

BURKINA FASO
UNITE-PROGRES-JUSTICE
MINISTERE DES ENSEIGNEMENTS SECONDAIRE ET
SUPERIEUR

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO-DIOULASSO

INSTITUT DU DEVELOPPEMENT RURAL



MEMOIRE DE FIN DE CYCLE
en vue de l'obtention du
**DIPLOME DE MASTER RECHERCHE EN ANALYSE DES POPULATIONS DES
ESPACES FAUNIQVES ET HALIEUTIQUES**

Spécialité : Analyse des populations des espaces halieutiques

THEME : Effet du macrophyte *Ceratophyllum submersum* sur les
communautés phytoplanctoniques naturelles des réservoirs de Bama et
de Boura au Burkina Faso

Par **BAMBA Djénéba**

Mémoire préparé sous la direction du Pr André T. KABRE

Présenté le 21/12/2013 devant le jury :

Pr André T. KABRE, Président

Dr Mipro HIEN, Membre

Dr Serge YERBANGA, Membre

Maître de stage : Dr Philippe CECCHI

N°:-2013/MFH₂

Décembre 2013

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES.....	i
REMERCIEMENTS.....	iv
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS.....	vi
LISTE DES CARTES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
LISTE DES FIGURES.....	ix
LISTE DES PHOTOS.....	x
RESUME.....	xi
ABSTRACT.....	xii
INTRODUCTION GENERALE.....	1
Ière PARTIE : GENERALITES.....	3
I. LE PHYTOPLANCTON.....	4
II. <i>CERATOPHYLLUM SUBMERSUM</i> Linné, 1763 (<i>C. submersum</i> L., 1763).....	5
III. L'ALLELOPATHIE.....	6
IIème PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE.....	8
I. PRESENTATION DES MILIEUX D'ETUDE.....	9
I. 1. Situation géographique de la Mare aux Hippopotames de Bala.....	9
I. 2. Situation géographique du réservoir de Boura.....	10
I. 3. Situation géographique du réservoir de Bama.....	11
I. 4. Climat et hydrographie des sites d'études.....	12
I. 5. Sols et végétation des sites d'études.....	13
II. MATERIEL ET METHODES.....	14
II. 1. Matériel biologique.....	14

II. 2. Matériel technique	14
II. 3. Méthode d'étude	14
II. 3. 1. Préparation des solutions issues de la macération de plants secs de <i>Ceratophyllum submersum</i>	14
II. 3. 1. 1. Solution aqueuse	15
II. 3. 1. 2. Solution méthanolique	15
II. 3. 2. Préparation des solutions issus de la macération de poudre de <i>Ceratophyllum submersum</i>	16
II. 3. 2. 1. Extraction méthanolique	16
II. 3. 2. 2. Solution méthanolique	17
II. 3. 3. Préparation des gammes de concentration en <i>Ceratophyllum submersum</i> et l'inoculation	18
II. 3. 3. 1. Gammes de concentration à base de solutions aqueuses de plants secs de <i>Ceratophyllum submersum</i> (expérimentation 1)	18
II. 3. 3. 2. Gammes de concentration à base de solutions méthanoliques de plants secs de <i>Ceratophyllum submersum</i> (expérimentations 2 et 3)	19
II. 3. 3. 3. Gammes de concentration à base de solutions méthanoliques de poudre de <i>Ceratophyllum submersum</i> (expérimentation 4)	21
II. 3. 4. Mesure des rendements photosynthétiques et de la chlorophylle au phyto-PAM	22
II. 4. Analyses statistiques	26
III. RESULTATS	27
III. 1. Effet des solutions aqueuses de plants secs de <i>Ceratophyllum submersum</i> sur le phytoplancton (expérimentation 1)	27
III. 1. 1. Rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y)	27
III. 2. Effet des solutions méthanoliques de plants secs de <i>Ceratophyllum submersum</i> sur le phytoplancton (expérimentation 2 et 3)	29

III. 2. 1. Expérimentation 2.....	29
III. 2. 1. 1. Rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y)	29
III. 2. 1. 2. Evolution de la biomasse en chlorophylle	30
III. 2. 2. Expérimentation 3.....	31
III. 2. 2. 1. Rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y)	31
III. 2. 2. 2. Evolution de la biomasse en chlorophylle	33
III. 3. Effet des extraits méthanoliques de poudre de <i>Ceratophyllum submersum</i> sur le phytoplancton (expérimentation 4).....	35
III. 3. 1. Rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y)	35
III. 3. 2. Evolution de la biomasse en chlorophylle	37
III. 4. Comparaison entre les rendements photosynthétiques des solutions méthanoliques des plants secs et des extraits méthanoliques de poudre de <i>Ceratophyllum submersum</i>	38
III. 4. 1. Comparaison des rendements photosynthétiques théoriques (Y).....	38
III. 4. 2. Comparaison des rendements photosynthétiques effectifs (AL+Y).....	40
III. 5. Récapitulatif des effets des différents solutions de <i>Ceratophyllum submersum</i> sur les rendements photosynthétiques	41
IV. DISCUSSION	43
CONCLUSION GENERALE.....	46
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	48
ANNEXES	54

REMERCIEMENTS

Mes sincères remerciements vont à l'endroit des structures suivantes :



Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) pour l'allocation et l'opportunité offertes pour la formation



Ce travail a été réalisé dans le cadre du programme d'activités de l'UMR G-eau



Institut de Recherche pour le Développement (IRD) pour le soutien matériel



Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD) pour le soutien financier



et



Volta du Challenge Program on Water and Food porteuse de l'initiative

Je voudrais aussi exprimer ma reconnaissance à toutes les personnes qui, par leurs soutiens ou leurs conseils, ont permis de réaliser mon stage de recherche du Master recherche en analyse des espaces fauniques et halieutiques (MFH₂).

Mes sincères remerciements et ma profonde gratitude s'adressent plus particulièrement :

- au **Professeur André T. KABRE**, mon directeur de mémoire et directeur du Laboratoire de Recherche et de Formation en Pêche et Faune (LaRFPF) ; laboratoire dans lequel j'ai effectué mes travaux et bénéficié de son orientation sur la conduite scientifique des investigations ;

- au **Docteur Philippe CECCHI**, mon maître de stage et chercheur à l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD), pour m'avoir soutenue tout au long de ce stage et pour les nombreux conseils scientifiques et techniques qu'il m'a apportés ;
- au **Docteur Serge YERBANGA** de l'IRSS (Institut de Recherche en Sciences de la Santé) de Bobo-Dioulasso, qui a mis à ma disposition les moyens logistiques de laboratoire pour la préparation des extraits méthanoliques de poudre utilisés dans nos expérimentations ;
- au corps **enseignant FOAD du Master (MFH₂)** pour l'enseignement qu'il m'a donné durant ma formation ;
- à mon mari **Monsieur Yaya OUATTARA** pour son soutien multiforme ;
- à tous les parents pour leurs soutiens moraux ;
- à mes camarades au sein du Laboratoire de Recherche et de Formation en Pêche et Faune (LaRFPF) pour leurs conseils ;
- à mes camarades de la 4^{ème} promotion du **MFH₂** pour le partage et l'appropriation du savoir tout au long de la formation ;
- à toutes les personnes qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à l'aboutissement de ce travail et dont les noms n'ont pu être cités.

Que chacun trouve ici l'expression de mes sincères reconnaissances !

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

AL : Lumière Actinique

AL+Y (= Φ PSII) : Rendement photosynthétique effectif

AUF : Agence Universitaire de la Francophonie

C. demersum : *Ceratophyllum demersum*

C. submersum : *Ceratophyllum submersum*

Chl : Chlorophylle

CIRAD : Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement

Fm : fluorescence maximale (mesures sans lumière actinique sur échantillons adaptés au noir)

Fm' : fluorescence maximale (mesures avec lumière actinique)

Fo : fluorescence minimale (mesures sans lumière actinique sur échantillons adaptés au noir)

Ft : fluorescence d'équilibre

Fv (= Fm-Fo) : fluorescence variable

IRD : Institut de Recherche pour le Développement

LaRFPPF : Laboratoire de Recherche et de Formation en Pêche et Faune

LEDs : Light Emitting Diodes

M.B. : Eclairage de base

MeOH : Méthanol

MFH₂ : Master recherche en analyse des espaces Fauniques et Halieutiques

PSII : Photosystème II

S.FI. : flash de saturation

SAPF : Solution Arrière Petite Fille

SF : Solution Fille

SM : Solution Mère

SPF : Solution Petite Fille

T : Témoin

T : Traitement

Y (= Fv/Fm) : Rendement photosynthétique optimal ou théorique

LISTE DES CARTES

Carte 1: Carte de localisation de la Mare aux Hippopotames de Bala (Burkina Faso)	10
Carte 2: Carte de localisation du lac de Boura (Burkina Faso)	11
Carte 3: Carte de localisation du lac de Bama (Burkina Faso).....	12

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Masses et volumes utilisés pour la préparation des solutions méthanoliques à base de plants secs de <i>Ceratophyllum submersum</i> (expérimentation 3)	16
Tableau II : Masses et volumes utilisés pour la préparation des solutions méthanoliques à base de poudre de <i>Ceratophyllum submersum</i> (expérimentation 4).....	17
Tableau III : Gammes de concentration en <i>Ceratophyllum submersum</i> avec les solutions aqueuses des plants secs (expérimentation 1).....	19
Tableau IV : Gammes de concentration en <i>Ceratophyllum submersum</i> avec les solutions méthanoliques de plants secs (expérimentation 2)	20
Tableau V : Gammes de concentration en <i>Ceratophyllum submersum</i> avec les solutions méthanoliques de plants secs (expérimentation 3)	20
Tableau VI : Gammes de concentration en <i>Ceratophyllum submersum</i> avec les solutions méthanoliques de poudre (expérimentation 4)	21
Tableau VII : Comparaison des rendements photosynthétiques théoriques (Y) des solutions méthanoliques de plants secs entiers et des extraits de poudre de <i>Ceratophyllum submersum</i>	39
Tableau VIII : Comparaison des rendements photosynthétiques effectifs (AL+Y) des solutions méthanoliques de plants secs entiers et des extraits de poudre de <i>Ceratophyllum submersum</i>	40
Tableau IX : Récapitulatif des inhibitions des rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y) en présence des solutions aqueuses et des solutions méthanoliques de <i>Ceratophyllum submersum</i>	42

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Paramètres de la fluorescence obtenus par la méthode des flashes de saturation (Saturation Pulse) ; d'après Varotto (2002).....	26
Figure 2 : Rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y) au bout de 48 heures en présence des solutions aqueuses de plants secs de <i>Ceratophyllum submersum</i>	28
Figure 3 : Rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y) au bout de 24 heures en présence des solutions méthanoliques de plants secs de <i>Ceratophyllum submersum</i>	29
Figure 4 : Evolution de la biomasse en chlorophylle (Chl) au bout de 24 heures en présence des solutions méthanoliques de plants secs de <i>Ceratophyllum submersum</i>	30
Figure 5 : Rendement photosynthétique théorique (Y) au bout de 24, 48 et 72 heures en présence des solutions méthanoliques de plants secs de <i>Ceratophyllum submersum</i>	32
Figure 6 : Rendement photosynthétique effectif (AL+Y) au bout de 24, 48 et 72 heures en présence des solutions méthanoliques de plants secs de <i>Ceratophyllum submersum</i>	32
Figure 7 : Evolution de la biomasse en chlorophylle (Chl) au bout de 24, 48 et 72 heures en présence des solutions méthanoliques de plants secs de <i>Ceratophyllum submersum</i>	34
Figure 8: Rendement photosynthétique théorique (Y) au bout de 24, 48 et 72 heures en présence des extraits méthanoliques de poudre de <i>Ceratophyllum submersum</i>	35
Figure 9 : Rendement photosynthétique effectif (AL+Y) au bout de 24, 48 et 72 heures en présence des extraits méthanoliques de poudre de <i>Ceratophyllum submersum</i>	36
Figure 10 : Evolution de la biomasse en chlorophylle (Chl) au bout de 24, 48 et 72 heures en présence des extraits méthanoliques de poudre de <i>Ceratophyllum submersum</i>	37

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : Plants de <i>Ceratophyllum submersum</i>	5
Photo 2 : Appareil BUCHI Rotavapor R-200 utilisé pour la condensation des extraits méthanoliques	17
Photo 3 : Collection de 24 flasques de 50 ml sur le plateau en rotation pour incubation de l'inoculum	22
Photo 4 : Appareil Phyto-PAM utilisé pour la mesure des rendements photosynthétiques et de la chlorophylle	23

RESUME

Les macrophytes submergés absorbent non seulement une grande quantité d'éléments nutritifs dissous mais nombres d'entre eux peuvent également excréter des substances allélopathiques susceptibles d'inhiber la croissance du phytoplancton. Dans la présente étude nous voulons déterminer les effets allélopathiques du macrophyte *Ceratophyllum submersum* (*C. submersum*) sur des communautés naturelles de phytoplancton. Les éventuels effets de cette plante n'ont jamais été étudiés au Burkina Faso. Des solutions aqueuses et méthanoliques de *C. submersum* ont été utilisés pour conduire cette étude au laboratoire. L'évolution des rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y) ainsi que celle de la biomasse en chlorophylle ont été suivies par des mesures de fluorescence réalisées à l'aide d'un Phyto-PAM lors d'expérimentations de mise en contact des communautés de phytoplancton avec ces solutions.

Les résultats obtenus indiquent que les solutions aqueuses de plants secs de *C. submersum* inhibent le rendement photosynthétique théorique (Y) de 14 % (par rapport au témoin) pour une concentration de 70 mg/l et le rendement photosynthétique effectif (AL+Y) de 35 % pour la même concentration après 48 heures. Avec les solutions méthanoliques de plants secs de *C. submersum*, une inhibition de 27 % et de 35 % (par rapport au témoin) est observée après 24 heures pour une concentration de 25,4 mg/l, respectivement pour les rendements Y et AL+Y. Pour ce qui est des extraits méthanoliques de poudre de *C. submersum*, ils inhibent Y à 21 % par rapport au témoin et AL+Y à 43 % par rapport au témoin avec une concentration 50 mg/l au bout de 72 heures. La biomasse chlorophyllienne mesurée lors de ces expériences n'a pas été inhibée par les extraits mais l'évolution des rapports pigmentaires suggère des modifications de composition des communautés phytoplanctoniques mises en présence des extraits. Ces différents résultats de laboratoire, préliminaires, indiquent que le macrophyte *Ceratophyllum submersum* exerce effectivement un effet inhibiteur sur les rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y) ; ce qui sous-entend son potentiel allélopathique. Il apparaît également que le rendement photosynthétique effectif est plus sensible que le rendement photosynthétique théorique. Des investigations complémentaires restent toutefois à conduire, en premier lieu pour valider l'existence de tels effets *in situ*.

Mots clés : Allélopathie, *Ceratophyllum submersum*, Extraits, Phytoplancton, Solutions.

ABSTRACT

The submerged macrophytes absorb not only great quantity of dissolved nutritive elements but numbers of them can also excrete allelopathic substances likely to inhibit the growth of the phytoplankton. In the present study we want to determine allelopathic effects of the macrophyte *Ceratophyllum submersum* (*C. submersum*) on natural communities of phytoplankton. The possible effects of this plant were never studied in Burkina Faso. Aqueous and methanolic solutions of *C. submersum* were used to lead this study to the laboratory. The evolution of photosynthetic outputs theoretical (Y) and effective (AL+Y) as that of the chlorophyll biomass were followed by measurements of fluorescence carried out using Phyto-PAM during experiments of setting in contact of phytoplankton communities with these solutions. The results obtained indicate that aqueous solutions of dry seedlings of *C. submersum* inhibit the theoretical photosynthetic output (Y) of 14 % (compared to the witness) for a concentration of 70 mg/l and the effective photosynthetic output (AL+Y) of 35 % for the same concentration after 48 hours. With methanolic solutions of dry seedlings of *C. submersum*, an inhibition of 27 % and 35 % (compared to the witness) is observed after 24 hours for a concentration of 25.4 mg/l, respectively for outputs Y and AL+Y. As regards the powder extracts methanolic of *C. submersum*, they inhibit Y to 21 % compared to the witness and AL+Y to 43 % compared to the witness with a concentration 50 mg/l at the end of 72 hours. The chlorophyllian biomass measured during these experiments was not inhibited by the extracts but the evolution of the pigmentary reports/ratios suggests modifications of composition of the phytoplanktonic communities put in the presence of the extracts. These various laboratory results, preliminaries, indicate that the macrophyte *Ceratophyllum submersum* exerts indeed an inhibiting effect on the photosynthetic outputs theoretical (Y) and effective (AL+Y); what implies its potential allelopathic. It also appears that the effective photosynthetic output is more sensitive than the theoretical photosynthetic output. Complementary investigations remain however to be led, initially to validate the existence of such *in situ* effects.

Key words: Allelopathy, *Ceratophyllum submersum*, Extracts, Phytoplankton, Solutions.

INTRODUCTION GENERALE

Les macrophytes jouent un rôle déterminant dans la définition et le maintien des fonctions écologiques des écosystèmes aquatiques peu profonds. Ils assimilent et stockent dans leur biomasse une partie importante des nutriments dissous dans l'eau (ammoniaque et nitrates, phosphates, carbone inorganique dissous dans l'eau ; Van Donk et Van de Bund, 2002). Les macrophytes peuvent également contribuer à une augmentation de la transparence de l'eau en fournissant un refuge pour le zooplancton qui, par sa prédation, diminuera encore les biomasses phytoplanctoniques (Jeppesen *et al.*, 1998 cité par Hilt et Gross, 2008). Les macrophytes aquatiques sont également suspectés de longue date de limiter la croissance du phytoplancton grâce à la production et à l'excrétion de métabolites chimiques toxiques pour les algues (herbicides naturels). De telle limitation de croissance du phytoplancton par les macrophytes submergés peut conférer un avantage à ces derniers quand ils se trouvent en compétition avec le phytoplancton pour l'exploitation des ressources lumineuses et nutritives disponibles *in situ* (Gross *et al.*, 2003 ; Gross *et al.*, 2007). Cette interaction appelée allélopathie par Rice (1984) se définit ainsi comme tout effet, direct ou indirect, bénéfique ou délétère, exercé par des plantes, des protistes (microalgues, ciliés), des bactéries ou des virus sur d'autres organismes aquatiques par la production de composés chimiques qui transitent par l'environnement.

Cependant les investigations sur l'effet des substances allélopathiques de macrophytes intacts sur la croissance de phytoplancton sont souvent rendues délicates en raison de différents facteurs confondants (concurrence pour la lumière et les ressources nutritives en premier lieu, Jasser, 1995). En effet, les examens du potentiel allélopathique des hydrophytes ont accéléré depuis Oborn *et al.* (1954) qui ont proposé pour la première fois que ces hydrophytes pourraient influencer la croissance et la distribution des plantes voisines. Elakovich et Wooten (1989) ont aussi rapporté le potentiel allélopathique de 16 hydrophytes aquatiques par deux essais biologiques. Jasser (1995) a démontré que les extraits de *Ceratophyllum demersum* et de quatre autres macrophytes (*Myriophyllum spicatum*, *Potamogeton lucens*, *Statiotes aloides* et *Chara fragilis*) induisent des modifications dans la structure de dominance de phytoplancton. Aussi, il a montré que l'isolement des algues planctoniques de l'influence directe de *C. demersum* à l'aide des membranes à dialyse cause une augmentation en nombre, biomasse et contribution du pourcentage des cyanobactéries à la biomasse totale. En outre, Van Donk et Gulati (1995) suggèrent que *C demersum* empêche la croissance des épiphytes et du phytoplancton.

Mulderij (2006) a noté que des effets allélopathiques des macrophytes submergées sur le phytoplancton ont été démontrés pour au moins 37 espèces. Plusieurs auteurs ont rapporté l'activité allélopathique des macrophytes sur les communautés de phytoplancton. Par exemple, nous avons *Chara fragilis* (Mulderij *et al.*, 2007), *Ceratophyllum demersum* (Jasser, 1995 ; Körner et Nicklisch, 2002 ; Xian *et al.*, 2006), *Myriophyllum* (Jasser, 1995 ; Gross *et al.*, 1996), *Stratiotes aloides* (Mulderij *et al.*, 2005 ; Mulderij *et al.*, 2007), *Myriophyllum spicatum* (Körner et Nicklisch, 2002 ; Hilt, 2006), *Vallisneria spiralis* (Xian *et al.*, 2006), ayant pour résultat des changements dans la biomasse et/ou la composition du phytoplancton.

Au cours des dernières décades, de nombreuses études ont ainsi démontré le rôle fondamental des interactions allélopathiques dans la régulation de la structure, de la diversité et de la productivité des assemblages phytoplanctoniques (Granéli et Hansen, 2006 ; Ianora *et al.*, 2006). Pour cela l'inhibition du phytoplancton par des substances allélopathiques libérées par les macrophytes submergées est censée être l'un des mécanismes qui contribuent à la stabilisation de l'état clair de l'eau dans les lacs peu profond (Jeppesen *et al.*, 1998 ; Van Donk et Van de Bund, 2002 cités par Hilt et Gross, 2008).

L'objectif de cette étude est de chercher à mettre en évidence l'existence d'effets allélopathiques d'extraits de *Ceratophyllum submersum* sur l'activité photosynthétique de communautés phytoplanctoniques naturelles exposées à différentes gammes de concentration.

Les objectifs spécifiques qui s'y rattachent sont de :

- déterminer l'impact du *C. submersum* sur le rendement photosynthétique théorique ;
- déterminer l'impact du *C. submersum* sur le rendement photosynthétique effectif ;
- déterminer l'effet du *C. submersum* sur la croissance de la biomasse phytoplanctonique.

Les hypothèses qui ont été émises pour cette étude sont :

- *C. submersum* inhibe les rendements photosynthétiques du phytoplancton ;
- *C. submersum* inhibe la croissance du phytoplancton.

Le présent document s'articule autour de deux parties :

- une première partie dans laquelle les généralités sur le phytoplancton, *Ceratophyllum submersum* et l'allélopathie sont présentées ;
- une seconde partie qui présente la méthodologie utilisée pour la collecte et l'analyse des données et les résultats obtenus ainsi que leur discussion.

1ère PARTIE : GENERALITES

I. LE PHYTOPLANCTON

Le phytoplancton est l'ensemble des organismes du plancton appartenant au règne végétal, de taille très petite ou microscopique, qui vivent en suspension dans l'eau. C'est une communauté végétale des eaux marines et des eaux douces, qui flotte librement dans l'eau et qui comprend une très grande diversité d'algues et de cyanobactéries. Plus précisément il s'agit de l'ensemble des espèces de planctons autotrophes vis-à-vis du carbone. Bien que le phytoplancton ne représente que 1 % de la biomasse des organismes photosynthétiques sur la planète, il assure à lui seul 45 % de la production primaire mondiale (Field *et al.*, 1998).

Le phytoplancton est un groupe très diversifié d'un point de vue taxonomique. Il comprend environ 20 000 espèces distribuées dans au moins huit classes taxonomiques ou embranchements. Parmi ces différents groupes d'organismes, nous distinguons les procaryotes (cyanobactéries) et les eucaryotes. Les eucaryotes comprennent principalement les Chlorophytes, les Euglenophytes, les Prasinophytes, les Cryptophytes, les Raphidophytes, les Chrysophytes, les Bacillariophytes (diatomées), les Dinophytes (dinoflagellés) et les Haptophytes.

Le phytoplancton produit la moitié de l'oxygène que l'ensemble des êtres vivants hétérotrophes consomme. Il utilise l'énergie solaire grâce à la photosynthèse. Il est à la base des réseaux trophiques pélagiques et joue un rôle essentiel dans le rétrocontrôle du climat, notamment en pompant le CO₂ (gaz à effet de serre) de l'air. Son développement est fortement saisonnier et est souvent constitué de successions de populations dominantes.

Le phytoplancton n'est présent en quantité massive que dans la zone euphotique (colonne d'eau sous la surface limitée par la profondeur à laquelle parvient 1% de l'éclaircment incident), où il accomplit sa photosynthèse; c'est-à-dire qu'il absorbe des sels minéraux et du carbone (sous forme de CO₂) pour produire de la biomasse et rejeter l'oxygène sous l'effet de la lumière.

Il est à la base de la nourriture de la plupart des poissons.

II. *CERATOPHYLLUM SUBMERSUM* Linné, 1763 (*C. submersum* L., 1763)

Ceratophyllum submersum L., communément appelé en français Cornifle submergé, Cératophylle inerme, Cératophylle submergé (tropical hornwort en anglais), est une espèce de macrophyte de la famille des Ceratophyllaceae, division des magnoliophytes, dont chaque verticille peut compter jusqu'à 120 segments.

Plantae/Magnoliophyta/Magnoliopsida/Nymphaeales/Ceratophyllaceae/Ceratophyllum (Source: *Species 2000 & ITIS Catalogue of Life: May 2012; <http://eol.org/pages/596308/overview>*).

Cette plante aquatique flottante, à tige verte, légèrement cassante, très tolérante est entièrement immergée. Elle se développe dans les eaux eutrophiques calmes, dormantes ou faiblement courantes : mares, pièces d'eau. C'est une plante à tiges ramifiées dépourvues de racines et aux feuillages. Elle est verticillée de 6 à 12 feuilles de 4 centimètre de long, dichotomiques multiples, et à segments foliaires faiblement denticulés. La face inférieure est légèrement couverte de poils fins et courts.

Les fleurs unisexuées, très petites, sont situées à l'aisselle des feuilles. Le fruit est ovoïde-comprimé muni de trois épines, long de 5 mm environ, très dur, noirâtre, hérissé de tubercules, dépourvu d'épines latérales à sa base, terminé en épine raide beaucoup plus courte que lui. *Ceratophyllum submersum* se multiplie par pousses latérales d'au moins 20 cm. Sa floraison a lieu entre Juin et septembre. C'est une plante cosmopolite. Elle est présente en Europe, en Sibérie, au Caucase, en Afghanistan, au Japon et en Afrique.



Photo 1 : Plants de *Ceratophyllum submersum*

III. L'ALLELOPATHIE

Le terme « allélopathie » a été défini en 1984 par Rice, comme étant :

"Tout effet direct ou indirect, positif ou négatif, d'une plante (micro-organismes inclus) sur une autre, par le biais de composés biochimiques libérés dans l'environnement" (Rice, 1984).

Cependant, de nos jours la majorité des études allélopathiques se concentre sur les effets négatifs exercés par une espèce sur d'autres. Les macrophytes aquatiques sont ainsi suspectés de longue date d'inhiber le développement du phytoplancton par l'excrétion des substances chimiques qui limitent sa croissance (Jasser, 1995).

Les composés biochimiques, appelés « composés allélopathiques », (allelochemicals en anglais Cross, 1999) sont pour la plupart des métabolites secondaires, c'est-à-dire qu'ils n'interviennent pas directement dans les processus essentiels à la survie de la plante. La plupart sont des acides phénoliques, des flavonoïdes, des terpènes et des alcaloïdes. Ils sont libérés dans l'environnement par la plante au moyen de quatre processus écologiques décrits pour le milieu terrestre : volatilisation, lixiviation, exsudat racinaire et décomposition des résidus de la plante. Le plus souvent les interactions allélopathiques sont le résultat d'actions jointes de plusieurs composés différents (cocktail de molécules) qui ne sont efficaces qu'à partir d'un certain seuil de concentration, sachant qu'une plante peut émettre simultanément ou en différé plusieurs composés allélopathiques différents.

Ces métabolites jouent un rôle important dans la compétition vis-à-vis des ressources fondamentales que sont la lumière et les ressources nutritives, dans les processus de défense des plantes contre leurs prédateurs, et dans la coopération intra et interspécifique.

Les enjeux de l'allélopathie sont considérables puisqu'elle permettrait de substituer aux traitements "chimiques" coûteux et risqués, des molécules d'origine naturelle, actives à faibles doses et aisément biodégradables, dans la lutte contre les mauvaises herbes par exemple. Les recherches sur le domaine se multiplient ainsi depuis une vingtaine d'années, mais plutôt en domaine terrestre. Certains métabolites allélopathiques sont déjà utilisés comme herbicides naturels (Silkina *et al.*, 2009). A terme, de nouvelles perspectives pourraient émerger, (i) en lien notamment avec la remédiation des écosystèmes, c'est-à-dire en intégrant ces interactions allélopathiques qui ne sont encore que rarement prises en compte dans les scénarios de gestion

des écosystèmes aquatiques et de leurs ressources (voir Chen *et al.*, 2012 ; Rojo *et al.*, 2013 ; Shao *et al.*, 2013 ; Laabir *et al.*, 2013 pour des écosystèmes côtiers), voire (ii) avec le développement d'application cosmétiques ou pharmaceutiques en lien avec les propriétés antibiotiques de certaines des molécules métabolisées par les macrophytes (Smida *et al.*, 2010). L'allélopathie explique par ailleurs et en partie le caractère invasif de certaines espèces.

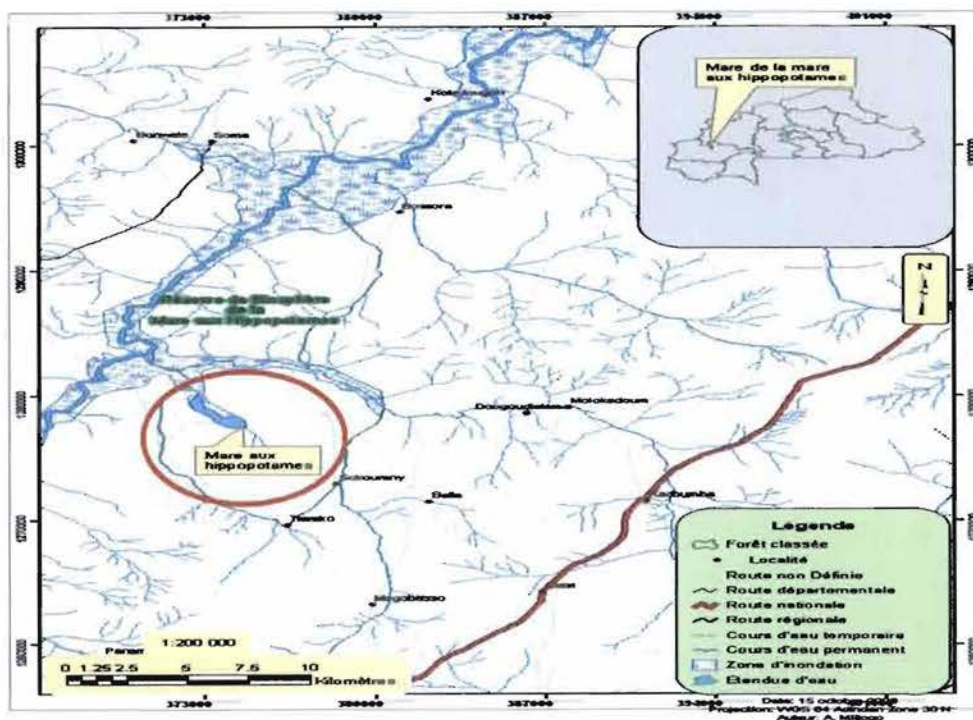
IIème PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

I. PRESENTATION DES MILIEUX D'ETUDE

Notre étude s'est reposée sur l'utilisation de macrophytes collectés à la Mare aux Hippopotames de Bala pour l'étude des effets potentiellement allélopathiques de cette plante sur des communautés phytoplanctoniques naturelles collectées dans le lac de Boura et dans le réservoir de Bama. Ces trois sites (Mare aux Hippopotames de Bala, lac de Boura et lac de Bama) sont drainés par des affluents du fleuve du Mouhoun et ont été sélectionnés dans le cadre d'une étude comparative de leurs statuts de contamination respectifs (Soleri, 2013 ; Cecchi *et al.*, 2013).

I. 1. Situation géographique de la Mare aux Hippopotames de Bala

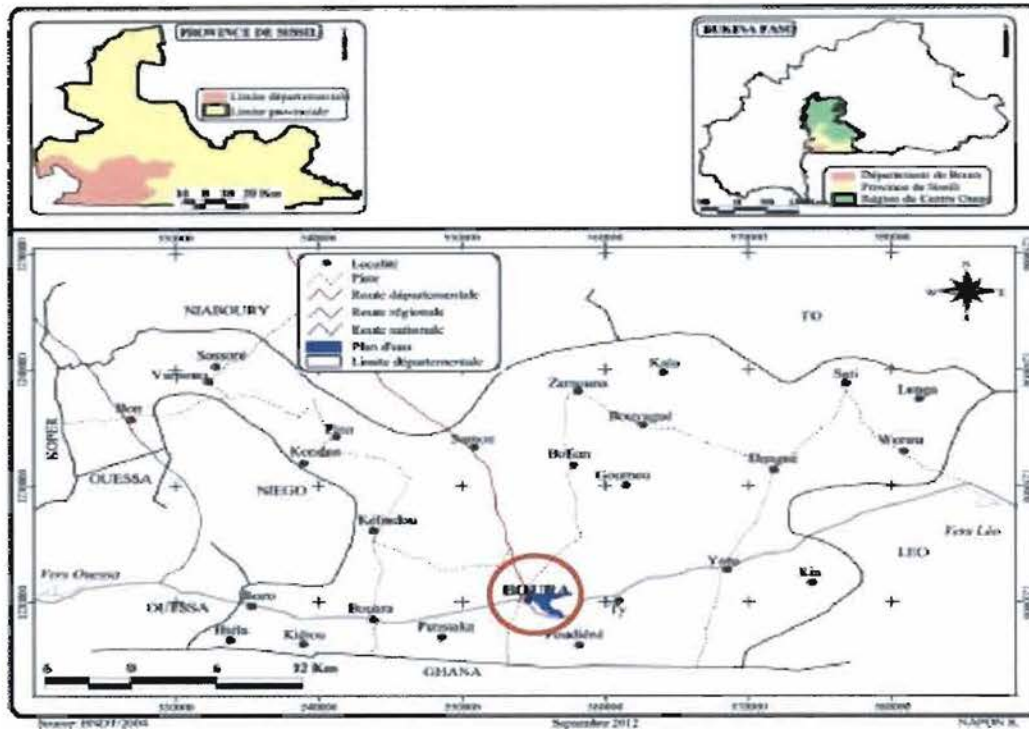
La mare aux hippopotames de Bala (carte 1) est un lac naturel, avec une superficie variant saisonnièrement de 80 à 350 ha (Béarez, 2003) et une capacité de l'ordre de 0,14 Mm³. Elle est localisée dans le village de Bala, département de Satiri à une soixantaine de kilomètres au Nord-est de Bobo-Dioulasso. Cette mare, est située entre les longitudes Ouest 04° 08' 58" et 04° 10' 20" et les latitudes Nord 11° 33' 13" et 11° 34' 55". Elle est en communication permanente avec le fleuve Mouhoun qui est l'une de ses sources d'approvisionnement en eau (Béarez, 2003). Elle est située à l'intérieur d'une aire intégralement protégée (la Mare et la totalité de son bassin versant) à laquelle elle donne un atout particulier à travers sa population d'hippopotames et sa forte colonie d'oiseaux. Zone humide par excellence, toute la Réserve est listée parmi les quinze sites RAMSAR (Convention internationale sur les zones humides) et parmi les onze Biosphères UNESCO au Burkina Faso en 1987.



Carte 1: Carte de localisation de la Mare aux Hippopotames de Bala (Burkina Faso)

I. 2. Situation géographique du réservoir de Boura

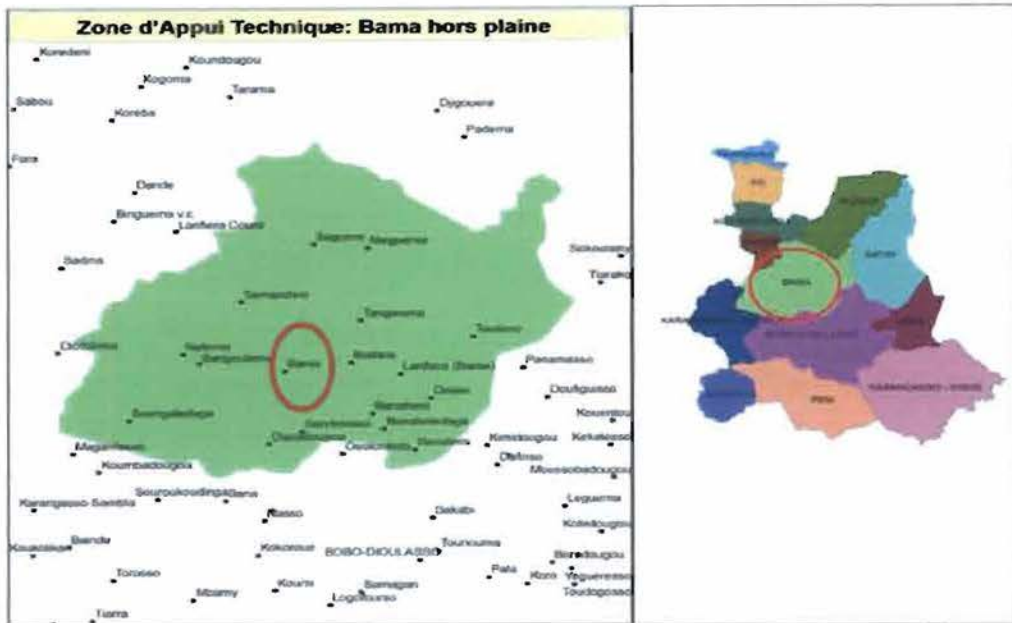
Le lac du barrage de Boura (11°02'N, 2°30'W) est situé dans la commune de Boura à 50 km de Léo, chef-lieu de la province de la Sissili et à environ 200 km à l'Est de Bobo-Dioulasso (carte 2). Ce réservoir de 4,2 Mm³ a été créé en 1983 sur l'affluent principal de la rivière Kabarvaro pour répondre aux besoins pastoraux, humains et agricoles des populations riveraines. Son bassin versant (110 km²) est intensément cultivé, principalement à des fins vivrières. Le réservoir soutient l'irrigation de plusieurs périmètres situés tant sur les rives du réservoir (environ 30 hectares de cultures maraîchères et de maïs) qu'en aval de la digue (de l'ordre de 75 hectares de riziculture et de maïs) et exploités tant durant la saison des pluies qu'en contre-saison. Une quarantaine de pêcheurs exploitent le site tandis que de très nombreux troupeaux viennent s'y abreuver, notamment en saison sèche, ce point d'eau étant l'un des rares pérennes de toute la province de la Sissili.



Carte 2: Carte de localisation du lac de Boura (Burkina Faso)

I. 3. Situation géographique du réservoir de Bama

Le réservoir de Bama est localisé à une trentaine de kilomètres au nord-ouest de la ville de Bobo-Dioulasso à une latitude de 11°22' nord, une longitude de 04°22' ouest et une altitude de 300 m (Kabré, 2000). Il est situé au cœur d'aménagements hydroagricoles couvrant une superficie totale de près de 3000 hectares dont un périmètre rizicole irrigué établi en 1972 de 1260 hectares (carte 3). D'innombrables parcelles y sont par ailleurs cultivées (bananes, maïs, papayes, choux, maraîchage) dont il draine une partie des écoulements. Des mutations génétiques ayant favorisé l'adaptation des moustiques de la zone aux insecticides y ont été démontrées (Dabiré *et al.*, 2008).



Carte 3: Carte de localisation du lac de Bama (Burkina Faso)

I. 4. Climat et hydrographie des sites d'études

Les trois milieux d'étude se situent dans la même zone climatique de type sud soudanien (Guinko, 1984). Ce climat est caractérisé par l'alternance de deux saisons distinctes : une saison sèche entre novembre et avril et une saison pluvieuse entre Mai et octobre. Les précipitations sont concentrées majoritairement sur six mois de l'année et varient entre 700 et 1400 mm, août étant le mois le plus humide. La température moyenne annuelle, quant à elle, varie entre 27°C et 32°C. Les températures maximales sont atteintes entre mars et mai avec un pic au mois d'avril tandis que les températures minimales sont atteintes entre novembre et janvier. L'insolation moyenne journalière dans ces sites varie entre 7 et 8 heures/jour, le taux d'oxygène entre 6 et 7 mg/l et la conductivité de l'eau se situe entre 79 et 148 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (kabré, 2000 et Bearez, 2003).

Les trois sites font partie du bassin versant de la Volta Noire ou fleuve Mouhoun. Le bassin versant alimentent les trois réservoirs Boura, Bala et Bama à travers ces affluents (Tapolwiet Poudiééné pour le réservoir de Boura ; Wolo, Tinamou et Leyessa pour le réservoir de Bala ; Kou pour le lac de Bama).

I. 5. Sols et végétation des sites d'études

Le substrat géologique du bassin versant des sites est constitué de roches datant du précambrien. Le sous-sol est en partie constitué de granites indifférenciés, de roches métamorphiques et de roches volcano-sédimentaires (Karambiri *et al.*, 2011). On trouve des sols hydromorphes sur matériaux sableux ou argilo-sableux, des sols peu évolués d'apport colluvial de sable limoneux et des sols peu évolués d'apport alluvial-colluvial (Kabré, 2000 ; Karambiri *et al.*, 2011).

La végétation aquatique des trois sites (lac de Bama, lac de Boura et la mare de Bala) varie d'une année à l'autre.

Selon Béarez (2003), les eaux de la Mare aux hippopotames de Bala sont riches en phytoplancton et possèdent une flore aquatique assez importante. On y rencontre la végétation aquatique avec pour principales espèces: *Azolla sp.*, *Eichornia natan.*, *Ipomea sp.*, *Mimosa pigra*, *Neptunia sp.*, *Pistia stratiote*, *Ficus congensis*, *Phyllanthus reticulatus*, *Morelia senegalensis*, *Pterocarpus santalinoides*, *Ceratophyllum sp.*, *Crataeva religiosa*, *Mitragyna inermis*, *Vetiveria nigritana*, *Azolla africana*, *Utricularia sp...*

Malgré une variabilité au niveau de certains paramètres dans le temps, les dernières études (BERD, 2004) indiquent que les eaux de la mare ne présentent aucune anomalie car aucune trace de pollution ni d'eutrophisation n'a été observée. Les eaux sont qualifiées de moyennement productives au regard de la quantité des ions magnésium (8 mg/l) et sodium (2,5 mg/l) (Béarez, 2003).

Contrairement à la Mare aux hippopotames de Bala, les lacs de Bama et de Boura sont peu riches en flore aquatique. Les espèces aquatiques généralement rencontrées sont *Ipomea sp.*, *Ceratophyllum sp.*, *Mimosa sp.*, *Crataeva religiosa*. Les eaux de ces deux réservoirs sont dégradées à cause des activités humaines (activités culturelles surtout). L'utilisation des herbicides et insecticides pour les cultures autour de ces réservoirs ont pollué les eaux de ces lacs.

II. MATERIEL ET METHODES

II. 1. Matériel biologique

Le matériel biologique est constitué d'une part, des communautés phytoplanctoniques échantillonnées à Bama et à Boura et utilisées comme 'cibles', et d'autre part des plants de *Ceratophyllum submersum* collectés à Bala (échantillons frais, secs, réduits en poudre et extraits associés) utilisés comme 'contaminants', du méthanol et de l'eau.

II. 2. Matériel technique

Le matériel pour les expériences de laboratoires est composé :

- d'une chambre noire,
- d'un Phyto-PAM ;
- d'un ordinateur portable ;
- d'un broyeur de type FOSS TECATOR
- d'un évaporateur rotatif ;
- d'une balance électronique de précision 0,0001 g ;
- d'un réfrigérateur ;
- d'une étuve ;
- des flasques ;
- du petit matériel de laboratoire.

II. 3. Méthode d'étude

II. 3. 1. Préparation des solutions issues de la macération de plants secs de *Ceratophyllum submersum*

Les plants entiers de *C. submersum* ont été collectés à Bala dans la mare aux hippopotames de Bala au Burkina Faso. Les plants collectés ont été abondamment rincés et nettoyés à l'eau du robinet et séchés à l'étuve à 60°C pendant 72 heures. Ces plants secs de *C. submersum* ont fait l'objet de deux types d'extractions.

II. 3. 1. 1. Solution aqueuse

Les plants collectés ont été séchés et 5 g ont été prélevés afin de réaliser une solution aqueuse de 10 g/l. Pour ce faire, les 5 g de *C. submersum* séchés ont été macérés dans 500 ml d'eau Lafi minérale durant 24 heures à température ambiante et à l'obscurité sous agitation permanente.

Après 24 heures, la préparation a été tamisée sur 200 μm , 20 μm , 3 μm , 0,7 μm avant d'être filtrées sur 0,2 μm et placée au réfrigérateur jusqu'à utilisation. Cette méthode de préparation des extraits est basée sur la méthode de Jasser (1995). Cette solution été utilisée pour l'expérimentation 1.

II. 3. 1. 2. Solution méthanolique

Deux types de solution ont été préparés :

- une première solution a été réalisée par macération de 101,5 mg de plants secs de *C. submersum* dans 2 ml de MeOH pur (soit à une concentration de 50,75 g/l) durant 24 heures à température ambiante et à l'obscurité sous agitation permanente. Après 24 heures, la solution obtenue a été tamisée sur 200 μm , 20 μm , 3 μm , 0,7 μm avant d'être filtrée sur 0,2 μm et placée au réfrigérateur jusqu'à utilisation. Cette solution a été utilisée pour l'expérimentation 2.

- une seconde solution pour lequel 1500 mg de plants secs de *C. submersum* ont été macérés dans 2 ml de MeOH pendant 24 heures et puis la solution a été tamisée sur Whatman GF/F (porosité 0,7 μm) avant d'être filtrée sur 0,2 μm puis placée au réfrigérateur jusqu'à utilisation. La concentration finale de cette solution mère (SM) remonte à 750 g/l.

Afin de faciliter les inoculations, quatre solutions ont été préparées (voir tableau I). Les masses de *C. submersum*, les volumes de solvant et les concentrations fixées nécessaires pour préparer les diverses solutions sont regroupés dans le tableau I.

Tableau I : Masses et volumes utilisés pour la préparation des solutions méthanoliques à base de plants secs de *Ceratophyllum submersum* (expérimentation 3)

Solutions	Type de solution prélevée	Volume solution prélevée (µl)	Masse de <i>C. submersum</i> (µg)	Volume de MeOH (µl)	Concentration des solutions (g/l)
SM	-	-	1 500 000	2000	750
SF	SM	100	75 000	900	75
SPF	SF	100	7 500	900	7,5
SAPF	SPF	100	750	900	0,75

SM=Solution Mère

SF=Solution Fille

SPF=Solution Petite Fille

SAPF=Solution Arrière Petite Fille

MeOH=Méthanol

Le solvant utilisé pour la préparation des solutions est le méthanol (MeOH). Pour chaque essai, la solution fille (SF) est obtenue en prélevant 100 µl de la solution mère (SM) qui sont ensuite injectés aux 900 µl de MeOH du flacon associé à « SF ». De même, la solution petite fille (SPF) est obtenue en prélevant 100 µl de la solution fille (SF) qui sont ensuite injectés aux 900 µl de MeOH du flacon associé à « SPF ». La solution petite arrière fille (SAPF) est obtenue en prélevant 100 µl de la solution petite fille (SPF) qui sont ensuite injectés aux 900 µl de MeOH du flacon associé à « SAPF ». Les solutions sont homogénéisées avant et après chaque transfert de volumes lors de leur élaboration. Ces solutions ont été utilisées pour l'expérimentation 3.

II. 3. 2. Préparation des solutions issus de la macération de poudre de *Ceratophyllum submersum*

II. 3. 2. 1. Extraction méthanolique

Des plants de *C. submersum* collectés à Bala et nettoyés à l'eau du robinet ont été séchés à l'ombre et réduit en poudre à l'aide d'un broyeur FOSS TECATOR. Après le broyage, 50,5 g de poudre de *C. submersum* ont été macérés dans du méthanol 100 % pendant 24 heures avec un volume de méthanol (MeOH) équivalent à 10 fois le poids de la poudre utilisée (505 ml de MeOH). Après 24 heures, la macération de *C. submersum* a été filtrée pour obtenir des extraits méthanoliques. Ces extraits ont subi une condensation à l'aide d'un appareil BUCHI Rotavapor R-200 (photo 2) pour évacuer tout le méthanol. Le rendement d'extraction après l'évaporation du

méthanol est de 5,88%. Ce rendement est égal au rapport de la masse de l'extrait obtenu sur la masse de la poudre utilisée.



Photo 2 : Appareil BUCHI Rotavapor R-200 utilisé pour la condensation des extraits méthanoliques

Les extraits obtenus après concentration se présentent initialement sous forme pâteuse, plus ou moins facile à dissoudre dans le solvant prévu à cet effet. Il a été nécessaire d'homogénéiser (vortex) les extraits pendant 45 minutes afin d'obtenir une solution homogène et sans particules.

II. 3. 2. 2. Solution méthanolique

Pour préparer les différentes solutions, 273,9 mg d'extrait concentré ont été dissous dans 1 ml de MeOH afin d'obtenir une solution mère de concentration de 273,9 g/l.

Afin de faciliter les inoculations, quatre solutions ont été préparées. Les masses d'extraits purifiés, les volumes de solvant et les concentrations fixées nécessaires pour préparer les diverses solutions sont regroupés dans le tableau II:

Tableau II : Masses et volumes utilisés pour la préparation des solutions méthanoliques à base de poudre de *Ceratophyllum submersum* (expérimentation 4)

Solution	Type solution prélevé	Volume solution prélevé (µl)	Masse de <i>C. submersum</i> (µg)	Volume de MeOH	Concentration solution (g/l)
SM	-	-	273900	1000	273,9
SF	SM	100	27390	900	27,39
SPF	SF	100	2739	900	2,739
SAPF	SPF	100	273,9	900	0,2739

SM=Solution Mère

SF=Solution Fille

SPF=Solution Petite Fille

SAPF=Solution Arrière Petite Fille

MeOH=Méthanol

La solution mère est filtrée sur AcrodiscTuffryn à 0,2 µm. Ces solutions ont été utilisées pour l'expérimentation 4.

II. 3. 3. Préparation des gammes de concentration en *Ceratophyllum submersum* et l'inoculation

Pour ces expériences préliminaires, les gammes de concentration testées ont été définies sur la base de résultats présentés dans la littérature de sorte à proposer un dispositif expérimental réaliste. Récemment, les effets inhibiteurs des zostères (phanérogames marines) envers le dinoflagellé (côtier) *Alexandrium sp.* ont été rapportés. Les concentrations induisant 50 % d'inhibition étaient de 0,12 à 0,77 g/l pour *Zostera noltii* et 0,09 à 0,83 g/l pour *Zostera marina* (Laabir *et al.*, 2013). Elles sont comparables à la biomasse de plantes par volume observé dans les lits modérément denses de *Zostera*, ce qui indique que les concentrations testées étaient réalistes. De même, les concentrations d'autres macrophytes, *Ulva sp.*, qui ont produit une inhibition de croissance du phytoplancton de l'ordre de 50 % étaient de 0,19 g/l pour *Ulva lactuca* (Nan *et al.*, 2008), 0,6 g/l pour *Ulva linza* (Wang *et al.*, 2007) et de 0,8 g/l pour *Ulva pertusa* (Jin et Dong, 2003).

II. 3. 3. 1. Gammes de concentration à base de solutions aqueuses de plants secs de *Ceratophyllum submersum* (expérimentation 1)

Pour préparer les gammes de concentration de *C. submersum* pour ces extraits, l'eau contenant du phytoplancton collecté au réservoir de Bama a été filtré sur 200 µm (élimination des débris et des principaux prédateurs zooplanctoniques) et mis dans des flasques de 50 ml. Les volumes de solution *C. submersum* et de l'eau Lafi minérale correspondantes ont été ajoutés dans les flasques contenant 50 ml de l'eau du réservoir avec sa communauté normale de phytoplancton. L'eau en bouteille a été rajoutée aux différents traitements de sorte à obtenir un même facteur de dilution pour tous les essais. Les différentes concentrations (mg/l) testées sans les témoins sont 30, 50, 70 et 90 mg/l. Une durée de 10 minutes sépare la préparation de deux flasques consécutives. Cette durée correspond au temps maximal de lecture d'un échantillon au Phyto-PAM. Les inoculations ainsi séquencées permettent d'assumer des temps de contact parfaitement identiques pour l'ensemble des flasques. Les mesures au phyto-PAM ont été effectuées au bout de 48 heures de mise en contact avec l'inoculum. Le tableau III présente la constitution des concentrations finales en *C. submersum*. Au total six traitements en triplicats ont été testés y compris les témoins.

Tableau III : Gammes de concentration en *Ceratophyllum submersum* avec les solutions aqueuses des plants secs (expérimentation 1)

Nom du traitement	Volume solution 10 g/l prélevée (ml)	Volume Lafi ajouté (ml)	Concentration finale en <i>C. submersum</i> (mg/l)
Témoin (T)	0	0	0
Lafi	0	5	0
T1	3	5	30
T2	5	5	50
T3	7	5	70
T4	9	5	90

T= Traitement

II. 3. 3. 2. Gammes de concentration à base de solutions méthanoliques de plants secs de *Ceratophyllum submersum* (expérimentations 2 et 3)

Pour préparer les gammes de concentration en *C. submersum* pour ces extraits, l'eau contenant du phytoplancton collecté au lac à Boura a été filtré sur 200 µm et mis dans des flasques de 10 ml (expérience 2) et 50 ml (expérience 3). Les volumes de solution de *C. submersum* et de MeOH correspondants ont ensuite été ajoutés à ces préparations. Une durée de 10 minutes sépare l'inoculation de deux flasques consécutives.

a) Expérimentation 2

Les différentes concentrations (mg/l) testées sans les témoins sont 25,40 et 50,80 mg/l. Le méthanol est utilisé à 0,05 % du volume des flasques. Les flasques de 10 ml ont été utilisés. Le tableau IV montre la constitution des concentrations finales en *C. submersum*. Au total quatre traitements en triplicats ont été testés y compris les témoins. Les mesures au Phyto-PAM ont été effectuées après 24 heures de mise en contact avec l'inoculum.

Tableau IV : Gammes de concentration en *Ceratophyllum submersum* avec les solutions méthanoliques de plants secs (expérimentation 2)

Nom du traitement	Volume solution 50,75 g/l prélevée (µl)	Volume de MeOH ajouté (µl)	Concentration finale en <i>C. submersum</i> (mg/l)
Témoin (T)	0	0	0
MeOH	0	100	0
T1	50	50	25,40
T2	100	0	50,80

MeOH=Méthanol T=Traitement

b) Expérimentation 3

Les différentes concentrations (mg/l) testées sans les témoins sont 0,16 ; 0,50 ; 1,58 ; 5 ; 15,82 et 50 mg/l. Le méthanol est utilisé à 0,07 % du volume des flasques. Les flasques de 50 ml ont été utilisés. Le tableau V montre la constitution des concentrations finales en *C. submersum*. Au total huit traitements en triplicats ont été testés y compris les témoins. Les mesures au Phyto-PAM ont été effectuées après 24, 48 et 72 heures de mise en contact avec l'inoculum.

Tableau V : Gammes de concentration en *Ceratophyllum submersum* avec les solutions méthanoliques de plants secs (expérimentation 3)

Nom de la solution	Type de solution	Volume solution prélevée (µl)	Volume de MeOH ajouté (µl)	Concentration finale en <i>C. submersum</i> (mg/l)
Témoin (T)	-	0	0	0
MeOH	-	0	33,38	0
T1	SAPF	10,58	22,80	0,16
T2	SAPF	33,43	0	0,50
T3	SPF	22,82	10,56	1,58
T4	SPF	33,38	0	5
T5	SF	10,55	22,83	15,82
T6	SF	33,38	0	50

SM=Solution Mère SF=Solution Fille SPF=Solution Petite Fille MeOH=Méthanol

SAPF=Solution Arrière Petite Fille T=Traitement

II. 3. 3. 3. *Gammes de concentration à base de solutions méthanoliques de poudre de Ceratophyllum submersum (expérimentation 4)*

Pour tester les gammes de concentration de *C. submersum* pour ces extraits, l'eau contenant du phytoplancton collecté au lac à Boura a été filtré sur 200 µm et placées dans 24 flasques de 50 ml. Les volumes de solution *C. submersum* et de MeOH correspondantes ont été ajoutés dans les flasques contenant 50 ml de l'eau contenant du phytoplancton.

En considérant un triplicat pour chaque traitement, cela a conduit au final à l'obtention de 24 échantillons y compris les témoins. Les gammes de concentration utilisées sont au nombre de 8 y compris le témoin eau phytoplancton et le témoin méthanol. Les différentes concentrations (mg/l) testées sans les témoins sont 0,16 ; 0,50 ; 1,58 ; 5 ; 15,82 et 50 mg/l. Le méthanol est utilisé à 0,18 % du volume des flasques. Les mesures au Phyto-PAM ont été effectuées au bout de 24, 48 et 72 heures d'inoculation.

Le tableau VI montre la constitution des concentrations finales en *C. submersum*.

Tableau VI : Gammes de concentration en *Ceratophyllum submersum* avec les solutions méthanoliques de poudre (expérimentation 4)

Nom de la solution	Type de solution	Volume solution prélevée (µl)	Volume de MeOH à ajouter (µl)	Concentration finale en <i>C. submersum</i> (mg/l)
Témoin (T)	-	0	0	0
MeOH	-	0	91,41	0
T1	SAPF	28,97	62,44	0,16
T2	SAPF	91,54	0	0,50
T3	SPF	28,93	62,48	1,58
T4	SPF	91,41	0	5
T5	SF	28,88	62,52	15,82
T6	SF	91,41	0	50

SM=Solution Mère

SF=Solution Fille

SPF=Solution Petite Fille

MeOH=Méthanol

SAPF=Solution Arrière Petite Fille

T=Traitement

Remarque : Pour toutes les expérimentations, après l'ajout de l'inoculum, les flasques ont été mises sous incubation sur un plateau en rotation (Photo 3) pour permettre à toutes les flasques de recevoir la même quantité de lumière. Au moment de l'incubation, les flasques sont

constamment remuées. Pour chaque essai, il a été préparé un témoin sans solvant et sans extrait ainsi qu'un autre témoin sans extrait mais avec solvant.

Les rendements photosynthétiques théorique ($Y=F_v/F_m$) et effectif ($AL+Y=\Phi_{PSII}$) ainsi que la biomasse en chlorophylle (Chl) ont été mesurés en fonction des concentrations en *C. submersum* et en fonction du temps à l'aide d'un Phyto-PAM.

(F_v =fluorescence variable ; F_m =fluorescence maximale ; AL=Lumière actinique ; PSII=Photosystème II)



Photo 3 : Collection de 24 flasques de 50 ml sur le plateau en rotation pour incubation de l'inoculum

II. 3. 4. Mesure des rendements photosynthétiques et de la chlorophylle au phyto-PAM

L'étude de la sensibilité du phytoplancton aux macrophytes a été effectuée grâce à des mesures de fluorescence de la chlorophylle réalisées à l'aide d'un Phyto-PAM (Pulse Amplitude Modulated measuring method). Les mesures fluorimétriques réalisées au Phyto-PAM (photo 4) permettent d'estimer les biomasses phytoplanctoniques en présence, mais surtout de caractériser l'efficacité photosynthétique des algues par la mise en œuvre de séquences d'éclaircements rapides.

Le Phyto-PAM est constitué de LEDs qui excitent les pigments contenus dans l'appareil photosynthétique des échantillons étudiés (Manuel utilisation Phyto-PAM, 2003). Cet appareil envoie des flashes de lumière à 4 longueurs d'ondes différentes, qui seront absorbées de façon différente en fonction de la nature des pigments présents dans l'organisme. Le Phyto PAM est en réalité un spectrofluorimètre, qui induit des réponses (fluorescence) par des éclaircements en séquence appliqués à quatre longueurs d'onde différentes (470 nm, bleu ; 520 nm, vert ; 645 nm, rouge et 665 nm, rouge intense) appelés conventionnellement canaux F1, F2, F3 et F4, respectivement. Les fluorescences induites par chacune de ces longueurs d'onde d'excitation dépendent de la composition pigmentaire des échantillons étudiés. Ainsi, le signal F1 est surtout

associé aux diatomées et aux chlorophycées tandis que le signal F2 n'est lié qu'aux diatomées. Le signal F3 est lié à la présence de cyanobactéries tandis que le signal F4 (excitation de la chlorophylle *a* qui est le seul pigment partagé par tous les groupes taxinomiques) est représentatif de la communauté photosynthétique toute entière (Jakob *et al.*, 2005). La réponse (fluorescence) est spécifique à l'échantillon et donc au type de phytoplancton qui le compose.



Photo 4 : Appareil Phyto-PAM utilisé pour la mesure des rendements photosynthétiques et de la chlorophylle

Après 24, 48 et/ou 72 heures de mise en contact, des séquences de mesure au Phyto-PAM ont été réalisées pour toutes les expérimentations et pour tous les échantillons selon la méthode de Maxwell and Johnson, 2000.

Pour chaque échantillon, ces séquences de mesures se déroulent comme suit.

- a) l'échantillon est placé dans le noir pendant 30 minutes afin que la chaîne de transport d'électrons ne fonctionne plus et que les centres réactionnels soient ouverts. Après les 30 minutes, trois seringues de 3 ml sont prélevées de l'échantillon dans le noir de sorte à faire la mesure du gain (amplification), du zéro (équivalent à un 'blanc'), du rendement photosynthétique théorique (Y), de la chlorophylle (Chl) et du rendement photosynthétique effective (AL+Y).

Les deux seringues qui sont destinées à la mesure du gain et du zéro sont déposées à la lumière ambiante. La troisième seringue qui est destinée à la mesure de la chlorophylle et des rendements photosynthétiques (théorique et effectif) sur l'échantillon, se manipule toujours dans le noir.

- b) l'ajustement du gain (Gain) : elle se fait avec un échantillon non tamisé sur 0,2 μm placé dans la cuvette de mesure du Phyto-PAM.
- c) l'échantillon est alors soumis à une lumière non actinique, c'est-à-dire qui n'active pas la photosynthèse tout en induisant une fluorescence des pigments en présence. Ceci permet

d'ajuster l'amplification des signaux de fluorescence émis, qui dépendent (entre autres) de la biomasse de l'échantillon.

- d) la mesure du zéro ou blanc (Zoff) a pour objectif de corriger les mesures de fluorescence liées à l'excitation des pigments, de la fluorescence résiduelle associée à la 'couleur' de l'eau (présence d'acides humiques par exemple). La mesure du « Zoff » est réalisée sur un échantillon placé dans l'appareil de mesure soumis à une lumière non actinique mais après filtration sur 0,2 µm de sorte à éliminer toute la fraction particulaire et ne conserver que le matériel dissous en présence. Dans l'échantillon il peut y avoir des substances dissoutes fluorescentes. Cette fluorescence n'étant pas due à la biomasse que l'on veut estimer, la fluorescence due aux substances dissoutes doit être soustraite des valeurs de fluorescence spécifiquement associées à l'activité photosynthétique.
- e) la mesure du rendement (efficacité, activité ou performance) photosynthétique théorique (Y) par l'application d'un flash de saturation. Le troisième échantillon – celui qui était resté dans le noir tout le temps de la mesure du Gain et du Zoff – est alors mobilisé pour la réalisation des mesures liées à l'activité photosynthétique. L'échantillon placé dans la cuvette est d'abord soumis à un éclairage basal, non actinique qui induit la fluorescence de base ou fluorescence minimale (Fo, voir figure 1). Un flash de lumière saturante court et intense (SAT-PULSE) est alors appliqué. Ce flash provoque la fermeture des centres de réaction du photosystème II (PSII) ce qui a pour conséquence une augmentation de la fluorescence jusqu'à sa valeur maximale (Fm). Le rendement photosynthétique théorique ou optimal est alors calculé selon l'équation :

$$\text{Yield} = Y = F_v / F_m = (F_m - F_o) / F_m \text{ (voir figure 1)}$$

Ce rendement mesure la quantité maximale d'énergie lumineuse qui peut être utilisée pour les processus d'échange chimique et de transport d'électrons pour des échantillons adaptés au noir.

- f) la mesure de la chlorophylle (la biomasse=Chl) : un faible éclairage induit la fluorescence basale (Fo), sans pour autant mettre en action la chaîne photosynthétique.

Cette fluorescence peut être utilisée pour mesurer la biomasse présente dans l'échantillon.

- g) la mesure du rendement photosynthétique effectif (AL+Y) par l'application d'une lumière actinique (AL). L'échantillon placé dans le Phyto-PAM est d'abord soumis à une lumière actinique pendant 1 minute pour activer la chaîne de transport d'électrons, et on applique ensuite 5 flashes de saturation toutes les 30 secondes afin de mesurer le

rendement de fluorescence effectif, c'est-à-dire en condition de production photosynthétique. Il se calcule de la manière suivante :

$$AL+Y=\Phi_{PSII}=(F_m'-F_t)/F_m'=\Delta f/F_m'(\text{voir figure 1})$$

La moyenne des 5 mesures consécutives est alors prise en considération. La lumière actinique provoque la mise en place de la photosynthèse avec le transport d'électrons et la fluorescence émise est moindre qu'en lumière non actinique. L'intensité lumineuse appliquée (lumière actinique) correspond à celle subie *in situ* par les échantillons étudiés.

La séquence de mesure dure environ 10 minutes par échantillon, c'est pourquoi il a été nécessaire de décaler chaque inoculation de 10 minutes de sorte à obtenir exactement les mêmes temps d'incubation et d'exposition à la lumière.

Pour des organismes ayant subi une adaptation à l'obscurité :

- F_m : fluorescence maximale,
- F_o : fluorescence minimale,
- F_v : fluorescence variable ($= F_m - F_o$)

Pour des organismes adaptés à la lumière:

- F_m' : fluorescence maximale,
- F_t : fluorescence d'équilibre,
- M.B. : éclaircissement de base
- S.Fl. : flash de saturation

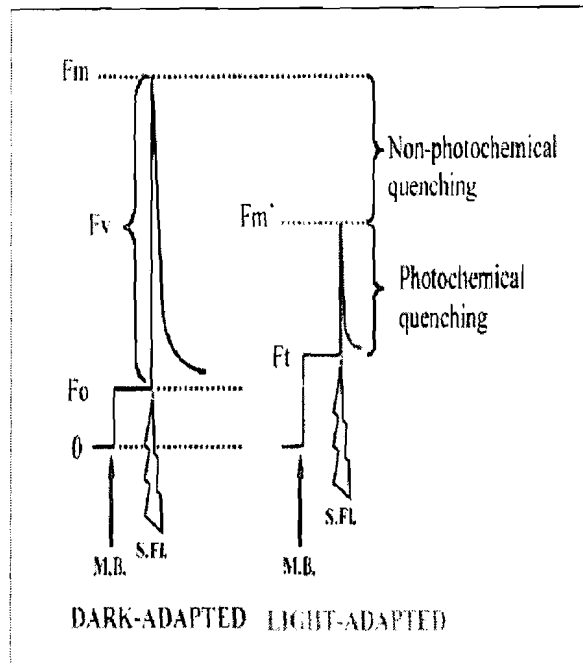


Figure 1 : Paramètres de la fluorescence obtenus par la méthode des flashes de saturation (Saturation Pulse) ; d'après Varotto (2002)

II. 4. Analyses statistiques

Les logiciels Word et Excel ont été utilisés respectivement pour la saisie et le traitement des données. Les logiciels SigmaStat 3.5 et SigmaPlot 10.0 ont été utilisés pour les analyses statistiques (analyses de variance paramétriques ou non) et pour la présentation des résultats. Le test de Turkey a été utilisé pour la comparaison des rendements photosynthétiques des solutions méthanoliques. Le seuil de signification statistique est fixé à 5 % pour toutes les analyses.

III. RESULTATS

Les résultats obtenus pour les rendements (efficacités, capacités ou performances) photosynthétiques sont exprimés en pourcentage par rapport au témoin. On obtient pour chaque échantillon une valeur moyenne qui correspond au rendement de fluorescence pour les quatre canaux d'excitation.

Les résultats obtenus pour la chlorophylle correspondent à la biomasse totale des pigments excités dans les canaux F1 à F4, et sont exprimés aussi en pourcentage par rapport au témoin comme pour les rendements.

Concernant les valeurs brutes générées par le logiciel phyto-WIN à partir du Phyto-PAM, elles sont présentées en annexes (voir annexes 2, 3, 4 et 5) sous forme de moyennes pour chaque expérimentation.

Pour toutes les expérimentations, la capacité photosynthétique théorique du témoin est égale ou supérieure à 0,50 (valeur non visible sur les figures présentées mais sur les résultats en valeur brute en annexe), valeur proche de celles classiquement observées pour des algues dans de bonnes conditions et sans stress (McMinn et Hegseth, 2004).

III. 1. Effet des solutions aqueuses de plants secs de *Ceratophyllum submersum* sur le phytoplancton (expérimentation 1)

Pour cette expérimentation, le phytoplancton collecté dans le réservoir de Bama a été utilisé. Les flasques de 50 ml ont été utilisés et les concentrations testées sont le témoin eau de Bama, le témoin eau de (Bama+eau Lafi) et les concentrations 30, 50, 70 et 90 mg/l.

III. 1. 1. Rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y)

Ils sont mesurés en lumière non actinique (Y) et en lumière actinique (AL+Y) et permettent de calculer les rendements maximal et effectif de fluorescence du PSII.

La figure 2 illustre les rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y) en présence des solutions aqueuses de *C. submersum* au bout de 48 heures.

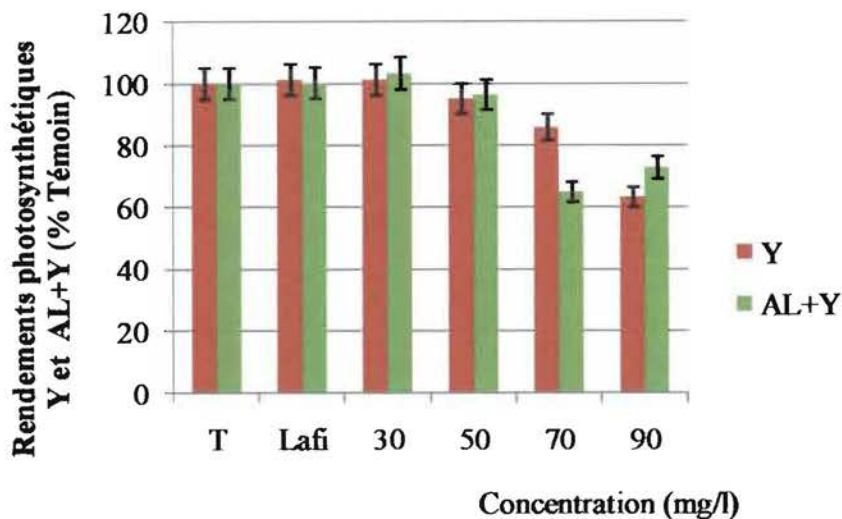


Figure 2 : Rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y) au bout de 48 heures en présence des solutions aqueuses de plants secs de *Ceratophyllum submersum*

T : Témoin ; Lafi: Témoin eau Lafi;

Y : Rendement photosynthétique théorique ; AL+Y : Rendement photosynthétique effectif

L'Anova révèle que l'eau Lafi utilisée pour la préparation des exsudats n'exerce aucun effet sur les performances photosynthétiques ($F=0,67$; $P=0,46$ pour Y et $F=0,10$; $P=0,77$ pour AL+Y).

L'analyse des résultats au seuil de 5 % montre des différences significatives ($P<0,05$) entre les rendements photosynthétiques des concentrations (T, Lafi, 30 et 50 mg/l) et ceux des concentrations (70 et 90 mg/l) mais aussi entre 70 et 90 mg/l, suggérant que l'effet serait dose-dépendant au-delà d'un certain seuil. Mais il n'y'a pas de différences significatives entre les rendements des traitements ayant des concentrations inférieures 70 mg/l.

Au bout de 48 heures, nous observons une inhibition des rendements photosynthétiques lorsque la concentration en *C. submersum* augmente. Cette inhibition des capacités photosynthétiques n'est observée que pour les trois plus fortes concentrations (50, 70 et 90 mg/l).

A partir de 48 heures d'exposition, la solution exerce un effet inhibiteur majeur de manière significative ($P<0,05$) sur l'activité photosynthétique pour les deux concentrations les plus élevées. Cette inhibition est de l'ordre de 14 % et 37 % par rapport au témoin pour Y (figure 2) et respectivement pour les concentrations 70 et 90 mg/l. Pour AL+Y (figure 2), cette inhibition atteint 35 % et 27 % par rapport au témoin respectivement pour les mêmes concentrations.

Nous pouvons donc dire que les solutions aqueuses de plants secs de *C. submersum* ont un effet inhibiteur significatif sur les capacités photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y) dès 48 heures pour les deux plus fortes concentrations (70 et 90 mg/l).

L'effet n'a pu être déterminé sur l'évolution de la biomasse en chlorophylle puisque nous n'avons pas pu déterminer la part d'inhibition due à la solution et la part de la dilution due à l'ajout de l'eau Lafi.

III. 2. Effet des solutions méthanoliques de plants secs de *Ceratophyllum submersum* sur le phytoplancton (expérimentation 2 et 3)

III. 2. 1. Expérimentation 2

Pour cette expérimentation, le phytoplancton collecté dans le réservoir de Boura a été utilisé. Les flasques de 10 ml ont été utilisés et les concentrations testées sont le témoin eau de Boura, le témoin eau de (Boura+MeOH) et les concentrations 25,40 et 50,80 mg/l.

III. 2. 1. 1. Rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y)

La figure 3 illustre les rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y) en présence des solutions méthanoliques de *C. submersum* après de 24 heures.

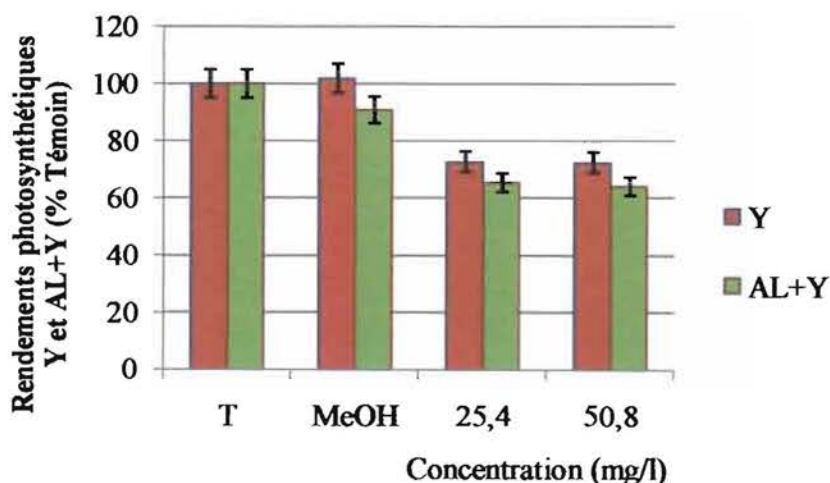


Figure 3 : Rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y) au bout de 24 heures en présence des solutions méthanoliques de plants secs de *Ceratophyllum submersum*

T : Témoin ; MeOH : Témoin Méthanol ;

Y : Rendement photosynthétique théorique ; AL+Y : Rendement photosynthétique effectif

L'analyse des résultats au seuil de 5 % ne montre pas de différences significatives pour le rendement photosynthétique théorique (Y) entre le témoin et le méthanol après 24 heures ($F=3,68$; $P=0,13$) tandis qu'un effet est observé pour le rendement photosynthétique effectif (AL+Y : $F=102,46$; $P=0,0005$). Cet effet sera négligé en première instance et des différences significatives sont observées entre le rendement du témoin et ceux des concentrations utilisées ($P<0,05$). Au seuil de 5 %, nous observons des différences significatives entre les rendements photosynthétiques des témoins (T et MeOH) et ceux des concentrations 24,50 et 50,80 mg/l ($P<0,05$) mais il n'y a pas de différences significatives entre le rendement de la concentration 24,50 mg/l et celui de la concentration 50,80 mg/l pour Y et AL+Y.

Cette figure montre que les solutions méthanoliques de *C. submersum* provoquent une inhibition des performances photosynthétiques pour les deux concentrations utilisées. Les performances photosynthétiques sont inhibées avec l'augmentation de la concentration de *C. submersum*.

Après 24 heures, ces performances sont inhibées de 27 et 28 % par rapport au témoin pour Y respectivement pour les concentrations 25,4 et 50,8 mg/l (figure 3). Quant à AL+Y, l'inhibition est de 35 et 36 % respectivement pour les mêmes concentrations (figure 3).

III. 2. 1. 2. Evolution de la biomasse en chlorophylle

La figure 4 présente l'évolution de la biomasse de chlorophylle en présence des solutions méthanoliques de *C. submersum*.

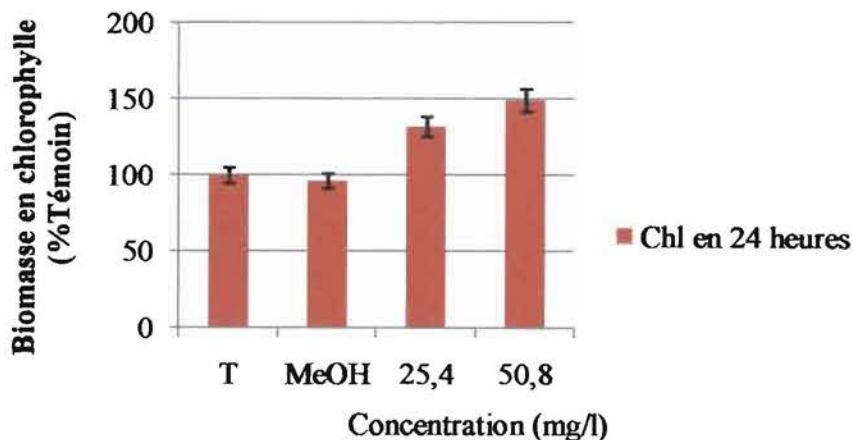


Figure 4 : Evolution de la biomasse en chlorophylle (Chl) au bout de 24 heures en présence des solutions méthanoliques de plants secs de *Ceratophyllum submersum*

T : Témoin ; MeOH : Témoin Méthanol ; Chl : Chlorophylle

L'anova au seuil de 5 % ne montre pas de différences significatives entre le témoin et le méthanol au bout de 24 heures ($F=0,55$; $P=0,5$ pour Chl). Cependant avec les concentrations de 25,4 et 50,8 mg/l, nous observons une croissance significative de la biomasse de l'ordre de 32 % par rapport au témoin pour 25,4 mg/l et 49 % par rapport au témoin pour 50,8 mg/l. Ce qui explique que *C. submersum* semble avoir un effet stimulant sur la chlorophylle contrairement à Y et AL+Y.

Quand nous considérons le rapport F1/F3, les deux traitements sont regroupés et très différents des deux témoins ($F=11,747$; $P=0,003$). Il en est de même pour le rapport F1/F4 ($F=58,763$; $P<0,001$) sauf que les deux traitements sont également différents dans ce second cas. Une diminution du ratio F1/F3 suggère une augmentation de la contribution des cyanobactéries au détriment des diatomées et des chlorophycées.

La biomasse de chlorophylle mesurée (figure 4) ne semble pas être affectée négativement par les solutions méthanoliques de *C. submersum*.

III. 2. 2. Expérimentation 3

Pour cette expérimentation, le phytoplancton collecté dans le réservoir de Boura a été utilisé. Les flasques de 50 ml ont été utilisés et les concentrations testées sont le témoin eau de Boura, le témoin eau de (Boura+MeOH) et les concentrations 0,16 ; 0,50 ; 1,58 ; 5 ; 15,82 et 50 mg/l en solutions méthanoliques des plants secs de *C. submersum*.

III. 2. 2. 1. Rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y)

Les figures 5 et 6 illustrent respectivement l'évolution des rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y) en présence des solutions méthanoliques de plants secs de *C. submersum*.

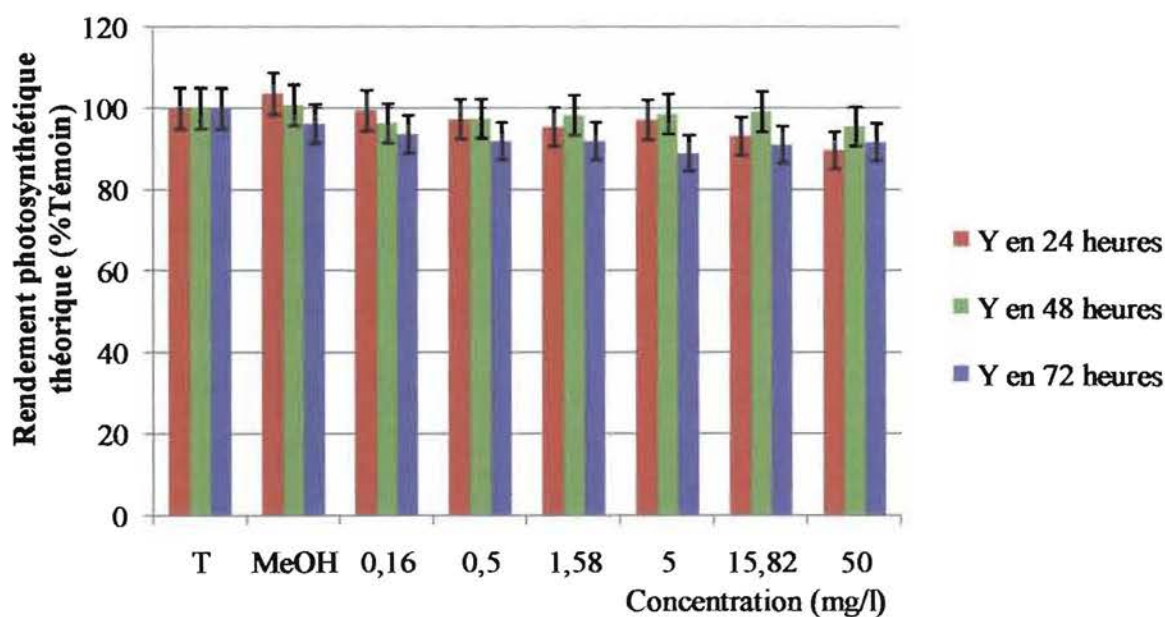


Figure 5 : Rendement photosynthétique théorique (Y) au bout de 24, 48 et 72 heures en présence des solutions méthanoliques de plants secs de *Ceratophyllum submersum*

T : Témoin ; MeOH : Témoin Méthanol ; Y : Rendement photosynthétique théorique

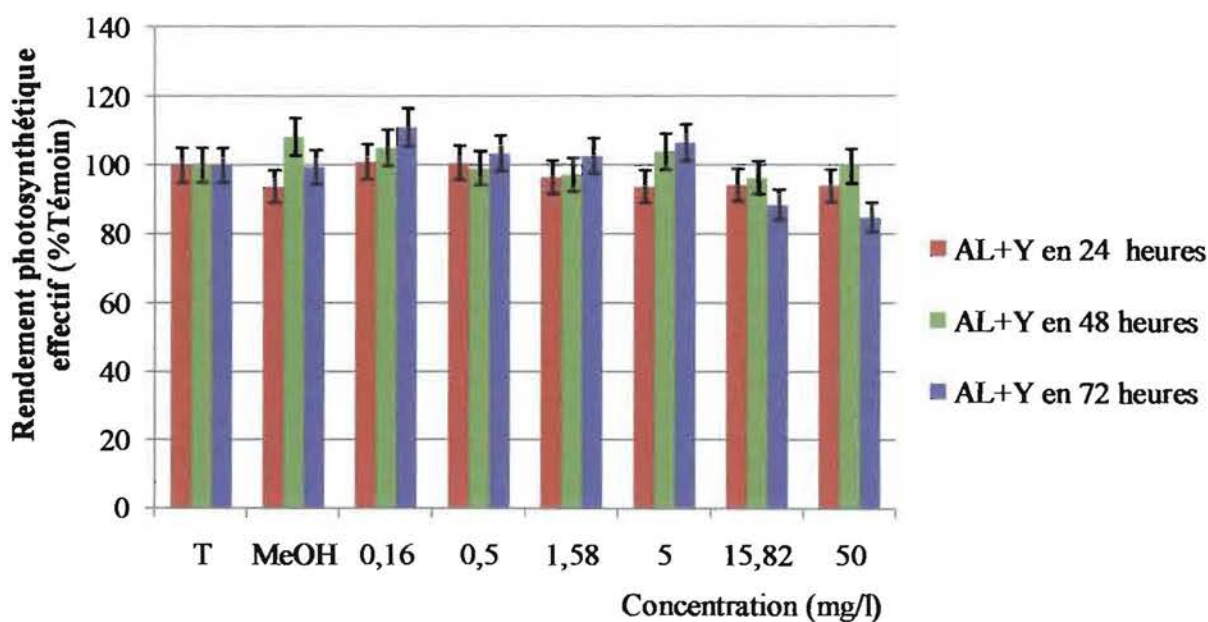


Figure 6 : Rendement photosynthétique effectif (AL+Y) au bout de 24, 48 et 72 heures en présence des solutions méthanoliques de plants secs de *Ceratophyllum submersum*

T : Témoin ; MeOH : Témoin Méthanol ; AL+Y : Rendement photosynthétique effectif

Les concentrations des extraits à base de plants secs de *C. submersum* utilisées pour cette expérience sont 0,16 ; 0,50 ; 1,58 ; 5 ; 15,82 et 50 mg/l.

L'Anova au seuil de 5 % montre que le solvant (MeOH à 0,07 %) n'a pas d'effet pour toutes les concentrations testées au bout de 24, 48 et 72 heures ($0,04 \leq F \leq 1,57$; $0,28 \leq P \leq 0,84$ pour Y et $0,02 \leq F \leq 2,9$; $0,16 \leq P \leq 0,89$ pour AL+Y). Ce qui permet de pouvoir négliger son impact sur l'efficacité photosynthétique et de tester seulement celui du *C. submersum*.

Pour l'efficacité photosynthétique Y (figure 5), aucune différence significative n'a été observée entre tous les traitements au bout de 24 ; 48 et 72 heures. Une diminution des performances photosynthétiques théoriques (Y) est observée pour toutes les concentrations utilisées mais pas de façon significative par rapport au témoin.

Pour le rendement photosynthétique effectif (AL+Y), il n'y a pas de différences significatives entre tous les traitements après 24 et 48 heures. Ce n'est qu'à 72 heures que AL+Y (figure 6) diminue significativement ($F=14,406$ et $P<0,001$) pour les deux plus fortes concentrations (15,82 et 50 mg/l). Ce rendement AL+Y atteint une inhibition d'environ 12 % par rapport au témoin (pour la concentration 15,82 mg/l) et 15 % par rapport au témoin (pour la concentration 50 mg/l). Nous pouvons déduire que AL+Y est plus sensible aux extraits méthanoliques de plants secs de *C. submersum* par rapport à Y.

III. 2. 2. Evolution de la biomasse en chlorophylle

La figure 7 montre l'évolution de la biomasse en chlorophylle en présence des solutions méthanoliques de plants secs de *C. submersum*.

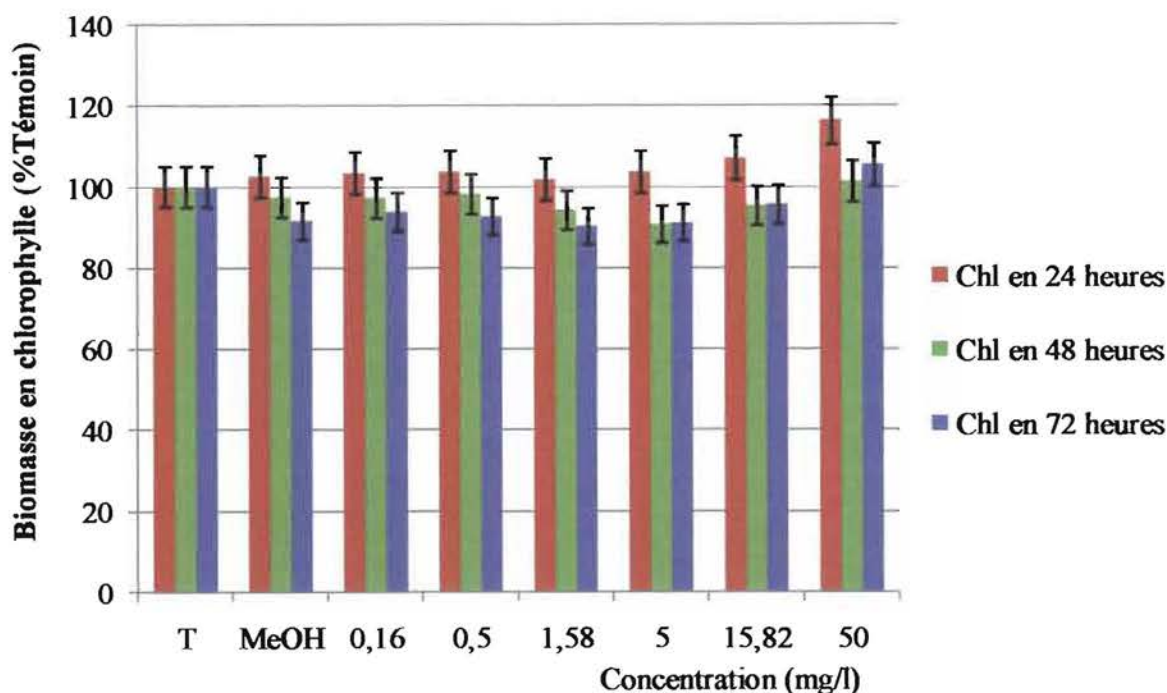


Figure 7 : Evolution de la biomasse en chlorophylle (Chl) au bout de 24, 48 et 72 heures en présence des solutions méthanoliques de plants secs de *Ceratophyllum submersum*

T : Témoin ; MeOH : Témoin Méthanol ; Chl : Chlorophylle

Des analyses statistiques au seuil de 5% montrent qu'il n'y a pas de différences significatives entre la biomasse en chlorophylle (Chl) du témoin et celle du témoin avec méthanol ($0,55 \leq F \leq 1,67$ et $0,27 \leq P \leq 0,50$). Ce qui montre que le MeOH à 0,07% du volume n'a pas d'effet sur le phytoplancton.

Au bout de 24 heures, la biomasse semble augmenter avec la concentration en *C. submersum*. Dès 48 heures cette biomasse diminue par rapport au témoin mais de façon non significative. Ce qui laisse penser que les solutions méthanoliques de plants secs de *C. submersum* n'ont pas d'effet inhibiteur sur la biomasse de phytoplancton. Les rapports pigmentaires F1/F3, F1/F4 et F2/F4 ne montrent pas de différences significatives entre les cinq traitements et les deux témoins et entre les traitements au bout de 24, 48 et 72 heures. Ce n'est que pour le ratio F3/F4 que les cinq traitements sont regroupés et très différents des deux témoins ($F=9,64$; $P=0,0001$) en 24 heures et que les cinq traitements sont également différents ($F=10,02$; $P=0,0006$). La biomasse de chlorophylle mesurée (figure 7) ne semble pas être affectée négativement par les solutions méthanoliques de *C. submersum*.

III. 3. Effet des extraits méthanoliques de poudre de *Ceratophyllum submersum* sur le phytoplancton (expérimentation 4)

Pour cette expérimentation, le phytoplancton collecté dans le réservoir de Boura a été utilisé. Les flasques de 50 ml ont été utilisés. Les concentrations testées sont le témoin eau de Boura, le témoin eau de (Boura+MeOH) et les concentrations 0,16 ; 0,50 ; 1,58 ; 5 ; 15,82 et 50 mg/l en extraits méthanoliques de poudre de *C. submersum*.

III. 3. 1. Rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y)

Les figures 8 et 9 présentent respectivement le rendement photosynthétique théorique (Y) et le rendement photosynthétique effectif (AL+Y) en présence des extraits méthanoliques de poudre de *C. submersum*

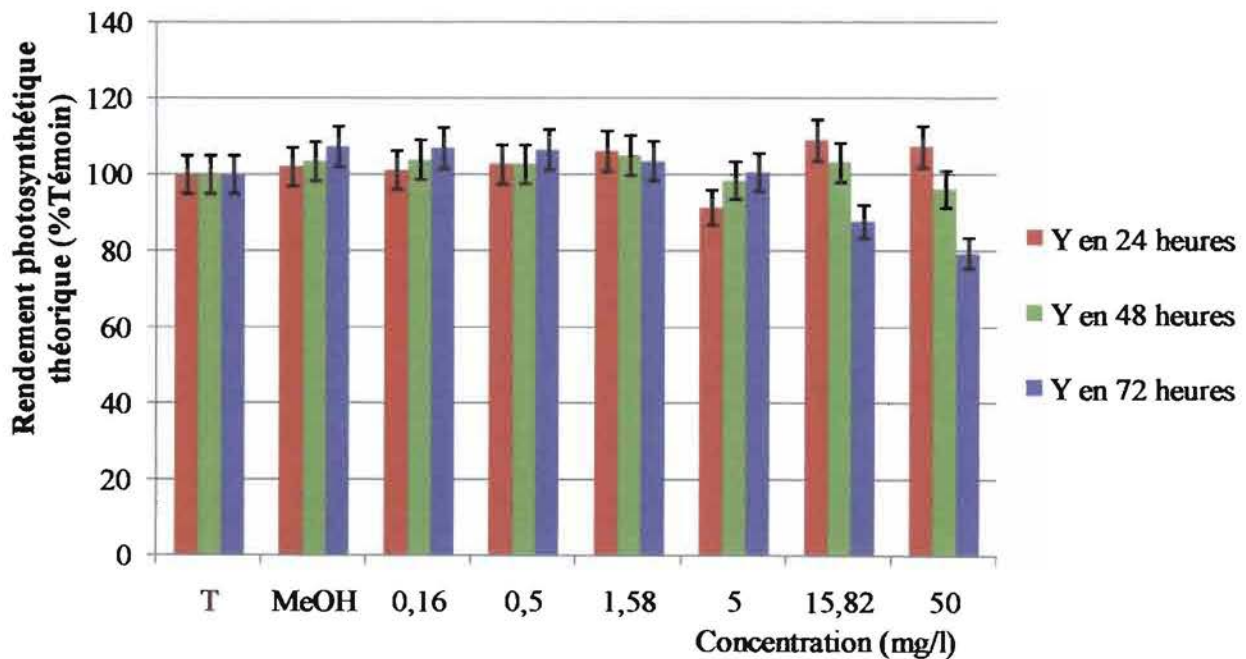


Figure 8: Rendement photosynthétique théorique (Y) au bout de 24, 48 et 72 heures en présence des extraits méthanoliques de poudre de *Ceratophyllum submersum*

T : Témoin ; MeOH : Témoin Méthanol ; Y : Rendement photosynthétique théorique

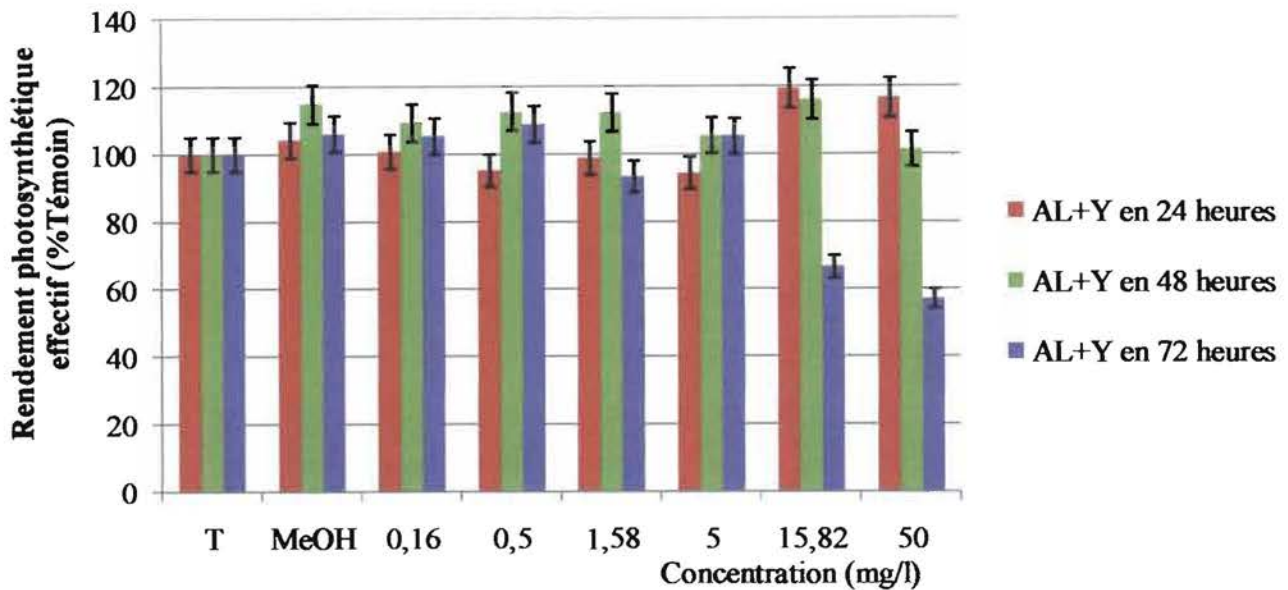


Figure 9 : Rendement photosynthétique effectif (AL+Y) au bout de 24, 48 et 72 heures en présence des extraits méthanoliques de poudre de *Ceratophyllum submersum*

T : Témoin ; MeOH : Témoin Méthanol ; AL+Y : Rendement photosynthétique effectif

Les concentrations des extraits à base de poudre de *C. submersum* utilisées pour cette expérience sont 0,16 ; 0,50 ; 1,58 ; 5 ; 15,82 ; 50 mg/l.

Les capacités photosynthétiques du phytoplancton mesurées en présences des extraits méthanoliques à base de poudre de *C. submersum* à concentration croissante ne semblent pas être inhibées pour les concentrations les plus faibles (0,16 ; 0,50 ; 1,58 et 5 mg/l) et pour un temps court (24 et 48 heures). Les analyses des données effectuées au seuil de 5 % ne présentent pas de différences significatives entre le témoin et le MeOH utilisé à 0,18 %.

Pour Y (figure 8), des différences significatives n'ont pas été observées au bout de 24 et 48 heures entre tous les traitements. A partir de 72 heures, des différences significatives ($P < 0,0006$) sont observées pour les concentrations 15,82 et 50 mg/l avec une inhibition significative des performances Y. L'inhibition de ces performances atteint 12 % pour 15,82 mg/l et 21 % par rapport au témoin pour 50 mg/l.

Quant à AL+Y (figure 9), à 24 heures des différences n'ont pas été observées entre les traitements sauf pour les concentrations 15,82 et 50 mg/l. Les rendements photosynthétiques effectifs (AL+Y) de ces deux traitements ont augmenté par rapport au témoin. Au bout de 48 heures les rendements de tous les traitements ont augmenté significativement par rapport au témoin sauf pour les traitements 5 et 50 mg/l.

Ce n'est qu'au bout de 72 heures et pour les concentrations 15,82 et 50 mg/l que nous remarquons une inhibition significative des performances AL+Y jusqu'à 33 % et 43 % par rapport au témoin respectivement pour les 15,82 et 50 mg/l.

Les résultats montrent que les extraits méthanoliques de poudre de *C. submersum* inhibent plus sévèrement AL+Y que Y.

III. 3. 2. Evolution de la biomasse en chlorophylle

La figure 10 illustre l'évolution de la biomasse chlorophyllienne en fonction de la concentration en extraits méthanoliques de poudre de *C. submersum* 24, 48 et 72 heures après l'inoculation.

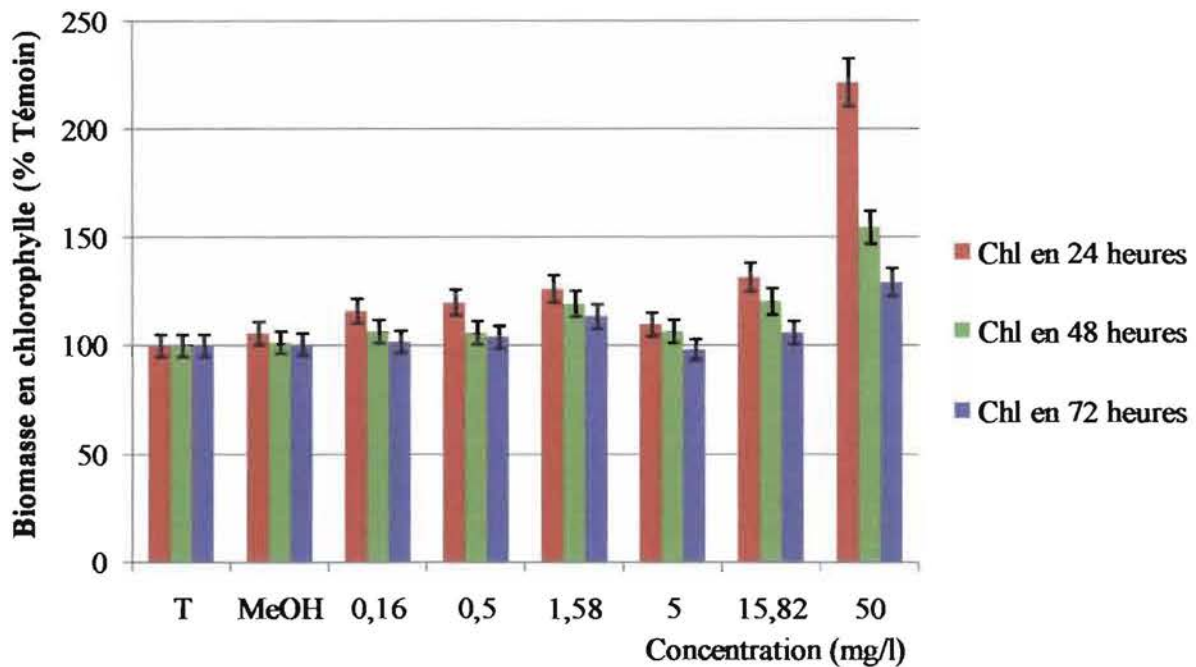


Figure 10 : Evolution de la biomasse en chlorophylle (Chl) au bout de 24, 48 et 72 heures en présence des extraits méthanoliques de poudre de *Ceratophyllum submersum*

T : Témoin ; MeOH : Témoin Méthanol ; Chl : Chlorophylle

L'Anova ne montre pas de différences significatives entre le témoin et le MeOH au seuil de 5%. Ce qui démontre que le MeOH utilisé à 0,18% du volume n'a pas d'effet sur la biomasse.

Nous n'observons pas une diminution significative de la biomasse en chlorophylle en présence des extraits de poudre de *C. submersum* pour toutes les concentrations inférieures à 50 mg/l en fonction du temps. Nous remarquons une augmentation de la biomasse en fonction des concentrations au bout de 24, 48 et 72 heures (figure 10). Cette augmentation de la biomasse en

chlorophylle atteint respectivement 123 % (en 24 heures), 55 % (en 48 heures) et 26 % (en 72 heures) par rapport au témoin pour la concentration la plus élevée 50 mg/l. Toutefois une diminution en fonction du temps et au sein d'une même concentration est observée. Cette diminution n'est statistiquement significative qu'à partir de la concentration 50 mg/l. Les rapports pigmentaires ont montré des différences significatives entre les deux témoins et les six traitements et entre les traitements au bout de 24 heures (F1/F3, $F=21,796$; $P=0,0001$), (F1/F4, $F=4,8076$; $P=0,0045$), (F2/F4, $F=5,2824$; $P=0,0028$) et (F3/F4, $F=33,807$; $P=0,0001$). Au bout de 48 heures, les rapports pigmentaires F1/F3 ($F=3,8366$; $P=0,01$) et F1/F4, ($F=2,6837$; $P=0,05$) ont montré des différences entre les témoins et les traitements. Une diminution du rapport F1/F3 suggère une augmentation de contribution des cyanobactéries au détriment des diatomées et chlorophycées. En 72 heures, ces rapports n'ont pas donné de différences significatives entre les témoins et les traitements ($P>0,05$).

De manière générale, nous pouvons dire que le macrophyte *C. submersum* stimule la croissance de la biomasse en chlorophylle pour un temps court (24 heures). Après ce temps, il inhibe la croissance de la biomasse en chlorophylle. Des changements de composition de la communauté phytoplanctonique semblent se développer.

III. 4. Comparaison entre les rendements photosynthétiques des solutions méthanoliques des plants secs et des extraits méthanoliques de poudre de *Ceratophyllum submersum*

Le test de Turkey a permis la séparation des moyennes des rendements photosynthétiques pour ces deux types de solutions utilisés.

III. 4. 1. Comparaison des rendements photosynthétiques théoriques (Y)

Le tableau VII présente la comparaison entre les rendements photosynthétiques théoriques Y des solutions méthanoliques de plants secs et ceux des extraits méthanoliques de poudre de *C. submersum* au bout de 24, 48 et 72 heures. Les rendements photosynthétiques sont exprimés en pourcent du témoin.

Tableau VII : Comparaison des rendements photosynthétiques théoriques (Y) des solutions méthanoliques de plants secs entiers et des extraits de poudre de *Ceratophyllum submersum*

		Y au bout 24 heures							
Type de solutions / Concentrations (mg/l)	T	MeOH	0,16	0,5	1,58	5	15,82	50	
Solutions méthanoliques de plants secs	100 ^a	104 ^a	100 ^a	97 ^a	95 ^a	97 ^a	93 ^a	90 ^a	
Extraits méthanoliques de poudre	100 ^a	102 ^a	101 ^a	103 ^a	106 ^b	91 ^a	109 ^b	107 ^b	
		Y au bout de 48 heures							
Type d de solutions / Concentrations (mg/l)	T	MeOH	0,16	0,5	1,58	5	15,82	50	
Solutions méthanoliques de plants secs	100 ^a	101 ^a	96 ^a	97 ^a	98 ^a	99 ^a	99 ^a	96 ^a	
Extraits méthanoliques de poudre	100 ^a	103 ^a	104 ^a	103 ^a	105 ^a	98 ^a	103 ^a	96 ^a	
		Y au bout de 72 heures							
Type de solutions / Concentrations (mg/l)	T	MeOH	0,16	0,5	1,58	5	15,82	50	
Solutions méthanoliques de plants secs	100 ^a	96 ^a	94 ^a	92 ^a	92 ^a	89 ^a	91 ^a	92 ^a	
Extraits méthanoliques de poudre	100 ^a	107 ^b	107 ^b	106 ^b	104 ^b	101 ^b	89 ^a	79 ^b	

Sur la même colonne, les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %.

T : Témoin ; MeOH : Témoin Méthanol ; Y : Rendement photosynthétique théorique

Les concentrations testées pour les deux types de solutions (solutions méthanoliques de plants secs et extraits méthanoliques de poudre) sont les deux témoins (T et MeOH) ; 0,16 ; 0,5 ; 1,58 ; 5 ; 15,82 et 50 mg/l. Au bout de 24 heures, les analyses statistiques effectuées au seuil de 5 % montrent de différences significatives entre les rendements photosynthétiques théoriques (Y) des deux types de solutions pour les concentrations 15,82 et 50 mg/l. Il n'y'a pas de différences pour les concentrations inférieures à 15,82 mg/l. A bout de 48 heures, les rendements des deux solutions ne sont pas statiquement différents pour toutes les concentrations utilisées. A partir de 72 heures des différences significatives sont observées entre tous les rendements Y des extraits sauf pour le témoin et la concentration 15,82 mg/l.

III. 4. 2. Comparaison des rendements photosynthétiques effectifs (AL+Y)

Le tableau VIII présente la comparaison entre les rendements photosynthétiques effectifs (AL+Y) des solutions méthanoliques de plants secs et ceux des extraits méthanoliques de poudre de *C. submersum* au bout de 24, 48 et 72 heures.

Tableau VIII : Comparaison des rendements photosynthétiques effectifs (AL+Y) des solutions méthanoliques de plants secs entiers et des extraits de poudre de *Ceratophyllum submersum*

		AL+Y au bout de 24 heures							
Type de solutions / Concentrations (mg/l)	T	MeOH	0,16	0,5	1,58	5	15,82	50	
Solutions méthanoliques de plants secs	100 ^a	94 ^a	101 ^a	101 ^a	96 ^a	94 ^a	94 ^a	94 ^a	94 ^a
Extraits méthanoliques de poudre	100 ^a	104 ^b	101 ^a	95 ^a	99 ^a	94 ^a	119 ^b	117 ^b	
		AL+Y au bout de 48 heures							
Type de solutions / Concentrations (mg/l)	T	MeOH	0,16	0,5	1,58	5	15,82	50	
Solutions méthanoliques de plants secs	100 ^a	108 ^a	105 ^a	99 ^a	97 ^a	104 ^a	96 ^a	100 ^a	
Extraits méthanoliques de poudre	100 ^a	115 ^a	109 ^a	113 ^b	112 ^b	106 ^a	116 ^b	101 ^a	
		AL+Y au bout de 72 heures							
Type de solutions / Concentrations (mg/l)	T	MeOH	0,16	0,5	1,58	5	15,82	50	
Solutions méthanoliques de plants secs	100 ^a	99 ^a	111 ^a	103 ^a	103 ^a	107 ^a	88 ^a	85 ^a	
Extraits méthanoliques de poudre	100 ^a	106 ^a	105 ^a	109 ^a	93 ^b	105 ^a	67 ^b	57 ^b	

Sur la même colonne, les valeurs portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %.

T : Témoin ; MeOH : Témoin Méthanol ; AL+Y : Rendement photosynthétique effectif

Les concentrations testées pour les deux types de solutions (solutions méthanoliques de plants secs et extraits méthanoliques de poudre) sont les deux témoins (T et MeOH) ; 0,16 ; 0,5 ; 1,58 ; 5 ; 15,82 et 50 mg/l. Au bout de 24 heures, les analyses statistiques effectuées au seuil de 5 % montrent de différences significatives entre les rendements photosynthétiques effectifs (AL+Y) des deux types de solutions pour le MeOH et les concentrations 15,82 et 50 mg/l. Au bout de 48

heures des différentes statistiques ne sont observées que pour les rendements AL+Y des concentrations 0,5 ; 1,58 et 15,82 mg/l. A partir de 72 heures, les rendements AL+Y des deux solutions sont statistiquement différents pour les concentrations 1,58 ; 15,82 et 50 mg/l.

Remarque : La comparaison des rendements Y et AL+Y par rapport au témoin au bout de 72 heures et pour les concentrations 15,82 et 50 mg/l montre que les extraits méthanoliques de poudre de *C. submersum* semblent être plus inhibiteurs que les solutions méthanoliques de plants secs de *C. submersum*. Aussi ces rendements montrent que AL+Y paraît plus sensible aux extraits que Y. En effet, les taux d'inhibition au bout de 72 heures pour AL+Y sont « 12 et 15 % par rapport au témoin pour les solutions de plants secs » et « 33 et 43 % pour les extraits de poudre » respectivement pour les concentrations 15,82 et 50 mg/l. Pour Y, ces inhibitions au bout de 72 heures sont « 9 et 8 % par rapport au témoin pour les solutions de plants secs » et « 11 et 21 % par rapport au témoin pour les extraits de poudre » respectivement pour les mêmes concentrations.

III. 5. Récapitulatif des effets des différentes solutions de *Ceratophyllum submersum* sur les rendements photosynthétiques

Le tableau IX présente un récapitulatif des résultats pour les expérimentations. Les rendements photosynthétiques théoriques (Y) et effectifs (AL+Y) sont présentés en pourcentage du témoin.

Tableau IX : Récapitulatif des inhibitions des rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y) en présence des solutions aqueuses et des solutions méthanoliques de *Ceratophyllum submersum*

		Inhibition des rendements photosynthétiques						Observations	
Type de solutions	Concentrations	Y et AL+Y / Durée (heures)							
		Y (% témoin)			AL+Y (% témoin)				
		24	48	72	24	48	72		
Solution aqueuse de plants secs de <i>C. submersum</i> (mg/l)	70		14				35	Inhibition de Y et de AL+Y après 48 heures (P=0,001).	
	90		37				27		
Solution méthanolique de plants secs de <i>C. submersum</i> (mg/l)	25,4	27					35	Inhibition de Y et de AL après 24 heures (P=0,001). Pas d'effet inhibiteur sur la chlorophylle.	
	50,8	28					36		
Extrait méthanolique de poudre de <i>C. submersum</i> (mg/l)	15,82			12				33	Inhibition de Y et de AL+Y après 72 heures (P=0,05). Pas d'effet inhibiteur sur la chlorophylle.
	50			21				43	

Y : Rendement photosynthétique théorique

AL+Y : Rendement photosynthétique effectif

IV. DISCUSSION

Il n'existe aucune mention dans la littérature scientifique qui décrive ou discute le potentiel allélopathique associé à *Ceratophyllum submersum*. Par défaut, les résultats obtenus dans cette étude sont discutés en regard des connaissances associées à *C. demersum*, cousine phylogénétique de notre objet d'étude.

La première expérimentation pour lequel les solutions aqueuses de plants secs de *C. submersum* ont été utilisées a révélé un effet inhibiteur de 14 et 37 % par rapport au témoin pour le rendement photosynthétique théorique (Y) respectivement pour les concentrations 70 et 90 mg/l (les plus élevées) après 48 heures. Cette inhibition est de 35 et 27 % par rapport au témoin pour le rendement photosynthétique effectif (AL+Y) respectivement pour les mêmes concentrations.

Le deuxième type d'expérimentation ayant utilisé les solutions méthanoliques de plants secs de *C. submersum* à des concentrations moins forte a révélé un effet inhibiteur de 27 et 28 % par rapport au témoin respectivement pour les concentrations 25,4 et 50,8 mg/l dès 24 heures pour Y. Cet effet est de 35 et 36 % par rapport au témoin pour AL+Y après 24 heures respectivement pour les mêmes concentrations.

La dernière expérimentation, qui a utilisé les extraits méthanoliques préparés à partir de poudre de *C. submersum* a révélé un effet inhibiteur significatif après 72 heures. Pour cet extrait, un léger effet inhibiteur des rendements photosynthétiques Y est observable dès 72 heures pour les concentrations 15,82 et 50 mg/l (12 % pour 15,82 mg/l et 21 % par rapport au témoin pour 50 mg/l). Pour AL+Y, cette inhibition est environ 33 % par rapport au témoin pour 15,82 mg/l et 43 % par rapport au témoin pour 50 mg/l dès 72 heures.

Des résultats similaires ont été trouvés par plusieurs auteurs mais avec l'espèce de *C. demersum*. En effet, en laboratoire et par l'utilisation des sacs à dialyse, Korner et Nicklisch, 2002 ont rapporté des effets allélopathiques significatifs de *C. demersum* sur le phytoplancton. E même, dans ses premiers travaux, Jasser (1995) a trouvé que les extraits aqueux de *C. demersum* à des concentrations 2, 6 et 8 g/l inhibent l'activité photosynthétique et causaient un déclin de cyanobactéries et une augmentation de la biomasse de phytoplancton. Aussi, il a obtenu des inhibitions similaires pour *C. demersum* par l'utilisation des sacs à dialyse. Gross *et al.* (2003) ont démontré que les extraits de *C. demersum* empêchaient la croissance des cyanobactéries. Xian *et al.* (2006) ont démontré que 70 mg/l des extraits méthanoliques de *C. demersum* inhibent

l'activité photosynthétique à 50 % du témoin. Aussi, ils ont trouvé qu'il existe une corrélation positive entre la concentration des huiles essentielles et l'inhibition de l'activité photosynthétique.

Les extraits méthanoliques n'ont pas eu d'effet inhibiteur sur la chlorophylle. Les rapports pigmentaires F1/F3, F1/F4 effectués pour ces extraits ont révélé des différences significatives entre les témoins et les échantillons soumis aux extraits méthanoliques de *C. submersum* mettant en exergue la contribution dominante des diatomées, des chlorophycées dans l'échantillon de phytoplancton naturel utilisé pour ce test. Quand nous considérons le rapport F1/F3, les traitements sont regroupés et très différents des deux témoins ($P < 0,05$). Il en est de même pour le rapport F1/F4 ($P < 0,001$) et F3/F4 ($P < 0,001$) sauf que les traitements sont également différents dans ces deux cas. Une diminution du ratio F1/F3 suggère une augmentation de contribution des cyanobactéries au détriment des diatomées et chlorophycées. L'évolution du ratio F1/F3 indique également que la contribution des deux groupes dominants est sensiblement altérée après la mise en contact avec l'extrait, au profit des cyanobactéries (Izagirre *et al.*, 2009). Ceci démontre qu'une perturbation mineure (ici associée à la présence d'extrait) peut induire à très court terme des changements significatifs dans la composition des communautés phototrophes (Villeneuve *et al.*, 2010).

Ces résultats sont en concordance avec ceux de Jasser (1995) qui a montré que l'isolement des algues planctoniques sous l'influence directe de *C. demersum* à l'aide des sacs à dialyse cause une augmentation en nombre, biomasse et contribution de pourcentage de cyanobactéries (ce qui va tout à fait dans le sens de ce que nous observons avec le rapport F1/F3). Les extraits de *C. submersum* n'ont donc pas influencé négativement la biomasse chlorophylle contrairement à l'activité photosynthétique qui a sensiblement diminué comparativement au témoin. Korner et Nicklisch (2002) ont démontré que *C. demersum* n'a pas d'influence significative sur la chlorophylle mais sur l'activité photosynthétique. Cette biomasse augmente quand la concentration en *C. submersum* augmente.

Les rapports pigmentaires (F1/F3, F1/F4, F2/F4 et F3/F4) sont significativement différents ($P < 0,05$) à court terme (24 et 48 heures) pour toutes les solutions hormis la solution aqueuse. Ce qui indique un changement de la composition de la communauté phytoplanctonique testée. Les rendements photosynthétiques pour les solutions aqueuses et méthanoliques de plants secs sont aussi statistiquement différents ($P < 0,05$) à court terme. A moyen terme (72 heures), les rapports

pigmentaires ne sont pas statistiquement différents ($P > 0,05$) mais les rendements photosynthétiques sont significativement différents pour les plus fortes concentrations (15,82 et 50 mg/l).

Il n'existe aucune mention dans la littérature scientifique qui décrive ou discute le potentiel allélopathique associé à *C. submersum*. Par contre les résultats obtenus dans cette étude démontrent l'existence d'effets significatif à court terme, qui impactent tant les rendements photosynthétiques que la composition des communautés phytoplanctoniques testées, sans qu'il ne soit nécessaire de contaminer à plusieurs reprises les communautés naturelles testées.

CONCLUSION GENERALE

Au cours de ces dernières décennies, les réservoirs d'eau ont connu une forte augmentation de la fréquence d'apparition d'efflorescences toxiques liées à la prolifération d'organismes phytoplanctoniques, cyanobactéries en tout premier lieu.

La présente étude repose sur des travaux préliminaires visant à déterminer l'effet du macrophyte *Ceratophyllum submersum* (*C. submersum*) sur des communautés naturelles de phytoplancton. Les investigations ont porté sur les effets des solutions aqueuses et méthanoliques de *C. submersum* collecté à la mare aux hippopotames de Bala au Burkina Faso sur l'activité photosynthétique et la biomasse des algues. A partir de ces solutions, quatre séries d'expérimentations distinctes ont été réalisées dans les mêmes conditions sur le phytoplancton provenant des réservoirs de Bama et de Boura au Burkina Faso. Des mesures de rendements de fluorescence et biomasse ont été effectuées au Phyto-PAM à l'aide du logiciel Phyto-WIN.

Les différentes solutions (aqueuses et méthanoliques) de *C. submersum* utilisés exercent un effet inhibiteur sur les rendements photosynthétiques théorique (Y) et effectif (AL+Y) à court terme (24 et 48 heures) et à moyen terme (72 heures). Quant à la biomasse de chlorophylle, l'effet des extraits méthanoliques est plutôt stimulant et la biomasse phytoplanctonique semble augmenter quand la concentration en extraits augmente. Dans tous les cas, des changements dans la composition des communautés phytoplanctoniques ont été observés.

Ces approches préliminaires seraient à compléter en mettant en œuvre une seconde séquence d'expérimentations :

- 1- expériences *in situ* et en aquarium à l'aide de sacs à dialyse : y a-t-il excrétion de métabolites par les macrophytes *in situ* ? Cette excrétion impacte-t-elle les communautés phytoplanctoniques ?
- 2- bio-essais sur cultures d'algues pures : les différents groupes taxonomiques (différentes souches de chlorophycées, de diatomées et de cyanobactéries) révèlent-ils des sensibilités différentielles lorsqu'ils sont mis en présence d'exsudats et d'extraits ?
- 3- bio-essais sur cultures d'algues pures : détermination des courbes et paramètres de toxicité associés aux principaux biocides rencontrés à Boura (Soleri, 2013), proposés purs et séparément, après 4 heures, 24 heures, 48 heures et 72 heures. Ces paramètres sont-ils

modifiés (amplification, diminution, aucun effet) lorsque ces essais sont réalisés en introduisant des exsudats aqueux de *Ceratophyllum* ?

- 4- à terme et sous réserve : sur la base des résultats obtenus précédemment, expérimentations en microcosmes (phytoplancton et bactérioplancton en l'absence de prédateurs) pour en inférer l'impact sur la structuration et le fonctionnement de la base du réseau trophique planctonique (diversité structurelle – classes de taille et taxons dominants, et diversité fonctionnelle – activités métaboliques). Cette opération pourrait être réalisée avec des contaminants purs appliqués seuls ou en mélange, en présence ou non des métabolites secondaires excrétés par *C. submersum*.

Au vue de tous ces résultats plusieurs questions sont à poser :

- 1) Quels impacts sur les communautés planctoniques, leur diversité, leur productivité et donc sur les communautés de poisson ?
- 2) Quels impacts sur la résilience de l'écosystème ?
- 3) Quels impacts enfin sur la qualité de l'eau d'irrigation utilisée par exemple en aval du réservoir à Boura ?
- 4) Que se passerait-il si les algues étaient exposées à deux types de contaminants simultanément ? Une séquence d'expérimentations peut être conçue pour tenter de répondre à cette dernière question.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bearez P., 2003.** La mare aux hippopotames (Burkina Faso): Aspects hydrobiologiques et halieutiques. ACP-EU Fisheries Research Report, n°114: pp 98-107.
- BERD, 2004.** Diagnostic des ressources en eau de la mare de la Réserve de Biosphère de la Mare aux Hippopotames. Réserve de Biosphère de la Mare aux Hippopotames. UCF-HB. 99 pp.
- Cecchi P., Soleri R., Sanogo S., Bamba D., Diakité K., Poussin J. C., Spinelli S., Kabré T. A. and Gonzalez C., 2013.** Agricultural intensification and aquatic ecology: impacts and trade-offs. Volta Basin Development Challenge, Final Scientific Workshop, Ouagadougou, Burkina Faso, 17 - 19 September, 2013.
- Chen J., Zhanga H., Hana Z., Yea J. and Liub Z., 2012.** The influence of aquatic macrophytes on *Microcystis aeruginosa* growth. Ecological Engineering, 42: pp 130-133.
- Dabiré K. R., Diabaté A, Djogbenou L., Ouari A., N'Guessan R., Ouédraogo J. B., Hougard J. M., Chandre F. and Baldet T., 2008.** Dynamics of multiple insecticide resistance in the malaria vector *Anopheles gambiae* in a rice growing area in South-Western Burkina Faso. Malaria Journal 7: 188. doi :10.1186/1475-2875-7-188.
- Eigemann F., Hilt S. (nee Körner) and Schmitt-Jansen M., 2013.** Flow cytometry as a diagnostic tool for the effects of polyphenolic allelochemicals on phytoplankton. Aquatic Botany, 104: pp 5-14.
- Elakovich S. D. and Wooten J. W. 1989.** Allelopathic potential of sixteen aquatic and wetland plants. J. Aquat. Plant Manage, 27: pp 78-84.
- ENGREF, 1989.** La réserve MAB-UNESCO de la Mare aux Hippopotames.
- Field C. B., Behrenfeld M. J., Randerson J. T. and Falkowski P., 1998.** Primary production of the biosphere : Integrating terrestrial and oceanic components. Sciences, 281: pp 237-240.
- Garrido M., Cecchi P., Vaquer A. and Pasqualini V., 2013.** Effects of sample conservation on assessments of the photosynthetic efficiency of phytoplankton using PAM fluorometry. Deep-Sea Research I, 71: pp 38-48.

- Granéli E. and Hansen P. J., 2006.** Allelopathy in harmful algae: a mechanism to compete for resources? In: Graneli, E., Turner, J. T. (Eds.), *Ecology of Harmful Algae*. Springer-Verlag, Berlin, pp 189-201.
- Gross E. M., 1999.** Allelopathy in benthic and littoral areas: Case studies on allelochemicals from benthic cyanobacteria and submersed macrophytes. In Inderjit, K. M., M. Dakshini & C. L. Foy (eds), *Principles and Practices in Plant Ecology: Allelochemical Interactions*. CRC Press, LLC, Boca Raton: pp 179-199.
- Gross E. M., Hilt S., Lombardo P. and Mulderij G., 2007.** Searching for allelopathic effects of submerged macrophytes on phytoplankton-state of the art and open questions. *Hydrobiologia*, 584: pp 77-88.
- Gross E. M., Meyer H., and Schilling G., 1996.** Release and ecological impact of algicidal hydrolysable polyphenols in *Myriophyllum spicatum*. *Phytochemistry*, 41, 133–138.
- Gross M. E., Erhard D. and Enikőlv'anyi E., 2003.** Allelopathic activity of *Ceratophyllum demersum* L. and *Najas marina* ssp.intermedia (Wolfgang) Casper. *Hydrobiologia*, 506–509: 583–589.
- Gu L. D., Chen J. and Chen W. H., 1994.** Effect of liquor cultured *Vallisneria spiralis* on algae growth. *Journal of Shanghai Teachers University (Natural Science Edition)*, 23 (1): 62-68.
- Guinko S., 1984.** *Végétation de la Haute-Volta*. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Bordeaux III, 394 p.+annexes.
- Hilt S. and Gross E. M., 2008.** Can allelopathically active submerged macrophytes stabilize clear-water states in shallow lakes? *Basic and Applied Ecology*, 9: pp 422-432.
- Hilt S., 2006.** Allelopathic inhibition of epiphytes by submerged macrophytes. *Aquatic Botany*, 85: pp 252-256. Short communication.
- Hilt S., Beutler E. and Bauer N., 2012.** Comparison of methods to detect allelopathic effects of submerged macrophytes on green algae 1. *J. Phycol.* 48: pp 40-44.
- Ianora A., Boersma M., Casotti R., Fontana A., Harder J., Hoffmann F., Pavia H., Potin P., Poulet S. A. and Toth G., 2006.** New trends in marine chemical ecology. The H.T. Odum synthesis essay. *Estuaries and Coasts*, 29: pp 531-551.

Izagirre O., Serra A., Guasch H. and Elosegi A., 2009. Effects of sediment deposition on periphytic biomass, photosynthetic activity and algal community structure. *Science of the Total Environment*, 407: pp 5694-5700.

Jakob T., Schreiber U., Kirchesch V., Langner U. and Wilhelm C., 2005. Estimation of chlorophyll content and daily primary production of the major algal groups by means of multiwavelength-excitation PAM chlorophyll fluorometry: performance and methodological limits. *Photosynthesis Research*, 83: pp 343-361.

Jasser I., 1995. The influence of macrophytes on a phytoplankton community in experimental conditions. *Hydrobiologia*, 306: pp 21-32.

Jeppesen E., Søndergaard M. and Christoffersen K., 1998. The Structuring Role of Submerged Macrophytes in Lakes. *Ecological Studies*, Vol. 131. Springer, New York, 423 pp.

Jin Q. and Dong S., 2003. Comparative studies on the allelopathic effects of two different strains of *Ulva pertusa* on *Heterosigma akashiwo* and *Alexandrium tamarense*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 293: pp 41-55.

Kabré T. A., 2000. Etude de cas d'intégration irrigation et aquaculture (IIA) à la vallée du Kou et au périmètre irrigué de Bagré. Burkina Faso. FAO, Land and Water Development Division. 50 P.

Karambiri H., Tazen F., Barbier B., Some Y. S. C., Yacouba H. and Diarra A., 2011. Hydrological Characterization of the sites of Boura (Burkina Faso) and Binaba II (Ghana). CPWF-V3 project publication, 30p. Disponible sur Internet <http://www.cpwfv3.org/download/Hydrological_characterization_Boura&Binaba_2iE_Nov2011.pdf> [Consulté le 06/08/2012].

Körner S. and Nicklisch A., 2002. Allelopathic growth inhibition of selected phytoplankton species by submerged macrophytes. *J. Phycol.* 38: pp 862-871.

Laabir M., Grignon-Dubois M., Masseret E., Rezzonico B., Soteras G., Rouquette M., Rieuvilleneuve F. and Cecchi P., 2013. Algicidal effect of bioactive compounds from *Zostera marina* and *Zostera noltii* on the neuro-toxic bloom-forming dinoflagellate *Alexandrium catenella*. *Aquatic Botany*, 111: pp 16-25.

Manuel utilization Phyto-PAM, 2003. System Components and Principles of Operation.

Maxwell K. and Johnson N. G., 2000. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51, 345, pp 659-668.

McMinn A. and Hegseth E. N., 2004. Quantum yield and photosynthetic parameters of marine microalgae from the southern Arctic Ocean, Svalbard. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 84: pp 865-871.

Mulderij G., Mau B., van Donk E., and Gross E. M., 2007. Allelopathic activity of *Stratiotes aloides* on phytoplankton-towards identification of allelopathic substances. *Hydrobiologia*, 584: pp 89-100.

Mulderij G., Mooij W. M, Smolders A. J. P, and Van Donk E., 2005. Allelopathic inhibition of phytoplankton by exudates from *Stratiotes aloides*. *Aquatic Botany*, 82(4): pp 284-296.

Mulderij G., Van Nesc E. H., and Van Donka E., 2007. Macrophyte-phytoplankton interactions: The relative importance of allelopathy versus other factors. *Ecological modeling*, 204: pp 85-92.

Mulderij, G., 2006. Chemical warfare in freshwater – Allelopathic effects of macrophytes on phytoplankton. Ph.D. thesis, Netherlands Institute of Ecology, The Netherlands.

Nakai S., Inoue Y., Hosomi M. and Murakami A., 2000. *Myriophyllum spicatum*-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae *Microcystis aeruginosa*. *Water Research*, 34: pp 3026-3032.

Nan C., Zhang H., Lin S., Zhao G. and Liu X., 2008. Allelopathic effects of *Ulva lactuca* on selected species of harmful bloom-forming microalgae in laboratory cultures. *Aquatic Botany*, 89: pp 9-15.

Oborn E. T., Moran W. T., Greene K. T., and Bartley T. R., 1954. Weed control investigations on some important plants which impede flow of western irrigation waters. Joint Lab. Rep. SI-2, USDA, Bur. Reclam. Eng. Lab., and USDA, ARS Field Crops Branch, pp 16-17.

Rice E. L. 1984. Allelopathy. Second Edition, Academic Press, 422 p.

Rojo C., Segura M. and Rodrigo M. A., 2013. The allelopathic capacity of submerged macrophytes shapes the microalgal assemblages from a recently restored coastal wetland. *Ecological Engineering*, 58: pp 149-155.

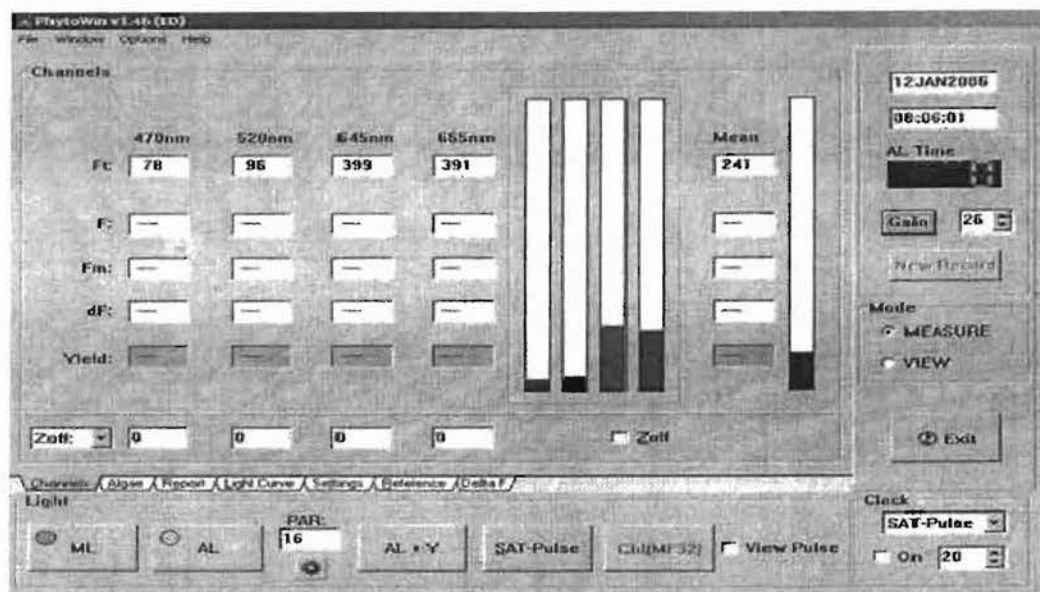
- Shao J., Renhui Li R., Lepo J. E. and Gu D., 2013.** Potential for control of harmful cyanobacterial blooms using biologically derived substances: Problems and prospects. *Journal of Environmental Management*, 125: pp 149-155.
- Silkina A., Bazes A., Vouvé F., Le Tilly V., Douzenel P., Mouget J. L. and Bourgougnon N. 2009.** Antifouling activity of macroalgal extracts on *Fragilaria pinnata* (Bacillariophyceae): a comparison with Diuron. *Journal of Aquatic Toxicology*, 94: pp 245-254.
- Smida I., Le Petit J. et Charpy-Roubaud C., 2010.** Ecologie et perspectives de restauration et de valorisation d'écosystèmes envahis par des *Ludwigia sp.* : Etat de l'Art. *Proceedings 7th European Conference on Ecological Restoration*; Avignon, France, pp 23-27.
- Soleri R., 2013.** Caractérisation à l'aide de capteurs passifs de la contamination phytosanitaire de trois écosystèmes aquatiques au Burkina Faso. *Mémoire de Master II, Université Montpellier 2, Montpellier, France*, 30 p.
- Stella D., Elakovich S. D. and Wooten J. W., 1991.** Allelopathic potential of *nuphar lutea* (l.) sibth. & sm. (nymphaeaceae). *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 17, No. 4.
- Sugier P., Bogdan Lorens B., Chmiel S. and Turczynski M., 2010.** The influence of *Ceratophyllum demersum* L. and *Stratiotes aloides* L. on richness and diversity of aquatic vegetation in the lakes of mid-eastern Poland. *Hydrobiologia*, 656: pp 43-53.
- Thomas S., Cecchi P., Corbin D. and Lemoalle J., 2000.** The different primary producers in a small African tropical reservoir during a drought: temporal changes and interactions. *Freshwater Biology*, 45: pp 43-56.
- Van Donk E. and Van de Bund W. J., 2002.** Impact of submerged macrophytes including charophytes on phyto- and zooplankton communities: allelopathy versus other mechanisms. *Elsevier. Aquatic Botany*, 72: pp 261-274.
- Van Donk, E. and Gulati, R.D., 1995.** Transition of a lake to turbid state 6 years after biomanipulation: mechanisms and pathways. *Water Sci. Technol.* 32: pp 197-206.
- Villeneuve A., Montuelle B. and Bouchez A., 2010.** Influence of slight differences in environmental conditions (light, hydrodynamics) on the structure and function of periphyton. *Aquatic Sciences*, 72: pp 33-44.

Wang R., Xiao H., Wang Y., Zhou W. and Tang X., 2007. Effects of three macroalgae, *Ulva linza* (Chlorophyta), *Corallina pilulifera* (Rhodophyta) and *Sargassum thunbergii* (Phaeophyta) on the growth of the red tide microalga *Prorocentrum donghaiense* under laboratory conditions. *Journal of Sea Research*, 58: pp 189-197.

Xian Q., Chen H., Zou H. and Yin D., 2006. Allelopathic activity of volatile substance from submerged macrophytes on *Microcystin aeruginosa*. *Acta Ecologica Sinica*, 26(11): pp 3549-3554.

ANNEXES

Annexe 1 : Fenêtre d'interface principale du logiciel Phyto-WIN



Remarque : La fenêtre ci-dessus représente l'interface principale du logiciel « Phyto WIN » utilisée pour l'acquisition des données à partir des mesures faites à l'aide du Phyto PAM. En effet, c'est à partir de l'onglet « Channels » que sont réglés une partie des paramètres nécessaires pour les mesures des rendements de fluorescence sur la souche ACT3. Les résultats fournis par le dispositif de mesure tels que le « Gain », le « Zoff », et les valeurs correspondant aux bases « Y » et « AL+Y » s'affichent également dans cet onglet. Par ailleurs, quatre autres onglets ont été sollicités lors des mesures au Phyto PAM :

- « **Algae** » : c'est à partir de cet onglet que sont fournies les valeurs de chlorophylle mesurées au sein des échantillons ;
- « **Report** » : cet onglet représente un rapport au format « .txt » qui contient l'ensemble des données acquises au cours des différentes mesures ;
- « **Settings** » : c'est à partir de cet onglet que sont configurés d'autres paramètres pour les mesures tels que l'intensité de la lumière actinique ou celle des flashes de lumière saturante ;
- « **Reference** » : cet onglet permet de définir sur quels types de pigments les mesures sont réalisées lorsque le bouton « Chl (MF32) » de l'onglet « Channels » est activé.

Annexe 2 : Rendements photosynthétiques théorique Y et effectif AL+Y mesurées au Phyto-PAM (moyenne des valeurs brutes) au bout de 48 heures en présence des extraits aqueux de plants secs de *Ceratophyllum submersum*

Tableau I : Rendements photosynthétiques théorique Y et effectif AL+Y au bout de 48 heures

Concentration (mg/l)	T	Lafi	30	50	70	90
Y	0,55	0,56	0,56	0,52	0,47	0,52
AL+Y	0,35	0,35	0,37	0,34	0,23	0,26

Annexe 3 : Rendements photosynthétiques théorique Y, effectif AL+Y et la biomasse de chlorophylle mesurées au Phyto-PAM (moyenne des valeurs brutes) au bout de 24 heures en présence des extraits méthanoliques de plants secs de *Ceratophyllum submersum*

Tableau II : Rendements photosynthétiques théorique Y, effectif AL+Y et la biomasse de chlorophylle Chl au bout de 24 heures

Concentration (mg/l)	T	MeOH	25,4	50,8
Y	0,61	0,62	0,45	0,44
AL+Y	0,37	0,34	0,24	0,24
Chl	21,29	20,48	28,04	31,73

Annexe 4 : Rendements photosynthétiques théorique Y, effectif AL+Y et la biomasse de chlorophylle mesurées au Phyto-PAM (moyenne des valeurs brutes) au bout de 24, 48 et 72 heures en présence des extraits méthanoliques de plants secs de *Ceratophyllum submersum*

Tableau III : Rendement photosynthétique théorique Y au bout de 24, 48 et 72 heures

Concentration mg/l)	T	MeOH	0,16	0,5	1,58	5	15,82	50
Y en 24 heures	0,55	0,57	0,55	0,54	0,53	0,54	0,52	0,50
Y en 48 heures	0,55	0,56	0,53	0,54	0,54	0,54	0,55	0,53
Y en 72 heures	0,55	0,53	0,52	0,51	0,51	0,49	0,50	0,50

Tableau IV : Rendement photosynthétique effectif AL+Y au bout de 24, 48 et 72 heures

Concentration mg/l)	T	MeOH	0,16	0,5	1,58	5	15,82	50
AL+Y en 24 heures	0,30	0,28	0,30	0,30	0,28	0,28	0,28	0,28
AL+Y en 48 heures	0,28	0,30	0,29	0,28	0,27	0,29	0,27	0,28
AL+Y en 72 heures	0,30	0,30	0,33	0,31	0,31	0,32	0,26	0,25

Tableau V : Biomasse de chlorophylle Chl au bout de 24, 48 et 72 heures

Concentration mg/l)	T	MeOH	0,16	0,5	1,58	5	15,82	50
Chl en 24 heures	28,02	28,76	28,97	29,06	28,53	29,07	30,02	32,58
Chl en 48 heures	29,07	28,33	28,28	28,56	27,41	26,39	27,75	29,48
Chl en 72 heures	31,00	28,38	29,07	28,73	27,99	28,25	29,68	32,69

Annexe 5 : Rendements photosynthétiques théorique Y, effectif AL+Y et la biomasse de chlorophylle mesurées au Phyto-PAM (moyenne des valeurs brutes) au bout de 24, 48 et 72 heures en présence des extraits méthanoliques de poudre de *Ceratophyllum submersum*

Tableau VI : Rendement photosynthétique théorique Y au bout de 24, 48 et 72 heures

Concentration mg/l)	T	MeOH	0,16	0,5	1,58	5	15,82	50
Y en 24 heures	0,58	0,59	0,58	0,59	0,61	0,53	0,63	0,62
Y en 48 heures	0,59	0,61	0,61	0,61	0,62	0,58	0,61	0,57
Y en 72 heures	0,59	0,63	0,63	0,62	0,61	0,59	0,51	0,47

Tableau VII : Rendement photosynthétique effectif AL+Y au bout de 24, 48 et 72 heures

Concentration mg/l)	T	MeOH	0,16	0,5	1,58	5	15,82	50
AL+Y en 24 heures	0,27	0,28	0,28	0,26	0,27	0,26	0,33	0,32
AL+Y en 48 heures	0,27	0,31	0,30	0,31	0,31	0,29	0,32	0,28
AL+Y en 72 heures	0,27	0,28	0,28	0,29	0,25	0,28	0,18	0,15

Tableau VIII : Biomasse de chlorophylle Chl au bout de 24, 48 et 72 heures

Concentration mg/l)	T	MeOH	0,16	0,5	1,58	5	15,82	50
Chl en 24 heures	19,25	20,32	22,33	23,06	24,28	21,12	25,32	42,64
Chl en 48 heures	25,13	25,47	26,75	26,61	30,00	26,75	30,25	38,86
Chl en 72 heures	33,32	33,49	33,89	34,60	37,82	32,70	35,29	43,07

Annexe 6 : Quelques photos de matériel utilisé (Photos Bamba, 2013)

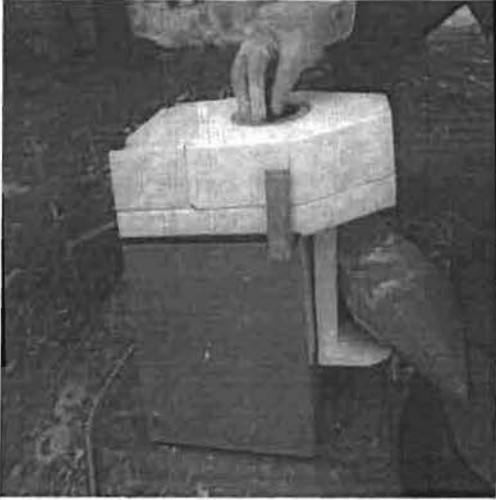


Photo 1 : Broyeur FOSS TECATOR

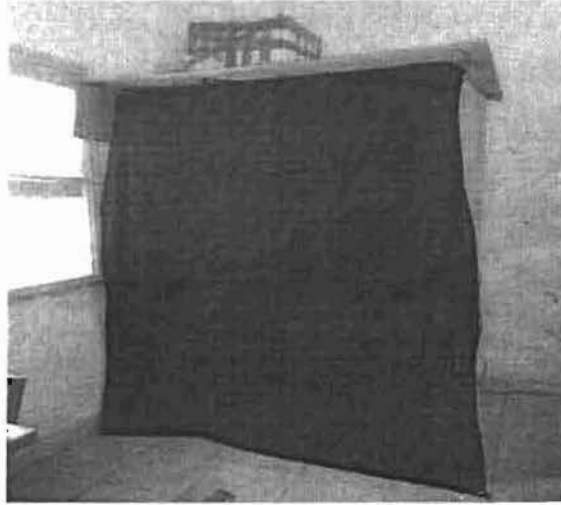


Photo 2 : Chambre noire