REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Sciences de la nature et de la vie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Par :

M^lle RABIAI Fatma Zohra, M^lle TEGUIG Karima et M^lle OUDIA Khadidja

Thème :

Réponse éco physiologique des microalgues aux stress des pesticides, des antibiotiques et leur combinaison

Soutenue publiquement le : 17/06 /2023., Devant le jury composé de :

M^r TIR Mohamed	**MCA**	Université de Médéa	Président
M^me HASSEIN-BEY Amel Hind	**Docteur**	Université de Médéa	Examinateur
M^r TOUZOUT Nabil	**Docteur**	Université de Médéa	Encadreur
M^r AINAS Mahfoud	**MCB**	Université de Médéa	Co-Encadreur

Année universitaire 2022/2023

Remerciement

Pour cette occasion de la réalisation de ce travail ;

Nous voulons commencer notre mémoire par des remerciements à tous ceux et celles qui nous ont soutenu afin de réussir notre travail et pour la réalisation de notre rêve d'enfance.

Avant tout, nous remercions **DIEU** qui a allumé notre chemin et qui nous a armé le courage pour achever nos études.

Nous souhaitons adresser, à travers ces quelques lignes, notre grande reconnaissance envers l'université de Docteur Yahia Fares Médéa Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, particulièrement, le département de microbiologie.

Nous adressons nos plus vifs remerciements à Mr **« TOUZOUT Nabil** » pour nous avoir proposé ce sujet, pour son encadrement, ses encouragements, ses orientations, pour ses aides, sa patience, ses conseils scientifiques judicieux, sa compétence et sa gentillesse qui nous avons permis de bien mener ce modeste travail.

Nous remercions Mr **« AINAS Mahfoud** » le Co-promoteur, pour sa gentillesse et sa disponibilité.

Nous voudrions également remercier les membres du jury de ce mémoire qui ont accepté de juger ce travail :

Un merci particulier à notre président de jury Mr **« TIR Mohamed** », de nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de notre mémoire.

Un merci particulier à l'examinateur de ce mémoire Mme **« HASSEIN-BEY Amel Hind** », pour avoir accepté d'examiner et évaluer notre travail.

Nos remerciements vont aussi à tous ceux qui nous ont aidées de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Karima, Khadidja et fatma.z



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents

Papa, Maman; merci pour votre amour, votre soutien et votre affection que vous avez toujours nous donné. Je vous remercie pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour notre réussite, c'est grâce à vous que je suis devenue la personne que je suis maintenant, que Dieu le tout puissant vous préserve.

A l'homme de ma vie ; mon fiancé **Fethi** ; ton encouragement et ton soutien étaient la bouffée d'oxygène qui me ressourçait dans les moments pénibles, de solitude et de souffrance. MERCI d'être toujours à mes côtés, par ta présence, par ton amour et ta tendresse, je prie Dieu pour qu'il te protège.

A mes chères sœurs, **Sadjia, Fethia et Douaa** pour leurs encouragements permanents et leur soutien moral, vous étaient toujours à mes côtés tout au long de mon parcours universitaire, à leurs **épouses Rachid et Hafid** et leurs enfants **Khalil, Manel et Baraa.** Que Dieu le tout puissant, vous protège et vous garde.

A mes très chers frères **Yacine et Soufiane**, MERCI pour vos soutiens et encouragements.

A tout ceux qui par un mot, m'ont donné la force de continuer.

A ma grande famille.

A mes binômes **Karima** et **Khadidja**.

Mes chers amis qui m'ont aidée tout au long de mon cursus universitaire, **Hayet, Meriem, Houda, Zahra**.....

Fatma. Z



Dédicace

Merci **Allah** pour m'avoir donné la santé, la force nécessaire et le courage pour mener a réalisé ce travail.

En termes d'amour et de fidélité, je dédie ce mémoire,

A mes très chers parents **Ibrahim et Fatma**

Aucune dédicace, aucun mot, ne saurait exprimer réellement mon profond amour, mon respect et ma vive gratitude pour leur amour, leurs encouragements incessants et leur soutien moral aux moments difficiles qui furent pour moi les meilleurs gages de réussite.

Que dieu les protège et leur donne la bonne santé et qu'ils trouvent ici la preuve de ma reconnaissance infinie.

A mon adorable sœur **Safia,** à mes frères **Mohamed** et **Aymen**

Pour leur soutien moral et leurs encouragements.

A toute ma famille chacun en son nom

Pour son soutien, chaque instant.

A mes adorables amies : **Zahra Aissat, Wiame et Nadjet**

Pour tous les moments et les souvenirs que nous avons passés ensemble.

A mes collègues **Khadidja et Fatma Zohra** qui m'ont aidé à achever ce mémoire.

À tous ceux qui m'aiment.

À tous ceux que j'aime.

Je dédie ce travail

Karima



Dédicace :

Je dédie ce travail à toutes les personnes qui ont une place particulière pour moi

Mes très chers **parents** pour leur patience, leur soutien et encouragement

A ma **grande mère** et mon **grand père**

A mes chers **frères et sœurs**.

Et toute la famille **Oudia**.

Sans oublier mes amies **Ahlem, Soumia, Zahra** et **Zoubida**.

A mes binômes **Karima** et **fatma Zohra**.

Et toutes les personnes qui me connaissent de près ou de loin.

Khadidja



Liste des tableaux

Tableau 1: Sels nutritifs nécessaires à la croissance des microalgues (ainsi que leurs rôles) dans l'environnement naturel et artificiel (Coquille, 2018). 13
Tableau 2: la classification chimique des pesticides et leur application (Shahid & Khan, 2022)..... 15
Tableau 3 : l'effet toxique des pesticides sur le sol et la plante (Sheng et al, 2022**).**..... 18
Tableau 4:les compositions chimiques en gramme par litre d'eau au milieu Zarrouk. 34
Tableau 5: la composition de solution A5 et B6 dans le milieu Zarrouk. 34

Liste des figures

Figure 1: Illustration de la diversité morphologique des cyanobactéries. Les groupes (ordres) correspondent à ceux de Rippka et al. (1979) 4
Figure 2: Schémas des cellules de (a) Chlorophyta, (b) Rhodophyta et (c) Cyanobactérie (Pignolet et al., 2019)..... 7
Figure 3: Secteurs d'application des microalgues (Toucheteau & Toucheteau, 2023). 9
Figure 4: les différents vois métaboliques des microalgues (Maia et al, 2023). 10
Figure 5: Spectre de la lumière visible (Coquille, 2018)..... 11
Figure 6: Devenir des pesticides dans l'environnement (Sciences & Stage, 2012). 16
Figure 7: les effets nocifs des pesticides sur la santé humaine et sur différents systèmes vivants (Bilal et al, 2019)..... 17
Figure 8: Voie mécaniste de la toxicité des pesticides dans le sol et les plantes (Sheng et al, 2022). . 19
Figure 9: Modes d'action des antibiotiques et principales familles d'antibiotiques (Andriamalala, 2019)..... 24
Figure 10: Présence, devenir et risque des antibiotiques dans le sol et l'eau (Jia et al, 2023)..... 25
Figure 11: les principaux mécanismes l'élimination des antibiotiques par les micro algues (de Jesus Oliveira Santos et al., 2023). 28
Figure 12: schéma représente les effets toxicologiques des antibiotiques sur les microalgues (Yu et al, 2022)..... 30
Figure 13: Observation microscopique des Spirulines à des différents agrandissements. 32
Figure 14:la culture de la spiruline..... 33
Figure 15: protocole de purification..... 38
Figure 16: Dispositif expérimental montrant l'effet de l'Erythromycines et des pesticides chez spirulines après 96 h de traitement 38
Figure 17: l'effet de BLT et ERY et leur combinaison sur le pois sec et le taux d'inhibition..... 46
Figure 18: Changements morphologiques de l'Arthrospira platensis après traitement aux pesticides et Antibiotiques. 47
Figure 19: Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en chlorophylle a de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4). 48
Figure 20: Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en chlorophylle b de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4). 49
Figure 21:Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en protéine de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4). 50
Figure 22: Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en carbohydrate de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4). 51
Figure 23: Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en lipides de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4). 51
Figure 24: Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en MDA de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4)..... 52
Figure 25: Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en H_2O_2 de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4). 53
Figure 26:Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en CAT de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4). 54
Figure 27: Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en POD de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4). 54
Figure 28 : Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en APX de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4). 55
Figure 29 : Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en GST de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4)..... 56

Liste des Abréviations :

AG : Aminoglycosides

AMX : Amoxicillin

APX : Ascorbate peroxyde

ARG : Gènes de résistance aux antibiotiques

BL : B-lactamines

BLT : Belt

BRA : Bactéries résistances aux antibiotiques

CAP : Chloramphénicols

CAT : Catalase

CBZ : Carbamazepine

CDNB : Chloro 2-4 di nitrobenzène

Chl a : Chlorophylle a

CQ : Control de qualité

DO : Oxygène dissous

EC50 : Concentration efficace demi-maximale

EDC : Endocriniens

EDTA : Acide éthyléne diamino ctétracétique

EPS : Exopolysaccharides

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

ERY : Erythromycine

FA : Fluoroquinoles

GPX : Glutathion peroxydase

GR : Glutathion réductase

GSH : Glutathion

GST : Glutathion –s-transférase

LED : Diodes électroluminescentes

LM : Macrolides

MDA : Malon dialdéhyde

N : Azote

NF : Nitrofuranes

NFX : Norfloxacine

Ns : Non significative

OMC : Les micros contaminants organiques

OMS : Organisation mondiale de la santé

OXY : Oxytétracycline dihydrate

P : Phosphore

PAM : Modulation d'amplitude d'impulsion

PEPC : Phosphoénol-pyruvate carboxylase

PN : Protéines

PPCP : Produits pharmaceutiques ou de soins personnels

PQ : Paraquat

PS : Polysaccharides

Rubis Co : La ribulose1, 5 bisphosphate carboxydese /oxygénase

SA : Sulfamides

SMZ : Sulfaméthoxazole

SOD : Superoxide dismutase

TBA : Acide tioborbiturique

TCA : Acide trichloracétique

TCA : Trouble du comportement alimentaire

TCs : Tétracycline

TPT : Triphenyltine

USEPA : United states Environnemental Protection Agency

VPP : Voie des pentoses phosphates

*** :** Significative

**** :** Hautement significative

***** :** Très hautement significative

Résumé

La contamination par les pesticides et les antibiotiques peut être très préoccupante pour l'environnement et nécessite des approches efficaces pour leur élimination. Le but de cette étude est déterminer les effets des Belt (BLT), Erythromycine (ERY) et leurs combinés du BLT+ERY après 4 jours de culture sur les paramètres morphophysiologiques (les pigments photosynthétiques) et biochimiques (MDA, H_2O_2, protéines, CAT, APX, GST, POD) des microalgues ont été étudiés. Les résultats ont montré que il y'a une diminution dans la croissance, lors de l'application individuelle de BLT et ERY. L'application combinée des pesticides et des antibiotiques encore diminué la croissance du la spiruline. Nos résultats montrent une augmentation des teneurs de MDA et une activation de système antioxydant lors de l'application individuelle de BLT et ERY. L'application combinée des BLT+ERY encore augmente la production des enzymes. Les résultats conclu que la toxicité de combiné (BLT+ ERY) est plus danger pour la croissance *d'Arthrospira Platensis* par rapport à la toxicité individuelle.

Mots clés : Belt, Erythromycine, *Arthrospira Platensis*, toxicité combinée, croissance.

Abstract

Pesticide and antibiotic contamination can be of great concern to the environment and requires effective approaches for their removal. The aim of this study is to determine the effects of Belt (BLT), Erythromycine (ERY) and their combined BLT+ERY after 4 days of culture on morphophysiological (photosynthetic pigments) and biochemical (MDA, H_2O_2, proteins, CAT, APX, GST, POD) parameters of microalgae were studied. The results showed that there is a decrease in growth, when applying BLT and ERY individually. The combined application of pesticides and antibiotics further decreased the growth of Spirulina. Our results show an increase in MDA levels and an activation of antioxidant system during individual application of BLT and ERY. The combined application of BLT+ERY further increases the production of enzymes. The results concluded that the combined toxicity (BLT+ ERY) is more dangerous for the growth of *Arthrospira Platensis* compared to the individual toxicity.

Keywords: Belt, Erythromycine, *Arthrospira Platensis*, combined toxicity, growth.

الملخص

يمكن أن يكون التلوث بمبيدات الآفات والمضادات الحيوية مصدر قلق كبير للبيئة ويتطلب مناهج فعالة للتخلص منها. الهدف من هذه الدراسة هو تحديد تأثيرات بالت و ايريترومايسين ومزيجهما بالت + ايريترومايسين من بعد 4 أيام من المعالجة على العوامل الفيزيولوجية (أصباغ التمثيل الضوئي) والبيوكيميائية (MDA، H_2O_2 ، البروتينات ، CAT، APX، GST، POD.) على الطحالب الدقيقة. أظهرت النتائج أن هناك انخفاضًا في النمو عند بالت وايريترومايسين بشكل فردي. أدى التطبيق المشترك للمبيدات الحشرية والمضادات الحيوية إلى تقليل نمو السبيرولينا. تظهر نتائجنا زيادة في مستويات MDA وتنشيط نظام مضادات الأكسدة أثناء الاستخدام الفردي لـ بالت وايريترومايسين. يزيد التطبيق المشترك لـ بالت + ايريترومايسين من إنتاج الإنزيمات. خلصت النتائج إلى أن السمية المركبة (بالت +ايريترومايسين) أكثر خطورة على نمو *Arthrospira Platensis* مقارنة بالسمية الفردية.

الكلمات المفتاحية: بالت ، الاريثروميسين ، أرثروسبيرا بلاتنسيس ، السمية المركبة ، النمو.

Table des matières

Liste des tableaux
Liste des figures
Liste des abréviations
Résumé
Abstract
الملخص
Table des matiéres
Introduction

Chapitre 01 : les microalgues

1 Définitions des microalgues 3
2 Composition 4
2.1 Acides gras polyinsaturés (AGPI) 5
2.2 Pigments 5
2.3 Glucides 5
2.4 Protéines, peptides et acides aminés 5
2.5 Vitamines 5
2.6 Polyphénols 5
2.7 Phytostérols 5
2.8 Hormones 5
3 Taxonomie et Classification 6
3.1 Les Algues vertes 7
3.2 Les Algues brunes 7
3.3 Les Algues blues 7
3.4 Les Algues rouges 7
4 Application 8
5 Le métabolisme 9
6 Facteurs influencent le développement des Microalgues 10
6.1 La lumière 11
6.2 La température 11
6.3 Les nutriments 12

Chapitre 02: les pesticides

1 Définitions 14
2 Composition 14
2.1 Une ou plusieurs substances actives 14
2.2 Un ou plusieurs additifs ou adjuvants 14
3 La classification 14
4 Effet des pesticides 15

4.1 Sur l'environnement 15
4.2 Sur la santé 16
5 Toxicité des pesticides 17
6 Dégradation microbienne des pesticides 19
7 Facteurs affectant l'impact des pesticides sur la diversité microbienne 20
8 La lutte contre les pesticides 20

Chapitre 03: les Antibiotiques

1. Définition 22
2. Classification des antibiotiques 22
3 Mécanismes d'actions des antibiotiques 22
a. Les fluoroquinolones 23
b. Les quinolones 23
c. Les macrolides 23
d. Les tétracyclines 23
4 Le risque des antibiotiques 24
a. Sur l'environnement 24
5 Présence et devenir des antibiotiques dans le sol et l'eau 25
6 Mécanismes d'élimination des antibiotiques 26
6.1 Bioadsorption 26
6.2 Bioaccumulation 26
6.3 Biodégradation 27

Chapitre 04 : Les effets des Antibiotiques et des pesticides sur les microalgues

1 Toxicité des antibiotiques pour les microalgues 29
1.1 Mécanismes des effets toxicologiques sur les microalgues 29
1.1.1 Macrolides (érythromycine et roxithromycine) 29
1.1.2 Les macrolides, les tétracyclines et les aminoglycosides 29
1.1.3 Les fluoroquinolones 29
1.1.4 La roxithromycine 30
2 Inhibition des microalgues par les antibiotiques 30
2.1 Sur la croissance 30
2.2 Sur la photosynthèse 31

Parties expérimentales: chapitre 01: matériel et méthodes

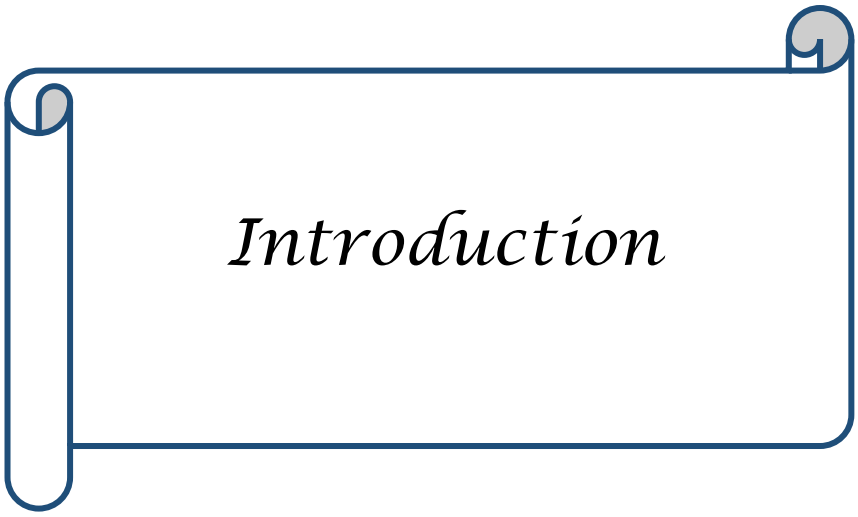
1. Organismes expérimentaux et conditions de croissance 32
1.1 Organismes expérimentaux 32

1.1.1 La spiruline 32
1.2 Incubation et entretien de la culture 33
1.3 Milieu de culture 33
1.4 Verrerie et produits chimiques 35
1.4.1 Autoclavage 35
1.5 Expériences de dépistage 35
1.6 Conception de traitement 37
2. Mesure de la croissance 38
3. Pigments photosynthétiques 39
3.1 Estimation de la chlorophylle a 39
3.2 Espèces réactives de l'oxygène (ERO) 39
3.2.1 Estimation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) 39
3.2.1.1 Estimation in vitro 39
3.3 Indices de dommages oxydatifs 40
3.3.1 Estimation de la peroxydation lipidique (teneur en MDA) 40
3.4 Système antioxydants 41
3.4.1 Antioxydants enzymatiques 41
3.4.1.1 Estimation de l'activité catalase (CAT; EC 1.11.1.6) 41
3.4.1.2 Estimation de l'activité peroxydase (POD; EC 1.11.1.7) 42
3.4.1.3 Estimation de l'activité de la glutathion-S-transférase (GST ; EC 2.5.1.18) 42
3.4.1.4 Estimation de l'activité ascorbate peroxydase (APX; EC 1.11.1.11) 43
3.5 Composants biochimiques 44
3.5.1 Estimation des protéines 44
3.5.2 Estimation des carbohydrates 45
3.5.3 Estimation des lipides 45
3.6 Analyse statistique 45

Chapitre 02: résultats

1. Effet sur le comportement de croissance et les pigments photosynthétiques 46
1.1 Comportement de croissance 46
2 Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en pigments photosynthétiques 47
2.1 Teneur en chlorophylle a 47
2.2 La teneur en chlorophylle b 48
3 Effet des BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en molécule biochimique 49

3.1 Teneur en protéine 49
3.2 Teneur en carbohydrate 50
3.3 Teneur en lipide 51
4 Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en biomarqueurs de stress oxydative 52
4.1 Peroxydation lipidique 52
4.2 Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) 52
5 Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en l'activité enzymatique antioxydant 53
5.1 Catalase 53
5.2 Activité peroxydase (POD) 54
5.3 Activité ascorbate peroxydase (APX) 55
5.4 Activité de la glutathion-S-transférase (GST) 55
Discussion
Conclusion
Références


Introduction

Les Algues sont des producteurs primaires dans les écosystèmes aquatiques qui fournissent de l'énergie et de l'oxygène aux autres organismes aquatiques (Zhou et al., 2021). L'application de pesticides (insecticides) est en vogue depuis les années 1960 afin de réduire les pertes de récoltes dues aux insectes, mais leurs résidus sont transférés dans le sol et les voies d'eau et s'accumulent chez l'homme et les animaux par le biais de la chaîne alimentaire (Hamed et al., 2022), et son utilisation continue à un effet délétère sur la microflore du sol.

Le principal composant de la microflore du sol est la cyanobactérie qui fixe principalement l'azote atmosphérique et rend le sol sain et fertile. En raison de l'utilisation excessive d'insecticides, les cyanobactéries sont confrontées à des défis qui menacent leur survie. Cependant, l'utilisation intensive de pesticides et d'antibiotiques dans l'agriculture et l'industrie pharmaceutique peut entraîner leur contamination des milieux aquatiques, exposant ainsi les microalgues à ces substances (Paerl & Huisman, 2008).

Les pesticides et les antibiotiques sont des agents stressants pour les microalgues, car ils peuvent affecter leur physiologie et leur métabolisme. Les effets des pesticides sur les microalgues peuvent inclure une diminution de la photosynthèse, une altération de la croissance et de la reproduction, ainsi qu'une perturbation de l'équilibre biochimique. Les antibiotiques, quant à eux, peuvent perturber les processus cellulaires fondamentaux, tels que la synthèse des protéines et la division cellulaire (Singhal et al., 2021).

Lorsque les pesticides et les antibiotiques sont présents simultanément, leur combinaison peut avoir des effets synergiques ou antagonistes sur les microalgues. Des interactions synergiques peuvent amplifier les effets individuels des substances, entraînant une réponse plus importante et plus dommageable pour les microalgues. D'autre part, des interactions antagonistes peuvent atténuer les effets des substances individuelles, ce qui peut être bénéfique pour les microalgues (Miazek & Brozek-Pluska, 2019).

L'objectif principal de ce travaille, a donc pour but d'étudier l'influence des pesticides et des antibiotiques sur les microalgues et leur combinant, par des expérimentations contrôlées en laboratoire vis -à- vis de micro algues en cultures mono spécifiques.

Ce manuscrit est composé de deux chapitres. Le premier chapitre est consacré à la présentation du contexte de l'étude. Il présente chaque élément étudié, à savoir, les microalgues, les antibiotiques et les pesticides ainsi que l'état des connaissances actuelles sur leurs relations et interactions. Il se termine par une présentation plus détaillée des objectifs de ces travaux de mémoire.

Le deuxième chapitre est consacré à la présentation des matériels et méthodes utilisés pour l'étude de l'influence des pesticides et des antibiotiques sur microalgues, les expérimentations réalisées ainsi que les analyses appliquées aux échantillons et le traitement des résultats.

Synthèse Bibliographique

Chapitre 01 :
Les Microalgues

1 Définitions des microalgues :

Les microalgues sont des organismes unicellulaires eucaryotes (de taille micrométrique). Ils ne possèdent pas de racines, ni tiges et ni feuilles (J. Q. Xiong et al., 2018), mais constituent un assemblage complexe et polyphylétique d'organismes (principalement) photosynthétiques qui utilisent l'eau, l'énergie lumineuse, les nutriments organiques et inorganiques et la fixation du CO_2 pour la croissance cellulaire, et sont considérés comme des sources potentielles de divers composants actifs naturels (Caetano et al., 2022). Ils sont souvent considérés comme préférant les aquatiques environnements, mais ils poussent aussi sous de nombreux habitats terrestres non-aqueux, y compris les sols, rochers, grottes, bâtiments modernes et même des animaux et des plantes vivantes (J. Q. Xiong et al., 2018).

Les microalgues sont désignent des organismes très différents en termes d'origine, composition chimique et morphologie (Caetano et al., 2022). Elles sont des micro-organismes photo autotrophes qui comprend des espèces de plusieurs phylums. Elles sont prometteurs dans la production d'une variété de produits, y compris des aliments, des compléments alimentaires, des produits chimiques et des biocarburants (Nilam et al., 2023). Les espèces de microalgues couramment utilisées pour les productions commerciales comprennent *Isochrysis sp*, *Chaetoceros* (*Chlorella sp*.), *Arthrospira sp*. (Spiruline Bioactive) (Nilam et al., 2023). Ils devenant l'un des ensembles d'organismes les plus diversifiés de la planète (Caetano et al., 2022).

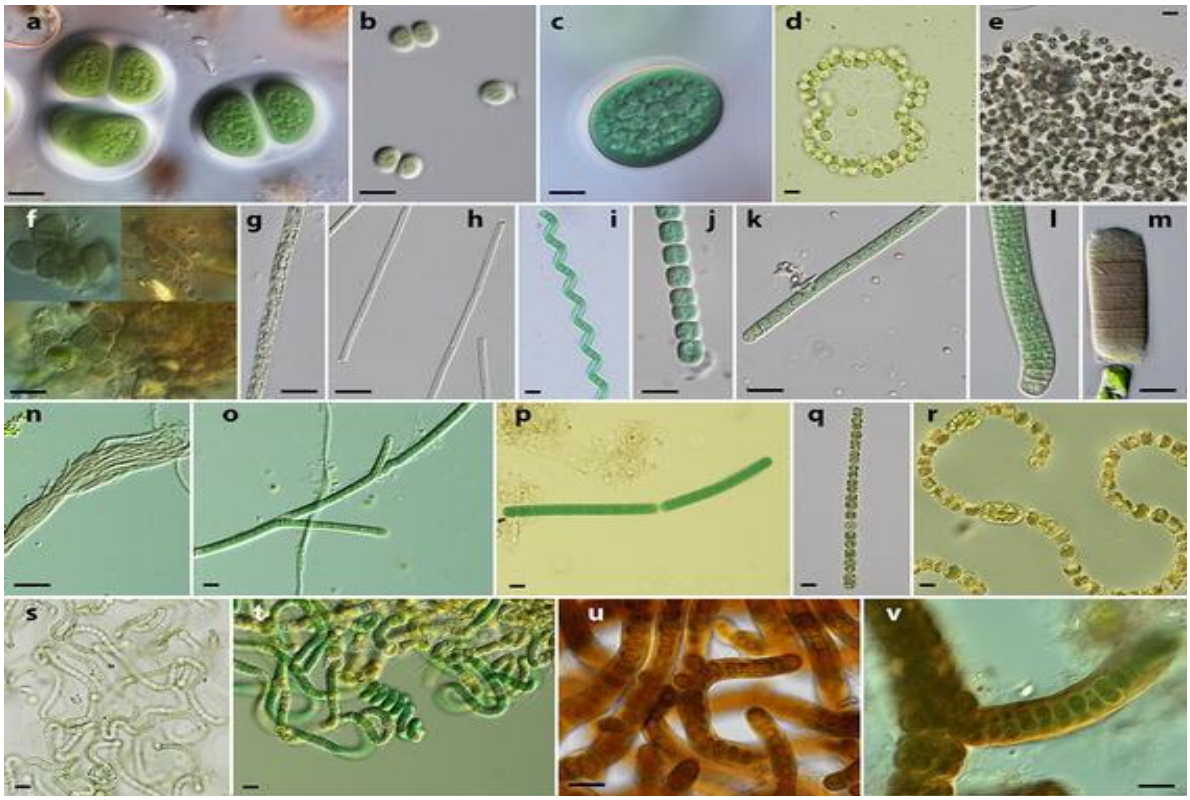


Figure 1: Illustration de la diversité morphologique des cyanobactéries. Les groupes (ordres) correspondent à ceux de Rippka et al. (1979). **I. Chroococcales** : **a** *Chroococcus subnudus*, **b** *Ch. limneticus*, **c** *Cyanothece aeruginosa*, **d** *Snowella litoralis*, **e** *Microcystis aeruginosa.* **II. Pleurocapsales** *:* **f** *Pleurocapsa minor*. **III. Oscillatoriales** *:* **g** *Planktothrix agardhii*, **h** *Limnothrix redekei*, **i** *Arthrospira jenneri*, **j** *Johanseninema constricum*, **k** *Phormidium sp*, **l, m** *Oscillatoria sp*, **n** *Schizothrix sp*, **o** *Tolypothrix sp*, **p** *Katagnymene accurata*, **IV. Nostocales***:* **q** *Dolichospermum planctonicum*, **r** *Dolichospermum sp.*, **s** *Nostoc sp.*, **t** *Nodularia moravica*. **V. Stigonématales** *:* **u, v** *Stigonema sp*. Barre d'échelle a-u = 10 µm, v = 20 µm (Dvor et al., 2015).

2 Composition :

Les microalgues peuvent être divisé en plusieurs sous-catégories car ils couvrent un très large éventail de composés bioactifs (Levasseur et al, 2020). Ces composées bioactives sont divisées en :

2.1 ***Acides gras polyinsaturés (AGPI) :*** Il existe deux groupes principaux de lipides dans les microalgues : les lipides produits par la photosynthèse et stockés dans la cellule, appelés lipides de stockage (principalement des triglycérides) et les lipides faisant partie intégrante de la structure cellulaire, appelés lipides de structure (phospholipides et stérols) (Levasseur et al, 2020).

2.2 ***Pigments :*** Les microalgues incluent des pigments photosynthétiques dans leur composition. Ces derniers sont classés en trois groupes **:** les chlorophylles, les caroténoïdes et les phycobiliprotéines responsables des couleurs vertes, jaune/orange et rouge/bleu (Levasseur et al, 2020).

2.3 ***Glucides :*** Les hydrates de carbone sont synthétisés de manière intracellulaire et représentent la majeure partie des composés issus de la photosynthèse. Leur contenu peut atteindre jusqu'à 50 % du poids sec de certaines microalgues (Levasseur et al, 2020).

2.4 ***Protéines, peptides et acides aminés :*** Les microalgues ont également une composition riche et variée en acides aminés (Levasseur et al, 2020).

2.5 ***Vitamines :*** Les microalgues sont une source alimentaire primaire essentielle pour élevage de tous les stades des mollusques bivalves marins, les larves de plusieurs espèces de poissons marins et de crevettes, ainsi que du zooplancton leur fournissant des apports nutritionnels (Levasseur et al, 2020).

2.6 ***Polyphénols :*** Constituent un vaste groupe de métabolites secondaires comprenant les acides phénoliques, les flavonoïdes, les isoflavonoïdes, les stilbènes, les lignanes et les polymères phénoliques (Levasseur et al, 2020).

2.7 ***Phytostérols :*** Les stérols sont des composants de la membrane cellulaire qui agissent sur sa stabilité, perméabilité et la fluidité en contrôlant le mouvement des microalgues (Levasseur et al, 2020).

2.8 ***Hormones :*** La plupart des lignées de microalgues sont capables de produire des phytohormones. Parmi les phytohormones classiques, il y a auxine, acide abscissique, la cytokinine, éthylène, les gibbérellines, les polyamines, les jasmonides, les salicylates, les peptides de signalisation et les brassinostéroïdes (Levasseur et al, 2020).

3 Taxonomie et Classification :

Le terme microalgues regroupe les algues microscopiques et les bactéries photosynthétiques. Traditionnellement, les microalgues sont classées selon leur pigments photosynthétiques (Levasseur et al., 2020) et le séquençage de l'ADN axé sur taxonomie de niveau supérieur. Les avantages de l'identification basée sur l'ADN peuvent fournir une analyse quantitative et sensible, effectuer plusieurs tests à la fois et haute détection spécificité des microalgues (Chong et al., 2022). Pourtant, les systèmes actuels de classification prennent compte d'autres critères, parmi lesquels cytologiques et caractères morphologiques, constituants de la paroi cellulaire et nature chimique des produits de stockage. Sur la base de ces caractéristiques, certaines méthodes sont couramment employées pour identifier et classer les espèces d'algues, y compris les observations morphologiques au microscope, la classification moléculaire à l'aide de séquences de gènes courtes ou plus récemment classification semi-automatisée (Levasseur et al, 2020).

Actuellement, il n'y a pas de consensus parmi les taxonomistes du monde entier pour utiliser une classification plutôt qu'une autre. Cependant, un des derniers modèles de classification comprend deux domaines principaux, Prokaryota et Eukaryota regroupant sept règnes : Archaebacteria, Eubacteria, Protozoa, Chromista, Fungi, Plantae et Animalia (Levasseur et al., 2020).

Selon De Reviers (2003), il existe 9 embranchements d'algues qui possèdent tous un pigment en commun : *la chlorophylle a*. Parmi ces 9 embranchements il existe 4 grands groupes : *les algues bleues* ou *cyanobactéries*, *les algues brunes* ou *Pheophycées*, *les algues vertes (Streptophycées et Chlorophycées*), et enfin *les algues rouges* ou *Rhodophycées* (Des et al., 2012) :

3.1 ***Les Algues vertes*** : Les Chlorophycées possèdent des flagelles et de la chlorophylle a et b et des caroténoïdes. Elles peuvent se reproduire par simple division cellulaire par reproduction sexuée, ou par sporulation (Coquille, 2018).

3.2 ***Les Algues brunes :*** sont des macroalgues visible à l'oille nu et de taille variable et possèdent chlorophylles *a* et *c* (Des et al., 2012).

3.3 ***Les Algues blues :*** elles ne possèdent pas certains organites intracellulaires propres aux eucaryotes (noyau, mitochondrie chloroplaste) et sont capables de réaliser une photosynthèse aérobie (Becerra-celis, 2010).

3.4 ***Les Algues rouges :*** sont des macroalgues, de taille variable, eucaryotes et de couleur rouge et synthétisent parfois de la chlorophylle d (Des et al., 2012).

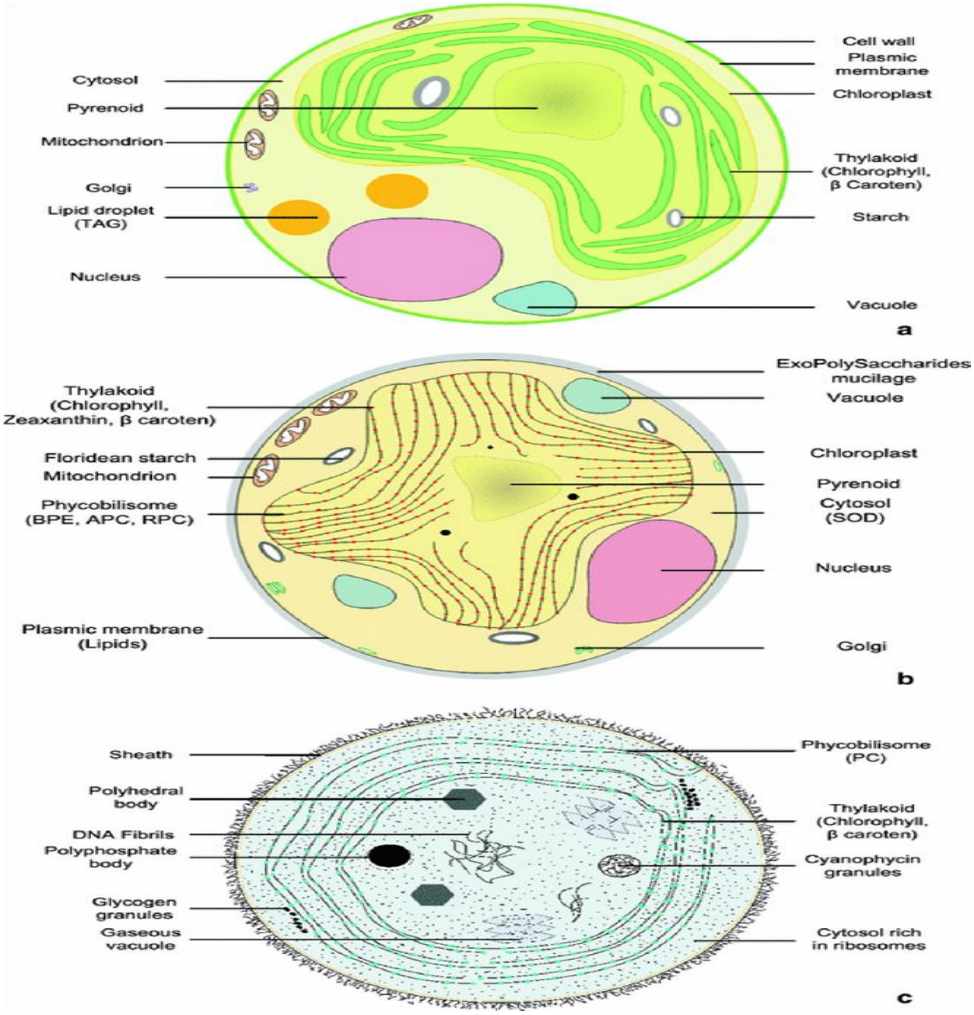


Figure 2: Schémas des cellules de (a) Chlorophyta, (b) Rhodophyta et (c) Cyanobactérie (Pignolet et al., 2019).

4 Application :

Les microalgues sont considérées comme des choix écologiques et durables dans le traitement des eaux usées, et candidats potentiels pour éliminer le fardeau de la récolte de combustibles fossiles, la séquestration du CO_2, une source renouvelable de production de biocarburants et la production de molécules à haute valeur ajoutée tel que les biofertilisants (Cao et al., 2023; Levasseur et al., 2020).

Les cyanobactéries et les microalgues vertes peuvent améliorer la capacité d'adsorption des métaux lourds dans leurs cellules (Cao et al., 2023). Ils constituent le composant de base des chaînes alimentaires dans les écosystèmes de la planète. En outre, ils sont les principaux producteurs d'oxygène et contribuent à environ 40 % de la photosynthèse mondiale (Levasseur et al., 2020). La biotechnologie des microalgues n'a cessé de monter en puissance. Aujourd'hui, elle peut être divisée en quatre grands domaines de recherche (Levasseur et al., 2020).

Les microalgues peuvent également fixer facilement le dioxyde de carbone de l'atmosphère, ce qui contribue à la séquestration du dioxyde de carbone, avec une remédiation simultanée des eaux usées et la production de biocarburants mais aussi l'assainissement de plusieurs autres polluants toxiques comme les pesticides (Singh et al., 2021)

- ✓ Le potentiel de leur composition en macronutriments (riche en glucides et protéines) pour la production de bioplastiques(Levasseur et al., 2020).
- ✓ Leur potentiel de croissance sur les eaux usées et d'incorporation des polluants dans leur métabolisme en tant que nutriments (Levasseur et al., 2020).
- ✓ Le site d'élimination des produits pharmaceutiques des eaux usées et autres milieux aquatiques (Jesus et al., 2022).
- ✓ Leur utilisation comme biofertilisant en raison de leur profil riche en micronutriments (azote, potassium et phosphore) (Levasseur et al., 2020).

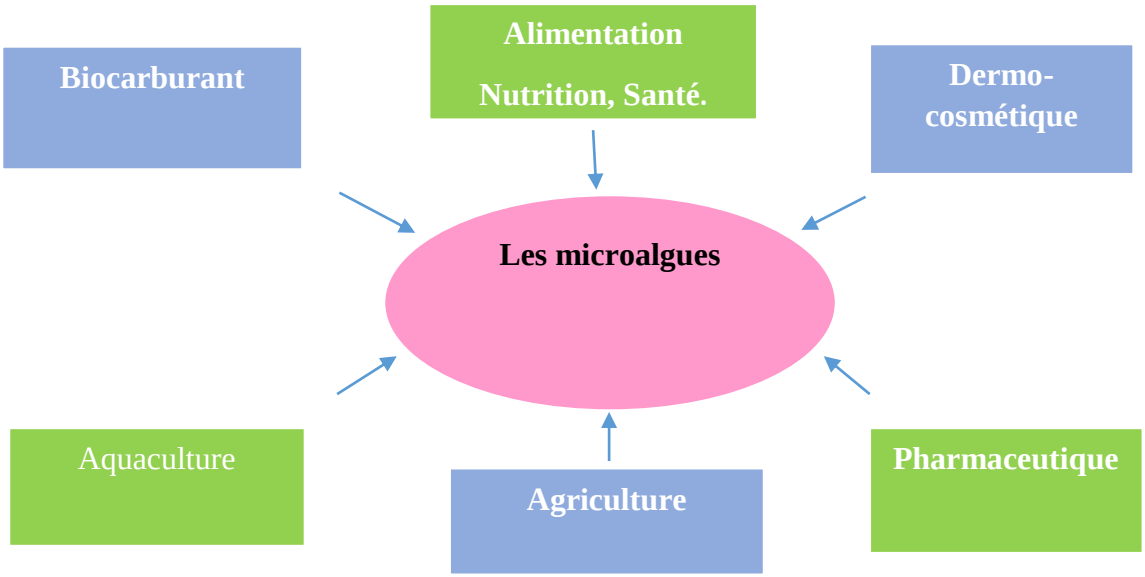


Figure 3: Secteurs d'application des microalgues (Toucheteau & Toucheteau, 2023).

5 Le métabolisme :

Selon les conditions environnementales, certaines espèces de microalgues, telles que ***Chlorella, Chlamydomonas*** et ***Scenedesmus***, peuvent se développer sous conditions autotrophes, hétérotrophes et mixotrophes. Par conséquent, ces espèces peuvent métaboliser à la fois les composés organiques et inorganiques comme source de carbone pour la croissance des cellules (Maia et al., 2023). Ils synthétisent leur propre matière organique à partir de la réduction de dioxyde de carbone et d'une source d'énergie externe, les photons apportés par la lumière, via le processus de photosynthèse (Coquille, 2018).

La photosynthèse a lieu dans le chloroplaste (Burlacot, 2019), en l'absence de lumière les microalgues subissent une hétérotrophie, métabolisant les composés organiques (Maia et al., 2023) (réaction sombre). En présence de lumière, les microalgues peuvent transiter entre autotrophie (réaction claire) (Coquille, 2018). Si les microalgues sont cultivées sous conditions autotrophes, ils convertiront le carbone inorganique (CO_2) en la matière organique et effectuer la photosynthèse et utilisera la lumière du soleil comme source d'énergie (Maia et al., 2023).

En revanche, en culture mixotrophe, les microalgues utilisent les deux types de sources de carbone (organique et inorganique) pour la croissance cellulaire, en utilisant également la lumière. Dans ce cas, les micro-organismes synthétisés des composés issus du métabolisme photosynthétique et hétérotrophe (Maia et al., 2023).

L'objectif principal de la glycolyse est la transformation de glucose en pyruvate qui est converti en acétyl-CoA, entrant le cycle TCA sur les mitochondries chez les eucaryotes ou le cytosol chez les procaryotes (Maia et al., 2023). Le cycle TCA oxyde complètement l'acétyl-CoA, fournissant des précurseurs pour la biosynthèse des glucides, des acides gras et des acides aminés, en plus de produire de l'énergie. D'autre part, le VPP est une voie métabolique importante pour le métabolisme cellulaire, en parallèlement à la glycolyse (Maia et al., 2023). Cette voie génère du NADPH et les pentoses, utilisés dans la synthèse des nucléotides et la biosynthèse des acides aminés aromatiques et vitamines. Dans le métabolisme autotrophe, le processus photosynthétique qui se produit dans le chloroplaste peut être divisé en deux phases, réactions lumineuses et réactions sombres (Maia et al., 2023).

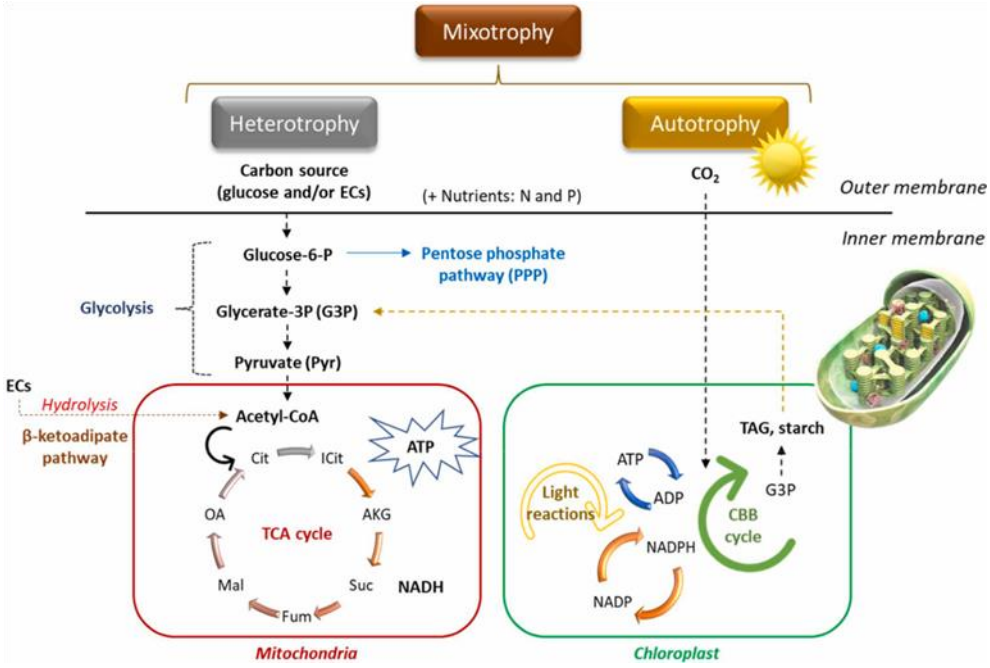


Figure 4: les différents vois métaboliques des microalgues (Maia et al, 2023).

6 Facteurs influencent le développement des Microalgues :

L'influence de divers facteurs (la température, les nutriments) sur la croissance des microalgues dans le système de culture en suspension a été soigneusement étudié. En raison de l'environnement de croissance différent des microalgues en suspension, ces facteurs d'influence pourraient avoir des effets différents dans le système de microalgues attachées (Zhuang et al., 2018).

6.1 La lumière :

La lumière a des effets sur le développement et les activités physiologiques des microalgues (Papry et al., 2022) et peut fournir l'énergie nécessaire pour faire face aux effets inhibiteurs (Lacroux et al., 2023). L'intensité lumineuse optimale pour la croissance maximale se situait entre 30 et 365 µmol/s selon les systèmes de culture utilisé (Papry et al., 2022). Le développement des microalgues est conditionné à la fois par la quantité de lumière reçue, et par sa qualité (composition spectrale) et sa durée d'exposition (photopériode).

Dans l'environnement naturel, sur la totalité de l'énergie solaire atteignant la Terre, seule la lumière visible est utilisable par les organismes photosynthétiques. Sa gamme de longueur d'onde, qui s'étend de 400 (violet) à 700 nm (rouge) correspond donc aux rayonnements photosynthétiquement actifs (Coquille, 2018).

La quantité et la qualité de la lumière incidente qui arrive jusqu'aux eaux de surface varient selon la qualité de l'air, la couverture nuageuse, le moment de la journée et de l'année (Coquille, 2018).

D'autre part, en raison de l'importance de la qualité du spectre sur le développement algal, la culture des microalgues est souvent réalisée sous un éclairage artificiel constitué par des tubes fluorescents ou des diodes électroluminescentes (LED) permettant de diffuser une lumière blanche de type "jour" (Coquille, 2018).

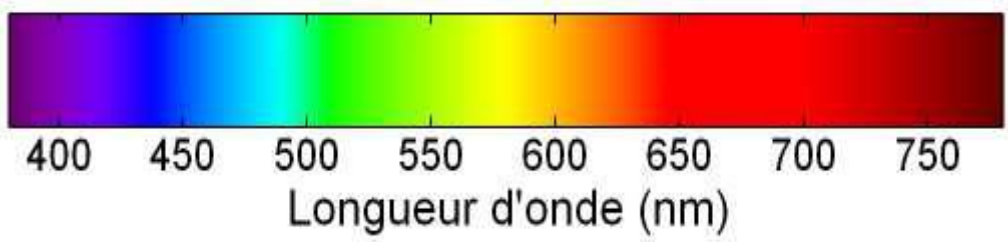


Figure 5: Spectre de la lumière visible (Coquille, 2018).

6.2 La température :

La température est un facteur important qui joue un rôle significatif dans le maintien de l'équilibre des écosystèmes aquatiques. L'augmentation de la température de l'eau peut amplifier les activités microbiennes, diminuant ainsi la teneur en oxygène dissous (DO). L'intensité de divers processus biologiques tels que la photosynthèse, la respiration et la décomposition des déchets dépend de la température (Singh et al., 2021).

La croissance et le développement des microalgues sont largement influencés par les variations de température (Papry et al., 2022) en raison de son influence sur la plupart des réactions biologiques catalysées par des enzymes aux optimums thermiques variables (Coquille, 2018) ainsi que sur la croissance, le développement et la composition chimique des cyanobactéries (Papry et al., 2022) comme *Scenedesmus sp* peuvent bien se développer dans une gamme de température allant de 10 à 40 ˚C tandis que *Spirulina Plantesis* montre une croissance efficace à 35 ˚C (Singh et al., 2021).

Ainsi, les microalgues sont capables de se développer dans les eaux usées à haute température et peuvent devenir des micro-organismes vitaux pour la remédiation des contaminants à haute température (30-40 ˚C) (Singh et al., 2021).

Une augmentation de la température corrélée à une augmentation de l'ensoleillement, et associée à une concentration élevée en sels nutritifs et permet le développement microalgal (Coquille, 2018).

6.3 Les nutriments :

Un autre facteur environnemental important qui régule la croissance et le développement des microalgues aquatiques est la concentration en nutriments dans le milieu de culture ou environnemental tels que: azote, phosphore, silice, oligo-éléments et vitamines pour la synthèse de diverses biomolécules telles que les acides nucléiques et les acides aminés (Lacroux et al., 2023).

Une carence en azote favorise la formation des lipides chez des nombreuses espèces de microalgues (Papry et al., 2022). Dans des rapports élevé en C:N:P, les taux de croissance ont tendance à diminuer au profit des composés de stockage du carbone tels que les lipides et les hydrates de carbone (Lacroux et al., 2023)

Une réduction significative de la croissance et de la biomasse a été enregistrée avec des concentrations limitant de N et de P.

les changements dans les macronutriments (le carbone, l'azote et le phosphore) à différentes concentrations améliorent le taux de croissance et les compositions biomoléculaires, telles que la teneur en chlorophylle, en protéines, en glucides et en lipides (Papry et al., 2022).

Tableau 1:Sels nutritifs nécessaires à la croissance des microalgues (ainsi que leurs rôles) dans l'environnement naturel et artificiel (Coquille, 2018).

Eléments	Rôle
Azote (N)	Elément essentiel au métabolisme cellulaire, c'est un constituant des acides aminés, protéines, acide nucléique, nucléotides, vitamines, chlorophylle, chromophores...
Phosphore (P)	Intervient dans de nombreuses fonctions physiologiques et dans la synthèse de nucléotides, phospholipides, coenzymes, sucres phosphatés et autres composés phosphorylés. C'est un constituant structural de nombreuses molécules (protéines, polysaccharides, ARN, ADN, ATP, lipides,...).
Silice (Si)	il contribue au maintien des propriétés mécaniques des parois cellulaires de nombreuses espèces de microalgues (rigidité, élasticité) .
Sulfure (S)	Un des principaux constituants des cellules algales (quantité similaire au phosphore). C'est un élément rentrant dans la composition de nombreux composants fonctionnels et structurels (acide aminés, glutathion, vitamines, constituant de la paroi cellulaire,…).
Calcium (Ca)	Elément impliqué dans de nombreux processus biologiques (calcification, mobilité,…).
Potassium (K)	Cofacteurs de plus de 40 enzymes, il participe également au maintien de l'électroneutralité de la cellule.
Fer (Fe)	Intervient dans la synthèse de la chlorophylle et réactions enzymatiques.
Manganèse (Mn)	Intervient dans l'activation de nombreuses enzymes et dans le maintien de la structure membranaire des chloroplastes. Il a également un rôle important dans la photosynthèse des microalgues car élément constitutif de la chlorophylle.
Cuivre (Cu)	Intervient comme catalyseur et dans le devenir de l'O_2 et la déshydrogénation de l'H_2O dans le lumen des thylakoïdes.
Zinc (Zn)	Intervient dans la réplication et la polymérisation des acides nucléiques et est impliqué dans de nombreuses autres fonctions métaboliques. C'est un constituant des ADN et ARN polymérases.
Cobalt (Co)	Intervient dans les réactions de transfert de l'oxygène et hydrogène. Composant de la vitamine B12.

Chapitre 02 :
Les Pesticides

1 Définitions :

Le pesticide est définis selon l'US EPA (United States Environnemental Protection Agency), « toutes substance ou mélange des substances destiné à prévenir, détruire, repousser ou atténuer tout organisme nuisible » (Shahid & Khan, 2022).

Le terme de pesticides englobe les produits phytosanitaires et les biocides (Chaumet & Kim-tiam, 2019). Ce sont des substances (mixtes) qui sont nocifs et efficace contre les organismes cibles alors qu'ils sont sans danger pour l'environnement et les organismes non ciblés (Shahid & Khan, 2022). Ils sont synthétisés naturellement ou chimiquement et largement utilisés pour contrôler les mauvaises herbes nuisibles (herbicides), les champignons(fongicides), les bactéries (bactéricides) et les infestations d'insectes (insecticides) dans le domaine agricole, augmenter et améliorer le rendement des cultures en 30 % (Sheng et al., 2022).

2 Composition : Un pesticide est constitué de deux types des substances :

2.1 ***Une ou plusieurs substances actives:*** la directive 91/414/CEE du 15 juillet 1991, est définit comme des substances ou micro-organismes, y compris les virus exerçant une action générale ou spécifique sur les végétaux, parties de végétaux ou produits végétaux ou sur les organismes nuisibles (Amara, 2012). Ce sont des substances qui confèrent au produit l'effet désiré (Amara, 2012 .Des et al., 2012).

2.2 ***Une ou plusieurs additifs ou adjuvants:*** sont des substances dépourvues d'activité biologique (Des et al., 2012) renforcent la sécurité du produit (répulsifs, vomitifs…) et l'efficacité (épaississants, solvants, agents mouillants tels que les dérivés du nonylphénol) (Amara, 2012), mais susceptibles de modifier les qualités du pesticide et faciliter son utilisation (Des et al., 2012).

3 La classification : Il existe de nombreuses façons de classer les pesticides (Mamane, 2015) .

- ✓ en fonction de leur cible en grandes catégories: ●***Les fongicides*** ●***Les insecticides*** ● ***Les herbicides*** (Mamane, 2015) .
- ✓ Sur la base de leur composition chimique et de leur structure, les pesticides sont classés en plusieurs groupes :● ***organochlorés*** ●***organophosphorés*** ●***carbamates*** ●***pyréthriniodes***, (tableau 2) (Shahid & Khan, 2022).

- ✓ En outre, les pesticides, considérés comme partie intégrante de l'agriculture moderne peuvent être classés sur la base de : ●composition chimique et formulation, ●mode de pénétration dans l'organisme nuisible cible, ●spectre d'activité sur l'organisme nuisible cible, ●toxicité ●persistance dans le sol ●comportement de volatilisation (Shahid & Khan, 2022).

Tableau 2: la classification chimique des pesticides et leur application (Shahid & Khan, 2022).

Classe	**Utilisé comme**	**Environnement Persistance**	**Quelques exemples des produits commerciaux**	**Mode de pénétration dans l'organisme nuisible cible**
Organochlorés	Soit des insecticides Soit des fongicides	Long	Insecticides : Heptachlor, Endosulfan Fongicides : Captan, Chloroneb	Contact
Organophosphoré	Soit des insecticides Soit des herbicides.	Modérée à longue	Insecticides : Chlorpyrifos, Diazinon Herbicides : Glyphosate, Fosamine.	Contact Estomac Poison
Carbamates	Insecticides, fongicides ou Herbicides.	Modérée	Insecticides : Carbaryl, Mexacarbate Fongicides : Thiram, Mancozeb Herbicides : Asulam, Terbucarb.	Contact/ Estomac Poison
Pyréthriniodes	Insecticides	Modérée	Bifenthrine, Cyperméthrine.	Contact

4 Effet des pesticides :

4.1 Sur l'environnement :

Les pesticides sont largement appliqués sur les terres agricoles pour gérer, tuer les organismes cibles et pour prévenir les dommages économiques aux cultures. Après l'application pesticides, les résidus de pesticides peuvent rester dans les cultures et

peuvent être transportés et bio accumulés dans d'autres compartiments environnementaux, y compris les sols agricoles, l'air et les réseaux trophiques (Li, 2022).

Certains chercheurs montrent que 99,7% des pesticides utilisées ont des conséquences nocives sur les espèces vivantes comme des malformations, des raréfactions des sources de nourriture, des modifications de comportement et empoisonnement direct et indirect. Les espèces au sommet de la chaine alimentaire (mammifères, oiseaux) et les insectes sont les plus touchés par les pesticides (Bouagga & Chaabane, 2015) .



Figure 6: Devenir des pesticides dans l'environnement (Sciences & Stage, 2012).

4.2 Sur la santé :

Il est estimé que dans le monde, la santé d'au moins trois millions de personnes est délétèrement affectée par l'exposition aux pesticides chaque année. Des études ont montré que le foie, les poumons, l'estomac, les reins, la peau et les cancers de l'estomac sont corrélés à l'exposition chronique à certains pesticides dans la vie quotidienne. Les résidents ruraux, vivant à proximité des zones agricoles, ont de fortes chances d'être exposés aux résidus de pesticides via voies d'exposition multiples, entraînant des risques accrus pour la santé (Li, 2022).

Association étroite de pesticides est associée à divers troubles de santé et tumeurs malignes telles que leucémie, maladie de Parkinson, maladie de Hodgkin, lymphome non hodgkinien, Lymphome de Burkitt, respiratoire, reproducteur et endocrinien troubles (Bilal et al., 2019). Selon l'OMS (2002), De nombreux pesticides ont été documentés comme composés perturbateurs endocriniens (EDC), qui interfèrent avec les systèmes endocriniens, entraînant des conséquences dévastatrices sur les processus physiologiques, c'est-à-dire la croissance, le développement et la reproduction dans les organismes ou leur progéniture (Bilal et al., 2019).

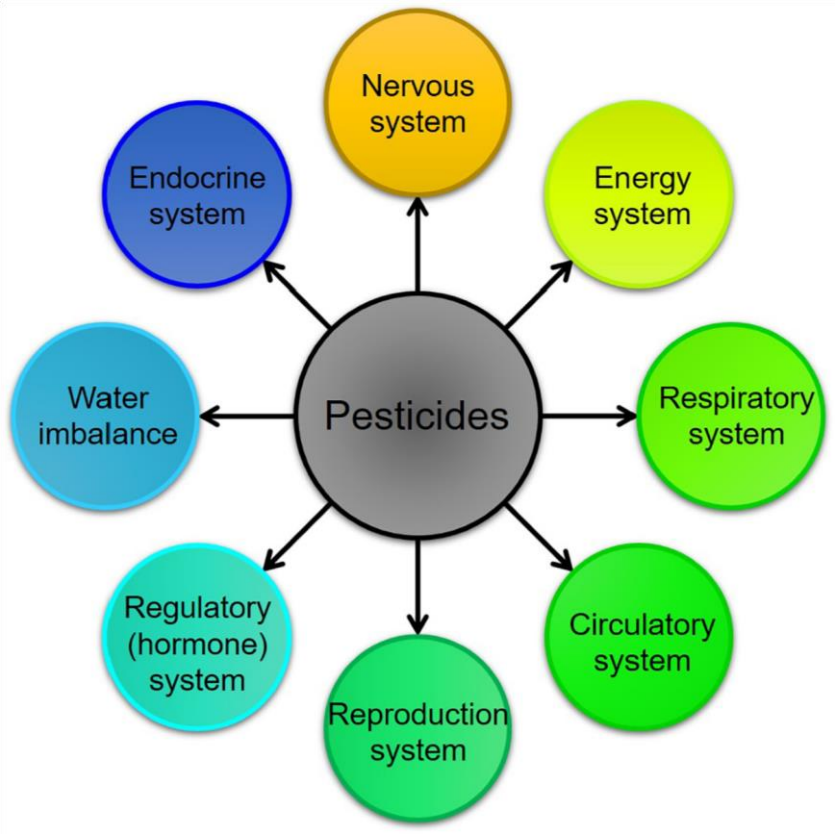


Figure 7: les effets nocifs des pesticides sur la santé humaine et sur différents systèmes vivants (Bilal et al, 2019).

5 Toxicité des pesticides :

Utilisation excessive et incontrôlée de pesticides sur différentes espèces de cultures entraîne des effets nocifs, et crée un déséquilibre dans la biodiversité de l'ensemble de l'écosystème. La voie mécanistique des pesticides à partir du moment de l'application suivie d'une photo dégradation, absorption par les parties de la plante (tige, feuilles ou fruits) ou sorption au niveau du sol (Sheng et al., 2022). Une fois que

les pesticides atteignent le sol, ils subissent plusieurs processus de biodégradation ; décomposition chimique (pH, humidité et température) et la dégradation biologique (enzymes de micro-organismes) (Sheng et al., 2022).

Les résidus de pesticides et les sous-produits de dégradation sont absorbés par les racines via le xylème dans toutes les parties de la plante, provoquant effets délétères sur le sol et la plante. Ces effets comprennent surproduction de ERO, stress oxydatif, dommages à l'ADN, blocage de la photosynthèse, la nécrose, la chlorose, la torsion des feuilles et finalement mort des plantes (Sheng et al., 2022).

Parmi les effets toxiques les plus courants des pesticides (insecticides, herbicides et fongicides) sur le sol et les plantes peuvent être résumés dans le tableau (Sheng et al., 2022).

***Tableau 3** : l'effet toxique des pesticides sur le sol et la plante (Sheng et al, 2022).*

Le type de pesticide	Le sol	La plante
Insecticides	Destruction des protéines structurelles, attributs symbiotiques réduction, modification de la chimie du sol et l'activité enzymatique.	Réduction de la teneur en de protéines des grains, blocage de la conductance et des altérations du processus de photosynthèse
Herbicides	Réduction du sol disponibilité des nutriments et suppression de la phosphatase et Nitrogénase	L'altération des physiologiques et biochimique de la plante efficacité, augmentant la susceptibilité des plantes aux maladies
Fongicides	Interruption de phosphatase, uréase, et déshydrogénase et l'inhibition des bactéries nitrifiantes.	L'altération physiologique et biochimique de la plante, l'augmentant la susceptibilité des plantes aux maladies

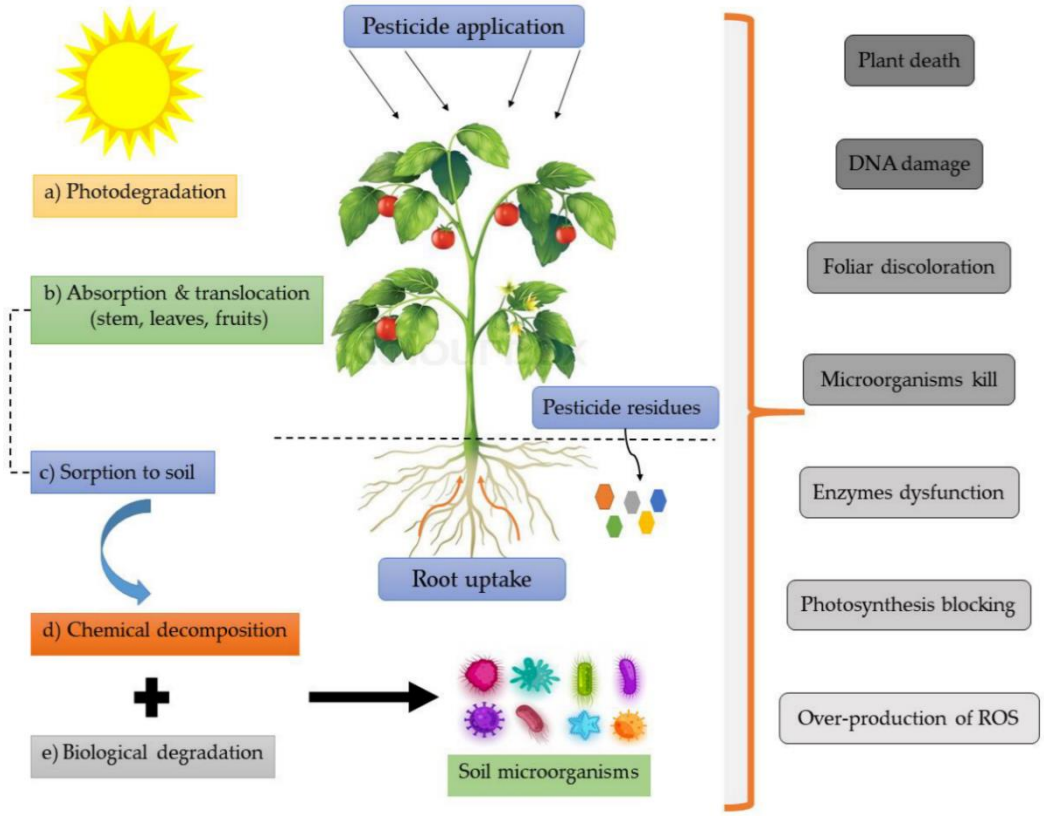


Figure 8: Voie mécaniste de la toxicité des pesticides dans le sol et les plantes (Sheng et al, 2022).

6 Dégradation microbienne des pesticides :

La biodégradation microbienne des pesticides s'est avérée être une solution sûre, polyvalente et économiquement avantageuse pour l'assainissement des sites contaminés (Sheng et al, 2022). La capacité microbienne de dégradation des pesticides dépend de la présence de différentes enzymes et de la diversité des voies métaboliques qui assurent soit une dégradation primaire ou une décomposition et une minéralisation complètes de la substance en molécules simples (Sheng et al, 2022). De même, dans les plans d'eau, les microalgues constituent une approche prometteuse pour l'élimination de divers contaminants, parmi lesquels les pesticides. La biorestauration par les microalgues peut être soit active par un mécanisme nécessitant de l'énergie, soit passive par un mécanisme physicochimique entre les composants de la paroi cellulaire et les structures chimiques des pesticides (Sheng et al, 2022).

7 Facteurs affectant l'impact des pesticides sur la diversité microbienne :

En plus de la persistance, de la concentration, de la toxicité et de la biodisponibilité du pesticide pulvérisé, une variété de facteurs environnementaux influencent l'impact toxique des pesticides sur la diversité microbienne (Shahid & Khan, 2022). La biodisponibilité des pesticides dans l'environnement du sol est un élément important qui affecte la diversité globale des microbes du sol. Les processus d'adsorption et de désorption modifient la concentration de contaminants dans la solution du sol, ce qui affecte sa biodégradabilité, la bioactivité et la biodisponibilité dans l'environnement du sol .Dans une étude, les effets nocifs du chlorpyrifos et du quinalphos (insecticides) se sont avérés plus prononcés dans le sol (Shahid & Khan, 2022).

8 La lutte contre les pesticides :

Les produits agrochimiques sont des matériaux indispensables à la production agricole, utilisés pour contrôler ou prévenir les maladies, les insectes et les mauvaises herbes, et jouent un rôle important pour assurer à la fois la sécurité alimentaire et la sécurité sanitaire des aliments (Y. Wu et al., 2022). Pendant ce temps, les négatifs impacts des pesticides synthétiques modernes sur les humains et l'environnement ne pouvaient être négligés. Ainsi, la fabrication, l'enregistrement, l'application et la surveillance des pesticides doivent être strictement contrôlés pour garantir leur commercialisation de la qualité et la sécurité des produits pour la santé humaine ainsi que pour l'environnement. Cette revue résume les chimies analytiques impliquée dans l'analyse de contrôle de la qualité (CQ) pour la formulation commerciale, l'analyse des résidus, évaluation des risques alimentaires et perspectives de réglementation des pesticides. Les principaux concepts, contenus de pesticides et la chimie analytique sont présentées et analysées de manière exhaustive. En outre, les exigences et les critères des directives pertinentes de diverses organisations sont discutées (Y. Wu et al.,2022).

Chapitres 03 :
Les Antibiotiques

1. Définition :

Les antibiotiques sont des substances ayant une activité antibactérienne qui tuée les bactéries ou en empêchant leur croissance, antifongique ou antiparasitaire (Q. Xiong et al., 2021). Ils représentent la famille de médicament la plus utilisée en santé humaine et animale pour la prévention et le traitement des maladies infectieuses (N. Wang et al., 2023) et améliorer les résultats des soins de santé après leur création, ainsi que dans les d'élevage pour favoriser la croissance (Q. Xiong et al., 2021).

La contamination croissante des écosystèmes aquatiques par les antibiotiques est préoccupations de chercheurs parce qu'il peut non seulement causer des effets écologiques néfastes sur divers organismes environnementaux, mais induisent également certains micro-organismes pour produire des gènes de résistance aux antibiotiques (ARG) (Liu et al., 2022). Des douzaines d'antibiotiques ont été appliqués aux animaux aquatiques pour diverses le traitement et la prévention des maladies, dont près des deux tiers sont des agents bactériostatiques à large spectre actifs contre les bactéries Gram positifs et les bactéries Gram-négatives (Yu et al., 2022). Ils sont utilisés pour diverses applications médicales: santé humaine, vétérinaire, agriculture et aquaculture (Mezghich, 2020).

2. Classification des antibiotiques :

La classification des familles des antibiotiques se fait selon : la structure chimique, le mode d'action et le spectre d'activité (Mezghich, 2020), c'est pour ça ces antibiotiques peuvent être répartis en huit catégories, soit les sulfamides (SA), fluoroquinolones (FQ), macrolides (LM), chloramphénicols (CAP), tétracyclines (TCs), β-lactamines (βL), nitrofuranes (NF) et aminoglycosides (AG) (Yu et al., 2022).

3 Mécanismes d'actions des antibiotiques :

Il existe un grand nombre d'antibiotiques différents dont les mécanismes d'action sont variés (Girard et al., 2017). Le mécanisme d'action des antibiotiques dépendra de leur structure chimique (Andriamalala, 2019). Parmi les catégories d'antibiotiques.

a) ***Les sulfamides :*** ont été les premiers être utilisé systématiquement pour la protection contre les maladies infectieuses, ils peuvent affecter

la synthèse des précurseurs d'acide nucléique ont donc un fort effet inhibiteur sur la reproduction bactérienne (Yu et al., 2022).

b) ***Les pénicillines :*** qui inhibent la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne (Girard et al., 2017).

c) ***Les fluoroquinolones :***Ont un effet antibactérien en bloquant la synthèse d'ADN hélicase de la bactérie et la prévention de la division cellulaire, et ont été largement utilisé contre les maladies urogénitales/gastro-intestinales et les infections des bactéries Gram négatives dues à un bon effet bactériostatique, large spectre et faible toxicité (Yu et al., 2022).

d) ***Les quinolones :*** inhiber la synthèse de l'ADN bactérien (Girard et al., 2017).

e) ***Les macrolides :*** peuvent inhiber la synthèse des protéines bactériennes et sont couramment appliqués macrolides comprennent l'azithromycine, la clarithromycine, l'érythromycine, roxithromycine (Yu et al., 2022).

f) ***Les tétracyclines :***sont à large spectre antibiotiques produits par des actinomycètes tels que *Streptomyces aureofaciens*, (Yu et al., 2022). Ils qui inhibent la synthèse des protéines bactériennes (Girard et al., 2017) , et sont souvent appliqués à des doses relativement élevées en aquaculture

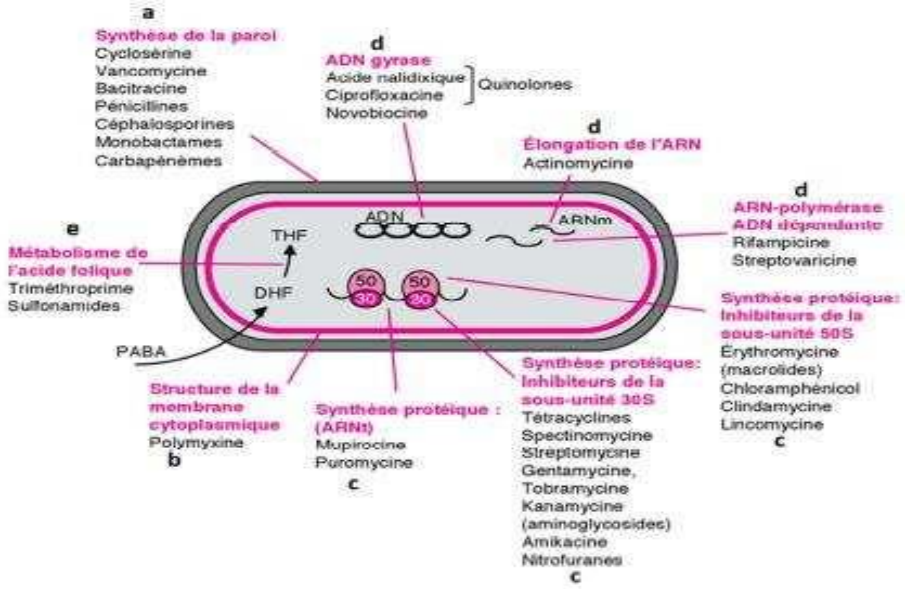


Figure 9: Modes d'action des antibiotiques et principales familles d'antibiotiques (Andriamalala, 2019).

4 Le Risque des Antibiotiques :

Les antibiotiques présents dans l'environnement peuvent constituer une menace pour l'environnement et la santé humaine (Jia et al., 2023).

a. Sur l'environnement :

L'existence d'antibiotiques dans le sol et dans l'eau peut tuer ou inhiber la croissance de micro-organismes non ciblés en raison de la conception explicite (Jia et al., 2023),modifiant la composition et l'activité de la communauté microbienne (Q. Xiong et al., 2021), et détruire l'équilibre des écosystèmes. Les effets néfastes sur le phytoplancton et le zooplancton, tels que l'inhibition sur la capacité photosynthétique, la prolifération cellulaire et la croissance (Jia et al., 2023)

Par conséquent, la gestion agricole tels que l'application de fumier, l'irrigation, le pH du sol et la régulation de la teneur en matières organiques, peuvent influencer le risque des antibiotiques dans les terres agricoles (Jia et al., 2023)

Il est donc d'une importance cruciale pour contrôler la propagation des antibiotiques dans l'environnement, en particulier pour les stations d'épuration des eaux usées , où fournir des conditions propices à la prolifération d'ARB ou transfert d'ARGs (Q. Xiong et al., 2021)

5 Présence et devenir des antibiotiques dans le sol et l'eau :

Les antibiotiques ont été largement détectés dans les sols agricoles et les eaux de surface dans le monde entier (Jia et al., 2023). Les antibiotiques se répartissent dans la phase solide, liquide ou gazeuse du sol (Andriamalala, 2019). La migration et la biodisponibilité des antibiotiques peuvent être affectées par une série de processus abiotiques et biotiques (adsorption et partage) dans les environnements du sol ou de l'eau (Jia et al., 2023).

D'après, les sulfonamides (SAs) sont les antibiotiques détectés dans les sols agricoles et les eaux de surface avec la fréquence la plus élevée, tandis que les tétracyclines (TCs) possèdent la valeur médiane la plus élevée dans le sol agricole (7,74 mg/kg) et dans les eaux de surface (46,4 mg/L). Cela s'explique principalement parce que les CTs sont les antibiotiques vétérinaires les plus utilisés dans le monde (43,4 % en 2015 à 2017), tandis que les AS ont une grande mobilité dans les sols (Jia et al., 2023) .

En outre, l'irrigation et les pluies favorisent les antibiotiques à pénétrer dans les eaux souterraines et de surface via l'infiltration dans le sol et le ruissellement de surface, la migration dépend fortement de l'adsorption et du comportement de partition des antibiotiques (Jia et al., 2023).

Il existe trois voies cruciales de dégradation des antibiotiquesdans le sol et l'eau, notamment l'hydrolyse, la photodégradation et la biodégradation.

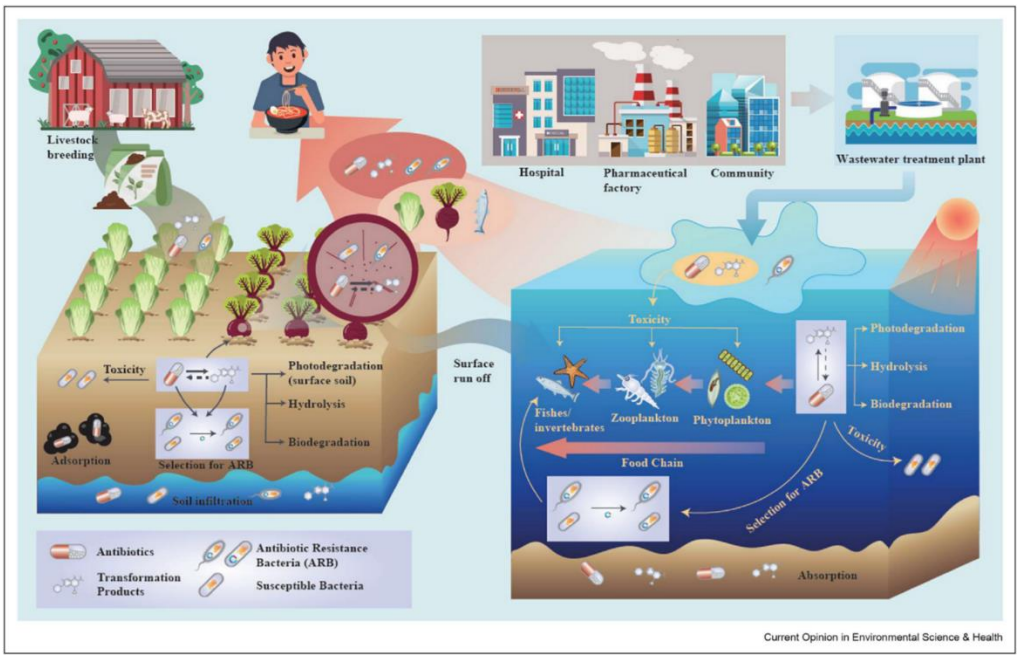


Figure 10: Présence, devenir et risque des antibiotiques dans le sol et l'eau (Jia et al, 2023).

6 Mécanismes d'élimination des antibiotiques :

Lorsqu'elles sont exposées aux antibiotiques, les microalgues présentent une série de réponses pour survivre et éliminer les antibiotiques toxiques. le processus d'élimination des antibiotiques est contient , adsorption, accumulation, biodégradation (Leng et al., 2020).

La description de ces mécanismes d'élimination est présentée ci-dessous :

6.1 Bioadsorption :

Ce produit lorsque les antibiotiques sont absorbés par la paroi cellulaire des microalgues ou par des substances organiques telles que les substances extracellulaires (EPS), excrétées par les microalgues dans leur milieu environnant (Xiong et al., 2021). Les EPS sont un mélange de polymères de poids moléculaire élevé, qui comprend des protéines (PN), des polysaccharides (PS), des acides nucléiques, des lipides et des substances humiques protégeant les cellules d'un environnement hostile (Xiong et al., 2021).

6.2 Bioaccumulation :

C’est un processus métabolique actif d'absorption des antibiotiques dans les cellules vivantes des microalgues, où ils se lient à des protéines intracellulaires ou à d'autres composés, tous les polluants ne sont pas adsorbés à la surface des microalgues ne peuvent pas tous entrer dans la cellule pour se bioaccumuler (Q. Xiong et al., 2021).

Les antibiotiques peuvent être transportés à travers la membrane cellulaire des microalgues et pénétrer dans la cellule par trois voies principales : (1) diffusion passive, (2) diffusion passive-facilitée, et (3) absorption active dépendant de l'énergie (Q. Xiong et al., 2021) .

La diffusion passive des antibiotiques ne nécessite pas d'énergie, car certains antibiotiques peuvent diffuser à travers la membrane cellulaire à partir d'une région de concentration élevée (externe) à concentration faible (interne). Les antibiotiques de faible poids moléculaire, en particulier les antibiotiques non polaires et solubles dans les lipides, peuvent passer à travers la membrane cellulaire par diffusion passive en raison de leur hydrophobicité (Q. Xiong et al., 2021).

La diffusion passive facilitée signifie que les antibiotiques se déplacent à travers la membrane de la cellule à l'aide de protéines de transport, dont le rôle est de faciliter l'afflux de molécules polaires dans la cellule (Q. Xiong et al., 2021).

La troisième voie fait référence à un processus de transport actif piloté par l'énergie, dans lequel les antibiotiques se déplacent contre un gradient de concentration (Q. Xiong et al., 2021).

La bioaccumulation est influencée par les environnements physico-chimiques externes et internes, notamment la température, le pH, le temps de contact et les concentrations d'antibiotiques (Q. Xiong et al., 2021).

6.3 Biodégradation :

La biodégradation s'est avérée être le mécanisme le plus efficace pour l'élimination des antibiotiques par les microalgues. Par exemple, la biodégradation était le mécanisme dominant lors de l'élimination du florfénicol (159 mg/L) par *Chlorella sp* (Q. Xiong et al., 2021).

La biodégradation est un processus de dégradation des antibiotiques par des algues à l'intérieur ou à l'extérieur des cellules, avec certains décomposés les dérivés étant ensuite consommés par les cellules algales (Leng et al., 2020), soit par une biotransformation qui entraîne la formation de différents intermédiaires métaboliques , soit par minéralisation complète en CO_2 et H_2O par des cultures microbiennes pures ou mixtes (Q. Xiong et al., 2021). Le métabolisme des algues pour la dégradation des antibiotiques peut être classé comme suit : dégradation co-métabolique et modes de dégradation métabolique. Co métabolique , la dégradation utilise des enzymes non spécifiques pour dégrader des antibiotiques avec un apport supplémentaire de carbone et d'énergie sont nécessaires, tandis que dans le processus de dégradation métabolique, les algues utilisent des antibiotiques comme seules sources de carbone et d'énergie avec des enzymes spécifiques (Leng et al., 2020).

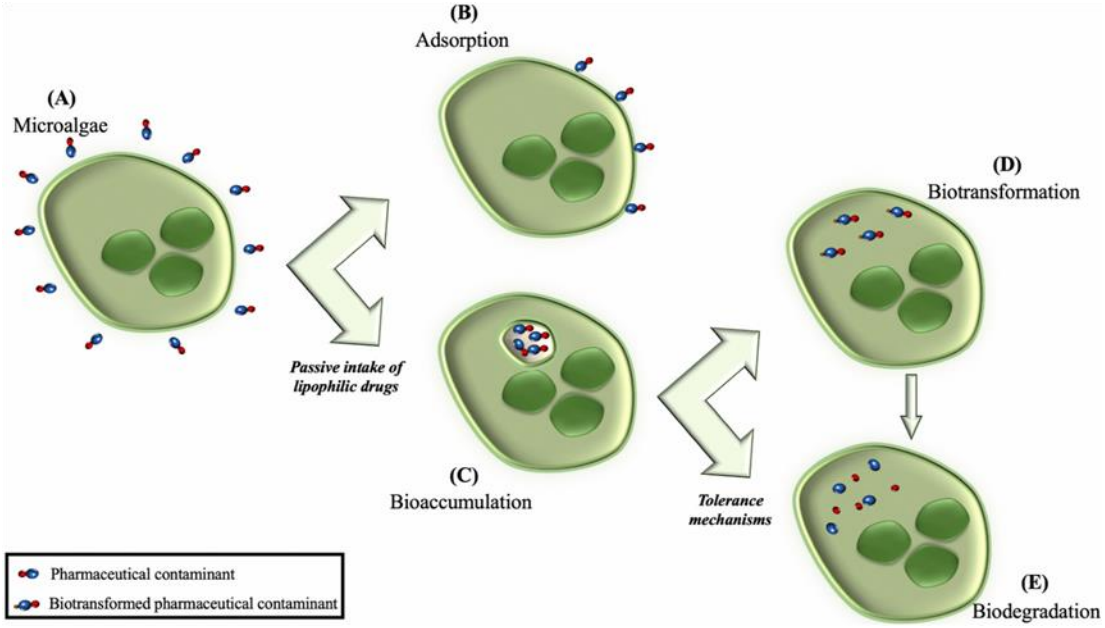


Figure 11:les principaux mécanismes l'élimination des antibiotiques par les micro algues (de Jesus Oliveira Santos et al., 2023).

Chapitre 04 :
Les effets des antibiotiques et les pesticides sur les microalgues

1 Toxicité des antibiotiques pour les microalgues :

1.1 Mécanismes des effets toxicologiques sur les microalgues :

La recherche toxicologique des antibiotiques pour les microalgues remonte à des années que les souches de microalgues les plus étudiées sont les suivantes *Raphidocelis subcapitata*, suivie de la *Chlorella* (*Chlorella vulgaris, Chlorella pyrenoidosa*), *Scenedesmus obliquus* et *Microcola. obliquus,* et *Microcystis aeruginosa* (Yu et al., 2022).

Les mécanismes des effets toxicologiques des antibiotiques sur les microalgues où les antibiotiques peuvent inhiber la formation des chloroplastes, la production de chlorophylle et la synthèse des protéines, ce qui a des effets néfastes sur la capacité photosynthétique des microalgues, la prolifération cellulaire et le développement de l'organisme (Yu et al., 2022).

1.1.1 Macrolides (érythromycine et roxithromycine)

ont été signalés comme ayant un impact sur le processus de traduction des gènes du chloroplaste, la synthèse des protéines de la membrane thylakoïde et de réduire les teneurs cellulaires en chlorophylle de manière plus intuitive, la désorganisation de l'ultrastructure des chloroplastes a été observée pour *Isochrysis galbana* lorsqu'elle a été exposée à 2,5-10 mg/L d'oxytétracycline (Yu et al., 2022).

1.1.2 Les macrolides, les tétracyclines et les aminoglycosides

peuvent interagir avec les ribosomes bactériens ou avec leurs substrats de réaction (tels que l'ARNt et l'ARNm) pour inhiber la synthèse des protéines (Yu et al., 2022).

1.1.3 Les fluoroquinolones

Peuvent inhiber la réplication de l'ADN et la transcription, ce qui entraîne une suppression de la division et de la prolifération cellulaires, et bloquer le processus de traduction de l'ARNm et la synthèse des protéines après la transcription. Ces antibiotiques peuvent avoir un effet surcroissance des microalgues en affectant la réplication et la transcription de certains gènes de protéines-enzymes codant pour la photosynthèse, l'absorption et le transport de l'azote et du phosphore (Yu et al., 2022).

1.1.4 La roxithromycine

À niveau d'exposition élevé a été observée pour réprimer l'expression de gènes impliqués dans la synthèse des stéroïdes, des vitamines et des acides gras, et qu'elle induit les gènes qui interfèrent avec l'homéostasie des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Des ERO élevés déclencheraient le système antioxydant des microalgues, qui se compose généralement de la SOD (superoxide dismutase), CAT (catalase), GST (glutathion-S-transférase), GPX (glutathion peroxydase), GSH (glutathion), MDA (malondialdéhyde) (Yu et al., 2022).

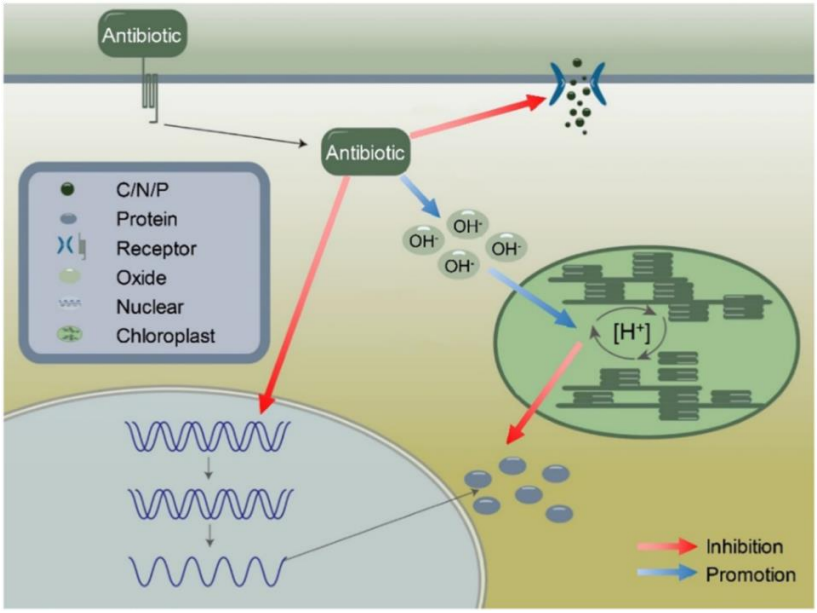


Figure 12: schéma représente les effets toxicologiques des antibiotiques sur les microalgues (Yu et al, 2022).

2 Inhibition des microalgues par les antibiotiques :

L'inhibition des microalgues induite par l'antibiotique est un facteur important à considérer dans le développement d'antibiotiques à base d'algues (Leng et al., 2020).

2.1 Sur la croissance :

Les antibiotiques peuvent affecter la croissance des algues à travers l'inhibition de la synthèse de substances chimiques telles que la chlorophylle et les pigments et les activités d'enzymes comme la catalase et la superoxyde dismutase (Leng et al., 2020).

L'effet inhibiteur des antibiotiques sur les microalgues est généralement communément quantifié par la concentration efficace demi-maximale EC50, qui est définie comme la concentration d'antibiotique à laquelle 50 % de la croissance des algues est inhibée (Leng et al., 2020). La plupart des antibiotiques ont une CE50

plusieurs ordres de grandeur plus élevés que les concentrations dans les eaux usées ou les eaux de surface ou souterraines, ce qui indique que les microalgues ont généralement une bonne résistance à ces antibiotiques. Par exemple les concentrations de *ciprofloxacine*, de *tétracycline* et de *sulfaméthoxazole* sont d'environ 1 mg/L dans les eaux usées municipales, alors que les valeurs de la CE50 de ces antibiotiques sont de 65 mg/L (pour *C. mexicana*), 3,31 mg/L (à *P. subcapitata*), et 0,146 mg/L (à *P. subcapitata*) (Leng et al., 2020).

En général, l'effet inhibiteur des antibiotiques combinés peut être plus sévère que celui causé par un seul antibiotique. Par exemple : les valeurs de 96 h-EC50 de *l'érythromycine*, de *l'enrofloxacine* et de *l'érythromycine-enrofloxacine* sur *C. vulgaris* étaient de 85,7, 124,5 et 39,9 mg/L, respectivement, indiquant l'effet synergique conjoint des deux antibiotiques. L'inhibition du *sulfaméthoxazole* et de *triméthoprime* sur *N. oculate* était également considérablement plus élevée que celle d'un seul des deux antibiotiques. Les effets indésirables du mélange *tétracycline/ oxytétracycline/chlortétracycline* sur la communauté algale étaient plus importants que ceux de chacun de ces trois antibiotiques (Leng et al., 2020).

2.2 Sur la photosynthèse :

Autres microalgues telles que la photosynthèse, les activités du système antioxydant et la biosynthèse des caroténoïdes peuvent aussi être influencées par les antibiotiques et peuvent être plus révélatrices que la croissance de la biomasse (Leng et al., 2020).

Par exemple, la photosynthèse des chlorophytes peut être plus sensible que la croissance de la biomasse. Par conséquent, la valeur de la CE50 basée sur le taux de photosynthèse de *Desmodesmus subspicatus* était seulement la moitié de la CE50 basée sur le nombre de cellules (basée sur la croissance). Par conséquent, d'autres mesures, en plus de la croissance cellulaire, devraient être utilisées d'avoir un aperçu complet de l'impact des antibiotiques sur les algues et de révéler le potentiel d'élimination des antibiotiques (Leng et al., 2020).

Dans l'ordre générale, les microalgues sont à la base du réseau trophique, les herbicides, le fongicide pose également un problème pour les niveaux trophiques supérieurs. Ce déséquilibre de diversités au sein de la communauté algale va implicitement perturber la production primaire et le recyclage des nutriments (Thorel, 2020).

Partie Expérimentale

Chapitre 01 :
Matériel et Méthode

1. Organismes expérimentaux et conditions de croissance

1.1 Organismes expérimentaux

Cyanobactéries spiruline ont été utilisées comme organismes expérimentaux dans la présente étude.

1.1.1 La spiruline :

Les spirulines sont des cyanobactéries qui appartiennent au genre *Arthrospira* (Vicat et al., 2014), procaryote multicellulaire qui se présente sous forme filamenteuse et suit une orientation hélicoïdale. Elles sont capables de réaliser la photosynthèse. Elle fut premièrement classée dans le règne végétal au même titre que la Chlorelle, pour sa composition en pigments propres aux plantes et son activité de photosynthèse. Malgré son appartenance aux microorganismes de type procaryote, qui la distingue des algues unicellulaires, la Spiruline reste généralement considérée sous l'appellation de « micro algue ».

La spiruline utilisée dans cette étude d'origine de sud d'Algérie offert par le laboratoire de biotechnologie et Génie des procédés de l'école polytechnique d'Algérie.

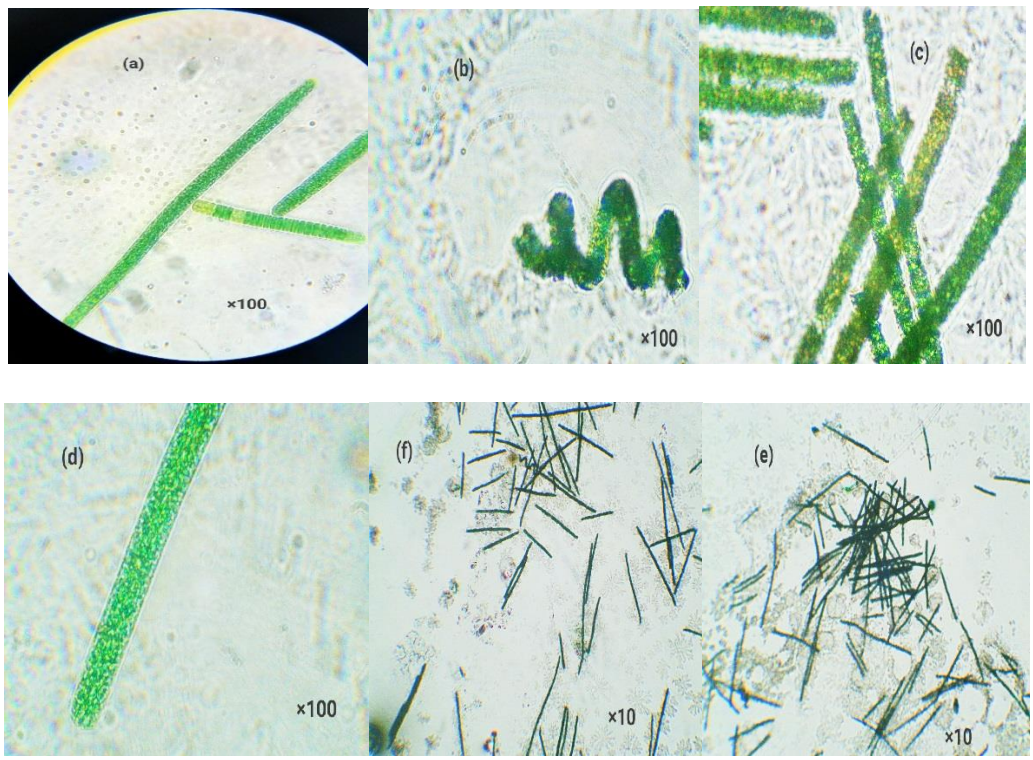


Figure 13: Observation microscopique des Spirulines à des différents agrandissements.

1.2 Incubation et entretien de la culture

Inoculum pur et sain de *spiruline* ont été transférés dans du milieu de culture stérilisé et frais Zarrouk en chambre d'inoculation avec des précautions particulières pour maintenir la pureté de la culture.

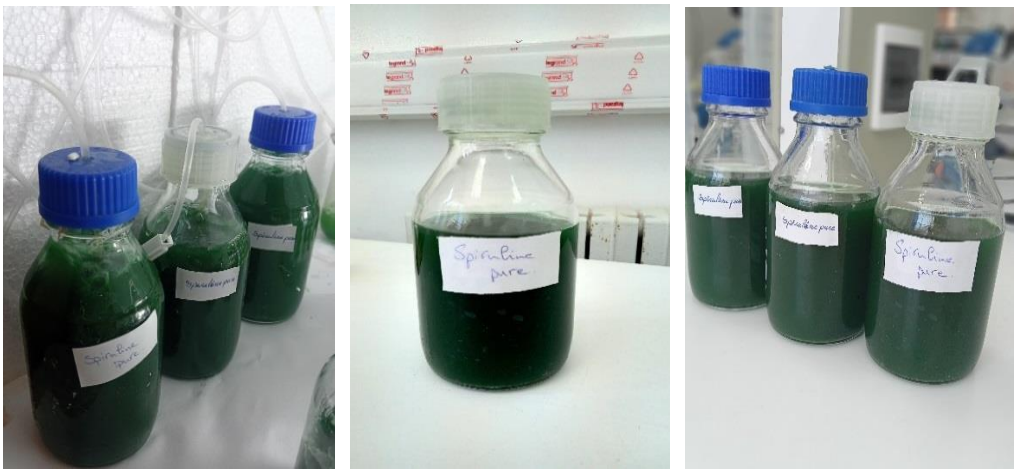


Figure 14: la culture de la spiruline

1.3 Milieu de culture

Spirulines ont été cultivés dans un milieu Zarrouk déficient en azote et une suspension homogène a été maintenue (Allen & Stanier, 1968). Avant autoclavage, le pH du milieu a été ajusté à 8,95 jusqu'à 9,05.

La composition du milieu de culture est la suivante :

Tableau 4:les compositions chimiques en gramme par litre d'eau au milieu Zarrouk.

Produit chimique	**Quantité en g /l d'eau**
Hydrogénocarbonate de sodium ($NaHCO_3$)	16.8
Phosphate dipotassique (K_2HPO_4)	0.5
Nitrates de sodium ($NaNO_3$)	2.5
Sulfate de potassium (K_2SO_4)	1.0
Chlorure de sodium (Na Cl)	1.0
Sulfate de magnésium ($MgSO_4$, $7H_2O$)	0.2
Chlorure de calcium ($CaCl_2$)	0.04
Sulfate de fer ($FeSO_4$, $7H_2O$)	0.01
Acide éthyléne diamino ctétracétique (EDTA)	0.08
Solution A5	1.0
Solution A6	1.0

Tableau 5: la composition de solution A5 et B6 dans le milieu Zarrouk.

Solution A5	
Produit chimique	**Quantité en g/l**
Acide borique(H_3BO_3)	2.86
Chlorure de manganése ($MnCl_2$, $4H_2O$)	1.81
Sulfate de zinc ($ZnSO_4$,$7H_2O$)	0.222
Sulfate de cuivre ($CuSO_4$, $5H_2O$)	0.079
Oxyde de molybdéne (MoO_3)	0.015

Solution B6	
Produit chimique	**Quantité en g/l**
NH_4VO_3 (vanadate d'ammonium)	0.02296
$K_2Cr_2(SO_4)_4$, $24H_2O$ (Alun de chrome)	0.096
$NiSO_4$, $7H_2O$(sulfate de nickel)	0.04785
Na_2WO_4, $2H_2O$(Tungstate de sodium)	0.01794
$Ti_2(SO_4)_3$ (sulfate de titanium)	0.04
$Co(NO_3)_2$, $6H_2O$ (Nitrate de cobalt)	0.04398

1.4 Verrerie et produits chimiques

La verrerie (pipettes, tubes à essai, flacons, béchers, etc.) utilisée dans la présente étude était un produit de laboratoire de Médea. Tous les produits chimiques étaient de qualité standard et ont été achetés auprès de sociétés standard.

Stérilisation

Un seul procédé de stérilisation utilisée dans la présente étude est le suivant :

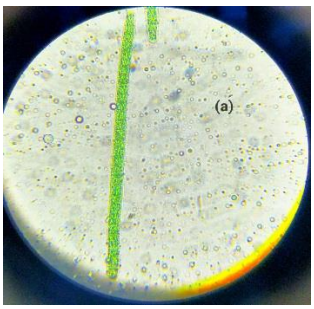
1.4.1 Autoclavage

Les milieux de culture ont été stérilisés (procédé de stérilisation humide) dans un autoclave. Le milieu de croissance a été préparé dans un flacon, bouché avec du coton et après un emballage approprié avec du papier, le flacon a été stérilisé à une pression de 15 lb-inch^{-2} et à une température de 121°C pendant 15 min. Avant l'autoclavage, la quantité souhaitée de milieu a été versée dans une verrerie de taille appropriée correctement bouchée avec du coton.

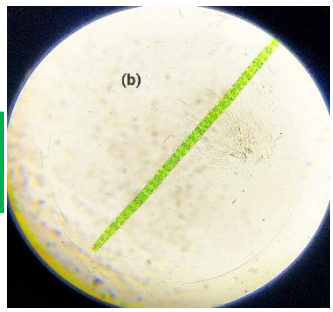
1.5 Expériences de dépistage

Pour la sélection des doses de pesticides et des Antibiotiques, c'est-à-dire Belt et Erythromycine plusieurs montages de criblage ont été prévus. Des cyanobactéries cultivées en phase logarithmique ont été utilisées pour le traitement de 25 µg/L belt (BLT), 250 µg/L Érythromycine (ERY) et leur combinaison ont été sélectionnés après 96 h de traitement, respectivement, pour spiruline.

ORGANISMES EXPERIMENTAUX



Spirulina (Arthrospira)



PHASE EXPONENTIELLE





CONFIGURATION DU TRAITEMENT

Sans traitement

Avec traitement

Belt

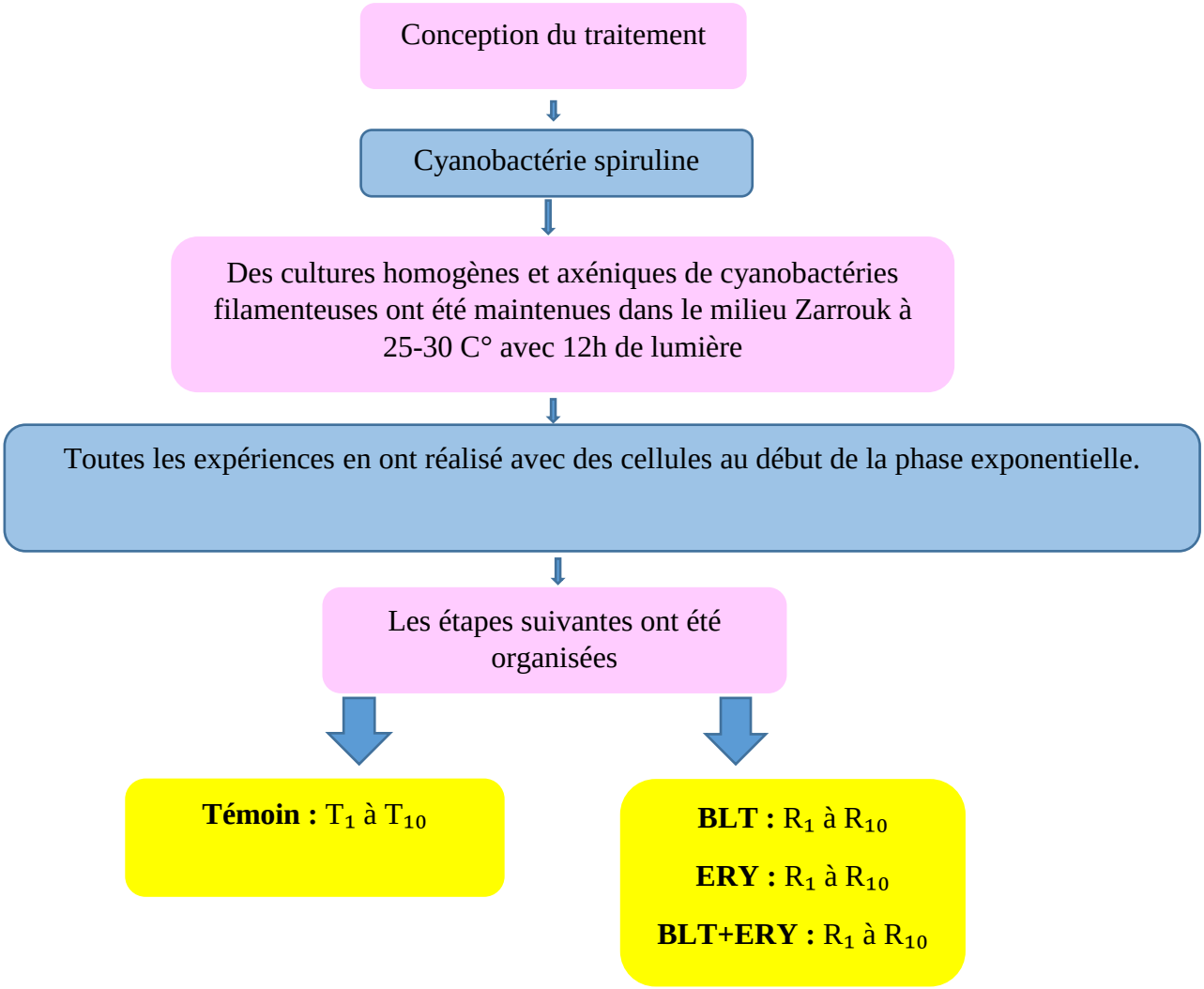
Erythromycine

Belt + Erythromycine

Analyse des paramètres après 96 h

1.6 Conception de traitement

Les cultures des spirulines de la phase exponentielle précoce ont été récoltées par centrifugation à 3500 rpm pendant 10 min et lavés deux fois avec de l'eau ultra pure, puis les culots ont été remis en suspension dans des milieux de culture respectifs contenant 25 µg l^{-1} de pesticide et 250 µg l^{-1} d'antibiotique. Le montage expérimental considéré comme la combinaison suivante, c'est-à-dire le contrôle, Belt et Erythromycines (25 µg/L et 250 µg/L), Il y avait dix répétitions (n =10) pour chaque traitement et tous les paramètres ont été analysés après 96 h d'expérience en prélevant des volumes définis de cultures. Le dispositif expérimental est présenté sous forme d'organigramme.



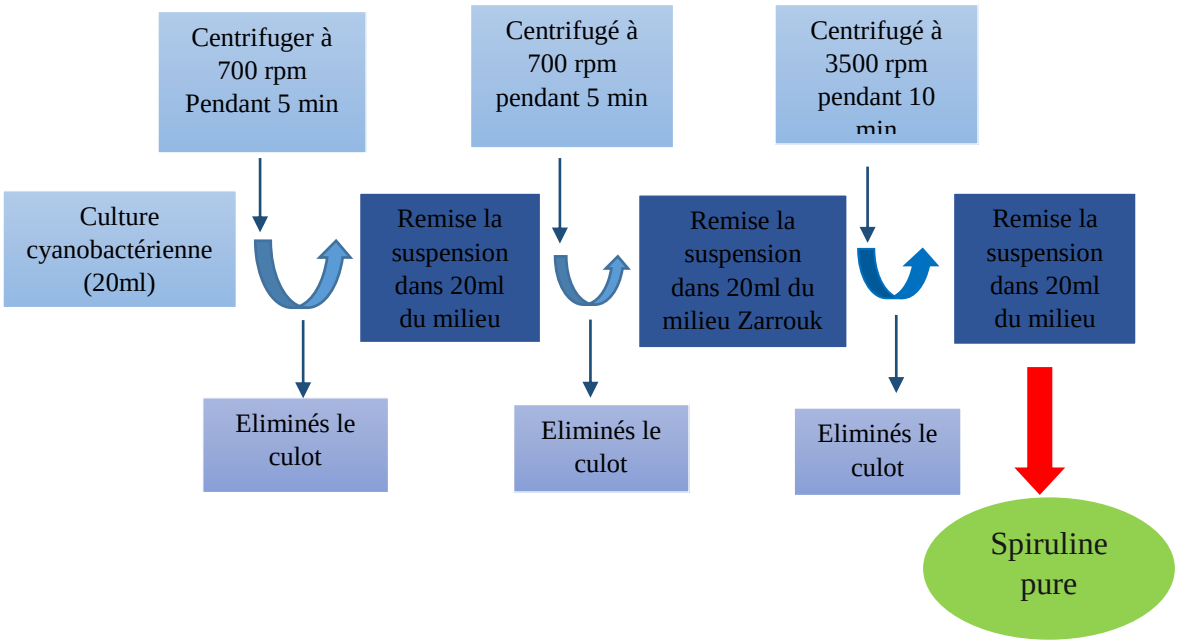


Figure 15: protocole de purification

Après 96 h d'exposition, plusieurs paramètres ont été analysés pour une étude détaillée.

2. Mesure de la croissance

La croissance des cyanobactéries a été enregistrée en mesurant l'absorbance de la suspension cellulaire à 618 nm après 96 h d'exposition, à l'aide du spectrophotomètre UV-Visible. La concentration initiale de culture a été fixée à 0,624 nm.

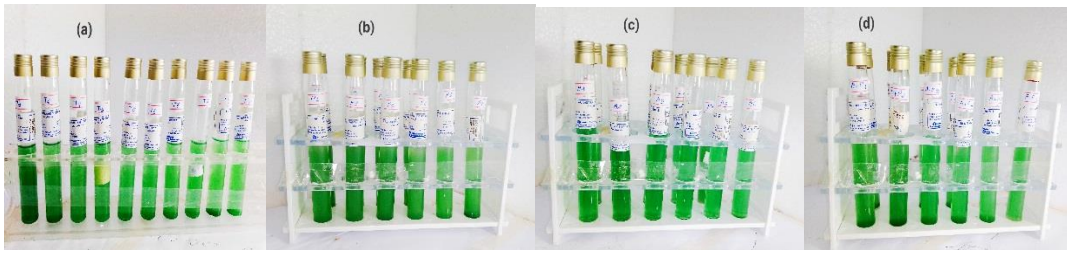


Figure 16: Dispositif expérimental montrant l'effet de l'Erythromycines et des pesticides chez spirulines après 96 h de traitement.

(a) Témoin, (b) pesticide BLT, (c) antibiotique ERY et (d) combinaison BLT+ERY.

3. Pigments photosynthétiques

3.1 Estimation de la chlorophylle a

Le protocole de Mackinney (1941) a été utilisé pour estimer la quantité de chlorophylle *a* présente. Pour ce faire, 3 ml de culture cellulaire ont été centrifugés à 3000 rpm pendant 3 minutes, puis le surnageant a été éliminé et remplacé par du méthanol jusqu'à un volume total de 3 ml. Cette solution a été soigneusement mélangée et laissée à 4 °C pendant une nuit pour extraire la chlorophylle *a*. Après cette période, la solution a été centrifugée à 3000 rpm pendant 3 minutes, et l'absorbance du surnageant a été mesurée à 663 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Smart Spec Plus, BioRad, États-Unis). La concentration de chlorophylle *a* a été calculée en utilisant la formule suivante, où 12,63 représente le facteur de correction :

$$\textbf{Chlorophylle a (µg/ml)} = \textbf{DO663} \times \textbf{12, 63}$$

3.2 Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

3.2.1 Estimation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

3.2.1.1 Estimation in vitro

On a évalué l'accumulation in vitro de peroxyde d'hydrogène dans le groupe témoin ainsi que dans les cellules cyanobactériennes traitées en utilisant la méthode de (Velikova et al., 2000).

Réactifs

- Trichloroacetic acid (TCA)…….... 00.1% (w/v)
- Potassium phosphate buffer (pH 7.0) …… 10 mM
- Potassium iodide ……... 01 M

Procédure

Les cellules cyanobactériennes témoins et traitées ont été collectées et soumises à une centrifugation à 6000 rpm pendant 10 minutes. Les culots obtenus ont ensuite été homogénéisés dans une solution de TCA à 0,1% (p/v). L'homogénat a été centrifugé à 8000 rpm pendant 15 minutes, puis le surnageant a été utilisé pour l'estimation de H_2O_2. Le mélange réactionnel était composé du surnageant, de 10 mM de tampon phosphate de potassium (pH 7,0) et de 1 M d'iodure de potassium. L'absorbance de la solution a été mesurée à 390 nm par spectrophotométrie. La concentration de peroxyde d'hydrogène dans chaque échantillon a été calculée à partir

d'une courbe standard préparée avec une solution de H_2O_2 graduée. La valeur de H_2O_2 a été exprimée en (nmol mg^{-1} poids sec).

3.3 Indices de dommages oxydatifs

3.3.1 Estimation de la peroxydation lipidique (teneur en MDA)

La peroxydation lipidique a été mesurée dans les cellules cyanobactériennes traitées et non traitées en termes de teneur en équivalents de malondialdéhyde (MDA), qui est formé par l'oxydation d'acides gras insaturés et d'un produit appelé métabolite réactif de l'acide 2-thiobarbiturique (TBA).

La concentration de MDA a été évaluée en utilisant la méthode de (Heath & Packer, 1968).

Réactifs

- Phosphate buffer (pH 7.0) ……. 50 mM
- 2-Thiobarbituric acid (TBA)…….. 00.5% (w/v) in 0.2 N HCl
- Trichloroacetic acid (TCA)…… 20% (w/v) in TBA solution
- Trichloroacetic acid (TCA)……. 05% (w/v) in DDW

Procédure

Le volume requis de la suspension cellulaire de différents échantillons de test a été récolté par centrifugation et lavé 2 fois avec du tampon phosphate 50 mM (pH 7,0). Les cellules cyanobactériennes ont été homogénéisées dans un mortier avec du TCA à 5 % (p/v). L'homogénat résultant a été centrifugé à 10 000 rpm pendant 10 min. Le mélange réactionnel contenait 0,5 ml du surnageant et 2 ml de TCA à 20 % contenant 0,5 % de TBA. Le mélange a été chauffé à 90°C pendant 20 min puis refroidi à travers un bain de glace suivi d'une centrifugation. L'absorbance du surnageant a été enregistrée à 532 nm et 600 nm. La valeur d'absorption non spécifique de chaque échantillon à 600 nm a été soustraite de l'absorption enregistrée à 532 nm. La teneur en équivalents MDA a été calculée en utilisant le coefficient d'extinction 155 mM^{-1} cm^{-1} et exprimée en (nmol mg^{-1} poids sec).

3.4 Système antioxydants

Dosage des antioxydants enzymatiques dans les cellules cyanobactériennes traitées et non traitées réalisé après 96 h de traitements. Chaque échantillon a été soigneusement lavé avec de l'eau distillée stérile et le statut des différents antioxydants dans ces échantillons a été déterminé.

3.4.1 Antioxydants enzymatiques

3.4.1.1 Estimation de l'activité catalase (CAT; EC 1.11.1.6)

L'activité CAT a été déterminée en termes de diminution de l'absorbance due à la décomposition de H_2O_2 qui a été enregistrée à 240 nm et la quantité a été calculée en utilisant le coefficient d'extinction de 39,4 $mM^{-1}cm^{-1}$ en suivant la méthode de (Aebi, 1984).

Réactifs

- Hydrogen peroxide……...10 mM
- Potassium phosphate buffer (pH 7.0)…….. 50 mM
- Ethylenediamine tetra acetic acid (EDTA)….. 01 mM

Procédure

La suspension de cyanobactéries de différents traitements a été prélevée et après centrifugation, les culots ont été lavés deux fois avec de l'eau distillée et finalement broyés dans 50 mM de tampon phosphate refroidi (pH 7,0) contenant 1 mM d'EDTA; centrifugé à 20 000 rpm pendant 10 min à 4 °C et le surnageant a été utilisé comme extrait enzymatique. Le mélange réactionnel (2 ml) contenait 50 mM de tampon phosphate de potassium (pH 7,0) contenant 1 mM d'EDTA, 10 mM de H_2O_2 et un extrait enzymatique (200 ul). Une unité d'activité enzymatique est définie comme 1 nmol H_2O_2 décomposé par min^{-1}.

3.4.1.2 Estimation de l'activité peroxydase (POD; EC 1.11.1.7)

L'activité peroxydase a été déterminée en suivant la méthode de (Gahagan et al., 1968) .

Réactifs

- Tampon phosphate (pH 7.0)…….... 100 mM
- Pyrogallol……..100 mM
- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2; préparé…….025 mM
- dans un tampon phosphate pH 7,0)

Procédure

Les cellules cyanobactériennes de différents traitements ont été homogénéisées dans 2 ml de tampon phosphate 100 mM (pH 7,0) à 5 °C. L'homogénat a été centrifugé à 10 000 rpm pendant 30 min. Le surnageant clair a été pris comme enzyme brute. Le mélange réactionnel a été maintenu jusqu'à 3 ml contenant 1 ml de H_2O_2 25 mM, 1 ml de pyrogallol 100 mM et 1 ml d'extrait enzymatique. Après un mélange minutieux, l'activité a été contrôlée à 430 nm pendant 3 min à un intervalle de temps approprié.

3.4.1.3 Estimation de l'activité de la glutathion-S-transférase (GST ; EC 2.5.1.18)

L'activité GST a été dosée selon la méthode de (Habig et al., 1974) en utilisant le 1-chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB) comme substrat.

Réactifs

- Tampon phosphate de potassium (pH 6,3)……. 100 mM
- chloro - 2, 4 - dinitrobenzène (CDNB)……... 000.75 mM
- Glutathion (GSH) ……030 mM

Procédure

La suspension de cyanobactéries traitée et non traitée a été récoltée par centrifugation, puis les culots obtenus ont été homogénéisés dans un tampon de phosphate de potassium 100 mM réfrigéré (pH 6,3), centrifugés à 20 000 rpm pendant 10 min à 4 °C et le surnageant a été utilisé comme extrait enzymatique. Le dosage enzymatique a été effectué dans 3 ml de mélange réactionnel contenant 100 mM de

tampon phosphate de potassium (pH 6,3), 0,75 mM de CDNB, 30 mM de glutathion réduit (GSH) et 200 µl d'extrait enzymatique. L'activité a été réalisée à 25°C. L'augmentation de l'absorbance due à la formation d'un conjugué entre GSH et CDNB a été contrôlée à 340 nm. Le mélange réactionnel sans extrait enzymatique a été utilisé comme blanc. L'activité enzymatique a été calculée en utilisant un coefficient d'extinction de 9,6 mM-1 cm-1. L'activité enzymatique a été exprimée en unités, chaque unité représentant 1 nmol de conjugués CDNB formés min–1.

3.4.1.4 Estimation de l'activité ascorbate peroxydase (APX; EC 1.11.1.11)

L'activité APX a été déterminée en suivant la méthode de Nakano et Asada (1981).

Réactifs

- Tampon phosphate de potassium (pH 7,0)…….. 50 mM
- Acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA)……... 01 mM
- Ascorbate réduit……00.5 mM
- Peroxyde d'hydrogène ……..00,1 mM

Procédure

La suspension de cyanobactéries a été récoltée à partir de différents échantillons d'essai par centrifugation, lavée deux fois avec de l'eau distillée et les culots obtenus ont été homogénéisés dans 50 mM glacés de tampon phosphate (pH 7,0) contenant 1 mM d'EDTA et 0,5 mM d'ascorbate réduit, centrifugés à 20 000 rpm pendant 10 min à 4 °C et le surnageant obtenu a été utilisé comme extrait enzymatique. Mélange réactionnel maintenu jusqu'à 2 ml contenant 50 mM de tampon phosphate de potassium (pH 7,0) contenant 1 mM d'EDTA, 0,5 mM d'ascorbate réduit, 0,1 mM de H_2O_2 et un extrait enzymatique (100 µl). L'absorbance de chaque échantillon a été enregistrée à 290 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible. La diminution de l'absorbance était due à l'oxydation de l'ascorbate et l'activité enzymatique a été calculée en utilisant le coefficient d'extinction 2,8 $mM^{-1}cm^{-1}$. Une unité d'activité enzymatique est définie comme 1 nmol d'ascorbate oxydé par min^{-1}.

3.5 Composants biochimiques

3.5.1 Estimation des protéines

La teneur en protéines a été estimée par la méthode de (Lowry et al., 1951). modifié par (Herbert et al., 1971) . La quantité de protéine a été exprimée en protéine (µg ml^{-1} culture).

Réactifs

NaOH ……1,0 N

- ✓ *Réactif A* ……0,2 % Na_2CO_3 dans 0,1 N NaOH
- ✓ *Réactif B* ……...0,5 % $CuSO_4.5H_2O$ dans 1,0 % de tartrate de potassium et de sodium ($KNaC_4H_4O_6.4H_2O$)
- ✓ *Réactif C :* 50 ml de réactif C ont été préparés en mélangeant 48 ml de réactif A avec 2 ml de réactif B
- ✓ *Réactif de Folin- Ciocalteu :* 1 :2 (v/v dans DDW)

Procédure

Un volume de 0,5 ml de culture a été mélangé avec 0,5 ml de NaOH 1 N et maintenu au bain-marie bouillant pendant 10 min. Après refroidissement du mélange de culture, 2,5 ml de réactif C ont été complétés et le mélange réactionnel a été incubé pendant 15 min à température ambiante suivi de l'ajout de 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu. L'intensité de la couleur bleue résultante a été déterminée en prenant l'absorbance à 650 nm après 15 min d'incubation. La quantité de protéine a été évaluée en utilisant une courbe standard établie avec de l'albumine de sérum bovin (BSA).

3.5.2 Estimation des carbohydrates :

L'extraction et l'estimation de la teneur en carbohydrate ont été effectuées par la méthode de (Sharma et al., 2008) .

Réactifs

- Isopropanol : 100%
- HCl : 2M
- Réactif anthrone

Procédure

Pour l'extraction des carbohydrates cyanobactérien, 100 ml de cellules cyanobactériennes traitées et non traitées ont été centrifugés à 3000 rpm et après séparation de la biomasse décantée, une culture acellulaire contenant les carbohydrates a été prélevée. Il a été concentré dix fois par évaporation à 40 ˚C, lavé avec de l'isopropanol deux à trois fois pour éliminer les contaminants et enfin séché à 37 ˚C, analysé pour l'estimation du glucose à l'aide du réactif anthrone.

3.5.3 Estimation des lipides :

L'extraction des lipides totaux a été réalisée selon Parrish (1999) avec du chloroforme:méthanol (2:1) comme solvant d'extraction. Des aliquotes (50 ml) des cultures ont été centrifugées à 3000 rpm pendant 10 min, et le culot résultant a été extrait dans 6 ml de chloroforme:méthanol (2:1). La concentration totale de lipides a été déterminée par gravimétrie et exprimée en picogrammes par cellule.

3.6 Analyse statistique

Les traitements ont été organisés en bloc randomisé en répétitions de trois. Les données ont été analysées statistiquement à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA) à l'aide de logiciel SPSS (Version 20 SPSS Inc., États-Unis). L'erreur standard des moyennes (± SEM) était calculée pour la présentation des graphiques. Les moyens de traitement ont ensuite été analysés à l'aide de Test de Tukey à $P < 0,05$.

Chapitre 02 : Résultats

1. Effet sur le comportement de croissance et les pigments photosynthétiques :

1.1 Comportement de croissance :

La croissance d'*Arthrospira platensis* dénommée *Spiruline* exposés à un pesticide (BLT), une Antibiotiques(ERY) et leur combinaison a été mesurée en termes de poids sec (Fig. 17). La cyanobactérie spiruline, a montré une réduction de 16.3%, 25.7 % et 66.1% de l'accumulation de biomasse, après les traitements BLT, ERY et leur combinaison, respectivement, par rapport aux contrôles. En ajoute que le pois sec en cas de traitement combiné est diminué très hautement significative par rapport au traitement individuelle. L'analyse des données de la figure 17, montre que les doses de BLT et/ou d'ERY ont eu un impact négatif sur la biomasse des microalgues, après 7 jours de traitements, l'accumulation de la biomasse a diminué par rapport à leurs témoins respectifs (fig 17), Les résultats indiquent que l'intensité de l'inhibition de l'accumulation de la biomasse était plus importante chez la spiruline traitée par BLT +ERY par rapport au traitement individuelle.

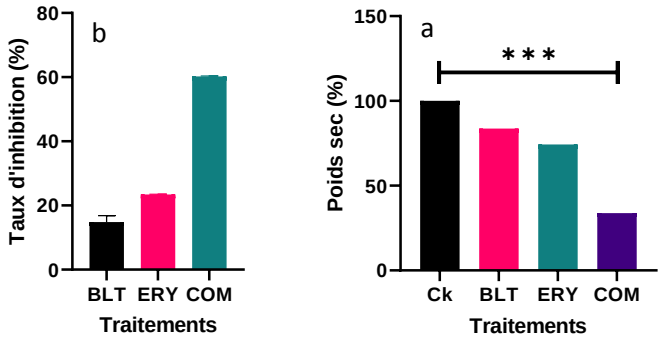


Figure 17: l'effet de BLT et ERY et leur combinaison sur (a) le pois sec et (b) le taux d'inhibition.

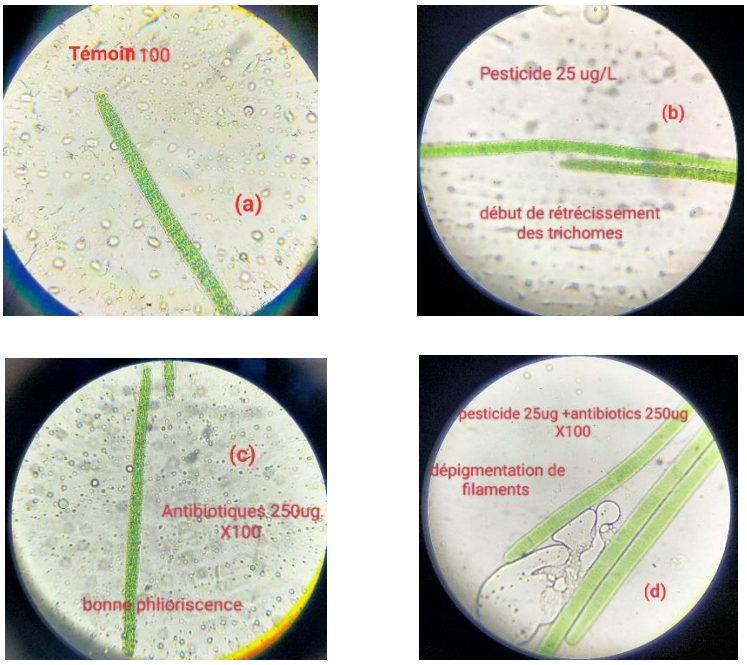


Figure 18: Changements morphologiques sur l'Arthrospira platensis après traitement aux pesticides et Antibiotiques.

2 Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en pigments photosynthétiques :

2.1 Teneur en chlorophylle *a* :

La fig 19 représente la teneur en chlorophylle *a* (Chl *a*) dans la cyanobactérie testée.

Les résultats ont montré que la teneur en Chl *a* a révélé une augmentation d'un petit pourcentage de 1.6% en présence de BLT et une augmentation de 14.2% en cas de traitement par ERY. Cependant, l'ajout d'ERY aux Spiruline a augmenté la teneur de Chlorophylle *a* par rapport à d'*Arthrospira platensis* traitée aux pesticides (BLT) de 12.7%. De plus, l'addition combinée de ces facteurs de stress (BLT+ ERY) a entrainé une diminution non significative de la teneur totale en Chl a de 31.7%, ce qui s'est révélé que leurs applications individuelles plus nocif que leur application combinée chez la spiruline respectivement, par rapport au contrôle (fig 19).

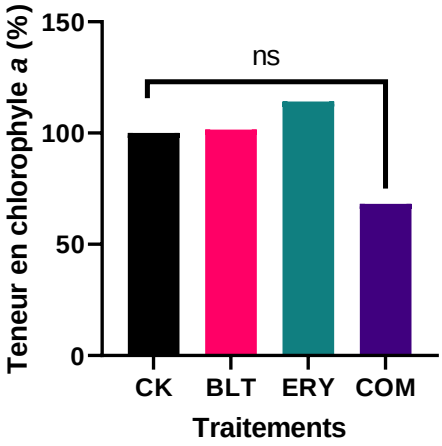


Figure 19: Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en chlorophylle a de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4).

2.2 La teneur en chlorophylle *b* :

La figure 20 représente la teneur en chlorophylle *b* dans la cyanobactérie testée.

Les traitements de BLT et d'ERY séparément dans la spiruline ont dévoilé une baisse remarquable de 48.5% et une baisse non remarquable de 1.8% respectivement de la teneur totale en Chl *b*, par rapport à leurs témoins respectifs. De plus, en cas de traitement par ERY, la teneur en chlorophylle *b* augmenté de 46.7%, par rapport à aux *Arthrospira platensis* traitée aux BLT. Par contre, lors de traitement combiné de pesticide et d'antibiotique chez cette micro algue, il y a une diminution significative de la teneur en chlorophylle *b* de 53.1% par rapport aux témoins et une diminution remarquable par rapport le traitement individuel (fig 20).

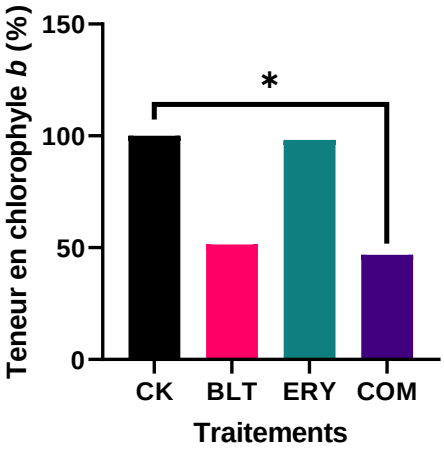


Figure 20: Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en chlorophylle *b* de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4).

3 Effet des BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en molécule biochimique :

3.1 Teneur en protéine :

Les données relatives de la teneur en protéines sont présentées dans la figure 21.

Une augmentation significative de la teneur en protéine a été documenté dans la Spiruline exposée à de traitement de BLT de 150.6% et une faible augmentation de 13.8% sous le traitement d'ERY. En comparaison, la teneur en protéine dans la spiruline traitée par BLT a entrainé une augmentation remarquable par rapport à la spiruline traitée par ERY. La teneur en protéine mesuré lors de l'application combinée de pesticide(BLT) et d'antibiotique (ERY) était augmentée significativement de 118.8 % par rapport à celui de témoin et est diminué en cas de traitement individuel de BLT (fig 21).

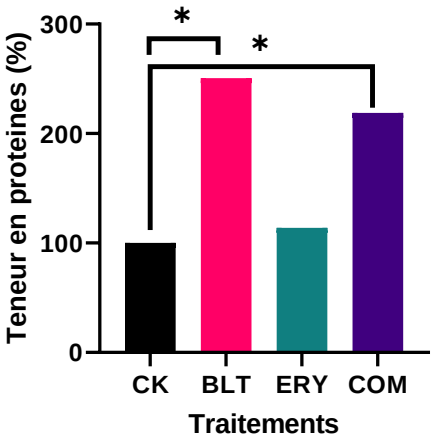


Figure 21:Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en protéine de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4).

3.2 Teneur en carbohydrate :

Les résultats concernant la teneur en carbohydrate pour *Arthrospira platensis* testées ont été représentés à la figure 22.

En générale, lors de l'application individuelle de BLT et d'ERY, le niveau de carbohydrate estimé était de 45.3% et 25.2% respectivement, ce qui était plus diminuée que ceux mesurés des *Arthrospira Platensis* témoins. De plus, le traitement par le BLT a diminué la teneur en carbohydrate par rapport la Spiruline traitée par ERY. Cependant, lors de traitement combiné, la teneur en carbohydrate a entrainé une augmentation significative de 57.9% par rapport aux contrôles et une augmentation remarquable par rapport au traitement individuel (fig 22).

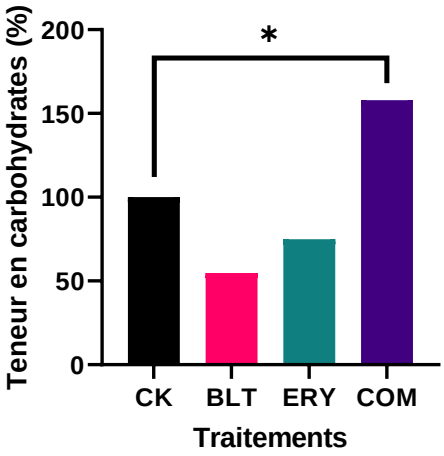


Figure 22: Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en carbohydrate de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4).

3.3 Teneur en lipide :

Les résultats concernant la teneur en lipides pour *Arthrospira platensis* testée ont été représentés à la figure 23.

En générale, lors de l'application individuelle de BLT, le niveau de lipide augmenté de 1.6% et diminué de 16.9% pour un traitement par l'ERY, que ceux mesurés des spirulines témoins. Cependant, lors de traitement combiné, la teneur en lipide a entrainé une augmentation significative de 49.2% par rapport aux contrôles et une diminution remarquable par rapport au traitement individuel (fig 23).

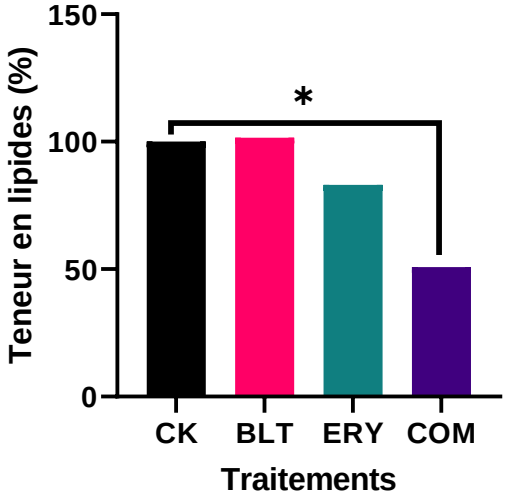


Figure 23: Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en lipides de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4).

1 Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en biomarqueurs de stress oxydative :

1.1 Peroxydation lipidique

L'évaluation de la peroxydation lipidique en équivalents MDA (malondialdéhyde) dans les cyanobactéries testées exposées au stress du BLT, ERY et leur combinaison est illustrée à la figure 24.

Une augmentation remarquable de la production de MDA a été observée pour *Arthrospira platensis* soumise à des traitements au BLT de 65.4%, une augmentation significative de 201.5% en présence d'ERY par rapport aux témoins et comme comparaison la teneur de MDA dans le traitement BLT diminué de 136.1% par rapport le traitement par ERY. Le taux de MDA mesuré lors de l'application combinée de BLT et ERY était diminué par rapport le traitement par ERY de 134.9%, augmenté de 66.7%et de 1.2% respectivement par rapport aux témoins et dans le cas de traitement par BLT (Fig 24).

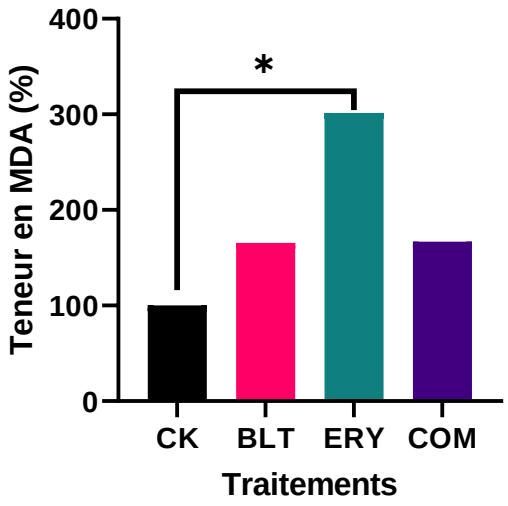


Figure 24: Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en MDA de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4).

1.2 Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) :

Une augmentation remarquable de la génération de H_2O_2 a été documenté dans les microalgues Spiruline exposé à un traitement de BLT (26.1%), une faible augmentation de 6.2% pour le traitement par ERY et comme comparaison entre ses derniers, la teneur de H_2O_2 dans le cas de traitement par BLT est grande de 19.9% par rapport le traitement par ERY. Par contre, lors du traitement combiné de pesticide et

antibiotique, la teneur de H2O2 a encore augmenté de 0.8% par rapport aux témoins et diminué par rapport le traitement individuel (Fig 25).

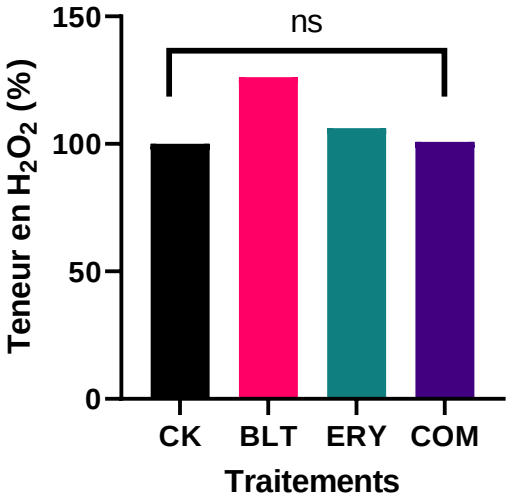


Figure 25: Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en H_2O_2 de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4).

2 Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en l'activité enzymatique antioxydant :

Comme le montre les figures, après 96 h d'exposition de BLT et Erythromycine et leur combiné sur les enzymes de spirulines ont été étudié en termes d'activité CAT, GST, POD, APX, qui sont détaillés dans les figures.

2.1 Catalase

Une faible diminution de l'activité de la CAT a été observée en réponse au BLT de 3.5 % et une augmentation de 10.3% après le traitement par ERY dans la Spiruline. Concernant le cas de traitement par le BLT l'activité de CAT diminuée de 13.9% par rapport au traitement par ERY de la Spiruline (fig 26). La combinaison de traitement au BLT et ERY a provoqué une diminution non significative de l'activité de CAT (1.8%) par rapport aux témoins, ainsi qu'une diminution par rapport au traitement individuel (fig 26).

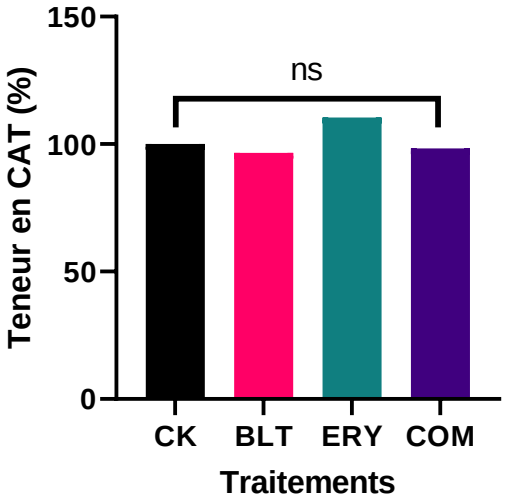


Figure 26:Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en CAT de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4).

2.2 Activité peroxydase (POD)

Les résultats concernant l'activité POD pour la cyanobactérie testée ont été épinglés dans la figure 27. L'analyse biochimique indique que l'activité POD a été diminuée très hautement significative de 80.8 % en cas de traitement par BLT, et hautement significative de 49.6% pour le traitement d'ERY. Cependant, lors du traitement combiné, la teneur de POD a entrainé une diminution significative de 76.7% par rapport au contrôle, de 27.1% par rapport le traitement par ERY et augmenté de 4.1 % par rapport le traitement par BLT chez spiruline (Fig 27).

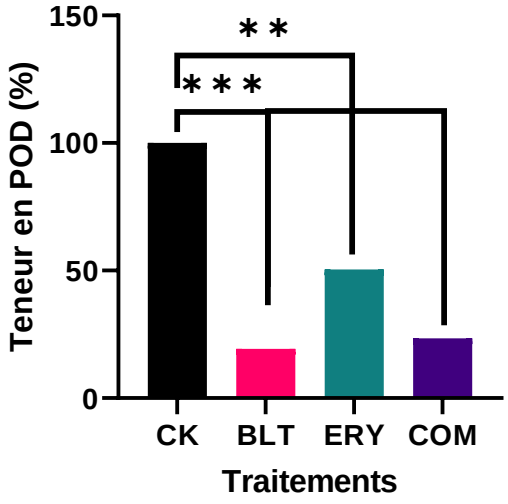


Figure 27: Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en POD de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4).

2.3 Activité ascorbate peroxydase (APX)

D'après la figure 28, une diminution de l'activité de l'APX a été observé en réponse au BLT et /ou ERY chez *Arthrospira platensis*. BLT et ERY ont provoqué une diminution de l'activité de l'APX (33.9%, 27.4%) respectivement par rapport au control (Fig 28). D'autre part, l'application conjointe de pesticide et antibiotique a diminué l'activité de l'APX de 30.3%. En ajout qu'en présence de BLT l'activité d'APX a diminué de 6.5% par rapport la Spiruline traitée par ERY.

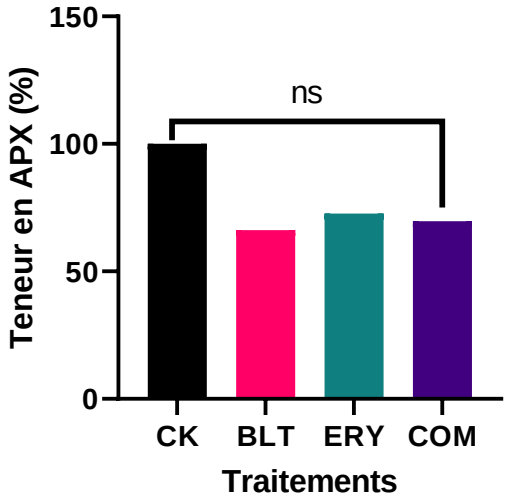


Figure 28 : Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en APX de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4).

2.4 Activité de la glutathion-S-transférase (GST)

L'exposition au BLT et ERY des Spirulines a entrainé une augmentation hautement significative au teneur de GST (86.9% et 89%) respectivement par rapport aux control (Fig 29). D'autre part, l'application combiné de BLT et ERY a entrainé une augmentation très hautement significative de 138.9% par rapport aux témoins et plus grande que celles observées en réponse à l'application seule de ses facteurs de stress (fig 29).

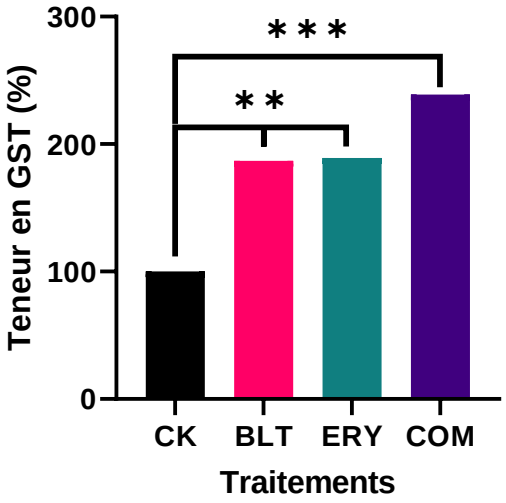


Figure 29 : Effet de BLT (pesticides), ERY (antibiotiques) et COM (BLT+ ERY) sur la teneur en GST de la spiruline. Les données sont des pourcentages de quatre répétitions (n = 4).

Chapitre 03 : Discussion

La réponse éco-physiologique des microalgues aux stress des pesticides et des antibiotiques dépendra de nombreux facteurs, tels que la concentration des substances, la durée d'exposition, les espèces des microalgues et leurs caractéristiques physiologiques. Certaines espèces des microalgues peuvent développer des mécanismes de défense, tels que l'activation de voies de détoxification, pour faire face à ces stress. Cependant, d'autres espèces peuvent être plus sensibles et subir des dommages importants (Gauthier et al., 2020).

Le suivi de la biomasse de Spiruline reflète l'état réel de la croissance de microalgue. Dans cette étude, après 4 jours de traitements, la Spiruline a révélé une réduction de la biomasse après des traitements individuels par BLT (83.7%), d'ERY (74.3%) respectivement. Cette réduction de la croissance a été augmentée de manière substantielle lorsque ces deux facteurs de stress ont été appliqués simultanément (33.9%) respectivement.

Des études ont montré que TPT peuvent favoriser la croissance d'Ulva, généralement en raison de sa capacité à augmenter le taux de photosynthèse des algues, augmentant ainsi leur densité cellulaire (Z. Cao et al., 2023). Des études montrent que l'érythromycine est toxique pour les souches *d'Arthrospira platensis* rapportées dans les eaux de surface. L'effet inhibiteur de la croissance de l'antibiotique démontre que le médicament pourrait nuire à la structure et la dynamique de la communauté cyanobactérienne dans les eaux contaminées par l'ERY. De manière comparable à nos résultats, Machado et Soares (2019) ont observé une diminution de la biomasse de *Raphidocelis subcapitata* exposée à des concentrations croissantes d'érythromycine (Machado & Soares, 2019). La relation positive que nous avons trouvée entre la croissance des souches et la teneur en chlorophylle donne un aperçu des photosynthèses qui sont essentielles pour assurer une croissance ininterrompue et l'homéostasie cellulaire des cyanobactéries. Cette découverte est en accord avec d'autres recherches qui montrent que les antibiotiques comme l'oxytétracycline affectent négativement la photosynthèse des cyanobactéries des espèces de phytoplancton (Gana et al., 2023). Par conséquent, il a été considéré que la spiruline répondait au stress du BLT en ajustant la composition des pigments photosynthétiques.

Gonzalo et al (2013) sont effectués des tests de toxicité individuels et combinés d'antibiotique sur des organismes aquatiques photosynthétiques. La cyanobactérie *Anabaena CPB4337* et *Pseudokirchneriella subcapitata*, en raison de

sa nature procaryote, était en général plus sensible que l'algue verte aux antibiotiques testés. Des études d'interactions toxicologiques ont indiqué que la synergie était prédominante dans les mélanges binaires et multi composants dans des scénarios réels de contamination. Lors de l'évaluation des risques liés aux mélanges d'antibiotiques, la combinaison d'érythromycine et de tétracycline a présenté une valeur de quotients de risque supérieure à 1, ce qui représente un risque écologique potentiel pour les organismes aquatiques, compte tenu du mode d'utilisation actuel de ces deux antibiotiques (Gonzalo et al., 2013).

Wang et al (2020) ont prouvé que la Carbamazepine a montré des effets d'inhibition sur la croissance de *Spirulina platensis*, et les activités SOD et CAT et la teneur en chlorophylles, caroténoïdes, carbohydrates et lipides de *S. platensis* ont augmenté de manière significative. Ces résultats révèlent que *S. platensis* possède un mécanisme de protection contre la toxicité du CBZ similaire à celui des microalgues eucaryotes (Q. Wang et al., 2020).

Une étude par Pan et al (2021) a démontré la possibilité de réutiliser des espèces d'algues nuisibles pour remédier efficacement à des concentrations élevées d'antibiotiques. L'espèce cyanobactérienne nuisible, *M. aeruginosa*, a fourni une capacité supérieure, efficace et rapide d'élimination de la tétracycline a favorisé l'hydrolyse de la tétracycline en augmentant le pH de l'eau, mais la biodégradation a contribué à la majeure partie de l'élimination par *M. aeruginosa* (Pan et al., 2021).

Cao et al (2023) ont conclu que le triphenyltin (TPT) peut constituer une menace pour des nombreuses espèces non ciblées comme la Chlorella par l'étude des effets de diverses concentrations de TPT sur la *Chlorella sp*, marine est importante, et montré de mieux comprendre les mécanismes des effets du TPT sur la densité cellulaire et la photosynthèse de la Chlorella sp, marine en évaluant les systèmes de défense antioxydants et l'expression des gènes liés à la photosynthèse. Elle fournit une référence concernant la toxicité de TPT sur le phytoplancton et apporte certaines données à l'appui de la protection et de l'évaluation de l'écologie marine (Z. Cao et al., 2023).

Les pigments photosynthétiques jouent un rôle important dans la photosynthèse des microalgues. La chlorophylle *a* joué un rôle très important dans la synthèse des biomolécules, la photosynthèse est essentielle pour la production d'énergie cellulaire et est influencée par divers facteurs, tels que la concentration de chlorophylle *a* dans les cyanobactéries et les algues (Gana et al., 2023).

Les résultats de la présence étude ont montré une augmentation du contenu de Chl *a* dans la spiruline soumis au BLT et ERY (101.58% et 114.23%) respectivement, cette augmentation due que, les facteurs de stress qui suscitent de nouvelles préoccupations, tels que les ERY, qui modifient la concentration de chlorophylle *a* et d'autres pigments secondaires peuvent également compromettre la quantité de substrat organique générée par les espèces de phytoplancton. Plus encore, de substrats organiques peut entraîner des modifications de la quantité et de la qualité des vitamines et des minéraux, des hormones, des protéines et de lipides synthétisés par les cyanobactéries et les algues vertes , Cela pourrait avoir un effet d'entraînement sur le réseau alimentaire aquatique (Gana et al., 2023) . De plus, le degré de réduction était diminué en réponse au traitement combiné BLT+ ERY (68.23%), par rapport à leurs contrôles respectifs.

Dans cette étude, la diminution de la teneur en Chl *b* des cyanobactéries peut être due à la fois au blocage du photosystème (Zhang et al., 2021) au stress des pesticides, des antibiotiques et leur combinaison .

L'étude réalisée par Jiang et al, (2023) montré que l'effet de l'antibiotique NFX dans la teneur en chlorophylle, ont présenté les variations les plus évidentes, similaires à la croissance de la biomasse d'*A. Platensis*, ce qui suggère l'influence préférentielle sur le système photosynthétique (Jiang et al., 2023).

Les carbohydrates et les protéines jouent un rôle important dans la répartition du carbone, la photosynthèse, l'homéostasie osmotique et le métabolisme (Rosa et al., 2009), Et la subsistance du réseau alimentaire aquatique (Gana et al., 2023).

Les protéines sont des composants importants des biomolécules et des catalyseurs dans les réactions biochimiques, et elles sont utilisées comme indicateurs des changements dans le métabolisme des micro algues (Zhou et al., 2021).

Les résultats de la présence étude ont montré que la teneur en protéines solubles des algues augmente généralement après une exposition à des polluants (BLT, ERY et leur combinaison), cette augmentation peut être due que les algues peuvent éliminer les effets toxiques des polluants par l'accumulation de protéines. La teneur totale en protéines solubles d'espèce testée (microalgue) a augmenté au fur et à mesure que les concentrations d'OXY et SMZ augmentaient indiquant ainsi que le stress dû aux antibiotiques a stimulé la production de protéines. En outre,

l'accumulation des protéines solubles peut être causée par la rupture des cellules sous l'effet de fortes concentrations. L'accumulation et le stockage de biomolécules dans les algues ont été attribués à une réaction physiologique au stress dans l'écosystème aquatique (Zhou et al., 2021).

Dans la présente étude, l'augmentation des protéines solubles est liée à une variété de processus métaboliques dans les cellules, ce qui est un mécanisme de défense des microalgues contre le stress environnemental. Une augmentation de protéines de nos organismes exposés indique probablement qu'ils contiennent une teneur élevée en proline. La proline est largement est un agent chélateur efficace qui s'accumule dans les plantes dans des conditions de stress. D'autres travaux ont attribué l'augmentation de la teneur en protéines des cyanobactéries telles que *Spirulina platensis* a une teneur élevée en proline en cas de stress xénobiotique. Néanmoins, une teneur en protéines plus faible dans les organismes traités peut être considérée comme un indice de stress oxydatif (Yisa et al., 2021).

On sait que les carbohydrates jouent un rôle important dans la formation des exopolysaccharides chez les cyanobactéries, une couche défensive autour de la cellule (Chaudhary et al., 2019).

Les résultats de la présence étude ont montré une diminution du contenu des carbohydrates dans la spiruline soumis au BLT et ERY. De plus, le degré de réduction était augmenté significativement en réponse au traitement combiné BLT+ERY, par rapport à leurs contrôles respectifs.

Les cyanobactéries contiennent plusieurs enzymes antioxydantes qui jouent un rôle essentiel dans l'atténuation des différents stress. Lorsqu'elles sont exposées à des contaminants toxiques, les algues peuvent produire des espèces réactives de l'oxygène (ERO), notamment des radicaux superoxyde (O_2 -), des radicaux hydroxyles (-OH) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), qui ont également de fortes propriétés d'oxydation et causent des dommages mortels aux cellules des algues par la peroxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) (Q. Xiong et al., 2021). La peroxydation des AGPI diminue la fluidité de la membrane, ce qui peut détruire les fonctions physiologiques et biochimiques des cellules. L'activité de la CAT et la teneur en MDA ont été utilisées comme indicateurs de la toxicité des contaminants dans des études antérieures (Melegari et al., 2012; Qian et al., 2008).

H_2O_2 est un oxydant et molécule de signalisation en raison de sa stabilité relative. En plus d'être produit secondairement à partir du superoxyde, H_2O_2 peut être généré à des taux élevés par une réduction à deux électrons de l'O_2 catalysée par des enzymes telles que la glycolate oxydase photorespiratoire (Yang, 2018).

Les glutathion S-transférases (GST) constituent un groupe important et diversifié d'enzymes qui catalysent la conjugaison de substrats xénobiotiques électrophiles avec le glutathion. Les conjugués de glutathion sont ensuite transférés dans la vacuole par des pompes GS-X dépendantes de l'ATP et dégradés. Bien que des nomenclatures spécifiques aient été proposées pour ces GST, il reste encore beaucoup à découvrir concernant leurs fonctions (Han, 2012)

Dans la présence étude, la teneur en GST entraine une augmentation hautement significative en cas de traitement individuel par BLT et ERY et une augmentation très hautement significative en cas de traitement combiné.

APX sont l'enzyme centrale du cycle ascorbate-glutathion connues pour équilibrer le statut redox à l'intérieur des cellules en situation de stress. Les résultats de la présence étude ont montré une diminution du contenu d'APX dans la spiruline soumis au BLT et ERY. De plus, le degré de réduction était diminué non significativement en réponse combiné BLT+ERY, par rapport à leurs contrôles respectifs.

Dans la présence étude, pour le POD, il y a une diminution très hautement significative en cas de BLT et hautement significative en cas de ERY, une diminution pour un traitement combiné

Kumar et al (2008) ont prouvé que dans les cultures traitées au PQ, SOD, CAT, APX et GR ont augmenté. D'autres pesticides comme l'endosulfan ont également été signalés pour l'activité antioxydante chez *Nostoc muscorum*, *Aulosira fertilissima* et *Anabaena variabilis* (Kumar et al., 2008). L'activité des enzymes antioxydantes avec l'augmentation de la concentration de PQ a été rapportée dans d'autres algues, y compris d'autres algues, notamment *Chlorella vulgaris* et *Chlorella pyrenoidosa* (Afzal et al., 2022).

Le MDA est le produit de décomposition final de la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés dans les biomembranes d'où ils sont libérés pour réagir avec

les protéines et les acides nucléiques (Zhou et al., 2021). La teneur en MDA est considérée comme un indicateur important qui peut refléter les dommages causés aux biofilms cellulaires par l'oxydation (Z. Cao et al., 2023).

L'accumulation de MDA peut indiquer une membrane lipidique et des cellules. Dans un étude, la teneur en MDA a augmenté rapidement avec un traitement par OXY, ce qui indique que l'intégrité des membranes cellulaires a été endommagée par ses facteurs de stress, ce qui est en accord avec les résultats de l'étude de (Zhou et al., 2021) . Cet effet suggère que les membranes cellulaires ont été endommagées dans cette étude en raison de l'inhibition par OXY de la synthèse des protéines bactériennes en se combinant avec la sous-unité ribosomale 30S pour empêcher l'association entre l'aminoacyl-ARNt et la sous-unité ribosomale 30S (Zhou et al., 2021) . Par conséquent, si la teneur en MDA augmente en peu de temps, cela signifie que le système antioxydant de l'organisme peut être extrêmement instable selon Feng et Wang 2020. Afin de faire face au stress oxydatif causé par des réactions négatives externes et assurer le fonctionnement normal de la spiruline, elle a besoin de la SOD, de la CAT, de la peroxydase (POD) et d'autres antioxydants. Le système de protection contre l'oxydation est utilisé pour décomposer une grande quantité de ERO générées par les cellules du corps en raison de la réponse au stress. Parmi eux, la SOD peut catalyser le radical libre anion superoxyde et le disproportionner pour générer de l'oxygène et de l'hydrogène, qui est la principale substance permettant de piéger les ERO et constitue également une défense antioxydante. Le système est la première ligne de défense. En tant que produit catalytique de la SOD, le peroxyde d'hydrogène a encore un certain effet toxique. À ce moment-là, CAT peut catalyser le peroxyde d'hydrogène pour générer de l'oxygène et de l'eau. Les deux enzymes, la SOD et la CAT, se coordonnent et jouent un rôle important dans le piégeage des radicaux superoxyde (Z. Cao et al., 2023).

Des niveaux élevés de MDA dans les microalgues marines *Isochrysis galbana* ont également été observés lorsqu'elles sont exposées à l'oxytétracycline et au cuivre (C. Wu & He, 2019).

Des autres résultats ont montré que l'activité des enzymes antioxydants, la peroxydation lipidique et la teneur intracellulaire en H_2O_2 de la souche étudiée (microalgue) étaient affectées de diverses manières lorsqu'elles étaient exposées à

l'AMX. L'exposition aux xénobiotiques (pesticides ou antibiotique) induit un stress oxydatif dans les cellules du phytoplancton, qui peut être facilement surveillé par des changements dans les niveaux de ERO intracellulaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ainsi, l'augmentation de la teneur de H_2O_2 dans la souche montre que les organismes ont subi un stress oxydatif lors de l'exposition à l'AMX de manière dépendante de la concentration. Dans une étude récente de Lee et al. 2020, la production de ERO peut endommager les composants intracellulaires des cellules, ce qui a été lié à la mort des cellules cyanobactériennes. L'augmentation de la concentration de ERO dans la souche exposée a entraîné une augmentation de la concentration de MDA chez *M. aeruginosa* et *M. flosaquae*, ce qui indique une peroxydation des lipides. La formation de MDA est l'un des produits de décomposition finale des polymères lipidiques et des hydro peroxydes primaires. Des élévations significatives de l'activité de la peroxydase indiquent l'implication de l'enzyme dans la détoxification du H_2O_2 dans les différentes conditions de traitement des souches (Gana et al., 2023).

Ce processus est responsable de l'activité accrue de la GST observée dans les cyanobactéries exposées à l'AMX. Bien que l'augmentation de l'activité de l'enzyme ne fût pas linéaire chez *M. flosaquae*, des résultats montrent que, par rapport aux cultures de contrôle, l'augmentation de l'activité de la GST signifie qu'elle joue un rôle essentiel dans la détoxification de l'AMX (Gana et al., 2023).

A notre connaissance, la présence étude a démontré pour la première fois les effets néfastes des xénobiotiques tels que les pesticides, les antibiotiques (BLT et Erythromycine) sur la croissance et le métabolisme des cyanobactéries comme Spiruline. L'addition combinée de BLT et ERY a modifié la croissance, la teneur de Chl *a* et *b*, et de protéines totales, tout en diminué l'activité de APX, CAT et POD, en augmente la teneur en MDA, GST et H_2O_2.

Conclusion

Avec une application étendue et une toxicité élevée, le BLT et l'ERY peuvent constituer une menace pour de nombreuses espèces non ciblées. Les producteurs représentés par *l'Arthrospira Platensis* constituent une partie importante de l'environnement écologique marin et la base de la chaîne alimentaire marine. Cette étude a exploré de manière exhaustive l'effet de l'érythromycine, belt et leur combinaison sur la spiruline est importante. Dans l'ensemble, cette étude nous permet de mieux comprendre les mécanismes des effets du BLT, ERY et leur combinaison sur la photosynthèse de l'Arthrospira, en évaluant les systèmes de défense antioxydants. De nos travaux on peut conclu l'accumulation de biomasse à été diminué dans tous les cas de traitement l'étude actuelle à révéler que l'application combiné d'un pesticides et antibiotiques était plus de dommageable pour la cyanobactérie que leur application seule l'exposition au pesticide ou antibiotique augmente de l'accumulation de H_2O_2 et les niveaux enzymatiques CAT, GST. Aussi l'application combinée de BLT+ERY augment la teneur en H_2O_2, ainsi les composants antioxydants. Finalement elle fournit une référence concernant la toxicité des niveaux environnementaux des pesticides et des antibiotiques sur le phytoplancton et apporte certaines données à l'appui de la protection et de l'évaluation de l'écologie marine. En perspective, des études antérieure utilisent des techniques de biologie moléculaire est nécessaire pour apprendre l'effet des polluantes sur les producteurs primaire comme les microalgues.

1. Aebi, H. B. T.-M. in E. (1984). [13] Catalase in vitro. In *Oxygen Radicals in Biological Systems* (Vol. 105, pp. 121–126). Academic Press. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3

2. Afzal, B., Naaz, H., Sami, N., Yasin, D., Khan, N. J., & Fatma, T. (2022). Chemosphere Mitigative effect of biosynthesized SeNPs on cyanobacteria under paraquat toxicity. *Chemosphere*, *293*(November 2021), 133562. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133562

3. Allen, M. M., & Stanier, R. Y. (1968). Growth and division of some unicellular blue-green algae. *J. Gen. Microbiol.*, *51*(2), 199–202. https://doi.org/10.1099/00221287-51-2-199

4. Amara, A. (2012). *Évaluation De La Toxicité De Pesticides Sur Quatre Niveaux Trophiques Marins : Microalgues, Échinoderme, Bivalves Et Poisson*. http://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00795396

5. Andriamalala, A. (2019). *Antibiotiques apportés seuls ou en mélange (antibiotique + antibiotique et antibiotique + métaux) dans des sols agricoles – Devenir et impacts sur les microorganismes du sol et leurs activités To cite this version : HAL Id : tel-02140610*.

6. Becerra-celis, G. B. C. (2010). *Proposition de stratégies de commande pour la culture de microalgue dans un photobioréacteur continu To cite this version*

7. Bilal, M., Iqbal, H. M. N., & Barceló, D. (2019). Persistence of pesticides-based contaminants in the environment and their effective degradation using laccase-assisted biocatalytic systems. *Science of the Total Environment*, *695*. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133896

8. Bouagga, A., & Chaabane, H. (2015). *Résidus de pesticides dans les oranges et calcul des indices de risque: Évaluation des résidus de pesticides dans les oranges et calcul des indices de risque Santé/Environnement selon l'IRPeQ*. Éditions universitaires européennes.

9. Burlacot, A. (2019). *Universite d'aix -marseille*. 1–224.

10. Caetano, P. A., do Nascimento, T. C., Fernandes, A. S., Nass, P. P., Vieira, K. R., Maróstica Junior, M. R., Jacob-Lopes, E., & Zepka, L. Q. (2022). Microalgae-based polysaccharides: Insights on production, applications, analysis, and future challenges. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *45*(June). https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102491

11. Cao, T. N., Mukhtar, H., Le, L., Tran, D. P., Thi, M., Ngo, T., Pham, M., Nguyen, T., Vo, T., & Bui, X. (2023). of. *Science of the Total Environment*, 161927. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161927

12. Cao, Z., Li, P., Ru, J., Cao, X., Wang, X., Liu, B., & Li, Z. H. (2023). Physiological responses of marine Chlorella sp. exposed to environmental levels of triphenyltin. *Environmental Science and Pollution Research*, *30*(10),

26387–26396. https://doi.org/10.1007/s11356-022-23992-9

13. Chaudhary, M., Rawat, S., Jain, N., Bhatnagar, A., & Maiti, A. (2019). PT SC. *Carbohydrate Polymers*. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.04.028

14. Chaumet, B., & Kim-tiam, S. (2019). *Transfert et distribution des pesticides dans les biofilms en lien avec les effets toxiques associés To cite this version : HAL Id : tel-02410777 Transfert et distribution des pesticides dans les biofilms en lien avec les effets toxiques associés*. *May*.

15. Chimiques, U. F. R. D. S. (2007). Présentée pour obtenir le grade de. *Sciences-New York*.

16. Chong, J. W. R., Khoo, K. S., Chew, K. W., Vo, D.-V. N., Balakrishnan, D., Banat, F., Munawaroh, H. S. H., Iwamoto, K., & Show, P. L. (2022). Microalgae identification: Future of image processing and digital algorithm. *Bioresource Technology*, *369*(December 2022), 128418. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128418

17. Coquille, N. (2018). *Influence de la matière organique dissoute naturelle et d ' herbicides , seuls et combinés , sur des microalgues marines et d ' eau douce To cite this version : HAL Id : tel-02606524 DOCTEUR DE L ' UNIVERSITÉ DE BORDEAUX Par Nathalie COQUILLÉ et d ' herbi*.

18. de Jesus Oliveira Santos, M., Oliveira de Souza, C., & Marcelino, H. R. (2023). Blue technology for a sustainable pharmaceutical industry: Microalgae for bioremediation and pharmaceutical production. *Algal Research*, *69*(July 2022), 102931. https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102931

19. Des, C., Doctorales, E., & Zohr, I. B. N. (2012). *Universite ibn zohr*. 2016–2017.

20. Dvor, P., Casamatta, D. A., & Papini, A. (2015). *Species concepts and speciation factors in cyanobacteria , and classification*. 739–757. https://doi.org/10.1007/s10531-015-0888-6

21. Gahagan, H. E., Holm, R. E., & Abeles, F. B. (1968). Effect of Ethylene on Peroxidase Activity. *Physiologia Plantarum*, *21*(6), 1270–1279. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1968.tb07358.x

22. Gana, A., Mathias, Y., Chia, A., Idris, R., & Gauje, B. (2023). Risk assessment of the antibiotic amoxicillin on non‐toxin‐producing strains and toxin‐producing strains of Microcystis. *Environmental Science and Pollution Research*, *0123456789*. https://doi.org/10.1007/s11356-023-26403-9

23. Gauthier, M. R., Senhorinho, G. N. A., & Scott, J. A. (2020). Microalgae under environmental stress as a source of antioxidants. *Algal Research*, *52*(August), 102104. https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102104

24. Girard, P. M., Muller, J., Delarocque-astagneau, E., & Guillemot, D. (2017). *Antibiotic resistance among children in low-income countries - Investigating*

community antibiotic consumption To cite this version : HAL Id : tel-01530745 L ' U NIVERSITÉ P ARIS -S ACLAY L ' U NIVERSITÉ V ERSAILLES S AINT -Q UENTIN EN Y VELINES.

25. Gonzalo, S., Rodea-palomares, I., Gonza, M., Rosal, R., Boltes, K., Marco, E., & Ferna, F. (2013). *Toxicity of five antibiotics and their mixtures towards photosynthetic aquatic organisms : Implications for environmental risk assessment*. *7*. https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.01.020

26. Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry*, *249*(22), 7130–7139.

27. Hamed, S. M., Okla, M. K., Al-Saadi, L. S., Hozzein, W. N., Mohamed, H. S., Selim, S., & AbdElgawad, H. (2022). Evaluation of the phycoremediation potential of microalgae for captan removal: Comprehensive analysis on toxicity, detoxification and antioxidants modulation. *Journal of Hazardous Materials*, *427*(October 2021), 128177. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.128177

28. Han, Y. (2012). *Functional analysis of glutathione and autophagy in response to oxidative stress*. 232.

29. Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *125*(1), 189–198. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1

30. Herbert, D., Phipps, P. J., & Strange, R. E. (1971). *Chapter III Chemical Analysis of Microbial Cells* (J. R. Norris & D. W. B. T.-M. in M. Ribbons (eds.); Vol. 5, pp. 209–344). Academic Press. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70641-X

31. Jesus, M. De, Santos, O., & Souza, C. D. O. (2022). Jo ur na l P re of. *Algal Research*, 102931. https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102931

32. Jia, W., Song, C., He, L., Wang, B., Gao, F., Zhang, M., & Ying, G. (2023). ScienceDirect Antibiotics in soil and water : Occurrence , fate , and risk. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, *32*, 100437. https://doi.org/10.1016/j.coesh.2022.100437

33. Jiang, X., Wang, D., Wu, W., & Li, F. (2023). Ecotoxicology and Environmental Safety The different toxicological effects and removal efficiencies of norfloxacin and sulfadiazine in culturing Arthrospira (Spirulina) platensis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *250*(December 2022), 114468. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.114468

34. Kumar, S., Habib, K., & Fatma, T. (n.d.). *Author ' s personal copy Endosulfan induced biochemical changes in nitrogen-fixing cyanobacteria*. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.05.026

35. Lacroux, J., Llamas, M., Dauptain, K., Avila, R., Steyer, J., Lis, R. Van, &

Trably, E. (2023). Science of the Total Environment Dark fermentation and microalgae cultivation coupled systems : Outlook and challenges. *Science of the Total Environment*, *865*(November 2022), 161136. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.161136

36. Leng, L., Wei, L., Xiong, Q., Xu, S., Li, W., Lv, S., Lu, Q., Wan, L., Wen, Z., & Zhou, W. (2020). Use of microalgae based technology for the removal of antibiotics from wastewater: A review. *Chemosphere*, *238*, 124680. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124680

37. Levasseur, W., Perré, P., & Pozzobon, V. (2020). A review of high value-added molecules production by microalgae in light of the classification. *Biotechnology Advances*, *41*(January), 107545. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107545

38. Li, Z. (2022). Ecotoxicology and Environmental Safety Prioritizing agricultural pesticides to protect human health : A multi-level strategy combining life cycle impact and risk assessments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *242*(February), 113869. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113869

39. Liu, W., Huang, W., Cao, Z., Ji, Y., Liu, D., Huang, W., Zhu, Y., & Lei, Z. (2022). Microalgae simultaneously promote antibiotic removal and antibiotic resistance genes/bacteria attenuation in algal-bacterial granular sludge system. *Journal of Hazardous Materials*, *438*(May), 129286. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129286

40. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, *193*(1), 265–275. https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6

41. Machado, M. D., & Soares, E. V. (2019). *Impact of erythromycin on a non-target organism : Cellular e ff ects on the freshwater microalga Pseudokirchneriella subcapitata*. *208*(November 2018), 179–186. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.01.014

42. Maia, C., Sousa, C. A., Sousa, H., Vale, F., & Simões, M. (2023). Parabens removal from wastewaters by microalgae – Ecotoxicity, metabolism and pathways. *Chemical Engineering Journal*, *453*(October 2022). https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.139631

43. Mamane, A. (2015). *Effets sanitaires aigus de l ' exposition aux pesticides en milieu rural : ´ etude dans un pays du nord : ´ etude PhytoRiv : ´ etude dans un pays du sud : PhytoNiger*.

44. Melegari, S. P., Perreault, F., Moukha, S., Popovic, R., Creppy, E. E., & Matias, W. G. (2012). Induction to oxidative stress by saxitoxin investigated through lipid peroxidation in Neuro 2A cells and Chlamydomonas reinhardtii alga. *Chemosphere*, *89*(1), 38–43. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.04.009

45. Mezghich, S. (2020). *Comportement photochimique dans l ' eau d ' une famille d ' antibiotiques : devenir et élimination To cite this version : HAL Id : tel-01919334*.

46. Miazek, K., & Brozek-Pluska, B. (2019). Effect of phrs and pcps on microalgal growth, metabolism and microalgae-based bioremediation processes: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(10). https://doi.org/10.3390/ijms20102492

47. Nilam, T., Tengku, B., Azalina, N., Feisal, S., Kamaludin, H., Yan, W., How, V., Bhatnagar, A., Ma, Z., & Loke, P. (2023). Bioresource Technology Biological active metabolites from microalgae for healthcare and pharmaceutical industries : A comprehensive review. *Bioresource Technology*, *372*(January), 128661. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128661

48. Paerl, H. W., & Huisman, J. (2008). Climate: Blooms like it hot. *Science*, *320*(5872), 57–58. https://doi.org/10.1126/science.1155398

49. Pan, M., Lyu, T., Zhan, L., Matamoros, V., & Angelidaki, I. (2021). Mitigating antibiotic pollution using cyanobacteria : Removal efficiency , pathways and metabolism. *Water Research*, *190*, 116735. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116735

50. Papry, R. I., Miah, S., & Hasegawa, H. (2022). Integrated environmental factor-dependent growth and arsenic biotransformation by aquatic microalgae: A review. *Chemosphere*, *303*(P3), 135164. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135164

51. Pignolet, O., Jubeau, S., Vaca-garcia, C., Michaud, P., Pignolet, O., Jubeau, S., Vaca-garcia, C., & Michaud, P. (2019). *Highly valuable microalgae : biochemical and topological aspects To cite this version : HAL Id : hal-02067092*.

52. Qian, H., Chen, W., Sheng, G. D., Xu, X., Liu, W., & Fu, Z. (2008). Effects of glufosinate on antioxidant enzymes, subcellular structure, and gene expression in the unicellular green alga Chlorella vulgaris. *Aquatic Toxicology*, *88*(4), 301–307. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.05.009

53. Rosa, M., Prado, C., Podazza, G., Interdonato, R., Juan, A., Hilal, M., Prado, F. E., Rosa, M., Prado, C., Podazza, G., Interdonato, R., González, A., Hilal, M., Prado, F. E., Signaling, P., & Prado, F. E. (2009). *A complex network in the life of plants nd es io s ci en ce o r u*. *2324*(May). https://doi.org/10.4161/psb.4.5.8294

54. Shahid, M., & Khan, M. S. (2022). Ecotoxicological implications of residual pesticides to beneficial soil bacteria: A review. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *188*(September), 105272. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2022.105272

55. Sharma, R. K., Singh, B., & Sahoo, A. (2008). Exploring feeding value of oak (Quercus incana) leaves: Nutrient intake and utilization in calves. *Livestock*

Science, *118*(1), 157–165. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.livsci.2008.01.022

56. Sheng, Y., Benmati, M., Guendouzi, S., Benmati, H., Yuan, Y., Song, J., Xia, C., & Berkani, M. (2022). Latest eco-friendly approaches for pesticides decontamination using microorganisms and consortia microalgae: A comprehensive insights, challenges, and perspectives. *Chemosphere*, *308*(P1), 136183. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136183

57. Singh, D. V., Bhat, R. A., Upadhyay, A. K., Singh, R., & Singh, D. P. (2021). Microalgae in aquatic environs: A sustainable approach for remediation of heavy metals and emerging contaminants. *Environmental Technology and Innovation*, *21*, 101340. https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101340

58. Singhal, M., Jadhav, S. V, Sonone, S. S., & Sankhla, M. S. (2021). Microalgae Based Sustainable Bioremediation of Water Contaminated by Pesticides. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, *12*(1), 149–169. https://doi.org/10.33263/briac121.149169

59. Thorel, E. (2020). *Effets des herbicides sur la physiologie d ' une diatomée benthique (Gomphonema gracile) : prise en compte des situations de stress multiples HAL Id : hal-02601439 Effets des herbicides sur la physiologie d ' une diatomée benthique (Gomphonema gracile .*

60. Toucheteau, C., & Toucheteau, C. (2023). *Evaluation du potentiel anti-âge d ' exopolysaccharides issus de microalgues To cite this version : HAL Id : tel-03934558*.

61. Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, *151*(1), 59–66. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1

62. Vicat, J. P., Doumnang Mbaigane, J. C., & Bellion, Y. (2014). Teneurs en éléments majeurs et traces de spirulines (Arthrospira platensis) originaires de France, du Tchad, du Togo, du Niger, du Mali, du Burkina-Faso et de République centrafricaine. *Comptes Rendus - Biologies*, *337*(1), 44–52. https://doi.org/10.1016/j.crvi.2013.11.004

63. Wang, N., Peng, L., Gu, Y., Liang, C., Pott, R. W. M., & Xu, Y. (2023). Insights into biodegradation of antibiotics during the biofilm-based wastewater treatment processes. *Journal of Cleaner Production*, *393*(February), 136321. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.136321

64. Wang, Q., Liu, W., Li, X., Wang, R., & Zhai, J. (2020). Science of the Total Environment Carbamazepine toxicity and its co-metabolic removal by the cyanobacteria Spirulina platensis. *Science of the Total Environment*, *706*, 135686. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135686

65. Wu, C., & He, C. (2019). Chemosphere Interaction effects of oxytetracycline and copper at different ratios on marine microalgae Isochrysis galbana.

Chemosphere, *225*, 775–784. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.067

66. Wu, Y., Han, L., Wu, X., Jiang, W., Liao, H., Xu, Z., & Pan, C. (2022). Trends and perspectives on general Pesticide analytical chemistry. *Advanced Agrochem*, *October*. https://doi.org/10.1016/j.aac.2022.11.002

67. Xiong, J. Q., Kurade, M. B., & Jeon, B. H. (2018). Can Microalgae Remove Pharmaceutical Contaminants from Water? *Trends in Biotechnology*, *36*(1), 30–44. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.09.003

68. Xiong, Q., Hu, L. X., Liu, Y. S., Zhao, J. L., He, L. Y., & Ying, G. G. (2021). Microalgae-based technology for antibiotics removal: From mechanisms to application of innovational hybrid systems. *Environment International*, *155*, 106594. https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106594

69. Yang, Z. (2018). *Functional analysis of catalase mutants and their application to the analysis of NADPH-linked pathways in oxidative signaling in Arabidopsis thaliana*.

70. Yisa, A. G., Chia, M. A., Sha'aba, R. I., Gauji, B., Gadzama, I. M. K., & Oniye, S. J. (2021). The antibiotic ciprofloxacin alters the growth, biochemical composition, and antioxidant response of toxin-producing and non-toxin-producing strains of Microcystis. *Journal of Applied Phycology*, *33*(4), 2145–2155. https://doi.org/10.1007/s10811-021-02485-1

71. Yu, C., Pang, H., Wang, J. H., Chi, Z. Y., Zhang, Q., Kong, F. T., Xu, Y. P., Li, S. Y., & Che, J. (2022). Occurrence of antibiotics in waters, removal by microalgae-based systems, and their toxicological effects: A review. *Science of the Total Environment*, *813*, 151891. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151891

72. Zhang, J., Chen, S., Yuan, M., Zhang, W., Xu, H., Wang, X., Zheng, X., & Wang, L. (2021). Interactions of the Cyanobacterium Chrysosporum ovalisporum with Antibiotics in Water. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, *80*(2), 402–413. https://doi.org/10.1007/s00244-021-00811-9

73. Zhou, X., Jiang, X., Gao, S., Wan, Z., & Gao, P. (2021). Effects of oxytetracycline dihydrate and sulfamethoxazole on Microcystis aeruginosa and Chlamydomonas microsphaera. *Journal of Oceanology and Limnology*, *39*(1), 160–172. https://doi.org/10.1007/s00343-020-9214-6

74. Zhuang, L. L., Yu, D., Zhang, J., Liu, F. fei, Wu, Y. H., Zhang, T. Y., Dao, G. H., & Hu, H. Y. (2018). The characteristics and influencing factors of the attached microalgae cultivation: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *94*(July), 1110–1119. https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.06.006

Résume

La contamination par les pesticides et les antibiotiques peut être très préoccupante pour l'environnement et nécessite des approches efficaces pour leur élimination. Le but de cette étude est déterminer les effets des Belt (BLT), Erythromycine (ERY) et leurs combinés du BLT+ERY après 4 jours de culture sur les paramètres morphophysiologiques (les pigments photosynthétiques) et biochimiques (MDA, H_2O_2, protéines, CAT, APX, GST, POD) des microalgues ont été étudiés. Les résultats ont montré que il y'a une diminution dans la croissance, lors de l'application individuelle de BLT et ERY. L'application de combinée des pesticides et des antibiotiques encore diminué la croissance du la spiruline. Nos résultats montrent une augmentation des teneurs de MDA et une activation de système antioxydant lors de l'application individuelle de BLT et ERY. L'application combinée des BLT+ERY encore augmente la production des enzymes. Les résultats conclu que la toxicité de combiné (BLT+ ERY) est plus danger pour la croissance *d'Arthrospira Platensis* par rapport à la toxicité individuelle.

Mots clés : Belt, Erythromycine, *Arthrospira Platensis*, toxicité combinée, croissance.

Abstract

Pesticide and antibiotic contamination can be of great concern to the environment and requires effective approaches for their removal. The aim of this study is to determine the effects of Belt (BLT), Erythromycine (ERY) and their combined BLT+ERY after 4 days of culture on morphophysiological (photosynthetic pigments) and biochemical (MDA, H_2O_2, proteins, CAT, APX, GST, POD) parameters of microalgae were studied. The results showed that there is a decrease in growth, when applying BLT and ERY individually. The combined application of pesticides and antibiotics further decreased the growth of Spirulina. Our results show an increase in MDA levels and an activation of antioxidant system during individual application of BLT and ERY. The combined application of BLT+ERY further increases the production of enzymes. The results concluded that the combined toxicity (BLT+ ERY) is more dangerous for the growth of Arthrospira Platensis compared to the individual toxicity.

Keywords: Belt, Erythromycine, *Arthrospira Platensis*, combined toxicity, growth.

الملخص

يمكن أن يكون التلوث بمبيدات الآفات والمضادات الحيوية مصدر قلق كبير للبيئة ويتطلب مناهج فعالة للتخلص منها. الهدف من هذه الدراسة هو تحديد تأثيرات بالت و ايريترومايسين ومزيجهما بالت + ايريترومايسين من بعد 4 أيام من المعالجة على العوامل الفيزيولوجية الشكلية (أصباغ التمثيل الضوئي) والبيوكيميائية (MDA، H_2O_2 ، البروتينات ، CAT، APX، GST، POD.) على الطحالب الدقيقة. أظهرت النتائج أن هناك انخفاضًا في النمو عند بالت وايريترومايسين بشكل فردي. أدى التطبيق المشترك للمبيدات الحشرية والمضادات الحيوية إلى تقليل نمو السبيرولينا. تظهر نتائجنا زيادة في مستويات MDA وتنشيط نظام مضادات الأكسدة أثناء الاستخدام الفردي لـ بالت وايريترومايسين. يزيد التطبيق المشترك لـ بالت + ايريترومايسين من إنتاج الإنزيمات. خلصت النتائج إلى أن السمية المركبة (بالت +ايريترومايسين) أكثر خطورة على نمو *Arthrospira Platensis* مقرنة بالسمية الفردية.

الكلمات المفتاحية: بالت ، الاريثروميسين ، أرثروسبيرا بلاتنسيس ، السمية المركبة ، النمو.