics of *Cylindrospermopsis raciborskii* in three sub-tropical reservoirs by evolutionary computation. *Harmful Algae*, 2014, 31, 26-34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2013.09.004>. PMID:28040108.
202. Rellan S, Osswald J, Saker M. First detection of anatoxin-a in human and animal dietary supplements containing cyanobacteria. *Food Chem Toxicol* 2009;47:2189-95.
203. Reynolds, C. S. & Walsby, A. E., 1975. Water- blooms. *Biological Review*.50: 437- 481. Université Laval Québec.
204. Rippka, R. 1988. Recognition and identification of cyanobacteria. In: *Methods in Enzymology* 167: 2867
205. Robarts, R. D. & Zohary, T., 1987. Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom- forming cyanobacteria. *Journal of Marine and Freshwater Research* 21: 391-399.
206. Rodier, J., Legube, B., Merlet, N. (2009). *L'analyse de l'eau*, 9ème, édition, Ed Dunod. p.1579
207. Rositano, J., Nicholson, B.C., 1994. *Water Treatment Techniques for Removal of Cyanobacterial Toxins from Water*. Australian Centre for Water Quality Research, Salisbury, South Australia, 55 pp.
208. Rücker, J., Stuken, A., Nixdorf, B., Fastner, J., Chorus, I., Wiedner, C., 2007. Concentrations of particulate and dissolved cylindrospermopsin in 21 *Aphanizomenon*-dominated temperate lakes. *Toxicon* 50 (6), 800–809..
209. Runnegar MT, Kong SM, Zhong YZ, Ge JL, Lu SC (1994) The role of glutathione in the toxicity of a novel cyanobacterial alkaloid cylindrospermopsin in cultured rat hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 201:235–241
210. Rzymyski, P., Poniedziałek, B., 2014. In search of environmental role of cylindrospermopsin: a review on global distribution and ecology of its producers. *Water Res.* 66, 320-337.
- S**
211. Sabart, M., 2009. Variations spatiotemporelles dans la dynamique, la diversité génétique et le potentiel toxique de populations de *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria) dans plusieurs écosystèmes aquatiques du centre de la France. Thèse de doctorat, mention « Biodiversité, écologie, environnement ». Université de Savoie. France. 356 p.

212. Saker, M. L., Neilan, B. A. (2001) Varied diazotrophies, morphologies, and toxicities of genetically similar isolates of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanophyceae) from northern Australia Appl. Environ. Microbiol. 67, 1839–1845.
213. Saker, M.L., Eaglesham, G.K., 1999. The accumulation of cylindrospermopsin from the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* in tissues of the Redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Toxicon* 37, 1065–1077. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(98\)00240-2](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(98)00240-2).
214. Saker, M.L., Metcalf, J.S., Codd, G.A., Vasconcelos, V.M., 2004. Accumulation and depuration of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in the freshwater mussel *Anodonta cygnea*. *Toxicon* 43, 185–194. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2003.11.022>.
215. Saoudi, A.; Brient, L.; Boucetta, S.; Ouzrout, R.; Bormans, M.; Bensouilah, M. Management of toxic cyanobacteria for drinkingwater production of Ain Zada Dam. *Environ. Monit. Assess.* 2017, 189, 361.
216. Savary P., 2010 - Guide des analyses de la qualité de l'eau, Groupe Territorial ; 161p
217. Saxton, M. A., Arnold, R. J., Bourbonniere, R. A., McKay, R. M., & Wilhelm, S. W. (2012). Plasticity of total and intracellular phosphorus quotas in *Microcystis aeruginosa* cultures and Lake Erie algal assemblages. *Frontiers in microbiology*, 3, 3.
218. Schindler, D. W. (2012). The dilemma of controlling cultural eutrophication of lakes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1746), 4322-4333.
219. Schindler, D. W., & Hecky, R. E. (2008). Reply to Howarth and Paerl: Is control of both nitrogen and phosphorus necessary ?. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(49), E104-E104.
220. Shafik, H. M., S. Herodek, M. Présing & L. Vörös, 2001. Factors effecting growth and cell composition of cyanoprokaryote *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 140, Algological Studies 103: 75–94.
221. Shafik, H. M., Vörös, L., Spröber, P., Présing, M., & Kovács, A. W. (2003). Some special morphological features of *Cylindrospermopsis raciborskii* in batch and continuous cultures. *Hydrobiologia*, 506-509(1-3), 163–167.
222. Shahmohamadloo, R.S.; Ortiz Almirall, X.; Simmons, D.B.D.; Poirier, D.G.; Bhavsar, S.P.; Sibley, P.K. Fish tissue accumulation and proteomic response to microcystins is species-dependent. *Chemosphere* 2022, 287(Pt 1), 132028. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132028>.
223. Shakesby RA, Doerr SH (2006) Wildfire as a hydrological and geomorphological agent. *Earth-Sci Rev* 74(3–4):269–307
224. Shapiro, J. (1997). The role of carbon dioxide in the initiation and maintenance of blue-green dominance in lakes. *Freshwater biology*, 37(2), 307-323.
225. Sidelev, S., Koksharova, O., Babanazarova, O., Fastner, J., Chernova, E., Gusev, E., 2020. Phylogeographic, toxicological and ecological evidence for the global distribution of *Raphidiopsis raciborskii* and its northernmost presence in Lake Nero, Central Western Russia. *Harmful Algae*. 98, 101889.
226. Singh, R.N., 1962. Seasonal variants of *Anabaenopsis raciborskii* Wolosz. *Hydrobiologia* 20, 87–91.
227. Singh, S., Kate, B. N., & Banerjee, U. C. (2005). Bioactive Compounds from Cyanobacteria and Microalgae: An Overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25(3), 73-95.
228. Sinha, R., Pearson, L.A., Davis, T.W., Burford, M.A., Orr, P.T., Neilan, B.A., 2012. Increased incidence of *Cylindrospermopsis raciborskii* in temperate zones – is climate change responsible? *Water Res.* 46, 1408–1419.
229. Sivonen K. & Jones G., 1999. Cyanobacterial toxins. In : Toxic cyanobacteria in water Chorus I & Bartram J (eds.), E & FN Spon, London, United Kingdom, pp 41-111.
230. Skulberg, O. M., Codd, G. A. & Carmichael, W. W., 1984. Toxic blue-green algal blooms in Europe: A growing problem. *Ambio* 13: 244-247.
231. Smith, V. H., & Schindler, D. W. (2009). Eutrophication science: where do we go from here?. *Trends in ecology & evolution*, 24(4), 201-207
232. Smith, V. H., et al. (1999). "Eutrophication: Impacts of excess nutrients on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems." *Environmental Science & Technology*, 33(9), 531-535.
233. Smitt R.V. (1976). Annual Report on Research and Technical Work. Freshwater Biological Investigation Unit. Dpt Agriculture, Northern Ireland, pp.131-148.

234. Soares, M.C.S., Lürling, M., & Huszar, V.L.M. (2013). Growth and temperaturerelated phenotypic plasticity in the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Phycological Research*, 61(1), 61–67. <https://doi.org/10.1111/pre.12001>.
235. Sommaruga, R., Chen, Y. & Liu, Z., 2009. Multiple strategies of bloom-forming *Microcystis* to minimize damage by solar ultraviolet radiation in surface waters. *Microbial ecology* 57: 667–74.
236. Sondergaard, M., Jensen, J. P., & Jeppesen, E. (2003). Role of sediment and internal loading of phosphorus in shallow lakes. *Hydrobiologia*, 506(1-3), 135-145.
237. Song L., Chen W., Peng L., Wan N., Gan N., Zhang X., (2007). Distribution and bioaccumulation of microcystins in water columns: A systematic investigation into the environmental fate and the risks associated with microcystins in Meiliang Bay, Lake Taihu. *Water Research*, 41, 2853-2864.
238. Sotton B, Anneville O, Cadel-Six S, et al. Spatial match between *Planktothrix rubescens* and whitefish in a mesotrophic peri-alpine lake : evidence of toxins accumulation. *Harmful Algae* 2011;10:749-58
239. Sotton, B., 2012. Mise en évidence des voies de transfert des cyanotoxines dans les lacs péri-alpins et implications dans les réponses physiologiques des poissons exposés. Thèse Biodiversité, Ecologie, Environnement. Université de Grenoble. 187 p.
240. Spoof L. & Arnaud C., 2017.- Appendix 3. Tables of microcystins and nodularins. *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*, 1 : 527 - 537.
241. Spoof, L. & Catherine, A. (2017). Table of microcystins and nodularins. In: Meriluoto, J., Spoof, L., Codd, G.A., editors. *Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis*. Chichester, UK: John Wiley & Sons. pp. 526-37.
242. Sprober P., Shafik H.M., Présing M., Kovács A.W., Herodek S. (2003). Nitrogen uptake and fixation in the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* under different nitrogen conditions. *Hydrobiologia* 506–509, 169–174 doi :10.1023/B:HYDR.0000008617.90245.5f.
243. Stanier, R. Y. & Cohen-Bazire, G., 1977. Phototrophic prokaryotes: the cyanobacteria. *Annual review of microbiology* 31: 225–74.
244. Stewart I., Seawright A. A. & Shaw G. R., 2008.- Cyanobacterial poisoning in livestock, wild mammals and birds – an overview. In : *Cyanobacterial harmful algal Blooms : State of the Science and Research Needs*, Springer, pp 613 - 637.
245. Strunecký O., Komárek J., Johansen J., Lukešová A. & Elster J., 2013.- Molecular and morphological criteria for revision of the genus *Microcoleus* (Oscillatoriales, Cyanobacteria). *Journal of Phycology*, 49 : 1167 - 1180.
246. Svircev, Z., Drobac, D., Tokodi, N. & Mijovic, B., 2017. Toxicology of microcystins with reference to cases of human intoxications and epidemiological investigations of exposures to cyanobacteria and cyanotoxins. *Arch. Toxicol.*, 91, 621-650.
247. Sylvester, F.; Dorado, J.; Boltovskoy, D.; Juárez, Á.; Cataldo, D. Filtration rates of the invasive pest bivalve *Limnoperna fortunei* as a function of Size and Temperature. *Hydrobiologia* 2005, 534, 71–80.
- T**
248. Tucci, A., & Sant’Anna, C. L. (2003). *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju (Cyanobacteria): variação semanal e relações com fatores ambientais em um reservatório eutrófico, São Paulo, SP, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 26(1).
- U**
249. US EPA. 2012. 2012 National lakes assessment. Laboratory operations manual. EPA-841-B-11-004. U.S. Environmental Protection Agency.
- V**
250. Valentine, M. B., 2004. Floraisons de cyanobactéries au lac Saint-Augustin, dynamique à court terme et stratification. Université Laval Québec. pp.105.
251. Van Apeldoorn, M. E., Van Egmond, H. P., Speijers G. J. A. & Bakker, G. J. I., 2007. Toxins of cyanobacteria. *Molecular Nutrition & Food Research* 51: 7–60.
252. Van Wichelen, J., Vanormelingen, P., Codd, G. A., Vyverman, W. (2016). The common bloom-forming cyanobacterium *Microcystis* is prone to a wide array of microbial antagonists. *Harmful algae*, 55, 97-111.
253. Vilar, M.; Ferrão-Filho, A. (Eco)Toxicology of Cyanobacteria and Cyanotoxins: From Environmental Dynamics to Adverse Effects. *Toxics* 2022, 10, 648. <https://doi.org/10.3390/toxics10110648>

W

254. Wang L., Han X., Zhang Y., Zhang Q., Wan X., Liang T., Song H., Bolan N., Shaheen S.M., White J.R., et al. Impacts of land uses on spatio-temporal variations of seasonal water quality in a regulated river basin, Huai River, China. *Sci. Total Environ.* 2023;857:159584. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.159584.
255. Weise, G., Drews, G., Jann, B. & Jann, K., 1970. Identification and analysis of lipopolysaccharide in cell walls of the blue-green algae *Anacystis nidulans*. *Arch. Microbiol.* 71, 89-98.
256. Welker M and Von Döhren H. (2006). Cyanobacterial peptides. Nature's own combinatorial biosynthesis. *FEMS Microbiology Revues*, 30 (4), 530-563.
257. Wetzel R. G., 2001. *Limnology: lake and river ecosystems*. Third edition, Academic Press, 1006 pp.
258. Whitton B. A. & Matteo P., 2012.- Rivulariaceae. In : *Ecology of Cyanobacteria II : Their diversity in space and time*. Whitton B A (Ed.), London Springer. Dordrecht, Heidelberg, New York, pp 561 - 591.
259. Whitton, B. A., & Potts, M. (2000). *The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space* (1 ed.): Springer. Kluwer Academic. 704 p.
260. Wiedner, C., Rücker, J., Fastner, J., Chorus, I., Nixdorf, B., 2008. Seasonal dynamics of cylindrospermopsin and cyanobacteria in two German lakes. *Toxicon* 52 (6), 677–686.
261. Wilk-Woźniak, E., Solarz, W., Najberek, K., & Pociecha, A. (2016b). Alien cyanobacteria: An unsolved part of the “expansion and evolution” jigsaw puzzle? In *Hydrobiologia* (Vol. 764, Issue 1). <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2395-x>.
262. WILLIS, A., CHUANG, A.W., WOODHOUSE, J.N., NEILAN, B.A. and BURFORD, M.A. Intraspecific variation in growth, morphology and toxin quotas for the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Toxicon*, 2016, 119, 307-310. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.07.005>. PMID:27390039.
263. Wolk, C. P., 1996. Heterocyst formation. *Annu Rev Genet.* 30, 59-78.
264. World Health Organization (2019). Cyanobacterial toxins: cylindrospermopsin. Background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality and Guidelines for safe recreational water environments, viewed 20 April 2021. https://www.who.int/water_sanitation_health/water-quality/guidelines/chemicals/cylindrospermopsin-gdwq-bd-for-review-20191120.pdf.
265. World Health Organization (2020). Cyanobacterial toxins: microcystins. Background document for development of 2017. Guidelines for drinking-water quality and Guidelines for safe recreational water environments, viewed 20 March 2021. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/338066/WHO-HEP-ECH-WSH2020.6-eng.pdf>.
266. Wu Z., Shi J., Li R. (2009). Comparative studies on photosynthesis and phosphate metabolism of *Cylindrospermopsis raciborskii* with *Microcystis aeruginosa* and *Aphanizomenon flos-aquae*. *Harmful Algae* 8, 910–915 [10.1016/j.hal.2009.05.002](https://doi.org/10.1016/j.hal.2009.05.002).
267. Wu, Z., Shi, J., Xiao, P., Liu, Y., & Li, R. (2011). Phylogenetic analysis of two cyanobacterial genera *Cylindrospermopsis* and *Raphidiopsis* based on multi-gene sequences. *Harmful Algae*, 10(5), 419–425.

X

268. Xiao, L.J., Lei, L.M., Peng, L., Lin, Q.Q., Naselli-Flores, L., 2021. Iron operates as an important factor promoting year-round diazotrophic cyanobacteria blooms in eutrophic reservoirs in the tropics. *Ecol. Indic.* 125, 107446.
269. Xiao, L.-J., Xie, J., Tan, L., Lei, L.-M., Peng, L., Wang, Z., Naselli-Flores, L., 2022. Iron enrichment from hypoxic hypolimnion supports the blooming of *Raphidiopsis raciborskii* in a tropical reservoir. *Water Res.* 219, 11856, 2.
270. Xiao, M., Hamilton, D. P., O'Brien, K. R., Adams, M. P., Willis, A., & Burford, M. A. (2020). Are laboratory growth rate experiments relevant to explaining bloom-forming cyanobacteria distributions at global scale? *Harmful Algae*, 92, 101732. doi:10.1016/j.hal.2019.101732 .
271. Xiao, M., Willis, A. and Burford, M.A. (2017). Differences in cyanobacterial strain responses to light and temperature reflect species plasticity. *Harmful Algae*, 62, 84-93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2017.05.002>.
272. Xie L, Xie P, Ozawa K, Honma T, Yokoyama A, Park H (2004). Dynamics of microcystins-LR and-RR in the phytoplanktivorous silver carp in a sub-chronic toxicity experiment. *Environ Pollut* 127(3):431–439.

273. Xie, L., Xie P., Guo, L., Li, L., Miyabara, Y. & Park, H.-D., 2005. Organ distribution and bioaccumulation of microcystins in freshwater fish at different trophic levels from the eutrophic Lake Chaohu, China. *Environmental Toxicology* 20: 293–300.

274. Xie, L., Yokoyama, A., Nakamura, K., Parka, H. (2007). Accumulation of microcystins in various organs of the freshwater snail *Sinotaia histrica* and three fishes in a temperate lake, the eutrophic Lake Suwa, Japan. *Toxicon*, 49, 646–652.

Y

275. Yang, J.R., Lv, H., Isabwe, A., Liu, L., Yu, X., Chen, H. And Yang, J. (2017). Disturbance-induced phytoplankton regime shifts and recovery of cyanobacteria dominance in two subtropical reservoirs. *Water Research*, 2017, 120, 52-63. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.062>.

Z

276. Zarenezhad, S., Sano, T., Watanabe, M. M., & Kawachi, M. (2012). Evidence of the existence of a toxic form of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanobacteria) in Japan. *Phycological Research*, 60(2), 98–104.

277. Žegura, B. Štraser, A. & Filipič, M. (2011). Genotoxicity and potential carcinogenicity of cyanobacterial toxins: a review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 727, pp. 16–41. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2011.01.002>

278. Zheng L, Liu Y, Li R, Yang Y, Jiang Y (2023) Recent Advances in the Ecology of Bloom-Forming *Raphidiopsis (Cylindrospermopsis) raciborskii*: Expansion in China, Intraspecific Heterogeneity and Critical Factors for Invasion. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 20(3): 1984.

279. Zurawell R. W., Chen H., Burke J. M. et Prepas E. E. (2005). Hepatotoxic Cyanobacteria: A Review of the Biological Importance of Microcystins in Freshwater Environments. *Toxicology and Environmental Health Part B*, 8(1): 1-37.

