



HAL
open science

Étude des cyanobactéries de la lagune aghien et de leur potentialité à produire des métabolites secondaires

Djéha Rosine Affoué Yao

► **To cite this version:**

Djéha Rosine Affoué Yao. Étude des cyanobactéries de la lagune aghien et de leur potentialité à produire des métabolites secondaires. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Félix Houphouët Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire); Numéro d'ordre 2275 / 2020, 2020. Français. NNT: . tel-02883242

HAL Id: tel-02883242

<https://theses.hal.science/tel-02883242>

Submitted on 28 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE
Union-Discipline-Travail

Ministère de l'Enseignement Supérieur
Et de la Recherche Scientifique



Laboratoire de Biologie
et Santé

Année Universitaire
2019-2020

THESE

Présentée pour l'obtention du Titre de Docteur de
L'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY

Spécialité : Biologie Fonctionnelle et Moléculaire

Numéro d'ordre
2275 / 2020

YAO DJEHA AFFOUE ROSINE

ETUDE DES CYANOBACTERIES DE LA LAGUNE AGHIEN ET DE LEUR POTENTIALITE A PRODUIRE DES METABOLITES SECONDAIRES

Soutenu publiquement
Le, 20 /02/ 2020

Composition du jury

M. KOUASSI K. Philippe	Professeur Titulaire	UFHB	Président
M. DJAMAN A. Joseph	Professeur Titulaire	UFHB	Directeur
Mme GUGGER Muriel	HDR	IPP	Co-directeur
M. BAGRE Issa	Maître de Conférences	UFHB	Rapporteur
Mme. NIAMIEN – EBROTTIE J. E	Maître de Conférences	UNA	Rapporteur
Mme FAYE – KETTE H	Professeur Titulaire	UFHB	Examineur

DEDICACES

Cette thèse est dédiée à :

*Feu Mr **YAO DJEHA DOMINIQUE**, mon père qui n'a pas pu jouir du fruit de ses efforts. Ton amour et ta protection nous manquent. Merci pour nous avoir permis de faire la dure expérience de la vie de par nous-mêmes : Que la terre te soit légère.*

*Feue Mme **KOFFI AMENAN MADELEINE** épouse YAO, ma mère, partie trop tôt. Merci maman pour les conseils et les bénédictions qui nous ont permis d'affronter les obstacles de la vie. Que la terre te soit légère*

*Mme **GUEHI FATOU née DIOP**, celle-là même qui nous a offert gîte et couvert dans les plus terribles moments de notre vie. Ma seconde mère, merci pour l'amour. Merci pour m'avoir appris que nul ne peut progresser s'il ne s'en donne pas les moyens et ne cherche pas à dépasser ses limites. Merci MAMAN. Que Dieu te garde longtemps auprès de nous.*

*Mlle **MILIKE LEILA KAILY**, ma fille, mon inspiration, le soleil de ma vie. Merci de supporter mes absences répétées pendant ces années de dur labeur.*

*Mr **DIALLO SOULEYMANE**, mon compagnon, pour son amour, son soutien et ses encouragements qui m'ont aidé à aller jusqu'au bout de cette thèse. Malgré la distance qui nous sépare, tu as été toujours là dans les moments difficiles. Tu m'as toujours soutenu, souvent relevé, et tu as été toujours là pour moi. Tu m'as supporté et réconforté pendant mes moments de doute. Grand merci.*

*Mlle **YAO DJEHA AUDREY, N'GUESSAN N'GUESSAN JULIETTE, YAO DJEHA CATHERINE, YAO DJEHA JOËLLE**, mes sœurs, pour leur soutien inestimable tout au long de ces années passionnantes de recherche. Fasse Dieu que cette grâce en appelle d'autres au sein de la famille.*

*Feu **YOBOUE KOUASSI GEORGES ROLAND** mon binôme et frère comme convenu je l'ai fait. Que la terre te soit légère*

REMERCIEMENTS

Ce travail de recherche a été effectué dans le cadre du projet portant sur les métabolites secondaires secrétés par les Cyanobactéries de la lagune Aghien, pour l'étude de leurs toxicités et de leurs applications pharmacologiques potentielles.

La thèse est incontestablement synonyme d'une aventure passionnante et enrichissante, du point de vue scientifique, mais aussi personnel et humain d'autant plus qu'elle permet de construire un projet qui conjugue différentes approches. Je tiens donc à présenter ici mes remerciements aux personnes qui ont rendu possible la présente étude et qui ont contribué à sa réalisation sous quelle que forme que ce soit.

Monsieur **KARAMOKO Abou**, Professeur Titulaire de Philosophie, Président de l'Université Félix Houphouët Boigny de Cocody (UFHB). Je voudrais exprimer toute ma gratitude pour avoir accepté mon inscription et facilité les demandes administratives tout au long de ma formation.

Monsieur **KOUAMELAN Essetchi Paul**, Professeur Titulaire d'Hydrobiologie, Doyen de l'UFR. Biosciences (UFHB). Je tiens à vous témoigner ma reconnaissance pour avoir autorisé mon inscription.

Madame **DOSSO Mireille**, Professeur Titulaire de Bactériologie-Virologie à l'UFR des Sciences médicales d'Abidjan, Directeur de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Un grand merci à vous pour l'opportunité que vous m'avez donné en m'ouvrant les portes de votre institution. Puisse le Seigneur continue de vous bénir.

Monsieur **DJAMAN Allico Joseph**, Professeur Titulaire de Biochimie et de Parasitologie à l'U.F.R. Biosciences (UFHB), Chef du département de Biochimie Clinique et Fondamentale à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Directeur du Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique de l'U.F.R. Biosciences (UFHB), Directeur de cette thèse. Ces années de formation scientifique passées avec vous depuis le Master de Biologie Fonctionnelle et Moléculaire ont été une expérience professionnelle et humaine très enrichissante pour nous. Merci pour votre confiance et votre soutien, malgré les doutes, merci pour votre immense disponibilité et votre investissement dans le travail.

Madame **GUGGER Muriel**, Chercheur, Chef du laboratoire Collection des Cyanobactéries de l'Institut Pasteur de Paris, Co-directeur de cette thèse. Merci pour votre encadrement et pour m'avoir accordé votre confiance en acceptant de codiriger cette thèse. Merci de m'avoir acceptée dans votre unité, pour avoir été disponible, avoir été à mon écoute et m'avoir guidée tout en me laissant libre dans mes choix. Merci également pour votre soutien scientifique, mais aussi humain.

Monsieur **KOUASSI Kouassi Phillipe**, Professeur Titulaire de Biologie Animale, Président de la Commission Scientifique de l'UFR Biosciences (UFHB). Votre rigueur dans le travail et votre grande culture scientifique fait de vous une référence dans le domaine de la recherche. Je suis très honoré qu'un Scientifique de votre rang préside ce jury. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et ma plus grande admiration. Que le tout puissant vous bénisse et vous comble continuellement de sa grâce.

Madame **FAYE -KETTE Hortense**, Professeur Titulaire de Bactériologie-Virologie à l'U.F.R. des Sciences Médicales d'Abidjan, Directeur Scientifique à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Vous êtes pour moi une source d'inspiration intarissable. Merci d'avoir donné votre accord pour faire partie de ce Jury. Je reste convaincue que vos critiques et observations permettront de renforcer ce travail. Soyez assurée de ma profonde estime.

Madame **NIAMIEN Julie Estelle** Épouse **ÉBROTTIE**, Maître de Conférences au Laboratoire d'Environnement et de Biologie Aquatique à l'Université Nangui Abrogoua. Je voudrais vous traduire ma reconnaissance pour avoir accepté d'instruire ce travail en qualité de rapporteur externe. Votre rigueur dans le travail et votre grande culture scientifique m'ont permis d'améliorer ce travail. Merci pour votre courtoisie et pour le temps que vous m'aviez consacré.

Monsieur **BAGRE Issa**, Maître de conférences au Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique de l'UFR Biosciences (UFHB). Je vous remercie, cher Maître, pour l'ensemble de vos remarques et critiques ainsi que pour votre disponibilité à instruire ce mémoire de thèse en qualité de rapporteur interne. Je tiens à vous assurer de ma grande estime et de ma profonde gratitude.

Monsieur **COULIBALY Kalpy Julien**, Médecin, Chargé de Recherche, Chef de l'Unité de Chimie et de Microbiologie Environnementales (UCME) au Département Environnement et Santé à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Merci de nous avoir guidée et soutenue financièrement dans tous ces travaux, et de nous avoir permis de réaliser ce travail dans votre service. Vous vous êtes toujours comporté comme un véritable père pour nous durant ces années. Merci pour tout le temps précieux que j'ai passé dans votre laboratoire, pour vos conseils et pour toute l'aide matérielle et morale envers ma personne. Les mots ne pourront jamais exprimer ma reconnaissance et ma profonde gratitude. Soyez-en infiniment remercié.

Monsieur **N'GUESSAN Jean David**, Professeur Titulaire de Biochimie-Pharmacologie à l'UFR Biosciences (UFHB). Je tiens à vous exprimer toute ma gratitude, merci d'avoir guidé mes premiers pas dans l'univers de la recherche scientifique depuis le Master I à travers des séances de travail qui ont véritablement forgé mon esprit. Infinie Reconnaissance.

Monsieur **TREBISSOU Johnson Noël**, Maître de conférences au Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique de l'UFR Biosciences (UFHB), je vous remercie pour avoir accepté d'analyser ce travail. Vos remarques et suggestions nous ont permis d'améliorer la qualité de ce manuscrit.

Monsieur **TCHETCHE Yao**, Maître de Conférences à l'Université Nangui Abrogoua à l'UFR des Sciences Fondamentale Appliquée. Grand merci pour vos encouragements, votre soutien financier et moral. Dieu vous le rendra au centuple.

Monsieur **COULIBALY Zanakongo**, Chargé de recherche à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire au sein de l'Unité d'Herpétologie. Grand merci pour votre aide et vos conseils.

Monsieur **SARAKA Daniel**, Attaché de recherche à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire au sein de l'Unité de Gestion des Ressources Animales. Je voudrais vous témoigner toute ma gratitude pour vos critiques, vos encouragements et vos contributions à l'amélioration de ce mémoire.

Monsieur **AKO Bérenger**, Chargé de recherche à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire au sein de l'Unité de Paludologie. Merci pour tous vos conseils. Dieu vous bénisse.

Madame **AMON Lydie Nina**, Docteur à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire au sein de l'Unité de Chimie et de Microbiologie Environnementale. Grand merci à toi, tu as été présente toutes les fois que je t'ai sollicitée. Merci ma sœur.

Madame **VAKOU Sabine**, Attaché de Recherche à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire au sein de l'Unité de Chimie et de Microbiologie Environnementale. Merci pour les conseils concernant l'amélioration de ce document.

Madame **TETTY Marie Pascale**, Medecin à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire au sein de l'Unité de Chimie et de Microbiologie Environnementale. Je voudrais exprimer ici ma reconnaissance pour l'aide et les bons moments passés ensemble.

Monsieur **KONAN Kouassi Martin**, Docteur de l'Université Félix Houphouët Boigny. Merci de m'avoir écouté me plaindre de tout et n'importe quoi. Nos longues conversations ont été très importantes pour moi. Ta force de caractère m'a toujours impressionnée. Grand Merci binôme.

Monsieur **YAO Kouamé René**, Docteur de l'Université Félix Houphouët Boigny. Merci frère pour les échanges et les durs moments passés au laboratoire pour la rédaction de nos différents mémoires.

Madame **OUATTARA Aminata**, Attaché Administrative à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire au sein de l'Unité de Chimie et de Microbiologie Environnementale, je voudrais vous témoigner ma reconnaissance pour tout le temps que vous m'avez consacré durant la réalisation de ces travaux.

Monsieur **EHUIE Pierre**, Ingénieur des Techniques sanitaires à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire au sein de l'Unité de Chimie et de Microbiologie Environnementale. Merci infiniment pour votre disponibilité. Dieu vous le rende.

Monsieur **SYLLA Aboubakar**, Ingénieur de Conception à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire au sein de la Plateforme de Biologie moléculaire. Merci pour mon initiation à la pratique de la biologie moléculaire, nous avons passé de très bons moments au laboratoire, Tu es quelqu'un de super au caractère bien trempé et surtout ne change pas. Merci patron.

Messieurs **KONE Mamadou, YAO Kouamé Eric, KOFFI Ahoutou Martial**, tous Doctorants, nos compagnons de tous les temps, nous n'oublions jamais les moments d'échantillonnage sur la lagune et nos longues périodes au laboratoire après chaque échantillonnage. Merci à vous.

Monsieur **DIABY Aboubakar Sidick** et Madame **Ouattara Kady**, Doctorants à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire au sein de l'Unité de Chimie et de Microbiologie Environnementale, merci pour votre soutien et votre présence à mes côtés durant ces moments inoubliables. Puisse Dieu vous le rendre au centuple.

Messieurs **Mouso Henri Gauthier, Nangoh Kouamé Martin**, Doctorants à l'Université Nangui Abrogoua au Laboratoire d'Environnement et de Biologie Aquatique, pour votre aide lors des identifications des Cyanobactéries. Merci pour votre patience et votre générosité.

Merci à tous les membres et stagiaires de l'Unité de chimie et de microbiologie environnementale de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire pour leurs contributions et leur précieux soutien.

Merci aux enseignants chercheurs et chercheurs du laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique pour la formation qu'ils m'ont donnée.

✓ **Professeurs Titulaires**

Monsieur DJAMAN A. Joseph <i>Directeur du laboratoire</i>	Professeur titulaire
Monsieur BIDIE A. Dit Philippe	Professeur titulaire
Monsieur COULIBALY Adama <i>Chef d'unité</i>	Professeur titulaire
Monsieur N'GUESSAN Jean David <i>Vice-Doyen</i>	Professeur titulaire
Monsieur YAPI H. Félix	Professeur titulaire
Monsieur YAPO A. Francis	Professeur titulaire

✓ **Maîtres de Conférences**

Monsieur BAGRE Issa	Maître de conférences
Monsieur BAHI Calixte	Maître de conférences
Monsieur BLA K. Brice	Maître de conférences
Monsieur COULIBALY FA.	Maître de conférences
Monsieur KRA Adou M.	Maître de conférences
Monsieur OUATTARA Karamoko	Maître de conférences
Madame THES P. Marie Epse SOUMAHORO	Maître de conférences
Monsieur TREBISSOU Johnson Noël	Maître de conférences
Monsieur YEO Dodéhé	Maître de conférences

✓ **Maîtres-Assistants**

Madame AGRE Josette Épse KOUADIO	Maître-assistant
Monsieur AHUA Maximin	Maître-assistant
Monsieur DJYH Bernard Nazaire	Maître-assistant
Monsieur KOUASSI Konan	Maître-assistant
Monsieur KOUASSI K. Serge	Maître-assistant
Monsieur PAKORA Gilles Alex	Maître-assistant
Monsieur OUATTARA Sitapha	Maître-assistant

✓ **Chargés de Recherche**

Monsieur AKAPO-AKUE Joël	Chargé de Recherche
Monsieur KIPRE G. Rolland	Chargé de Recherche
Madame LUTTY A. Constance	Chargé de Recherche

✓ **Assistants**

Monsieur BAMBA Abou	Assistant
Monsieur DAGNOGO Oléfongo	Assistant
Monsieur YOUAN G. Pascale	Assistant

✓ **Enseignant du secondaire détaché**

Madame KONE Salimata Épse COULIBALY	Professeur certifié
--	---------------------

TABLE DES MATIERES

DEDICACES.....	I
REMERCIEMENTS.....	III
TABLE DES MATIERES.....	IX
LISTE DES ABREVIATIONS.....	XVI
LISTE DES FIGURES.....	XX
LISTE DES TABLEAUX.....	XXIII
INTRODUCTION.....	1
GENERALITES.....	5
I- Cyanobactéries.....	6
I-1- Classification.....	6
I-2- Caractéristiques morphologiques.....	8
I-3- Adaptation des Cyanobactéries.....	11
I-4- Habitat.....	12
I-5- Facteurs de croissance des Cyanobactéries.....	12
I-5-1- Température.....	12
I-5-2- Intensité lumineuse.....	13
I-5-3- Conductivité.....	13
I-5-4- Turbidité.....	13
I-5-5- Potentiel Hydrogène.....	14
I-6- Proliférations massives de Cyanobactéries.....	15
I-6-1- Facteurs favorisant les efflorescences.....	17
I-6-2- Conséquences biologiques et écologiques des efflorescences.....	17
I-7- Cyanobactéries de la Côte d'Ivoire.....	17
II- Quelques Cyanobactéries potentiellement productrices de métabolites secondaires.....	18
II-1- Genre <i>Microcystis</i>	18
II-2- Genre <i>Planktothrix</i>	19
II-3- Genre <i>Anabaena</i>	20

III- Métabolites secondaires	20
III-1- Hépatotoxines.....	21
III-1-1- Microcystines.....	21
III-1-2- Nodularines et cylindrospermopsines	24
III-2- Neurotoxines	24
III-2-1- Anatoxines	24
III-2-2- Saxitoxines et dérivées	25
III-2-3- β -N-méthylamino-L-alanine (BMMA)	25
III-3- Dermatotoxines	26
III-4- Autres métabolites secondaires	26
III-4-1- Cyanopeptolines.....	28
III-4-2- Aeruginosines	28
III-4-3- Microviridines.....	30
IV- Déterminisme de la production de toxines.....	32
IV-1- Voies de biosynthèse des cyanotoxines.....	32
IV-2- Biosynthèse des microcystines.....	33
IV-3- Rôle écologique de la microcystine	35
V- Toxicocinétique et toxicodynamique des microcystines.....	36
V-1- Toxicocinétique	36
V-2- Toxicodynamique	37
V-3- Conséquences de l'action de la microcystine.....	39
MATERIEL & METHODES	41
I- Matériel d'étude	42
I-1- Type d'étude et critères de choix du site d'étude	42
I-2- Cadre et période d'étude.....	42
I-3- Milieu d'étude.....	43
I-3-1- Localisation du site d'étude.....	43
I-3-2- Climat et pluviométrie	43

I-3-3- Relief et végétation	43
I-3-4- Pédologie et géologie	44
I-3-5- Occupation du sol et activités anthropiques	44
I-4- Matériel de mesure des paramètres physico chimiques sur le terrain et dosage de nutriments.....	46
I-4-1- Matériel de mesure des paramètres physico chimiques sur le terrain.....	46
I-4-2- Matériel utilisé pour le dosage des nutriments	46
I-5- Matériel de prélèvement des échantillons d’eaux	48
I-6- Matériel d’analyse	48
I-6-1- Matériel de filtration	48
I-6-2- Matériel d’identification des Cyanobactéries	48
I-6-3- Matériel de dosage de la chlorophylle (<i>a</i>).....	50
I-6-4- Matériel d’isolement et culture des Cyanobactéries	50
I-6-4-1- Matériel de préparation de milieu	50
I-6-4-2- Matériel d’isolement.....	50
I-6-5- Constituants du milieu de culture des Cyanobactéries	50
I-6-6- Matériel d’analyses moléculaires	51
I-6-6-1- Matériel d’extraction et amplification	51
I-6-6- 2- Amorces et souches utilisées.....	53
I-6-7- Autres réactifs.....	55
II- Méthodes	55
II-1- Choix et description des stations d’échantillonnage.....	55
II-2- Schéma des méthodologies	58
II-3- Mesures des paramètres physico-chimiques de l’eau sur le terrain.....	58
II-4- Prélèvement des échantillons	60
II-5- Filtration des échantillons	60
II-6- Dosage des éléments nutritifs.....	61
II-6-1- Phosphore et orthophosphates.....	61

II-6-1-1- Principe.....	61
II-6-1-2- Mode opératoire	61
II-6-2- Nitrates et nitrites	62
II-6-2-1- Principe.....	62
II-6-2-2- Mode opératoire	62
II-7- Observation et identification des Cyanobactéries en présence	64
II-8- Fréquence des Cyanobactéries	64
II-9- Dosage de la chlorophylle (<i>a</i>).....	64
II-10- Isolement et culture de Cyanobactéries.....	65
II-10-1- Constituants du milieu de culture des Cyanobactéries	65
II-10-2- Préparation du milieu liquide	68
II-10-3- Préparation du milieu solide.....	68
II-10-4- Isolement par ensemencement	68
II-10-5-- Isolement direct sous loupe binoculaire	68
II-10-6- Incubation.....	69
II-10-7- Repiquages successifs.....	69
II-11- Analyses moléculaires.....	71
II-11-1- Randomisation des échantillons avant extraction	71
II-11-2- Extraction de l'ADN.....	71
II-11-3- Reconstitution des échantillons après extraction.....	72
II-11-4- Amplification des séquences par PCR.....	72
II-11-5- Migration des échantillons et révélation	73
II-12- Analyses statistiques	74
RESULTATS & DISCUSSION	75
I- Résultats.....	76
I-1- Variation des paramètres physico-chimiques	76
I-1-1- Potentiel hydrogène	76
I-1-2- Température.....	76

I-1-3- Conductivité	76
I-1-4- Turbidité.....	80
I-1-5- Phosphore.....	80
I-1-6- Orthophosphates	80
I-1-7- Nitrates.....	84
I-1-8- Nitrites.....	84
I-2- Biomasse chlorophyllienne.....	84
I-3- Variation spatio-saisonnier des paramètres physico-chimiques et de la biomasse chlorophyllienne	88
I-3-1- Pendant l'année 2016.....	88
I-3-2- De la grande saison sèche 2017 à la grande saison sèche 2018	94
I-4- Typologie de la zone d'étude.....	101
I-5- Isolement des Cyanobactéries.....	103
I-5-1- Nombres de souches isolées	103
I-5-2- Distribution spatio-temporelle des souches isolées	103
I-5-3- Nombre de souches isolées en fonction du mode d'isolement.....	103
I-5-4- Nombre de Cyanobactéries obtenues après les repiquages successifs	103
I-5-5- Nombre de Cyanobactéries obtenues après les transferts sur le milieu liquide	103
I-5-6- Taux de Cyanobactéries obtenues après croissance	103
I-5-7- Taux de colonies de Cyanobactéries perdues pendant l'étude	103
I-6- Étude qualitative des Cyanobactéries.....	106
I-6-1- Composition des Cyanobactéries en présence.....	106
I-6-2- Pourcentage de fréquence des Cyanobactéries.....	109
I-6-3- Genres potentiellement producteurs de métabolites secondaires	109
I-7- Analyses moléculaires.....	111
I-7-1- Identification moléculaire des Cyanobactéries.....	111
I-7-2- Détection de gènes de métabolites secondaires.....	113

I-7-3- Détection simultanée de gènes	116
I-7-4- Genres responsables de la synthèse des métabolites	116
II- Discussion.....	118
CONCLUSION & PERSPECTIVES.....	119
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	119
ANNEXES	119

LISTE DES ABREVIATIONS

ACC :	Adaptation Chromatique Complémentaire
ACP :	Analyse en Composantes Principales
Adda :	Acide (2S, 3S, 8S, 9S)-3 amino-9 méthoxy- 2, 6,8-triméthyl-10 phenyl déca-4,6- diénoïque
ADN :	Acide Désoxyribonucléique
Aer :	Aeruginosines
Ahp :	3 amino-6-hydroxy -2 pipéridone
ATP :	Adénosine Triphosphate
BET :	Bromure d'éthidium
BMAA :	β , N méthylamino L alanine
Chl <i>a</i> :	Chlorophylle <i>a</i>
Choi :	2-carboxy-6-hydroxy Octahydroindole
CO₂ :	Dioxyde de carbone
CO₃²⁻ :	Ion carbonate
CNRA :	Centre National de Recherche Agronomique
Cyst :	Cystéine
dNTP :	Désoxyribonucléotide triphosphate
DO :	Densité Optique
EDTA :	Ethylene Diamine Tetra acetic acid
G.P.S. :	Global Positioning System = Système de Positionnement Global
GF/C :	Glass Microfibre Filters
GSH :	Glutathion
GSP :	Grande Saison des Pluies
GSS :	Grande Saison Sèche
GVP :	Gas Vesicle Protein

H₂O PPI :	Eau pour préparation injectable
Hpla :	4 hydroxy-acide phenyllactique
IPCI :	Institut Pasteur de Côte d'Ivoire
IPFM :	Intoxication Paralysante par les fruits de mer
IPP :	Institut Pasteur de Paris
IRD :	Institut de Recherche et Développement
LPS :	Lipopolysaccharides
MC-LR :	Microcystine Leucine Arginine
MCS :	Microcystines
Mdha :	N- methyl dehydroalanine
Mdn :	Microviridines
N₂ :	Diazote
NaOH :	Hydroxyde de sodium
NO₃⁻ :	Nitrates
NRPS :	Non-ribosomal peptide synthetase
NTU :	Nephelometric Formazine Unit
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
<i>P. agarghii</i> :	<i>Planktothrix agarghii</i>
<i>P. rubescens</i> :	<i>Planktothrix rubescens</i>
PCR :	Polymerase Chain Reaction
pH :	Potentiel Hydrogène
PKS :	Polykétide synthétase
PCC :	Pasteur Culture collection of Cyanobacteria
PP1 A :	Protéine Phosphatase de type 1
PP2 A :	Protéine Phosphatase de type 2

PSP :	Petite Saison des Pluies
PSS :	Petite Saison Sèche
ROS	Reactive Oxygen Species
T :	Température
TBE :	Tris Borate EDTA
Tris EDTA :	Tris Ethylene Diamine Tetra acetic
U.F.R :	Unité de Formation et de Recherche
USA :	United States of America
UPIL :	Unité de Préparation des Intrants de Laboratoire
UV :	Ultra-violet

LISTE DES FIGURES

Figure 1 :	Morphotypes de Cyanobactéries. Collection de Cyanobactéries, Institut Pasteur Paris	10
Figure 2 :	Efflorescences de Cyanobactéries sur la lagune Aghien	16
Figure 3 :	Structure de microcystine	23
Figure 4 :	Structure de cyanopeptoline.....	29
Figure 5 :	Structure d'aeruginosine	29
Figure 6 :	Structure de microviridine A.....	31
Figure 7 :	Voies de biosynthèse de la microcystine	34
Figure 8 :	Fixation de la microcystine LR sur la phosphatase	38
Figure 9 :	Lagune Aghien et les activités anthropiques.....	45
Figure 10 :	Matériel de mesure des paramètres physico-chimiques sur le terrain et dosage des nutriments	47
Figure 11 :	Matériel nécessaire pour le prélèvement d'eau de la lagune	49
Figure 12 :	Instruments nécessaires à l'extraction de l'ADN et à la visualisation	52
Figure 13 :	Stations d'échantillonnage de la lagune Aghien	56
Figure 14 :	Schéma des méthodologies utilisées	59
Figure 15 :	Isolement et culture des Cyanobactéries.....	70
Figure 16 :	Variation spatio-temporelle du pH des eaux de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018	77
Figure 17 :	Variation spatio-temporelle de la température des eaux de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018	78
Figure 18 :	Variation spatio-temporelle de la conductivité des eaux de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018	79
Figure 19 :	Variation spatio-temporelle de la turbidité des eaux de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018.....	81
Figure 20 :	Variation spatio-temporelle du phosphore dans les échantillons d'eau de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018	82
Figure 21 :	Variation spatio-temporelle des orthophosphates dans les échantillons d'eau de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018	83
Figure 22 :	Variation spatio-temporelle des nitrates dans les échantillons d'eau de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018	85
Figure 23 :	Variation spatio-temporelle du nitrite dans les échantillons d'eau de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018.....	86

Figure 24 :	Variation spatio-temporelle de la biomasse chlorophyllienne dans les échantillons d'eau de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018	87
Figure 25 :	Variation spatio-saisonnière du pH et de la température de l'année 2016	89
Figure 26 :	Variation spatio-saisonnière de la conductivité et de la turbidité de l'année 2016...	90
Figure 27 :	Variation spatio-saisonnière de la teneur en phosphore et en orthophosphates de l'année 2016	91
Figure 28 :	Variation spatio-saisonnière de la teneur en nitrite et en nitrate de l'année 2016	92
Figure 29 :	Variation spatio-saisonnière de la biomasse chlorophyllienne de l'année 2016.....	93
Figure 30 :	Variation spatio-saisonnière du pH et de la température de l'année 2017	95
Figure 31:	Variation spatio-saisonnière de la conductivité et de la turbidité de l'année 2017..	96
Figure 32 :	Variation spatio-saisonnière de la teneur en phosphore et en orthophosphates de l'année 2017	97
Figure 33 :	Variation spatio-saisonnière de la teneur en nitrites et en nitrates de l'année 2017	98
Figure 34 :	Variation spatio-saisonnière de la biomasse chlorophyllienne de l'année 2017.....	99
Figure 35 :	Variation spatio-saisonnière des paramètres physico-chimiques et de la biomasse chlorophyllienne de l'année 2018	100
Figure 36 :	Relation entre les paramètres physico- chimiques et les saisons	102
Figure 37 :	Nombre de Cyanobactéries isolées, purifiées et mises en culture.....	105
Figure 38 :	Quelques genres de Cyanobactéries observés dans la lagune Aghien de juin 2016	107
Figure 39 :	Fréquence des Cyanobactéries observées dans les échantillons d'eau	110
Figure 40 :	Profil électrophorétique du cluster cible de l'ARN 16 S sur gel d'agarose à 1% .	112
Figure 41 :	Fréquence de <i>mcyA</i> , <i>mcyD</i> , <i>mcnC</i> , <i>mdnB</i> et <i>aerD</i> dans les échantillons d'eau	114
Figure 42 :	Profils électrophorétiques des gènes de métabolites secondaires	115

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I :	Principales classes de peptides de Cyanobactéries et leurs réponses bioactives ..	27
Tableau II :	Séquences des amorces utilisées	54
Tableau III :	Coordonnées GPS et description des stations d'échantillonnage	57
Tableau IV :	Guide de référence de kits (LCK) de dosage des sels nutritifs	63
Tableau V :	Composition du milieu de culture BG11	66
Tableau VI :	Composition de solution métallique pour 250 mL d'eau stérile	67
Tableau VII :	Ordre et genres des Cyanobactéries observées.....	108
Tableau VIII :	Formes des différentes Cyanobactéries observées	108
Tableau IX :	Détection simultanée des différents gènes.....	117
Tableau X :	Genres responsables de la synthèse des métabolites secondaires.....	117

INTRODUCTION

Les Cyanobactéries sont des microorganismes aquatiques de type procaryote à photosynthèse oxygénée qui constituent le groupe phytoplanctonique dominant des masses d'eau douce eutrophes dans le monde. Elles sont apparues sur terre environ 3 milliards d'années (**Paerl et Paul, 2012**), ce qui leur a permis de coloniser une très grande diversité d'écosystèmes, de l'équateur jusqu'aux pôles. Elles sont naturellement présentes (moins de 20000 cellules/mL) dans le milieu aquatique sans qu'aucun problème n'y soit associé. Cependant, lorsque les conditions sont appropriées, de nombreuses espèces de Cyanobactéries peuvent croître rapidement et former des efflorescences (**Marmen et al., 2016**). Les proliférations de Cyanobactéries perturbent et déséquilibrent le fonctionnement des écosystèmes aquatiques par la biomasse qu'elles génèrent (**Bernard, 2014**). Elles ont une incidence négative sur la qualité de l'eau, en particulier, lorsque les espèces responsables ont la capacité à produire des toxines (**Paerl et Otten, 2013**) Ces toxines contaminent les ressources, obligeant ainsi les distributeurs à des traitements contraignants et coûteux, et limitant ainsi les ressources en eau potable (**Misson, 2011**).

Les Cyanobactéries produisent un vaste répertoire de métabolites secondaires dotés d'activités biologiques diverses (**Beversdorf et al., 2017**). Leur découverte est motivée par l'intérêt croissant suscité par leurs applications pharmacologiques potentielles ou par leurs effets toxiques sur la santé humaine et animale. En raison de ce double intérêt, une séparation artificielle et arbitraire de ces métabolites est répertoriée dans la littérature comme cyanotoxines, d'une part, et les autres composés bioactifs d'autre part (**Agha et Quesada, 2014**).

La plupart des métabolites secondaires sont synthétisés par la voie non ribosomale (**Rouhianen et al., 2010 ; Dixit et Suseela 2013**). Cependant, d'autres molécules peptidiques sont synthétisées par la voie ribosomale comme les microviridines et les cyanobactines (**Arnison et al., 2013**). Ces peptides présentent diverses structures chimiques et différentes activités biologiques (antibactériennes, antifongiques, anticancéreuses, des inhibiteurs de la trypsine...) (**Bajpai et al., 2010 ; Dixit et Suseela 2013**).

Depuis plusieurs décennies, la problématique des Cyanobactéries fait l'objet de nombreux travaux dans le monde entier car elles sont productrices de toxines notamment dans les eaux douces. À ce jour, plusieurs travaux concernant la recherche sur les cyanobactéries et leurs toxines ont été réalisés sur le continent Africain. Entre autres, des intoxications animales associées aux hépatotoxines de type microcystine ont été décrites au Mozambique (**Pedro et al., 2011**), en Ouganda (**Okello et al., 2010**), au Maroc (**El Ghazali et al., 2011**). En Afrique du Sud, les études concernant la recherche des microcystines dans différents cours d'eau ont été menées (**Conradie et Barnard, 2012**).

En Côte d'Ivoire, les études menées sur le phytoplancton qui incluent les Cyanobactéries ont permis de décrire la systématique, la culture, la détection moléculaire et les paramètres physico-chimiques de l'eau associés à ces micro-organismes. Les études sur la systématique des cyanobactéries et les paramètres physico-chimiques qui permettent de connaître le fonctionnement d'un cours d'eau ont été effectués sur la majorité des eaux en Côte d'Ivoire. Entre autres, la lagune Ébrié (**Seu-Anoï et al., 2013**), les rivières Boubo et Mé (**Salla et al., 2011**), les réservoirs d'Adzopé et Agboville (**Adon et al., 2011 ; 2012**), le lac de Taabo (**Groga, 2012**), la lagune Aby (**Seu-Anoï et al., 2017**), la lagune de Fresco (**Konan, 2014**), la lagune de Grand-Lahou (**Komoé, 2010 ; Seu-Anoï, et al., 2014**) et la lagune Aghien (**Humbert, 2012 ; Niamen-Ebrottié et al., 2017**).

En revanche, celles portant sur la mise en culture et la détection moléculaire des Cyanobactéries ont été essentiellement effectuées au niveau de la lagune Aghien (**Coulibaly et al., 2014**).

Par ailleurs, la lagune Aghien, la plus grande réserve d'eau douce à proximité d'Abidjan a été identifiée par les autorités ivoiriennes comme une source alternative probable pour l'approvisionnement en eau potable (**Koffi et al., 2014 ; Amon et al., 2017**) afin de répondre aux besoins pressants de la population en eau potable. Alors que des études ont montrées la présence des Cyanobactéries pouvant sécréter des métabolites secondaires dans cette dite lagune. Ces études sont à l'étape préliminaire (**Coulibaly et al., 2014**). Au vu de ces résultats, le risque pour la santé humaine est réel car lié à l'utilisation directe de l'eau des lagunes par les populations locales.

En effet, **Coulibaly et al. (2014)** ont montré que les Cyanobactéries de la lagune Aghien ont un potentiel génétique à produire des toxines, notamment les anatoxines (neurotoxines) et microcystines (hépatotoxines). Ces dernières représentent plus de la moitié des études menées sur les cyanotoxines (**Merel et al., 2013**) et sont les plus rencontrées dans les cours d'eau du monde entier.

En absence de données concernant les autres métabolites secondaires produites par les Cyanobactéries de la lagune Aghien, plusieurs questions se posent :

Question 1 : Les eaux douces, et particulièrement celles de surface, représentent une ressource vitale pour l'homme. C'est dans cette optique que la lagune Aghien pourrait venir en appoint aux champs de captages existants pour l'approvisionnement en eau potable du District Autonome d'Abidjan. Cependant, sa proximité avec de nombreux villages, plantations et fermes d'élevages pourrait entraîner la dégradation de la qualité de ces eaux (**Koffi et al., 2014**). Les rejets de déchets domestiques, les eaux de lessivage des terres agricoles, chargées de produits phytosanitaires sont susceptibles de permettre la prolifération des Cyanobactéries.

De ce fait, quelles conditions pour le développement des Cyanobactéries dans la lagune Aghien ?

Quelles sont les Cyanobactéries présentes dans cette lagune ?

Question 2 : Les Cyanobactéries produisent de multiples métabolites secondaires qui peuvent être soit toxiques pour les animaux supérieurs (**Pantelic et al., 2013 ; Carmichael et Boyer 2016**), soit bénéfiques pour l'industrie pharmaceutique, agronomique et autres (**Girandin, 2005**). Ainsi, en plus des microcystines et des anatoxines, quels sont les autres métabolites secondaires potentiellement produits par les Cyanobactéries de la lagune Aghien ?

L'objectif général de cette étude a été d'identifier les Cyanobactéries de la lagune Aghien et d'étudier leur potentiel à posséder des gènes de métabolites secondaires.

Pour atteindre cet objectif, différents objectifs spécifiques ont été fixés à savoir :

- Isoler et cultiver les Cyanobactéries de la lagune
- Inventorier les Cyanobactéries présentes dans la lagune Aghien en général et en particulier celles productrices de métabolites secondaires
- Rechercher les gènes impliqués dans la synthèse de certains métabolites dans les échantillons environnementaux prélevés dans la lagune.

Le présent mémoire comprend trois parties.

La première partie est une synthèse bibliographique traitant des connaissances relatives sur le site d'étude et les Cyanobactéries. Elle donne également un état des lieux des connaissances acquises sur les Cyanobactéries en général, et en particulier sur les métabolites secondaires produits par celles-ci.

Le choix des sites d'étude ainsi que le matériel et les méthodes utilisés pour effectuer ce travail constituent la deuxième partie.

La troisième partie présente les résultats obtenus et les discussions qui en découlent. Une conclusion faisant la synthèse de tous les résultats obtenus et des perspectives terminent cette étude.

GENERALITES

I- Cyanobactéries

Les Cyanobactéries sont des microorganismes procaryotes, possédant une paroi cellulaire rigide apparentée à celle des bactéries de type Gram négatif. Elles utilisent la photosynthèse comme processus de formation d'énergie métabolique à l'aide du pigment photosynthétique de la chlorophylle *a* et de pigments photosynthétiques intrinsèques aux Cyanobactéries, la phycocyanine ou la phycoérythrine. Chacun de ces pigments donnent une coloration aux Cyanobactéries : bleu-vert dans le cas de la phycocyanine et rougeâtre dans le cas de la phycoérythrine (**Levi et al., 2006**). Ceci explique le nom « Cyanobactérie » donné à ces bactéries par l'association du préfixe 'cyan' pour la coloration bleu-vert générée fait par le processus de la photosynthèse, et du mot bactérie.

I-1- Classification

Anciennement appelées algues bleues, cyanophycées ou cyanophytes, les Cyanobactéries appartiennent au règne des bactéries dans l'arbre du vivant (**Bernard, 2014**). Ce sont des organismes phylogénétiquement anciens, vivant dans un large éventail d'écosystèmes (**Whitton, 2012**). Elles constituent un groupe particulièrement difficile à classer. Leur système taxonomique a été radicalement modifié, notamment avec l'introduction de la microscopie électronique, des méthodes moléculaires et génétiques (**Hoffman et al., 2005 ; Komárek et al., 2014**).

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

- **L'ordre des Chroococcales** a été considérablement réduit dans la nouvelle classification proposée par **Komárek et al. (2014)**. Il regroupe plus de 120 espèces (**McGregor, 2013**) et comprend uniquement les Cyanobactéries de formes coccoïdales qui ont des thylakoïdes plus ou moins irréguliers. Les principaux genres sont *Aphanothece*, *Chroococcus*, *Gloeocapsa*, *Gloeothece*, *Gomphosphaeria*, *Microcystis*, *Radiocystis* (**Komárková et al., 2010 ; Komárek et al., 2011 ; Mareš et al., 2013**).
- **L'ordre des Chroococciopsidales** : Les individus de cet ordre vivent généralement dans des environnements extrêmes (**Bahl et al., 2011**). Cet ordre comprend un seul genre : *Chroococciopsis* (**Komárek et al., 2014**).
- **L'ordre des Gloeobacterales** comprend un seul genre, *Gloeobacter* et deux espèces. Les cyanobactéries de ce taxon monophylétique sont les seules à ne pas posséder de thylakoïdes (**Komárek et al., 2014**).

- **L'ordre des Oscillatoriales** regroupe des Cyanobactéries filamenteuses, avec des trichomes étroits et des arrangements de thylakoïdes complexes, il comprend près de 50 genres. Les principaux genres sont *Arthrospira*, *Cyanothece*, *Lyngbya*, *Microcoleus*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Planktothrix*, *Plectonema*, *Trichodesmium* (Hynes *et al.*, 2012 ; Strunecký *et al.*, 2013).
- **L'ordre des Nostocales** regroupe généralement des Cyanobactéries filamenteuses, sans vrai embranchement, pouvant produire des hétérocystes et des akinètes, selon les conditions environnementales qui prévalent. Le taxon compte plus de 100 genres et environ 270 espèces marines et d'eau douce. Les genres les plus importants sont *Aphanizomenon*, *Calothrix*, *Cuspidothrix*, *Cylindrospermopsis*, *Dolichospermum* (anciennement nommé *Anabaena*), *Fischerella*, *Gloeotrichia*, *Nodularia*, *Nostoc*, *Scytonema*, *Stigonema*, *Rivularia* (Whitton et Matteo, 2012 ; Komárek *et al.*, 2013 ; Johansen *et al.*, 2014).
- **L'ordre des Pleurocapsales** est monophylétique, mais le séquençage des différentes espèces qui le compose est encore rudimentaire, car nombre d'entre elles sont difficilement transférables en culture pure (Komárek *et al.*, 2014). Il comprend une vingtaine de genres dont le plus connu est *Pleurocapsa* (Whitton, 2011).
- **L'ordre des Spirulinales** comprend trois genres : *Spirulina*, *Halosprulina* et *Glaucospira*. La « spiruline » alimentaire, principalement composée d'*Arthrospira platensis*, est très différente phylogéniquement et cytologiquement du genre *Spirulina*. Elle appartient plutôt au genre *Arthrospira* de l'ordre des Oscillatoriales (Komárek *et al.*, 2014).
- **L'ordre des Synechococcales** est composé de Cyanobactéries unicellulaires, coloniales ou filamenteuses qui sont marines ou d'eau douce. Cet ordre comprend plus de 70 genres. Les principaux genres sont *Aphanocapsa*, *Chamaesiphon*, *Coelomoron*, *Coelosphaeriopsis*, *Coelosphaerium*, *Leptolyngbya*, *Limnothrix*, *Geitlerinema*, *Thermosynechococcus*, *Merismopedia*, *Planktolyngbya*, *Prochloron*, *Pseudanabaena*, *Prochlorococcus*, *Romeria*, *Siphonosphaera*, *Snowella*, *Synechococcus*, *Wolskyella* et *Woronichiana* (Loza *et al.*, 2013 ; Komárek *et al.*, 2014).

I-2- Caractéristiques morphologiques

Les Cyanobactéries présentent une grande diversité de formes et de tailles (**Bernard, 2014**). Elles sont cependant regroupées en trois grands types d'organisation morphologique : unicellulaire, coloniale et filamenteuse pluricellulaire (**Figure 1**). Les Cyanobactéries unicellulaires peuvent présenter des formes de type sphérique, cylindrique ou encore ovoïde. La multiplication cellulaire de ces individus se fait par fission binaire (**Bernard, 2014**). Les formes unicellulaires peuvent également former des agrégats au sein d'un mucilage suite à des divisions cellulaires multiples et former des colonies de forme plus ou moins régulière selon les espèces considérées

Les formes filamenteuses peuvent être pluricellulaire, unisériée (une seule série de cellules jointives) ou plurisériée (plusieurs séries de cellules jointives), avec ou sans gaine et ramifications. La paroi cellulaire peut être entourée d'un mucilage.

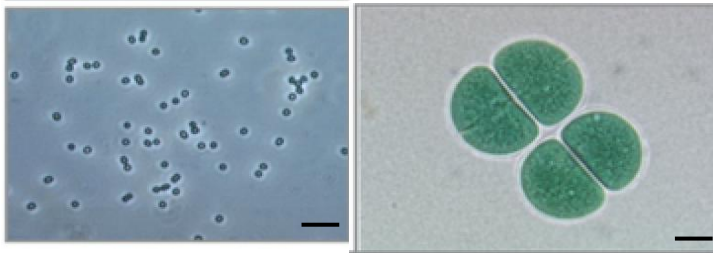
Elles possèdent des caractéristiques propres aux procaryotes dont l'absence de noyau, de plaste ou de mitochondrie, et la présence de peptidoglycanes. Elles possèdent également des caractéristiques propres aux algues, dont la capacité à synthétiser de la chlorophylle *a* (et non de la bactériochlorophylle comme les autres procaryotes photosynthétiques) ainsi que des caroténoïdes.

Au cours de l'évolution, les Cyanobactéries ont été les premiers organismes procaryotes dotés de deux photosystèmes capables d'utiliser l'eau comme donneur d'électron et de produire de l'oxygène. Les photosystèmes de type I et II sont similaires chez les Cyanobactéries et le phytoplancton eucaryote. Chez ces derniers, les deux photosystèmes I et II sont localisés à l'intérieur de la membrane des thylacoïdes. Chez les Cyanobactéries, les antennes collectrices de l'énergie lumineuse, appelées phycobilisomes sont attachées en périphérie de ces membranes (**Bernard, 2014**). Les phycobilisomes sont constitués de phycobiliprotéines, organisées en un assemblage de disques radiaires, formant une structure tridimensionnelle. Il existe quatre types principaux de phycobiliprotéines : l'allophycocyanine, la phycocyanine, la phycoérythrine et la phycoérythrocyanine. La nature des chromophores (phycocyanobiline, phycoroubiline, phycoerythrobyline) constituant les phycobiliprotéines détermine les longueurs d'onde de la lumière pouvant être captées puis utilisées pour la photosynthèse.

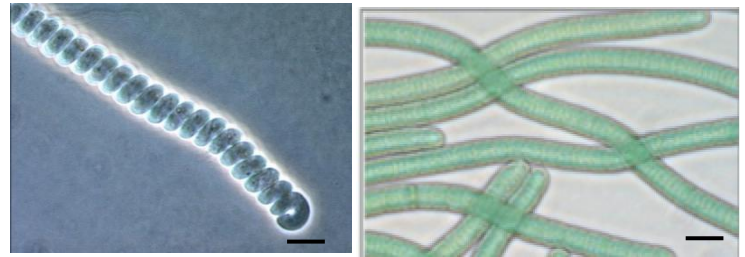
Elles possèdent plusieurs types de réserves. Les réserves azotées sont constituées par la cyanophycine (polypeptide formé d'arginine et d'asparagine). Leurs réserves carbonées sont formées par de l'amidon cyanophycéen et des gouttelettes lipidiques, et leurs réserves phosphorées se présentent sous forme de granules de polyphosphate. Certaines Cyanobactéries possèdent par ailleurs des granules d'acide poly- β -hydroxybutirique, ainsi que des carboxysomes (contenant l'enzyme RuBisCo) et permettant la fixation du carbone inorganique.

La reproduction des Cyanobactéries est uniquement asexuée et elle repose sur une simple multiplication végétative (voie amitotique ou scission binaire) ou sur la formation de cellules

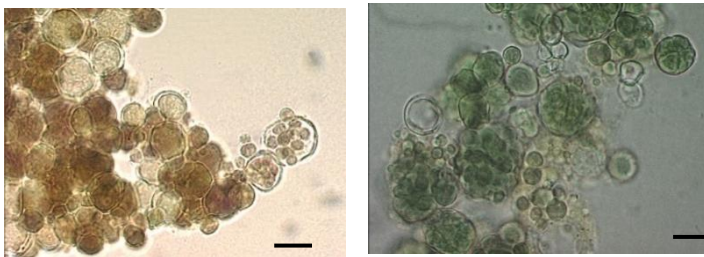
différenciées (nanocystes, akinètes). Chez les formes filamenteuses, les trichomes se brisent au niveau de dégénérescences cellulaires appelées nécridies et donnent ainsi de nouvelles extrémités pour la division cellulaire et la formation de trichomes et filaments. Chez les formes filamenteuses avec différenciation cellulaire, il existe également un mode de propagation par hormogonies qui donneront de nouvelles colonies.



Unicellulaires



Filamenteuses



Unicellulaires coloniales



**Filamenteuses avec différenciation
et / ou ramification**

Figure 1 : Morphotypes de Cyanobactéries. Collection de Cyanobactéries, Institut Pasteur Paris

Echelle : 10 μ m

I-3- Adaptation des Cyanobactéries

Certaines Cyanobactéries sont dotées de caractéristiques morphologiques, physiologiques et métaboliques leur permettant d'optimiser leur croissance et leur reproduction dans certaines conditions environnementales :

- **Fixation de l'azote atmosphérique** : de nombreux genres filamenteux (*Anabaena*, *Nostoc*, *Aphanizomenon*...) possèdent la faculté de différencier des hétérocystes, (cellules spécialisées dans la fixation aérobie du diazote (N₂) et sa transformation en azote assimilable grâce à la nitrogénase. La fixation de N₂ par des Cyanobactéries dépourvues d'hétérocystes est également possible de nuit pour certains genres (*Synechococcus*, *Gloeotheca*, *Plectonema*, *Microcoleus*) qui ont développé le système de séparation temporelle (Roland, 2012). La capacité à fixer l'azote atmosphérique confère aux Cyanobactéries un avantage sur les autres espèces phytoplanctoniques dès que les ressources en azote minéral deviennent limitantes dans le milieu.
- **Forme coloniale ou filamenteuse** : de nombreux genres de Cyanobactéries sont organisés sous forme de filaments ou de trichomes (*Anabaena*, *Planktothrix*, *Oscillatoria*...) qui peuvent être assemblés en faisceaux (*Aphanizomenon*), ou sous forme de colonies (*Microcystis*, *Aphanothece*...). Cette organisation les rend plus difficiles à consommer par la plupart des organismes brouteurs du zooplancton.
- **Différentiation de cellules de résistance** : certains genres cyanobactériens (*Anabaena*, *Nostoc*...) sont capables de différencier des cellules spécialisées appelées akinètes qui leur permettent de résister dans des conditions environnementales défavorables.
- **Protection contre les Ultraviolet (UV)** : les Cyanobactéries sont munies de dispositifs de protection contre les UV (Sommaruga *et al.*, 2009). Elles utilisent des mécanismes actifs de réparation de l'ADN, des acides aminés proches de la mycosporine, des gaines polysaccharidiques absorbantes et des photoantioxydants comme les caroténoïdes.
- **Adaptation chromatique** : en fonction de la nature de la lumière disponible pour réaliser la photosynthèse, les Cyanobactéries sont capables de modifier, au niveau transcriptionnel, l'expression de gènes impliqués dans la synthèse des phycobilisomes et définissant la composition qualitative de ces derniers (Kehoe et Gutu, 2006). Ce mécanisme, qualifié de mécanisme d'adaptation chromatique complémentaire (ACC), correspond à une évolution du ratio cellulaire entre la phycocyanine et la phycoérythrine. Ce type d'adaptation a été mis en évidence chez de nombreuses Cyanobactéries possédant la phycoérythrine (Tandeau de Marsac, 1977).
- **Mobilité verticale et horizontale** : les phénomènes de migration verticale des cyanobactéries jouent un rôle important dans leur capacité à dominer les habitats. Ces

migrations sont dépendantes de la présence ou non de vésicules à gaz, du volume de ces vésicules, du taux de synthèse/dégradation des composés photosynthétiques produits et enfin de la taille des colonies (**Carey et al., 2012**). De nombreuses espèces de Cyanobactéries planctoniques (*Planktothrix*, *Anabeana*, *Microcystis*...) possèdent des vésicules à gaz, fournissant la flottabilité et permettant la migration verticale des cyanobactéries entre les eaux de surface lumineuses et les eaux plus profondes riches en éléments nutritifs. Dans des conditions de forte luminosité, des hydrates de carbone, issus de la photosynthèse, sont produits et accumulés dans les cellules, entraînant par conséquent une perte de flottabilité (**Sotton, 2012**).

- **Production de métabolites secondaires** : De nombreux genres cyanobactériens synthétisent de multitudes métabolites secondaires (**Beverdorf et al., 2017**) dont certains sont toxiques pour les organismes, et d'autres non toxiques à potentiel thérapeutiques.

I-4- Habitat

Les Cyanobactéries sont répertoriées dans la plupart des habitats, aussi bien dans les milieux aquatiques que dans les milieux désertiques. Ce sont les seuls organismes photosynthétiques susceptibles de vivre dans des eaux thermales dépassant la température de 56°C et rencontrées dans des eaux à toutes les valeurs de pH. Elles poussent également sur les rochers où elles vivent en symbiose avec les champignons tels les lichens. Elles peuvent être endolithes, perforant les roches pour s'y réfugier, ou bien endophytes se trouvant dans les feuilles de fougères aquatiques. Lorsqu'elles sont strictement aquatiques, elles peuvent être planctoniques, vivant alors dans la colonne d'eau, ou benthiques, étant, dans ce cas, fixées ou très proches des divers substrats (roches, coraux, algues, animaux...) ou se développant même à l'intérieur des sédiments (**Mezouari, 2017**).

I-5- Facteurs de croissance des Cyanobactéries

I-5-1- Température

La température est un paramètre très important dans la mesure où les occurrences de blooms sont le plus souvent répertoriées durant les mêmes périodes qui correspondent aux températures optimales de croissance de certains genres de Cyanobactéries. L'augmentation de la fréquence d'occurrence de ces genres serait liée aux phénomènes des changements climatiques et plus particulièrement à l'augmentation des températures (**Reichwaldt et Ghadouani, 2012**). La biomasse des Cyanobactéries augmente avec la température car une croissance algale rapide est observée pendant les moments chauds en été (**Kosten et al., 2011**).

La température de l'eau joue un rôle important, notamment en ce qui concerne la solubilité des sels et des gaz dont, entre autres, l'oxygène nécessaire à l'équilibre de la vie aquatique (**Adamou et al., 2015**). Elle a une influence directe sur le comportement des différentes substances

contenues dans l'eau et à une grande influence sur l'activité biologique (**Dahles, 2013**). En effet, les cyanobactéries ont en général un taux de croissance optimal à des températures supérieures à 25°C. Elles possèdent même l'optimum de croissance aux températures les plus élevées considérant tous les autres groupes phytoplanctoniques (**Paerl et al., 2011**).

I-5-2- Intensité lumineuse

La lumière est un autre paramètre important pour la croissance des Cyanobactéries. Elle fournit l'énergie pour la croissance algale (**Liu et al., 2013**). Les conditions lumineuses sont déterminantes non seulement à l'initiation et à la durée des blooms de Cyanobactéries, mais favorisent également la dominance de ces bactéries quand la disponibilité de la lumière est plus longue (**Zhang et al., 2012**). Une exposition intermittente à de hautes intensités lumineuses conduit à des taux de croissance cyanobactériennes atteignant presque le maximum (**Ndong, 2014**). De plus, les Cyanobactéries sont équipées de pigments pour capter l'intensité et la qualité de la lumière, et certaines sont connues pour leur adaptation chromatique (**Silva, 2014**).

I-5-3- Conductivité

La conductivité permet de mesurer la capacité de l'eau à conduire le courant entre deux électrodes. En effet, elle permet d'apprécier la quantité des sels dissous dans l'eau, donc de sa minéralisation. La conductivité électrique dépend des charges de matières organiques endogènes et exogènes, génératrices de sels après décomposition et minéralisation et également avec le phénomène d'évaporation qui concentre ces sels dans l'eau. La conductivité dépend de la température de l'eau, elle est plus importante lorsque la température augmente. Elle permet donc d'apprécier la quantité des sels dissous dans l'eau. Une conductivité élevée traduit le plus souvent une salinité élevée (**Rodier et al., 2009**). Une conductivité supérieure à la norme peut démontrer de l'influence des activités humaines via notamment l'apport de sels (**Atanle et al., 2013**). Lesquels seront à la base du développement des Cyanobactéries.

I-5-4- Turbidité

La turbidité d'une eau est due à la présence des particules en suspension, notamment colloïdales : argiles, limons, grains de silice, matières organiques, etc (**Rodier et al., 2009**). Elle peut limiter la photosynthèse aux premiers mètres en empêchant la pénétration de la lumière jusqu'aux Cyanobactéries, ce qui freinent l'utilisation des nutriments et la production d'oxygène dissous dans les couches d'eau engendrant ainsi une diminution très nette du peuplement cyanobactérien (**Dahles, 2013**).

I-5-5- Potentiel Hydrogène

Le pH en milieu aquatique est essentiellement fonction de la composition chimique de la solution aqueuse et de l'activité des organismes (l'activité de certains organismes peut varier d'une manière exceptionnelle en fonction du pH de l'eau) (**Mezouari, 2017**).

Le pH a tendance à augmenter pendant les périodes de forte production primaire lorsque la concentration en CO₂ diminue sous l'effet de sa consommation par le phytoplancton et d'échanges relativement lents avec le CO₂ atmosphérique. De plus, lors de la photosynthèse, la consommation d'ions H⁺ va également contribuer à l'augmentation du pH. Ainsi, la mesure du pH est un bon indicateur des phases d'activité biologique et de l'intensité de l'activité photosynthétique. Cependant, certains rejets industriels et les apports d'eaux continentales entraînent des variations de pH qui indiquent alors une pollution (**Salla, 2015**).

I-5-6- Teneurs en sels nutritifs

Les sels nutritifs sont les différentes formes minérales de l'azote et du phosphore essentielles à la croissance du phytoplancton et pour le bon fonctionnement de sa machinerie cellulaire. Ils sont présents naturellement dans les milieux aquatiques, cependant certaines activités humaines (usage abusif d'engrais, rejets d'eaux usées...) contribuent à enrichir les cours d'eau en nutriments (**Issola, 2010**).

I-5-6-1- Phosphore et phosphate

Les phosphates participent à la diminution de la dureté de l'eau. Le phosphore joue un rôle important dans le développement des espèces phytoplanctoniques. Il est susceptible de favoriser leur multiplication dans les réservoirs, les grosses canalisations et les eaux de surface où elles contribuent à l'eutrophisation. C'est un phénomène évolutif au cours duquel le milieu s'enrichit en matières nutritives d'une manière excessive avec comme conséquence des surcoûts importants pour la production d'eau potable (**Yéo, 2015**).

Il y a peu de risque de prolifération de fleurs d'eau si la concentration de phosphore total est sous 10-20 µg/L, mais le risque de dominance par les Cyanobactéries est avéré lorsque le phosphore total est de 30 µg/L ou plus (**Downing et al., 2001**).

De plus, la présence de phosphore est essentielle pour la croissance et la prolifération des Cyanobactéries. Utilisé sous forme d'orthophosphates, le phosphore est identifié comme étant la substance critique puisqu'il est l'élément limitant en milieu aquatique dulcicole. Lorsque la disponibilité en nutriments est réduite, les Cyanobactéries font appel à certains mécanismes tels la capacité de fixer l'azote atmosphérique et la constitution de réserves sous forme de granules de polyphosphate et de cyanophycine (**Silva, 2014**). Ainsi les cellules stockent du phosphore en

conditions non limitantes (près des sédiments) et l'utilisent quand les conditions de lumière deviennent favorables.

I-5-6-2- Nitrates et nitrites

Les principales formes d'azote dissous dans les eaux naturelles sont les ions ammonium (NH_4^+), nitrites (NO_2^-) et nitrates (NO_3^-). L'azote est un élément nutritif essentiel à la vie des végétaux et des animaux. L'azote des nitrates, des nitrites et de l'ammoniaque est métabolisé pour fournir essentiellement des protéines, les acides nucléiques et les polymères des parois cellulaires. Dans le milieu aquatique, tout comme l'ammonium et les nitrites, les nitrates sont assimilés par les bactéries, les champignons, les algues et les plantes (Yéo, 2015). Les nitrates sont dangereux après réduction en nitrites.

I-6- Proliférations massives de Cyanobactéries

Les Cyanobactéries naturellement présentes peuvent dans certaines circonstances favorables à leur développement se multiplier rapidement (**Figure 2**). Ce phénomène est appelé efflorescence, fleur d'eau ou encore *bloom* en anglo-saxon. Bien que les blooms puissent se reproduire naturellement et fassent partie du cycle annuel de développement des espèces phytoplanctoniques, certaines peuvent produire des blooms nuisibles. En particulier, les Cyanobactéries peuvent former des masses et écumes vertes toxiques flottant sur la surface de l'eau pouvant atteindre une épaisseur de plusieurs centimètres le long des bords du plan d'eau (Havens *et al.*, 2008). Au fur et à mesure que les sources d'eau douce s'enrichissent en nutriments, en particulier en phosphore, la communauté phytoplanctonique évolue souvent vers la domination des Cyanobactéries (Guellati, 2018).

Suivant les espèces, une efflorescence peut apparaître et disparaître très vite lors de conditions favorables changeantes. C'est dans ces conditions de fort développement de biomasse que les Cyanobactéries toxiques peuvent provoquer des effets délétères sur la faune environnante ou la santé humaine. La dynamique des populations est difficile à caractériser en l'état actuel des connaissances scientifiques. Seul un suivi régulier des paramètres environnementaux et des caractéristiques des populations cyanobactériennes pourrait permettre de l'évaluer.

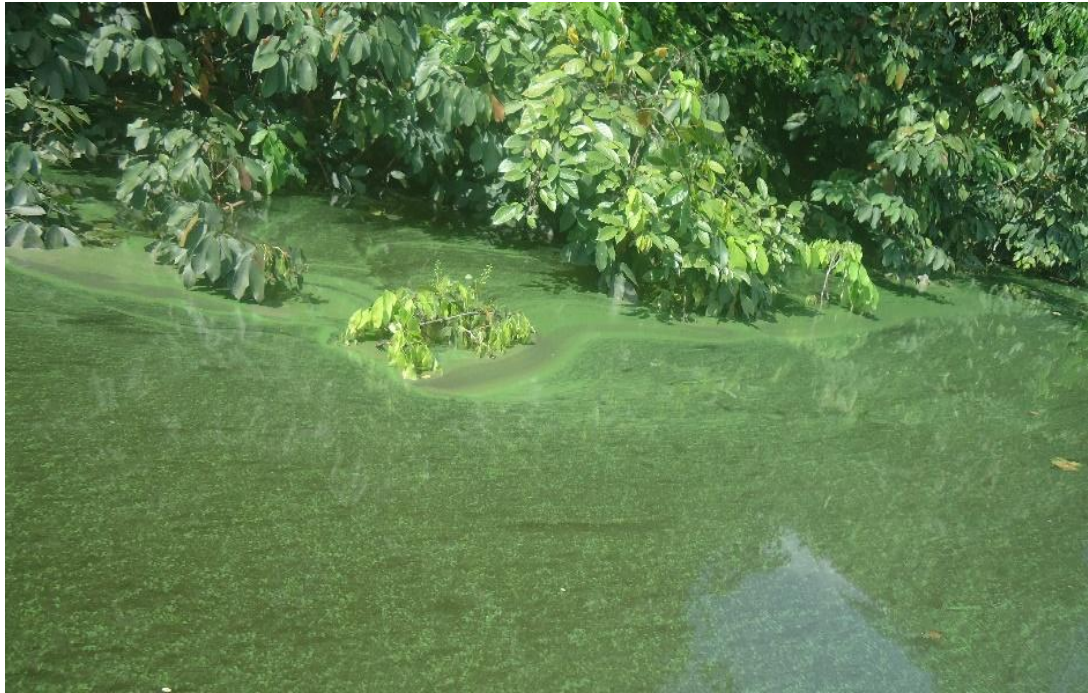


Figure 2 : Efflorescences de Cyanobactéries sur la lagune Aghien

Photo : Yao D.R

I-6-1- Facteurs favorisant les efflorescences

Les proliférations de Cyanobactéries sont le plus souvent associées à trois facteurs physicochimiques principaux (**Levi et al., 2006**) tels que des concentrations élevées en nutriments, température de l'eau et le pH.

- La stabilité de la colonne d'eau est un phénomène caractéristique des eaux calmes et stagnantes comme les eaux des barrages qui sont généralement stratifiées. Cette stabilité au moment du développement de l'efflorescence permet la sélection des espèces les plus compétitives.
- Les conditions météorologiques favorables telles que l'ensoleillement, la direction de vent dominant, la température de l'air et la pluie sont corrélées aussi bien avec le développement des Cyanobactéries qu'avec la quantité de toxines produites (**Brient et al., 2004**).

I-6-2- Conséquences biologiques et écologiques des efflorescences

Le développement soudain, en masse de ces organismes peut avoir différentes conséquences sur leur environnement proche avec divers effets négatifs. Ainsi la surabondance de ces populations crée des impacts liés à :

- l'ombrage : la biomasse produite en surface inhibe les conditions optimales de luminosité pour les autres espèces phytoplanctoniques.
- la dominance : la biodiversité de l'écosystème est fortement déséquilibrée. La population dominante inhibe le développement des autres populations de la communauté phytoplanctonique.
- l'anoxie : les fortes consommations en oxygène des Cyanobactéries appauvrissent le milieu. Ces conditions d'anoxie peuvent être fatales pour les végétaux et les animaux. Mais cette consommation massive d'oxygène peut être également une conséquence indirecte des efflorescences, causée par la dégradation de ces grandes quantités de matière organique par les bactéries.

Les efflorescences peuvent interférer de manière mécanique et/ou chimique sur l'écosystème, par exemple, l'apport soudain et massif d'élément comme l'ammoniaque est toxique pour de nombreux organismes. Enfin, certaines espèces sont capables de produire lors de telles proliférations des cyanotoxines en quantités suffisantes pour constituer un risque pour les humains et la faune.

I-7- Cyanobactéries de la Côte d'Ivoire

En Côte d'Ivoire, les études menées exclusivement sur les Cyanobactéries sont rares. Les études sur le phytoplancton de lagune en Côte d'Ivoire ont concerné principalement la lagune

d'Ébrié (Seu-Anoï *et al.*, 2013) et dans une moindre mesure, les lagunes de Grand-Lahou (Komoé *et al.*, 2009 ; Seu-Anoï *et al.*, 2014), Aby (Seu-Anoï *et al.*, 2017), Fresco (Konan, 2014) et Tendo (Adou, 1999). Dans la lagune Tendo, 134 taxa répartis en Chlorophyta (55%), Euglenophyta (22%), Cyanoprocaryota (14%), Chrysophyta (7%), Pyrrhophyta (1%) et Rhodophyta (1%) ont été recensés. Dans le complexe lagunaire Ébrié, 139 taxa regroupés en cinq embranchements dont les Bacillariophyta (45%) l'emportent sur les Cyanoprocaryota, les Pyrrhophyta, les Chlorophyta et les Euglenophyta. Enfin, dans le complexe lagunaire de Grand-Lahou, 319 taxa dont 44% de Bacillariophyta, 27% de Chlorophyta, 14% de Dinophyta, 11% de Cyanoprocaryota et 4% d'Euglenophyta ont été signalés (Seu-Anoi, 2012).

Des études menées par Yéo (2015) ; Coulibaly *et al.*, (2017) ; Niamien-Ebrottié *et al.*, (2017) ont montré une variabilité du phytoplancton. 24 taxa répartis en six embranchements (Cyanoprocaryota, Bacillariophyta Chlorophyta, Dinophyta, Haptophyta, Euglenophyta) avec une dominance des Cyanoprocaryota (88,66%) (Yéo, 2015). Les Cyanobactéries recensées dans la lagune Aghien sont des genres fréquemment et généralement retrouvés en Côte d'Ivoire. Les genres trouvés sont *Anabaena*, *Aphanocapsa*, *Oscillatoria*, *Planktothrix*, *Microcystis*, *Pseudanabaena*, *Cylindrospermopsis*, etc (Kouassi *et al.*, 2015).

II- Quelques Cyanobactéries potentiellement productrices de métabolites secondaires

II-1- Genre *Microcystis*

Les Cyanobactéries du genre *Microcystis* sont constituées de cellules sphériques de 0,8 à 7 µm de diamètre, contenant des vésicules à gaz. Ces cellules sont regroupées sous forme de colonies par un mucilage incolore (Misson, 2011).

Ce genre est ubiquiste puisqu'on le trouve sur tous les continents, des régions froides aux régions tropicales (Misson, 2011 ; Meissner *et al.*, 2014). Au cours de la dernière décennie, la prise de conscience de la prolifération de cyanobactéries toxiques a pris de l'ampleur et les rapports sur ces événements (O'Neil *et al.*, 2012 ; Paerl et Paul, 2012).

En zone tropicale, les blooms de *Microcystis* peuvent persister tout au long de l'année, contrairement aux lacs tempérés où leur prolifération a lieu essentiellement en été. *Microcystis* se développe principalement en eaux douces, et tout particulièrement dans les masses d'eau eutrophes en lacs et étangs. Cependant, des blooms de *Microcystis* ont également été observés en eaux saumâtres (Albay *et al.*, 2005). Dans les systèmes tempérés, cet organisme hiverne dans le benthos et, en été, monte à l'épilimnion où il peut s'accumuler pour former des efflorescences à la surface de l'eau (Harke *et al.*, 2016). Les proliférations de *Microcystis* surviennent généralement lorsque la température de l'eau dépasse 15 ° C (Jacoby *et al.*, 2000) et l'apparition de proliférations a été liée

à la charge anthropique en éléments nutritifs (**Dolman et al., 2012**). Cette niche écologique assez peu restrictive explique l'ubiquité de *Microcystis*.

II-2- Genre *Planktothrix*

Le genre *Planktothrix* est un organisme filamenteux, unisériel, non ramifié, constitué exclusivement de cellules végétatives et dépourvu de gaine mucilagineuse. Il possède des trichomes en général rectilignes, solitaires munis de nombreuses vésicules à gaz. Les cellules sont de formes cylindriques et plutôt courtes, de diamètre entre 3,5 et 10 µm. La distinction des espèces est parfois difficile, elle se fait en fonction de la couleur, du diamètre, du degré de constriction entre les cellules, de la forme de la cellule apicale et de son apex (**Strunecky et al., 2013**).

Ce genre fait partie de l'ordre des Oscillatoriales qui ont des filaments généralement droits, solitaires et planctoniques dans la majorité des cas (**Komárek et al., 2014**). *Planktothrix*, typiquement planctonique, est souvent basé dans les milieux assez riches du point de vue trophique.

P. rubescens et *P. agardhii* sont les deux seules espèces cosmopolites de ce genre (**Kurmayer et al., 2016**). Les deux sont potentiellement toxiques et peuvent causer des fleurs d'eau. L'espèce *Planktothrix agardhii*, tout particulièrement, a une très large répartition, proliférant dans de nombreux sites, lorsque les nutriments sont abondants (avide d'azote et de phosphore). Elle supporte assez bien la turbulence et est très efficace dans des conditions limitantes en lumière. Ce taxon peut produire des biomasses impressionnantes, visibles par la couleur verdâtre qu'elles confèrent à l'eau quand elles sont en suspension et évidentes lorsqu'elles s'accumulent en surface (souvent en fin de prolifération). Dotées de la capacité à se mouvoir activement dans la colonne d'eau, *P. rubescens* se développe souvent dans le métalimnion. Ceci est aussi possible grâce à l'adaptation de leurs systèmes photosynthétiques à de faibles intensités lumineuses et à leur tolérance pour de faibles températures (**Vareli et al., 2009**). De fortes concentrations de cette cyanobactérie toxique peuvent passer inaperçues lorsque la transparence de l'eau de surface reste bonne. De plus, le risque est d'autant plus grand que la majorité des prises d'eau potable se situent à profondeur suffisante pour éviter les algues épilimnétiques mais pas toujours celles se distribuant dans le métalimnion (**Paulino et al., 2009**). Certains auteurs font l'hypothèse que la production de microcystines chez les souches productrices (dans ce cas de *Planktothrix rubescens* et *P. agardhii*) favoriserait le potentiel de colonisation et de dominance dans le milieu. Ainsi, par la production de toxines, *Planktothrix* aurait un rôle de constructeur de niche à l'échelle écosystémique, ce qui peut résulter en une plus grande habilité à monopoliser les ressources, plus de rétrocontrôle positif, et en une résilience accrue dans des conditions environnementales stables (**Kurmayer et al., 2016**).

II-3- Genre *Anabaena*

Le genre *Anabaena* est un organisme filamenteux, unisérié et sans gaine mucilagineuse. Il est muni de trichomes solitaires, droits, enroulés ou spiralés. Les cellules sont sphériques, en forme de tonneau ou cylindriques. La plupart du temps, une constriction est marquée au niveau des cloisons, le diamètre est compris entre 5 et 10 μm . *Anabaena* est capable de se développer en cellules différenciées. Ce genre possède des hétérocystes intercalaires, jamais terminaux parfois groupés en série ainsi que des akinètes contigus ou éloignés des hétérocystes, parfois en série. Plus de vingt espèces européennes sont identifiables, mais seulement si le trichome présente simultanément au moins un hétérocyste et un akinète (**Komárek et al., 2014**).

Le genre *Anabaena* fait partie de l'ordre des Nostocales, caractérisés par leur morphologie filamenteuse et leurs cellules différenciées. Contrairement au genre *Microcystis*, le genre *Anabaena* est très hétérogène. Quatre vingt-seize espèces reconnues ont été recensées sur la base de données Algaebase. La reproduction se fait surtout par fragmentation des trichomes. Plusieurs espèces (sub. *Dolichospermum*) possèdent des aérotopes pour maîtriser leur flottabilité (**Guiry et Guiry, 2008**).

La plupart des espèces d'*Anabaena* sont planctoniques et inféodées à des eaux stagnantes. Fixateur d'azote atmosphérique, *Anabaena* supporte bien des milieux carencés en azote dissous et est souvent associé à des milieux mésotrophes à méso-eutrophes. *Anabaena* est plus exigeant en lumière que d'autres cyanobactéries filamenteuses (ex. *Planktothrix*, *Pseudanabaena*...) d'où sa prédilection pour des milieux calmes, transparents, voire stratifiés. Parfois, certains *Anabaena* présentent des régions apicales très vacuolisées (peut-être en fonction des conditions de milieu) (**Leitao et Couté, 2005**).

III- Métabolites secondaires

Les Cyanobactéries sont connues pour produire une vaste gamme de petits peptides et des oligopeptides (**Welker et Von Döhren 2006**). La plupart de ces composés sont considérés comme des métabolites secondaires, car aucune fonction des cellules primaires (par exemple la reproduction) n'a été liée à leur synthèse à ce jour. L'ensemble des rôles de ces métabolites n'est pas encore bien connu même s'il est généralement admis que ces composés doivent donner un avantage à l'organisme producteur dans son environnement. Parmi les exemples connus, on peut citer les molécules appelées 'suncreens' comprenant la scytonémine et la mycosporine qui permettent aux cyanobactéries de se protéger des rayonnements UV (**Gao et Garcia-Pichel, 2011**).

Les métabolites secondaires des Cyanobactéries présentent une extraordinaire diversité structurale (**Nunnery et al., 2010 ; Mejan et Ploux, 2013**) et sont étudiés pour des applications. Leur étude permet de découvrir de nombreuses pistes pour l'identification de nouvelles molécules

thérapeutiques (Nunnery *et al.*, 2010). Certains des métabolites peuvent aussi être utilisés comme biocarburants (Hellier *et al.*, 2016).

Il existe également de nombreux métabolites secondaires qui sont toxiques pour les animaux supérieurs et sont appelés cyanotoxines (Pantelic *et al.*, 2013). Le risque qu'ils posent pour l'environnement et pour l'homme en a fait un des axes de recherche principaux concernant l'étude des métabolites secondaires des Cyanobactéries d'eaux douces. La présence de ces toxines dans ces eaux représente un risque pour la vie animale et humaine (Gugger *et al.*, 2005 ; Cadel-six *et al.*, 2007 ; Pantelic *et al.*, 2013), surtout lors de l'apparition des efflorescences. Une Cyanobactérie peut produire plusieurs toxines. La production de celles-ci peut être variable selon l'espèce ou le genre considéré (Méjean *et al.*, 2014). Ces cyanotoxines présentent un large éventail de toxicités (Harke *et al.*, 2016) : hépatotoxines, neurotoxines et dermatotoxines. Malgré les avancées méthodologiques en chimie analytique (Chen *et al.*, 2012) ou en biologie moléculaire (Rantala-Ylinen *et al.*, 2011), la prédiction de la production des cyanotoxines en milieux naturels restent encore à l'heure actuelle problématique.

La synthèse des métabolites secondaires se fait par 4 voies :

- Voies de synthèse ribosomales de peptides hautement modifiés après traduction (RiPP) : bactériocine, cyanobactine, terpène, pigment, sidérophore...
- Voies non ribosomales des peptides (NRPS) : aeruginosine, aeruginoguanidine...
- Voies de synthèse des polykétides (PKS) : hydrocarbure, olefin ...
- Voies de synthèse hybrides NRPS/PKS : microcystine...

III-1- Hépatotoxines

Ce sont les toxines de Cyanobactéries qui sont le plus fréquemment rencontrées lors de proliférations. Elles sont impliquées dans de nombreux épisodes d'intoxication. Chez les vertébrés, l'organe cible est essentiellement le foie, où elles provoquent d'importantes lésions *via* l'inactivation des protéines phosphatases 1, 2 A et 3 (Sivonen et Jones, 1999) induisant lors d'intoxications aiguës une dégénérescence du cytosquelette des hépatocytes, une lyse cellulaire et la mort des individus intoxiqués par hémorragie hépatique. D'autres organes tels que les reins ou les intestins peuvent être également altérés. Les hépatotoxines regroupent les microcystines, les nodularines et la cylindrospermopsine.

III-1-1- Microcystines

Dans les milieux naturels les blooms liés aux Cyanobactéries hépatotoxiques (*Anabaena*, *Microcystis*, *Planktothrix*) comprennent un mélange de cellules toxiques possédant les gènes pour la

synthèse des microcystines et de cellules non toxiques ne les possédant pas ou possédant un cluster de gènes incomplet ou inactivé (**Ostermaier et al., 2012**). Les microcystines (MCs) sont constituées de sept acides aminés, dont deux sont inhabituels, la N-méthyldehydroalanine (Mdha) et l'acide (2S, 3S, 8S, 9S)-3-amino-9-méthoxy-2,6,8-triméthyl-10-phényldéca-4,6-diénoïque (Adda) et deux acides aminés variables en position X et Z qui attribuent le nom de la toxine (**Figure 3**). L'acide aminé Adda joue un rôle essentiel dans la toxicité de la molécule. A ce jour, plus de 246 analogues structuraux de microcystines ont été identifiés, le plus commun étant la microcystine LR (MC-LR) (**Spoof et Arnaud, 2017**). Cette toxicité a conduit l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) à proposer une recommandation pour l'eau potable de 1 mg/L pour le variant hydrophile commun, la microcystine-LR. Les microcystines sont des inhibiteurs puissants des phosphatases eucaryotes de types 1 et 2A (**Kuniyoshi et al., 2013**). Ces toxines pénètrent au niveau du foie *via* les canaux biliaires et entraînent une modification de la phosphorylation des protéines. Les microcystines sont également suspectées d'être des promoteurs de tumeur (**Van Apeldoorn et al., 2007**). La prolifération de *Microcystis* contenant de la microcystine a provoqué de nombreux décès et empoisonnements graves chez le bétail, les animaux domestiques et la faune (**Stewart et al., 2008**). Les rapports sur les maladies humaines causées par les microcystines sont également bien documentés, avec les principales voies d'exposition, notamment la consommation directe d'eau de boisson et l'ingestion accidentelle d'eau ou le contact avec la peau lors de l'utilisation récréative des masses d'eau. Une voie d'exposition moins largement rapportée est l'inhalation qui pourrait résulter d'une activité de loisir à proximité des proliférations (**Wood et Dietrich, 2011**). Chez l'homme, le cas le plus grave de toxicité décrit à ce jour fait suite à la dialyse de patients insuffisants rénaux avec de l'eau contaminée aux microcystines conduisant à la mort de 60 patients de neurotoxicité aiguë et d'hépatotoxicité subaiguë à Caruaru, au Brésil, en 1996 (**Azevedo et al., 2002**). Un traitement potentiel prometteur utilisant la cholestyramine pour lier de manière compétitive les microcystines et faciliter leur excrétion a été utilisé avec succès pour traiter un chien atteint de cyanototoxicose et constitue une voie prometteuse pour les recherches futures (**Rankin et al., 2013**).

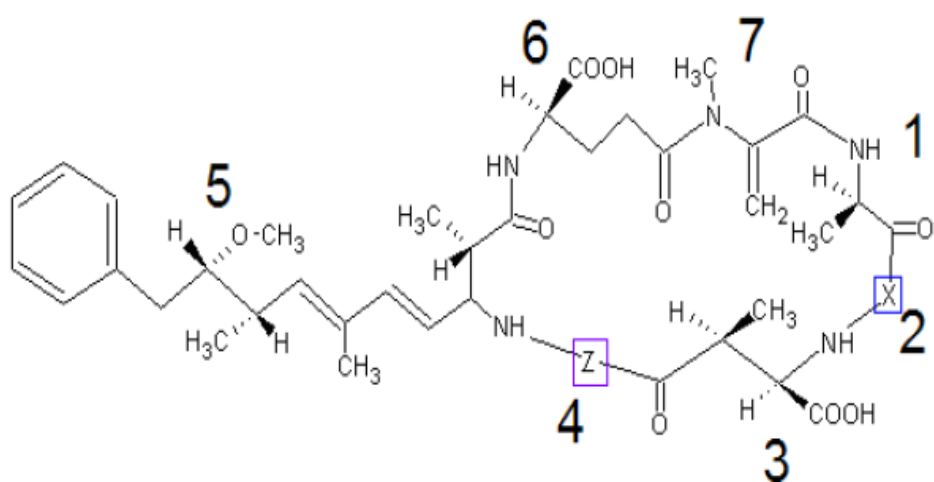


Figure 3 : Structure de microcystine (American Chemical Society 2017)

Position 1 : D-alanine

Position 2 : Acide aminé variable

Position 3 : Acide D-érythro-β-méthylaspartique,

Position 4 : Acide aminé variable

Position 5 : Acide (2S, 3S, 8S, 9S)-3 amino-9 méthoxy- 2, 6,8-triméthyl-10 phényldéca-4,6- diénoïque

Position 6 : Acide D-glutamique

Position 7 : N-méthyle hydroalanine (Mdha)

III-1-2- Nodularines et cylindrospermopsines

Les nodularines sont des heptapeptides cycliques présentant des analogies de structure avec les microcystines, dont le groupement Adda. Elles sont essentiellement produites dans les milieux salins (Gehring *et al.*, 2012). Sept variantes ont été décrits à ce jour (Neilan *et al.*, 2013 ; Lahrouni *et al.*, 2015). Les nodularines ont été identifiées pour la première fois au sein du genre *Nodularia* (Sivonen et Jones, 1999). En raison de sa similarité structurelle avec les microcystines, les nodularines peuvent présenter des mécanismes moléculaires de toxicité similaires à ceux des microcystines (Lahrouni *et al.*, 2015).

La cylindrospermopsine est un alcaloïde atypique de 415 Da. Elle est constituée d'un fragment de guanidine tricyclique combiné à l'hydroxyméthyluracile. Comme il s'agit d'une petite molécule, elle est susceptible de traverser la membrane plasmique par diffusion simple. Seuls trois variantes de cette toxine ont été identifiées (Lahrouni *et al.*, 2015). Elle a été caractérisée chez *Cylindrospermopsis raciborskii* pour la première fois (Van Apeldoorn *et al.*, 2007), mais un nombre croissant de taxa sont décrits comme synthétisant la cylindrospermopsine ou ses dérivés.

III-2- Neurotoxines

Elles ciblent la jonction neuromusculaire. Elles sont essentiellement produites par les genres planctoniques *Anabaena* et *Aphanizomenon*, mais également par le genre benthique *Phormidium*. Les neurotoxines de Cyanobactéries se regroupent en deux familles principales : les anatoxines et les saxitoxines.

III-2-1- Anatoxines

Les anatoxines sont des alcaloïdes de faible poids moléculaire, spécifiques des cyanobactéries (Van Apeldoorn *et al.*, 2007). La production d'anatoxines a été mise en évidence chez plus de dix genres jusqu'à récemment, cette famille de toxines a principalement été décrite chez les Nostocales appartenant aux genres *Anabaena* et *Aphanizomenon* ainsi que chez les Oscillatoriales appartenant au genre *Phormidium*. Ces toxines qui étaient trouvées peu fréquemment sont désormais fréquemment observées, notamment dans les biofilms à *Phormidium* qui se développent dans les rivières (Quiblier *et al.*, 2013).

L'effet des facteurs physico-chimiques tels la température, l'intensité lumineuse, la concentration en nutriments (Heath *et al.*, 2014) ou encore la concentration en métaux lourds (Harland *et al.*, 2013) est avérée sur la production de l'anatoxine-a (Wood *et al.*, 2017) mais reste encore aléatoire. En effet, la réponse à ces stimuli est généralement souche-dépendante et tous les verrous qui régulent les mécanismes généraux de la production d'anatoxine-a sont encore loin d'être levés (Neilan *et al.*, 2013 ; Méjean *et al.*, 2014 ; Pearson *et al.*, 2016). Cependant Jiang *et*

al. (2015) ont réussi à détecter des transcrits de *anaA*, *anaJ*, *anaF* et *anaG* chez *Cuspidothrix issatschenkoi* alors que l'anatoxine-a n'a pas été détectée dans cette souche. Cela pourrait suggérer une régulation de la cyanotoxine à un niveau post-transcriptionnel.

III-2-2- Saxitoxines et dérivées

La famille des saxitoxines est composée de la saxitoxine, de la neosaxitoxine et de leurs dérivés. Les saxitoxines constituent une famille très diverse de toxines communément appelées toxines paralysantes, et sont responsables du syndrome intoxication paralysante par fruits de mer (IPFM). Ces toxines ont été décrites pour la première fois chez les dinoflagellés marins, mais on les retrouve chez un nombre croissant de Cyanobactéries d'eau douce appartenant aux genres *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Anabaena*, *Lyngbya* et *Phormidium*.

La saxitoxine est une trialkyle tétrahydropurine d'une grande solubilité et stabilité dans l'environnement (**Bernard, 2014**). Ces toxines inhibent les canaux sodium voltage dépendants bloquant ainsi l'influx nerveux.

III-2-3- β -N-méthylamino-L-alanine (BMMA)

Sa distribution au sein des Cyanobactéries est extrêmement large puisque près de 95 % des souches testées sont identifiées comme capables de produire ce métabolite toxique (**Bernard, 2014**). Cette large distribution ainsi que les risques associés sont actuellement en cours d'évaluation. Un isolat de *Microcystis* provenant d'une lagune de Sao Paulo (Brésil) produirait une gamme de neurotoxines paralysantes pour les mollusques et crustacés (PSP) (**Sant'Anna et al., 2011**). Cependant, lors du séquençage du génome de l'isolat, aucun gène de biosynthèse de saxitoxine n'a été identifié, ce qui laisse planer un doute sérieux sur le véritable statut de *Microcystis* l'agent responsable. Bien que l'étude de la β -N-méthylamino-L-alanine (BMAA) soit devenue une question quelque peu controversée (**Holtcamp, 2012 ; Otten et Paerl, 2015**), des études suggèrent également que la majorité des Cyanobactéries, y compris *Microcystis*, peuvent produire BMAA (**Cox et al., 2005**), alors que de nombreux autres chercheurs n'ont pas réussi à identifier ce composé (**Faassen, 2014**). Le BMAA est un acide aminé non protéique qui a été lié à des maladies neuro dégénératives, y compris la sclérose latérale amyotrophique, la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer (**Banack et al., 2010 ; Holtcamp, 2012**). Le mode exact de toxicité de la BMAA est toujours à l'étude, l'enquête la plus méthodique à ce jour a peut-être été menée par **Reveillon et al. (2014)**, qui ont réanalysé un certain nombre d'isolats de Cyanobactéries, incluant *Microcystis aeruginosa* PCC 7806, déclarés producteurs de BMAA. Notamment, en utilisant une chromatographie d'interaction hydrophile très sensible et spécifique couplée à la spectrométrie de masse en tandem, ils n'ont détecté de BMMA dans aucune culture. L'acide 2,4-diaminobutyrique, deux formes libres et liées, a été détecté dans toutes les cultures. Il peut s'agir du

composé identifié comme BMAA dans des études antérieures utilisant d'autres méthodes analytiques.

Au-delà des toxines directes, il a également été démontré que le genre *Microcystis* produit des composés qui agissent comme un système endocrinien des perturbateurs, bien qu'ils ne soient pas mortels pour la pêche, ces composés régulent les éléments génétiques associés à la maturité et à la différenciation sexuelles (**Rogers et al., 2011**).

III-3- Dermatotoxines

Les symptômes dermatotoxiques liés à la présence de Cyanobactéries ont principalement été décrits en milieu marin et semblent peu fréquents en eau douce. Un certain nombre d'alcaloïdes ont été isolés de Cyanobactéries marines et sont suspectés d'être à l'origine de dermatites. Il s'agit de lyngbyatoxines, d'aplysiatoxines et de la debromoaplysiatoxine, ces deux dernières étant également suspectées d'être promotrices de tumeur et activateurs de la protéine kinase C (**Van Apeldoorn et al., 2007**). Les lipopolysaccharides (LPS) sont des endotoxines constitutives de la paroi cellulaire de CB ou autres bactéries Gram négatives (**Bernard, 2014**). Elles sont constituées d'un sucre et d'un lipide, et sont responsables de réactions allergiques et toxiques chez les animaux et les humains et à l'origine d'irritations cutanées.

III-4- Autres métabolites secondaires

Le terme métabolisme secondaire est généralement utilisé pour désigner les voies métaboliques qui ne sont pas directement impliquées dans la croissance, le développement ou la reproduction de l'organisme. Les métabolites secondaires Cyanobactériens présentent une structure chimique diverse et différentes bioactivités, comme les anti-cancers, les antifongiques, les anti-bactéries, les inhibiteurs de la trypsine, les neurotoxiques et les hépatotoxiques (**Dixit et Suseela, 2013**).

La plupart de ces composés sont synthétisés par la voie non ribosomale, cependant certains d'entre eux sont synthétisés par la voie ribosomale tels que les microviridines et les cyanobactines (**Arnison et al., 2013**). Ces métabolites produits par les Cyanobactéries sont subdivisés en sept classes principales de peptides en fonction de leurs caractéristiques structurales (**Tableau I**). On distingue les aeruginosines, les anabaenopeptines, les cyanobactines, les cyanopeptolines, les microginines, les microviridines et les microcystines (**Agha et Quesada, 2014**).

L'inhibition de la protéase, qui est utilisée comme mécanisme de protection contre le pâturage chez les plantes terrestres, est un effet qui a également été observé pour de nombreux métabolites (**Welker et Von Döhren, 2006**). Quelques exemples de peptides présentant une inhibition de protéase sont la microcystine, la cyanopeptoline, l'aeruginosine, l'anabaenopeptine, la microviridine et la microginine.

Tableau I : Principales classes de peptides de Cyanobactéries et leurs réponses bioactives

Métabolites	Bioactivités	Références
Cyanopeptolines	Inhibiteur de la trypsine	Martin <i>et al.</i>, 1993
Aeruginosines	Inhibiteur de la trombine et la trypsine	Kodani <i>et al.</i>, 1998
Anabaenopeptines	Inhibiteur de la carboxypeptidase	Itou <i>et al.</i>, 1999
Microviridines	Elastase/ inhibiteur de la protéase analogue de la trypsine	Rohrlack <i>et al.</i>, 2003
Microginines	Inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I	Numann <i>et al.</i>, 1997
Cylamides	Anti-cyanobactérien / anti-algale	Todorava <i>et al.</i>, 1995

III-4-1- Cyanopeptolines

Les cyanopeptolines sont des peptides cycliques produits par la voie non ribosomale, tout comme les microcystines. Plusieurs variantes de ce métabolite ont été décrites, car une variation survient à presque tous les acides aminés présents, à l'exception du résidu Ahp (3-amino-6-hydroxy-2-pipéridone) qui caractérise le peptide et la thréonine (**Figure 4**). L'activité forte et sélective des nouvelles variantes de cyanopeptoline en a fait des candidats potentiels pour le développement de médicaments contre les troubles métaboliques et d'autres maladies (**Mazur-Marzec et al., 2018**). Cependant, peu d'informations sont disponibles sur leur production, leur régulation et leur absorption par les vertébrés (**Faltermann et al., 2014**). Bien que considérés comme non toxiques depuis longtemps (**Beversdorf et al., 2017**), il a été démontré récemment que certaines variantes sont toxiques pour le poisson-zèbre (**Faltermann et al., 2014**) et le zooplancton (**Pereira et Giani, 2014**). Parmi les cyanopeptolines, on trouve des scyptolines, des micropeptines, des anabaenopeptilides, des aeruginopeptines et des aeruginopeptolines.

III-4-2- Aeruginosines

Les aeruginosines sont une famille de peptides chimiquement diversifiée connue à ce jour, isolées uniquement de *Microcystis* et *Planktothrix* (**Fewer et al., 2013**). Elles constituent une classe de térapeptides linéaires très variables, caractérisées par la présence de deux résidus peu communs, Hpla (4-hydroxy acide phényllactique) et Choi (2-carboxy-6-hydroxyoctahydroindole), en positions (1) et (3), respectivement (**Figure 5**). Elles sont des inhibiteurs spécifiques des sérine protéases telles que la thrombine et la trypsine (**Anas et al., 2012**). Par conséquent, elles sont considérées comme des agents anti thrombotiques potentiels. La thrombine, une sérine protéase semblable à la trypsine qui joue un rôle important dans la thrombose et l'agrégation plaquettaire. Il s'agit de l'enzyme clé pour catalyser la formation de fibrine polymérisable à partir de fibrinogène dans la cascade de la coagulation sanguine (**Fewer et al., 2013**). Les propriétés physiologiques uniques des aeruginosines proviennent principalement de la fraction 2-carboxy-6-hydroxyoctahydroindole (Choi) qui est un acide aminé bicyclique (**Ishida et al., 2009**). Lorsque l'aeruginosine se lie à une protéase de type sérine, le fragment Choi interagit directement avec le site actif de la protéase, la partie centrale qui détermine l'efficacité d'inhibition de l'aeruginosine (**Wang et Goyal, 2009**). Les trois gènes correspondant à la biosynthèse de Choi *aerD*, *aerE* et *aerF* ont été caractérisés dans les cyanobactéries d'eau douce *Planktothrix agardhii* et *Microcystis aeruginosa* via des expériences d'alignement de séquences génétiques (**Ishida et al., 2007**).

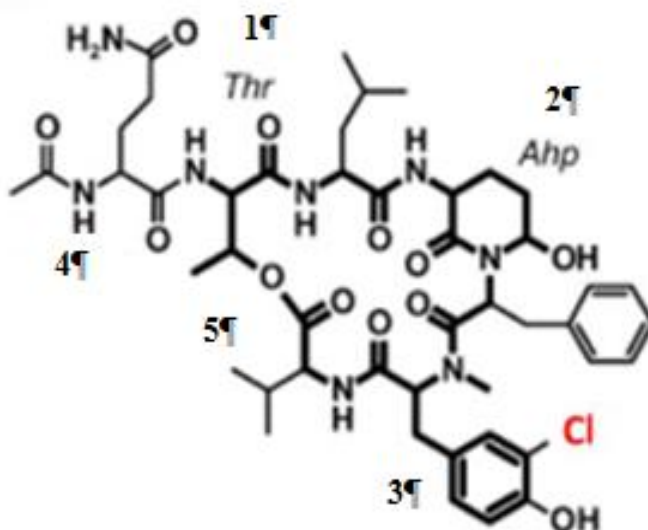


Figure 4 : Structure de cyanopeptoline (American Chemical Society 2017)

Position 1 : Thréonine

Position 2 : Ahp (3-amino-6-hydroxy-2-pipéridone)

Position 3 : Acide aminé variable

Position 4 : Acide aminé variable

Position 5 : Acide aminé variable

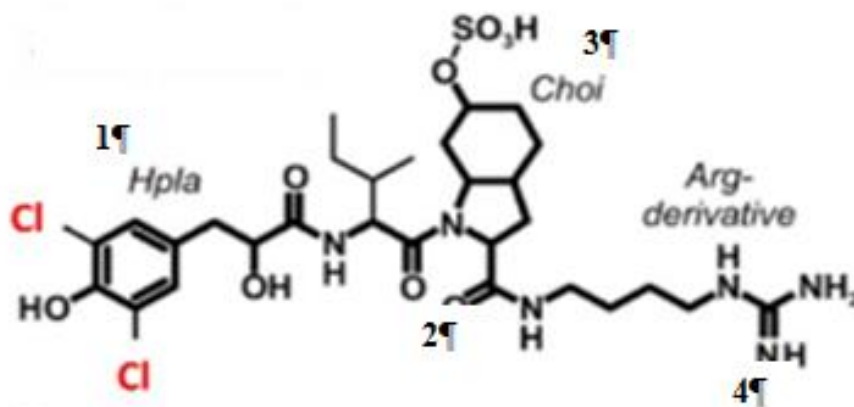


Figure 5 : Structure d'aeruginosine (American Chemical Society 2017)

Position 1 : Hpla (4-hydroxy acide phényllactique)

Position 2 : Acide aminé variable

Position 3 : Choi (2-carboxy-6-hydroxyoctahydroindole),

Position 4 : Arginine

III-4-3- Microviridines

Les microviridines sont produites par la voie ribosomale chez *Microcystis* et *Planktothrix agardhii*. quinze nouvelles variantes ont été détectées du gène précurseur *mdnA* codant pour la microviridine des squelettes qui diffèrent par jusqu'à 4 positions d'acides aminés des isoformes connues du peptide (**Ziemert *et al.*, 2010**). Les microviridines étaient les premiers métabolites tricycliques observés et sont parmi les plus grands oligopeptides produits par les Cyanobactéries avec 13 à 14 acides aminés (1600-1900 Da) (**Ziemert *et al.*, 2010 ; Weiz *et al.*, 2014**) (**Figure 6**).

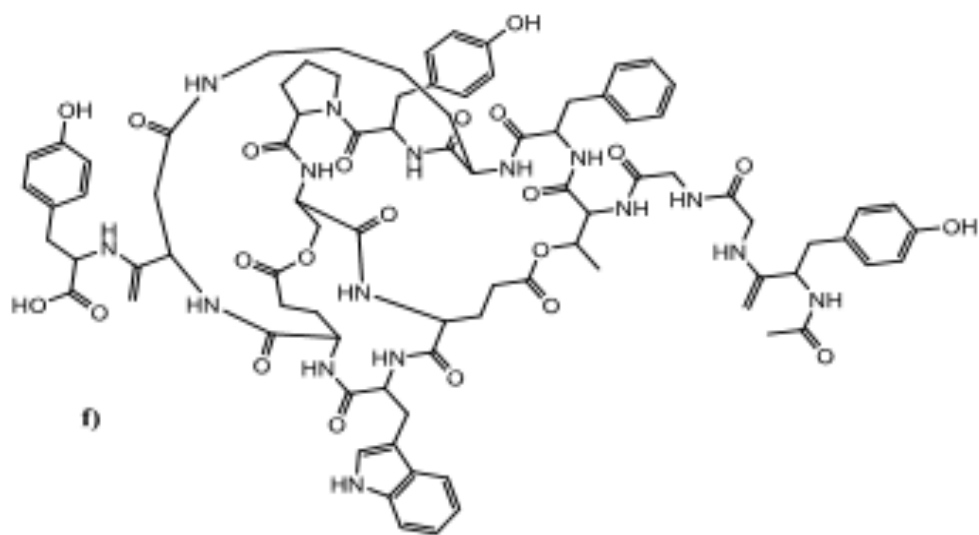


Figure 6 : Structure de microviridine A (American Chemical Society 2017)

IV- Déterminisme de la production de toxines

Malgré les avancées méthodologiques en chimie analytique (**Chen et al., 2012**) ou en biologie moléculaire (**Rantala-Ylinen et al., 2011**), la prédiction de la production des cyanotoxines en milieux naturels restent encore complexe. Différents facteurs environnementaux et mécanismes intrinsèques aux Cyanobactéries peuvent intervenir et favoriser ou non la production de microcystine.

Tout d'abord, la production de toxine peut être variable selon l'espèce ou le genre considéré (**Méjean et al., 2014**). Ensuite, la diversité génétique intraspécifique joue un rôle important dans ce déterminisme. Au sein même d'une prolifération mono-spécifique, plusieurs génotypes peuvent coexister. Certains génotypes possèdent les gènes impliqués dans la biosynthèse de ces cyanotoxines et d'autres non. En parallèle de l'évolution de la biomasse d'un bloom, la succession ou la dominance de ces différents génotypes peut varier dans le temps et dans l'espace, et par conséquent conditionner la production de l'une de ces cyanotoxines. Ce phénomène est bien connu pour les microcystines (**Sabart et al., 2010**). Cette évolution spatio-temporelle *via* la succession des différents génotypes résulte aussi des facteurs de croissance et de compétition entre souches toxiques et non-toxiques (**Misson, 2011**). Il semblerait ainsi que les souches toxiques soient plus compétitrices que les non-toxiques en situation de forte intensité lumineuse, de forte disponibilité en nutriments, de faible concentration en CO₂ dissous (**Waal et al., 2011**) et d'augmentation de la température (**Davis et al., 2009**).

En plus des facteurs interspécifiques ou génétiques, l'état physiologique de la cellule peut aussi influencer la synthèse de ces cyanotoxines. Par exemple, il est communément admis que la production de microcystines est maximale durant les phases de croissance exponentielle et/ou lorsque les conditions de croissance sont optimales (**Legrand, 2017**).

Les facteurs environnementaux de régulation de la production de cyanotoxines sont encore mal connus, principalement à cause d'un manque de standardisations et d'interprétations communes des études déjà réalisées (**Neilan et al., 2013**). Néanmoins, l'azote semble particulièrement affecter la production des microcystines. Une étude combinant approches *in situ* et expérimentales a mis en évidence une corrélation entre la limitation en azote et un faible quota cellulaire en microcystine (**Horst et al., 2014**).

IV-1- Voies de biosynthèse des cyanotoxines

Les voies de biosynthèse des cyanotoxines sont non-ribosomales et impliquent des complexes enzymatiques dont les gènes sont organisés en modules. La régulation de la synthèse de ces enzymes influence de manière qualitative et quantitative la production de toxines (**Dittman et**

al., 2013). L'organisation modulaire des domaines d'adénylation constitue une source de diversité des métabolites. Les gènes impliqués peuvent subir des événements de recombinaisons génétiques homologues impliquant un même cluster de gènes ou des clusters différents. Ces événements peuvent survenir au sein d'un même génome ou provenir d'ADN libre d'autres Cyanobactéries *via* des transferts horizontaux (Dittman *et al.*, 2013). Ces événements contribuent à accroître la diversité des gènes impliqués dans la synthèse des toxines et donc la diversité des toxines elles-mêmes.

IV-2- Biosynthèse des microcystines

Cette biosynthèse est codée par un cluster de 10 gènes (*mcyA* à *mcyJ*) organisés en 2 opérons, dont la transcription est régulée par un promoteur central commun et bidirectionnel. Cette synthèse fait intervenir différentes enzymes qui assemblent et modifient les acides aminés composant la microcystine. Elles sont composées des polykétides synthases, des peptides synthétases non ribosomales et d'enzymes impliquées dans le « tailoring » de certains acides aminés. L'export des microcystines serait possible par le gène *mcyH* codant pour un transporteur de type ABC (Dittman *et al.*, 2013) (Figure 7). L'inactivation d'un seul de ces 10 gènes est suffisante pour bloquer la synthèse des microcystines (Legrand, 2017). Des différences sont notables entre les genres *Anabaena*, *Microcystis* et *Planktothrix* comme la présence, l'ordre des gènes, l'orientation et le nombre d'opérons.

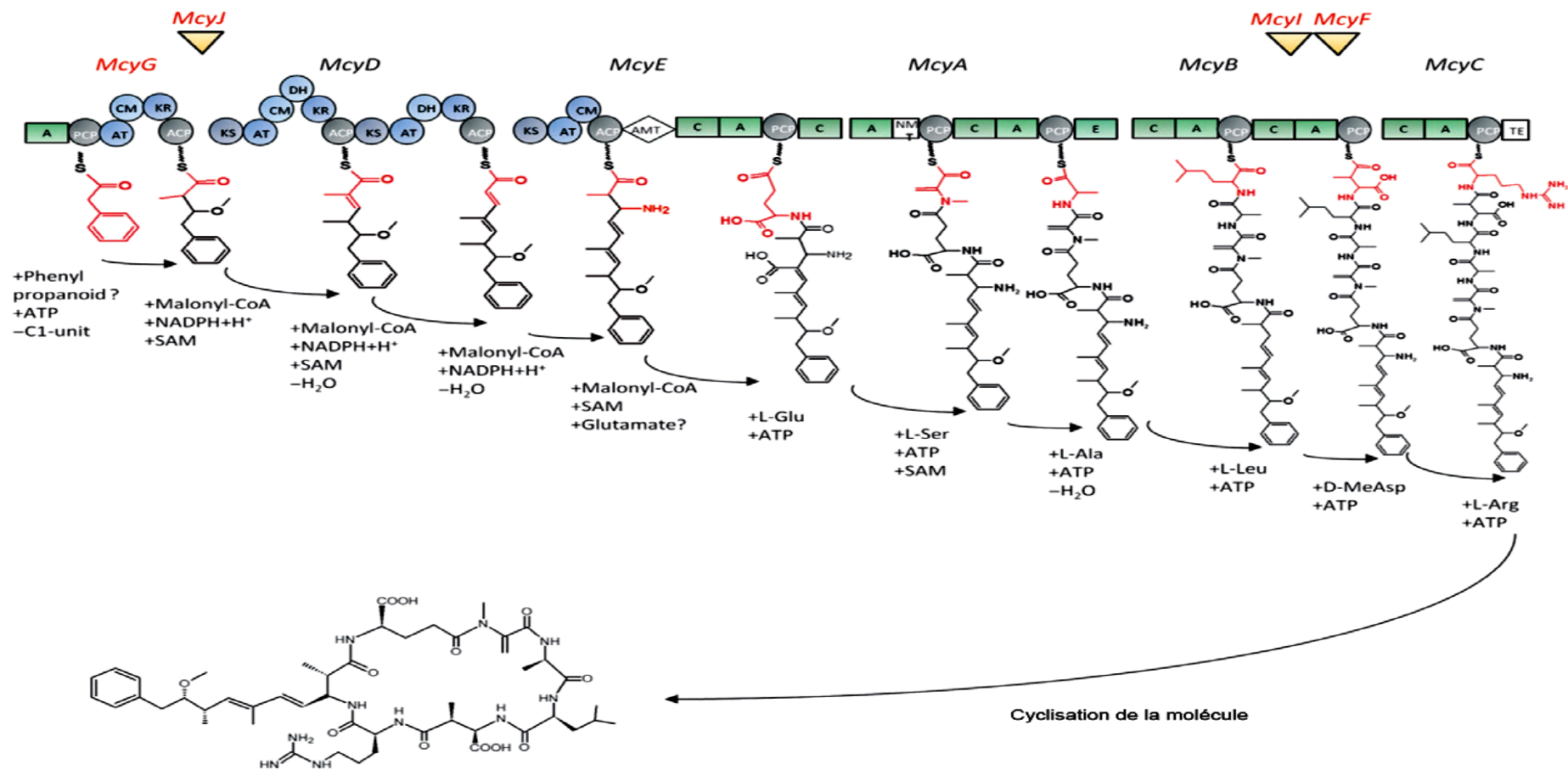


Figure 7 : Voies de biosynthèse de la microcystine (Dittman *et al.*, 2013)

IV-3- Rôle écologique de la microcystine

Identifier et comprendre les potentiels rôles écologiques des cyanotoxines pourraient à terme aider au développement de nouvelles stratégies de management vis-à-vis des Cyanobactéries toxiques (**Pearson et al., 2016**). Cependant, les rôles écologiques des cyanotoxines à l'heure actuelle, n'ont pas encore été clairement identifiés dans la littérature.

De nombreux travaux de recherche mettent en évidence différents rôles possibles que pourraient avoir les microcystines dans leur environnement. Tout d'abord, les microcystines pourraient être impliquées dans les interactions biotiques. Les impacts sur divers niveaux trophiques décrits précédemment, associés à l'augmentation de production de microcystines en présence de producteurs primaires ou de prédateurs, sont à l'origine de l'hypothèse d'un rôle allélopathique de ces microcystines. Ces molécules serviraient à limiter la compétition pour les ressources ainsi que la prédation et le parasitisme. Certains auteurs vont plus loin et émettent l'hypothèse que la production de microcystines chez les souches productrices (dans ce cas de *Planktothrix rubescens* et *P. agardhii*) favoriserait le potentiel de colonisation et de dominance dans le milieu. Ainsi, par la production de toxines, *Planktothrix* aurait un rôle de constructeur de niche à l'échelle écosystémique, ce qui peut résulter en une plus grande habilité à monopoliser les ressources, plus de rétrocontrôle positif, et en une résilience accrue dans des conditions environnementales stables (**Kurmayer et al., 2016**). Par conséquent, la toxicité ne correspondrait pas à la fonction première de ces molécules.

Les microcystines pourraient aussi avoir un rôle de messager extracellulaire au sein des différentes colonies de *Microcystis* (**Pearson et al., 2016**). Cette hypothèse s'appuie sur le fait que les microcystines peuvent être relarguées dans le milieu. De plus, un ajout de microcystines dans le milieu de culture peut conduire à des changements phénotypiques au sein de colonies de *Microcystis* et à la synthèse d'autres métabolites secondaires (**Gan et al., 2012**). Les microcystines pourraient donc bien jouer un rôle de molécule signal, induisant notamment la régulation de leur propre production. De plus, ces microcystines sont principalement présentes au sein des cellules productrices et ne sont relarguées dans le milieu que lorsque ces dernières sont lysées. Ainsi, la détection de microcystines dans le milieu extérieur pourrait donc être perçue comme un signal d'une importante mortalité cellulaire (**Schatz et al., 2007**). En réponses, les cellules encore vivantes s'agrègeraient plus facilement, augmenteraient leur vitesse de division, la production de pigments et de microcystines afin d'améliorer leur survie dans un contexte environnemental défavorable ayant entraîné la mort de leurs congénères (**Misson, 2011**).

Les importantes quantités présentes au sein des cellules productrices laissent envisager que les microcystines pourraient aussi avoir un rôle intracellulaire, en étant un messager intracellulaire ou en modulant la stabilité et/ou la fonction de certaines protéines (**Zilliges et al., 2011**). Les

microcystines possèdent aussi des propriétés chélatrices et même sidérophore. En effet, la meilleure assimilation du fer pour les souches toxiques, combinée à un meilleur taux de survie de ces dernières en cas de carence en fer laisse présager un rôle de protection des cellules toxiques par les microcystines dans un milieu sévèrement carencé en fer (**Alexova et al., 2011**).

La régulation de la synthèse de microcystine par le stress oxydatif est à l'origine de la dernière fonction intracellulaire hypothétique attribuée aux microcystines. En effet, lors d'un surplus d'énergie lumineuse, les photosystèmes des Cyanobactéries utilisent l'oxygène comme accepteur d'électron de substitution dans le but de dissiper l'énergie excédentaire emmagasinée par les photosystèmes (**Latifi et al., 2009**). Ce processus induit aussi la formation de ROS, en quantité proportionnelle à l'intensité lumineuse reçue. La production de ROS pourraient être aussi induite par une carence en fer (**Latifi et al., 2009**). Ainsi, le surplus de lumière et la disponibilité en fer pourraient, par conséquent, jouer indirectement sur la production de microcystines, *via* le déclenchement d'un stress oxydatif. Ainsi, une souche de *Microcystis* toxique s'est montrée plus résistante à la présence de peroxyde d'hydrogène que son homologue muté spécifiquement sur un gène de microcystine (souche PCC7806 et son mutant $\Delta mcyB$) : le mutant présentait une importante dépigmentation démontrant la dégradation de son appareil photosynthétique (**Zilliges et al., 2011**). Ces différents travaux ont conduit à l'émergence d'un rôle hypothétique de protection contre le stress oxydatif (**Alexova et al., 2011 ; Zilliges et al., 2011**). Ainsi, ce rôle pourrait s'exprimer *via* la liaison des microcystines à différentes protéines impliquées dans le métabolisme primaire des espèces productrices (**Zilliges et al., 2011**).

Actuellement, dans la littérature, aucune de ces diverses hypothèses n'est prédominante et les différents rôles évoqués pourraient être le fruit de différentes étapes de l'évolution et de la diversification des toxines au cours du temps, permettant l'acquisition de différentes fonctions qui ont un réel intérêt dans le contexte naturel (**Pearson et al., 2016**).

V- Toxicocinétique et toxicodynamique des microcystines

V-1- Toxicocinétique

La toxicocinétique est l'étude de la cinétique d'une substance toxique lors de son passage dans un organisme biologique. Elle comprend l'absorption, la distribution, la biotransformation et l'élimination de la substance à l'étude (**Ouellet, 2012**). Il n'y a pas ou très peu de données sur la toxicocinétique des cyanotoxines chez les humains, les données présentées dans les sections suivantes se réfèrent surtout à des animaux de laboratoire.

- L'absorption d'une substance toxique est sa pénétration à l'intérieur des cellules. Elle peut se faire par diverses façons telles que la diffusion passive par liposolubilité transmembranaire, le transport actif, la diffusion à travers des pores aqueux, la pinocytose et la phagocytose (**Van Coillie,**

2011). Les principales voies d'exposition aux cyanotoxines chez l'humain sont l'ingestion d'eau ou de nourriture contaminée, l'inhalation et le contact cutané.

- Après leur absorption à différents lieux, les toxines sont distribuées *via* le système circulatoire (sang et/ou lymph) dans les divers organes et tissus. Chez les mammifères, après une absorption par voie orale, les MCs sont véhiculées par la circulation sanguine d'où elles sont extraites principalement par les hépatocytes qui possèdent des transporteurs de l'acide biliaire (**Zeller *et al.*, 2011**).

- Suite à leur absorption et à leur distribution, la plupart des toxines sont bio-transformées par l'organisme en métabolites. Ceux-ci sont en général moins toxiques que les composés d'origine ; toutefois, dans certains cas, leur toxicité est parfois amplifiée suite à leur biotransformation (**Van Coillie, 2011 ; Ouellet, 2012**). La métabolisation des MCs s'effectue au niveau du foie où elle a lieu par conjugaison. Celle-ci se fait avec le glutathion (GSH) et la cystéine (Cys). La conjugaison des MCs avec le GSH est réalisée par le glutathion S-transférase qui forme des composés plus polaires que les MCs, des MCs-GSH.

- L'élimination est l'étape finale de la toxicocinétique. La toxine peut être éliminée sous sa forme d'origine, de métabolites et/ou de conjugués. L'élimination prend diverses voies dans l'organisme, la principale est l'urine, mais il y a aussi une excrétion aux niveaux de la bile hépatique, des fèces et autres. L'élimination par voie urinaire est plus rapide et représente 9,2 % de la dose alors que l'élimination fécale plus lente (après six jours) représente 14,5 %. Enfin, 60 % des quantités excrétées ont la forme d'origine tandis que 40 % sont des dérivés conjugués de la MC qui s'avèrent plus hydrophiles que cette dernière (**Ouellet, 2012**).

V-2- Toxicodynamique

La toxicodynamique étudie les mécanismes d'action des substances toxiques dans l'organisme et permet ainsi de comprendre le pourquoi de la toxicité (**Van Coillie, 2011**).

La toxicité se manifeste par une liaison covalente irréversible formée entre la toxine et les protéines phosphatases, en particulier dans les hépatocytes, ce qui entraîne des dommages ultérieurs à la structure cellulaire (**Feurstein *et al.*, 2010**) et peut entraîner une maladie du foie ainsi qu'une néphrotoxicité (**Harke *et al.*, 2016**).

A l'intérieur des cellules, les microcystines peuvent avoir plusieurs effets. L'action la plus importante est l'inhibition des protéines phosphatases de type 1 et 2A (PP1 et PP2A) (**Kuniyoshi *et al.*, 2013**). La fixation des microcystines sur les protéines phosphatases se fait en deux étapes (**Figure 8**).

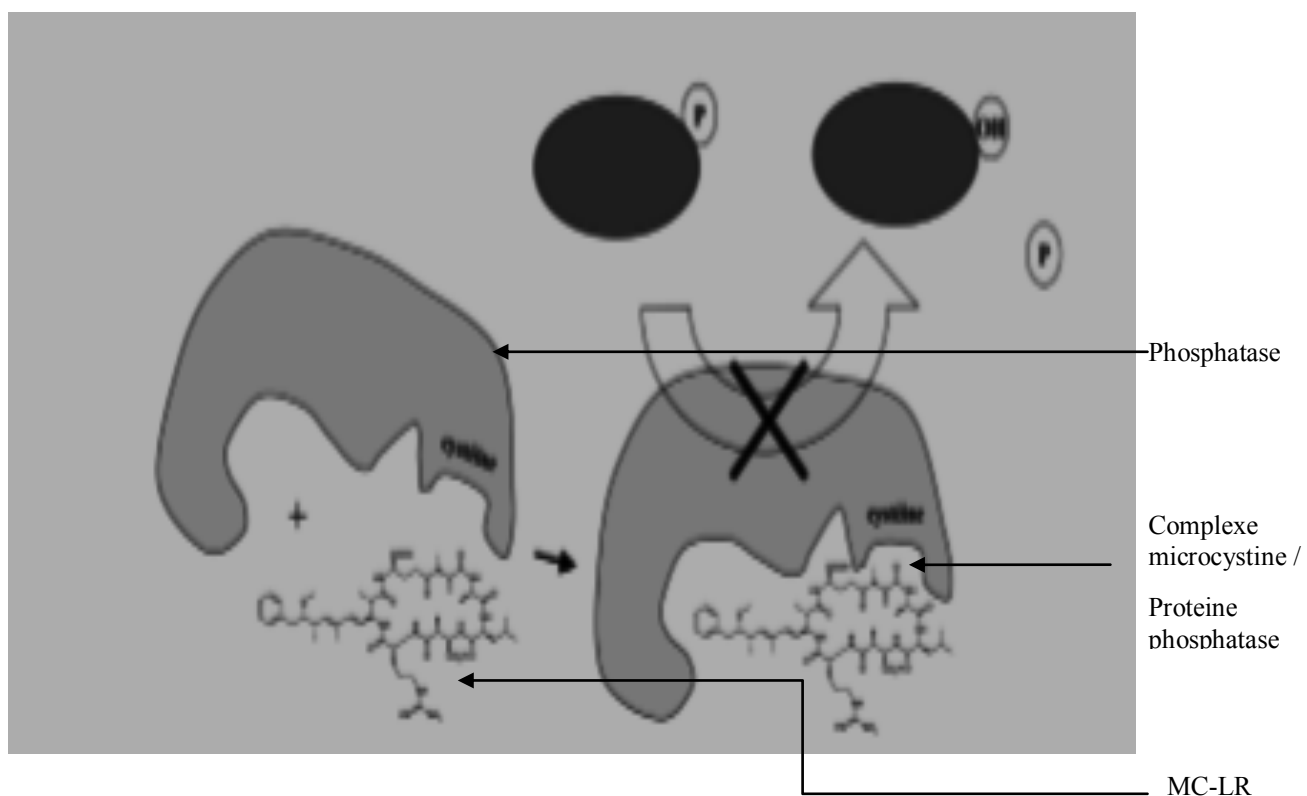


Figure 8 : Fixation de la microcystine LR sur la phosphatase

Le radical Mdha de la microcystine interagit avec une cystéine. Il se forme un complexe microcystine / protéine phosphatase. Le radical Adda se place alors dans un sillon hydrophobe. La microcystine inhibe la protéine phosphatase qui ne peut plus catalyser l'hydrolyse des groupements phosphate de certaines protéines.

La première étape fait intervenir des interactions de faibles énergies de type Van der Waals et électrostatiques entre la toxine et les protéines phosphatases. Cette première étape permet un rapprochement entre l'acide aminé méthyl-déhydro-alanine (Mdha) de la toxine et la cystéine 273 de PP1 ou 266 de PP2A qui réagissent alors et forment une liaison covalente. Suite à cette liaison covalente, l'Adda se trouve dans un sillon hydrophobique de la partie catalytique de l'enzyme, entraînant son inactivation. L'inhibition de la phosphatase est observée dès la première étape qui correspond à la formation du complexe phosphatase / microcystine par les liaisons de faibles énergies (**Hastie et al., 2005**).

L'inhibition des deux phosphatases entraîne une diminution de la synthèse des protéines des microtubules des hépatocytes (**Van Apeldoorn et al., 2007**). Il en résulte une déformation de ceux-ci qui entraîne ainsi une séparation des cellules du foie (hépatocytes) et conséquemment une perturbation de la structure hépatique. Ceci induit une accumulation de sang au niveau du foie et éventuellement la mort par hémorragie interne ou une insuffisance hépatique. À faible dose d'exposition, l'inhibition des phosphatases cause une prolifération cellulaire au niveau du foie, ce qui entraîne une hypertrophie de celui-ci (**Gehring et al., 2004**).

V-3- Conséquences de l'action de la microcystine

Les conséquences de cette inhibition sont importantes car les PP1A et PP2A catalysent l'hydrolyse des groupements phosphate sur les résidus sérine et thréonine de nombreuses protéines dont l'actine et la cytokératine, protéines qui participent à l'organisation du cytosquelette de la cellule (**Kuniyoshi et al., 2013**). La mise en place du cytosquelette n'est pas possible quand les protéines sont phosphorylées. Les microcystines étant des inhibiteurs de protéines phosphatases, les protéines du cytosquelette restent phosphorylées et ne peuvent pas s'assembler, ce qui provoque une désorganisation structurale de la cellule et à terme la mort de la cellule. L'inhibition des PP1A et PP2A entraînent également la disparition des jonctions intercellulaires : les cellules ne forment plus un tissu mais s'individualisent.

Dernièrement, une autre cible intracellulaire a été mise en évidence : L'ATP-synthase (**Mikhailov et al., 2003**). Les microcystines peuvent se fixer sur cet enzyme et ainsi l'inhiber. Le mécanisme n'est pas caractérisé et les conséquences sur la physiologie cellulaire ne sont pas connues. Malgré tout, il semble que les microcystines ont moins d'affinité pour cet enzyme que pour les PP1A et PP2A. Pour l'instant, d'autres cibles intracellulaires n'ont pas été révélées (**Imanishi et al., 2005**).

Des études ont montrés que les microcystines induisent aussi un stress oxydatif à l'intérieur des cellules (**Yin et al., 2005**). Ce phénomène a été observé *in vivo* chez les poissons et les rongeurs. Ces travaux ont conduit à l'émergence d'un rôle hypothétique de protection contre le

stress oxydatif (**Alexova et al., 2011; Zilliges et al., 2011**). Ainsi, ce rôle pourrait s'exprimer via la liaison des microcystines à différentes protéines impliquées dans le métabolisme primaire des espèces productrices (**Zilliges et al., 2011**). Actuellement, dans la littérature, aucune de ces diverses hypothèses n'est prédominante et les différents rôles évoqués pourraient être le fruit de différentes étapes de l'évolution et de la diversification des toxines au cours du temps, permettant l'acquisition de différentes fonctions qui ont un réel intérêt dans le contexte naturel (**Pearson et al., 2016**).

MATERIEL & METHODES

I- Matériel d'étude

I-1- Type d'étude et critères de choix du site d'étude

Il s'agit d'une étude expérimentale basée sur l'utilisation des techniques de bactériologie classique (isolement et culture), de biologie moléculaire pour la détection des différents gènes de synthèse des différents métabolites secondaires et de spectrométrie de masse pour le dosage des nutriments et de la chlorophylle (*a*).

Quant au choix du site, il est à noter que la ville d'Abidjan est exclusivement approvisionnée en eau potable par la nappe phréatique dite du terminal continental. Cette nappe est devenue insuffisante pour cette population qui grandit au fil des années. Ainsi, la priorité actuelle de l'État Ivoirien est de trouver une source supplémentaire pour répondre aux besoins pressants en eau de la ville d'Abidjan. C'est ainsi que la lagune Aghien a été identifiée comme une source potentielle pour l'approvisionnement des populations en eau potable.

La lagune Aghien connaît un développement de blooms de Cyanobactéries qui posent de graves problèmes pour la production d'eau potable pour la ville d'Abidjan et pour les villages environnants qui utilisent les eaux de la lagune pour de multiples usages, d'une part et ces Cyanobactéries ne sont pas seulement nuisibles, elles produiraient des métabolites d'utilité pharmacologique et biotechnologique d'autre part. Six stations d'échantillonnage ont été prospectées, quatre d'entre elles étant le long d'un transect situé sur la plus grande diagonale de la lagune, et les deux autres à proximité de deux villages.

I-2- Cadre et période d'étude

Cette étude a été effectuée sur une période de 22 mois. A cet effet, différentes structures ont servi de cadre d'étude, à savoir, l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI) site d'Adiopodoumé, l'Institut Pasteur de Paris (IPP) à la Collection des Cyanobactéries, l'Institut de Recherche et Développement (IRD) et l'Université Nangui Abrogoua.

- La préparation des milieux utilisés a été réalisée à l'Unité de Production des Intrants de Laboratoire (UPIL) de l'IPCI.

- L'isolement et la mise en culture des Cyanobactéries ont été réalisés à l'Unité de Chimie et de Microbiologie Environnementale de l'IPCI.

- Le dosage des nutriments et de la chlorophylle (*a*) a été réalisé à l'Institut de Recherche et Développement (IRD) sise à l'Université Nangui Abrogoua.

- Le Laboratoire d'Environnement et de Biologie Aquatique de l'Université Nangui Abrogoua a contribué à l'identification taxonomique des Cyanobactéries.

- Les analyses moléculaires ont été réalisées au laboratoire de la Collection des Cyanobactéries de l'IPP.

I-3- Milieu d'étude

I-3-1- Localisation du site d'étude

La lagune Aghien est située dans la partie Sud-Est de la Côte d'Ivoire entre 5°20 et 5°30 latitudes Nord et 3°50 et 3°55 longitudes Ouest. Elle est située à environ 5 km au Nord de Bingerville et a une superficie de 19,5 km². Elle est alimentée par deux affluents principaux, les rivières Djibi et Bété, et communique avec la lagune Potou par un canal naturel dans lequel s'écoule l'eau de la rivière Mé (**Konan et al., 2017**), avec des bassins versants de 72 km².

I-3-2- Climat et pluviométrie

Le climat de la zone d'étude est celui du littoral septentrional du Golfe de Guinée. C'est un climat équatorial de transition caractérisé par une grande saison des pluies et une grande saison sèche alternant avec une petite saison des pluies et une petite saison sèche (**Traoré et al., 2012 ; Effebe et al., 2017**).

- La grande saison sèche qui s'étend de Décembre à Mars, est dominée par les vents continentaux secs ou harmattan. La température et la salinité atteignent les valeurs les plus élevées.
- La grande saison des pluies s'étend d'Avril à Juillet, avec des précipitations abondantes et presque continues, ce qui entraîne la baisse de la salinité. Le rayonnement solaire diminue très nettement, ainsi que la température de l'air et l'évaporation.
- La petite saison sèche s'étend d'Août à Septembre. Les pluies y sont rares et faibles et l'évaporation conserve des valeurs basses. La salinité augmente au cours de cette saison.
- La petite saison des pluies, due aux averses orageuses, s'étend d'Octobre à Novembre. Les précipitations retrouvent des valeurs élevées sans atteindre celles de la grande saison des pluies. Les apports continentaux sont prédominants (après la grande saison des pluies) et sont caractérisés par la crue des fleuves (Comoé) et rivières (Mé, Djibi et Bété) associés.

C'est une zone pluvieuse avec des précipitations interannuelles supérieures à 1500 mm (**Traoré et al., 2012 ; Effebe et al., 2017**).

I-3-3- Relief et végétation

Dans cette zone, on distingue trois ensembles géomorphologiques individualisés (**Angui et al., 1984**) :

- les hauts plateaux en deux niveaux, de 40 à 50 m et 100 à 120 m, représentés par les buttes du Continental Terminal au Nord de la lagune Ebrié,
- les bas plateaux d'altitude allant de 8 à 12 m, constituent les affleurements du cordon littoral quaternaire,
- les plaines et les lagunes qui constituent l'ensemble le plus affaissé.

Trois grands types de paysage végétal se partagent la région étudiée : la forêt, la savane et les formations hydrophiles des zones marécageuses en bordure des lagunes d'eau saumâtre. L'ensemble est abondamment transformé par les cultures industrielles (palmiers et hévéas en savane, palmiers, caféiers, cacaoyers et ananas en forêt, bananeraies dans les bas-fonds tourbeux) et par les cultures vivrières itinérantes.

I-3-4- Pédologie et géologie

La géologie de la zone est marquée par la formation sédimentaire constituée de roches détritiques du tertiaire et quaternaire. La lagune Aghien est encadrée dans le continental terminal composé de sable, d'argile et grès ferrugineux. On note la présence des vases (matières organiques et particules fines minérales) et de sable du quaternaire sur les bordures Est de la lagune Aghien (**Delor et al., 1992**). Deux catégories de sols occupent la région. Il s'agit des sols à sesquioxydes (sols ferrallitiques lessivés en bases) et des sols hydromorphes, notamment les sols tourbeux ou sols humiques à gley indifférenciés, ou pseudo-gley indifférenciés et sur alluvions à dominance sableux (**Cheroux et Roose, 1966**). Les formations du socle cristallin et cristallophyllien sont constituées de gneiss fin à biotite et amphibole (**Delor et al., 1992**). Deux types d'aquifères sont rencontrés dans la lagune d'Aghien en l'occurrence, les aquifères discontinus du socle et les aquifères continus de bassins sédimentaires (**Konan et al., 2017**).

I-3-5- Occupation du sol et activités anthropiques

La lagune Aghien se situe dans une zone couverte par la forêt dense sempervirente et ombrophile. Cette forêt est fortement dégradée au profit des activités anthropiques et des installations humaines, hormis la partie située au Nord-Est du système lagunaire, la forêt classée de Nguechis. Les cultures et/ou jachères occupent la quasi totalité du bassin. Elles sont essentiellement constituées de cultures de rente (palmier à huile, hévéa) réalisées par le CNRA (Centre National de Recherche Agronomique) et qui s'étendent sur de grandes surfaces. Par ailleurs, les riverains s'adonnent également à des activités agricoles et d'élevages. De ce fait, la mangrove est détruite au profit des grandes plantations industrielles et des plantations villageoises (**Figure 9 A**). Les principales cultures réalisées par ceux-ci sont celles de maraîchers, de palmiers à huile, de caféiers, de cacaoyers, d'hévéa, et de bananiers (plantain) (**Koffi et al., 2014**). Les activités économiques liées au milieu lagunaire sont constituées essentiellement de la pêche, de la pisciculture, du transport et de l'exploitation de carrières de sables. Les eaux lagunaires sont également utilisées pour le lavage des aliments (**Figure 9 C**), la baignade et aussi dans les teintureries et tannages traditionnels (**Traoré et al., 2012**).



Figure 9 : Lagune Aghien et les activités anthropiques

A) Plantations d'hévéa autour la lagune

B) Dechets aux abords directs de la lagune

C) Lavage des aliments dans la lagune

(Photo : **Yao D. R**)

I-4- Matériel de mesure des paramètres physico chimiques sur le terrain et dosage de nutriments

I-4-1- Matériel de mesure des paramètres physico chimiques sur le terrain

Une pirogue motorisée et un GPS (Global Positioning System) de marque GARMIN®etrex 2 ont été utilisés respectivement pour les déplacements sur la lagune et pour déterminer les coordonnées géographiques.

Une sonde multi paramètre de marque YSI®exo 2 (**Figure 10 A**) muni de capteurs a permis de mesurer la température, le pH, la conductivité et la turbidité de l'eau de la lagune.

I-4-2- Matériel utilisé pour le dosage des nutriments

Un minéralisateur de marque HT 200 S a été utilisé pour la digestion des composés azotés.

Un spectrophotomètre de type HACH® LANGE DR 600 a été utilisé pour le dosage des nutriments (**Figure 10 B**).

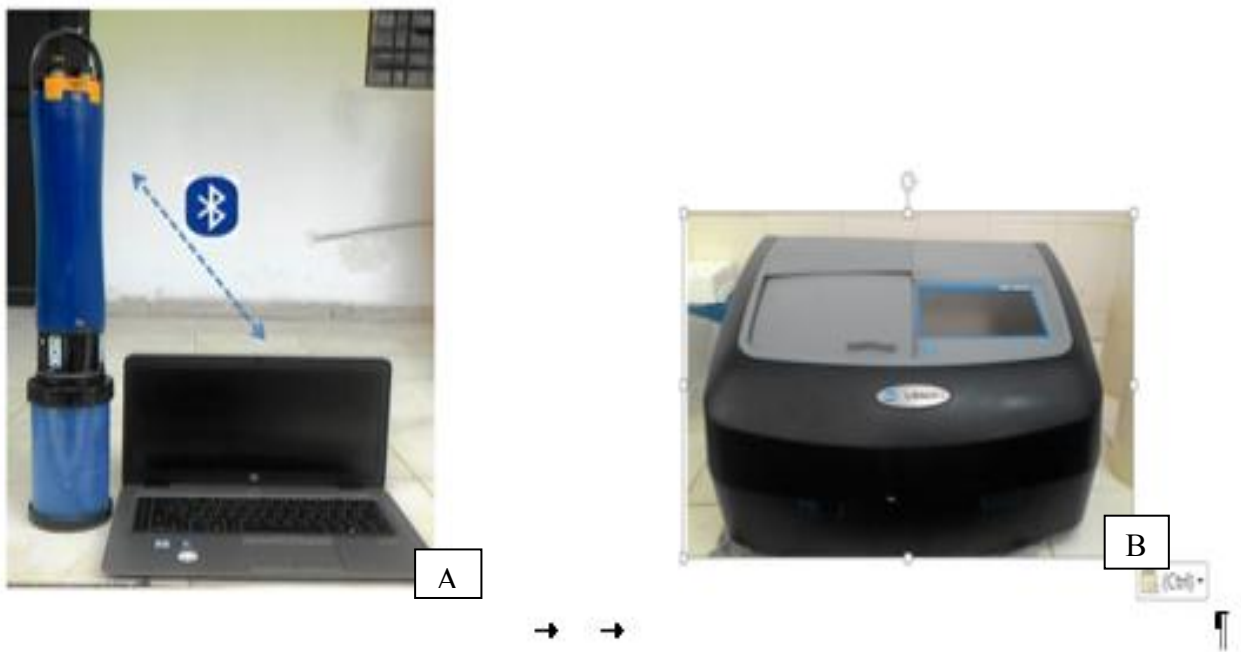


Figure 10 : Matériel de mesure des paramètres physico-chimiques sur le terrain et dosage des nutriments

A : Sonde Multi paramètre de marque YSI® exo 2 avec ordinateur

B : Spectrophotomètre HACH LANGE DR 600 (Photo : **Yao D. R**)

I-5- Matériel de prélèvement des échantillons d'eaux

Les échantillons d'eau qui ont servi à l'isolement et à l'identification microscopique ont été prélevés à l'aide d'un filet à plancton de 20 µm de vide de maille équipé à son extrémité d'un collecteur. Ce collecteur a permis de récupérer 100 mL d'eau obtenue après un trait de filet à chaque station afin de concentrer la population des Cyanobactéries (**Figure 11 A**).

Pour la conservation des échantillons destinés à la microscopie des Cyanobactéries, des tubes de collecte de type Falcon® de 50 mL de capacité ont été utilisés.

Un préleveur intégré (**Figure 11 B**) a permis de prélever les échantillons d'eau de la surface jusqu'à un mètre de profondeur. Ces échantillons ont servi au dosage des nutriments, de la chlorophylle *a* et la recherche des gènes de synthèse de métabolites secondaires.

Les différents échantillons d'eau prélevés ont été recueillis dans des flacons en verre stériles de 1 litre de capacité. Une glacière contenant des accumulateurs de froid a servi à la conservation des échantillons prélevés pendant le transport.

I-6- Matériel d'analyse

I-6-1- Matériel de filtration

Un dispositif de filtration comportant une rampe de filtration de marque SARTORIUS® et une pompe à vide de marque TELSTAR® ainsi que différents filtres ont servi à la filtration des échantillons d'eau.

Des filtres millipores de 0,45 µm de porosité et 47 mm de diamètre et des filtres en fibre de verre de type Whatman® GF/C 1,2 µm de porosité et de 47 mm de diamètre ont été utilisés.

Un congélateur de marque NASCO® a été utilisé pour la conservation des filtres à -20°C au Centre de Ressources Biologiques de l'IPCI jusqu'à la réalisation des analyses.

I-6-2- Matériel d'identification des Cyanobactéries

Pour l'identification des Cyanobactéries, le matériel utilisé est composé :

- D'un microscope de type OLYMPUS® BX40 muni d'une chambre claire pour l'observation des genres de Cyanobactéries ;
- Des lames porte-objet et des lamelles couvre-objet pour les montages au microscope ;
- D'un appareil photo numérique utilisé pour les photographies des genres observés.

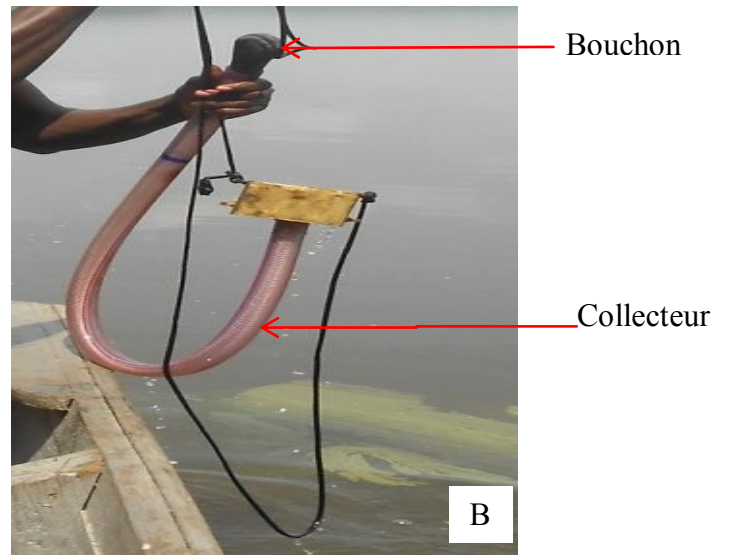


Figure 11 : Matériel nécessaire pour le prélèvement d'eau de la lagune

A) Préleveur avec un filet à plancton

B) Préleveur intégré (Photo : **Yao. D. R**)

I-6-3- Matériel de dosage de la chlorophylle (a)

- Un spectrophotomètre de type HACH® LANGE DR 600 a été utilisé pour le dosage des nutriments et de la chlorophylle (a).
- Une cuve pour spectrophotomètre de 1 cm de trajet optique a servi pour recueillir le surnageant obtenu après extraction de la chlorophylle (a).

I-6-4- Matériel d'isolement et culture des Cyanobactéries

I-6-4-1- Matériel de préparation de milieu

Une balance de précision de marque Denver® Instrument série SI-602 a permis de faire les pesées de produits chimiques déshydratés destinés à la préparation des milieux pour les Cyanobactéries. Un agitateur magnétique de marque Velp scientifica® a permis d'homogénéiser les produits chimiques et un pH-mètre de marque HANNA® a servi pour mesurer le pH du milieu obtenu avant l'autoclavage. Un autoclave de marque Systec a permis la stérilisation des milieux préparés.

Des flacons stériles en verre de 1 litre de capacité ont été utilisés pour le conditionnement des milieux de culture après leur préparation. Un réfrigérateur de marque Hisense® a servi pour la conservation des milieux de culture reconstitués.

I-6-4-2- Matériel d'isolement

Une loupe binoculaire ZEISS Stemi 305® a servi lors de l'isolement direct des cyanobactéries. Une micropipette P1000 de marque Eppendorf® a été utilisée pour réaliser les différentes dilutions lors des ensemencements. Des plaques de 8 et 96 puits ainsi que des erlenmeyers de 15 mL ont été utilisés pour la mise en culture des Cyanobactéries.

I-6-5- Constituants du milieu de culture des Cyanobactéries

Le milieu liquide utilisé est le milieu BG11 modifié, constitué à partir de produits chimiques déshydratés de marque Merck, Millipore Corporation® :

- Le nitrate de sodium (NaNO_3), $M = 84,99 \text{ g/mol}$;
- Le monohydrogénophosphate de phosphate (K_2HPO_4), $M = 136,09 \text{ g/mol}$;
- Le sulfate de magnésium heptahydraté ($\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$), $M = 246,48 \text{ g/mol}$;
- Le Chlorure de calcium dihydraté ($\text{CaCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$), $M = 147,02 \text{ g/mol}$;
- L'acide citrique monohydraté ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{FeNO}_7$), $M = 210,10 \text{ g/mol}$;
- L'EDTA disodique ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_8\text{N}_2\text{Na}_2, 2\text{H}_2\text{O}$), $M = 426,76 \text{ g/mol}$;
- Le carbonate de sodium (Na_2CO_3), $M = 105,99 \text{ g/mol}$ et
- Le citrate de fer ammoniacal ($\text{C}_6\text{H}_{11}\text{FeNO}_7$), $M = 265 \text{ g/mol}$ et la solution métallique.

La solution métallique est composée de constituants chimique de marque Merck, Millipore Corporation® :

- L'acide borique (H_3BO_3), $M = 61,83$ g/mol ;
- Le chlorure de manganèse II ($MnCl_2, 4H_2O$), $M = 197,90$ g/mol ;
- Le sulfate de zinc heptahydraté ($ZnSO_4, 7H_2O$), $M = 287,54$ g/mol ;
- Le molybdate de sodium dihydrate ($Na_2MoO_4, 2H_2O$), $M = 241,95$ g/mol ;
- Le sulfate de cuivre pentahydraté ($CuSO_4, 5H_2O$), $M = 249,68$ g/mol et
- Le nitrate de cobalt (II) hexahydraté $CO(NO_3)_2, 6H_2O$, $M = 291,04$ g/mol.

Pour la constitution des milieux solides, le Past Agar B (Bio-Rad®) et l'Agarose (Promega Corporation®) ont été utilisés.

I-6-6- Matériel d'analyses moléculaires

I-6-6-1- Matériel d'extraction et amplification

Pour les extractions d'ADN des échantillons, une hotte a été utilisée et a permis de protéger aussi bien le manipulateur et l'échantillon de toute contamination

Une machine FastPrep®-MP Biomedical® (**Figure 12 A**) a servi à casser les cellules de Cyanobactéries pendant ces extractions.

Un homogénéisateur de marque VORTEX-GENIX® a été utilisé pour l'homogénéisation des différents réactifs.

Une centrifugeuse réfrigérée (Centrifuge 5424R, Eppendorf®) a été utilisé pour la séparation des différentes phases.

Des micropipettes P1000, P200, P20, P10, P2 de marque Eppendorf® ont servi à distribuer les différentes gammes de volume des réactifs et échantillons.

La qualité et la quantité de l'ADN ont été mesurées par spectrophotométrie avec un NanoDrop DS-11+ (Thermo Fisher Scientific Inc®, MA, USA) (**Figure 12 B**), tandis qu'un thermocycleur de marque Eppendorf® a servi pour les réactions d'amplification des gènes et une cuve à électrophorèse (Advance®) a été utilisée pour la séparation des fragments amplifiés.

Pour la révélation des amplifications, la préparation du gel d'agarose a nécessité une balance de précision (Mettler Toledo®) et un four à micro-onde de marque SEVERIN®.

La visualisation des fragments d'ADN amplifiés a été faite par le système Gel Doc E2 Imager « BIO-RAD Laboratories® » (USA) (**Figure 11 C**).



Figure 12 : Instruments nécessaire à l'extraction de l'ADN et à la visualisation des amplicons

- A) FastPrep® ;
- B) Nano Drop DS-11+ ;
- C) Système Gel Doc E2 Imager (Photo : **Yao. D. R**)

I-6-6- 2- Amorces et souches utilisées

Dans cette étude, l'ADN de deux souches de Cyanobactéries de la Collection des Cyanobactéries de l'Institut Pasteur de Paris ont été utilisées comme témoins des expérimentations.

- L'ADN de la souche *Microcystis sp* PCC 7806 a servi de témoin positif pour six gènes à savoir l'ARNr 16S, *mcyA*, *mcyD*, *aerD*, *mcnC*, et *mdnB*.

- L'ADN de la souche *Planktothrix rubescens* PCC 7821 a été utilisé comme témoin positif pour trois gènes notamment l'ARNr 16S, *mcyA* et *mcnC* car les amorces ciblant ces gènes sont généralistes.

Deux témoins négatifs ont été utilisés, à savoir, l'eau pour toutes les expérimentations et l'ADN de la souche PCC 7821 a été utilisé comme témoin négatif pour trois couples d'amorces visant spécifiquement les gènes *mdnB*, *mcyD* et *aerD* de *Microcystis*.

Les séquences des six amorces utilisées pour les analyses moléculaires sont consignées dans le **tableau II**

Tableau II : Séquences des amorces utilisées

Cluster	Amorces	Séquences 5'- 3'	Tailles attendues	References
<i>mcnC</i>	mcnCF mcnCR	GATTTTACCGAGAACTAAGGATACAGA ACGGGTTAATAACTGACTGACTAAAACCTCG	960 pb	Ziemert <i>et al.</i>, 2010
<i>mcyD</i>	mcyDF mcyDR	GATCCGATTGAATTAGAAAG GTATTCCCAAGATTGCC	281 pb	Panrace <i>et al.</i>, 2013
<i>AerD</i>	AeRrv4 Reduct-rv	TAGGTCAATTTACCAGCCATC ATGCTGACGAGGATAAACC	602 pb	Tooming-Klunderud <i>et al.</i>, 2007
<i>mdnB</i>	mdnB fw mdnB rv	TTGGCTGGTTTTTGGGATAG CGATCGCATTGGAAATAGGT	298 pb	Kuniyoshi <i>et al.</i>, 2013
<i>mcyA</i>	mcyA-cd 1F mcyA-cd 1R	AAAAGTGTTTTATTAGCGGCTCAT AAAATTAAGCCGTATCAAA	291 pb	Hisbergues <i>et al.</i>, 2003
<i>ARN16S</i>	27F 1464R	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG TACGGCTACCTTGTTACGAC	1500 pb	Neilan <i>et al.</i>, 1999

I-6-7- Autres réactifs

Le formol à 5% a été utilisé pour la conservation des échantillons d'eau destinés à l'observation microscopique.

L'extraction du matériel génétique a été réalisée avec le kit Power Soil® (MO BIO, Carlsbad, CA, USA).

L'amplification a été possible grâce au kit de Taq polymérase LA Takara (Takara Bio Inc®, Otsu, Japon).

Le Bromure d'Ethidium (BET) a permis de visualiser les brins d'ADN amplifiés

La poudre d'agarose (Introgen®) a été utilisée pour la préparation de gel d'électrophorèse.

L'estimation de la taille des fragments a été faite grâce à la comparaison avec l'échelle de marqueur de poids moléculaire GeneRuler DNA Ladder 10 kb (Fermentas®, Allemagne) utilisée simultanément dans un puits adjacent lors de l'électrophorèse.

Le Tris Borate EDTA (TBE) a été utilisé comme tampon pour la préparation du gel d'agarose et de migration.

Le système de filtration a été nettoyé avec de l'éthanol à 70°C entre deux échantillons différents.

L'acétone à 90% a été utilisé pour l'extraction de la chlorophylle (*a*).

L'acide chlorhydrique a été utilisé pour neutraliser la chlorophylle (*a*) sans détruire les autres pigments lors du dosage de celle-ci.

Le milieu de culture Past agar B (Bio-Rad®) et la poudre d'agarose (Promega Corporation®) ont été utilisés pour la préparation des milieux solides des Cyanobactéries.

Les kits (LCK) Lange ont été utilisés pour le dosage des nutriments. Le kit LCK 341 pour le nitrite, LCK 339 pour le nitrate et le kit LCK 349 pour le phosphore et les orthophosphates.

II- Méthodes

II-1- Choix et description des stations d'échantillonnage

Le choix des six stations (**Figure 13**) de prélèvements s'est fait en se basant sur des études antérieures d'**Humbert (2012)**, de **Coulibaly *et al.* (2014)** et d'**Amon *et al.* (2017)**. A cet effet ces différents auteurs ont échantillonné sur 11 stations, à la suite des différentes études, il a été constaté que certains sites proches avaient les mêmes caractéristiques. Les six stations prospectées ont des caractéristiques différentes, quatre d'entre elles étant le long d'un transect situé sur la plus grande diagonale de la lagune, et les deux autres à proximité de deux villages.

Les différentes coordonnées GPS des points de prélèvements et les différentes descriptions des stations d'échantillonnage sont indiquées dans le **tableau III**.

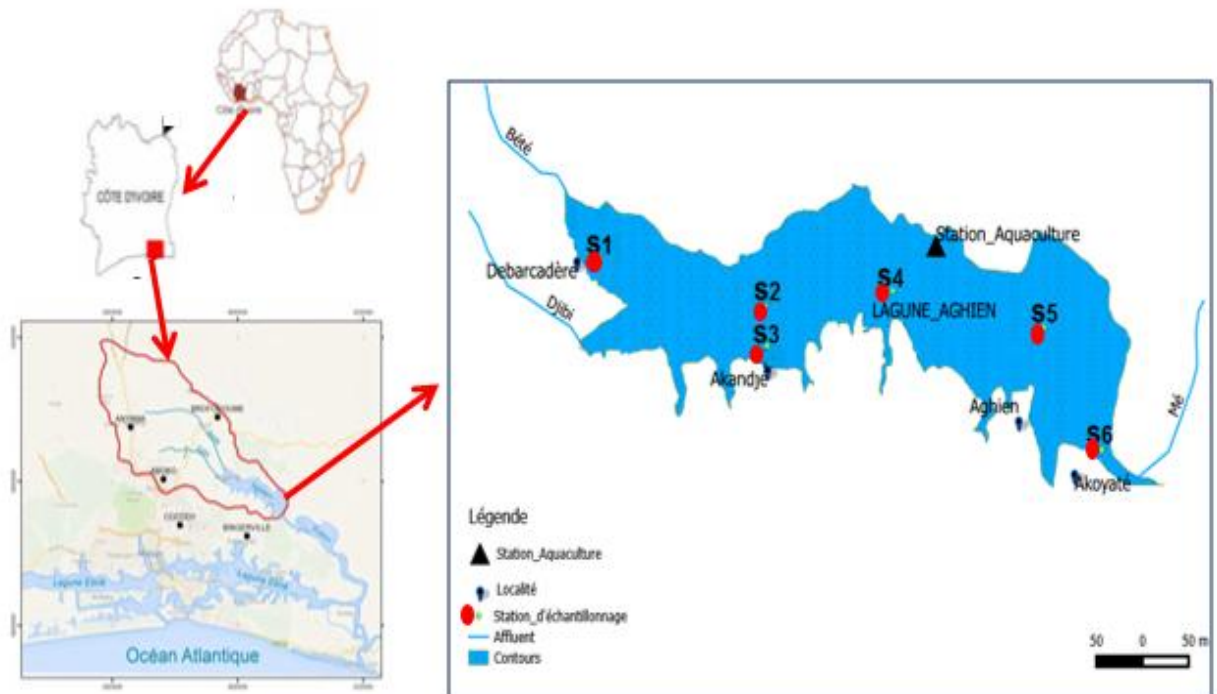


Figure 13 : Stations d'échantillonnage de la lagune Aghien [Humbert, 2012 (modifié)]

Tableau III : Coordonnées GPS et description des stations d'échantillonnage de la lagune Aghien

Stations	Coordonnées GPS	Description
S1	N05°24.909' W003°53.741'	Au village Débarcadère près d'un point de ménage (lessive et vaisselle) et de rejet de vanne
S2	N05°26.699' W003°54.231'	En pleine eau en face du village Akandjé
S3	N05°25.362' W003°53.746'	A Akandjé près d'un point de lavage
S4	N05°25.207' W003°53.732'	En pleine eau loin des activités anthropiques
S5	N05°24.954' W003°52.570'	Présence de végétaux aquatiques
S6	N05°23.204' W003°50.486'	Au chenal à proximité des macrophytes

II-2- Schéma des méthodologies

Pour chacun des prélèvements, une succession d'analyses a été réalisée en fonction des caractéristiques de l'échantillon récolté (**Figure 14**).

II-3- Mesures des paramètres physico-chimiques de l'eau sur le terrain

Les paramètres tels que la température, la turbidité, la conductivité et le pH ont été mesurés *in situ* à l'aide de la sonde multi paramètre YSI®EXO 2.

Chaque sortie sur le terrain est précédée par la calibration du capteur pH au laboratoire dans des solutions étalons à valeurs de pH= 4 ; 7 ; et 10.

- Avant la montée sur le bateau

Un lien est créé entre la sonde et l'ordinateur par connexion Bluetooth, puis la valeur de la pression atmosphérique du jour, lue sur Internet, est entrée dans le logiciel de la sonde pour calibrer la profondeur et la saturation pour l'oxygène.

- Mesures sur le bateau avec la sonde

A chaque station d'échantillonnage, les paramètres physico-chimiques ont été mesurés de zéro à 1 mètre de profondeur à l'aide de la sonde multi paramètre YSI® EXO 2. Avant toute mesure, un processus d'enregistrement des paramètres par la sonde a été lancé au niveau de l'ordinateur. La sonde est ensuite plongée dans l'eau, puis les valeurs des différents paramètres sélectionnés sont recueillies par celle-ci. Après quelques minutes d'enregistrement, la sonde est remontée et l'enregistrement arrêté. Enfin, les données recueillies par la sonde sont exportées sur le disque dur de l'ordinateur. Arrivé au laboratoire, les données recueillies exportés ont été traitées.

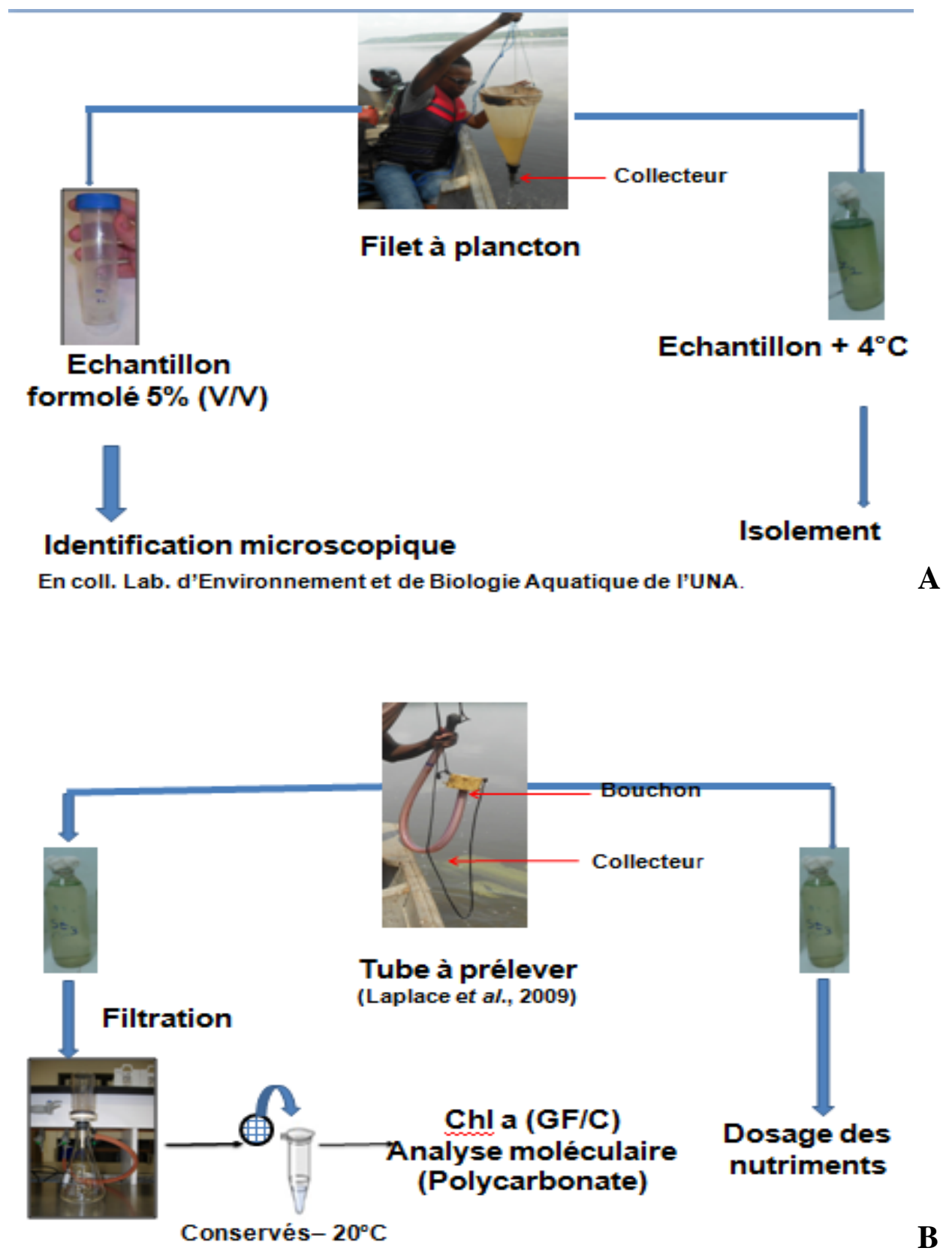


Figure 14 : Schéma des méthodologies utilisées

- A) Différentes analyses effectuées après le prélèvement à l'aide du filet
- B) Différentes analyses effectuées après le prélèvement à l'aide du filet

II-4- Prélèvement des échantillons

Des prélèvements mensuels ont été effectués de juin 2016 à mars 2018 sur la lagune Aghien. A cet effet, deux types de prélèvements ont été adoptés :

- Les échantillons d'eau destinés à l'observation microscopique et la mise en culture ont été prélevés à l'aide de filet à plancton de 20 μm de porosité. Cette méthode a permis de filtrer 5 litres d'eau de surface à l'aide du filet, puis à récupérer dans le collecteur, 100 mL contenant les cyanobactéries. Le contenu du collecteur est ensuite transvasé dans un flacon d'un litre de capacité et un sous échantillon dans un tube de collecte de type Falcon de 50 mL de capacité. Ce processus a été effectué plusieurs fois à chaque station jusqu'au remplissage du flacon et du tube de collecte. Le sous échantillon a été fixé au formol à 5% (V/V) pour l'identification microscopique.

- Les échantillons d'eau utilisés pour le dosage de la chlorophylle (*a*), les analyses moléculaires et pour la recherche des nutriments ont été prélevés à l'aide d'un préleveur intégré selon la technique employée par **Laplace-Treytore *et al.* (2009)**. Ce préleveur a permis de récolter les échantillons d'eau de la surface jusqu'à un mètre de profondeur. Le contenu du préleveur est transvasé dans des flacons en verre stériles d'un litre de capacité.

Pour le transport du terrain jusqu'au laboratoire, les échantillons d'eau prélevés pour la mise en culture ainsi que pour les différents dosages ont été conservés dans une glacière contenant des accumulateurs de froid afin d'éviter tout risque de dégradation des échantillons pendant le transport au laboratoire.

II-5- Filtration des échantillons

Au laboratoire, la filtration a été réalisée à l'aide d'un système de filtration sous vide. Ainsi, 200 mL d'eau prélevée sur le terrain ont été filtrés sur une membrane en fibre de verre de 1,2 μm de porosité et 47 mm de diamètre. Ces filtres ont servi pour le dosage de la chlorophylle (*a*). De plus, 200 mL d'eau prélevée ont été filtrés sur une membrane en polycarbonate de 0,45 μm de porosité et 47 mm de diamètre. et ceux-ci ont servi pour les analyses moléculaires. Pendant les mois d'août à novembre de l'année 2017, la présence de bloom (biomasse algale importante) n'a permis que de filtrer 50 mL d'eau afin de ne pas colmater les filtres.

Après filtration, les filtres obtenus ont été repliés en quatre puis placés dans des tubes de collecte de type Eppendorf® de 2 mL de capacité, puis conservés au congélateur à -20°C au Centre de Ressources Biologiques de l'IPCI jusqu'à la réalisation des différentes analyses.

II-6- Dosage des éléments nutritifs

Les paramètres des éléments nutritifs tels que les nitrites, les nitrates, le phosphore, et le phosphates ont été mesurés dans les laboratoires de l'IRD sise à l'Université Nangui Abrogoua à Abobo durant les 22 mois de la période d'échantillonnage à l'aide d'un spectrophotomètre de type HACH® LANGE DR 600. Les différentes mesures ont été faites suivant la procédure du fabricant (kit LCK Hach Lange). Le phosphore (PO_3P) et des orthophosphates (PO_4^{3-}P) ont été déterminés par la méthode vanadate-molybdate (ISO 6878-1-1986, DIN 38405 D11-4), les nitrates (NO_3N) et les nitrites (NO_2N) ont été respectivement déterminées à l'aide des méthodes 2,6-diméthylphénol et de diazotation (ISO 7890-1-2-1986, DIN 38405 D9-2 ; EN ISO 26777, DIN 38405 D10) (**Tableau IV**).

II-6-1- Phosphore et orthophosphates

II-6-1-1- Principe

La détermination du phosphore total s'effectue en deux étapes :

- La première étape a consisté à digérer et à oxyder toutes les formes de phosphore avec du persulfate de potassium en milieu acide sous pression à 121°C.
- Dans la seconde étape, l'ion orthophosphate réagit avec l'ion molybdate et l'ion antimoine pour former un complexe phosphomolybdate. Ce dernier est réduit avec l'acide ascorbique en milieu acide pour provoquer l'apparition du bleu de molybdène, dont l'absorbance à 880 nm est proportionnelle à la concentration de l'ion orthophosphate présent dans l'échantillon.

II-6-1-2- Mode opératoire

- Dosage du phosphate

Une quantité de 2 mL d'échantillon brut a été prélevé, puis mis dans le test en cuve spécifique au phosphore. Le mélange a été homogénéisé, suivi d'une digestion de 15 min dans un minéralisateur de marque HT 200 S. Une fois refroidie, la cuve a été homogénéisée, puis 0,2 mL de réactif B (LCK 349 B) y ont été ajoutés. Le contenu a été homogénéisé pour une dissolution totale. La mesure a été faite au spectrophotomètre à 880 nm après 10 minutes.

- Dosage des orthophosphates (PO_4^{3-}P)

2 mL d'échantillon d'eau prélevé ont été filtrés sur des membranes de type millipores de porosité 0,47 μm , le filtrat a été mis dans le test en cuve puis 0,2 mL de réactif B (LCK 349 B) ont été ajoutés, puis homogénéisés pour obtenir une dissolution totale du mélange. La mesure a été faite au spectrophotomètre à 880 nm après 10 min.

II-6-2- Nitrates et nitrites

II-6-2-1- Principe

- Nitrates

En présence d'acide 2,4-phénoldisulfonique, les ions NO_3^- réagissent avec apparition d'une coloration jaune. La concentration des ions NO_3^- de cette solution peut alors être déterminée par la mesure de son absorbance à 345 nm.

- Nitrites

Les nitrites réagissent en solution acide avec les amines primaires et aromatiques pour donner des sels diazonium. Ceux-ci forment avec des composés aromatiques, contenant un amino-groupe ou un hydroxyle, un colorant azoïque de couleur intense permettra de déterminer le nitrite à 515 nm.

II-6-2-2- Mode opératoire

- Dosage des nitrates

Tout comme les orthophosphates, l'échantillon utilisé pour le dosage du nitrate a été filtré, mais cette fois-ci, une quantité de 1 mL d'échantillon a été prélevé. Le filtrat ainsi obtenu a été mis dans le test en cuve, puis 0,2 mL de réactif A (LCK 339) a été ajouté. La cuve a été ensuite bien refermée et homogénéisé jusqu'à ce que le mélange soit complet. La lecture a été faite au spectrophotomètre à 345 nm après 15 min.

- Dosage des nitrites

2 mL d'échantillon brut ont été mis dans le test en cuve puis homogénéisé jusqu'à ce que le lyophilisat se soit complètement dissous. La mesure est faite après 10 minutes au spectrophotomètre à 515 nm.

Tableau IV : Guide de référence de kits (LCK) de dosage des sels nutritifs (**Blottière et al., 2016**)

Code du kit	Paramètres	Plages de mesure	Longueurs d'onde de mesure	Noms de la méthode	Références de la méthode
LCK 341	Nitrites	0,015 - 0,6 mg/L NO ₂ -N	515 nm	Diazotation	EN ISO 26777, DIN 38405 D10
LCK 339	Nitrates	0,23 - 13,5 mg/L NO ₃ -N	345 nm	2,6-diméthylphénol	ISO 7890-1-2- 1986, DIN 38405 D9-2
LCK 349	Phosphates, orthophosphates	0,05 - 1,5 mg/L PO ₄ - P	880 nm	Bleu de phosphormolybdène (vanadate-molybdate)	ISO 6878-1- 1986, DIN 38405 D11-4

II-7- Observation et identification des Cyanobactéries en présence

Les échantillons conservés dans des tubes de collectes de 50 mL étiquetés, sont observés à l'aide d'un microscope photonique muni d'un appareil photographique.

Le mode opératoire a consisté à déposer une goutte d'eau prise au fond du tube cône et montée entre lame porte-objet et lamelle couvre-objet. L'observation débute à l'objectif 10 x ou 20x du microscope pour une vue d'ensemble, puis aux objectifs 40 x et 60 x, pour observer les détails des cyanobactéries (taille des cellules, longueurs des filaments). Cette méthode a été effectuée trois fois pour un échantillon. Des photographies ont été réalisées à partir du microscope.

L'identification a été faite selon les clés morphologiques des Cyanobactéries décrites par **John et al (2003)** et **Komárek et Anagnostidis (2005)**.

II-8- Fréquence des Cyanobactéries

La fréquence d'occurrence (F), ou indice d'occurrence (**Dajoz, 2000**), est le rapport du nombre de prélèvements dans lesquels une espèce est recensée à une station donnée et le nombre total des prélèvements effectués au niveau de la même station. Ce nombre est exprimé en pourcentage du nombre total de relevés et donne des informations sur les espèces fréquemment rencontrées dans un hydrosystème sans aucune indication sur l'importance quantitative des espèces rencontrées (**Lauzanne, 1976**). La fréquence (F) d'une espèce i exprimée en pourcentage dans la station (A) est donnée par la formule ci-dessous :

$$F = \frac{F_i}{F_t} \times 100$$

F_i : Nombre de prélèvements où l'espèce i est présente à la station A ;

F_t : Nombre total des prélèvements réalisés au niveau de la station A.

Sur la base de la fréquence, les espèces peuvent être regroupées en trois classes :

- Espèces constantes ($F \geq 50 \%$);
- Espèces accessoires ($25 \% \leq F < 50 \%$);
- Espèces accidentelles ($F < 25 \%$).

II-9- Dosage de la chlorophylle (a)

La chlorophylle (a) a été dosée par la méthode de spectrophotométrie monochromatique de **Lorenzen (1967)**. En effet, les filtres congelés ont été immergés dans 10 mL d'une solution d'acétone à 90%, puis homogénéisés pendant une minute. Les tubes ont été placés à + 4°C à l'obscurité pour une durée de 24 heures.

Le lendemain, les différents extraits ont été centrifugés à 2000 tours / min pendant 15 min, puis le surnageant obtenu a été transféré dans une cuve pour spectromètre de 1 cm de trajet optique et analysé par la méthode de spectrophotométrie décrite par **Lorenzen (1967)**. L'absorbance a été alors mesurée à différentes longueurs d'onde [665 nm (chl *a*) et 750 nm (particules)], dans un premier temps sans acidification, puis dans un second temps après acidification (**Aminot et Chaussepied, 1983**). L'acidification permet de détruire la chlorophylle (*a*) sans détruire les autres phéopigments. La quantité de chlorophylle (*a*) est calculée selon la formule suivante (**Lorenzen, 1967**).

$$[\text{Chl-}a] (\mu\text{g.L-1}) = 26,7 (E1 - E2) \times V / (l \times V_s)$$

E_1 = Absorbance avant acidification (DO_{665} - DO_{750});

E_2 =Absorbance après acidification (DO_{665} - DO_{750});

V = Volume de l'acétone à 90% prélevé pour la dissolution des pigments en mL ;

V_s = Volume de l'échantillon filtré en litre ;

l = Trajet optique en cm.

II-10- Isolement et culture de Cyanobactéries

II-10-1- Constituants du milieu de culture des Cyanobactéries

Le milieu de culture utilisé pour l'isolement et la culture des Cyanobactéries est le milieu BG11 selon la méthode de **Coulibaly *et al.*, 2014**. La composition de ce milieu est indiquée dans le **tableau V et VI**.

Tableau V : Composition du milieu de culture BG11

Produit	Quantité (mg)	Concentration finale (mol/L)
1- NaNO ₃	1500	0,0176
2- K ₂ HPO ₄	31	2,278.10 ⁻⁴
3- MgSO ₄ , 7H ₂ O	75	3,042.10 ⁻⁴
4- CaCl ₂ , 2H ₂ O	36	2,448.10 ⁻⁴
5- C ₆ H ₁₀ FeNO ₇	7	3,33.10 ⁻⁵
6- C ₁₀ H ₁₄ O ₈ N ₂ Na ₂ , 2H ₂ O)	1	2,343.10 ⁻⁶
7- Na ₂ CO ₃	20	1,886.10 ⁻⁴
8- C ₆ H ₁₁ FeNO ₇	6	2,264.10 ⁻⁴
9- Solution métallique	1 mL	6,75.10 ⁻³

Tableau VI : Composition de solution métallique pour 250 mL d'eau stérile

Produit	Quantité (mg)	Concentration finale (mol/L)
1- H₃BO₃	715	0,0115
2- MnCl₂, 4H₂O	452	0,002
3- ZnSO₄, 7H₂O	56	$1,947.10^{-4}$
4- Na₂MoO₄, 2H₂O	97	4.10^{-4}
5- CuSO₄, 5H₂O	20	$8,01.10^{-4}$
6- CO(NO₃)₂, 6H₂O	12,5	$4,294.10^{-5}$

II-10-2- Préparation du milieu liquide

Les produits ont été dissous dans l'ordre de la liste de composition du milieu BG11 dans un volume d'eau distillée stérile, puis ce volume a été ajusté à 1L avec de l'eau distillée stérile. La solution obtenue a été homogénéisée avec un barreau aimanté pendant 5 min à l'aide d'un agitateur magnétique. Après l'homogénéisation, le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre. Le pH doit être compris entre 7 et 7,4. Dans le cas contraire l'hydroxyde de sodium (NaOH) a été ajouté au milieu BG11 modifié jusqu'à l'obtention du pH souhaité. Ce milieu a été ensuite stérilisé à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Après refroidissement, le milieu BG11 liquide modifié a été conservé au réfrigérateur à + 4°C pendant plus de six mois.

II-10-3- Préparation du milieu solide

Les produits ont été dissous dans l'ordre de la liste de composition du milieu BG11, cette fois-ci, dans 0,5 L d'eau distillée stérile. Ensuite, 14 g de milieu Past agar B ou 16 g d'agarose ont été dissous dans 0,5 L d'eau distillée stérile, puis cette solution a été portée à ébullition pendant 10 min. Le milieu BG11 et la solution Past agar B ou d'agarose obtenus ont été stérilisés à l'autoclave. Après refroidissement vers 55°C, le milieu et la solution ont été mélangés, et coulés dans des boîtes de Pétri au voisinage immédiat de la flamme d'un bec Bunsen, afin de conserver un environnement stérile. Une fois la gélose refroidie, les boîtes ont été entreposées au réfrigérateur à + 4°C pour une courte période afin d'éviter toute contamination.

II-10-4- Isolement par ensemencement

Au laboratoire, les dilutions ont été réalisées en mélangeant initialement 500 µL de l'échantillon d'eau de lagune avec 1000 µL du milieu liquide BG11, puis des dilutions successives ont été faites jusqu'à obtention d'une dilution qui permettra de voir moins de Cyanobactéries en présence dans le mélange. Enfin, 100 µL de ces dilutions ont été étalés par stries sur une boîte de Pétri contenant du milieu gélosé (**Figure 15 A**).

II-10-5-- Isolement direct sous loupe binoculaire

L'isolement direct de Cyanobactéries a commencé par une micro-dilution de l'eau de la lagune. Cette micro-dilution a consisté à prélever 5 µL de l'échantillon que l'on dépose sur une lame porte-objet. Sur cette même lame, il a été mis côte à côte deux gouttes de milieu BG11 liquide modifié (3µL chacune). Puis, 2 µL de la première goutte ont été transférés dans la deuxième et mélangés délicatement. Enfin, 2 µL de la seconde goutte ont été transférés dans la dernière goutte et mélangés. Cette procédure a permis de réaliser une mini-dilution en série.

Ces micro-dilutions ont été observées à la loupe binoculaire, la moins concentrée a été repérée et chaque Cyanobactérie a été prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur étirée finement.

Chaque Cyanobactérie a été transférée dans un puits. Ce processus a été répété jusqu'au remplissage de la plaque de 96 puits contenant chacun 10 µL du milieu liquide BG11 (**Figure 15 B**). Cette plaque a été observée à la loupe afin de vérifier la présence d'une seule Cyanobactérie dans les différents puits.

II-10-6- Incubation

Les boîtes de Pétri et les plaques de 96 puits ont été scellées avec du Parafilm et placées dans une salle de culture à $25 \pm 1^\circ \text{C}$ où elles ont été soumises à une intensité lumineuse (lumière blanche de qualité MAZDA FLUOR M2TF 36W/LJ de 1,2 m de long, de 32 Watt) produisant une lumière type lumière du jour. Les boîtes et les plaques ont été observées chaque jour à la loupe binoculaire afin de suivre la croissance des Cyanobactéries.

II-10-7- Repiquages successifs

Après plusieurs semaines de croissance, les colonies de Cyanobactéries sur les boîtes de Pétri ont été prélevées une à une sous la loupe binoculaire. La gélose contenant la colonie a été découpée à l'aide d'une lame de bistouri stérilisée à la flamme du bec Bunsen, puis repiquée en stries sur une nouvelle boîte de Pétri.

De même, quand le développement des Cyanobactéries a été observé dans les puits, elles ont été prélevées une à une sous la loupe binoculaire à l'aide d'une pipette Pasteur étirée finement, ensuite repiquées sur une boîte de Pétri contenant le milieu BG11 gélosé.

Les repiquages ont été réitérés une dizaine de fois afin d'obtenir de colonies pures de Cyanobactéries. Les Cyanobactéries ainsi obtenues ont été transférées dans les erlenmeyers avec des bouchons contenant un volume de 10 mL du milieu BG11 liquide, et incubés dans les mêmes conditions que précédemment (**Figure 15 C**).



Figure 15 : Isolement et culture des Cyanobactéries

A) Cyaobactéries mises sur le milieu gélosé BG11

B) Cyaobactéries contenues dans les plaques de 96 puits contenant chacun 10 μ L

C) Cyaobactéries monoclonales mises en culture dans 10 mL du milieu BG11

(Photo : **Yao D. R**)

II-11- Analyses moléculaires

II-11-1- Randomisation des échantillons avant extraction

Les filtres obtenus après filtration des échantillons d'eaux prélevés ont été numérotés en fonction des mois de prélèvement. Dans l'optique de ne pas favoriser ou pénaliser par des sources de variation externes qui ne dépendent pas de l'action, délibérée ou non, de l'expérimentateur, nous avons par tirage au sort sans remise choisi les numéros des échantillons qui seront extraits ensemble. Ainsi nous éviterons les biais induits par la période de prélèvement ou par le moment de l'extraction.

II-11-2- Extraction de l'ADN

Le processus d'extraction combine des méthodes physiques, chimiques et enzymatiques afin de lyser les parois des Cyanobactéries et de libérer le contenu cellulaire dans le but d'obtenir de l'ADN pur.

La méthode adoptée a été l'extraction à l'aide du kit Power Soil DNA (MO BIO Carlsbad®, CA, USA) suivant la procédure du fabricant. Après la filtration des échantillons, les filtres préalablement identifiés et conservés ont été sortis du congélateur. Ils ont été ensuite placés dans des tubes à vis de 2 mL contenant des billes de verre de 0,1 mm et un premier tampon de lyse, puis 60 µL d'un second tampon de lyse ont été ajoutés. Ces tubes ont ensuite été placés dans un FastPrep® qui, par agitation mécanique, va améliorer la lyse des parois cellulaires des cyanobactéries (une triple agitation pendant 40 s à une vitesse de 6,5 m/s) en prenant le soin de refroidir l'échantillon sur glace pendant une minute entre chaque cycle d'agitation. Après cette étape de lyse cellulaire, les tubes ont été centrifugés à 10000 g pendant 30 s à la température ambiante.

Au surnageant recueilli dans un tube de collecte de 2 mL ont été ajoutés 250 µL du réactif de précipitation des matières organiques et inorganiques non ADN et le tout est incubé à 4°C pendant 5 min. Après incubation, le mélange a été centrifugé à 10000 g pendant 1 min, puis le surnageant (600 µL) a été à nouveau transvasé dans un autre tube de collecte de 2 mL. Il a été ensuite ajouté 200 µL du second réactif de précipitation des matières organiques et inorganiques non ADN. Ces tubes ont été incubés à +4°C pendant 5 min, puis centrifugés à nouveau à 10000 g pendant 1 min. La phase supérieure a été recueillie dans un autre tube de collecte de 2 mL à laquelle est ajouté 1,2 mL d'une solution saline à concentration élevée.

Six cent soixante quinze µL de la solution obtenue ont été transférés sur la membrane filtrante en silice posée dans un nouveau tube de collecte de 2 mL. Tube et filtre ont été centrifugés à 10000 g pendant 1 min. Cette opération a été répétée 3 fois pour chaque échantillon en prenant chaque fois le soin de vider le tube collecteur. Cinq cents µL d'une solution de lavage à base

d'éthanol ont servi à débarrasser l'ADN contenu dans le filtre des débris et impuretés après deux centrifugations. La première centrifugation a été réalisée à 10000 g pendant 30 s et la seconde à 10000 g pendant 1 min afin d'éliminer les résidus de la solution de lavage.

Enfin, 100 μL de solution d'un tampon d'éluion stérile ont été ajoutés au centre de la membrane filtrante. Ce filtre a été transféré dans un nouveau tube de collecte de 2 mL, puis centrifugés à 10000 g pendant 1 min. Après la centrifugation, l'ADN s'est retrouvé dans le tube de collecte.

La quantité et la pureté de l'ADN extraite ont été mesurées par spectrophotométrie avec un Nano Drop DS-11+, puis l'ADN a été conservé à + 4°C jusqu'à son utilisation.

II-11-3- Reconstitution des échantillons après extraction

Avant de procéder à l'amplification des différentes régions choisies, la concentration d'ADN dans chaque extrait a été réajusté à 20 ng / μL . Ensuite, un pool à concentration égale à partir des six extraits obtenus à chaque date de prélèvement a été constitué, afin d'obtenir un échantillon représentatif de la lagune pour chaque mois. Ainsi, 22 échantillons pour la période d'étude ont été analysés pour la présence des gènes de métabolites secondaires de Cyanobactéries.

II-11-4- Amplification des séquences par PCR

Le gène de l'*ARNr 16S* des Cyanobactéries a été amplifié avec le couple d'amorces 1592R / 1589F (Neilan *et al.*, 1997). Le gène de la microcystine a été amplifié avec différentes amorces : les amorces McyAF/R (Hisbergues, *et al.*, 2003) pour toutes les Cyanobactéries potentiellement productrices de microcystines et les amorces McyDF / R (Kuniyoshi *et al.*, 2013) pour le genre *Microcystis*. Les gènes de synthèse de trois autres métabolites secondaires ont été recherchés : les microviridines avec le couple d'amorce MdnBfvs/rv (Ziemert *et al.*, 2010), les cyanopeptolines avec le couple d'amorce MCNCF/R (Tooming-Klunderud *et al.*, 2007) et les aeruginosines avec le couple d'amorce Ae4nv/reduct-rv (Pancrace, 2013).

Avant la réalisation de l'amplification des 22 échantillons, un travail préliminaire a été effectué à savoir optimiser la méthode d'amplification. Trois essais d'amplification par volume réactionnel choisi ont été effectués sur des échantillons d'ADN de Cyanobactéries pures de la collection de l'IPP. D'abord, un volume réactionnel de 25 μL , ensuite 15 μL en modifiant les quantités de différents constituants du volume réactionnel. Pour l'amplification des 22 échantillons le volume réactionnel choisi a été de 15 μL .

Les réactions d'amplification ont été réalisées dans un volume réactionnel de 15 μL contenant 1,5 μL de tampon PCR 10 X, 1,5 μL de chlorure de magnésium (25 mM), 1,2 μL de désoxyribonucléotides triphosphate (2,5 mM), 0,6 μL de chaque amorce (10 μM), 0,075 μL de

Taq ADN polymérase (5U), 1 μ L d'ADN (20 ng / μ L), et 8,525 μ L d'eau pour préparation injectable (H₂O ppi).

La PCR ciblant les gènes de l'*ARNr 16S* (1500 pb), *mcyD* (281 pb), *aerD* (602 pb) et *mcnC* (960 pb) a consisté à une dénaturation initiale à 95°C pendant 2 min, suivie de 40 cycles (35 cycles pour les gènes *aerD* et *mcnC*) de dénaturation à 95°C pendant 30 s, d'hybridation à 60°C pendant 30 s et d'élongation à 72°C pendant 30 s, suivie d'une dernière élongation à 72°C pendant 10 min.

Pour le gène *mcyA* (291 pb), l'amplification a consisté à une étape initiale de dénaturation à 92 °C pendant 2 min, suivie de 40 cycles de dénaturation 92° C pendant 30 s, d'hybridation à 58°C pendant 30 s et d'élongation à 72°C pendant 30 s et une élongation finale à 72°C pendant 10 min. Enfin, pour le gène *mdnB* (298 pb), une étape initiale de dénaturation à 92 °C pendant 2 min, suivie de 35 cycles de dénaturation à 92 °C pendant 30 s, 52°C d'hybridation pendant 30 s et 72°C d'élongation pendant 30 s et une élongation finale à 72°C pendant 10 min.

La recherche des différents gènes (*mcyA*, *mcyD*, *aerD*, *mcnC*, *mdnB*) codant pour la synthèse des métabolites secondaires a été réalisée sur les échantillons positifs à l'*ARNr 16S*.

II-11-5- Migration des échantillons et révélation

Dans un erlenmeyer a été mis 1g de poudre d'agarose auxquels ont été ajoutés 100 μ L de TBE. Le mélange a été porté à ébullition dans un four pendant 2 min pour qu'il soit limpide. Ce mélange a été refroidi puis 2 μ L de BET ont été ajoutés. L'ensemble a été ensuite coulé dans un moule contenant un peigne possédant 22 puits pour faire migrer chaque amplicon des différents gènes choisis en une seule fois avec un marqueur de poids moléculaire GeneRuler DNA Ladder®.

A l'aide d'une micropipette, 2 μ L de tampon de charge 10 X et 5 μ L de l'échantillon d'ADN amplifié ont été mélangés sur un morceau de papier de Parafilm fixé sur la paillasse. Les puits ont été remplis en faisant attention de ne pas déchirer le fond du gel avec la pointe de la pipette. Les trois premiers puits ont été réservés pour : le marqueur de poids moléculaire, le témoin négatif et le témoin positif respectivement. Les électrodes de la cuve ont été branchées à l'alimentation de manière à ce que les dépôts soient du côté de la cathode.

A la fin de la PCR, une électrophorèse a été réalisée dans un champ électrique de 135V pendant 30 min, afin de faire migrer les produits d'amplification issus de la PCR sur un gel d'électrophorèse. Le BET est un agent intercalant qui se fixe entre les bases de l'ADN, il a permis leur détection sous lampe UV. Après la migration, la visualisation des produits d'amplification a été réalisée sous lumière UV à partir du système automatisé Gel Doc.

II-12- Analyses statistiques

Les résultats obtenus par station pendant les différents mois de prélèvement ont été saisis dans le logiciel Excel 2016. Les moyennes des différents résultats obtenus ont été calculées en fonction des différentes saisons.

Les analyses statistiques des données des paramètres physico-chimiques ont été réalisées dans Past 3.12. Le test non paramétrique Kruskal-Wallis a permis de tester la variance des paramètres physico-chimiques entre les différentes stations de prélèvement et entre les différentes saisons. Ces tests sont significatifs pour une valeur de la probabilité inférieure à 0,05 ($p < 0,05$).

Dans cette étude l'Analyse en Composantes Principales (A.C.P.) a été réalisée à l'aide du logiciel XLSTAT 2018. A partir de l'A.C.P, le cercle de corrélation et l'ordination des saisons ont été établies.

L'A.C.P. est une méthode qui permet de synthétiser l'information contenue dans un tableau croisant des individus et des variables quantitatives.

Produire un résumé d'informations au sens de l'A.C.P., c'est établir une similarité entre les individus, chercher des groupes d'individus homogènes, mettre en évidence une typologie d'individus. Quant aux variables, c'est mettre en évidence des bilans de liaisons entre elles, moyennant des variables synthétiques et mettre en évidence une typologie de variables. L'A.C.P. permet d'une façon générale d'établir des liaisons entre ces deux typologies (**Kouani *et al.*, 2007**).

RESULTATS & DISCUSSION

I- Résultats

I-1- Variation des paramètres physico-chimiques

I-1-1- Potentiel hydrogène

Au cours du suivi de la lagune, il a été observé un pH minimum de 5,92 à la station 3 en août 2016 et un pH maximum de 9,82 à la station 4 en septembre 2017 (**Figure 16**).

Le pH moyen de la lagune a été de $7,74 \pm 0,89$. Le test de Kruskal-Wallis ($p > 0,05$) indique qu'il n'y a pas de variation significative de ce paramètre entre les stations. Par contre, il existe une différence significative entre les mois ($p < 0,05$).

I-1-2- Température

La température moyenne des eaux de la lagune Aghien a été de $28,61 \pm 1,70^{\circ}\text{C}$. Un minimum de $23,10^{\circ}\text{C}$ et un maximum de $31,9^{\circ}\text{C}$ ont été enregistrés à la station 3, respectivement en juin 2016 et en mars 2018 (**Figure 17**).

Les valeurs de la température ont varié significativement entre les mois selon le test Kruskal-Wallis, ($p < 0,05$).

Une augmentation successive de la température a été remarquée de juin à septembre 2016. Cette variation a été suivie d'une légère baisse en octobre 2016. De plus, une augmentation entre le mois de novembre 2016 à avril 2017 a été remarquée. Cette fluctuation de la température a été observée tout au long de notre campagne.

I-1-3- Conductivité

Les valeurs de la conductivité ont oscillé entre un minimum de $5,23 \mu\text{S}/\text{cm}$ enregistré au mois de novembre 2016 à la station 3 et un maximum de $233,12 \mu\text{S}/\text{cm}$ mesuré à la station 5 en avril 2017 (**Figure 18**).

La valeur moyenne de la conductivité de l'eau de la lagune Aghien a été de $68,98 \pm 12,28 \mu\text{S}/\text{cm}$.

Le test de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) indique qu'il y a une variation significative de ce paramètre entre les mois de prélèvement.

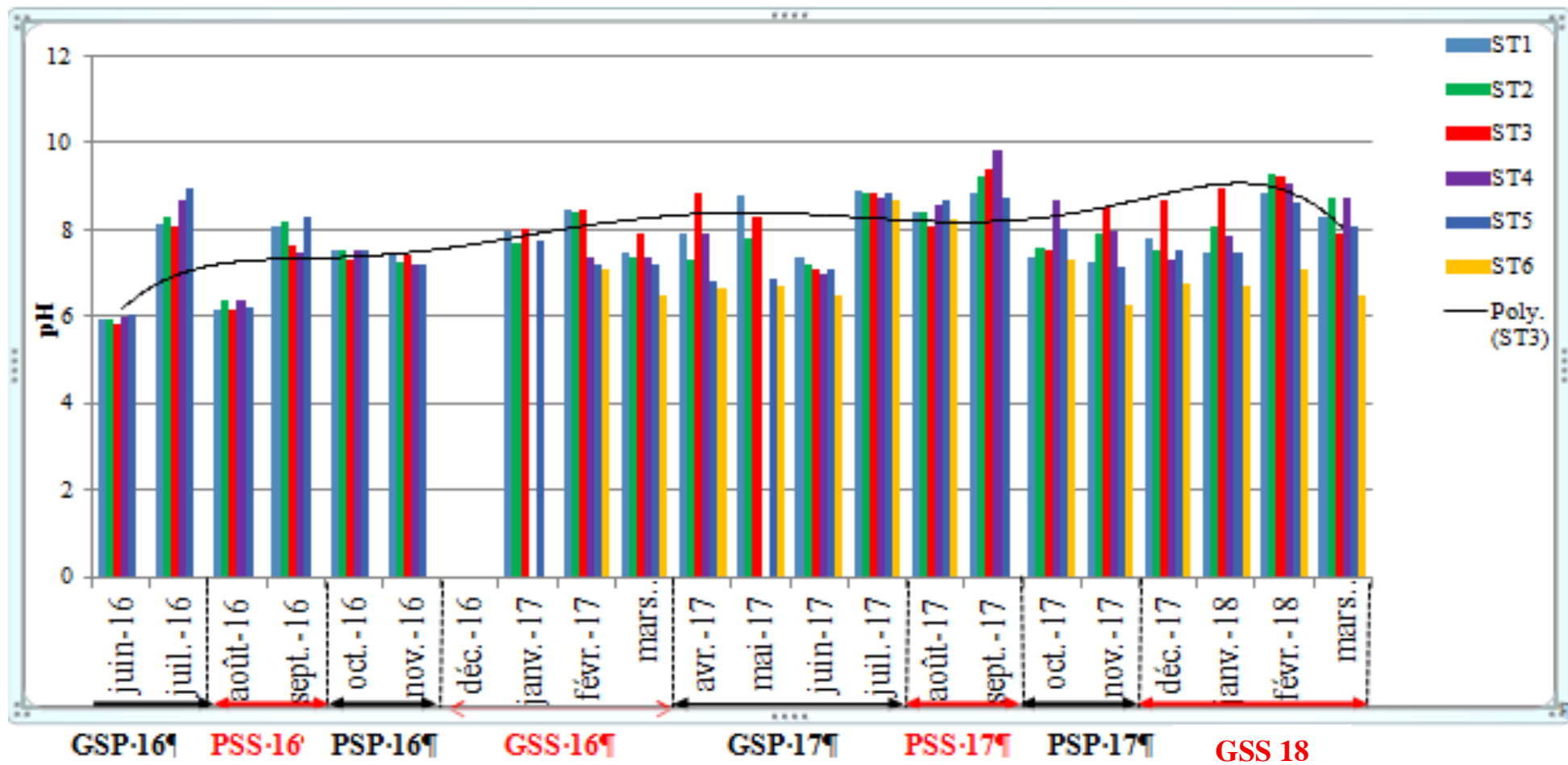


Figure 16 : Variation spatio-temporelle du pH des eaux de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018

GSS : Grande Saison sèche ; GSP : Grande Saison des pluies ; PSS : Petite Saison sèche ; PSP : Petite Saison des Pluies

ST1 : Station 1 , ST2 : Station 2 , ST3 : Station 3 , ST4 : Station 4 , ST5 : Station 5 , ST6 : Station 6.

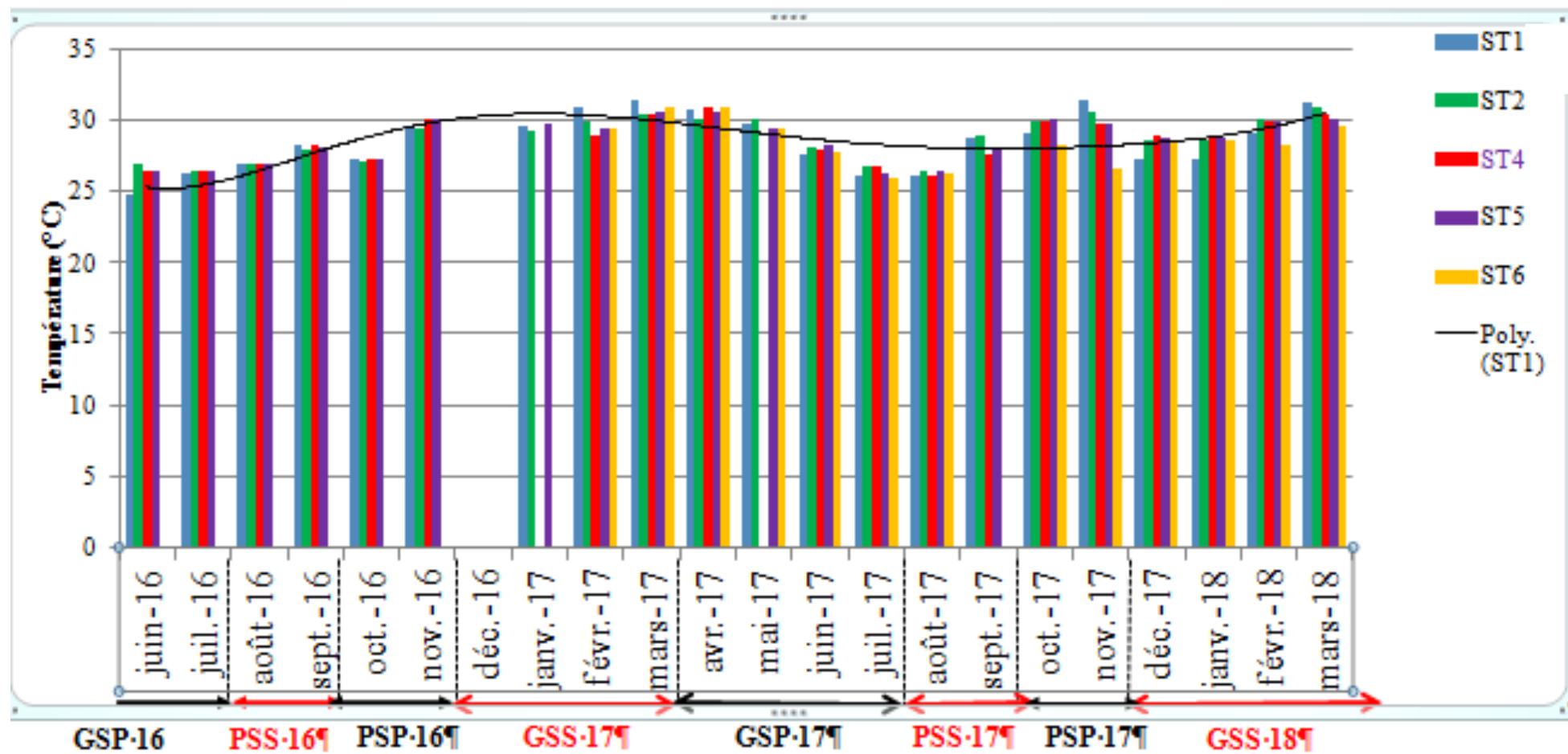


Figure 17 : Variation spatio-temporelle de la température des eaux de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018

GSS : Grande Saison sèche ; GSP : Grande Saison des pluies ; PSS : Petite Saison sèche ; PSP : Petite Saison des Pluies

ST1 : Station 1 , ST2 : Station 2 , ST3 : Station 3 , ST4 : Station 4 , ST5 : Station 5 , ST6 : Station 6.

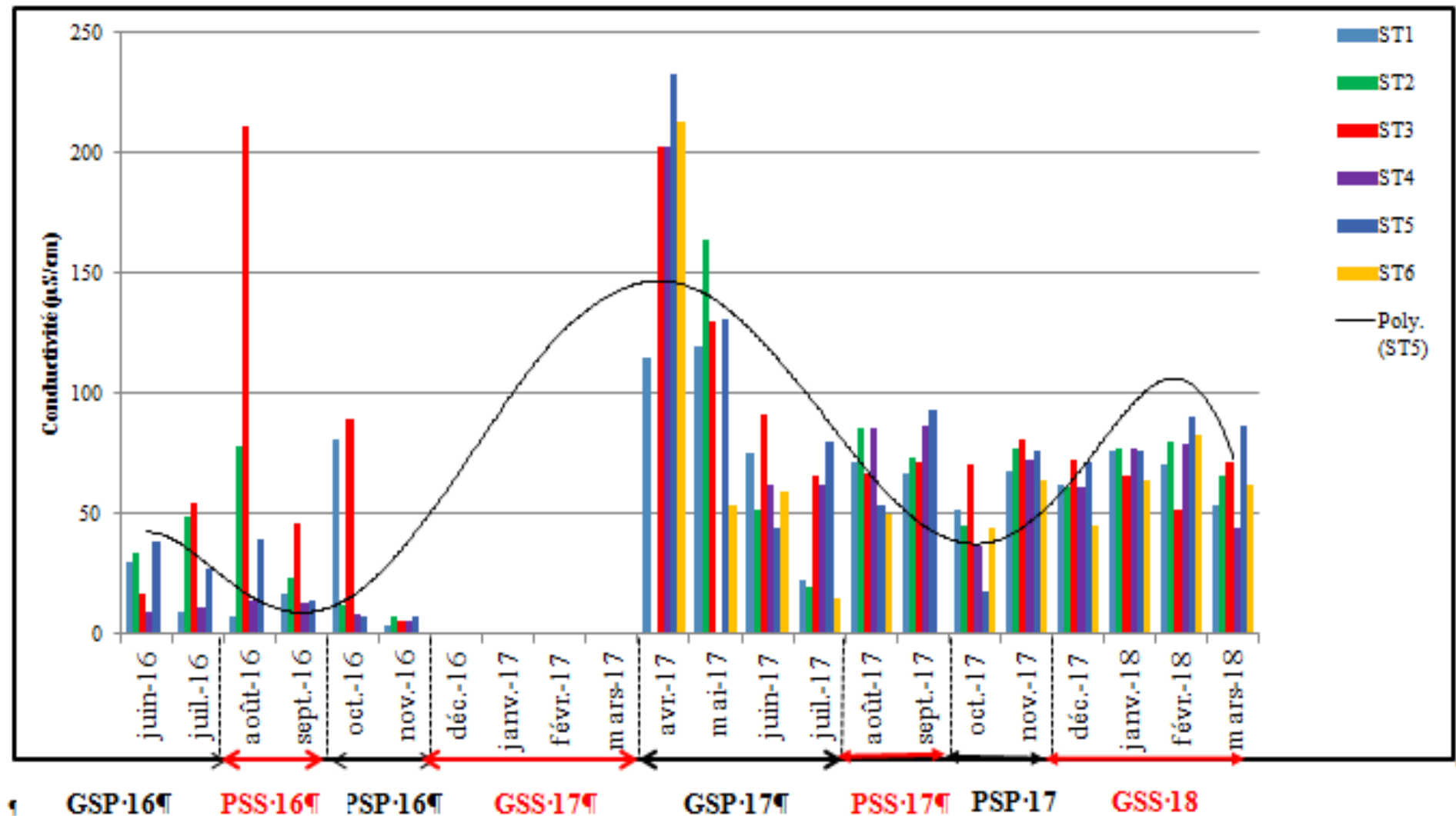


Figure 18 : Variation spatio-temporelle de la conductivité des eaux de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018

GSS : Grande Saison sèche ; GSP : Grande Saison des pluies ; PSS : Petite Saison sèche ; PSP : Petite Saison des Pluies

ST1 : Station 1 , ST2 : Station 2 , ST3 : Station 3 , ST4 : Station 4 , ST5 : Station 5 , ST6 : Station 6.

I-1-4- Turbidité

Les valeurs de la turbidité de la lagune ont fluctué entre 7,51 et 404,95 NTU. Le minimum et le maximum ont été observés respectivement à la station 3 en janvier 2017 et à la station 5 en septembre 2017 (**Figure 19**).

La turbidité moyenne a été de $67,18 \pm 7,24$ NTU.

Une différence significative est observée (test de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$)) entre les mois.

I-1-5- Phosphore

La concentration moyenne du phosphore a été de $0,2 \pm 0,043$ mg/L avec des valeurs comprises entre 0,102 mg/L et 1,11 mg/L. La valeur la plus faible du phosphore a été obtenue au mois de novembre 2016 à la station 4 et la maximale à la station 6 au mois de juin 2017 (**Figure 20**).

Les teneurs en phosphore ont présenté une variation significative (test de Kruskal-Wallis $< 0,05$) entre les mois.

I-1-6- Orthophosphates

La concentration moyenne en orthophosphates a été de $0,08 \pm 0,014$ mg/L avec des valeurs extrêmes allant de 0,003 à 0,18 mg/L. Le minimum enregistré dans le mois de septembre 2016 à la station 5 et le maximum mesuré à la station 4 pendant les mois de février et novembre de l'année 2017 (**Figure 21**).

Les teneurs en orthophosphates présentent une variation significative (test de Kruskal-Wallis $< 0,05$) entre les mois.

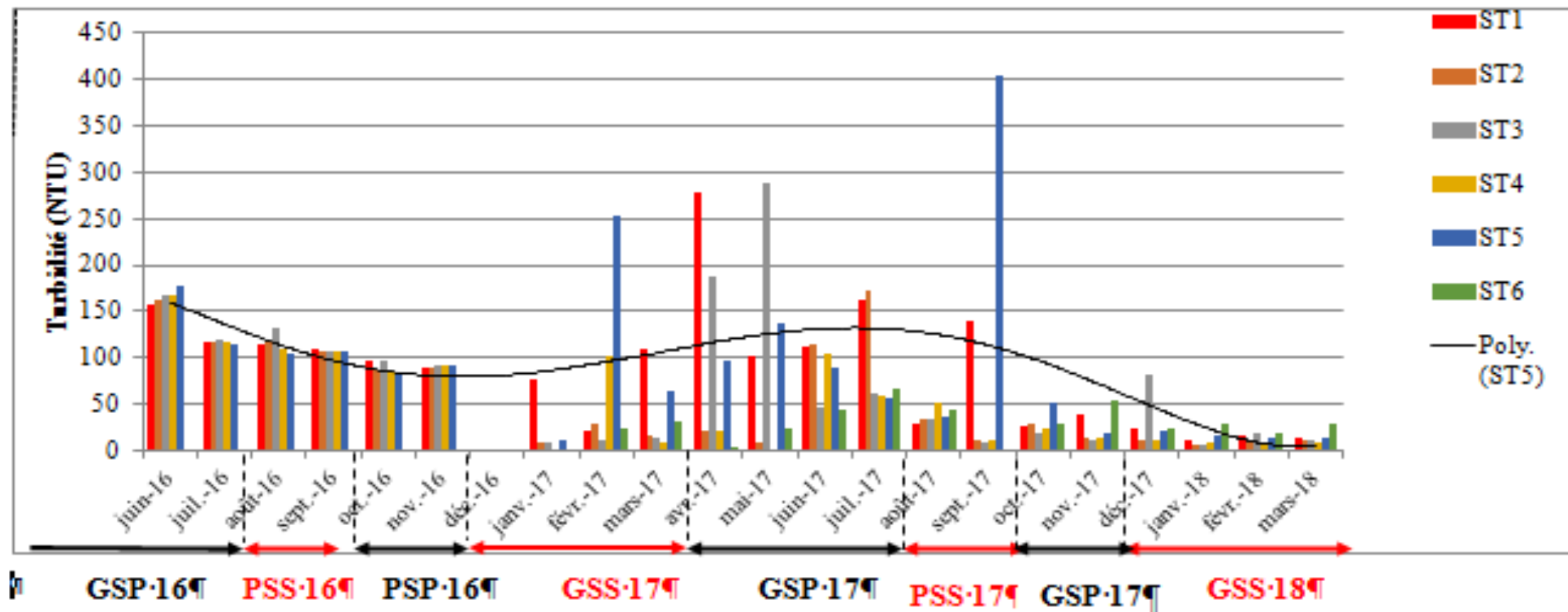


Figure 19 : Variation spatio-temporelle de la turbidité des eaux de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018

GSS : Grande Saison sèche ; GSP : Grande Saison des pluies ; PSS : Petite Saison sèche ; PSP : Petite Saison des Pluies

ST1 : Station 1 , ST2 : Station 2 , ST3 : Station 3 , ST4 : Station 4 , ST5 : Station 5 , ST6 : Station 6.

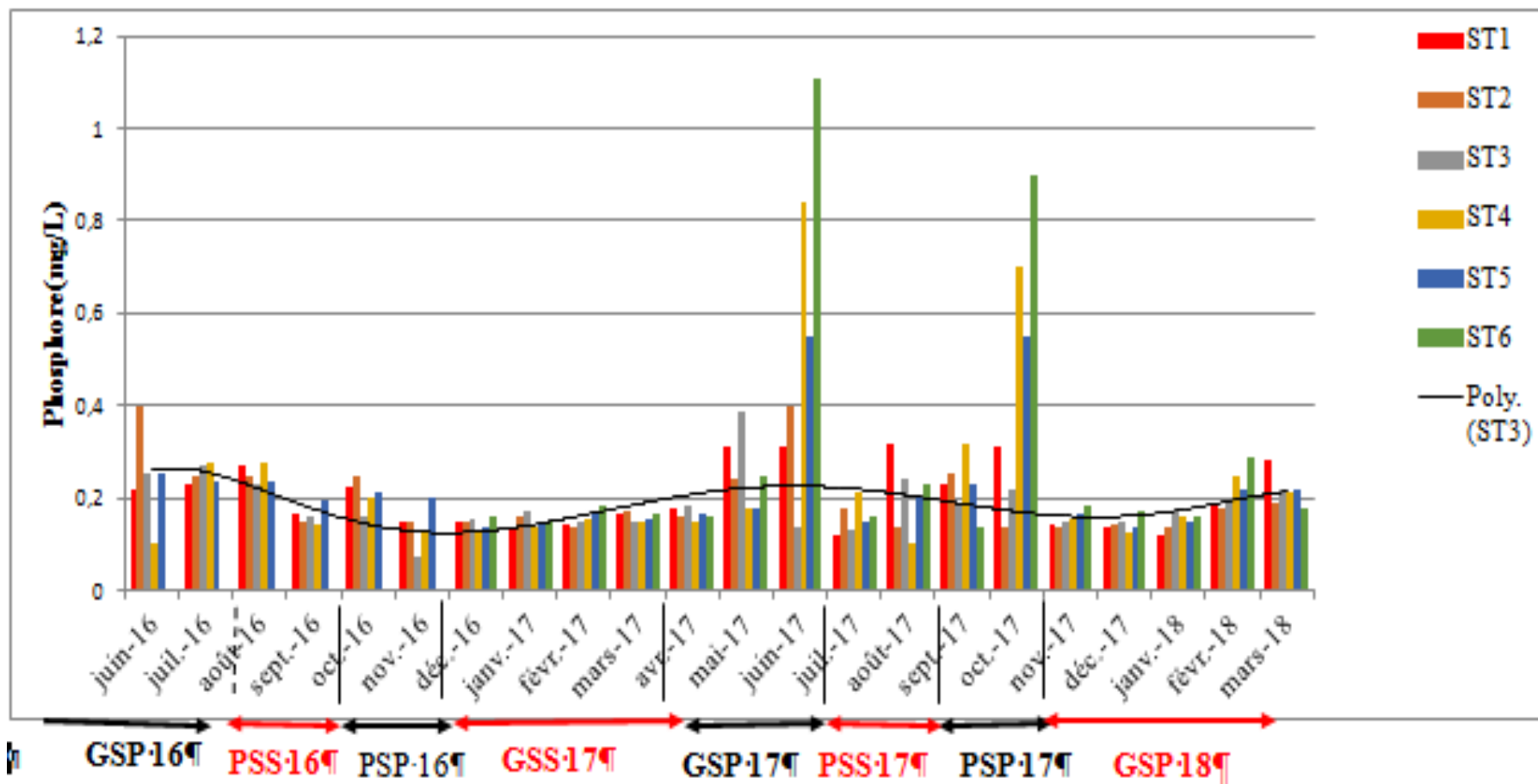


Figure 20 : Variation spatio-temporelle du phosphore dans les échantillons d'eau de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018

ST1 : Station 1 ; ST2 : Station 2 ; ST3 : Station 3 ; ST4 : Station 4 ; ST5 : Station 5 ; ST6 : Station 6.

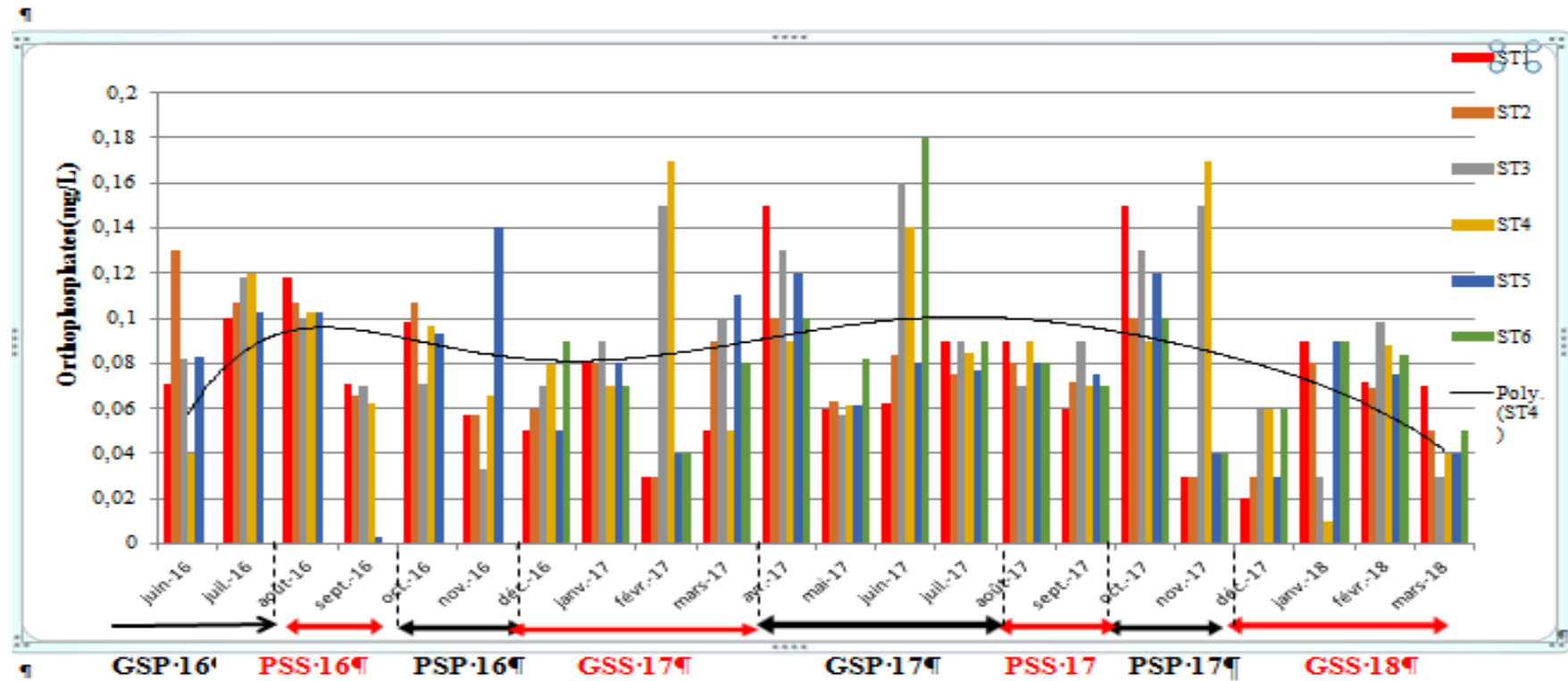


Figure 21 : Variation spatio-temporelle des orthophosphates dans les échantillons d'eau de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018

ST1 : Station 1 ; ST2 : Station 2 ; ST3 : Station 3 ; ST4 : Station 4 ; ST5 : Station 5 ; ST6 : Station 6.

I-1-7- Nitrates

Les teneurs en nitrates sont comprises entre 0,21 mg/L et 3,8 mg/L avec une valeur minimale observée à la station 4 en mars 2017. La valeur maximale a été obtenue à la station 3 dans le mois de juillet 2016 et à la station 1 en août 2018. La moyenne a été de $0,82 \pm 0,38$ mg/L (**Figure 22**).

Le test de Kruskal-Wallis montre des différences significatives ($p < 0,05$) des teneurs en nitrate entre les mois.

I-1-8- Nitrites

Les concentrations de nitrites ont varié entre 0,0015 mg/L en octobre 2016 (stations 1,2, 3 et 4) et de 1,5 mg /L à la station 4 (juillet et août 2016) avec une moyenne de $0,125 \pm 0,0195$ mg/L. (**Figure 23**).

Le test de Kruskal-Wallis montre des différences significatives ($p < 0,05$) des teneurs en nitrite entre les mois.

I-2- Biomasse chlorophyllienne

Les valeurs de la chlorophylle (*a*) ont oscillé entre un minimum de 1,45 μ g/L enregistré au mois de décembre 2016 à la station 2 et un maximum de 245,64 μ g/L mesuré à station 2 en août 2016. La valeur moyenne a été de $44,57 \pm 11,54$ μ g/L (**Figure 24**). Les résultats révèlent une différence significative ($p < 0,05$) entre les mois.

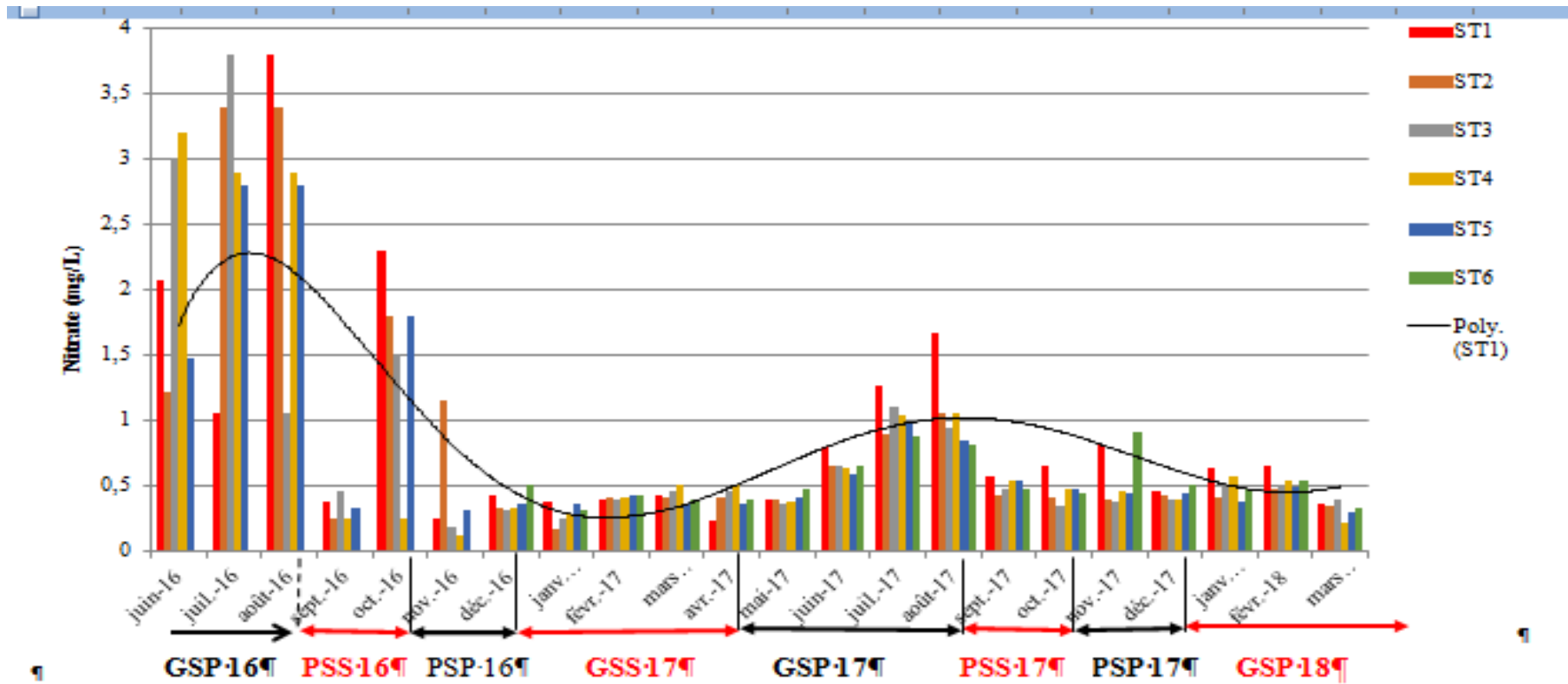


Figure 22 : Variation spatio-temporelle des nitrates dans les échantillons d'eau de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018

ST1 : Station 1 ; ST2 : Station 2 ; ST3 : Station 3 ; ST4 : Station 4 ; ST5 : Station 5 ; ST6 : Station 6.

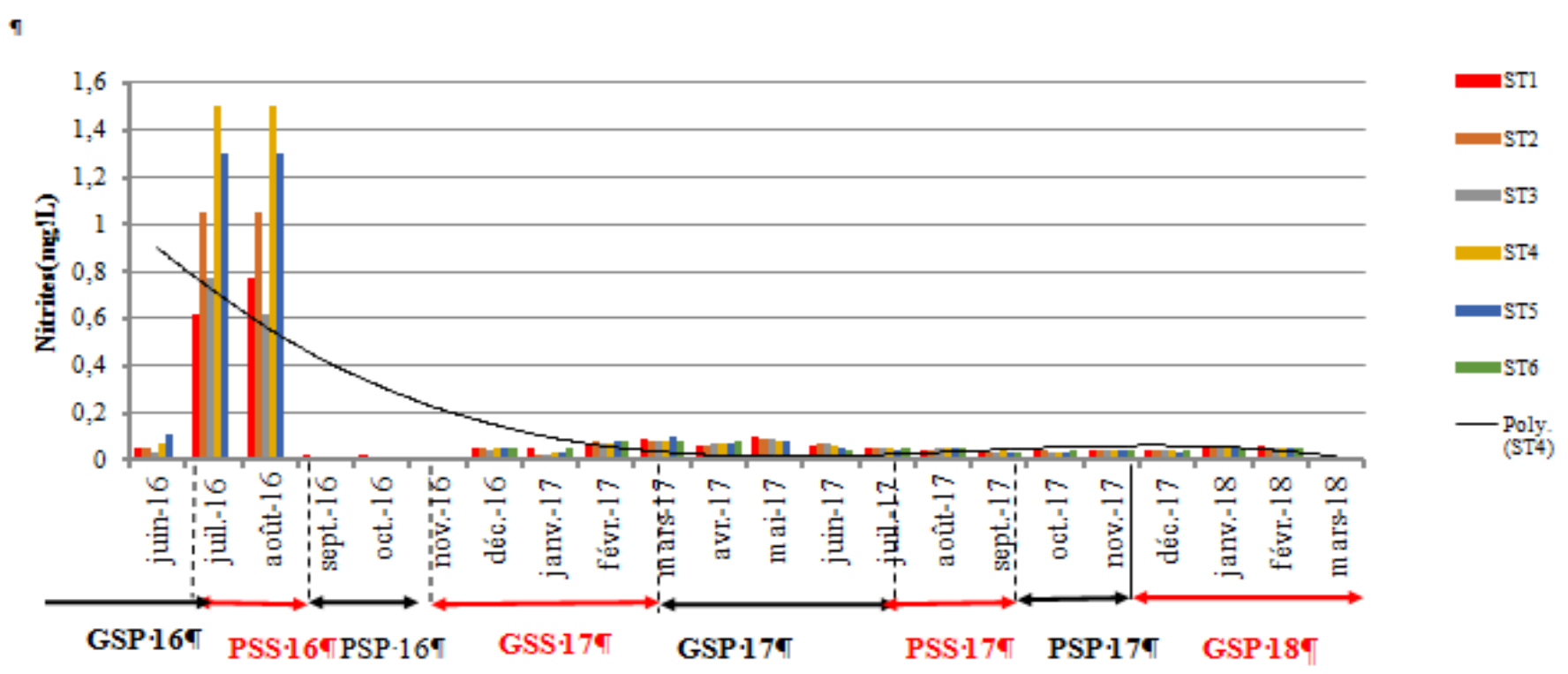


Figure 23 : Variation spatio-temporelle du nitrite dans les échantillons d'eau de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018

ST1 : Station 1 ; ST2 : Station 2 ; ST3 : Station 3 ; ST4 : Station 4 ; ST5 : Station 5 ; ST6 : Station 6.

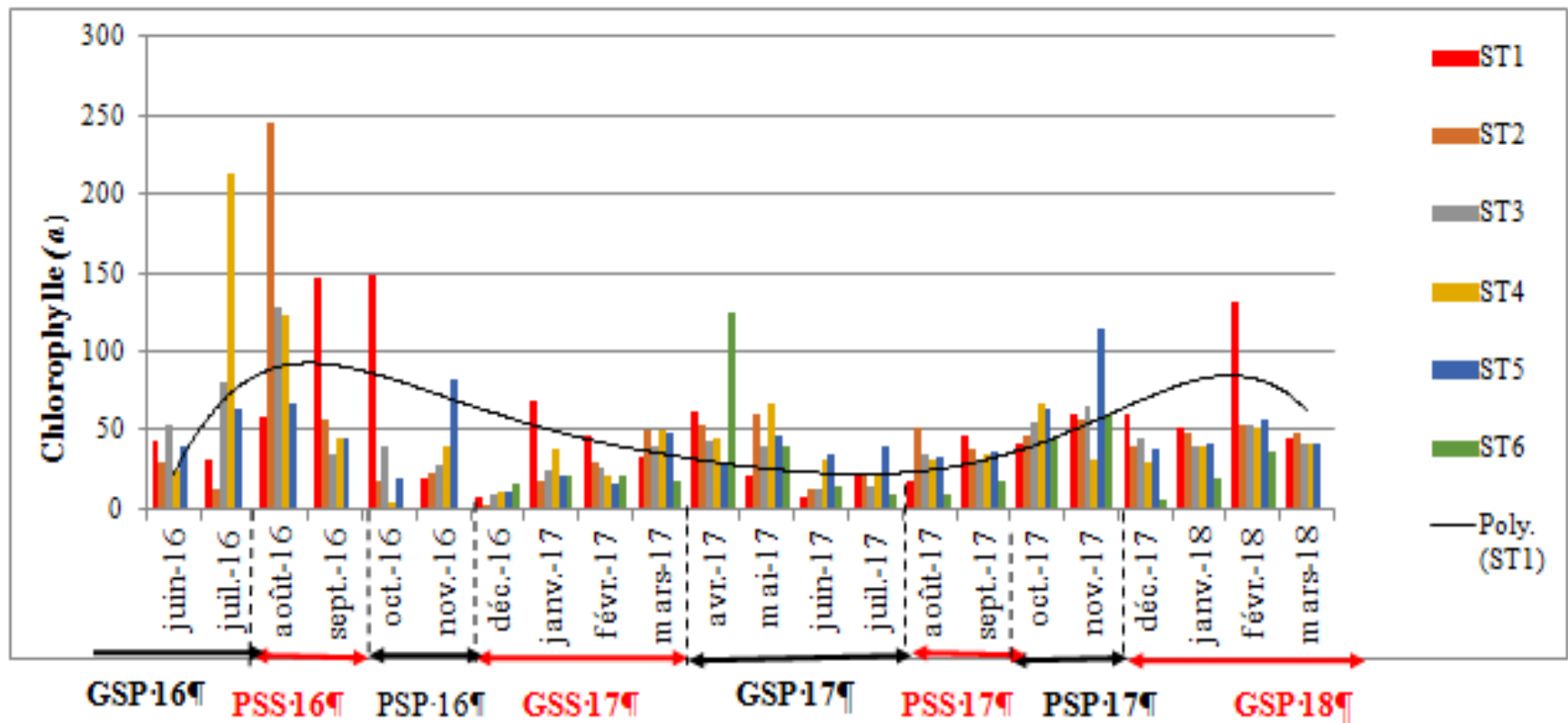


Figure 24 : Variation spatio-temporelle de la biomasse chlorophyllienne dans les échantillons d'eau de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018

GSS : Grande Saison sèche ; GSP : Grande Saison des pluies ; PSS : Petite Saison sèche ; PSP : Petite Saison des Pluies

ST1 : Station 1 ; ST2 : Station 2 ; ST3 : Station 3 ; ST4 : Station 4 ; ST5 : Station 5 ; ST6 : Station 6.

I-3- Variation spatio-saisonnier des paramètres physico-chimiques et de la biomasse chlorophyllienne

I-3-1- Pendant l'année 2016

Les variations du pH et de la température observés pendant l'année 2016 sont présentées dans la **figure 25**. Ainsi, la valeur moyenne du pH a été de 7,22 avec un maximum enregistré pendant la petite saison des pluies (7,50) et un minimum enregistré pendant la grande saison des pluies (6,90).

En ce qui concerne la température, elle a été maximale pendant la petite saison sèche aux stations 4 et 5 et la minimale à la station 3 pendant la grande saison des pluies.

La plus faible valeur (6,66 $\mu\text{S}/\text{cm}$) de conductivité a été mesurée pendant la petite saison des pluies à la station 4 tandis que la plus forte valeur (128,55 $\mu\text{S}/\text{cm}$) l'a été au cours de la petite saison sèche à la station 3. Quant à la turbidité, elle a été la plus forte (145,35 NTU) à la station 5 pendant la grande saison des pluies et la plus faible (87,35 NTU) à la station 5 pendant la petite saison sèche (**Figure 26**).

Les concentrations en orthophosphates (**Figure 27**) et nitrate (**Figure 28**) ont été les plus élevées pendant la grande saison des pluies respectivement à la station 2 (0,119 mg/L) et à la station 3 (3,4 mg/L). Les concentrations les plus basses en nitrate et phosphate ont été observées pendant la petite saison des pluies respectivement à la station 3 (0,756 mg/L) et à la station 5 (0,067 mg/L).

Quant aux concentrations en phosphore (**Figure 27**) et nitrite (**Figure 28**), elles ont été les plus fortes pendant la grande saison des pluies respectivement à la station 2 (0,35 mg/L) et à la station 4 (0,335 mg/L). Les concentrations les plus basses ont été observées pendant la petite saison sèche respectivement à la station 3 (0,118 mg/L) et aux stations 4 et 5 (0,003 mg/L).

La concentration de la biomasse chlorophyllienne a été la plus élevée (150,86 $\mu\text{g}/\text{L}$) à la station 2 pendant la petite saison sèche et la moins élevée (21,36 $\mu\text{g}/\text{L}$) à la station 2 au cours de la grande saison des pluies (**Figure 29**).

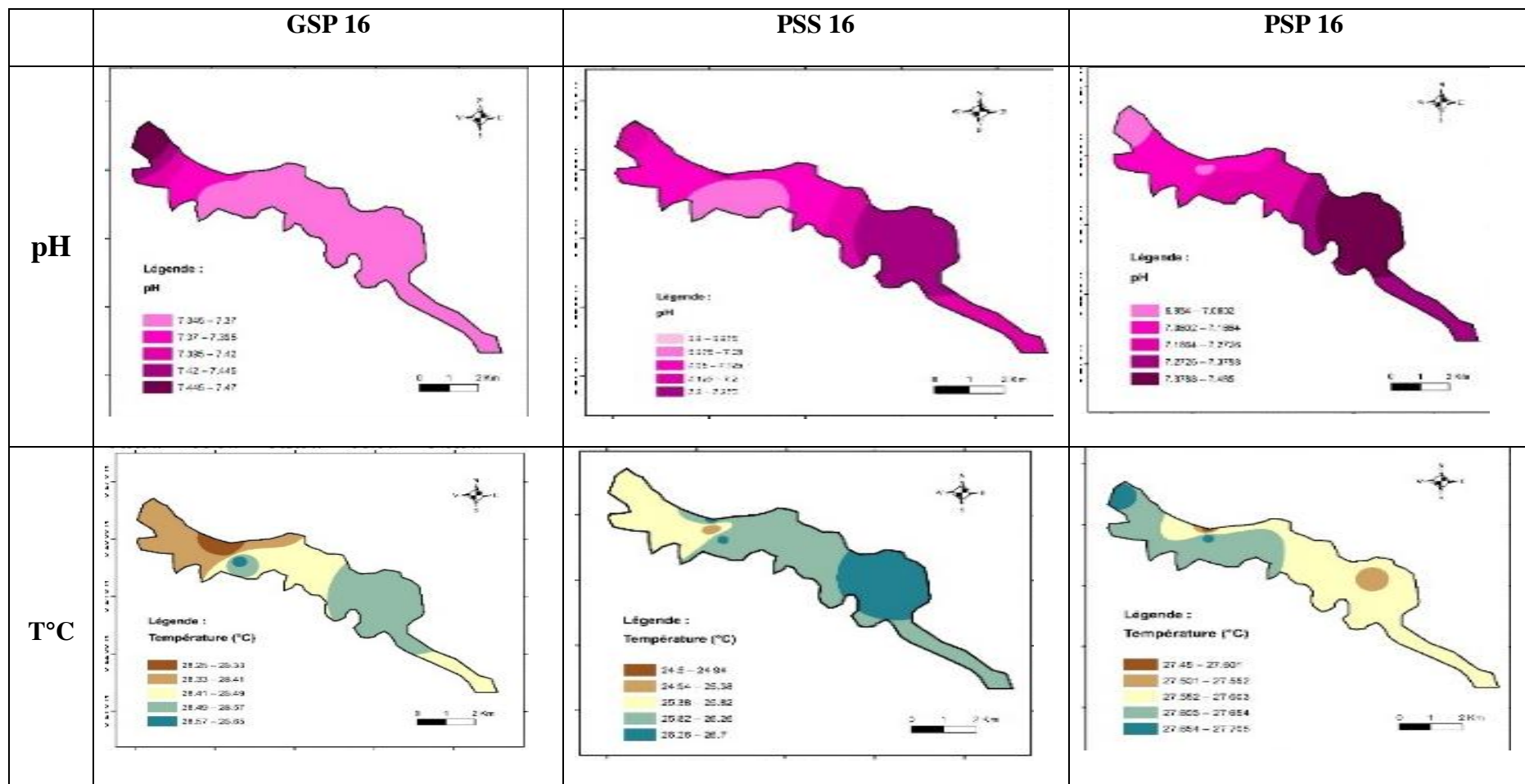


Figure 25 : Variation spatio-saisonnnière du pH et de la température de l'année 2016

GSS : Grande Saison sèche ; GSP : Grande Saison des pluies ; PSS : Petite Saison sèche ; PSP : Petite Saison des Pluies

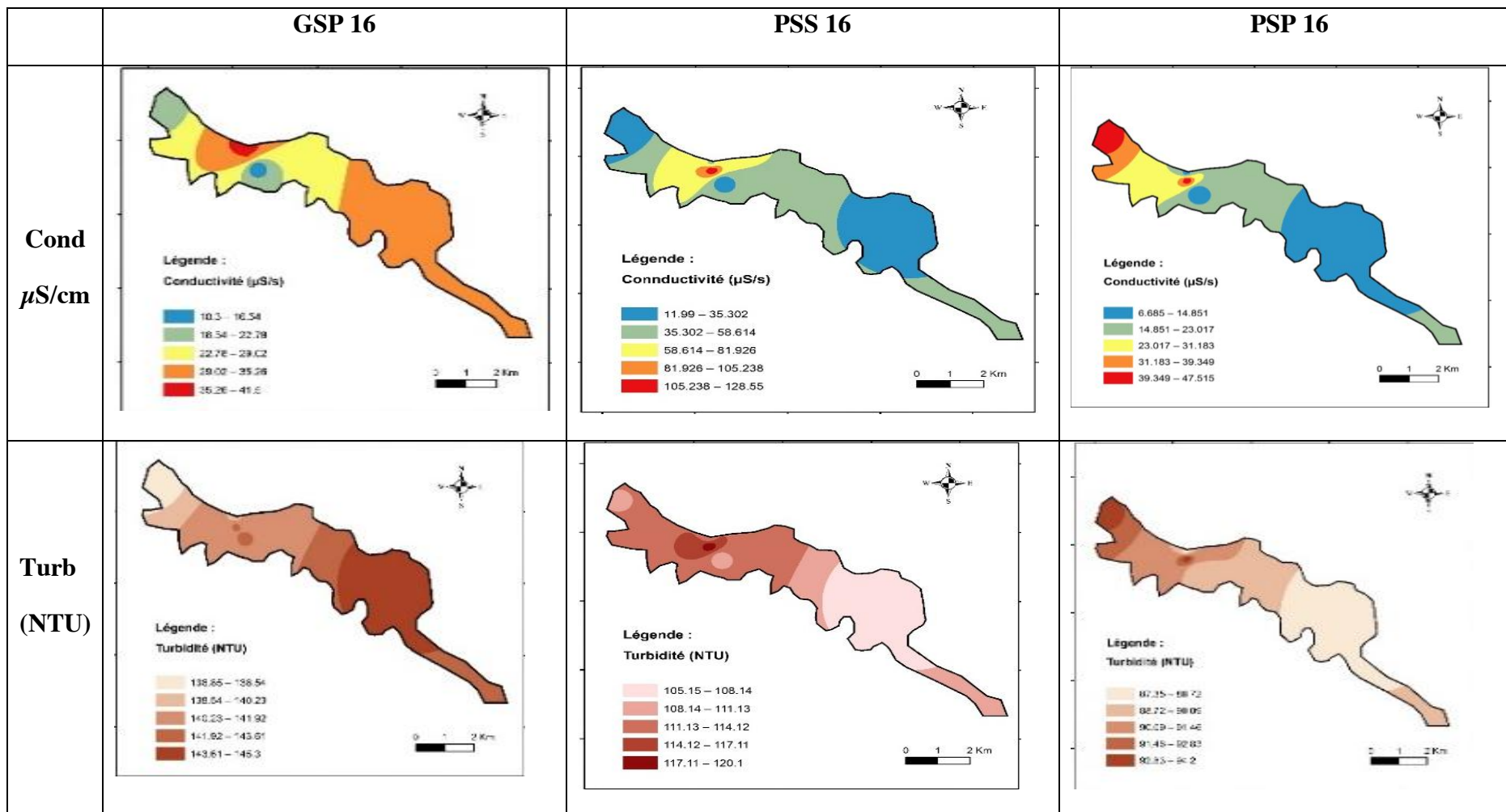


Figure 26 : Variation spatio-saisonnière de la conductivité et de la turbidité de l'année 2016

Cond : Conductivité ; Turb : Turbidité. ; GSS : Grande Saison sèche ; GSP : Grande Saison des pluies ; PSS : Petite Saison sèche ; PSP : Petite Saison des Pluies

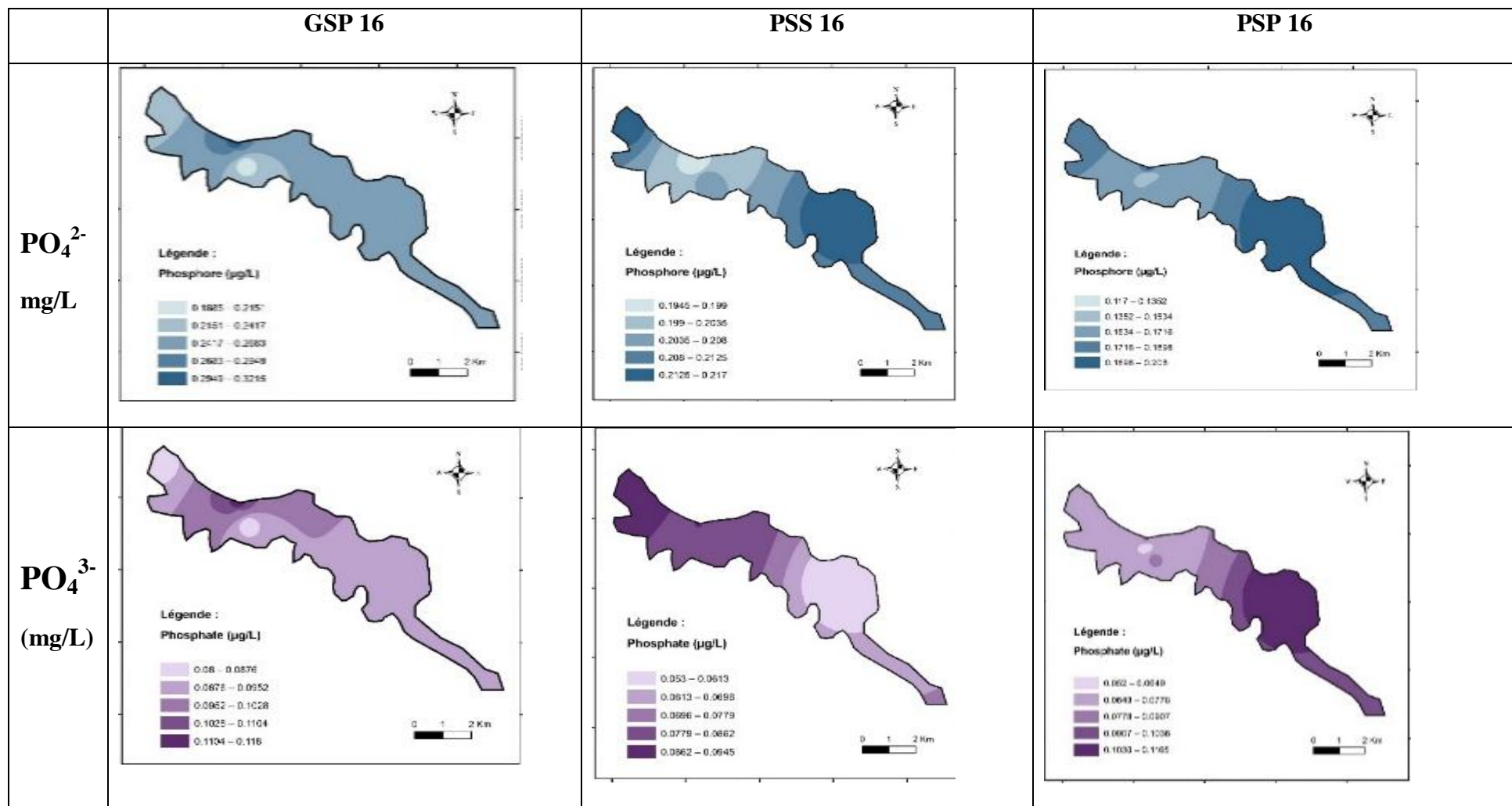


Figure 27 : Variation spatio-saisonnnière de la teneur en phosphore et en orthophosphates de l'année 2016

PO₄²⁻ : Phosphore ; PO₄³⁻ : Orthophosphate ; GSS : Grande Saison sèche ; GSP : Grande Saison des pluies ; PSS : Petite Saison sèche ; PSP : Petite Saison des Pluies

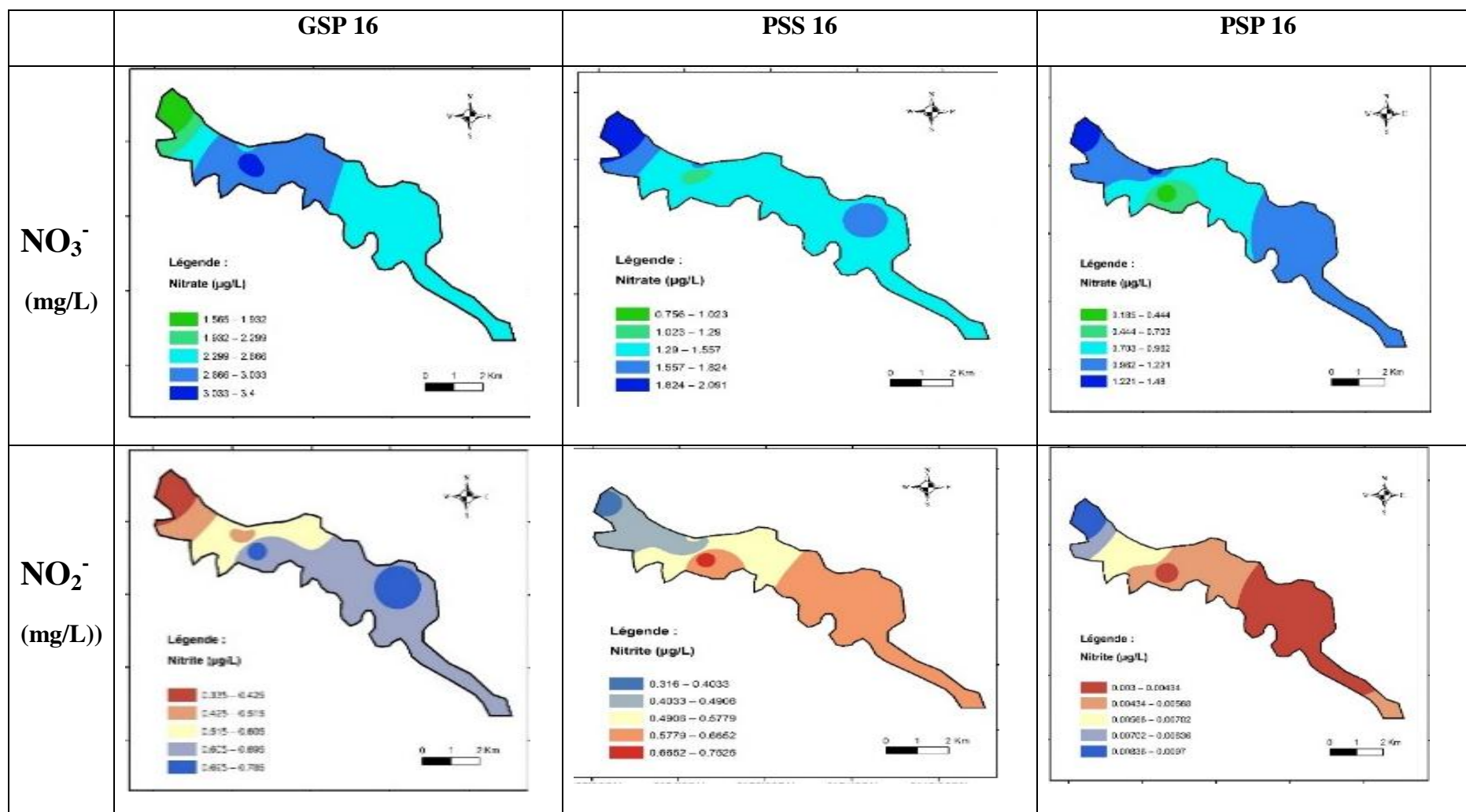


Figure 28 : Variation spatio-saisonnière de la teneur en nitrite et en nitrate de l'année 2016

NO_3^- : Nitrate ; NO_2^- : Nitrite ; GSS : Grande Saison sèche ; GSP : Grande Saison des pluies ; PSS : Petite Saison sèche ; PSP : Petite Saison des Pluies

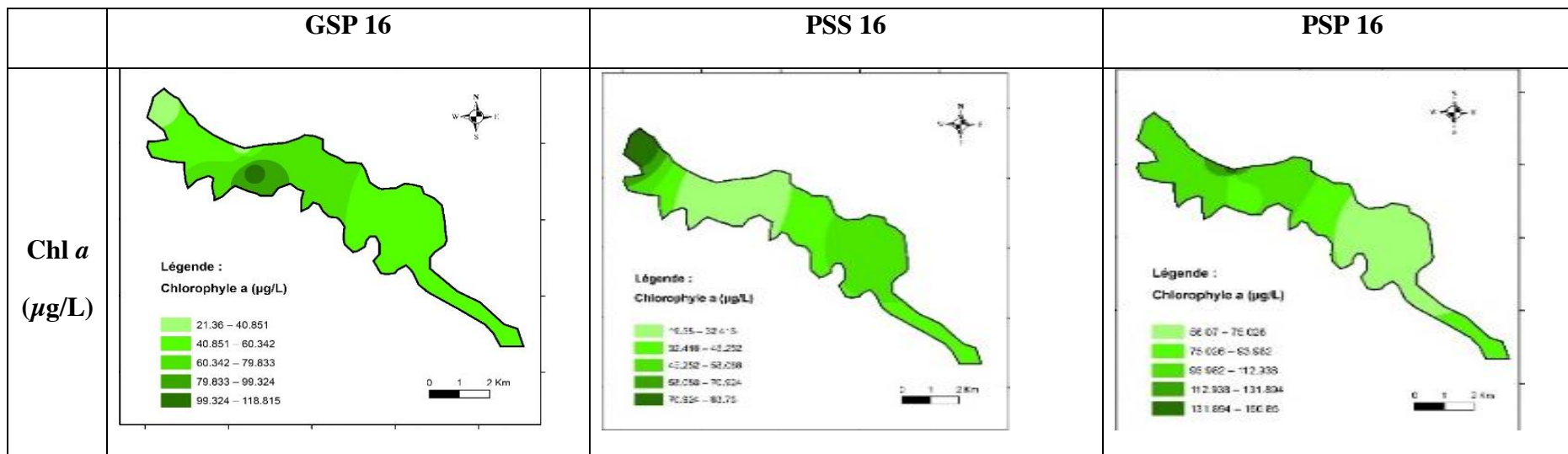


Figure 29 : Variation spatio-saisonnnière de la biomasse chlorophyllienne de l'année 2016

Chl *a* : Chlorophylle *a* ; GSS : Grande Saison sèche ; GSP : Grande Saison des pluies ; PSS : Petite Saison sèche ; PSP : Petite Saison des Pluies

I-3-2- De la grande saison sèche 2017 à la grande saison sèche 2018

Pendant cette période, le pH maximal a été observé à la station 4 (9,19) pendant la petite saison sèche de l'année 2017 tandis que le minimal a été obtenu à la station 6 (6,73) pendant la grande saison sèche 2017. La température maximale (30,65°C) a été enregistrée à la station 1 pendant la grande saison sèche de 2017 et la température la plus basse a été enregistrée à la station 6 (26,22°C) pendant la petite sèche de 2017 (**Figure 30**).

La conductivité minimale a été mesurée à la station 3 (43,73 $\mu\text{S}/\text{cm}$) pendant la petite saison sèche de l'année 2017 et la maximale quant à elle a été obtenue à la station 3 (122,32 $\mu\text{S}/\text{cm}$) pendant la grande saison des pluies 2017. En ce qui concerne la turbidité, la valeur maximale a été obtenue pendant la grande saison des pluies à la station 1 (164,05 NTU) et la valeur minimale a été mesurée à la station 6 pendant la grande et la petite saison sèche 2017 (**Figure 31**).

La concentration en phosphore (0,541 mg/L) et orthophosphate (0,117 mg/L) ont été les plus élevées pendant la petite saison des pluies à la station 6. Les valeurs minimales ont été obtenues respectivement pendant la petite saison sèche 2017 à la station 2 et pendant la grande saison sèche 2017 à la station 1 (0,065 mg/L) (**Figure 32**).

La concentration en nitrate a été la plus élevée pendant la petite saison sèche 2017 à la station 1 (1,123 mg/L) et elle a été la plus basse pendant la grande saison sèche 2017 à la station 2 (0,335 mg/L) (**Figure 33**).

Quant à la concentration en nitrite, elle a été la plus faible à la station 2 (0,037 mg/L) pendant la petite saison sèche 2017 et la plus élevée (0,070 mg/L) a été enregistrée pendant la grande saison des pluies 2017 à la station (1, 2, 3) (**Figure 33**).

La plus forte teneur en chlorophylle (*a*) a été obtenue pendant la grande saison sèche 2018 à la station 1 (71,73 $\mu\text{g}/\text{L}$) et la plus faible tenue quant à elle a été mesurée pendant la petite saison sèche 2017 à la station 6 (12,82 $\mu\text{g}/\text{L}$) (**Figure 34**).

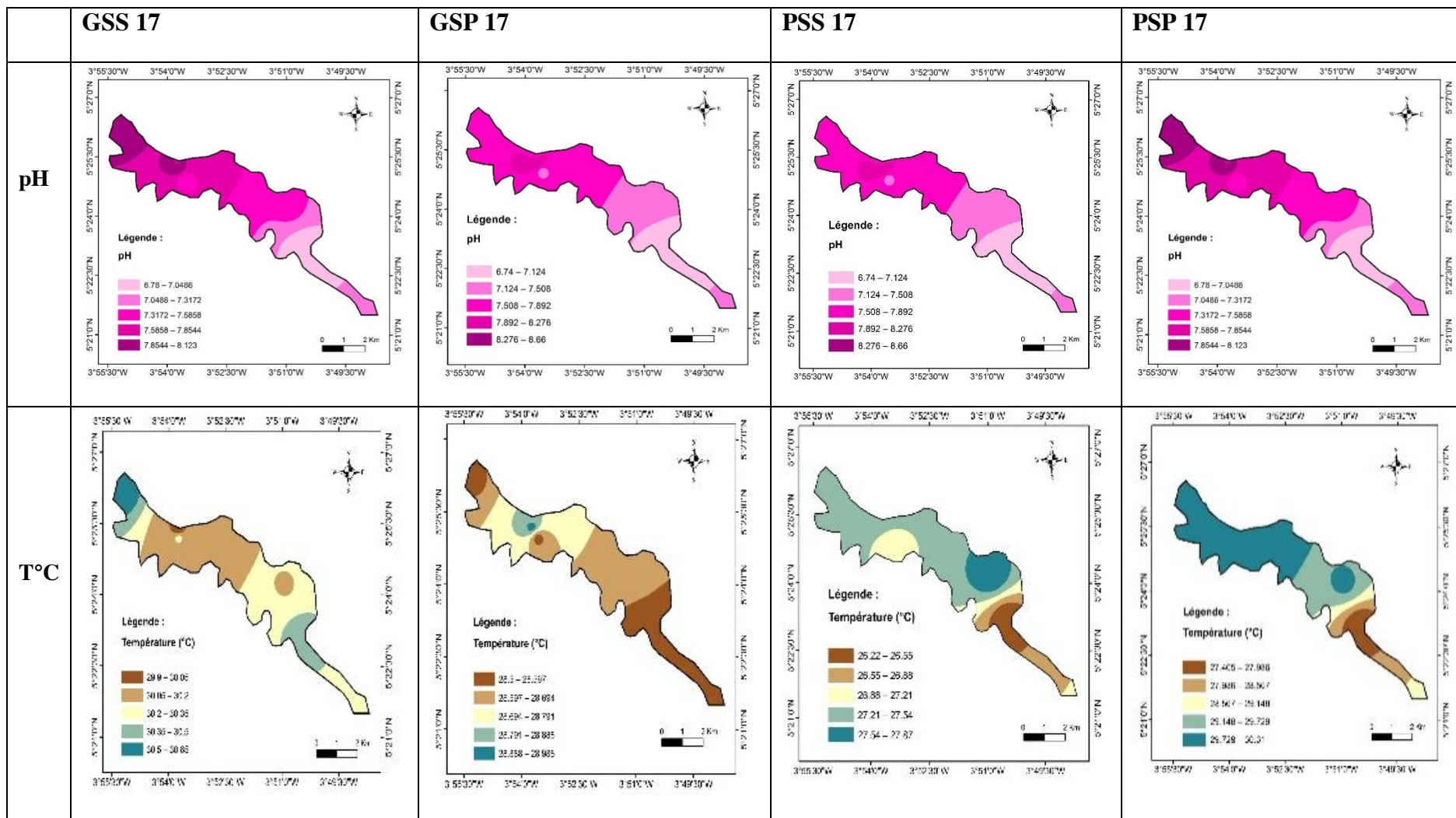


Figure 30 : Variation spatio-saisonnière du pH et de la température de l'année 2017

GSS : Grande Saison sèche ; GSP : Grande Saison des pluies ; PSS : Petite Saison sèche ; PSP : Petite Saison des Pluies

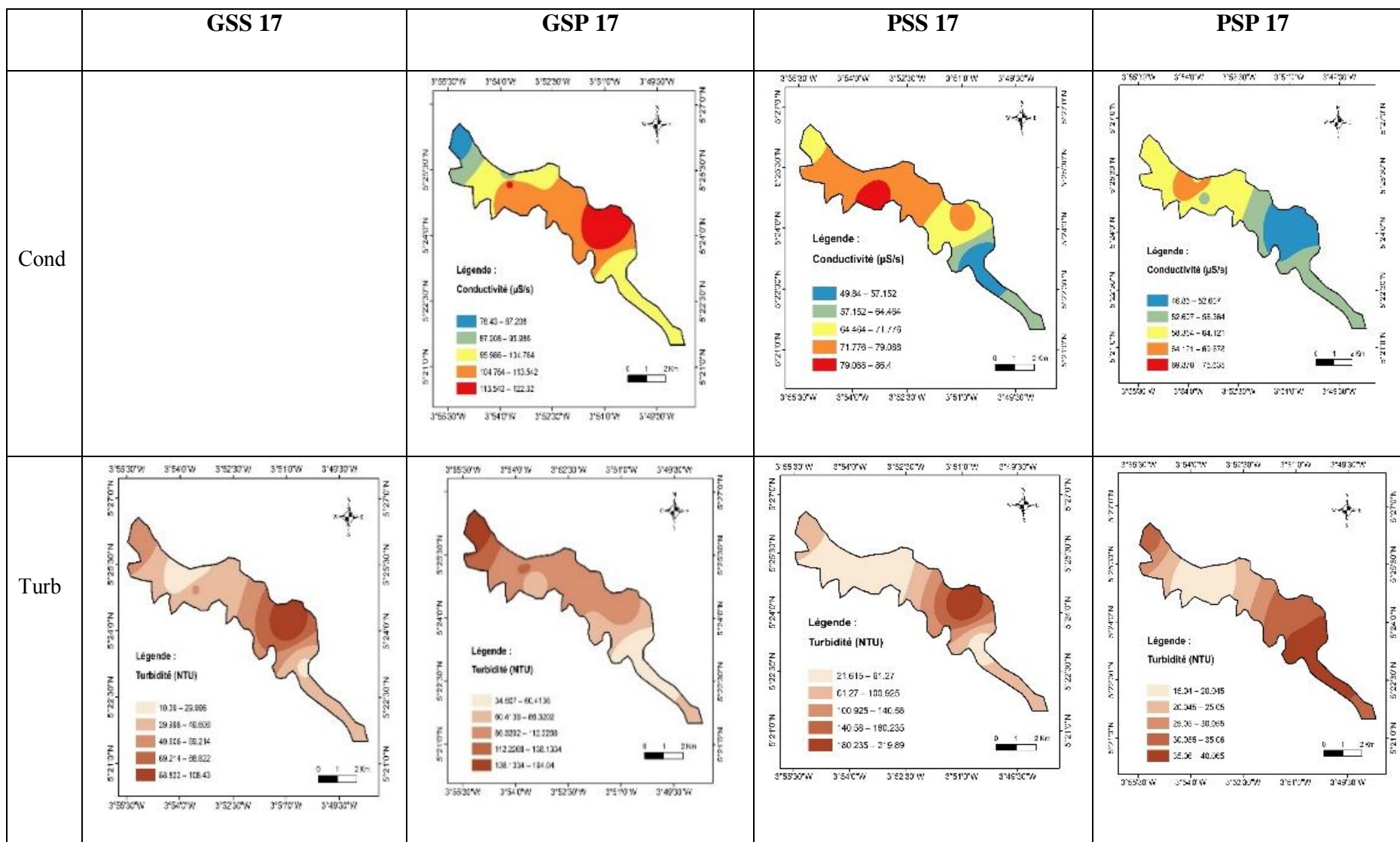


Figure 31: Variation spatio-saisonnière de la conductivité et de la turbidité de l'année 2017

Cond : Conductivité ; Turb : Turbidité ; GSS : Grande Saison sèche ; GSP : Grande Saison des pluies ; PSS : Petite Saison sèche ; PSP : Petite Saison des Pluies

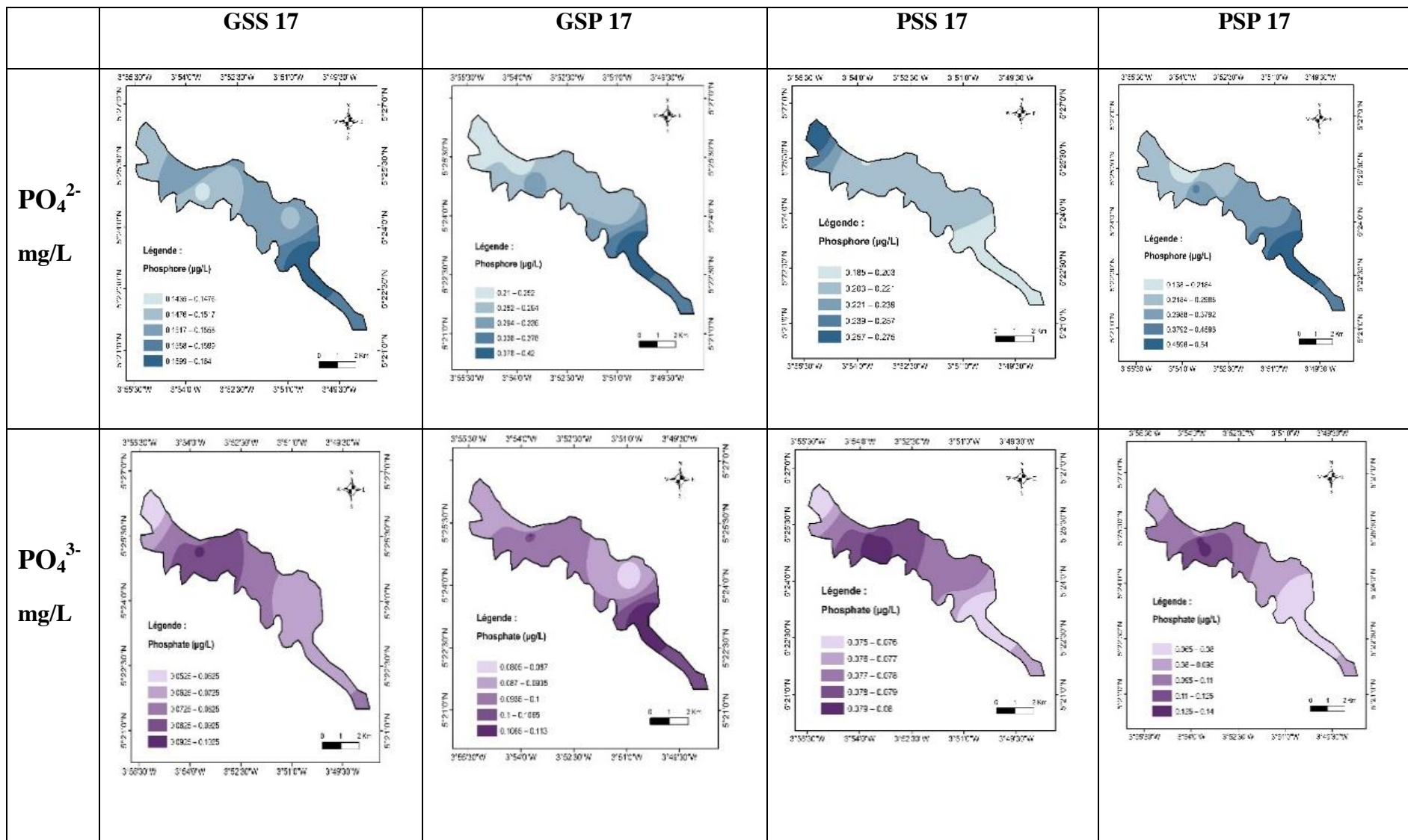


Figure 32 : Variation spatio-saisonniers de la teneur en phosphore et en orthophosphates de l'année 2017

PO₄²⁻ : Phosphore ; PO₄³⁻ : Orthophosphate, GSS : Grande Saison sèche ; GSP : Grande Saison des pluies ; PSS : Petite Saison sèche ; PSP : Petite Saison des Pluies

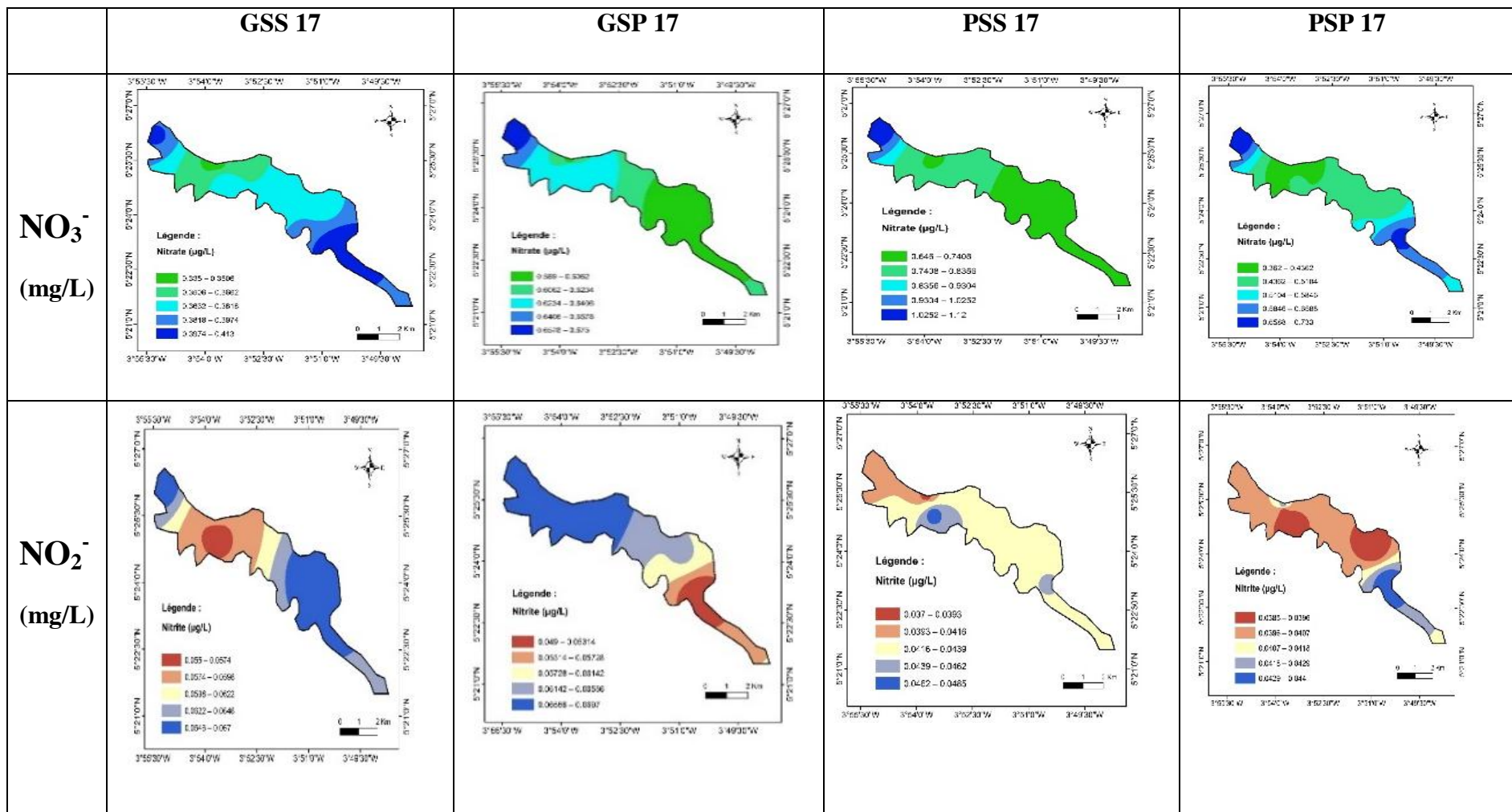


Figure 33 : Variation spatio-saisonnnière de la teneur en nitrites et en nitrates de l'année 2017

NO_3^- : Nitrate ; NO_2^- : Nitrite ; GSS : Grande Saison sèche ; GSP : Grande Saison des pluies ; PSS : Petite Saison sèche ; PSP : Petite Saison des Pluies

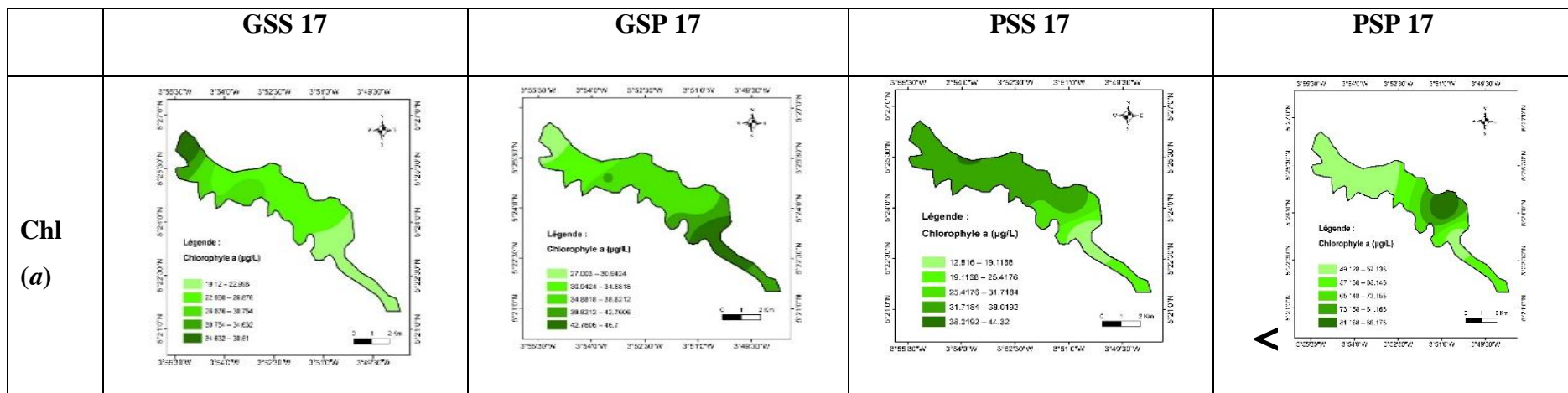


Figure 34 : Variation spatio-saisonnière de la biomasse chlorophyllienne de l'année 2017

Chl a : Chlorophylle a ; GSS : Grande Saison sèche ; GSP : Grande Saison des pluies ; PSS : Petite Saison sèche ; PSP : Petite Saison des Pluies

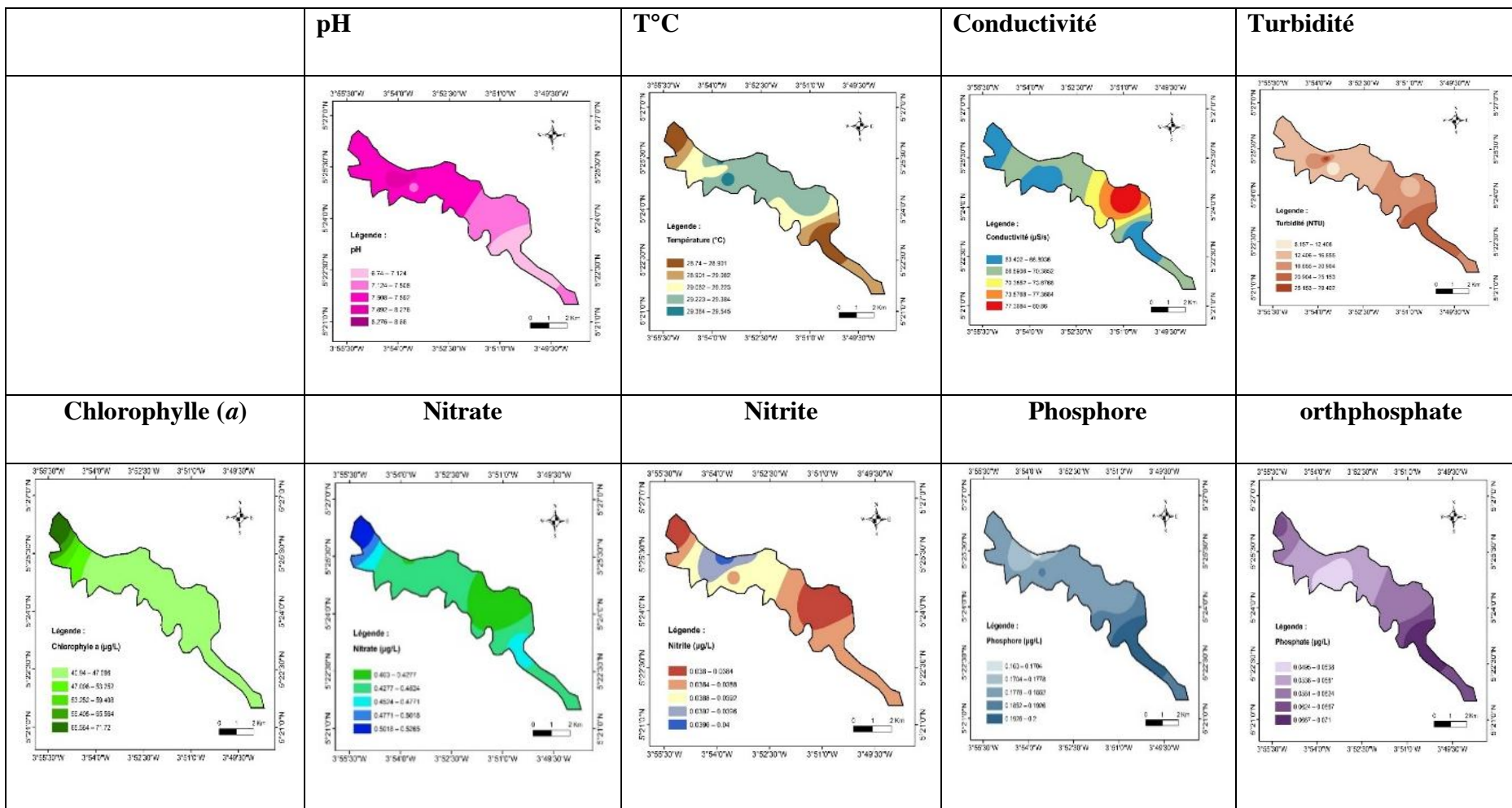


Figure 35 : Variation spatio-saisonnière des paramètres physico-chimiques et de la biomasse chlorophyllienne de l'année 2018

I-4- Typologie de la zone d'étude

L'analyse en composantes principales (ACP) a permis d'évaluer les principaux paramètres influençant la qualité des eaux de la lagune Aghien (**figure 36**).

Les composantes (facteur 1 et facteur 2) ont exprimé 68,17 % de la variation de l'ensemble de données. Le premier axe a exprimé 51,09% de la variance totale contre 17,08% pour le deuxième axe. Le cercle de corrélation a montré que la turbidité, le nitrate et le nitrite sont positivement corrélés à l'axe F1.

Le pH, la conductivité et la température sont corrélés négativement à l'axe F1. L'axe F2 est plutôt lié positivement au phosphore et au phosphate et négativement lié à la chlorophylle *a*

Pour la variation saisonnière des paramètres physico-chimiques considérés, il a été observé pendant les saisons pluvieuses des années 2016, des valeurs plus élevées de la turbidité, du nitrate et du nitrite et des valeurs faibles de conductivité, de température et de pH.

En 2017 et 2018, des valeurs élevées de pH, de conductivité et de température ont été observées pendant les saisons sèches.

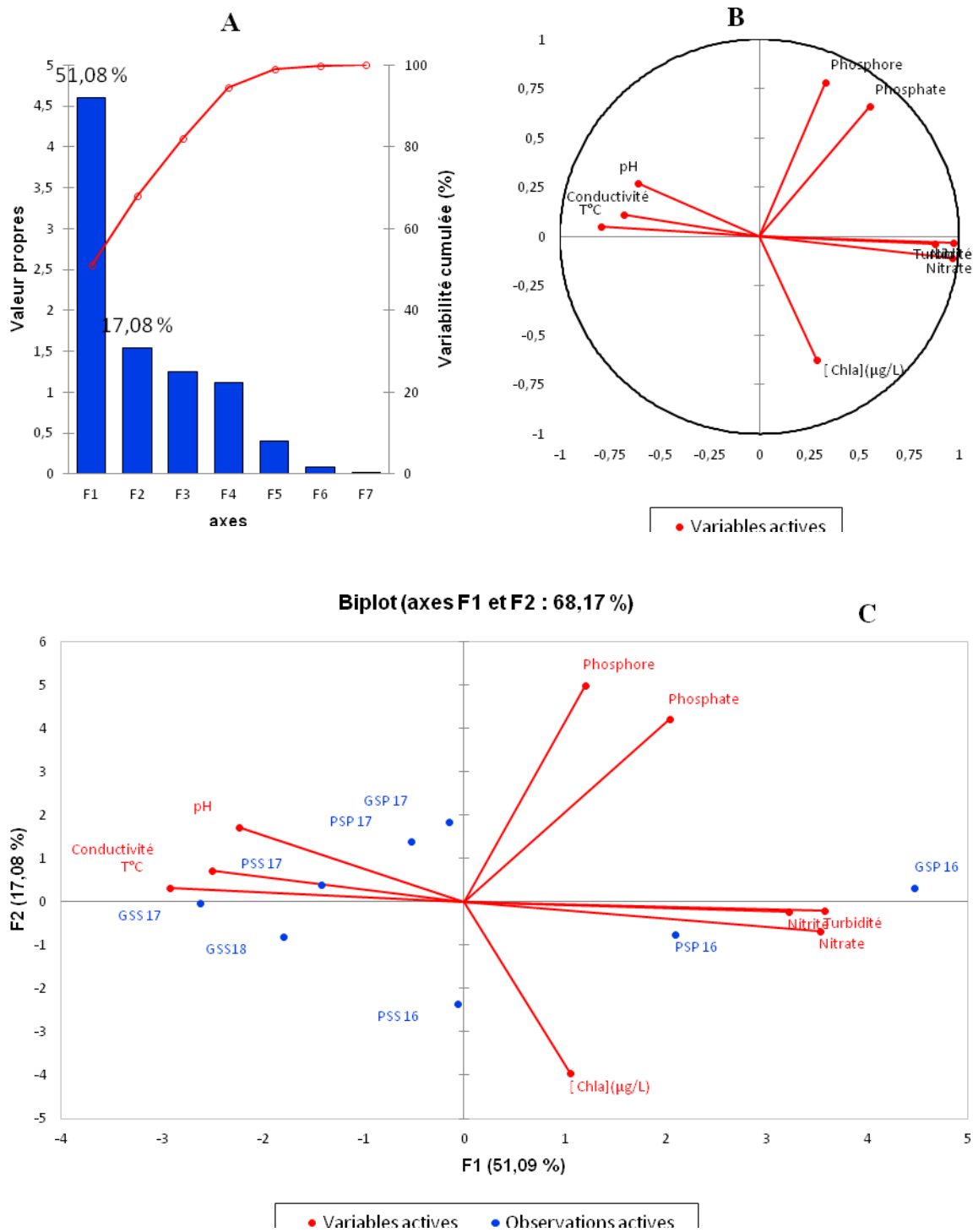


Figure 36 : Relation entre les paramètres physico- chimiques et les saisons
 A : Histogramme des valeurs propres ; B : Cercle de corrélation ; C : Carte factorielle ; Chl a : Chlorophylle a ; GSS : Grande Saison sèche ; GSP : Grande Saison des pluies ; PSS : Petite Saison sèche ; PSP : Petite Saison des Pluies, T°C : Température

I-5- Isolement des Cyanobactéries

I-5-1- Nombres de souches isolées

Trente-huit Cyanobactéries (27,77 %) ont été isolées dans les 126 échantillons et mise en culture. Il a été constaté un fort taux d'isolement de 23 souches (60,52 %) au cours du mois de mars 2017, suivi de 7 Cyanobactéries (18,42 %) au mois de février, puis 3 (7,9 %) en août 2016 et avril 2017 et enfin 1 Cyanobactérie (2,63 %) en juillet et septembre 2017.

I-5-2- Distribution spatio-temporelle des souches isolées

Au cours de ces mois de prélèvement, la station 3 a été le plus exploité compte tenu de son emplacement, suivi de la station 1, puis des stations 2 et 5 et enfin la station 4. Aucune souche n'a été isolée à la station 6.

I-5-3- Nombre de souches isolées en fonction du mode d'isolement

Au total, 1682 Cyanobactéries ont été isolées des 126 échantillons d'eau de lagune prélevés pendant cette étude. Sur l'ensemble des Cyanobactéries obtenues, 94,70% (n=1593) ont été isolées par la méthode direct et 5,30% (n=89) par la méthode d'ensemencement.

I-5-4- Nombre de Cyanobactéries obtenues après les repiquages successifs

Sur les 1682 cyanobactéries isolées, un total de 563 Cyanobactéries purifiées a été obtenu après avoir réitérés une dizaine de fois les repiquages successifs sur le milieu gélosé. 520 Cyanobactéries, soit un taux de 92,36% ont été obtenues par la méthode direct et 43 (7,64%) par la méthode d'ensemencement.

I-5-5- Nombre de Cyanobactéries obtenues après les transferts sur le milieu liquide

Les 563 Cyanobactéries obtenues après les différents repiquages successifs ont été transférés sur le milieu liquide. Après trois mois sur le milieu liquide, 38 souches de Cyanobactéries ont eu une croissance positive. Parmi ces souches, 30 provenaient de l'isolement direct et 8 obtenus à partir l'isolement par ensemencement.

I-5-6- Taux de Cyanobactéries obtenues après croissance

Sur un total de 1682 Cyanobactéries isolées, 38 ont eu une croissance positive, soit un taux de 2,25 % des Cyanobactéries isolées. 8,98% (n=8) obtenues à partir des 89 Cyanobactéries isolées par la méthode d'ensemencement et 1,88 % (n=30) obtenues à partir des 1593 Cyanobactéries isolées par la méthode d'isolement direct.

I-5-7- Taux de colonies de Cyanobactéries perdues pendant l'étude

Au cours de cette étude, 1682 Cyanobactéries ont été isolées par deux méthodes. Afin d'obtenir des souches pures, des repiquages successifs ont été effectués, 563 Cyanobactéries ont été

obtenues et transférées sur milieu liquide, soit une perte de 66,52% de Cyanobactéries. 38
Cyanobactéries ont eu une croissance positive sur ce milieu, soit une perte totale de 97,74%.

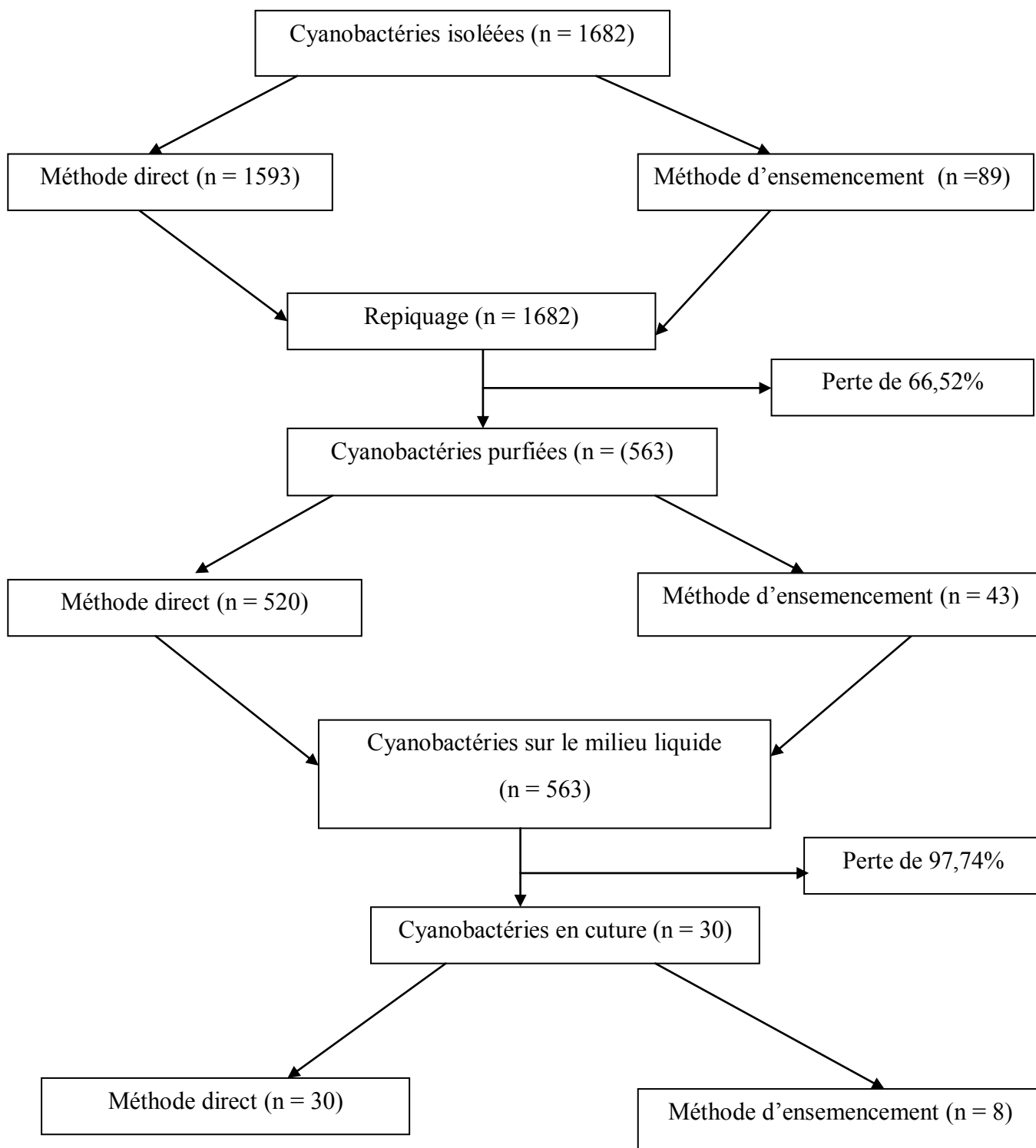


Figure 37 : Nombre de Cyanobactéries isolées, purifiées et mises en culture

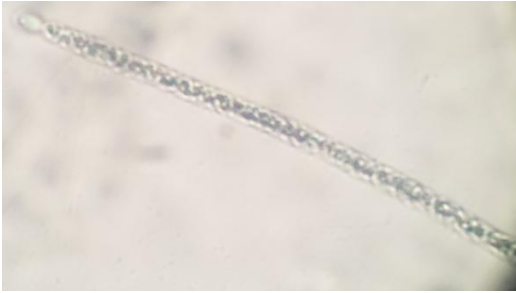
I-6- Étude qualitative des Cyanobactéries

I-6-1- Composition des Cyanobactéries en présence

Après l'examen microscopique, il a été inventorié un total de 12 genres repartis en 3 ordres : les Oscillatoriales, les Chroococcales et les Nostocales (**Figure 38**). Parmi ces Cyanobactéries les filamenteuses ont été les plus représentés. Les Oscillatoriales ont été les plus représentés (5/12) suivies des Chroococcales (4/12) et enfin les Nostocales (3/12) (**Tableau VII**).

Au cours de cette étude, les Cyanobactéries filamenteuses ont été les plus diversifiées (8/12) que les unicellulaires (4/12) (**Tableau VIII**).

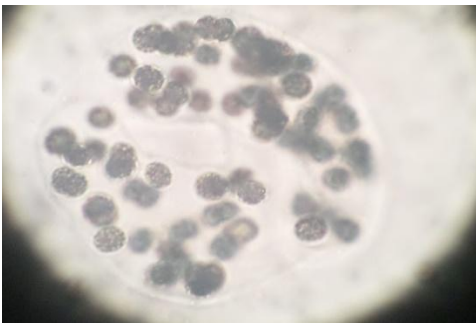
Au niveau spatial, les stations 2 et 3 ont été les plus diversifiées avec 11 genres observés tandis la station la moins diversifiée a été la station 6 située à l'embouchure avec en moyenne 4 genres observés.



A : *Cylindrospermopsis* sp (X400)



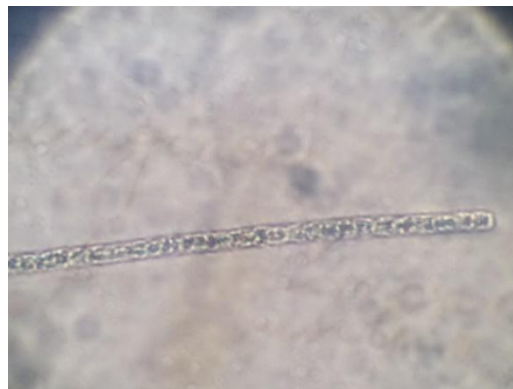
B : Trichomes d'*Anabaena* avec des cellules différenciées de types hétérocystes (X400)



C : Colonies de *Microcystis* (X400)



D : *Pseudanabaena* sp (X400)



E : Filament de *Planktothrix* sp (X400)

Figure 38 : Quelques genres de Cyanobactéries observés dans la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018 (Photo : Yao.D. R)

Tableau VII : Ordre et genres des Cyanobactéries observées

Ordre de classification	Genres de Cyanobactéries observées
Oscillatoriales	<i>Oscillatoria, Planktothrix, Lyngbya, Pseudanabaena, Limnothrix</i>
Chroococcales	<i>Microcystis, Chroococcus, Aphanocapa, Aphanothece</i>
Nostocales	<i>Anabaena, Cyndrospermopsis, Aphanizomenon</i>

Tableau VIII : Formes des différentes Cyanobactéries observées

Forme des Cyanobactéries observées	Genres de Cyanobactéries observées
Filamenteuses	<i>Oscillatoria, Planktothrix, Lyngbya, Pseudanabaena, Limnothrix</i> <i>Anabaena, Cyndrospermopsis, Aphanizomenon</i>
Coloniales	<i>Microcystis, Chroococcus, Aphanocapa, Aphanothece</i>

I-6-2- Pourcentage de fréquence des Cyanobactéries

Sur un total de 126 échantillons d'eau analysés, 12 genres de Cyanobactéries ont été identifiés. Le genre *Microcystis* et *chroococcus* ont été les plus représentés avec une fréquence de 100%, suivi des genres *Aphanocapsa* (95,45%), *Planktothrix* (90,90%), *Anabaena* et *Limnotrix* (86,36%), *Cylindrospermopsis* (81,81%), *Oscillatoria* (77,27%) et *Aphanizomenon* (72,72%).

Quant aux genres *Lyngbya* (68,18%) *Pseudanabaena* et *Aphanothece* (59,09%), ils ont été identifiés avec des proportions moindres (**Figure 39**).

Au cours de cette étude, les différents genres observés ont été présents de façon constante car toutes les Cyanobactéries ont été observées à une fréquence supérieure à 50%.

I-6-3- Genres potentiellement producteurs de métabolites secondaires

Parmi les 12 genres observés, 4 genres (33,33 %) sont considérés comme potentiellement producteurs de métabolites secondaires. Les principales Cyanobactéries potentiellement toxiques décrites dans la littérature ont été observées : *Microcystis*, *Anabaena*, *Planktothrix* et *Oscillatoria*.

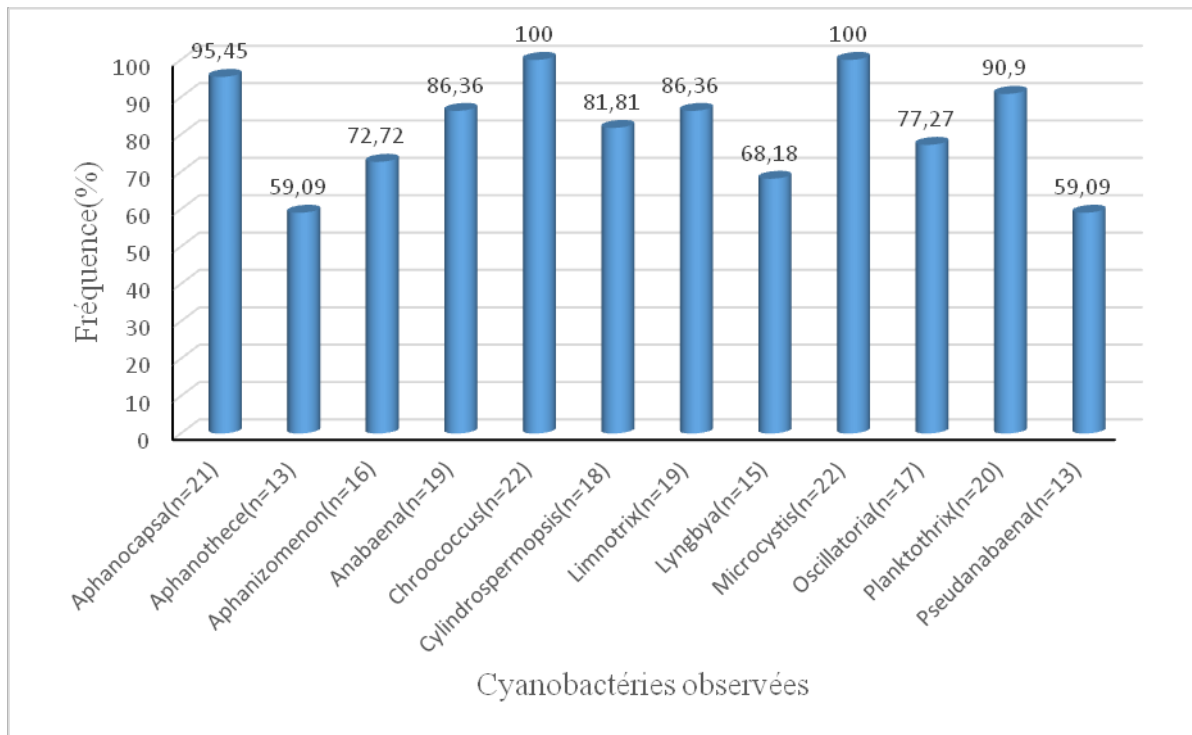


Figure 39 : Fréquence des Cyanobactéries observées dans les échantillons d'eau de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018

I-7- Analyses moléculaires

I-7-1- Identification moléculaire des Cyanobactéries

Un total de 22 extraits d'ADN ont été utilisés pour la recherche des différents gènes de synthèse des métabolites.

La PCR a permis de mettre en évidence des fragments d'ADN de 1500 pb correspondant à l'*ARNr 16S* spécifique aux Cyanobactéries (**Figure 40**). Ainsi, sur les 22 échantillons d'eau testés, la séquence du gène de l'*ARNr 16S* a été détectée dans 16 échantillons (72,72 %).

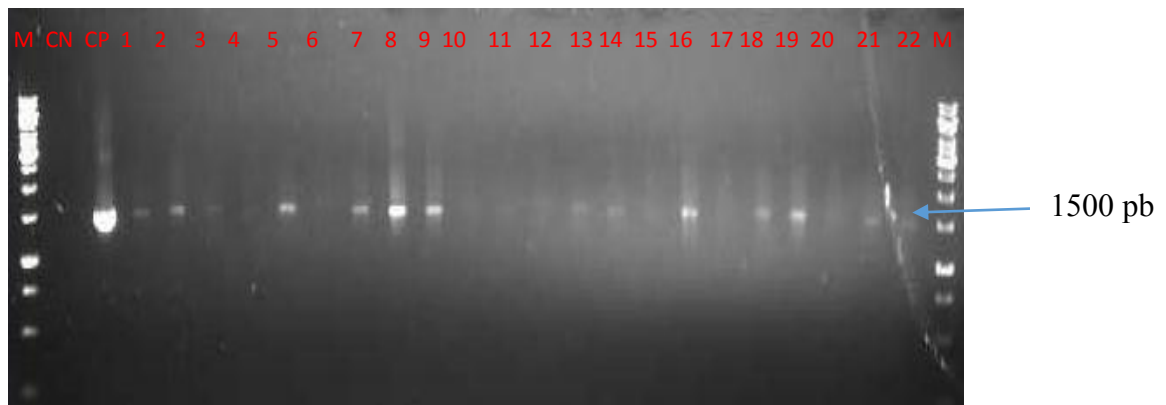


Figure 40 : Profil électrophorétique du cluster cible de *l'ARN 16 S* sur gel d'agarose à 1%

N°1 à 22 : Échantillons d'ADN de Cyanobactéries de la lagune Aghien (juin 2016 à mars 2018)

M : Marqueur de poids moléculaire (GeneRuler 1kb Ladder).

CN : Contrôle négatif (eau pour préparation injectable)

CP : Contrôle positif PCC 7806

I-7-2- Détection de gènes de métabolites secondaires

La recherche des différents gènes codant pour la synthèse des métabolites secondaires a été réalisée sur les échantillons positifs à l'ARN 16S par PCR classique. Sur un total de 16 échantillons analysés les gènes *mcyA*, *mcyD*, *mcnC*, *mdnB*, *aerN* ont été détecté avec des fréquences respectives de 93,75%, 62,5 %, 87,5%, 50% et 18,75 % (**Figure 41**).

L'analyse du profil électrophorétique a révélé la présence des gènes *mcyA*, *mcyD*, *mcnC*, *mdnB*, et *aerN* avec des tailles respectives de 291 pb (**A**), 281 pb (**B**), de 960 pb (**C**), 298 pb (**D**) et de 602 pb (**E**) [**Figure 42**].

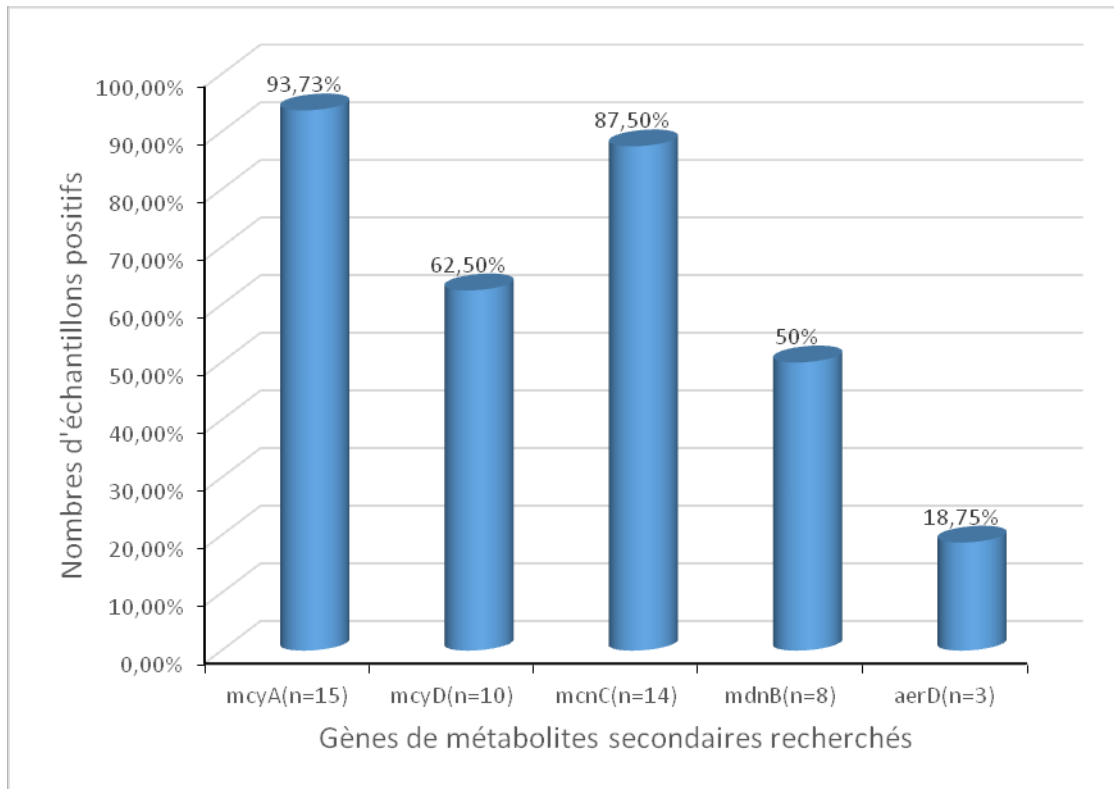
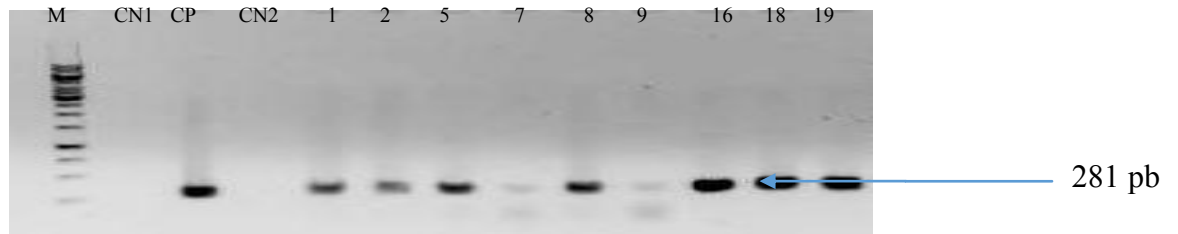


Figure 41 : Fréquence de *mcyA*, *mcyD*, *mcnC*, *mdnB* et *aerD* dans les échantillons d'eau de la lagune Aghien

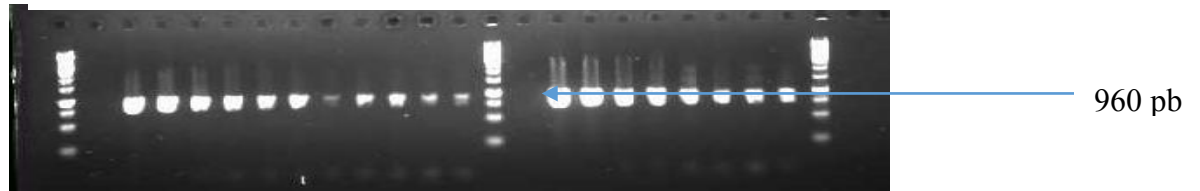


A : Profil électrophorétique du cluster cible *mcyA* sur gel d'agarose à 1%



B : Profil électrophorétique du cluster cible *mcyD* sur gel d'agarose à 1%

M CN CP1 CP2 12 5 7 8 16 18 19 20 M CN CP 1 CP 9 13 15 17 21 22 M



C : Profil électrophorétique du cluster cible *mcnC* sur gel d'agarose à 1%

M C CP CN 1 2 5 7 8 16 18 19 20 M C CP CN 2 9 13 15 17 2 22 M



D : Profil électrophorétique du cluster cible *mdnB* sur gel d'agarose à 1%

M CN CP CN2 1 2 5 7 8 16 18 19 20 9 13 15 17 2 1 22 M



E : Profil électrophorétique du cluster cible *aerD* sur gel d'agarose à 1%

Figure 42 : Profils électrophorétiques des gènes de métabolites secondaires

N°1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 et 22 : Échantillons d'ADN de Cyanobactéries de la lagune Aghien

M : Marqueur de poids moléculaire (GeneRuler 1kb Ladder).

CN : Contrôle négatif (eau pour préparation injectable)

CP1 : Contrôle positif PCC 7806

CP2:Contrôle positif PCC 7821.

I-7-3- Détection simultanée de gènes

Le gène *mcyA* étant commun à toutes les Cyanobactéries productrices de microcystine, parmi les 15 échantillons chez lesquels *mcyA* a été mis en évidence, les gènes *mcnC*, *mdnB* et *aerD* ont été retrouvés dans 14 (93,33%), 8 (53,33%) et 3 échantillons (20%), respectivement.

Le gène *mcyD* étant spécifique au genre *Microcystis*, parmi les 10 échantillons positifs à *mcyD*, les gènes *mcnC*, *mdnB*, et *aerD* ont été positifs respectivement dans 9 (90%), 6 (60%) et 3 échantillons (30%) (**Tableau IX**).

La non détection de gènes de microcystines, cyanopeptolines, microviridines, et aeruginosines a été observée dans un seul échantillon.

I-7-4- Genres responsables de la synthèse des métabolites

Des 14 échantillons positifs aux cyanopeptolines (*mcnC* mis en évidence), 10 (71,42%) contenaient le genre *Microcystis*. De même parmi les 8 échantillons positifs aux microviridines (*mdnB* mis en évidence), 6 (75%) contenaient le genre *Microcystis*. Enfin, en ce qui concerne la synthèse des aeruginosines (*aerD* retrouvé), le genre *Microcystis* était responsable de la production de l'aeruginosines dans les 3 échantillons (**Tableau X**). En définitive, le genre *Microcystis* est retrouvé dans la production des métabolites à une fréquence de 62,5% (10/16).

Tableau IX : Détection simultanée des différents gènes

Gènes recherchés	<i>mcyA/ mcnC</i>	<i>mcyA/mdnB</i>	<i>mcyA/aerD</i>
Fréquence de détection	93,33%	53,33%	20%
Gènes recherchés	<i>mcyD/ mcnC</i>	<i>mcyD/mdnB</i>	<i>mcyD/ aerD</i>
Fréquence de détection	90%	60%	30%

Tableau X : Genres responsables de la synthèse des métabolites secondaires

Cyanobactéries	Métabolites recherchés				
	<i>mcyA</i>	<i>mcyD</i>	<i>mcnC</i>	<i>mdnB</i>	<i>aerD</i>
<i>Microcystis</i>	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
<i>Anabaena</i>	Positif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
<i>Oscillatoria</i>	Positif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
<i>Planktothrix</i>	Positif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif

	Métabolites recherchés				
	<i>mcyA</i> (N=15)	<i>mcyD</i> (N=10)	<i>mcnC</i> (N=14)	<i>mdnB</i> (N=8)	<i>aerD</i> (N=3)
Echantillons contenant <i>Microcystis</i>	10 (100%)	10 (100%)	10 (71,42%)	6 (75%)	3 (100%)

II- Discussion

L'étude des variations spatio-temporelles des paramètres physico-chimiques des eaux de la lagune Aghien a permis de mettre en évidence plusieurs interactions entre les facteurs écologiques.

Il ressort que les valeurs de la température des eaux de la lagune Aghien sont élevées (25,89°C à 30,30°C). Ces résultats corroborent ceux de **Konan et al. (2008)** dans la lagune de Grand-Lahou et **Traoré et al. (2012)** dans la lagune Aghien. Ceux –ci confirment que les lagunes ivoiriennes atteignent leurs valeurs maximales de température (30 à 32 °C) en saison sèche. En effet, selon **Traoré et al. (2012)** pendant les périodes chaudes, les précipitations sont faibles et les apports d'eaux des rivières Djibi, Bété et Mé sont presque nuls (périodes d'étiage). Cette forte valeur de la température enregistrée pendant les saisons sèches entraîne une évaporation intense qui pourrait expliquer l'état basique de l'eau. Ce caractère basique de cette eau pourrait s'expliquer par des réactions physico-chimiques et biologiques des végétaux aquatiques. Selon **Kosten et al. (2011)**, la température est un facteur important dans la croissance des Cyanobactéries. Cette croissance s'accélère avec le réchauffement de l'eau et la disponibilité de l'oxygène dissous. Ainsi, une augmentation de la température est accompagnée par une diminution de l'oxygène dissous, suite à un important phénomène de photosynthèse. La photosynthèse tend à élever le pH alors que la respiration tend à l'abaisser.

Les valeurs du pH des eaux de la lagune Aghien pendant la période d'étude ont varié de 5,92 à 9,82. Ces valeurs sont dans le même ordre que celles mesurées dans la lagune Potou qui varient entre 6 et 9 (**N'Guessan, 2008**). Elles sont supérieures aux valeurs obtenues par **Traoré et al. (2012)** et **Niamien-Ebrottié et al. (2017)** dans la lagune Aghien.

Ce résultat pourrait être dû à une activité biologique très intense dans la lagune. En effet, la présence du phytoplancton qui inclut les Cyanobactéries est à l'origine de l'augmentation du pH dans l'eau. Grâce à la photosynthèse, il y a libération de l'oxygène dans l'eau, ce qui augmenterait sa concentration, et consommerait du CO₂ entraînant l'élévation du pH (**Ekou et al., 2011**).

Il faut signaler que la lagune Aghien a connu une floraison cyanobactérienne très importante au cours de la période d'étude révélée par l'étude microscopique et le dosage de la chlorophylle *a* qui confirme la contribution des Cyanobactéries dans l'élévation du pH de l'eau.

Les travaux d'**Amon et al. (2017)** et **Konan et al. (2017)** ont aussi montré que les fortes valeurs de la température pendant cette période favoriserait le phénomène d'auto-purification et augmenterait le taux de sédimentation des matières en suspension.

La valeur de la conductivité la plus élevée a été enregistrée pendant la grande saison des pluies. Ce résultat corrobore ceux d'**Amon et al. (2017)** et **Niamien–Ebrottié et al. (2017)** qui ont

constaté une forte conductivité pendant la saison pluvieuse. Ces fortes valeurs traduisent une forte minéralisation des eaux de cette lagune. Ce fait pourrait être attribué à l'apport d'eau des rivières Djibi et Bété, d'une part et, lié aux activités agricoles et aux pressions anthropiques des villages environnants d'autre part.

Concernant la répartition spatiale, les paramètres physico-chimiques montrent que la station 6 proche de l'embouchure de la rivière Mé est caractérisée d'une part, par des valeurs relativement plus basses du pH, de la température et de la turbidité et d'autre part, par des concentrations relativement plus élevées en phosphore total. Cette situation est due au fait que les embouchures reçoivent directement les eaux de ruissellement chargées de produits de lessivage des bassins versants et les eaux d'origine continentales riche en sels nutritifs et exposées à la turbidité. En effet, selon **Konan et al. (2017)** la lagune Aghien reçoit une quantité importante de matières organiques à travers les eaux usées. La décomposition de ces matières organiques enrichit le milieu en sels minéraux, ce qui expliquerait les fortes concentrations en ces sels nutritifs.

Par contre, les paramètres physico-chimiques obtenus à la station 3 située au village Akandjé montrent des valeurs élevées de phosphate, de nitrate, de température et de la turbidité, d'une part, et des basses valeurs la conductivité, du pH, des basses concentrations en phosphore et en nitrite .

Ces résultats pourraient s'expliquer, d'une part par le fait que les populations locales font directement la vaisselle, la lessive, et leurs bains dans ces eaux. Tous les produits utilisés à cet effet tels que les détergents, sont riches en composés phosphorés et azotés (**Konan et al., 2017**). Et d'autre part, que le nitrate et les orthophosphates proviendraient des engrais utilisés en agriculture en amont et autour de la lagune (**Atante et al., 2012**).

Du point de vue saisonnier, les paramètres environnementaux présentent des variations significatives. En effet, la saison sèche est caractérisée par des valeurs élevées de la température, du pH, et de la concentration en chlorophylle (*a*). Les fortes températures enregistrées en période sèche dues à la forte insolation pourraient augmenter les vitesses des réactions chimiques et biochimiques (**Groga, 2012**). La forte activité photosynthétique constatée pendant la saison sèche est favorisée par la turbidité basse qui laisse pénétrer les rayons du soleil dans la colonne d'eau (**Komoé et al., 2009**). Cette activité de photosynthèse est due au bloom algal qui libère de grandes quantités d'oxygène. Mais, en réalité, c'est la consommation de l'oxygène dissous lors de la dégradation microbienne de la matière organique qui est néfaste pour le milieu (**Assougnon et al., 2017**)

Au cours de cette période sèche, les résultats des analyses ont mis en évidence de faibles concentrations en nutriments, notamment en nitrate et en phosphore. Ces faibles concentrations en ces éléments pourraient s'expliquer par le fait qu'en période sèche, l'influence fluviale est faible. De plus, la poussée algale pourrait entraîner un épuisement du milieu en nitrate et phosphore

réactifs. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Seu-Anoï *et al.* (2014)** et **Yéo (2015)** respectivement dans la lagune de Grand-Lahou et dans la lagune Aghien.

Contrairement à la saison sèche, la période pluvieuse est caractérisée par des phénomènes inverses en ce qui concerne les variations saisonnières des paramètres physicochimiques. En effet, en périodes pluvieuses, les faibles valeurs du pH seraient dues à l'effet des dilutions liées aux apports d'eau douce des rivières et aux apports pluvieux. Pendant cette période, le pluvio-lessivage va entraîner une quantité plus importante de matières en suspension due au transport de particules organiques et minérales dans les lagunes. Ces particules augmentent considérablement la turbidité de l'eau. Les résultats obtenus corroborent ceux de **Seu-Anoï *et al.* (2014)** dans la lagune de Grand-lahou, **Niamien-Ebrottié *et al.* (2017)** dans la lagune Aghien.

Cependant, à cette période, les températures de ces eaux sont relativement faibles, cela pourrait être dû à la faible insolation favorisée par un ciel généralement couvert.

Les valeurs moyennes de la chlorophylle *a* obtenues au cours de cette étude dans la lagune Aghien ont varié de 28,26 µg/L à 95,05 µg/L avec des valeurs maximales obtenues pendant les saisons sèches. Ces valeurs traduisent une richesse en biomasse phytoplanctonique à travers une activité chlorophyllienne relativement dense. Pour **Salla *et al.* (2011)** et **Ouffoué *et al.* (2014)**, les fortes concentrations en chlorophylles *a* indiquent une biomasse et une richesse spécifique.

L'analyse du peuplement cyanobactérien de la lagune Aghien montre qu'elle peut être considéré comme riche et assez diversifiée. Cette richesse observée serait liée à la forte perturbation des écosystèmes due à l'apport de nutriments et à la stabilité des eaux lagunaires. Ce qui favoriserait les processus biologiques tels que les cycles complets de reproduction et de développement des Cyanobactéries. Cette richesse, en relation avec la stabilité des eaux, a été constatée par **Komoé *et al.* (2009)** et **Seu-Anoï (2012)**.

L'inventaire des Cyanobactéries réalisé dans cette étude au sein de la lagune Aghien de juin 2016 à mars 2018 a révélé la présence de 12 genres. Des proportions similaires ont déjà été retrouvées dans des travaux récents réalisés dans cette lagune (**Coulibaly *et al.*, 2017 ; Niamien-Ebrottié *et al.*, 2017**). Ces résultats diffèrent de ceux de **Berger (2005)** au Sénégal qui a mis en évidence 8 genres pendant la saison sèche lors de la déconnexion du lac Guiers avec ses affluents. Cette différence pourrait être liée aux différentes méthodes utilisées et aux caractéristiques propres à chaque milieu de récolte, mais surtout aux périodes de prélèvement (**Ouattara, 2000**).

Ainsi, en ne tenant compte que de la fréquence des genres producteurs de métabolites secondaires, il a été remarqué une forte présence du genre *Microcystis*, *Planktothrix*, *Anabaena* et *Oscillatoria*, ces résultats corroborent ceux de **Coulibaly *et al.* (2017)** et **Niamien-Ebrottié *et al.* (2017)**.

Cependant, le genre *Microcystis* a été le plus présent parmi les Cyanobactéries. Cette forte présence pourrait s'expliquer par le fait que ce genre est le plus répandu à travers le monde surtout lors des efflorescences (**El Ghazali et al., 2011**). Ce genre s'adapte à une multitude de conditions environnementales et est capable de proliférer sous des conditions extrêmes (**Meissner et al., 2014**). Cette adaptation peut être aussi attribuée à des stratégies développées par ces Cyanobactéries pour éviter d'être la cible des brouteurs que sont le zooplancton et les poissons phytophages. En effet, elles peuvent libérer des toxines (microcystines) pour se défendre contre les herbivores et les parasites (**Rohrlack et al., 2013**) et pour éliminer les compétiteurs qui se disputent les mêmes ressources.

Plusieurs études ont été menées sur l'isolement des Cyanobactéries et leur effet toxique ou bénéfique (**Oufdou et Oudra, 2009**), mais très peu concernant exclusivement l'isolement et la culture (**Coulibaly et al., 2014**). Pendant cette période d'étude, 38 Cyanobactéries ont été mises en culture. Ces résultats diffèrent de ceux de **Berger (2005)** ; **Oufdou et Oudra (2009)**, respectivement au Sénégal et au Maroc. Cette différence pourrait être attribuée à des paramètres tels que la composition du milieu de culture, le mode d'isolement et des variations de l'intensité lumineuse de la salle d'incubation. Il a été observé un fort taux d'isolement pour le mode d'isolement direct sous loupe binoculaire. Cela pourrait être dû au fait que les Cyanobactéries ont été repérées, puis prélevées une à une et mises en culture. Tandis que l'isolement sur gélose, une quantité de 100 µL a été prélevé pour l'ensemencement, cette quantité pourrait contenir une importante flore microbienne et algale variée dont la croissance rapide empêcherait considérablement l'isolement des Cyanobactéries (**Mezouari, 2017**). Ainsi, lors des différents essais de purification par la technique de repiquage successifs, il a été observé une perte importante de cyanobactéries. Ce qui pourrait être dû à une contamination par certaines bactéries ou champignons des géloses favorisée par les conditions de culture qui leur sont favorables. **Meseck et al. (2007)** ont observé une diminution de 13% du taux de croissance de Cyanobactéries en présence d'une communauté bactérienne alors que d'autres auteurs ont pu constater l'inhibition totale de la croissance (**Le Chavanton, 2013**). Au cours de cette étude, 38 Cyanobactéries ont eu une croissance positive sur le milieu utilisé. Certains travaux ont rapporté des proportions inférieures à celle obtenues dans cette étude. C'est le cas des études menées par **Oufdou et Oudra (2009)** au Maroc qui ont isolées et mises en culture 10 Cyanobactéries dans des échantillons prélevés sur 4 sites différents. En France, **Wilame et Hoffman (2005)** ont isolés 11 Cyanobactéries dans des échantillons prélevés sur 8 sites du bassin d'Artois-Picardie. D'autres études ont, cependant, rapporté des fréquences plus élevées, **Berger (2005)** a isolé 57 Cyanobactéries dans des échantillons de mai 2002. Cette différence de résultat pourrait être attribuée au mode d'isolement utilisé, à la composition du milieu de culture ou aux différentes variations de l'intensité lumineuse

de la salle de culture. En effet, toutes les études citées ci-dessus ont utilisé des milieux de culture différents à celui utilisé dans cette étude, mais un protocole d'isolement identique. **Oufdou et Oudra (2009)** et **Berger (2005)** ont utilisé la méthode d'ensemencement suivi des différents repiquages, mais des milieux de cultures différents, à savoir, les milieux liquides et solides BG13 et Z8 avec ou sans azote. Par contre, **Wilame et Hoffman (2005)** ont utilisé le milieu de culture BG11 supplémenté d'antibiotique et la méthode d'ensemencement suivi des différents repiquages.

Le taux de croissance des Cyanobactéries sur le milieu BG11 pourrait s'expliquer par le développement de champignons et autres bactéries présents dans les fioles contaminant ainsi les différentes cultures. Ce développement de champignons et autres bactéries inhibe parfois le développement des Cyanobactéries. Ce fait a été remarqué par **Roger et Reynaud (1977)** en France et **Gugger et Couté (2006)** au Burkina Faso.

Les conditions physico-chimiques du milieu de culture pourraient empêcher le développement des Cyanobactéries. C'est ainsi que plusieurs auteurs ont montré qu'outre les conditions physico-chimiques adéquates à un bon fonctionnement, certaines espèces excrètent dans le milieu où elles vivent des substances toxiques empêchant le développement d'espèces concurrentes. Ceci a été montré par **Tassigny et Lefèvre (1971)** pour les algues d'eau douce non thermale. Un autre fait qui pourrait influencer la croissance des Cyanobactéries est l'intensité lumineuse de la salle de culture. A cet effet, toutes les cyanobactéries ne se développent pas dans la même gamme d'intensité lumineuse, certaines ont besoin d'une faible intensité tandis d'autres une forte intensité.

L'inventaire et la détection des Cyanobactéries ont été faits par la microscopie et par la méthode moléculaire en ciblant le gène *ARNr 16S*. A la microscopie, les Cyanobactéries ont été retrouvées dans tous les échantillons, tandis que l'analyse moléculaire n'a été positive que dans 72,72 % (16) des échantillons. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Glowacka et al. (2011)** en Pologne et **Coulibaly et al. (2014)** en Côte d'Ivoire. En effet, la non détection de l'*ARNr 16S* ne signifie pas une absence de Cyanobactéries. Mais elle pourrait être liée à la présence des inhibiteurs dans les échantillons (**Coulibaly et al., 2014**).

Le gène *mcy* code pour la synthèse de la microcystine, une toxine qui serait impliqué dans divers intoxications humaines et animales à travers le monde (**El Ghazali et al., 2011**). Les gènes *mcyA* et *mcyD* ont été mis en évidence avec des proportions respectives de 93,75% et 62,5 %. Le fort taux obtenu pendant cette étude pourrait être due à la présence des Cyanobactéries ont le potentiel à produire la microcystine (métabolite cyclique avec un groupement ADDA qui lui confère sa toxicité).

Des travaux antérieurs réalisés en Côte d'Ivoire ont également rapporté la présence du gène *mcyD* dans 14 échantillons sur 75, soit une positivité de 18,67% (**Coulibaly, 2014**).

Cependant, en ce qui concerne les autres métabolites secondaires, c'est la première fois en Côte d'Ivoire que les gènes *mcnC*, *mdnB*, *aerD* qui codent respectivement pour la synthèse des cyanopeptolines, des microviridines et des aeruginosines ont été recherchés et mis en évidence.

mcnC qui code pour la synthèse des cyanopeptolines a été détecté dans des échantillons positifs à *mcyA* alors que ce gène est spécifique aux Cyanobactéries potentiellement productrices de microcystines, notamment les genres *Microcystis*, *Anabaena* et *Planktothrix*. Ce résultat pourrait être dû à la présence de ces cyanobactéries. Ces genres sont connus pour posséder ce cluster de gènes. Nos résultats corroborent ceux de **Rouhiainen et al. (2000)** et **Tooming-Klunderud et al. (2007)**

Quant au gène *mdnB*, il a été détecté dans 50% des échantillons. En effet, ce gène spécifique à *Microcystis* a été détecté dans les échantillons positifs à *mcyD*. Mais deux échantillons ont donné des résultats positifs à *mdnB* et négatif à *mcyD*. Ce résultat pourrait être dû à la présence des espèces de *Microcystis wesenbergii* ou *Microcystis ichthyoblabe* dans les échantillons. Ces deux espèces de *Microcystis* selon **Faster et al. (2001)** et **Welker et al. (2004)** ne contiennent pas de microcystines, mais d'autres métabolites secondaires.

Les aeruginosines (*aer*) ont été détectés moins fréquemment que les microcystines (*mcy*), les cyanopeptolines (*mcn*) et les microviridines (*mdn*). Nos résultats sont similaires à ceux de **Welker et al., 2004** ; **Kurmayer et al. (2011)** et **Grabowska et al. (2014)** ont démontré cette plus faible fréquence de ce métabolite / microcystines dans les populations de *Microcystis* ou *Planktothrix*.

Pour ce qui est de la co-expression de ces différents gènes, les résultats ont montré la présence de microcystines et d'autres métabolites dans les différents échantillons. Ainsi, sur les 15 échantillons positifs à microcystines, 14, 8 et 3 étaient positifs respectivement à cyanopeptolines, microviridines et aeruginosines. Ces résultats confirment ceux de **Welker et al. (2006)** qui ont signalé un pourcentage élevé (57%) de co-expression de microcystines et cyanopeptolines.

Si nous détectons des présences simultanées de ces gènes, il est recommandé de chercher ces métabolites dans les eaux de la Lagune Aghien.

Il faut aussi signaler que dans cette étude, l'accent a été mis sur le genre *Microcystis* avec des amorces qui lui sont spécifiques à savoir *mcyD-F/R*, *mdnB fw/rv* et *AeRrv4 / Reduct-rv* pour la recherche respective de microcystines, microviridines et aeruginosines. Les métabolites secondaires courants ont été microcystines, cyanopeptolines (71,42%) et microviridines (75%). Ces résultats sont en contradiction avec ceux de **Welker et al. (2006)** et **Martins et al. (2009)** qui ont constaté que les aeruginosines, les cyanopeptolines et les microcystines étaient les peptides les plus fréquemment détectés par MS MALDI-TOF dans des colonies individuelles du genre *Microcystis*.

Cette étude a donc montré la présence des Cyanobactéries pouvant produire en même temps les métabolites toxiques et métabolites non toxiques.

Les métabolites recherchés et détectés dans la lagune Aghien à part les microcystines peuvent avoir une importance dans l'industrie pharmaceutique. Les aeruginosines inhibent les sérines protéases (**Anas *et al.*, 2012**), ce qui est en fait une molécule importante dans le développement de médicaments contre plusieurs maladies humaines.

Les cyanopeptolines sont connues comme des inhibiteurs de la trypsine, de la chymotrypsine, de l'élastase et de la plasmine (**Gademan *et al.*, 2010**). Elles peuvent être utilisées pour traiter l'asthme et les infections virales (**Singh *et al.*, 2011**).

CONCLUSION & PERSPECTIVES

À l'issue de ce travail, il ressort que l'ensemble des recherches réalisées a permis d'évaluer la qualité des eaux de la lagune et la biomasse chlorophyllienne, de recenser et d'isoler les Cyanobactéries. La recherche des gènes a permis de montrer que les Cyanobactéries de la lagune ont la capacité à synthétiser d'autres métabolites autre que microcystines

Le suivi des paramètres physico-chimiques de la lagune Aghien a permis de mettre en évidence une évolution relativement importante de la conductivité et des sels nutritifs (phosphore et phosphate). Il ressort que la lagune Aghien est soumise à un apport en sels nutritifs d'origine autochtone ou exogène liée au pluvio-lessivage du bassin versant.

La station 6 proche de l'embouchure de la rivière Mé est relativement riche en sels nutritifs. Cette forte concentration en sels nutritifs est dû au fait que la lagune Aghien reçoit des eaux de ruissellement et des eaux continentales.

Du point de vue temporel, la température, le pH, la conductivité et de la concentration en chlorophylle (*a*) étaient plus élevées pendant la saison sèche tandis que les concentrations en nutriments étaient plus basses. Contrairement à la saison sèche, la période pluvieuse est caractérisée par des faibles valeurs du pH et de la conductivité et des concentrations en sels nutritifs élevées.

Les teneurs en chlorophylle (*a*) varient de 28,26 µg/L à 95,05 µg/L avec des valeurs maximales obtenues pendant les saisons sèches. Ces valeurs supérieures à la norme (10 µg/L) font de la lagune Aghien un lac eutrophe.

Sur le plan qualitatif, l'étude menée a permis d'inventorier 12 genres de Cyanobactéries dont 4 potentiellement producteurs de métabolites secondaires. Ces genres sont présents pendant toute la période d'étude (juin 2016 - mars 2018), alors que les paramètres physico-chimiques étaient relativement stables

Bien que les Cyanobactéries soient présentes toute l'année dans ce plan d'eau, il s'est avéré beaucoup plus difficile de les isoler en culture monoclonale au laboratoire (croissance lente, contamination rapide par certains champignons...)

La détection moléculaire des Cyanobactéries récoltées a mis en évidence la présence de gènes codant pour plusieurs métabolites secondaires (*mcy*, *mcn*, *mdn*, et *aer*) dans la lagune et pendant toute la période d'étude (pas seulement de la microcystine).

Ce potentiel n'implique pas une production de ces métabolites secondaires mais démontre une capacité à le faire. Il faut développer des méthodes de détection de plusieurs types de métabolites.

Utilisation de l'eau de la lagune Aghien

- Localement lors du lavage du manioc servant à la fabrication de l'attiéké, placali, gari. Y a-t-il un transfert de la microcystine dans nos plats ?
- La santé animale de la faune locale ?
- Pour l'eau potable de la ville d'Abidjan : qu'en est-il de la surveillance des Cyanobactéries et de leurs toxines comme la microcystine ?
- Et les autres métabolites et les variants de ces métabolites, qui ne sont pas règlementés par l'OMS mais potentiellement présent dans les Cyanobactéries de la lagune Aghien ?

Il ressort de ce travail que l'utilisation de ce plan d'eau par des populations vivants aux alentours pour leurs activités domestiques d'une part et par les autorités ivoiriennes pour la production d'eau potable d'autre part doit obéir à des exigences afin de préserver la santé des populations.

Pour mieux appréhender la problématique des Cyanobactéries et des métabolites secrétés par celles-ci il serait intéressant de :

- Identifier et quantifier les cyanopeptolines, les aeruginosines et les microviridines produites par les Cyanobactéries de la lagune Aghien afin de confirmer effectivement la production de ces métabolites secondaires,
 - Séquencer les gènes *mcy*, *mcn*, *mdn*, et *aer* recherchés dans les Cyanobactéries,
 - Développer de nouvelles méthodologies permettant l'isolement et la culture des Cyanobactéries afin de déterminer les activités antibactériennes et antifongiques vis-à-vis de certaines souches pathogènes responsables d'infections nosocomiales des substances bioactives élaborées par celles-ci.
- A plus grande échelle, l'étude réalisée sur le phytoplancton de la lagune Aghien pourrait être menée sur d'autres retenues d'eau d'intérêt stratégique pour la Côte d'Ivoire.
- Enfin, on pourrait utiliser des méthodes complémentaires comme des approches génomiques et métagénomiques pour mener ce type d'investigation.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

- Adamou M., Lhou B. A., Nazoumou Y. & Alloke G., 2015.-** Impacts des facteurs climatiques et anthropiques sur les ressources et la qualité des eaux de la mare de Tabalak Mahaman. *International Journal Biological Chemical Sciences*, **9** : 1665 - 1677.
- Adon M. P., Ouattara A. & Gourène G., 2011.-** Seasonal variation in the diversity and abundance of phytoplankton in a small African tropical reservoir. *African Journal of Microbiology Research*, **5** : 2616 - 2626.
- Adon M. P., Ouattara A. & Gourène G., 2012.-** Phytoplankton composition of a shallow African tropical reservoir (Adzopé, Côte d'Ivoire). *Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences*, **1** : 1189 - 1204.
- Adou A. R. E., 1999.** Contribution à la connaissance des algues de la lagune Tendo à N'Guiémé (Côte d'Ivoire). Mémoire de Diplôme d'études Approfondies de l'Université de Cocody Abidjan, Côte d'Ivoire, 96 p.
- Agha R. & Quesada A., 2014.-** Oligopeptides as biomarkers of cyanobacterial subpopulations. Toward an understanding of their biological role. *Toxins*, **6** : 1929 - 1950.
- Aghui N., Achour B. & Biémi.J., 1984.-** Géologie et hydrogéologie des nappes de la région d'Abidjan. Risques de contamination. *Annales de l'Université Nationale de Côte d'Ivoire, Série C (Sciences)*, **20**: 313-347.
- Albay M., Matthiensen A. & Codd G. A., 2005.-** Occurrence of toxic blue-green algae in the Kucukcekmece Lagoon, Istanbul (Turkey). *Environmental Toxicology*, **20** : 277 - 284.
- Alexova R., Fujii M., Birch D., Cheng J., Waite T. D., Ferrari B. C. & Neilan B.A., 2011.-** Iron uptake and toxin synthesis in the bloom-forming *Microcystis aeruginosa* under iron limitation. *Environmental Microbiology*, **13** : 1064-1077.
- Aminot A. & Chaussepied M., 1983.-** Manuel des analyses chimiques en milieu marin. Centre National pour l'Exploitation des Océans (CNEXO) (eds.), Brest, France, 395 p.
- Amon L. N., Konan K. L., Coulibaly S., Andji Y. Y. P., Coulibaly K. J., Oyetola S. & Dosso M., 2017.-** Characterization and typology of Aghien lagoon waters (South-East of Côte d'Ivoire) : Potential resources for drinking water production. *Journal of Applied Chemistry (IOSR-JAC)*, **1** : 01 - 07.

- Anas A. R. J., Kisugi T., Umezawa T., Matsuda F., Campitelli M. R., Quinn R. J. & Okino T. 2012.**- Thrombin inhibitors from the freshwater cyanobacterium *Anabaena compacta*. *Journal of Natural Products*, **75** : 1546 – 1552.
- Arnison P. G., Bibb M. J., Bierbaum G., Bowers A. A., Bugni T. S., Bulaj G., Camarero J. A., Campopiano D. J., Challis G. L. & Clardy J., 2013.** -Ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide natural products : Overview and recommendations for a universal nomenclature. *National Institutes of Health*, **30** : 108 - 160.
- Assougnon D. L., Agadjihouèdé H., Kokou K. & Lalèyè A. P., 2017.**- Caractérisation physico-chimique et diversité du peuplement phytoplanctonique des mares au sud de la réserve de faune de Togodo (sud-Togo). *International Journal Biological Chemical Sciences*,**11** : 1920-1936.
- Atanle K., Moctar L., Bawa M. K., Kokou K. & Gbandi D. B., 2012.**- La caractérisation physicochimique et diversité phytoplanctonique des eaux du lac de Zowla (Lac Boko), au Togo. *Journal of Applied Biosciences*, **64** : 4847- 4857.
- Atanle K., Bawa M. L., Kokou K., Djaneyeboundjou G. & Edoth M.T., 2013.**- Distribution saisonnière du phytoplancton en fonction des caractéristiques physico-chimiques du lac de zowla (lac boko) dans le sud- est du togo, *Journal of Applied Biosciences*, **64** : 4847- 4857.
- Azevedo S. M. F. O., Carmichael W. W., Jochimsen E. M., Rinehart K. L., Lau S., Shaw G. R. & Eaglesham G. K., 2002.**- Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru. *Brazil Toxicology*, **182** : 441 - 446.
- Bahl J., Lau M. C. Y., Smith G. J. D., Vijaykrishna D., Cary S. C., Lacap D. C., Lee C. K., Papke R. T., Warren-Rhodes K .A., Wong F. K. Y., McKay C. P. & Pointing S. B., 2011.**- Ancient origins determine global biogeography of hot and cold desert cyanobacteria. *Nature Communications*, **2** : 1 - 6.
- Bajpai R., Naveen K. S. & Ashwani K. R., 2010.**- Anticancerous / antiviral compounds from cyanobacteria. *Algas*, **43** : 1 - 5.
- Banack S. A., Caller T. A. & Stommel E W., 2010.** - The cyanobacteria derived toxin beta-N-methylamino-L-alanine and amyotrophic lateral sclerosis. *Toxins*, **2** : 2837 - 2850.

- Berger C., 2005.**- Cyanobactéries du bas Delta du fleuve Sénégal : Diversité, toxicité, toxines et risques associés. Thèse du Muséum National d'Histoire Naturelle. Ecole Doctorale des Sciences de la Nature et de l'Homme, Paris, 204 p.
- Bernard C., 2014.**- Les cyanobactéries et leurs toxines. *Revue Francophone des Laboratoires*, **460** : 53 – 68.
- Beversdorf L. J., Weirich C. A., Bartlett S. L. & Miller T. R., 2017.**- Variable cyanobacterial toxin and metabolite profiles across six eutrophic lakes of differing physiochemical characteristics. *Toxins*, **9** : 62 - 83.
- Blottière L., Jaffar-Bandjee M., Jacquet S.E., Millot A. & Hulot F.D., 2016.** Effects of mixing on the pelagic food web in shallow lakes. *Freshwater Biology*, **3**: 1 - 17
- Brient L., Legeas M., Leitao M. & Peigner P., 2004.**- Etude interrégionale grand ouest sur les cyanobactéries en eau douce. Université de Rennes 1, France, 82 p.
- Cadel-Six S., Peyraud-Thomas C., Brient L., Tandeau de Marsac N., Rippka R. & Annick M., 2007.**- Different genotypes of anatoxin-producing cyanobacteria coexist in the Tarn River (France). *Applied and Environmental Microbiology*, **23** : 7605 - 7614.
- Carey C. C., Ibelings B. W., Hoffmann E. P., Hamilton D. P. & Brookes J. D., 2012.** - Eco-physiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. *Water Resources*, **46** : 1394-1407.
- Carmichael W. W. & Boyer G. L., 2016.**- Health impacts from cyanobacteria harmful algae blooms: Implications for the north American great lakes. *Harmful Algae*, **54** : 194 - 212.
- Chen J., Yan T., Xu J., He S., Zhao P. & Yan X., 2012.**- Simultaneous determination of toxins in algae and water samples by high-performance liquid chromatography with triple quadrupole mass spectrometry. *Journal Separation Sciences*, **35** : 1094 - 1101.
- Cheroux M. & Roose E., 1966.** - Les sols du bassin sédimentaire de Côte d'Ivoire. O.R.S.T.O.M. Adiopodoumé, multig, pp. 51-92.
- Conradie K. & Barnard S., 2017.** The dynamics of toxic *Microcystis* strains and microcystin production in two hypertrophic South African reservoirs. *Harmful Algae*, **20** : 1-10.

- Coulibaly K. J., 2014.** Cyanobactéries :- Etude écosystématique, caractérisation moléculaire et facteurs de virulence. Thèse de Doctorat de l'Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, 222 p.
- Coulibaly K. J., Coulibaly N. D., Grogga N., Niamien- Ebrottié J. E., Koffi K. S., Koudougou M., Amon L., Ouattara A., Ehuié P., Sylla A., Cissé B. & Dosso M., 2014.** Detection of potentially toxic *Microcystis* and cyanobacteria by molecular method in Côte d'Ivoire. *The Experiment*, **26** : 1775 - 1787.
- Coulibaly K. J., Grogga N., Soumahoro M. K., Koudougou M., Ebrottié-Brou J. E., Kouassi-Haouley M. T., Ouattara A., Faye-Ketté H. & Dosso M., 2014.-** Essai préliminaire de mise en œuvre de culture de cyanobactérie en Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **8** : 551 - 565.
- Coulibaly K. J., Soumahoro M. K., Niamien-Ebrottié J. E., Yéo K., Amon L., Djaman A. J. & Dosso M., 2017.-** Déterminisme de la prolifération des cyanobactéries toxiques en Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **11** : 266 - 279.
- Cox P. A., Banack S. A., Murch S. J., Rasmussen U., Tien G., Bigidare R. R., Metcalf J. S., Morrison L. F., Codd G. A. & Bergman B., 2005.-** Diverse taxa of cyanobacteria produce β -N-methylamino-L-alanine, a neurotoxin amino acid. *Proceeding of National Academy of Sciences*, **102** : 5074 - 5078.
- Dahles D., 2013.-** Contribution à l'évaluation de la qualité physico-chimique des eaux de l'Oued el Gourzi et l'Oued el Madher (région de Batna). Mémoire de Master de Université Larbi Ben M'Hidi Oum El Bouaghi, Algerie, 139 p.
- Dajoz R., 2000.-** Précis d'écologie. *Dunod*, 7ème édition, Paris, France, 615 p.
- Davis T. W., Berry D. L., Boyer G. L. & Gobler C. J., 2009.-** The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms. *Harmful Algae*, **8** : 715 - 725.
- Delor C., Diaby I., Yao S., Yao B., Tastet J.P., Vidal M., Chiron J.C. & Dommagnet A. 1992. -** Notice explicative de la Carte Géologique de la Côte d'Ivoire au 1/200 000. Feuille de Grand-Bassam. Mémoire de la Géologie de Côte d'Ivoire, 4, 30 p
- Dittmann E., Fewer D. P. & Neilan B. A., 2013.-** Cyanobacterial toxins : Biosynthetic routes and evolutionary roots. *FEMS Microbiology Reviews*, **37** : 23 - 43.

- Dixit R. B. & Suseela M. R., 2013.-** Cyanobacteria : Potential candidates for drug discovery. *Antonievan Leeuwenhoek*, **103** : 947 - 961.
- Dolman A. M., Rûcker J., Pick F. R., Fastner J., Rohrlack T., Mischke U. & Wiedner C., 2012.-** Cyanobacteria and cyanotoxins: the influence of nitrogen versus phos-phorus. *PLoS One*, **7** : 1 - 14.
- Downing J. A., Watson S. B. & McCauley E., 2001.-** Predicting cyanobacteria dominance in lakes. *Canada Journal Fisheries Aquatic Sciences*, **58** : 1905 - 1908.
- Effebe K. R., N'tain Y. J., Dabissi N. D., Diallo S., Tra Bi Z. A., Nguetta F., Hela K., Kamagaté B., Goné D. L., Jean Louis P. & Séguis L., 2017.-** Activities and uses of Aghien lagoon (South-East of Côte d'Ivoire). *Journal of Water Resource and Protection*, **9** : 11 - 19.
- Ekou L., Ekou T., Koffi N. J. & Dje J., 2011.-** Variations temporelles des paramètres physicochimiques et biotiques de deux écosystèmes aquatiques de la lagune Ebrié. *European Journal of Scientific Research*, **58** : 414 - 422.
- El Ghazali I., Saqrane S., Saker M., Youness O., Oudra B., Vasconcelos V. & Del Campo F. F., 2011.-** Caractérisation biochimique et moléculaire d'efflorescences à cyanobactéries toxiques dans le réservoir Lalla Takerkoust (Maroc). *Revue des Sciences de l'Eau*, **24** : 117 - 128.
- Faassen E J., 2014.-** Presence of the neurotoxin BMAA in aquatic ecosystems: what do we really know? *Toxins*, **6** : 1109 - 1138.
- Faltermann S., Zucchi S., Kohler E., Blomb J. F., Pernthaler J. & Fent K., 2014.-** Molecular effects of the cyanobacterial toxin cyanopeptolin (CP1020) occurring in algal blooms : Global transcriptome analysis in zebrafish embryos. *Aquatic Toxicology*, **149** : 33 - 39.
- Fastner J., Erhard M. & Von Döhren H., 2001.-** Determination of oligopeptide diversity within a natural population of *Microcystis spp.* (cyanobacteria) by typing single colonies by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Applied and Environmental Microbiology*, **67** : 5069 - 5076.
- Feurstein D., Kleinteich J., Stemmer K. & Dietrich D., 2010.-** Organic anion transporting polypeptides expressed in primary murine neuronal cells mediate microcystin congener-dependent uptake. *Environmental Health Perspectives*, **118** : 1370 - 1375.

- Fewer D. P., Jokela J., Paukku E., Osterholm J., Wahlsten M., Permi P., Rouhiainen L., Gomez-Saez G. V. & Sivonen K., 2013.-** New structural variants of aeruginosin produced by the toxic bloom forming cyanobacterium *Nodularia Spumigena*.. *Plos one*, **8** : 1 - 10.
- Gademann K., Portmann C., Blom J. F., Zeder M. & Jüttner F., 2010.-** Multiple toxin production in the cyanobacterium *Microcystis* : Isolation of the toxic protease inhibitor cyanopeptolin 1020. *Journal Natural Production*, **73** : 980 - 984.
- Gan N., Xiao Y., Zhu L., Wu Z., Liu J., Hu C. & Song L., 2012.-** The role of microcystins in maintaining colonies of bloom-forming *Microcystis* spp. *Environmental Microbiology*, **14** : 730 - 742.
- Gao Q. & Garcia-Pichel F., 2011.-** Microbial ultraviolet sunscreens. *Nature Review Microbiology*, **9** : 791 - 802.
- Gehring M. M., Shephard E. G., Downing Tim G., Wiegand C. & Neilan B. A., 2004.-** An investigation into the detoxification of microcystine LR by the glutathione pathway in balb/c mice. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **36** : 931 - 941.
- Gehring M., Adler L., Roberts A. A., Moffitt M. C., Mihali T. K., Mills T. J. T., Fieker C. & Neilan B. A., 2012.-** Nodularin, a cyanobacterial toxin, is synthesized in planta by symbiotic *Nostoc* sp. *International Society for Microbial Ecology*, **12** : 1834 - 1647.
- Girardin-Andreani C., 2005.-** Spiruline : Système sanguin, système immunitaire et cancer. *Phytothérapie*, **3** : 158 - 161.
- Głowacka J., Szefel-Markowska M., Waleron M., Łojkowska E. & Krzysztof W., 2011.-** Detection and identification of potentially toxic cyanobacteria in Polish water bodies. *Acta Biochimica Polonica*, **58** : 321 - 333.
- Grabowska M., Kobos J., Torun´ska-Sitarz A. & Mazur-Marzec H., 2014.-** Non-ribosomal peptides produced by *Planktothrix agardhii* from Siemianówka Dam Reservoir SDR (Northeast Poland). *Archives of Microbiology*, **196** : 697 - 707.
- Groga N., 2012.-** Structure, fonctionnement et dynamique du phytoplancton dans le lac de Taabo (Côte d'Ivoire). Thèse unique de l'Université de Toulouse, France, 224 p.

- Guellati F Z., 2018.-** Diversité, dynamique spatiotemporelle et toxicité potentielle des cyanobactéries dans deux plans d'eau (Réservoir Hammam Debagh et lac Oubeira). Thèse de Doctorat de l'Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie, 165 p.
- Gugger M., Molica R., Le Berre B., Dufour P., Bernard C. & Humbert J F., 2005.-** Genetic diversity of *Cylindrospermopsis* strains (Cyanobacteria) isolated from four continents. *Applied And Environmental Microbiology*, **71** : 1970 - 1100.
- Gugger M. & Couté A., 2006.-** Diversité et toxicité des cyanobactéries dans les ressources en eau au Burkina Faso. Institut de Recherche pour le Développement UR167-CYROCO, 32 p.
- Guiry M. D. & Guiry G. M., 2008.-** AlgaeBase. Worldwide electronic publication, National University of Ireland, Galway, [http : //www.algaebase.org](http://www.algaebase.org), visited on 15 December 2018.
- Harke M. J., Steffen M. M., Gobler C. J., Otten T. G., Wilhelm S. W., Wood S. A. & Paerl H. W., 2016.-** A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis spp.* *Harmful Algae*, **54** : 4 - 20.
- Harland F., Wood S., Molchanova E., Williamson W. & Gaw, S., 2013.-** *Phormidium autumnale* growth and anatoxin-a production under Iron and copper stress. *Toxicon*, **5** : 2504 - 2521.
- Hastie C. J., Borthwick E. B., Morrison L. F., Codd G. A. & Cohen P. T., 2005.-** Inhibition of several protein phosphatases by a non-covalently interacting microcystin and a novel cyanobacterial peptide, nostocyclin. *Biochimica of Biophyica Acta*, **1726** : 187 - 193.
- Havens K E., 2008.-** Cyanobacteria blooms : Effects on aquatic ecosystems. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **619** : 733 - 747.
- Heath M.W., Wood S. A., Barbieri R. F., Young R. G. & Ryan K. G., 2014.-** Toxicon Effects of nitrogen and phosphorus on anatoxin-a, dihydrohomoanatoxin-a production by *Phormidium autumnale*. *Toxicon*, **92**, 179 - 185.
- Hellier P., Purton S. & Ladommatos N., 2015.-** Molecular structure of photosynthetic microbial biofuels for improved engine combustion and emissions characteristics. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **49** : 1 - 12.

- Hisbergues M., Christiansen G., Rouhiainen L., Sivonen K. & Borner T., 2003.-** PCR-based identification of microcystin-producing genotypes of different cyanobacterial genera. *Archives of Microbiology*, **180** : 402 - 410.
- Hoffmann L., Komárek J. & Kaštovský J., 2005.-** System of Cyanoprokaryotes (Cyanobacteria). State 2004. *Algological Studies*, **117** : 95 - 115.
- Holtcamp W., 2012.-** The emerging science of BMAA: do cyanobacteria contribute to neurodegenerative disease? *Environmental Health Perspectives*, **120** : 110 – 116.
- Horst G. P., Sarnelle O., White J. D., Hamilton S. K., Kaul R. B. & Bressie J. D., 2014.-** Nitrogen availability increases the toxin quota of a harmful cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*. *Water Resource*, **54** : 188 - 198.
- Humbert JF., 2012.-** Lagune Aghien. Rapport sur la mission, Abidjan, 25 p.
- Hynes A. M., Webb E. A., Doney S. C. & Waterbury J. B., 2012.-** Comparison of cultured *Trichodesmium* (cyanophyceae) with species characterized from the field 1. *Journal of Phycology*, **48** : 196 - 210.
- Imanishi S., Kato H., Mizuno M., Tsuji K. & Harada K., 2005.-** Bacterial degradation of microcystin and nodularin. *Chemical Research Toxicology*, **18** : 591 - 598.
- Ishida K., Christiansen G., Yoshida W. Y., Kurmayer R., Welker M., Valls N., Bonjoch J., Hertweck C., Borner T., Hemscheidt T. & Dittmann E., 2007.-** Biosynthesis and structure of aeruginoside 126 A and 126 B, cyanobacterial peptide glycosides bearing a 2-carboxy-6-hydroxyoctahydroindole moiety. *Chemistry of Biology*, **14** : 565 - 576.
- Ishida K., Welker M., Christiansen G., Cadel-Six S., Bouchier C., Dittmann E., Hertweck C. & Tandeau de Marsac N., 2009.-** Plasticity and evolution of aeruginosin biosynthesis in cyanobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, **75** : 2017 - 2026.
- Issola Y., 2010.-** Étude des caractéristiques climatiques, hydro-chimiques et de la pollution en métaux lourds d'une lagune tropicale : La lagune de Fresco (Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat unique de l'Université de Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire, 177 p.
- Itou Y., Suzuki S., Ishida K. & Murakami M., 1999.-** Anabaenopeptins G and H, Potent Carboxypeptidase A inhibitors from the cyanobacterium *Oscillatoria agardhii* (NIES-595). *Bioorganic & Medical Chemistry Letters*, **9** : 1243 - 1246.

- Jacoby J M., Collier D. C., Welch E. B., Hardy F. J. & Crayton M., 2000.**- Environmental factors associated with a toxic bloom of *Microcystis aeruginosa*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **57** : 231 - 240.
- Jiang Y., Song G., Pan Q., Yang Y. & Li R., 2015.**- Identification of genes for anatoxin-a biosynthesis in *Cuspidothrix issatschenkoi*. *Harmful Algae*, **46** : 43 - 48.
- Johansen J. R., Bohunická M., Lukešová A., Hřčková K., Vaccarino M. A. & Chesarino N M., 2014.**- Morphological and molecular characterization within 26 strains of the genus *Cylindrospermum* (Nostocaceae, Cyanobacteria), with descriptions of three new species. *Journal of Phycology*, **50** : 187 - 202.
- John D. M., Whitton B. A. & Brook A. J., 2003.** -The Freshwater algal flora of the British Isles, an identification guide to freshwater and terrestrial algae. Cambridge University Press, Cambridge, USA, 702 p.
- Kehoe D. M. & Gutu A., 2006.**- Responding to color : The regulation of complementary chromatic adaptation. *Annual Review of Plant Physiology*, **57** : 127 - 150.
- Kodani S., Ishida K. & Murakami M., 1998.**- Aeruginosin 103A, a thrombin inhibitor from the cyanobacterium *Microcystis viridis*. *Journal of Natural Product*, **61** : 1046 - 1048.
- Koffi K. J. P., N'go Y. A., Yeo K. M., Koné D. & Savané I., 2014.**- Détermination des périmètres de protection de la lagune Aghien par le calcul du temps de transfert de l'eau jusqu'à la lagune. *Larhyss Journal*, **19** : 19 - 35.
- Komárek J. & Anagnostidis K., 1989.**- Modern approach to the classification system of Cyanophytes 4- Nostocales. *Algological Studies / Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes* **56** : 247 - 345.
- Komárek J. & Anagnostidis K., 2005.** *Cyanoprokaryota 2, Oscillatoriales* (2nd Part) Büdel B., Krienitz L., Gärtner G., Schagerl M (Eds.). Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/2. Elsevier/Spektrum, Heidelberg, 759 p.
- Komárek J., Kaštovský J. & Jezberová J., 2011.**- Phylogenetic and taxonomic delimitation of the cyanobacterial genus *Aphanothece* and description of *Anathece* gen. nov. *European Journal Phycology*. **46** : 315 - 326.

- Komárek J., Kaštovský J., Mareš J. & Johansen J R., 2014.-** Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera), using a polyphasic approach. *Preslia*, **86** : 295 - 335.
- Komárek J., Sant'Anna C., Bohunická M., Mareš J., Hentschke G., Rigonato J. & Fiore M., 2013.-** Phenotype diversity and phylogeny of selected *Scytonema*-species (Cyanoprokaryota) from SE Brazil. *Fottea*, **13** : 173 - 200.
- Komárková J., Jezberová J., Komárek O. & Zapomělová E., 2010.** Variability of *Chroococcus* (Cyanobacteria) morphospecies with regard to phylogenetic relationships. *Hydrobiologia*, **639** : 69-83.
- Komoé K., Da K. P., Kouassi A.M., Aka N. M., Kamanzi A. K. & Adingra A. A., 2009.-** Seasonal distribution of phytoplankton in Grand-Lahou lagoon (Côte d'Ivoire). *European Journal of Scientific Research*, **26** : 329 - 341.
- Komoé K., 2010.** Distribution du phytoplancton dans le complexe lagunaire de Grand-Lahou en Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat de l'Université de Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire, 282 p.
- Konan K. S., Kouassi A. M., Adingra A. A., Dongui B. K. & Dago G., 2008.-** Variations saisonnières des paramètres abiotiques des eaux d'une lagune tropicale : La lagune de Grand-Lahou, Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research*, **21** : 376 - 393.
- Konan E S., 2014.-** Distribution spatio-temporelle du peuplement phytoplanctonique avec les facteurs abiotiques de la lagune de Fresco (Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat de l'Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire, 172 p.
- Konan S. K., Kouakou B. K., Ohou M. J., Konan F. K. & Dongui K B., 2017.-** Variation saisonnière des paramètres abiotiques de la lagune Aghien (Côte d'Ivoire). *Journal Applied Biosciences*, **120** : 12042 - 12052.
- Kosten S., Huszar V., Becares E., Costa L., Van Donk E., Hansson L A., Jeppessn E., Kruk C., Lacerot G., Mazzeo N., De Meester L., Moss B., Lurling M., Noges T., Romo S. & Scheffer M., 2011.** -Warmer climate boosts cyanobacterial dominance in shallow lakes. *Global Change Biology*, **18** : 118-126.
- Kouani A., Jamali S. E. & Talbi M., 2007.-** Analyse en composantes principales. Une méthode factorielle pour traiter les données didactiques. *Radisma*, **2** : 1-18.

- Kouassi B. A. T., Adon M. P., Komoé K. & Ouattara A., 2015.-** Cyanobacteria from a shallow reservoir in Côte d'Ivoire. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, **7** : 136 - 149.
- Kuniyoshi T. M., Sevilla E., Bes M. T., Fillat M. F. & Peleato M. L., 2013.-** Phosphate deficiency (N/P 40 : 1) induces *mcyD* transcription and microcystin synthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806. *Plant Physiology and Biochemistry*, **65** : 120 - 124.
- Kurmayer R., Deng L. & Entfellner E., 2016.-** Role of toxic and bioactive secondary metabolites in colonization and bloom formation by filamentous cyanobacteria *Planktothrix*. *Harmful Algae*, **54** : 69 - 86.
- Lahrouni M., Oufdou. & Oudra B., 2015.-** Occurrence of cyanobacteria producing toxins in irrigation freshwaters: which impacts on crop quality and public health? *Journal of Materials and Environmental Sciences*, **6** : 2986 - 3001.
- Laplace-Treytore C., Barbe J., Dutartre A., Druart J.C., Rimet F. & Anneville O., 2009.-** Protocole standardisé d'échantillonnage, de conservation, d'observation et de dénombrement du phytoplancton en plan d'eau pour la mise en œuvre de la DCE. Rapport Cemagref, 44 p.
- Latifi A., Ruiz M. & Zhang, C., 2009.-**Oxidative stress in cyanobacteria *FEMS Microbiology Review*, **33** : 258-278.
- Lauzanne L., 1976.-** Régimes alimentaires et relations trophiques des poissons du lac Tchad. *Cahier de l'O.R.S.T.O.M, série Hydrobiologie*, **10** : 267 - 310.
- Le Chevanton M., 2013.-** Interactions microalgues-bactéries en système expérimental bispécifique : Effets sur la croissance de *Dunaliella sp.* Thèse de l'Université de Nantes. Ecole Doctorale Véném Végétal Environnement Nutrition Agro-alimentaire Mer, Nantes, 198 p.
- Legrand B., 2017.-** Caractérisation des proliférations nostocaléennes anciennes et futures via les akinètes présents dans les sédiments. Thèse de doctorat de l'Université Clermont Auvergne, France, 273 p.
- Leitão M. & Couté A., 2005.-** Guide pratique des cyanobactéries planctoniques du Grand Ouest de la France. AESN (Ed.), 63 p.

- Levi Y., Harvey M. & Cervantès P., 2006.-** Évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et de leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et aux autres activités récréatives. Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (AFSSET) : Cyanobactéries et cyanotoxines. Paris, France, 227 p.
- Liu M., Johnston M. B. & Snaith H. J., 2013.-** Efficient planar heterojunction perovskite solar cells by vapour deposition. *Nature*, **501** : 395 - 398.
- Lorenzen C. J., 1967.-** Determination of chlorophyll and pheopigments : Spectrophotometric equations. *Limnology and Oceanography*, **12** : 343 - 346.
- Loza V., Berrendero E., Perona E. & Mateo P., 2013.-** Polyphasic characterization of benthic cyanobacterial diversity from biofilms of the Guadarrama River (Spain) : morphological, molecular and ecological approaches 1. *Journal of Phycology*, **49** : 282 - 297.
- Mareš J., Hauer T., Komárek J. & Compère P., 2013.-** Proposal to conserve the name *Gloeotheca* (Cyanophyceae) with a conserved type. *Taxon*, **62** : 1056 - 1058.
- Marmen S., Aharonovich D., Grossowicz M., Blank L., Yacobi Y. & Sher D., 2016.-** Distribution and habitat specificity of potentially toxic *Microcystis* across climate, land and water use gradients. *Frontiers in Microbiology*, **7** : 271 - 285.
- Martin C., Oberer T. L., Ino W. A., König M., Busch. & Weckesser J., 1993.-** Cyanopeptolins, new depsipeptides from the cyanobacterium *Microcystis* sp. PCC 7806. *Journal of Antibiotics*, **46** : 1550 - 1556.
- Martins J., Saker M. L., Moreira C., Welker M., Fastner J. & Vasconcelos V. M., 2009.-** Peptide diversity in strains of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* isolated from Portuguese water supplies. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **82** : 951 - 961.
- Mazur-Marzec H., Fidor A., Ceglowska M., Wiczerzak E., Kropidłowska M., Goua M., Macaskill J. I. D. & Edwards C., 2018.-** Cyanopeptolins with trypsin and chymotrypsin inhibitory activity from the cyanobacterium *Nostoc edaphicum* CCNP1411. *Marine Drugs*, **16** : 1 - 19.
- McGregor G. B., 2013.-** Freshwater cyanobacteria of North-Eastern Australia : 2. *Chroococcales*, **133** : 1 - 130.

- Meissner S., Steinhauser D. & Dittmann E., 2014.-** Metabolomic analysis indicates a pivotal role of the hepatotoxin microcystin in high light adaptation of *Microcystis*. *Environmental Microbiology*, **17** : 1497 - 1509.
- Méjean A. & Ploux O., 2013.-** A genomic view of secondary metabolite production in cyanobacteria. In : *Genomics of Cyanobacteria*. Advances in Botanical Research : *Academic Press*, **65** : 189 - 234.
- Méjean A., Paci G., Gautier V. & Ploux O., 2014.-** Biosynthesis of anatoxin-a and analogues (anatoxins) in cyanobacteria. *Toxicon*, **91** : 1 - 8.
- Merel S., Walker D., Chicana R., Snyder S., Baurès E. & Thomas O., 2013.-** State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. *Environmental International*, **59** : 303 - 327.
- Meseck S. L., Smith B. C., Wikfors G. H., Alix J. H. & Kapareiko D., 2007.-** Nutrient interactions between phytoplankton and bacterioplankton under different carbon dioxide regimes. *Journal of Applied Phycology*, **19** : 229 – 237.
- Mezouari S., 2017.-** Isolement et caractérisation des microorganismes à intérêt biotechnologique de la région de Sidi Bel Abbes. Thèse de doctorat de l'Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes, Algérie, 129 p.
- Mikhailov A., Harmala-Brasken A. S, Hellman J., Meriluoto J. & Eriksson J. E., 2003.-** Identification of ATP-synthase as a novel intracellular target for microcystin-LR. *Chemico-Biological Interactions* **142** : 223 - 237.
- Misson B., 2011.-** Potentiel toxique et structure génétique de population de *Microcystis* en lien avec les différentes phases de son cycle de vie. Thèse de Doctorat de l'Université Clermont-Ferrand II Blaise Pascal, France, 246 p.
- N'Guessan Y A., 2008.-** Analyse morphologique, sédimentologique et environnement de dépôts des sédiments superficiels des lagunes Adjin et Potou (Zone littorale de la Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat de l'Université de Cocody, Abidjan, 145 p.
- Ndong M., 2014.-** Évaluation des facteurs associés à l'occurrence des cyanobactéries à la prise d'eau et modélisation de leur distribution spatio-temporelle. Thèse de Doctorat de l'Université de Montréal, Quebec, 182 p.

- Neilan B. A., Jacobs D., Dot T. D., Blackall L. L., Hawkins P. R., Cox P. T. & Goodman A E., 1997.**- rRNA sequences and evolutionary relationships among toxic and nontoxic cyanobacteria of the genus *Microcystis*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **47** : 693 - 697.
- Neilan B. A., Pearson L. A., Muenchhoff J., Moffitt M. C. & Dittmann E., 2013.**- Environmental conditions that influence toxin biosynthesis in cyanobacteria. *Environmental Microbiology*, **15** : 1239 - 1253.
- Niamien-Ebrottié J. E., Mouso H. G., Coulibaly K. J., Ouattara A., Gourène G. & Dosso M., 2017.**- Spatial and seasonal dynamic of phytoplankton abundance in Aghien lagoon, Côte d'Ivoire. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, **20** : 1198-1209.
- Numann U., Forchet A., Flurry T. & Weckessen J., 1997.**- Microginin FR1, a linear peptide from a water bloom of *Microcystis* species. *FEMS Microbiology Letters*, **153** : 475 - 478.
- Nunnery J. K., Mevers E. & Gerwick W H., 2010.**- Biologically active secondary metabolites from marine cyanobacteria. *Current Opinion Biotechnology*, **21** : 787 - 793.
- Okello W., Portmann C., Erhard M., Gademann K. & Kurmayer R., 2010.**- Occurrence of microcystin-producing cyanobacteria in Ugandan freshwater habitats. *Environment of Toxicology*, **25** : 367 - 380.
- O'Neil J. M., Davis T. W., Burford M. A. & Gobler C. J., 2012.**- The rise of harmful cyanobacteria blooms: the potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful Algae*, **14** : 313 - 334.
- Ostermaier V., Schanz F., Köster O. & Kurmayer R., 2012.**- Stability of toxin gene proportion in red-pigmented populations of the cyanobacterium *Planktothrix* during 29 years of re-oligotrophication of Lake Zürich. *BioMed Central Biology*, **10** : 1 - 16.
- Otten T. & Paerl H., 2015.**- Health effects of toxic cyanobacteria in U.S. drinking and recreational waters: our current understanding and proposed direction. *Current Environmental Health Reporting*, **2** : 75 - 84.
- Ouattara A., 2000.**- Premières données systématiques et écologiques du phytoplancton du lac d'Ayamé (Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat de l'Université Catholique de Leuven, Belgique, 200 p.

- Ouellet M., 2012.-** Ecotoxicologie des toxines des cyanobactéries. Essai présenté au centre Universitaire de formation en environnement en vue de l'obtention du grade de Maître en environnement de l'Université de Sherbrooke, Québec, Canada, 59 p.
- Oufdou K. & Oudra B., 2009.-** Substances bioactives élaborées par des cyanobactéries isolées de certains écosystèmes aquatiques marocains. *Afrique Science*, **5** : 260 - 279.
- Ouffoué K. S., Salla M., Yapo D. K., Soro D., Kouhété P. D. & Tonzibo Z .F., 2014.-** Physico-chemical analysis of eutrophication's parameters in a coastal river (Côte d'Ivoire). *Journal of Environment Protection*, **5** : 1285 - 1293.
- Paerl H. W., Hall N. S. & Calandrino E. S., 2011.-** Controlling harmful cyanobacterial blooms in a world experiencing anthropogenic and climatic-induced change. *Science of the Total Environment*, **409** : 1739 - 1745.
- Paerl H. W. & Paul V. J., 2012.-** Climate change : Links to global expansion of harmful cyanobacteria. *Water research*, **46** : 1349 - 1363.
- Paerl H. W. & Otten T., 2013.-** Harmful cyanobacterial blooms: causes, consequences, and controls. *Microbiology Ecology*, **65** : 995 - 1010.
- Pancrace C., 2013.-** Potentiel génétique en métabolites secondaires des cyanobactéries du genre *Microcystis*. Mémoire Master 1 de l'Université Paris-Sud 11, France, 10 p.
- Pantelić D., Svirčev Z., Simeunović J., Vidović M. & Trajković I., 2013.-** Cyanotoxins: Characteristics, production and degradation routes in drinking water treatment with reference to the situation in Serbia. *Chemosphere*, **91**, 421 - 441.
- Paulino S., Valerio E., Faria N., Fastner J., Welker M., Tenreiro R. & Pereira P., 2009.-** Detection of *Planktothrix rubescens* (Cyanobacteria) associated with microcystin production in a freshwater reservoir. *Hydrobiologia*, **621** : 207 - 211.
- Pearson L. A., Dittmann E., Mazmouz R., Ongley S. E., Agostino P. M. D. & Neilan B.A., 2016.-** The genetics, biosynthesis and regulation of toxic specialized metabolites of cyanobacteria. *Harmful Algae*, **54** : 98 - 111.

- Pedro O., Correia D., Lie E., Skåre J. U., Leã J., Neves L., Sandvik M. & Berdal K., 2011.-** Polymerase chain reaction (PCR) detection of the predominant microcystin producing genotype of cyanobacteria in Mozambican lakes. *African Journal of Biotechnology*, **10** : 19299 - 19308.
- Pereira D. & Giani A., 2014.-** Cell density dependent oligopeptide production in cyanobacterial strains. *FEMS Microbiology of Ecology*, **88** : 175 - 183.
- Quiblier C., Wood S., Echenique-Subiabre I., Heath M., Villeneuve A. & Humbert J.F., 2013.** A review of current knowledge on toxic benthic freshwater cyanobacteria ecology, toxin production and risk management. *Water Research*, **47** : 5464 - 5479.
- Rankin K., Alroy K., Kudela R., Oates S., Murray M. & Miller M., 2013.-** Treatment of cyanobacterial (microcystin) toxicosis using oral cholestyramine: case report of a dog from Montana. *Toxins*, **5** : 1051 - 1063.
- Rantala-Ylinen A., Kana S., Wang H., Rouhiainen L., Wahlsten M., Rizzi E., Berg K., Gugger M. & Sivonen K., 2011.-** Anatoxin-a synthetase gene cluster of the Cyanobacterium *Anabaena* sp. strain 37 and molecular methods to detect potential producers. *Applied of Environnemental Microbiolology*, **77** : 7271 - 7278.
- Reichwaldt E. S. & Ghadouani A., 2012.-** Effects of rainfall patterns on toxic cyanobacterial blooms in a changing climate : Between simplistic scenarios and complex dynamics. *Water Research*, **46** : 1372 - 1393.
- Reveillon D., Abadie E., Sechet, V., Brient L., Savar V., Bardouil M., Hess P. & Amzil Z., 2014.-** Beta-N-methylamino-L-alanine: LC-MS/MS optimization, screening of cyanobacterial strains and occurrence in shellfish from Thau, a French Mediterranean lagoon. *Marine Drugs*, **12** : 5441 - 5467.
- Rodier J., Legube B. & Merlet N., 2009.-** L'Analyse de l'Eau. 9è édition Dunod, Paris, France, 579 p.
- Roger P. A. & Reynaud P A., 1977.-** Les méthodes d'isolement et de purification des cyanophycées. *Cahiers de l'ORSTOM, Série Biologie*, **10** : 121 - 128.
- Rogers E., Henry T., Twiner M., Gouffon J., McPherson J., Boyer G., Sayler G. & Wilhelm S., 2011.-** Global gene expression profiling in larval zebrafish exposed to microcystin-LR and *Microcystis* reveals endocrine disrupting effects of cyanobacteria. *Environmental Science and Technology*, **45** : 1962 - 1969.

- Rohrlack T., Christoffersen K. & Hansen P. E., 2003.-** Isolation, characterization, and quantitative analysis of microviridin J, a new *Microcystis* metabolite toxic to *Daphnia*. *Journal of Chemical Ecology*, **29** : 1757 - 1770.
- Rohrlack T., Christiansen G. & Kurmayer, R., 2013.-** Putative antiparasite defensive system involving ribosomal and nonribosomal oligopeptides in cyanobacteria of the genus *Planktothrix*. *Applied Environmental Microbiology*, **79** : 2642–2647.
- Roland F., 2012.-** Contribution à la description du cycle de l'azote au sein des eaux superficielles du lac Kivu (Afrique de l'Est). Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie des Organismes et Ecologie de l'Université de Liège, Suisse, 122 p.
- Rouhiainen L., Paulin L. S., Suomalainen H., Hyytiäinen W., Buikema R., Haselkorn & Sivonen K., 2000.-** Genes encoding synthetases of cyclic depsipeptides, anabaenopeptilides in *Anabaena* strain 90. *Molecular Microbiology*, **37** : 156 - 167.
- Rouhiainen L., Jokela J., Fewer D. P., Urmann M. & Sivonen K., 2010.-** Two alternative starter modules for the non-ribosomal biosynthesis of specific anabaenopeptin variants in *Anabaena* (Cyanobacteria). *Chemical Biology*, **17** : 265 - 273.
- Sabart M., Pobel D., Briand E., Combourieu B., Salençon M. J., Humbert J. F. & Latour D., 2010.-** Spatiotemporal variations in microcystin concentrations and in the proportions of microcystin-producing cells in several *Microcystis aeruginosa* populations. *Applied of Environmental Microbiology*, **76** : 4750 - 4759.
- Salla M., Da K.P., Koffi S. O. & Traoré D., 2011.-** Cyanobactéries des rivières Boubo et Mé dans le Sud côtier de la Côte d'Ivoire. *International Journal Biologicaland Chemistry Sciences*, **5** : 1365 - 1373.
- Salla M., 2015.-** Taxinomie, composition et distribution spatio-saisonnière du phytoplancton des rivières tropicales côtières Boubo et Mé (Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat de l'Université Félix houphouet Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire, 137 p.
- Sant'Anna C. L., de Carvalho L.R., Fiore M. F., Silva-Stenico M. E., Lorenzi A. S., Rios F. R., Konno K., Garcia C. & Lagos N., 2011.** Highly toxic *Microcystis aeruginosa* strain, isolated from Sao Paulo-Brazil, produce hepatotoxins and paralytic shellfish poison neurotoxins. *Neurotoxicity Research*, **19** : 389 - 402.

- Schatz D., Keren Y., Vardi A., Sukenik A., Carmeli S., Börner T., Dittmann E. & Kaplan A., 2007.-** Towards clarification of the biological role of microcystins , a family of cyanobacterial toxins. *Environment International*, **9** : 965 - 970.
- Seu-Anoï N.M., 2012.-** Structuration spatiale et saisonnière des peuplements phytoplanctoniques et variabilité des facteurs abiotiques dans trois complexes lagunaires de Côte-d'Ivoire (Aby, Ébrié et Grand-Lahou). Thèse de Doctorat de l'Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire, 137 p.
- Seu-Anoï N. M., Koné Y. J. M., Kouadio K. N., Ouattara A. & Gourène G., 2013.-** Phytoplankton distribution and its relations hip to environmental factors in the Ebrié lagoon, Côte d'Ivoire (West Africa). *Life and environment*, **63** : 181 - 192.
- Seu-Anoï N. M., Niamien-Ebrottié J. E., Muylaerd K., Ouattara A. & Gourène G., 2014.-** Temporal dynamics of phytoplankton communities and their responses to environmental factors in Grand-Lahou lagoon, Côte d'Ivoire (West Africa). *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, **4** : 63 - 174.
- Seu-Anoï N. M., Ouattara A., Cocquyt C. & Gourène G., 2017.** A study of planktonic cyanobacteria taxa of the Aby lagoon system (Southern Côte d'Ivoire, West Africa). *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, **112** : 40 - 51.
- Silva T., 2014.-** Suivi et modélisation de la dynamique des cyanobactéries dans les lacs urbains au sein de leur bassin versant. Thèse de l'Université Paris –Est, France, 289 p.
- Singh R. K., Tiwari S. P., Rai A. K. & Mohapatra T. M., 2011.-** Cyanobacteria : An emerging source for drug discovery. *Journal of Antibiotics*, **64** : 4011 - 4012.
- Sivonen K. & Jones G., 1999.** Cyanobacterial toxins. In : *Toxic cyanobacteria in water* Chorus I & Bartram J (eds.), E & FN Spon, London, United Kingdom, pp 41-111.
- Sommaruga R., Chen Y. W. & Liu Z. W., 2009.-** Multiple strategies of bloom-forming *Microcystis* to minimize damage by solar ultraviolet radiation in surface waters. *Microbiology of Aquatic Systems*, **57** : 667 - 674.
- Sotton B., 2012.-** Mise en évidence des voies de transfert des cyanotoxines dans les lacs périalpins et implications dans les réponses physiologiques des poissons exposés. Thèse de Doctorat de l'Université de Grenoble, France, 189 p.
- Spoof L. & Arnaud C., 2017.-** Appendix 3. Tables of microcystins and nodularins. *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*, **1** : 527 - 537.

- Stewart I., Seawright A. A. & Shaw G. R., 2008.-** Cyanobacterial poisoning in livestock, wild mammals and birds – an overview. In : *Cyanobacterial harmful algal Blooms : State of the Science and Research Needs*, Springer, pp 613 - 637.
- Strunecký O., Komárek J., Johansen J., Lukešová A. & Elster J., 2013.-** Molecular and morphological criteria for revision of the genus *Microcoleus* (Oscillatoriales, Cyanobacteria). *Journal of Phycology*, **49** : 1167 - 1180.
- Tandeau de Marsac N., 1977.-** Occurrence and nature of chromatic adaptation in cyanobacteria. *Journal of bacteriology*, **1** : 82 - 91.
- Tassigny M. & Lefebvre M., 1971.-** Auto- hétéro antagonisme et autres conséquences des excréments d'algues d'eau ou thermale. *Internationale Vereinigung für Limnologie.*, **19** : 26 - 38.
- Todorova A. K., Juttner F., Linden A., Pluss T. & Von Philipsborn W., 1995.-** Nostocyclamide: a new macrocyclic, thiazole-containing allelochemical from *Nostoc sp.* 31 (Cyanobacteria). *Journal Organization Chemistry*, **60** : 7891 - 7895.
- Tooming-Klunderud A., Rohrlack T., Shalchian-Tabrizi K., Kristensen T. & Jakobsen K S., 2007.-** Structural analysis of a non-ribosomal halogenated cyclic peptide and its putative operon from *Microcystis* : Implications for evolution of cyanopeptoline. *Microbiology*, **153** : 1382 - 1393.
- Traoré A., Soro G., Kouadio E. K., Bamba B. S., Oga M. S., Soro N. & Biémi J., 2012.-** Évaluation des paramètres physiques, chimiques et bactériologiques des eaux d'une lagune tropicale en période d'étiage : La lagune Aghien (Côte d'Ivoire). *International Journal of Biological and Chemistry Sciences*, **6** : 7048 - 7058.
- Traoré A., Ahoussi K. E., Aka N., Traoré A. & Soro N., 2015.-** Niveau de contamination par les pesticides des eaux des lagunes Aghien et Potou (Sud-Est de la Côte d'Ivoire). *International Journal of Pure Applied Biosciences*, **3** : 312 - 322.
- Van Appeldoorn M. E, Van Egmond H. P., Speijers G. J. A. & Bakker G. J. I., 2007.-** Toxins of cyanobacteria. *Molecules Nutrition Food Ressources*, **51** : 7 - 60.
- Van Coillie R., 2011.-** Écotoxicologie générale et appliquée. Télé Université de Québec, Canada, 1^{ère} édition, 521 p.

- Vareli K., Briasoulis E., Pilidis G. & Sainis I., 2009.**- Molecular confirmation of *Planktothrix rubescens* as the cause of intense, microcystine-synthesizing cyanobacterial bloom in lake Ziros, Greece. *Harmful Algae*, **8** : 447 - 453.
- Waal D. B., Van De Verspagen J. M. H., Finke J. F., Vournazou V., Immers A. K., Kardinaal W. E. A., Tonk L., Becker S., Van Donk E., Visser P. M. & Huisman J., 2011.**- Reversal in competitive dominance of a toxic versus non-toxic cyanobacterium in response to rising CO₂. *ISME Journal*, **5** : 1438 - 1450.
- Wang G. & Goyal N., 2009.**- Aeruginosin analogs and other compounds with rigid bicyclic structure as potential antithrombotic agents. *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry*, **7** : 147 - 165.
- Weiz A. R., Ishida K., Quitterer F., Meyer S., Kehr J. C., Groll M., Hertweck C. & Dittmann E., 2014.**- Harnessing the evolvability of tricyclic microviridins To dissect protease–inhibitor interactions. *Angewandte Chemie*, **53** : 3735 - 3738.
- Welker M. & Von Döhren H., 2006.**- Cyanobacterial peptides. - Natures own combinatorial biosynthesis. *FEMS Microbiology Reviews*, **30** : 530 - 563.
- Welker M., Brunke M., Preussel K., Lippert I. & Von Döhren H., 2004.** -Diversity and distribution of *Microcystis* (Cyanobacteria) oligopeptide chemotypes from natural communities studied by single-colony mass spectrometry. *Microbiology*, **150** : 1785-1796.
- Welker M., Marsalek B., Sejnohova L. & Von Döhren H., 2006.**- Detection and identification of oligopeptides in *Microcystis* (Cyanobacteria) colonies : Toward an understanding of metabolic diversity. *Peptides*, **27** : 2090 - 2103.
- Whitton B A., 2011.**- Cyanobacteria (Cyanophyta). In : *The freshwater algal flora of the British Isles. An identification guide to freshwater and terrestrial algae* (Second édition). John DM., Whitton B A & Brook A J (Eds.), Cambridge University Press, pp 31 - 158.
- Whitton B.A., 2012.**- Ecology of Cyanobacteria II. In :: *Their Diversity in Space and Time*. Whitton, B.A. (Ed.), Springer, pp. 760.
- Whitton B. A. & Matteo P., 2012.**- Rivulariaceae. In : *Ecology of Cyanobacteria II : Their diversity in space and time*. Whitton B A (Ed.), London Springer. Dordrecht, Heidelberg, New York, pp 561 - 591.

- Wilame R. & Hoffman L., 2005.-** Les cyanobactéries (algues bleues) responsables d'efflorescences dans les eaux stagnantes Aspects systématiques-écologiques toxicologiques. Rapport final, 126 p.
- Wood S. A. & Dietrich D. R., 2011.-** Quantitative assessment of aerosolized cyanobacterial toxins at two New Zealand lakes. *Journal of Environmental Monitoring*, **13** : 1617 - 1624.
- Wood S. A., Atalah J., Wagenhoff A., Brown L., Doehring K., Young R. G. & Hawes I., 2017.-** Effect of river flow temperature and water chemistry on proliferations of the benthic anatoxin-producing cyanobacterium *Phormidium*. *Freshwater Sciences*, **36** : 63 - 75.
- Yéo K.M., 2015.-** Dynamique spatiale et temporelle des caractéristiques chimiques des eaux et des sédiments, et statut trophique du système lagunaire périurbain Adjinn-Potou (Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat de l'Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire, 171 p.
- Yéo K. M., Goné D. L., Kamagaté B., Douagui G. A. & Dembélé A., 2015.-** Seasonal and spatial variations in water physicochemical quality of Coastal Potou Lagoon (Côte d'Ivoire, Western Africa). *Journal of Water Resources and Protection*, **7** : 741 - 748.
- Yin L., Huang J., Huang W., Li D., Wang G. & Liu Y., 2005.** Microcystin RR induced accumulation of reactive oxygen species and alteration of antioxidant systems in tobacco BY-2 cells. *Toxicon*, **46** : 507-512.
- Zeller P., Clément M. & Fessard V., 2011.-** Similar uptake profiles of microcystin-LR and -RR in an in vitro human intestinal model. *Toxicology*, **290** : 7 - 13.
- Zhang M., Duan H., Shi X., Yu Y. & Kong F., 2012. -** Contributions of meteorology to the phenology of cyanobacterial blooms: Implications for future climate change. *Water Resources*, **46** : 442 - 452.
- Ziemert N., Ishida K., Weiz A., Hertweck C. & Dittmann E., 2010.-** Exploiting the natural diversity of microviridin gene clusters for discovery of novel tricyclic depsipeptides. *Applied and Environmental Microbiology*, **76** : 3568 - 3574.
- Zilliges Y., Kehr J., Meissner S., Ishida K., Mikkat S., Dittmann E., Kaplan A. & Bo T., 2011.-** The cyanobacterial hepatotoxin microcystin binds to proteins and increases the fitness of *Microcystis* under oxidative stress conditions. *Plos One*, **6** : 1 - 11.

ANNEXES

ANNEXE 1

Vue de la lagune Aghien et villages environnants



Figure 1 : Village Anyama-Débarcadère situé en bordure de la lagune Aghien
(Photo : Yao. D. R)



Figure 2 : Prolifération de Cyanobactéries (Bloom) sur la lagune Aghien
(Photo : Yao. D. R)



Figure 3 : Vue de macrophytes aquatiques flottants sur la lagune Aghien

(Photo : **Yao. D. R**)



Figure 4 : Plantations de palmiers, hévéa en bordure de la lagune Aghien

(Photo : **Yao. D. R**)

ANNEXE 2 :
Légendes des différentes
graphiques

GSP 16

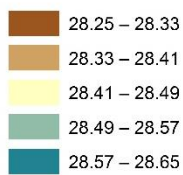
Légende :

pH



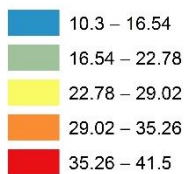
Légende :

Température (°C)



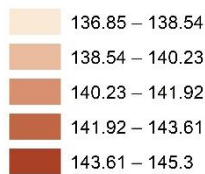
Légende :

Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)



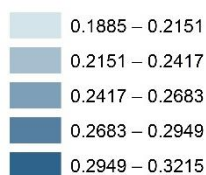
Légende :

Turbidité (NTU)



Légende :

Phosphore (mg/L)



PSS 16

Légende :

pH



Légende :

Température (°C)



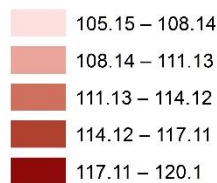
Légende :

Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)



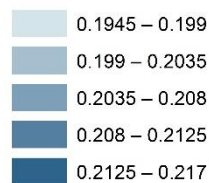
Légende :

Turbidité (NTU)



Légende :

Phosphore (mg/L)



PSP 16

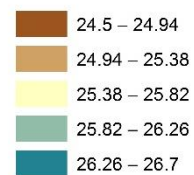
Légende :

pH



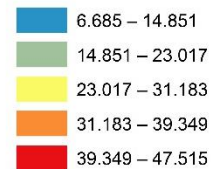
Légende :

Température (°C)



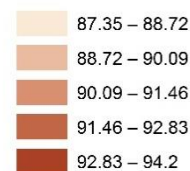
Légende :

Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)



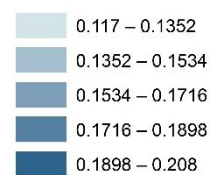
Légende :

Turbidité (NTU)



Légende :

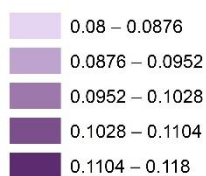
Phosphore (mg/L)



GSP 16

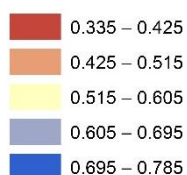
Légende :

Orthophosphates (mg/L)



Légende :

Nitrites (mg/L)



Légende :

Nitrates (mg/L)



Légende :

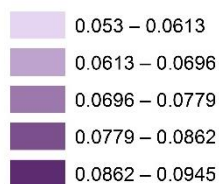
Chlorophyle a (µg/L)



PSS 16

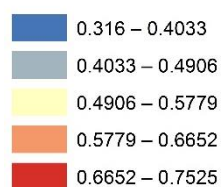
Légende :

Orthophosphates (mg/L)



Légende :

Nitrites (mg/L)



Légende :

Nitrates (mg/L)



Légende :

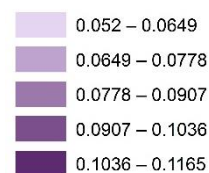
Chlorophyle a (µg/L)



PSP 16

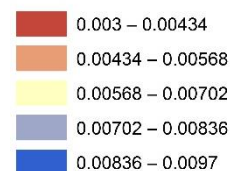
Légende :

Orthophosphates (mg/L)



Légende :

Nitrites (mg/L)



Légende :

Nitrates (mg/L)



Légende :

Chlorophyle a (µg/L)



GSS17

Légende :



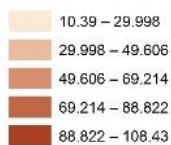
Légende :

Température (°C)



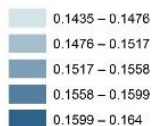
Légende :

Turbidité (NTU)



Légende :

Phosphores (mg/L)



GSP 17

Légende :

pH



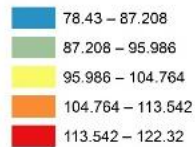
Légende :

Température (°C)



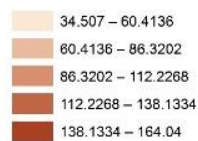
Légende :

Conductivité ($\mu\text{S/cm}$)



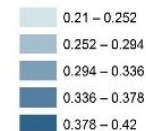
Légende :

Turbidité (NTU)



Légende :

Phosphores (mg/L)



PSS 17

Légende :

pH



Légende :

Température (°C)



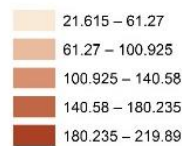
Légende :

Conductivité ($\mu\text{S/cm}$)



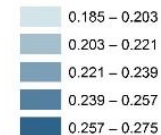
Légende :

Turbidité (NTU)



Légende :

Phosphores (mg/L)



PSP 17

Légende :

pH



Légende :

Température (°C)



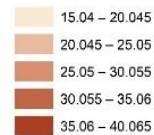
Légende :

Conductivité ($\mu\text{S/cm}$)



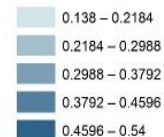
Légende :

Turbidité (NTU)



Légende :

Phosphores (mg/L)



Légende :

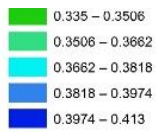
Orthophosphates (mg/L)



GSS 17

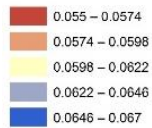
Légende :

Nitrates (mg/L)



Légende :

Nitrites (mg/L)



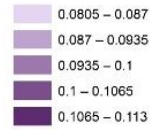
Légende :

Chlorophylle (a) ($\mu\text{g/L}$)



Légende :

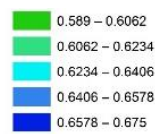
Orthophosphates (mg/L)



GPS 17

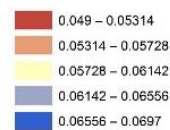
Légende :

Nitrates (mg/L)



Légende :

Nitrites (mg/L)



Légende :

Chlorophylle (a) ($\mu\text{g/L}$)



Légende :

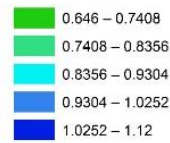
Orthophosphates (mg/L)



PSS 17

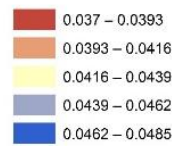
Légende :

Nitrates (mg/L)



Légende :

Nitrites (mg/L)



Légende :

Chlorophylle (a) ($\mu\text{g/L}$)



Légende :

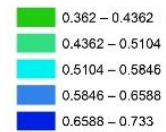
Orthophosphates (mg/L)



PSP 17

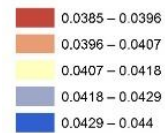
Légende :

Nitrates (mg/L)



Légende :

Nitrites (mg/L)



Légende :

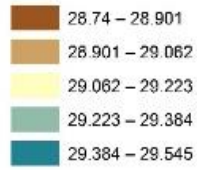
Chlorophylle (a) ($\mu\text{g/L}$)



GSS 18

Légende :

Température (°C)



Légende :

pH



Légende :

Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)



Légende :

Nitrates (mg/L)



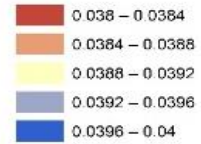
Légende :

Chlorophylle (a) ($\mu\text{g}/\text{L}$)



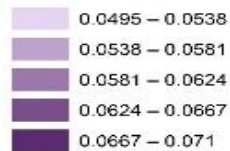
Légende :

Nitrites (mg/L)



Légende :

Orthophosphates (mg/L)



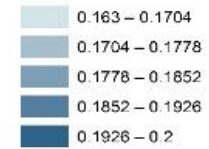
Légende :

Turbidité (NTU)



Légende :

Phosphore (mg/L)



PUBLICATION

Available online at [GSC Online Press Directory](https://www.gsconlinepress.com/)

GSC Biological and Pharmaceutical Sciences

e-ISSN: 2581-3250, CODEN (USA): GBPSC2

Journal homepage: <https://www.gsconlinepress.com/journals/gscbps>

(RESEARCH ARTICLE)



Comparative study of two isolation methods of Cyanobacteria in Côte d'Ivoire

Yao Rosine Djeha^{1,2,*}, Coulibaly Julien Kalpy², Koffi Mathias Ahoutou², Yao Eric Kouamé², Amon Lydie², Yao René Kouamé^{1,2} and Djaman Joseph Allico^{1,3}

¹ *Laboratory of Pharmacodynamic-Biochemistry, University Félix Houphouët-Boigny of Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.*

² *Department of Environment and Health / Unit of Chemistry and Environmental Microbiology, Pasteur Institute of Côte d'Ivoire, BP 490 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.*

³ *Department of Clinical and Fundamental Biochemistry, Pasteur Institute of Côte d'Ivoire, BP 490 Abidjan 22, Côte d'Ivoire.*

Publication history: Received on 04 July 2019; revised on 17 July 2019; accepted on 22 July 2019

Article DOI: <https://doi.org/10.30574/gscbps.2019.8.1.0117>

Abstract

Cyanobacteria are prokaryotic organisms found in the freshwaters of most countries of the world. Interest in these organisms has increased in recent years because of their ability to produce toxins that are harmful to higher organisms. The objective of this study was to compare two methods of isolation of cyanobacteria in Côte d'Ivoire. Monthly water withdrawals were carried out from June 2016 to March 2018 on the Aghien Lagoon (Côte d'Ivoire) and analyzed using two methods, namely the isolation method on modified BG11 agar and the direct binocular method. A total of 1682 cyanobacteria were isolated, 1593 (94.70%) cyanobacteria were obtained by direct isolation and 89 (5.30%) by seeding isolation. The 1682 cyanobacteria were purified by successive transplanting on the agar BG11 modified, 563 cyanobacteria (33.47%) were obtained. Of this total, 92.36% (n = 520 cyanobacteria) were obtained by the direct method and 7.64% (n = 43 cyanobacteria) by the isolation method on modified BG11 agar. In order to maintain the growth of purified cyanobacteria, the 563 cyanobacteria were transferred to liquid modified BG11 medium. However 38 (6.74%) cyanobacteria had a positive growth on this medium of which 5.76% (n = 30) came from the direct method and 17.02% (n = 8) from the isolation method on modified BG11 agar. This study has shown that the isolation method that has resulted in better yield has been isolation by isolation method on modified BG11 agar.

Keywords: Aghien; Cyanobacteria; Isolation; Culture

1. Introduction

Freshwater is the main source of drinking water for most of the world's human populations [1]. Increased eutrophication of these rivers will result in massive development of phytoplankton species, mainly cyanobacteria [2-3].

Cyanobacteria are photosynthetic prokaryotic microorganisms naturally present in the aquatic environment (less than 20000 cells / mL), without any problem being associated with it [4]. However, problems arise when there is proliferation of cyanobacteria [5]. This problem is all the more serious when the species responsible for these blooms can produce toxins. The contamination of freshwater by these toxins limits their use because they are often the cause of deadly intoxication of herds of domestic or wild animals, fish, birds and humans [6-8]. In contrast, many studies have shown that cyanobacteria are a new source of various bioactive compounds [9-10].

* Corresponding author

E-mail address: djeharosine@gmail.com

Thus, for carrying out studies on their secondary metabolites, the provision of viable strains of cyanobacteria is important. This motivated the creation of numerous collections including that of the Pasteur Institute of Paris (IPP), the National Institute for Environmental Sciences (NIES) of Japan, the Institute of Hydrobiology (FACHB) of China and the University of Texas (UTEX) in the United States. However, in Africa, the collections are almost non-existent.

In Côte d'Ivoire, only studies of Coulibaly et al. [11] were conducted on the isolation and culture of cyanobacteria by testing different media, namely Conways, BG11 and Bold. Our study consisted in comparing two methods of isolation of cyanobacteria on modified BG11 medium in Côte d'Ivoire in order to set up a collection.

2. Material and methods

2.1. Sampling

Monthly water withdrawals were carried out over a 22-month period from June 2016 to March 2018 on the Aghien lagoon (Côte d'Ivoire). Samples were collected using 20 µm porosity plankton net with a collector. This consisted of filtering 5 liters of surface water with the aid of the net, then recovering in the collector 100 ml of lagoon water containing the cyanobacteria. The contents of the collector are then transferred to a one-liter bottle. This process was performed several times until the bottle was filled. The samples thus obtained were stored in a cooler containing cold accumulators and then transported to the laboratory for analysis.

2.2. Isolation and culture of cyanobacteria

The culture medium used for the isolation and culture of cyanobacteria was liquid and solid modified BG11 medium. These media were prepared according to the formulas and indications of Coulibaly et al. [11] at pH 7.1. Two isolation methods were performed:

2.2.1. First method: Isolation by seeding

500 µL of water from the lagoon were diluted successively in 1000 µl of the modified liquid medium BG11, then 100 µl of each dilution was spread on a Petri dish containing agar medium BG11 modified according to the described method by Rippka et al. [12].

2.2.2. Second method: Direct isolation under a binocular loupe

A quantity of 2 µl of water from the lagoon was successively diluted in 4 µl of the modified liquid medium BG11. These micro-dilutions were observed with a binocular microscope, the least concentrated was identified and cyanobacteria taken one by one using a micropipette. Each colony was transferred to a well. This process was repeated until the 96-well plate, each containing 10 µl of the modified BG11 liquid medium, was filled.

2.2.3. Incubation

The Petri dishes and the 96-well plates were sealed with Parafilm and placed in a culture room at $25 \pm 1^\circ \text{C}$ where they were subjected to a light intensity (white light quality MAZDA FLUOR M2TF 36W / LJ 1.2 m long, 32 Watt) producing a daylight-like light of 175.56 ± 1 lux. Petri dishes and plates were observed daily with a binocular magnifying glass to monitor the growth of cyanobacteria.

2.2.4. Successive transplanting

After several weeks of growth, the cyanobacteria colonies on the Petri dishes were taken one by one under the binocular microscope. The agar containing the colony was cut with a scalpel blade sterilized by the Bunsen flame and transplanted streaks onto a new Petri dish.

Similarly, when the development of cyanobacteria was observed in the wells, they were collected one by one under the binocular microscope with a micropipette then transferred to a Petri dish containing the agar-modified BG11 medium.

The transplanting was repeated a ten times in order to obtain pure colonies of cyanobacteria. The cyanobacteria thus obtained were transferred into the Erlenmeyer flasks with plugs containing a volume of 10 ml of the liquid modified BG11 medium, incubated in a room at $25 \pm 1^\circ \text{C}$ with a brightness of 175.56 ± 1 lux.

3. Results

3.1. Number of strains isolated according to isolation mode

A total of 1682 cyanobacteria were isolated from the 126 lagoon water samples collected during this study. Of the total cyanobacteria obtained, 94.70% (n = 1593) were isolated by the direct method and 5.30% (n = 89) by the isolation method on modified BG11 agar.

3.2. Number of cyanobacteria obtained after successive transplanting

Of the 1682 cyanobacteria isolated a total of 563 purified cyanobacteria were obtained after repeating a few times successive transplanting on the agar medium. 520 cyanobacteria or 92.36% were obtained by the direct method and 43 (7.64%) by the isolation method on modified BG11 agar.

3.3. Number of cyanobacteria obtained after transfer to the liquid medium

The 563 cyanobacteria obtained after the various successive subcultures were transferred to the liquid medium. After three months on the liquid medium, 38 (6.75%) cyanobacterial strains had positive growth. Of these, 30 strains came from direct isolation at a rate of 5.76% and 8 (17.02%) by isolation method on modified BG11 agar.

3.4. Cyanobacteria rate obtained after growth according to isolated cyanobacteria

Of a total of 1682 cyanobacteria isolated, 38 had a positive growth, a rate of 2.25% of isolated cyanobacteria. 8.98% (n = 8) obtained from the 89 cyanobacteria isolated by the isolation method on modified BG11 agar and 1.88% (n = 30) obtained from 1593 cyanobacteria isolated by the direct isolation method.

3.5. Cyanobacteria colonies lost during the study

In this study, 1682 cyanobacteria were isolated by two methods. In order to obtain pure strains, successive subcultures were carried out, 563 cyanobacteria were obtained and transferred to a liquid medium, ie a 66.52% loss of cyanobacteria. 38 cyanobacteria had positive growth on this medium, a total loss of 97.74%.

4. Discussion

Several studies have been carried out on the isolation of cyanobacteria and their toxic or beneficial effect [13, 10], but very few concerning exclusively isolation and culture [11]. The objective of this work was to compare two modes of isolation of cyanobacteria from the Aghien lagoon samples from June 2016 to March 2018.

A high isolation rate was observed for the direct isolation mode under a binocular loupe. This could be due to the fact that the cyanobacteria were spotted then taken one by one and put in culture. While the isolation on agar, 100 µL was taken for seeding, this quantity could contain a large microbial flora and algae variety whose rapid growth would significantly prevent the isolation of cyanobacteria [14].

Thus, during the various purification tests by the successive transplanting technique, a significant loss of cyanobacteria was observed. This could be due to contamination by some bacteria or fungi in agar favored by the favorable growing conditions. Meseck et al. [15] observed a 13% decrease in the growth rate of cyanobacteria in the presence of a bacterial community, while other authors observed total inhibition of growth [16, 17]. The loss of cyanobacteria during successive transplanting could also be explained by the very loss of cyanobacteria during the transfer from one agar to another.

In this study, 38 cyanobacteria had positive growth on the medium used. Some studies have reported proportions inferior to those obtained in this study. This is the case of the studies conducted by Oufdou and Oudra [10] in Morocco which isolated and cultured 10 cyanobacteria in samples taken from 4 different sites. In France, Wilame and Hoffman [18] isolated 11 cyanobacteria in samples collected from 8 sites in the Artois-Picardie basin. However, other studies have reported higher frequencies. Berger [13] isolated 57 cyanobacteria in May 2002 samples.

This difference in result could be attributed to the mode of isolation used, to the composition of the culture medium or to the different variations of the luminous intensity of the incubation room. Indeed, all the studies cited above have used culture media different from that used in this study but an identical isolation protocol. Oufdou and Oudra [10] and [13] used the seeding method followed by the different subcultures, but different culture media, namely the liquid

and solid media BG13 and Z8 with or without nitrogen. On the other hand, Wilame and Hoffman [18] used the BG11 culture medium supplemented with antibiotics and the seeding method followed by the different transplantation.

This growth rate of cyanobacteria on the modified BG11 medium could be explained by the development of fungi and other bacteria present in the Erlenmeyers thus contaminating the different cultures. This development of fungi and other bacteria sometimes inhibits the development of cyanobacteria. This fact was noticed by Roger and Reynaud [19] in France and [20] in Burkina Faso.

The physicochemical conditions of the culture medium could prevent the development of cyanobacteria. Thus, several authors have shown that besides the physicochemical conditions suitable for a good functioning, certain species excrete in the environment where they live toxic substances preventing the development of competing species. This was shown by Tassigny and Lefebvre [21] for non-thermal freshwater algae.

Another fact that could influence the growth of cyanobacteria is the light intensity of the growing room. For this purpose, all cyanobacteria do not develop in the same range of light intensity, some require a low intensity while others a high intensity.

5. Conclusion

Interest in cyanobacteria has increased in recent years given the many secondary metabolites they can synthesize. This study compared two modes of cyanobacterial isolation in Côte d'Ivoire and found that the seeding isolation method was the most conclusive. However, isolation and cultivation of cyanobacteria are difficult methods given their slow growth and rapid contamination by certain microorganisms.

Compliance with ethical standards

Acknowledgments

Authors thanks sincerely the direction of Pasteur Institute of Cote d'Ivoire, the WASAF consortium, Dr Muriel GUGGER (Pasteur Institute of Paris) and all the members of the Unit of Chemistry and Environmental Microbiology of Pasteur Institute for their valuable contributions and support.

Disclosure of conflict of interest

The authors declare that there are no conflicts of interest.

References

- [1] Pedro O, Correia D, Lie E, Skåre JU, Leã J, Neves L, Sandvik M and Berdal K. (2011). Polymerase chain reaction (PCR) detection of the predominant microcystine producing genotype of cyanobacteria in Mozambican lakes. *African Journal of Biotechnology*, 10 (83), 19299-19308.
- [2] Kononen K. (2001). Eutrophication, harmful algal blooms and species diversity in phytoplankton communities: Examples from the Baltic Sea. *Ambio*, 30 (4), 184-189.
- [3] Smith VH. (2003). Eutrophication of freshwater and coastal marine ecosystems. A global problem. *Environmental Science and Pollution Research*, 10 (2), 126-139.
- [4] Blais S. (2002). The issue of cyanobacteria (blue-green algae) at La Baie de Missisquoi in 2001. *Agrosol*, 13 (2), 103-110.
- [5] WHO. (2003). Algae and cyanobacteria in freshwater. In: *Guidelines for safe recreational water environments. Volume 1: Coastal and fresh waters*. World Health Organization, Geneva, (Switzerland), 136-158.
- [6] Azevedo SMFO, Carmichael WW, Jochimsen EM, Rinehart KL, Lau S, Shaw GR and Eaglesham G K. (2002). Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru. *Brazil Toxicology*, (181-182), 441-446.
- [7] Gugger M, Molica R, Le Berre, Dufour P, Bernard C and Humbert JF. (2005). Genetic diversity of *Cylindrospermopsis* strains (Cyanobacteria) isolated from four continents. *Applied and Environmental Microbiology*, 71 (2), 1970-1100.

- [8] Van Appeldoorn ME, Van Egmond HP, Speijers GJA and Bakker GJI. (2007). Toxins of cyanobacteria. *Molecules Nutrition Food Ressources*, 51 (1), 7-60.
- [9] Welker M and Von Döhren H. (2006). Cyanobacterial peptides. Nature's own combinatorial biosynthesis. *FEMS Microbiology Revues*, 30 (4), 530-563.
- [10] Oufdou K and Oudra B. (2009). Bioactive substances developed by cyanobacteria isolated from certain Moroccan aquatic ecosystems. *Africa Science*, 5 (2), 260-279.
- [11] Coulibaly Kalpy J, Grogga N, Soumahoro MK, Koudougou M, Ebrottié-Brou JE, Kouassi-Haoulley MT, Ouattara A, Faye-Ketté H and DOSSO M. (2014). Preliminary trial of implementation of cyanobacteria culture in Ivory Coast. *International Journal of Biological Chemical Sciences*, 8 (2), 551-565.
- [12] Rippka R, Waterbury J and Stanier R. (1981). Isolation and purification of cyanobacteria: Some general principles. In : Starr MP, Staps H, Triper HG, Balows A, Schelegel H G(Eds), *The prokaryotes*. Springer-Verlag, Berlin, 212-218.
- [13] Berger C. (2005). Cyanobacteria from the lower Senegal River Delta: Diversity, toxicity, toxins and associated risks. Thesis of the National Museum of Natural History of Paris, France, 144-145.
- [14] Mezouari S. (2017). Isolation and characterization of microorganisms of biotechnological interest in the region of Sidi Bel Abbes. Thesis of the Djillali Liabes University of Sidi Bel Abbes, Algeria, 35-36.
- [15] Meseck SL, Smith BC, Wikfors GH, Alix JH and Kapareiko D. (2007). Nutrient interactions between phytoplankton and bacterioplankton under different carbon dioxide regimes. *Journal of Applied Phycology*, 19 (3), 229-237.
- [16] Dakhama A, Nouë J and Lavoie M. (1993). Isolation and identification of antialgal substances produced *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Phycology* 5 (3), 297-306.
- [17] Le Chevanton M. (2013). Microalgae-bacteria interactions in bispecific experimental system: Effects on growth of *Dunaliella* sp. Thesis of the University of Nantes, France, 52-53.
- [18] Wilame R and Hoffman L. (2005). Cyanobacteria (blue algae) responsible for efflorescence in stagnant water. Toxicological and ecological aspects. *Rapport final*, 96-97.
- [19] Roger PA and Reynaud PA. (1977). Methods of isolation and purification of cyanophyceae. *ORSTOM Papers, Biology Series*, 10 (2), 121-128.
- [20] Gugger M and Couté A. (2006). Diversity and toxicity of cyanobacteria in water resources in Burkina Faso. *Research Institute for Development UR167- CYROCO*, 28-29.
- [21] Tassigny M and Lefebvre M. (1971). Self-hetero antagonism and other consequences of excretions of water or thermal algae. *International Vereinigung für Limnologie*, 19, 26-38.

How to cite this article

Yao RD, Coulibaly JK, Koffi MA, Yao EK, Amon L, Yao RK and Djaman JA. (2019). Comparative study of two isolation methods of Cyanobacteria in Côte d'Ivoire. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 8(1), 84-88.

Résumé

L'eutrophisation des cours d'eau du monde entier favorise le développement des Cyanobactéries. Certaines espèces sont potentiellement productrices de métabolites secondaires. Cependant si certains métabolites sont des toxines pouvant être dangereux pour l'homme, d'autres par contre peuvent être d'un intérêt pour la biotechnologie et l'industrie pharmaceutique.

L'objectif général de ce travail a été d'identifier les Cyanobactéries de la lagune Aghien et d'étudier leur potentiel à produire des métabolites secondaires.

Des prélèvements mensuels d'eaux ont été effectués de juin 2016 à mars 2018 dans la lagune Aghien près d'Abidjan en Côte d'Ivoire. Des analyses physico-chimiques ont permis de déterminer la qualité des eaux de la lagune, puis des observations microscopiques et des ensemencements sur le milieu BG11 modifié (solide et liquide) ont permis respectivement de reconnaître et d'isoler les différents genres de Cyanobactéries contenus dans ces prélèvements. Enfin la PCR conventionnelle a permis de détecter les gènes qui codent pour la synthèse des microcystines, cyanopeptolines, microviridines et aeruginosines.

Le suivi des paramètres physico-chimiques de la lagune Aghien a permis de mettre en évidence une évolution relativement importante de la conductivité et des sels nutritifs (phosphore et phosphate). Les teneurs en chlorophylle varient de 28,26 µg/L à 95,05 µg/L avec des valeurs maximales obtenues pendant les saisons sèches. Les genres *Microcystis* et *Chroococcus* ont été les plus représentés dans les échantillons collectés (100%). Ils sont suivis des genres *Aphanocapsa* (95,45%), *Planktothrix* (90,90%), *Anabeana* et *Limnotrix* (86,36%). Les genres *Pseudanabaena* et *Aphanothece* ont été les moins mis en évidence (59,09%). Un total de 1682 Cyanobactéries ont été isolées et purifiées par des repiquages successifs sur la gélose BG11, 563 (33,47%) ont été obtenues. Les 563 Cyanobactéries ont été transférées sur milieu BG11 liquide, 38 (6,74%) Cyanobactéries ont eu une croissance positive sur ce milieu. Les gènes de microcystines *mcyA* et *mcyD* ont été détectés respectivement dans 93,75% et 62,5% des échantillons. Les autres métabolites secondaires : aeruginosines (*aerD*), cyanopeptolines (*mcnC*) et microviridines (*mdnB*) ont été obtenues respectivement dans 87,5%, 50% et 18,75% des échantillons.

En plus des gènes de synthèse des microcystines, les Cyanobactéries de la lagune Aghien possèderaient d'autres gènes de métabolites secondaires.

Mots clés : Aghien, Cyanobactéries, isolement, gènes de synthèse, métabolites secondaires.

Abstract

The eutrophication of the world's rivers promotes the development of Cyanobacteria. Some species are potentially producing secondary metabolites. However, although some metabolites are toxins that may be dangerous for humans, others may be of interest to biotechnology and the pharmaceutical industry.

The objective of this work was to identify Cyanobacteria of the Aghien lagoon and study their potential to produce secondary metabolites

Monthly water withdrawals were carried out from June 2016 to March 2018 in the Aghien lagoon near Abidjan in Côte d'Ivoire. Physico-chemical analyzes made it possible to determine the quality of the waters of the lagoon, then microscopic observations and inoculating on the BG11 medium (solid and liquid) allowed respectively to recognize and isolate the different species of Cyanobacteria contained in these samples. Finally the conventional PCR allowed detecting the genes which code for the synthesis of microcystins, cyanopeptolins, microviridins and aeruginosins.

The monitoring of physico-chemical parameters of the Aghien lagoon revealed a relatively important evolution of the conductivity and nutrient salts (phosphorus and phosphate). Chlorophyll (*a*) contents range from 28.26 µg/L to 95.05 µg/L with maximum values during dry seasons. The genera *Microcystis* and *Chroococcus* were the most represented in the collected samples (100%). They are followed by *Aphanocapsa* (95.45%), *Planktothrix* (90.90%), *Anabeana* and *Limnotrix* (86.36%). The genera *Pseudanabaena* and *Aphanothece* were the least highlighted (59.09%). A total of 1682 Cyanobacteria were isolated and purified by successive subcultures on BG11 agar, 563 (33.47%) were obtained. The 563 Cyanobacteria were transferred to liquid modified BG11 medium, 38 (6.74%) Cyanobacteria had positive growth on this medium. The *mcyA* and *mcyD* microcystin genes were detected in 93.75% and 62.5% of the samples, respectively. Other secondary metabolites : aeruginosins (*aerD*), cyanopeptolins (*mcnC*) and microviridins (*mdnB*) were obtained in 87.5%, 50% and 18.75% of the samples, respectively.

In addition to the microcystin synthesis genes, the Cyanobacteria of the Aghien lagoon have other secondary metabolite genes.

Keywords : Aghien, Cyanobacteria, isolation, synthesis genes, secondary metabolites.