

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MER ET DE L'AQUACULTURE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{elle} Hamdi Yamina

M^{elle} Mahmoudi Fatima

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN HYDROBIOLOGIE MARINE ET CONTINENTALE

Spécialité: Bioressources marines

THÈME

**CONTRIBUTION À L'ÉTUDE DE LA CYTOTOXICITÉ DE
TROIS EXTRAITS DE *CAULERPA RACEMOSA* VAR
CYLINDRACEA RÉCOLTÉE AU NIVEAU DE LA CÔTE
MOSTAGANEM**

Soutenue publiquement le 28/06/2018

DEVANT LE JURY

Présidente	BENOURAD Fouzia	MCB	Université de Mostaganem
Examineur	BELBACHIR Noredine	MAA	Université de Mostaganem
Encadreur	BELKACEMI Louiza	MCA	Université de Mostaganem

*Thème réalisé au laboratoire de Protection, Valorisation des Ressources Marines Littorales et
Systématique Moléculaire*

Sommaire

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des tableaux et les figures	
Résumé	
Abstract	
Introduction	1
Chapitre I	
1-Présentation de l'espèce	2
2-Définition d' <i>Artemia Salina</i>	2
3-Classification	2
4-Biologie de l' <i>Artemia salina</i>	2
4-1-La morphologie de l' <i>Artemia</i>	2
4-2-La reproduction d' <i>Artemia</i>	4
4-3- Cycle de vie d' <i>Artemia salina</i>	5
4-3-1-La morphologie de cyste	5
4-3-2-La morphologie de l'Incubation	5
4-3-3-La morphologie de l'éclosion	5
4-3-4- La morphologie de nauplius	6
4-3-5- Développement larvaire	7
4-4-Alimentation et respiration	7
5-Ecologie de l' <i>Artemia</i>	7
6-L' <i>Artemia</i> en Algérie	8
7-Culture et récolte d' <i>Artemia salina</i> en aquaculture	10
7-1-La température	10
7-2-La salinité	10
7-3- Le pH	11
7-4-L'aération	11
7-5-L'éclairage	11
8-Exploitation de l' <i>Artemia</i>	11
Chapitre II	
1-Les algues	12
2-Classification des algues	12
3- Définition de <i>Caulerpa racemosa</i>	12
4-Classification	13
5-Taxinomie	13
6-Morphologie	14
7-Reproduction et multiplication végétative	15
8-Distribution	17
9-Caractéristiques des populations de <i>Caulerpa racemosa</i> en Algérie	19

Sommaire

10-Habitat	20
11-Impacts et gestion	20
a-Impacts écologiques	21
b-Impacts économiques	23
Matériel et méthode	
But de l'étude	24
1-Echantillonnage	24
1-1- <i>Artemia salina</i>	24
Présentation de la salinede Bethioua d'Arzew	24
1-2- <i>Caulerpa racemosa var cylindracea</i>	25
a- Le littoral de Mostaganem	25
b- la plage de salamandre	25
2-Méthode de traitement des cystes	27
2-1-Séparation selon le diamètre	27
2-2-Séparation selon la densité dans la saumure	27
2-3-Lavage à l'eau douce	27
2-4-Séparation selon la densité dans l'eau douce	28
2-5-Séchage	29
2-6-Conservation	29
3- Protocole d'éclosion des cystes d' <i>Artemia salina</i> (Sorgeloos et al, 1986)	29
3-1-Hydratation	29
3-2-Décapsulation	29
3-3-L'incubation	30
4-Préparation des extraits de <i>Caulerpa racemosa var cylindracea</i>	31
4-1- Principe et méthode de soxhlet	31
4-2-L'extraction	32
4-3- Calcul du rendement	33
5-Evaluation de la cytotoxicité aigue des extraits de <i>Caulerpa craemosa</i> :	33
le « brine shrimp » test	
5-1- Principe	33
5-2-Préparation d'extraits d'essai	33
5-3-Essai de létalité de crevette de saumure (BSLA)	34
Résultats et Discussions	
1-Eclosion d' <i>Artemia salina</i>	35
2-Rendement d'extraction	37
3-Test de cytotoxicité	38
Conclusion	41

Remerciement

*Nous remercions en premier lieu Dieu le tout puissant de
Nous avoir guidées durant toutes ces années et de nous avoir permis de réaliser
ce travail en nous donnant la force, la patience et la volonté.*

*Avant tout remerciements, je remercie notre encadreur Dr.
BELKACEM Louiza pour ses judicieux conseils tout au long de ce
travail, pour son aide, ses orientations judicieuses et ses qualités d'ordre et
d'efficacité pour l'élaboration de ce travail.*

*Nos vifs remerciements et notre reconnaissance à Mr Boukhatem Jawfik
ingénieur de laboratoire qui a participé à la réalisation de ce travail.*

*Nos remerciements vont aussi à l'examineur Mr BELBAACHIR N.
qui a accepté d'examiner ce travail.*

*Nous remercions Dr BENOURAD F. d'avoir bien voulu présider le
jury*

*Je tien à témoigner ma reconnaissance au Responsable de filière, aux
enseignants, et à tout le personnel du Département des Science de la Mer et
de l'Aquaculture.*

Dédicaces

Je dédie ce travail :

à mes très chers parents,

Grand pères et grand mères.

Madame Belkacemi Louiza

À mes chers frères et sœurs

Rabha, Malika, Fadhila, Ruma, Mourad, Rida, Houssein.

Je le dédie aussi :

Aycha, Houria, Lusa, Salthana, Elhaj, Abd elkhader, Mohamed.

Et à toute ma famille.

À tous les étudiants de la promotion de master 02 Bios ressources marines

2018.

Fatima

Dédicaces

Je dédie ce travail :

à mes très chers parents,

Madame Belkacemi Louiza

À mes chers frères et sœurs

Bandhiba, Lhaj, Mohamed, Abd rahmen, Djamel, Rabha, Fatima, Zahra,

Je le dédie aussi :

Talja, Hayat, Fatima, Saada, Sastana, Fayza, Lobida, Chaima, Manscuria.

Et à toute ma famille.

À tous les étudiants de la promotion de master 02 Bios ressources marines

2018.

Yamina

Résumé

L'objectif de cette étude est l'évaluation de la cytotoxicité de différents extraits de *caulerpa racemosa* récoltée sur la côte de Mostaganem par le test BSLA (Brine shrimp lethality test).

Artemia salina utilisée dans le test BSLA a été obtenu par éclosion de cystes collectés sur la Sebkhah de Bethoui (Oran). Les extraits de *Caulerpa racemosa* collectée au niveau de la plage de Salamandre (Mostaganem) ont été obtenus par extraction au Soxhlet par trois solvants différents : chloroforme, hexane et méthanol. Trois concentrations (10, 100 et 1000 ppm) ont été testées pour chaque extrait. La CL50 a été déterminée.

Après 24-48h d'incubation dans de l'eau de mer, des nauplii de stade I ou II ont été utilisés pour le test de cytotoxicité. Les mortalités maximales des crevettes saumâtres se sont manifestées à 1000 ppm alors que les mortalités les plus faibles étaient à 10 ppm et ce pour les trois extraits étudiés. Contrairement aux extraits chloroforme et hexane dont la CL50 était largement supérieure à 1000 ppm, celle du méthanol est inférieure à 1000 ppm mais reste légèrement en dessous (954 ppm).

Les extraits chloroforme et hexane de *Caulerpa racemosa* sont non toxiques alors que celui du méthanol l'est très faiblement.

Mots Clés : *Caulerpa racemosa*, test BSLA, la cytotoxicité, *Artemia salina*, la saline de Bathioua. Plage de Salamandre.

Abstract

The objective of this study is to evaluate the cytotoxicity of different extracts of *Caulerpa racemosa* harvested on the Mostaganem coast by using the BSLA (Brine shrimp lethality test) test.

Artemia salina used in the BSLA test was obtained by hatching cysts collected on the Sebkhah of Bethoui (Oran). The extracts of *Caulerpa racemosa* collected at the Salamandre beach (Mostaganem) were obtained by Soxhlet extraction with three different solvents: chloroform, hexane and methanol. Three concentrations (10, 100 and 1000 ppm) were tested for each extract. The LC50 has been determined.

After 24-48h incubation in seawater, stage I or II nauplii were used for the cytotoxicity test. Maximum mortalities of brine shrimp occurred at 1000 ppm while the lowest mortalities were at 10 ppm for all three extracts studied. In contrast to chloroform and hexane extracts whose LC50 was well above 1000 ppm, that of methanol is less than 1000 ppm but remains slightly below (954 ppm).

The chloroform and hexane extracts of *Caulerpa racemosa* are non-toxic while that of methanol is very weak toxic.

Key words: *Caulerpa racemosa*, BSLA test, cytotoxicity, *Artemia salina*, Bathioua saline, Salamandre beach.

Liste des tableaux et les figures

Liste des tableaux:

Tableau 01 : Les sites potentiels <i>d'Artemia</i> connus en Algérie.	8
Tableau 02 : Les sites potentiels <i>d'Artemia</i> connus en Algérie.	9
Tableau 03 : Caractéristiques des colonisations de <i>Caulerpa racemosa</i> en Algérie.	19

Liste des figures :

Figure 01 : Cycle de vie de l' <i>Artemia</i> .	3
Figure 02 : Individus femelle et mâle <i>d'Artemia</i> .	5
Figure 03 : Eclosion <i>d'Artemia</i> .	6
Figure 04 : Photo de <i>Caulerpa racemosa</i> .	13
Figure 05 : Structure générale de <i>C. racemosa</i> .	15
Figure 06 : Reproduction sexuée de <i>C. racemosa</i> .	16
Figure 07: Reproduction asexué de <i>C. racemosa</i> .	17
Figure 08 : Carte de la distribution de <i>Caulerpa racemosa</i> en Méditerranée et aux îles Canaries.	17
Figure 09 : Localisation géographique de <i>Caulerpa racemosa</i> sur le littoral algérien.	18
Figure 10 : <i>Caulerpa racemosa</i> var <i>cylindracea</i> et <i>Caulerpa taxifolia</i> .	20
Figure 11 : <i>C. racemosa</i> var <i>cylindracea</i> et l'herbier à <i>Posidonia Oceanica</i> .	22
Figure 12 : <i>C.racemosa</i> et <i>Cymodocea nodosa</i> .	22
Figure 13:Image satellite de la sebkha de Bethioua .	24
Figure 14: Le site de prélèvement de cyste <i>d'Artemia salina</i> de Bethioua.	25
Figure 15:Image satellite de La plage de salamandre.	26
Figure 16: Le site de prélèvement de <i>Caulerpa racemosa</i> au niveau de la plage de salamandre.	26
Figure 17 :L'échantillon des cystes mélangé avec le sable.	27
Figure 18: Tamisage humide.	28
Figure 19 : Séparation selon la densité dans l'eau douce après 15 minutes.	28
Figure 20: l'aération continue pendant 2heures.	29

Liste des tableaux et les figures

Figure 21: Décapsulation des cystes avec l'eau de javel (A) et filtration des cystes (B).	30
Figure 22: Incubation de cystes <i>d'Artemia salina</i> .	31
Figure 23 : L'appareil de Soxhlet.	32
Figure 24 : <i>Caulerpa racemosa</i> séchée.	32
Figure 25: Cystes non hydratés sous binoculaire.	35
Figure 26 : Cystes hydratés sous microscope (X4).	35
Figure 27 : Cystes décapsulés sous microscope (X4).	36
Figure 28: Début d'éclosion sous microscope (flèche) (X4)	36
Figure 29: Nauplii <i>d'Artemia salina</i> .	36
Figure 30 : Rendement de différents extraits de <i>Caulerpa racemosa</i> .	37
Figure 31 : Courbe représentant le pourcentage de mortalité <i>d'Artemia salina</i> en fonction de la concentration de l'extrait chloroforme.	38
Figure 32 : Courbe représentant le pourcentage de mortalité <i>d'Artemia salina</i> en fonction de la concentration de l'extrait hexane.	39
Figure 33 : Courbe représentant le pourcentage de mortalité <i>d'Artemia salina</i> en fonction de la concentration de l'extrait méthanol.	39

Introduction

De nos jours, les algues sont très étudiées pour leur potentiel nutritionnel, pharmaceutique, cosmétique.....Leur richesse en composés bioactifs les rend attrayantes pour les différentes industries.

Cependant il est primordial d'effectuer des tests de toxicité pour évaluer la sécurité ou les dangers présentés par les substances que pourrait contenir les algues ou toutes autres plantes. Ces substances peuvent provenir de différents contaminants ou de composés chimiques végétaux qui font partie de la plante.

Bon nombre de méthodes d'essai de toxicité actuelles comprennent l'utilisation d'animaux de laboratoire comme les souris, les rats ou les lapins, mais dernièrement l'utilisation du test BSLA : Brine shrimp letality assay, s'est répandu. Ce test est basé sur l'utilisation d'une crevette d'eau saumâtre : *Artemia*. Utilisée surtout en aquaculture des fins de nutrition, son emploi s'est élargi jusqu'au domaine de l'étude de la cytotoxicité.

Ce test de crevette a été proposé par Michael et al **Michael et al (1956)** et développé par **Vanhaecke et al. (1981)** et **Sleet et Brendel (1983)**. Il est considéré comme un outil utile pour l'évaluation préliminaire de la toxicité et il a été utilisé pour la détection des toxines dans des extraits de plantes. Le faible coût et la facilité d'exécution du test ainsi que la disponibilité commerciale d'œufs de crevette de saumure font du test de létalité de la crevette (BSLT) une méthode de laboratoire très utile.

Dans notre travail, nous nous sommes intéressées à l'étude de la cytotoxicité d'une algue verte invasive de notre côte : *Caulerpa racemosa var cylindracea*. Il s'agit d'une espèce algale introduite qui a été découverte pour la première fois à Bou-Ismaïl en 2006 (**Ould Ahmed et Meneisz, 2007**) et à Mostaganem en 2010 (**Bouhidjra et al, 2010**).

Notre objectif est de tester la cytotoxicité ou non de trois extraits de *Caulerpa racemosa* collectée sur la plage de Salamandre : extrait chloroforme, hexane et méthanol vis-à-vis des larves d'*Artemia salina* originaire de cystes collectés sur la Sebkha de Bethioua.

1-Présentation de l'espèce :

Connue sous le nom de petite crevette des marais (brine shrimp), l'*Artemia* est un petit crustacé phyllopode aquatique d'une taille qui ne dépasse pas 8mm. Ce crustacé est euryhalin et eurytherme, sa tolérance à la salinité et à la température est élevée. La température peut varier entre 6°C à 40°C pour les larves, tandis que pour les cystes, les limites oscillent entre 70°C à 100°C, la résistance à la salinité varie de 3 à 250 ‰.

L'*Artemia* vit dans des biotopes à climat tropical, subtropical, ou encore tempéré. En Afrique précisément au Maghreb elle se rencontre dans les chotts, les sebkhas ou mellaha.

L'*Artemia* est un organisme filateur, non sélectif se nourrissant de détritus, de micro algues et de bactéries.

(Leach, 1819)

2-Définition d'*Artemia Salina* :

L'Artémie (*Artemia salina*) est une espèce de crustacé vivant dans les lacs salés, les lagunes, les chotts, les sebkhas et les marais salants (Emslie, 2003). Elle se trouve en abondance dans les salines de l'ouest Algérien, grâce à sa forte reproduction. Cette espèce reste toujours très demandée dans le domaine d'exploitation des ressources hydriques et en aquaculture (Kara et al, 2004).

3-Classification :

Règne : Animalia

Embranchement : Arthropoda

Sous-embr : Crustacea

Classe : Branchiopoda

Sous-classe : Sarsostraca

Ordre : Anostraca

Sous-ordre : Artemiina

Famille : Artemiidae

Genre : *Artemia*

Espèce : *Artemia salina* (Linnaeus, 1758)

4-Biologie de l'*Artemia salina* :

4-1-La morphologie de l'*Artemia* :

Dans la nature l'*Artemia* apparaît sous divers aspects morphologiques. L'œuf d'*Artemia* appelée couramment cyste, donne naissance à une première larve (nauplius) quand les conditions de l'environnement sont favorables. Après plusieurs étapes de développement, le

nauplius subit des transformations physiologiques et morphologiques qui vont le conduire au stade adulte. Ces étapes de développement au cours desquelles le nauplius porte le nom de (méta-nauplius), sont à chaque fois accompagnées des mues.

La taille des adultes d'*Artemia* est en général d'environ 8-12 mm, mais peut atteindre jusqu'à 20 mm. Le mâle est généralement plus petit que la femelle, nage plus rapidement, mange moins et est moins coloré. Sa coloration va du blanc laiteux au bleu vert jusqu'au rouge brique et au vermillon selon sa nourriture et le milieu, en particulier selon la teneur du milieu en oxygène dissous. La taille de l'adulte d'*Artemia* varie entre 8 et 12 mm chez les souches bisexuées et dépasse 20 mm chez les parthénogénétiques (Sorgeloos et al., 1986). La petite taille des mâles; risque, toutefois, d'être affectée par les conditions de l'environnement, en particulier les hautes salinités (Amat, 1979).

Les mâles sont distingués par deux grosses épines au niveau de la tête et une paire de pénis au niveau de l'abdomen. Les femelles possèdent uniquement un utérus au niveau de l'abdomen qui peut contenir jusqu'à 200 cystes. Dans des conditions naturelles, l'*Artemia* se nourrit d'algues, de protozoaires et de détritits (Abatzopoulos et al., 2010).

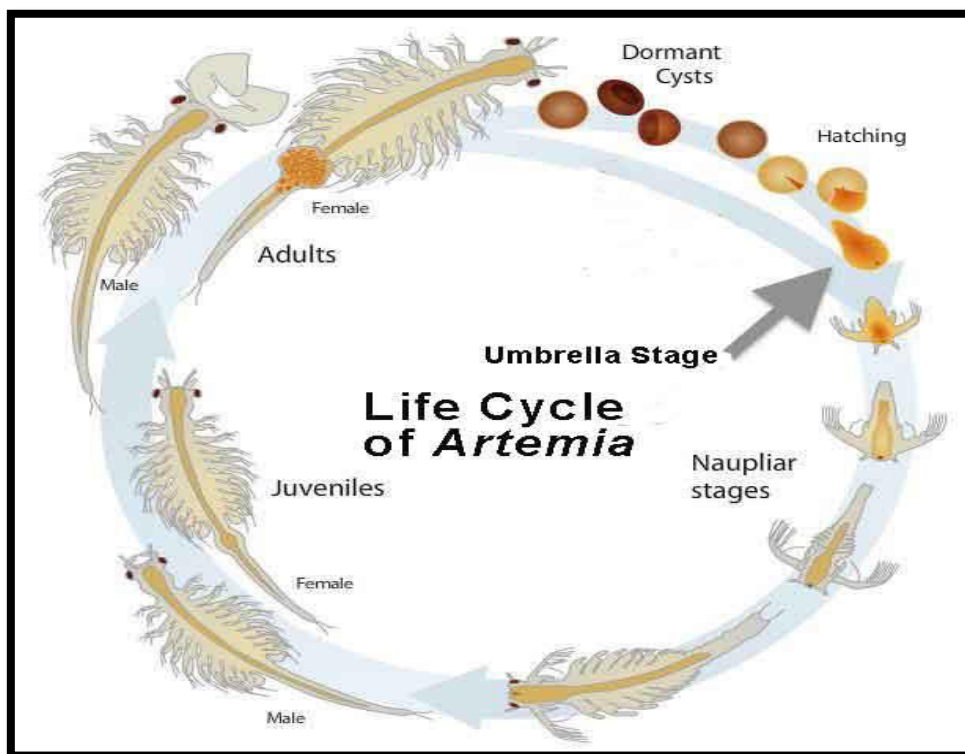


Figure 01 : Cycle de vie de l'*Artemia* (Abatzopoulos et al., 2010)

Le corps d'un *Artemia* adulte est dépourvu de carapace (anostracée) mais clairement segmenté. Il comprend trois parties bien distinctes : la tête, le thorax, et l'abdomen.

❖ La tête : est relativement large comportant une paire d'yeux complexes, l'œil nauplius, les antennules et la cavité buccale. Cette dernière est représentée par un large labrum, une

paire de mandibule et deux paires de maxillaires. Ces diverses pièces qui constituent la cavité buccale sont reliées à l'œsophage, qui aboutit dans l'estomac.

❖ Le thorax : comprend 11 segments portant chacun une paire de thoracopode qui assurent la respiration, la locomotion et la fonction alimentaire de l'animal, le segment externe du thoracopode (exopodite) joue le rôle de branchies. L'endopodite situé à la partie médiane du thoracopode permet la propulsion et les mouvements du corps de l'animal. Le segment interne du thoracopode intervient lors de la filtration de l'eau par l'animal afin de retenir les particules alimentaires qui se trouvent suspendues dans l'eau.

❖ L'abdomen : se distingue nettement du thorax, il est formé de huit segments, les deux premières contiennent l'appareil de reproduction. L'appareil reproducteur mâle est formé d'une paire de testicules d'une paire de vésicules séminales et d'une paire de pénis. Celui de la femelle est constitué d'une paire d'ovaires localisés de chaque côté du troisième segment abdominal. Deux oviductes aboutissent dans l'utérus qui est en forme de poche et qui finit dans l'orifice génital. Le huitième segment est différencié en telson et est constitué de deux lobes entre lesquels s'ouvre l'orifice anal.

4-2-La reproduction d'*Artemia* :

Lors de la reproduction, le mâle va s'aider de ses pattes pour tenir la femelle, il se positionne sous elle au niveau du sac ovaire. Ils vont nager ainsi l'un accroché à l'autre pendant plusieurs minutes. Ensuite, ils se séparent d'un coup d'abdomen. La maturité sexuelle après éclosion est de 10 jours environ, selon les conditions du milieu. L'*Artemia* dispose de deux méthodes de reproduction :

- **Reproduction sexuée** : il y a des mâles et des femelles qui s'accouplent.
- **Reproduction par parthénogénèse** : il n'y a pas de mâles et seules les femelles assurent la reproduction. Dans ce dernier cas, les individus disposent d'un double jeu de gènes (diploïdie).

Une autre stratégie physiologique d'adaptation de l'*Artemia* est bien l'existence de populations bisexuelles et d'autres qui se reproduisent parthénogénétiquement (**Van stappen, 1997**), sans toutefois présenter la capacité d'alterner leur mode de reproduction comme cela se passe chez la daphnie et les rotifères (**Goldsmith, 1952**).

Par ailleurs, on croit que toutes les populations d'*Artemia* empruntent les deux modes de reproduction (ovipare et ovovivipare) et sont capables de commuter d'un mode de reproduction à l'autre comme réponse rapide aux fluctuations des conditions de l'environnement. (**Van stappen, 1997**).



Figure 02 : Individus femelle et mâle d'*Artemia* (internet- www.aquaportail.com).

4-3- Cycle de vie d'*Artemia salina* :

4-3-1-La morphologie de cyste :

Tel qu'il est récolté dans la nature, le cyste d'*Artemia* a une forme biconcave et mesure 200 à 300 micromètres de diamètre. Il est de couleur brun foncés et parfois pâle. Quand il se trouve dans l'eau, le cyste flotte en surface et reste en suspension sous l'action des vents et des vagues, cette particule apparemment inerte finit sur les rivages ou pourrait séjourner plusieurs années sans que son état ne soit altéré. (Van stappen et Sorgeloos, 1996).

4-3-2-La morphologie de l'Incubation :

L'incubation est effectuée pendant 24 heures sous des conditions standards : eau de mer saturée en oxygène dissous avec l'utilisation d'un aérateur qui permet le brassage du contenu de la bouteille, la température est fixée à 27°C grâce à un thermostat, la salinité fixée à 35 ‰ et sous un éclairage de 1000 lux.

4-3-3-La morphologie de l'éclosion :

Au niveau des écloséries, étant donné le prix actuel des cystes, l'impératif serait de réaliser des éclosions où le rapport poids de nauplius obtenus sur poids de cystes soit le plus haut possible.

Pour une éclosion optimale certains critères de base devront être observés en les adaptant à la souche utilisée.

Les étapes de l'éclosion sont résumées dans la figure 03.

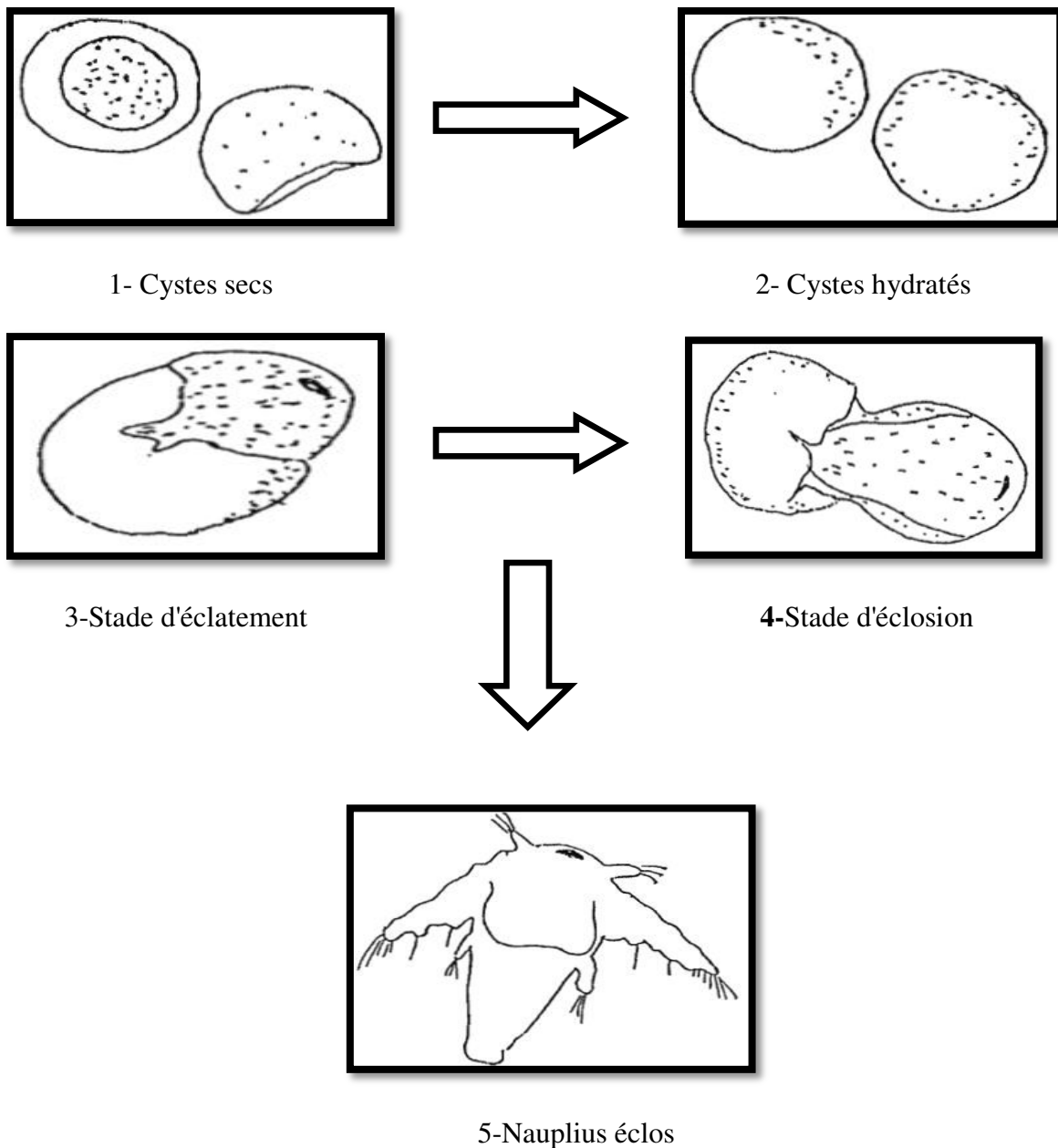


Figure 03 : Eclosion d'*Artemia*. (Mousseux, 1995).

4-3-4- La morphologie de nauplius :

Les nauplius d'*Artemia* sont de petites crustacés qui peuvent vivre dans les eaux douces comme ils peuvent vivre dans des eaux saumâtres, ces petites créatures peuvent résister à des taux de salinité extrêmes (jusqu'à près de 350g/l) qui interdisent le développement de tout autre organisme animal. La taille des nauplius d'*Artemia* n'excède pas les treize millimètres, elles sont largement utilisées comme première nourriture pour les alevins et sont aussi utilisées comme supplément pour nourrir les adultes et les « inciter » à se reproduire. (Curto, 2006).

4-3-5- Développement larvaire :

La croissance de larve d'*Artemia* s'accomplit suite à une série de mues. La durée séparant deux mues successives à une température de 20°C est de 24 heures, alors celle-ci est réduite à 6 heures à une température de 30°C. Le nauplius fraîchement éclot mesure 400 à 500 micron de longueur. Il est formé de trois paires d'appendices qui comprennent : les antennes,

relativement larges qui servent à la locomotion, les antennules et les mandibules, qui, elles, joueront un rôle alimentaire du deuxième stade larvaire (met-nauplius) (**Hentschel , 1968**)

4-4-Alimentation et respiration :

L'alimentation et la respiration sont deux processus physiologiques assurés, en même temps, par les mouvements continus des thoracopodes (**Provasoil et Shiraichi, 1959**).

Concernant l'alimentation, l'*Artemia* est un animal filtreur obligatoire non sélectif, qui à l'aide de ses antennes et thoracopodes des courants d'eau se créent le long de la surface ventrale de l'animal, les téléphonies concentrent les particules alimentaires qui sont transférés ensuite vers le labrum, où une sécrétion visqueuse les entoure avant que les maxillaires et les mandibules les expédient dans l'œsophage.

L'*Artemia* est en mesure d'ingérer toute particules dont la taille est inférieure à 60µm tel que les micros algues et les bactéries (**Dhont et Vanstappen, 2003**).

5-Ecologie de l'*Artemia* :

L'*Artemia* occupe des biotopes à climat tropical, subtropical ou tempéré (**Lavens et Sorgelos, 2000**).

L'animal est rencontré abondamment dans les milieux thalassohalins (riche en chlorure de sodium) et athalassohalins (riches en sulfates, encarbonates et/ou potassium). (**Haddag, 1991**).

La diversité écologique de ces biotopes isolés, et la flexibilité génétique de l'espèce ont mené à l'évolution de plus de 350 populations (**Van Stappen et al, 1993**).

L'*Artemia* est considérée comme un organisme euryhalin et eurytherme rencontré à des salinités entre 80 et 220 g/l selon les populations et les espèces.

Les tolérances à la salinité et la température sont très élevées. Cependant, il est largement accepté que l'*Artemia* ne puisse pas survivre plus de 1 à 2 jours à une salinité extrême de 340 g/l (**Camargo et al, 2003**).

Concernant la température, la plupart des populations ne supportent pas des températures au-dessous de 5°C, tandis qu'elle peut varier entre 6 °C à 40°C pour les larves. La tolérance des cystes secs est encore plus élevée ; les limites oscillent entre -273°C à plus de 60 °C.

6-L'*Artemia* en Algérie :

En Afrique, 37,7 % de la superficie totale du continent, soit 11,3 millions de km sont des régions arides ou semi arides dans lesquelles les lacs salés ont tendance à s'yformer. (Williams, 1996).

Les travaux réalisés sur l'*Artemia* en Algérie sont peu nombreux. D'après certains auteurs (Haddag, 1991 ; Kara, 1994 ; Ghomari, 2012) l'espèce se rencontre dans les chotts et les sebkhas.

Les sites riches en *Artemia*, recensés en Algérie sont rapportés dans le **tableau 01 et 02**.

Tableau 01 : Les sites potentiels d'*Artemia* connus en Algérie (Milla et Madani, 2001).

Région	Type du site	Cordonnées géographiques	Espèce
Arzew (Bethioua)	Saline	35°43'N 00°08'W	<i>A. tunisiana</i>
Djeloud ou Merouane	Chott	34°03 'N 06°20'E	Inconnue
Ouargla	Chott	31°57'N 05°20'E	<i>A.tunisiana</i>
DayetMorcelli	//////	35°30'N 00°46'E	Inconnue
Gharabas	Lac	35°35'N 00°25'E	Inconnue
Djendlli(prés de Batna)	Sabkha	35°43'N 06°32'E	<i>A.franciscana</i>
Zemoul(Ain Mlila)	Sabkha	35°53'N 06°33'E	<i>A.franciscana</i>
Tougourt	Chott	33°06'N 06°07'E	Inconnue
N'zouri	Sabkha	35°50'N 06°35'E	Inconnue
Sidi bouziane (Relizane)	Saline	35°51'4N 0°38'47 E	<i>A.tunisiana</i>
Guergour El -Amri	Mellaha	35°59'N 05°15'E	Inconnue

Tableau 02 : Les sites potentiels d'*Artemia* connus en Algérie.(Kara et Amarouayache, 2012).

Région	Superficie (ha)	Coordonnées géographiques	Espèce	Références
Sebkhat Oran	43,000	35°43'N 00°08'W	Inconnue	(Sorgeloos et al, (1986), Ghomari et al, 2011)
Chott Ouargla	6,853	31°57'N 05°20'E	Inconnue	(Sorgeloos et al, (1986)
Chott Marouane (El Oued)	36,000	34°03'N 06°20'E	<i>A. salina</i>	(Sorgeloos et al, (1986), (Zemmouri, 1991), (Kara et al, 2004), (Samraoui et al,2006), (Amarouayache et al,2009), (AmarouayacheandKara, 2010)
SebkhatEz-Zemoul (Oum El Bouagui)	6,100	35°53'N- 06°33'E	<i>A. Salina</i>	(Sorgeloos et al, (1986), Zemmouri, 1991), (Kara, 1998),(Samraoui et al, 2006), (AmarouayacheandKara, 2010), (Amarouayache et al, 2010). (Amarouayache et al, 2012),
Arzew Saltern (Bethioua, Oran)	2,900	35°41N- 00°17'W	<i>A. tunisiana</i>	Zemmouri, 1991). (Haddag, 1991),(Samraoui et al, 2006). Ghomari et al, 2011)
Garaet El Tarf (Oum El Bouagui)	33,460	35°42'N 07°07'E	<i>A. salina</i>	(Kara, 1998), (Haddag, 1991)
Chott Melghir (Biskra)	48,000	34°10'N 06°17'E	<i>A. salina</i>	(Samraoui et al, 2006), Ghomari et al, 2011)
Sebkhat Sidi Bouziane (Relizane)	1,740	35°50'N 00°39'W	<i>A. salina</i>	(Zemmouri, 1991), (Ghomari et al, 2011)
Goléa Salt Lake(Ghardaia)	18,947	30°28'N 02°55'E	Inconnue	Ghomari et al, 2011)
Dayet Morseli (Oran)	150	35°30'N 00°46'W	Inconnue	(Sorgeloos et al,1986)

7-Culture et récolte d'*Artemia salina* en aquaculture :

La récolte des nauplius se fait en vidant le récipient sur un tamis de vide de maille de 120 μm puis en les rinçant abondamment à l'eau avant distribution. Il s'agit de récolter l'*Artemia* dans les salines au moment de sa prolifération de façon spectaculaire en période printanière et pré-estivale.

L'exploitation de l'*Artemia*, sous forme de cyste ou biomasses dans les habitats naturels, pour des fins aquacoles est pratiquée dans tous les pays possédant des salines et où l'activité aquacole est développée. (Divanach et al, 1983).

Les facteurs intervenant directement dans le processus de l'éclosion :

7-1-La température:

La température de l'eau varie aussi considérablement d'environ 6 à 37 °C, la température optimale de reproduction étant à environ 25 °C ou à température ambiante.

Un avantage de leur habitat hyperhalin signifie qu'ils ont très peu de prédateurs, mais l'inconvénient est que leur régime alimentaire est limité.

Donc la température c'est un facteur écologique important du milieu, en effet, celle-ci joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz, la détermination de pH. (Rodier, 1996).

7-2-La salinité :

On définit la salinité en grammes de résidus solides par kg d'eau de mer, après conversion des carbonates en oxydes, au bien la salinité des saumures se définit comme la somme des cations et des anions qu'ils contiennent. Le principal sel, présent en quantité quasi inépuisable dans les mers, océans, lacs salés, salines et aussi dans les mines de sel, est le chlorure de sodium. Mais la composition ionique des saumures varie selon l'origine ; thalassohalines ou athalassohalines. La majorité des eaux hyper salines contient 8 à 10 fois plus de sels dissous totaux que l'eau de mer. (Caumette, 1998).

Les eaux sont considérées salées lorsque la salinité dépasse 0,3%(p /v) et on définit les eaux hyper salées comme celles présentant des concentrations en sels minéraux supérieures à celle de l'eau de mer (3,3%(p/v)).

Cependant, cette définition n'est pas spécifique, on doit également tenir compte de l'origine et des types de sels et de leur proportion (Edgerton et Brimblecome, 1981).

Le temps d'hydratation est directement fonction de la salinité. Si, pour des raisons de facilité, on utilise couramment de l'eau de mer, il a été démontré qu'une éclosion en eau de mer diluée jusqu'à 5 %, est plus rapide et permet d'obtenir des nauplius à plus haute valeur énergétique (Vanhaecke et al, 1980).

7-3- Le pH:

Le pH de l'eau de mer est un facteur très important pour l'éclosion des œufs d'*Artemia*. Si nécessaire, le pH doit être ajusté en utilisant NaOH ou Na₂CO₃, pour éviter la létalité des larves d'*Artemia* causée par la diminution du pH pendant l'incubation (**Vanhaecke et al., 1981; Parra et al., 2001**).

L'*Artemia* jusqu'à ce jour n'a été rencontrée qu'en milieu neutre ou alcali. Si peu d'informations existent sur l'influence du pH sur la croissance de juvéniles et le maintien des adultes, il est important de noter que son rôle est capital lors de l'éclosion. (**Sato, 1967**).

7-4-L'aération :

Permet d'homogénéiser le milieu et de favoriser l'éclosion.

La saturation des eaux due à l'évaporation réduit encore le pH et la solubilité de l'oxygène. Mais l'agitation des eaux de surfaces par le vent permet l'aération et donc la disponibilité de l'oxygène pour les microorganismes aérobies et les larves des couches superficielles (**Litchfield et al, 1998**).

7-5-L'éclairage :

Une lumière artificielle continue favorise un meilleur rendement.

Constatée par **Sorgeloos en 1973** et étudiée par **Vanhaecke en 1980**, l'éclosion est optimale quand elle est effectuée sous une source lumineuse qui assure au minimum 1 000 lux ce qui représente un éclairage bien plus faible que celui qui peut être observé dans les milieux où prolifèrent les *Artemia* les jours de plein soleil (100 000 lux).

8-Exploitation de l'*Artemia* :

Le choix de la souche de l'*Artemia* dépend essentiellement de la taille des cystes et du taux de fécondité. Pour une meilleure exploitation de l'*Artemia* et une augmentation de sa valeur nutritionnelle, un enrichissement en acides gras (AG) polyinsaturés est nécessaire. L'*Artemia* peut être exploitée aussi pour la vente ou pour la distribution à des larves de poissons ou de crustacés durant les premiers stades larvaires (**Amat, 1979**).

1-Les algues :

Les algues sont des organismes capables de pratiquer la photosynthèse et vivent majoritairement dans un milieu aquatique (marin ou dulcicole). Ce sont donc des végétaux mais dépourvues de tige, de racine, de feuille ou de fleur.

Les algues ne constituent pas un groupe évolutif unique, mais rassemblent toute une série d'organismes pouvant appartenir à des groupes phylogénétiques très différents (**Reviere, 2002**).

2-Classification des algues :

Il s'agit d'un groupe polyphylétique incluant des organismes procaryotes (les cyanobactéries) et eucaryotes. Elles sont réparties en plusieurs taxons dont les plus importants sont :

- Les algues bleues.
- Les algues brunes.
- Les algues rouges.
- Les algues vertes.

Les algues vertes sont un ensemble d'algues dont les pigments photosynthétiques principaux sont les chlorophylles a et b. Comme leur nom l'indique, les algues vertes sont généralement de couleur verte.

Les algues vertes ne forment pas un groupe évolutif complet et cohérent, elles sont représentées par différents taxons qui ne sont pas phylogénétiquement apparentés. L'origine et la date d'apparition des différents groupes d'algues vertes sont encore très discutées (**Michael et al, 2012**).

3- Définition de *Caulerpa racemosa* :

La Caulerpe raisin ou Caulerpe à billes (**Steven, 2005**), *Caulerpa racemosa*, est une espèce d'algues vertes de la famille des caulerpacées. On la trouve dans les eaux peu profondes de nombreuses mers du monde. Il existe un grand nombre de formes différentes dont une variété apparue en 1990 en Méditerranée dont le caractère invasif est préoccupant.

Il s'agit d'une macrophyte originaire du sud-ouest de l'Australie et dont l'aire de répartition actuelle est préoccupante, vue sa présence dans les mers tropicales et tempérées chaudes. Elle est décrite dans la littérature avec de nombreuses variétés et formes différentes qui pourraient en fait masquer plusieurs espèces distinctes (**Verlaque et al, 2000**).



Figure 04 : Photo de *Caulerpa racemosa* (www.aquaportail.com).

4-Classification :

Domaine	Eukaryota
Division	Chlorophyta
Classe	Chlorophyceae
Ordre	Bryopsidales
Famille	Caulerpaceae
Genre	Caulerpa
Espèce	<i>Caulerpa racemosa var cylindracea</i>

5-Taxinomie :

Caulerpa racemosa est un Chlorophyta de l'ordre Bryopsidales appartenant à la famille Caulerpaceae. Le genre *Caulerpa* comprend environ 85 espèces (Guiry et Guiry, 2007). Il y a beaucoup de confusion dans la littérature concernant la classification taxinomique des groupes d'espèces de *Caulerpa* (incluant le groupe *racemosa*). Le groupe *Caulerpa racemosa* se distingue de *Caulerpa taxifolia* à la forme de plume plate, par ses ramuli en forme sphérique, en massues ou en champignon. Un nombre élevé de taxons infra spécifiques ont été décrit à l'intérieur du groupe de *C. racemosa*.

Cependant, la plasticité morphologique élevée induite par les paramètres environnementaux rend la validité de nombreux taxons discutable (Ohba et Enomoto, 1987; Prud'homme van Reine et al., 1996).

En Méditerranée, trois taxons infra spécifiques de *C. racemosa* ont été identifiés (Verlaque et al., 2000; 2003):

- 1- un taxon correspondant aux deux variétés *C. racemosa* var. *turbinata* (J. Agardh) Eubank et var. *uvifera* (C. Agardh) J. Agardh.
- 2- *C. racemosa* var. *lamourouxii* (Turner) Weber-van Bosse F. *requienii* (Montagne) Weber-van Bosse.
- 3- le taxon *C. racemosa* récemment introduit en méditerranée.

L'identité et l'origine de *C. racemosa* récemment introduite en Méditerranée sont restées obscures pour une décennie. Divers scénarios ont été proposés pour expliquer la propagation soudaine de *C. racemosa* dans la région méditerranéenne. D'abord, il a été spéculé que *C. racemosa* était un Migrant lessepsien de la mer Rouge (Alongi et al., 1993; Giaccone et Di Martino, 1995a). Cependant, l'examen morphologique et l'analyse bibliographique excluent l'idée d'une migration lessepsienne tout en soutenant l'hypothèse de l'introduction de l'espèce (Verlaque et al., 2000). Les données moléculaires ont confirmé des conclusions logiques et ont suggéré des espèces d'origine hybride (Durand et al., 2002). Enfin, *Caulerpa cylindracea* Sonder (1845) endémique du sud-ouest de l'Australie et plus précisément de la région entre Perth et Hopetoun (Harvey, 1858, Womersley, 1984) a été reconnu comme étant le taxon récemment introduit dans la Méditerranée (Fama` et al., 2000; Verlaque et al., 2003). Une étude morphologique et génétique a classifié ce taxon comme étant *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* (Sonder) Verlaque, Huisman et Boudouresque (ci-après *C. racemosa*) (Verlaque et al., 2003). L'identité des spécimens de Croatie, Chypre, la France, la Grèce, l'Italie, la Turquie et les îles Canaries a été prouvé par des études génétiques (Fama` et al., 2000; Verlaque et al., 2000, 2003; Nuber et al., 2007). Finalement, une variabilité génétique intra-population élevée a été observée chez *C. racemosa* récemment introduite (Fama` et al., 2000, 2001; Jousson et al., 2001).

6-Morphologie:

Caulerpa racemosa var. *cylindracea* possède un thalle coenocytique, constitué d'un axe rampant appelé stolon qui mesure entre 0,7 mm et 2 mm de diamètre ; ce dernier est fixé dans le substrat par de minces et courts rhizoïdes d'une longueur qui varie entre 1 mm et 20 mm avec un diamètre entre 0,3 mm et 1 mm. Des axes appelés frondes qui atteignent 15 cm, sont portés verticalement sur le stolon. De petites protubérances arrondies, non groupées, avec une longueur de 1,7 mm à 7 mm et un diamètre entre 1 mm et 3 mm appelées ramules sont disposées d'une façon radiale ou distique sur les frondes, ces mêmes frondes sont légèrement gonflées au-dessus de l'attachement avec le stolon (Verlaque et al, 2003).

C. racemosa est caractérisée par des feuilles dressées jusqu'à 11 cm (exceptionnellement 19 cm) de hauteur, portant des ramules vésiculaires non encombrés dont la morphologie est pertinente sur le plan taxonomique. Les frondes sont légèrement gonflées au-dessus de l'attachement au stolon qui est fixé au substrat par de courts et minces rhizoïdes (Verlaque et al, 2003). De nombreuses pousses latérales sphériques ou ovoïdes se ramifient depuis les frondes et qui donnent son nom de « caulerpe raisin » à cette algue (Sea, 2011).

Les données morphométriques de *C. racemosa* en Méditerranée peuvent varier selon la région, la profondeur et la saison (Klein & Verlaque, 2008).

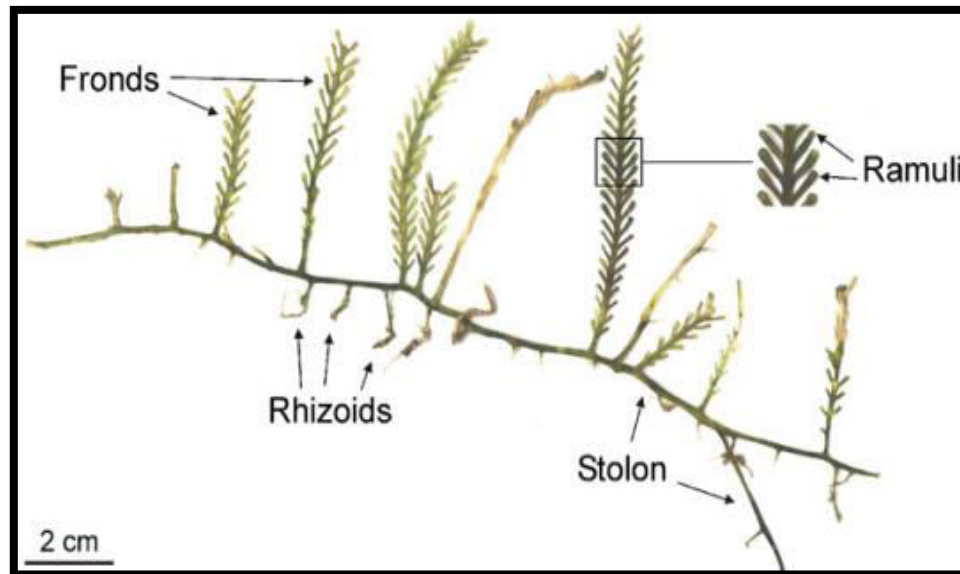


Figure 05 : Structure générale de *C. racemosa* (Klein & Verlaque 2008).

7-Reproduction et multiplication végétative :

Comme beaucoup d'autres espèces, *C. racemosa* est capable de reproduire le duvet sexuellement et végétativement.

La reproduction sexuelle est holocarpique, tout le cytoplasme de la cellule forme des anisogamètes qui sont libérées simultanément, résultant en le décès ultérieur de l'individu. *C. racemosa* comme *Caulerpa taxifolia* est monoïque (Goldstein et Morall, 1970; Panayotidis et Zuljevic', 2001). Cependant, dans la mer Méditerranée, contrairement à *Caulerpa taxifolia*, où seul le mâle des gamètes a été observé (Zuljevic et Antolic, 2000), *C. racemosa* produit les deux gamètes sexuelles (Panayotidis et Zuljevic, 2001). Le processus de libération des gamètes est précédé par l'apparition de petites papilles et la transformation du cytoplasme dans un réseau vert clair et orange brunâtre. Approximativement, 14 minutes avant le lever du soleil, les gamètes sont libérées en quelques minutes formant un nuage vert (Panayotidis et Zuljevic', 2001). Après la libération des gamètes, le thalle vide se décompose rapidement en quelques heures. Une découverte intéressante a été faite dans le laboratoire: la fusion de très peu de gamètes pour former des zygotes (Panayotidis et Zuljevic', 2001). Les événements de frai de masse ont été observés au petit matin en été en Grèce et France. Ce phénomène pourrait expliquer la répartition inégale des prairies de *C. racemosa*. Alors que la lumière est faite sur le processus de reproduction, Les indices déclenchant la reproduction sexuée restent inconnus.

La multiplication végétative peut se produire sous trois formes, style de croissance, la fragmentation et la formation de propagules. Le style particulier de croissance des espèces *Caulerpa*, où l'extrémité du stolon ramifié se décompose pendant que les apex continuent à croître, résulte en une multiplication rapide des individus. La fragmentation des thalles peut causer des perturbations dans le mouvement de l'eau, le broutage et les activités humaines. Les fragments résultants sont capables de survivre plusieurs jours au transport et peuvent se rétablir sur un substrat approprié (Ceccherelli et Piazzi, 2001a). Des fragments de *C. racemosa* à la dérive ont été observés dans la colonne d'eau en Italie et semblent être un mécanisme de multiplication hautement efficace, en particulier en été (Ceccherelli et al., 2000, Ceccherelli et Piazzi, 2001a). L'attachement de ces fragments de *C. racemosa* au substrat se produit en quelques jours (Carruthers et al., 1993). Dans le laboratoire, la formation de propagules a été observée sur de la *C. racemosa* collectée à Villefranche, France (Renoncourt et Meinesz, 2002). La formation de propagules consistait en des ramuli détaché qui produisent des filaments chlorophylleux, qui croîent après seulement 5 jours dans un nouvel individu.

C. racemosa se multiplie végétativement par fragmentation. Lorsque des morceaux de l'algue sont cassés, ils se développent en un nouvel individu. Des bouts de tissus de quelques millimètres à peine suffisent à cette méthode de reproduction (Ceccherelli et Piazzi, 2001).

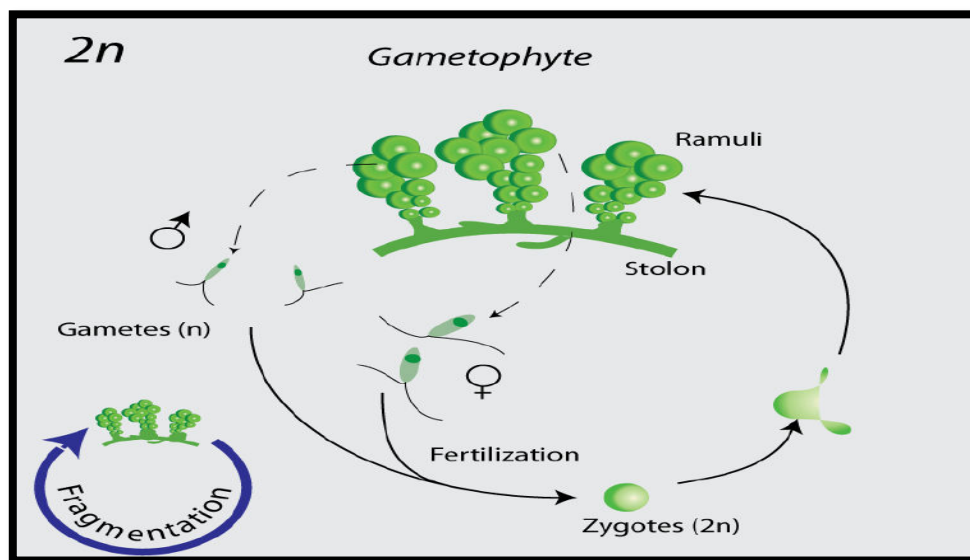


Figure 06 : Reproduction sexuée de *C. racemosa*.

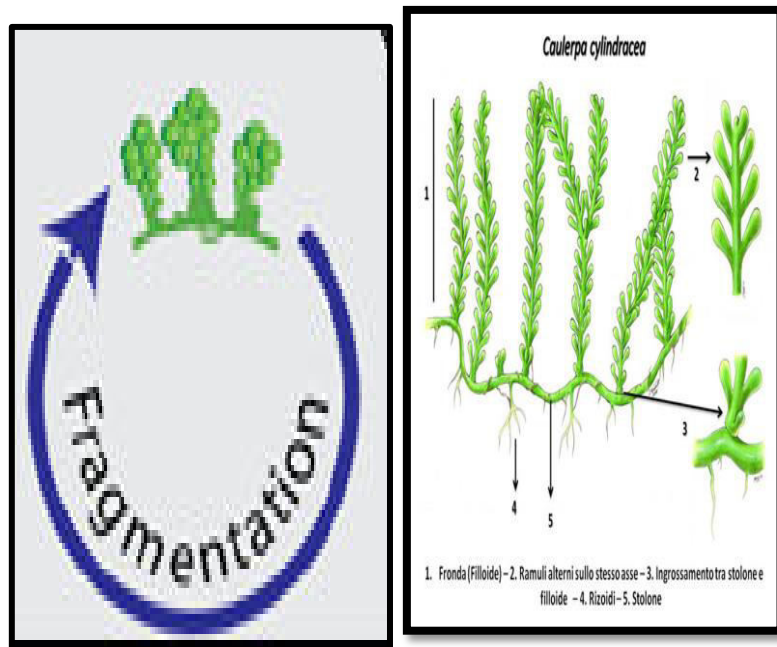


Figure 07: Reproduction asexuée de *C. racemosa* (Photo : j. Cuetos- OCEANA)).

8-Distribution :

Caulerpa racemosa est une espèce introduite originaire du Sud-Ouest de l'Australie (Verlaque et al., 2003). Elle a été observée pour la première fois en Méditerranée en 1990 devant le port de Tripoli en Libye (Nizamuddin, 1991). La présence de cette algue envahissante a été enregistrée devant les côtes de 14 pays Méditerranéens (Albanie, Algérie, Chypre, Croatie, Espagne, France, Grèce, Italie, Libye, Malte, Monténégro, Tunisie, Monaco et Turquie), et également dans l'Archipel des Canaries (Verlaque et al., 2000, 2005; Durand et al 2002; Piazzini et al 2005; Klein 2007; Cottalorda et al 2008).

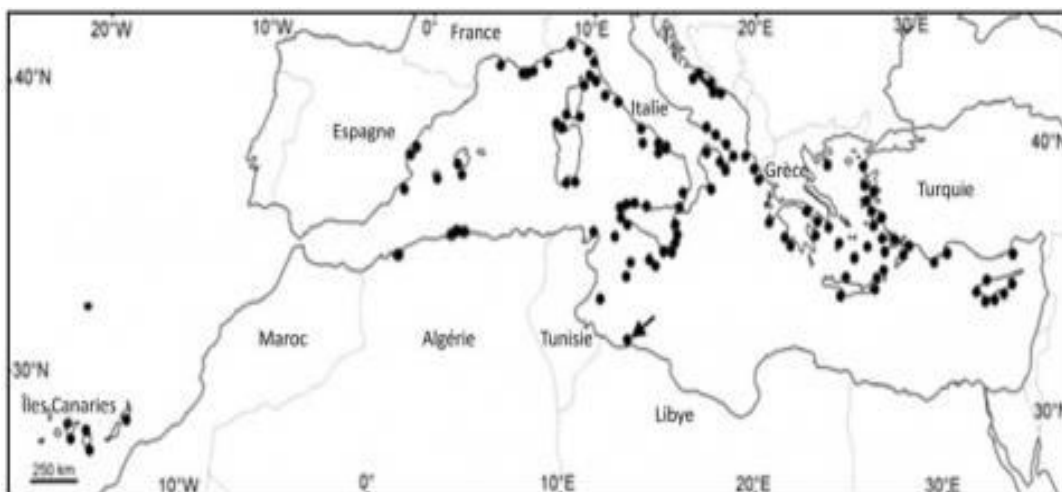


Figure 08 : Carte de la distribution de *Caulerpa racemosa* en Méditerranée et aux îles Canaries (VERLAQUE et al. (2004) ; PIAZZINI et al. (2005)).

En Algérie, l'espèce a été signalée pour la première fois en 2006 devant le Port d'Alger (Ould Ahmed et Meinesz, 2007).

De nos jours, elle a été identifiée dans neuf zones de la côte algéroise et dans deux autres à Mostaganem, sur la côte ouest algérienne. Cette algue est probablement bien distribuée sur le littoral algérien, mais peu d'informations émanent des régions ouest et est par rapport au centre du littoral algérien.

L'algue a été identifiée pour la première fois à Bou-Ismaïl en 2006 (Ould Ahmed et Meneisz, 2007). D'autres travaux ont permis de mentionner sa présence à Bordj El Kiffan à l'est d'Alger (Seridi, 2007) et dans différentes zones du littoral d'Alger (Lamouti et al., 2011).

Sur la côte ouest algérienne, BACHIR BOUIADJRA et ses collaborateurs déterminèrent la présence de plusieurs peuplements dans le golfe d'Arzew à Stidia et à proximité du port de Salamandre à l'Ouest de Mostaganem (Bachir Boudjra et al, 2010-a, 2010-b).

Elle présente des particularités qui la rendent très compétitive vis-à-vis des peuplements indigènes ; en effet, l'extrême rapidité de son expansion est attribuée à la diversité et l'efficacité de ces modes de reproduction, ainsi qu'à la synthèse de métabolites secondaires toxiques pour se défendre contre les espèces herbivores (Klein et Verlaque, 2008).

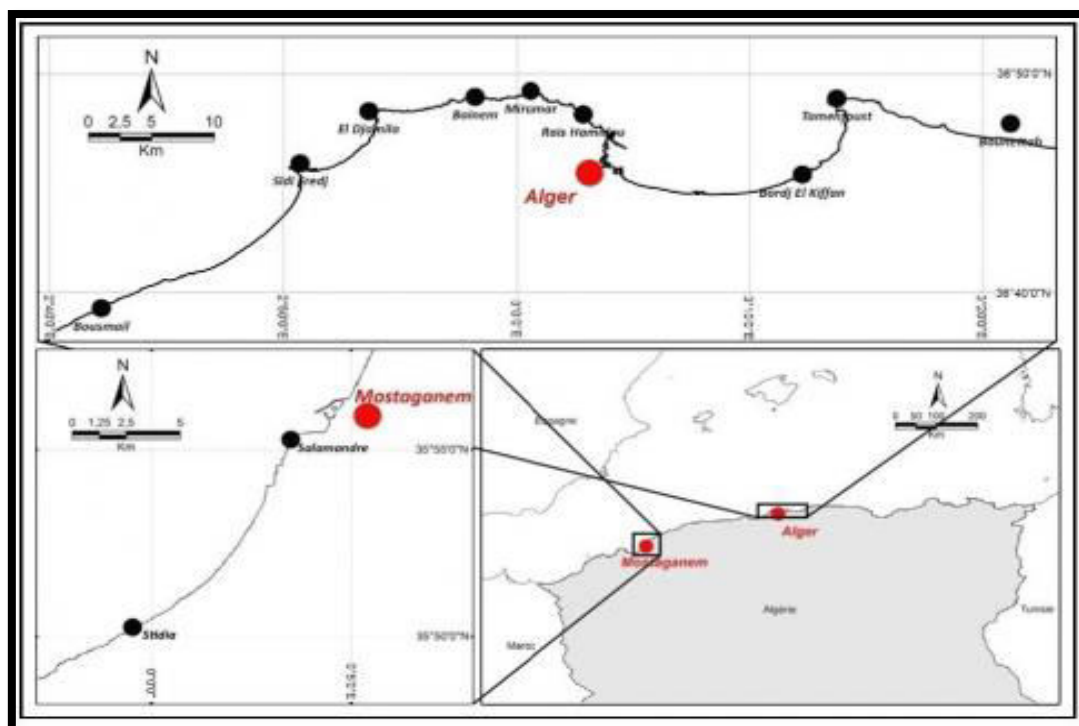


Figure 09 : Localisation géographique de *Caulerpa racemosa* sur le littoral algérien. (Bentaallah et Kerfouf, 2013).

9-Caractéristiques des populations de *Caulerpa racemosa* en Algérie:

Caulerpa racemosa a été rencontrée à des profondeurs allant de quelques centimètres jusqu'à 29 mètres, sur des substrats divers (dur, sableux, vaseux), entre les rhizomes de phanérogames marines, entre les algues médiolittorales inférieures et infralittorales supérieures, sur les mattes mortes et sur divers déchets solides.

L'espèce se trouve dans des zones où les activités de pêche et de plaisance sont très développées ce qui contribue donc très largement à sa propagation. La comparaison des données obtenues entre 2005 et 2010 indique une prolifération importante dans des zones où l'espèce était peu ou pas représentée (Lamouti, 2010).

Tableau 03 : Caractéristiques des colonisations de *Caulerpa racemosa* en Algérie.

(URL <http://journals.openedition.org/physio-geo/docannexe/image/3238/img-3.jpg>)

Localisation		Profondeur (m)	Substrat	Première observation *	Référence
Tamentfoust	Région centre	22	Sablo-vaseux	2005	S. LAMOUTI <i>et al.</i> , 2011
Sidi-Fredj		1-12	Vase, sable, herbier		
Rais Hamidou		1-17	Roche, galets, herbier	2006	
Miramar		29	Roche, herbier, sable		
Bainem		6	Roche, herbier		
El Djamila		8	Roche, herbier		
Bou Ismail		< 1	Roche		
Bou Ismail		0,5	-		
Tamentfoust		0,5			
Sidi-Fredj		3			
Bordj El Kiffan		< 1	-	2007	
Salamandre	Région ouest	0,5-0,8	Sable, roche	2008	B. BACHIR BOUIADJRA <i>et al.</i> , 2010-a et 2010-b
Stidia		0,3-0,5	Sable, roche		
Bounettah	Région centre	13	Sable	2009	S. LAMOUTI <i>et al.</i> , 2011

10-Habitat :

Caulerpa racemosa var. *cylindracea* colonise les habitats benthiques entre 0 et 40 m de profondeur (max. 70 m), à l'exception des herbiers denses de *Posidonia Oceanica* et des substrats meubles instables. Les écosystèmes pristines* (exemple : Parc National de Port-Cros) sont colonisés par cette espèce invasive au même titre que les écosystèmes plus ou moins dégradés.

11-Impacts et gestion :

Caulerpa racemosa var. *cylindracea* moins connue et moins médiatisée que *Caulerpa taxifolia* pose cependant de plus grands problèmes écologiques en Méditerranée (Klein & Verlaque, 2008). Bien que la biomasse de *Caulerpa taxifolia* soit plus grande par m² que celle de *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* cette dernière a une croissance plus grande, une distribution locale et en Méditerranée plus large (12 contre 7 pays) et une progression plus rapide. Actuellement, de grandes lacunes scientifiques existent sur cette espèce en France. L'impact de *C. racemosa* var. *cylindracea* sur la faune, la flore et les écosystèmes méditerranéens envahis va croître. Cependant, à ce jour l'effort de recherches entreprises en Méditerranée pour évaluer cet impact reste faible.



Figure 10 : *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* et *Caulerpa taxifolia* (Gravez et al, 2005).

Le seul fait d'avoir mesuré dans des sites distants de 300 km des densités extrêmement élevées de cette algue avec plus d'1 km de stolons rampants par m² de substrat

(Capiomont et al., 2005 et Ruitton et al., 2005) montre que cette « moquette » de végétation a tout le potentiel de créer un voile modifiant les échanges de gaz et de nutriments entre le sol marin envahi et la colonne d'eau. La méiofaune et la flore fixée sont ainsi potentiellement les plus impactés dans les zones très envahies.

La colonisation du substrat par *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* entraîne des changements des communautés benthiques en termes de diversité, d'abondance, et de dynamiques saisonnières de la flore (Klein & Verlaque 2008, 2009) et de la faune (Vázquez-Luis et al. 2009). La présence d'une matrice de *Caulerpa* modifie les paramètres physico-chimiques au niveau des sédiments (Piazzi et al. 2005). Une gestion de l'espèce n'est actuellement ni pratiquée ni envisagée.

Des études d'éradication en France et en Italie ont montré qu'une éradication manuelle était impossible (Klein & Verlaque 2008, 2011).

a-Impacts écologiques :

Lorsque *C. racemosa* var. *cylindracea* s'implante sur les fonds marins, ses axes rampants et ses rhizoïdes tissent rapidement une couverture compacte de 15 cm d'épaisseur qui piège les sédiments et stoppe la lumière. Le substrat devient peu à peu inaccessible aux autres organismes fixés, et en particulier aux autres macrophytes (Verlaque et Fritayre, 1994 ; Piazzi et al, 2001 b).

Une prairie monotone et pauvre en espèces, peut ainsi remplacer la vingtaine de communautés et de faciès dominés par des macrophytes existant généralement dans les petits fonds méditerranéens (Ceccherelli et al, 2001b ; Piazzi et al, 2001c,d, 2005b, 2007b, Piazzi and Cinelli, 2003 ; Balata et al, 2004 ; Piazzi and Ceccherelli, 2006 ; Cinelli et al, 2007 ; Klein, 2007 ; Klein and Verlaque, 2007).

Dans l'hypothèse où l'expansion de cette Caulerpe en méditerranée se poursuit, il ne peut être exclu qu'un certain nombre d'espèces de macrophytes de l'étage infralittoral (étage qui s'étend généralement de la surface à 30-40 m de profondeur et qui héberge la majeure partie de la biodiversité végétale) soit menacées de disparition à long terme. C'est le cas en particulier de plusieurs espèces du genre *Cystoseira* (Boudouresque et al, 1996b).

C. racemosa var. *cylindracea* pénètre également l'herbier à *Posidonia oceanica*, qui est l'un des écosystèmes les plus importants de méditerranée. Son installation y est toutefois moins rapide que dans les peuplements dominés par d'autres (macrophytes Rhodobiontes et Chlorobiontes). Elle ne semble coloniser que les zones les plus clairsemées de l'herbier et en s'implante que sporadiquement au sein de l'herbier denses (Ceccherelli et al, 2001b).



Figure 11 : *C. racemosa* var *cylindracea* et l'herbier à *Posidonia oceanica* (CMAOT ,2014b).

Colonisée par *C. racemosa*, *Cymodocea nodosa* présente une diminution de la densité de ses rhizomes et une augmentation de sa floraison (Ceccherelli et Campo, 2002).



Figure 12 : *C.racemosa* et *Cymodocea nodosa*. (Turkcoat magazine).

Pour une autre Magnoliophytes méditerranéenne, *Zostera noltii*, la colonisation par *C. racemosa* se traduit par l'accroissement de sa densité et du nombre de faisceaux fertiles (Ceccherelli et Campo, 2002). L'accroissement de l'effort de reproduction constitue, chez les Magnoliophytes, une réponse classique en situation de stress (Gravez et al, 2005).

Les fonds sédimentaires sans végétation sont également un milieu propice à la colonisation par *C. racemosa*. Son implantation peut provoquer de profondes modifications des caractéristiques du substrat tel que l'envasement, l'établissement des conditions anoxiques avec comme conséquences une modification de la faune endogée (Argyrou et al, 1999).

b-Impacts économiques :

Selon Gravez et al(2005) ; les filets calés dans les secteurs densément colonisés par *C.racemosa* var *cylindracea* se chargent de fragments de frondes et perdent ainsi de leur efficacité ; les poissons les voient et peuvent ainsi les éviter. Il sont en outre, rendus plus lourds à manipuler et leur nettoyage manuel, avec parfois nécessité d'un trempage, est rendu plus long, plus difficile et réduit leur durée de vie .Enfin , le temps nécessaire à ces manipulations réduit d'autant les temps effectifs de pêche.

But de l'étude :

Etudier de la cytotoxicité aigue de différents extraits de *Caulerpa racemosa* récoltée sur la côte de Mostaganem via le test «Brine shrimp».

1-Echantillonnage :

1-1-*Artemia salina* :

La souche d'*Artemia salina* a été collectée de la saline de Bethioua à Oran.

Présentation de la saline de Bethioua d'Arzew :

La saline a été exploitée depuis 1884 par la société française Nobel-Bozel et sa filiale Bozel-Maletra. Elle fut nationalisée en Février 1970, et est actuellement régie sous la direction de l'ENASEL. Ce salin est établi sur la rive sud de la dépression appelée « lac salé d'Arzew » d'une superficie de 2700 hectares. Les pluies d'hiver remplissent le lac et dissolvent la couche de sel qui en tapisse le sol.

La saline de Bethioua est éloignée de 15 Km de la côte méditerranéenne. Elle se situe à 20 Km au sud de la ville d'Arzew et à 50 Km du chef –lieu de la wilaya d'Oran. Elle se situe à une altitude de 58,6 km de la mer, à une latitude de 35°43' Nord et à une longitude de 00°08' Ouest.



Figure 13: Image satellite de la sebkha de Bethioua (Google Earth).

Des cystes ont été ramassés directement à différents points sur le rivage du bassin mère à l'aide d'une petite pelle et à la surface de l'eau en utilisant des tamis.



Figure 14: Le site de prélèvement de cyste d'*Artemia salina* de Bethioua.

1-2- *Caulerpa racemosa* var *cylindracea* :

La souche de *Caulerpa racemosaa* été collectée de la plage de salamandre à Mostaganem.

a- Le littoral de Mostaganem :

La wilaya de Mostaganem est située au Nord-Ouest du Territoire National et couvre une superficie de 2269 Km², avec une façade maritime de l'ordre de 120km Elle est limitée :

- A l'Est par la Wilaya de Chleff
- Au Sud par les Wilaya de Mascara et Relizane
- A l'Ouest par les Wilaya d'Oran
- Au Nord par la Mer Méditerranée

Mostaganem est une ville portuaire de la Méditerranée, Située à l'ouest de sa wilaya, à 363 Km à l'ouest d'Alger, à 89 Km à l'est Oran, à 48 Km d'Arzew et à 81 Km au nord de Mascara.

Mostaganem est située à 104 mètre d'altitude sur le rebord d'un plateau côtier, la ville contemple à l'ouest la large baie d'Arzew que termine le djebel Orousse.

b- la plage de salamandre :

Ce site se situe à 5 Km de la ville de Mostaganem ; possède un trait de côte de 4000 m. Salamandre est une plage à caractère rocheux, qui a une orientation vers l'ouest

(Coordonnées : 35° 55'N /0° 03'E).



Figure 15:Image satellite de La plage de salamandre.

(Google Earth).

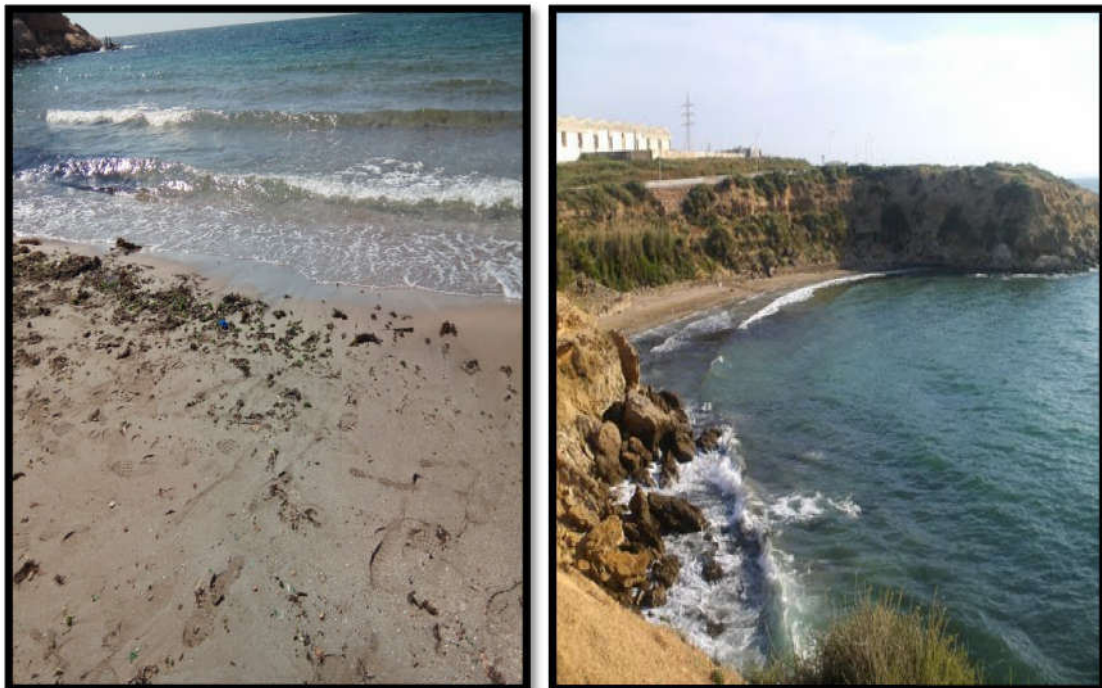


Figure 16:Le site de prélèvement de *Caulerpa racemosa* au niveau de la plage de salamandre.

2-Méthode de traitement des cystes :

Un traitement correct des cystes garantit une qualité maximale d'éclosion de cystes produits. Cette méthode de traitement comporte les étapes suivantes. (Sorgeloos et al, 1986):

2-1-Séparation selon le diamètre :

Cela implique l'élimination de débris (dont le diamètre est plus grand et plus petit que le diamètre des cystes tel que le sable, le bois et les plumes), en faisant passer le produit d'éclosion sur des Tamis de différents diamètres (1 mm, 2 mm, 0,25 mm).



Figure 17 : L'échantillon des cystes mélangé avec le sable.

Par la suite, 1 kg de sel dissout dans 4 litres d'eau douce est ajouté à l'échantillon des cystes mélangés avec le sable et les déchets. Les cystes vides et pleins flottent à la surface de l'eau salée.

2-2-Séparation selon la densité dans la saumure:

L'échantillon est mis dans une éprouvette remplie d'eau salée. Après 15 min de décantation, la différence de densité en eau douce permet la séparation les débris lourds, qui sédimentent au fond, des cystes et des débris légers qui surnagent à la surface de la saumure.

2-3-Lavage à l'eau douce :

Ce lavage a été effectué à travers un tamis de 2 mm et sous l'eau du robinet pour enlever tout le sel.



Figure 18 : Tamisage humide.

2-4-Séparation selon la densité dans l'eau douce :

Les cystes sont transférés dans une ampoule à décanter en verre contenant de l'eau. Pour désagréger les amas de cystes, l'aération doit être maintenue en continue. Les cystes pleins coulent au fond alors que les petits débris et les cystes vides flottent à la surface.

Cette séparation en eau douce ne doit pas être plus longue que 15 minutes, autrement les cystes vont atteindre le niveau d'hydratation qui met en route leur métabolisme.

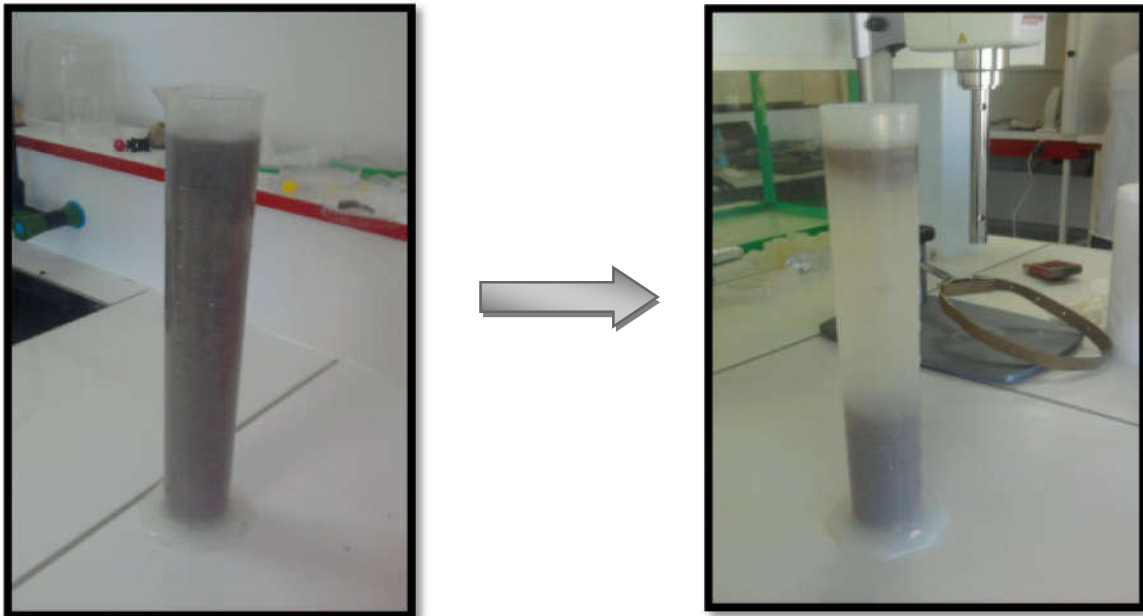


Figure 19: Séparation selon la densité dans l'eau douce après 15 minutes.

Matériels et méthodes

2-5-Séchage :

Après filtration, l'échantillon est séché (35 à 40C °) pendant 48 heures.

2-6-Conservation :

Les œufs d'*Artemia* sont conservés dans des récipients hermétiques.

3- Protocole d'éclosion des cystes d'*Artemia salina* (Sorgeloos et al, 1986) :

3-1-Hydratation :

Le temps d'hydratation est directement fonction de la salinité. Si, pour des raisons de facilité, on utilise couramment de l'eau de mer, il a été démontré qu'une éclosion en eau de mer diluée jusqu'à 5 %, est plus rapide et permet d'obtenir des nauplius à plus haute valeur énergétique.(Vanhaecke,1980).

Deux cent cinquante milligramme de cystes sont pesés et mis dans un récipient contenant 100 ml d'eau de mer filtrée. L'hydratation dure 2h avec une aération continue. (Figure 20).



Figure 20 : l'aération continue pendant 2heures.

3-2-Décapsulation :

La décapsulation consiste à détruire le chorion du cyste afin de diminuer les dépenses énergétiques utilisées pendant l'éclosion par le nauplius. Cette technique présente l'avantage d'accroître le pourcentage d'éclosion d'environ 5 %(Bruggeman et al, 1980).

Après 2 heures d'hydratation, l'eau contenant les cystes est filtrée puis le filtrat est versé dans de l'eau de javel et avec une aération continue et ce durant 15 min. Par la suite, on procède à une filtration et des lavages continus à l'eau douce. Enfin, les cystes ont mis dans un récipient contenant 100 ml d'eau de mer filtrée.

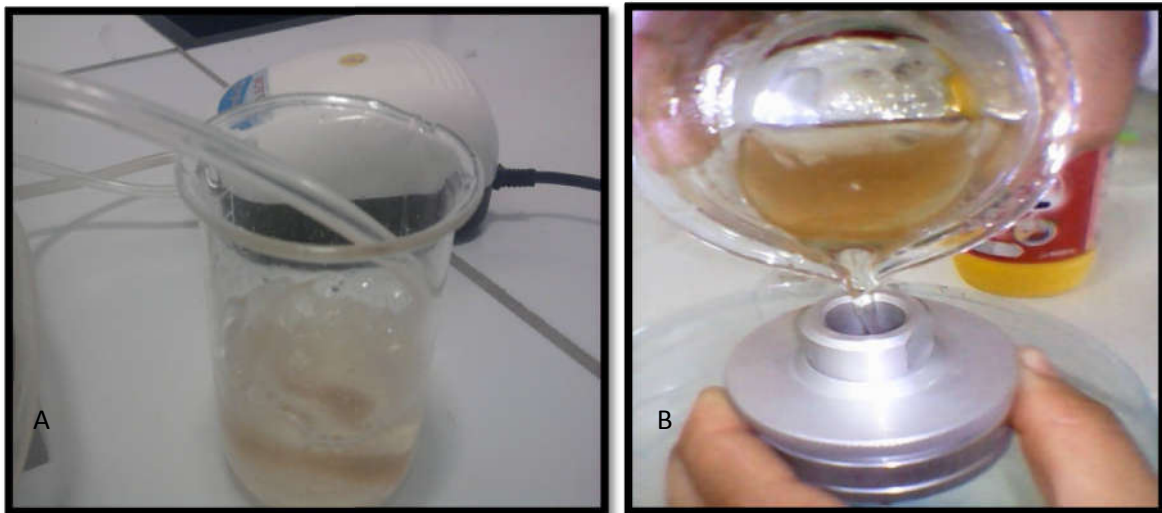


Figure 21: Décapsulation des cystes avec l'eau de javel (A) et filtration des cystes (B).

3-3-L'incubation :

Afin d'assurer une éclosion optimale des cystes, certaines conditions strictes doivent être respectées (**Lavens et Sorgeloos, 1996**), à savoir :

- 1) Une température maintenue entre 25 et 28°C.
- 2) Une salinité de 15 à 35 g/l.
- 3) Un pH aux environs de 8.
- 4) Une quantité d'oxygène de 2 mg/l au minimum, de préférence 5 mg/l.
- 5) Une densité maximale de cystes ne dépassant pas 2g/l.

6) Assurer une illumination constante de 1000 à 2000 lux. (Deux ampoules de 40 Watts sont suffisantes pour quatre récipients d'incubations) (**Granvil et Treece, 2000**).

La procédure standard employée est celle de **Sorgeloos et al. (1986)**. Elle consiste à incuber 250 mg de cystes dans un récipient cylindro-conique en verre, contenant 100 ml d'eau de mer naturelle filtrée (0,45 et 0,2 μ m). Les cystes doivent être maintenus en suspension en appliquant une aération par le fond du récipient. La température est maintenue à 26°C à 27°C, à l'aide d'un thermostat.

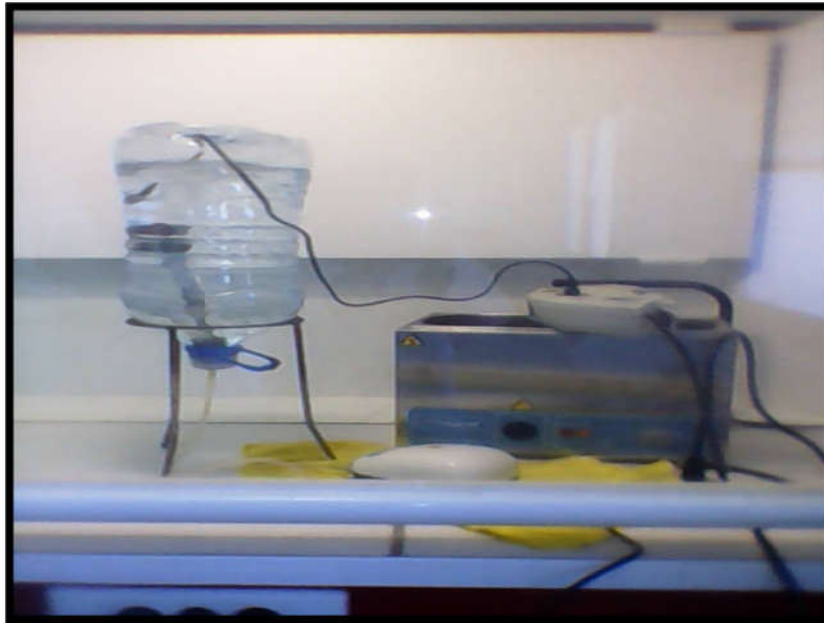


Figure 22: Incubation de cystes *d'Artemia Salina*.

4-Préparation des extraits de *Caulerpa racemosa var cylindracea* :

4-1- Principe et méthode de soxhlet :

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première.

Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvant passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'extracteur, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant (chauffé par les vapeurs se trouvant en dessous). Le solvant condensé s'accumule dans la pièce soxhlet jusqu'à atteindre le sommet du tube-siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites, et le solvant contenu dans le ballon s'enrichit donc progressivement en composés solubles.

Le solvant continue alors de s'évaporer, alors que les substances extraites restent dans le ballon (leur température d'évaporation doit être nettement supérieure à celle du solvant extracteur).



Figure 23 : L'appareil de Soxhlet.

4-2-L'extraction:

Dix grammes de l'algue verte séchée et broyée sont pesés et entassés dans une cartouche qui est déposée dans l'appareil Soxhlet. L'extraction a été effectuée séparément avec trois solvants: méthanol, chloroforme et hexane.



Figure 24 : *Caulerpa racemosa* séchée.

Après extraction, les différents solvants sont évaporés par passage dans un rotavapeur.

4-3- Calcul du rendement :

Après extraction, le rendement est calculé comme suit :

$$\text{Rendement (\%)} = (P_2 - P_1 / P_E) \times 100$$

P2 : poids de ballon plein.

P1 : poids de ballon vide.

PE : le poids d'échantillon.

5-Evaluation de la cytotoxicité aigue des extraits de *Caulerpa craemosa* : le « brine shrimp » test:

5-1- Principe:

Le test de létalité de la crevette de saumure (brine shrimp) *Artemia salina* a été développé pour les essais de toxicité de diverses concentrations d'extraits de plantes.

Le test est réalisé sur des larves de crevettes de saumure (*Artemia salina* Leach) selon la méthode de **Michael et al (1956)** reprise par **Vanhaecke et al (1982)** puis par **Sleet et Brendel (1983)**. De ce fait, les œufs d'*Artemia salina* sont incubés dans de l'eau de mer jusqu'à éclosion de jeunes larves (48heures). On prépare alors une série de solutions des substances à tester à des concentrations variables et progressives.

La plupart des expériences impliquant le test de létalité de la crevette de saumure pour l'évaluation de la toxicité des extraits de plantes comprennent une gamme de concentration de 10, 100et 1000 µg / ml. (**Parra et al., 2001**).

Un nombre défini de larve (n=10) est introduit dans chaque solution. Toutes les solutions ainsi que des solutions témoins ne contenant pas de substance active sont laissées sous agitation pendant 24 heures. Le comptage sous microscope du nombre de larves survivantes dans chaque solution permet d'évaluer la toxicité de la solution. Dans le cas où l'on constate des mortalités dans le milieu témoin, les données sont corrigées par la formule d'Abbott : **%mortalité = [(test – témoin)/témoin] x 100**

Les données (dose-réponse) sont transformées par logarithme et la CL 50 est déterminée par une régression linéaire.

5-2-Préparation d'extraits d'essai :

Des solutions mères d'extraits aqueux (10 000 µg / ml) ont été préparées dans de l'eau distillée. Les extraits organiques ont été dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) (**Dorin et al, 2001**).

Matériels et méthodes

A partir de la solution mère, plusieurs solutions filles sont préparées 10 µg / ml, 100 µg / ml et 1000 µg / ml.

5-3-Essai de létalité de crevette de saumure (BSLA) :

Des œufs / cystes de crevette (*Artemia salina*) ont éclos dans de l'eau de mer stérile (après incubation durant 24-48 heures sous illumination, à température ambiante (**Meyer et al, 1982**)). Les nauplii éclos ont été collectés en utilisant une pipette Pasteur. Dix nauplii ont été mis dans les tubes à essai pour chaque extrait (5 ml) à des concentrations de 10, 100 et 1000 ppm. Le test pour chaque concentration a été effectué en triplicata. En parallèle, des tubes témoins sont préparés avec uniquement du DMSO.

Le nombre de nauplii morts et vivants a été enregistré après 24 heures.

Les nauplii étaient considérés comme morts si aucun mouvement interne ou externe n'a été observé dans les 30 secondes. Le pourcentage de mortalité des crevettes salées et de la CL 50 (concentration létale médiane) a ensuite été calculé. Cela a été fait en traçant le pourcentage de mortalité contre le logarithme de la concentration de l'extrait. (**Meyer et al, 1982**)

La valeur de la CL 50 a été dérivée de l'équation de régression.

1- Éclosion d'*Artemia salina*

Les photos des figures 25, 26, 27, 28 et 29 représentent les différentes étapes d'éclosion des cystes d'*Artemia salina* collectés au niveau de la Sebkha de Bethioua.

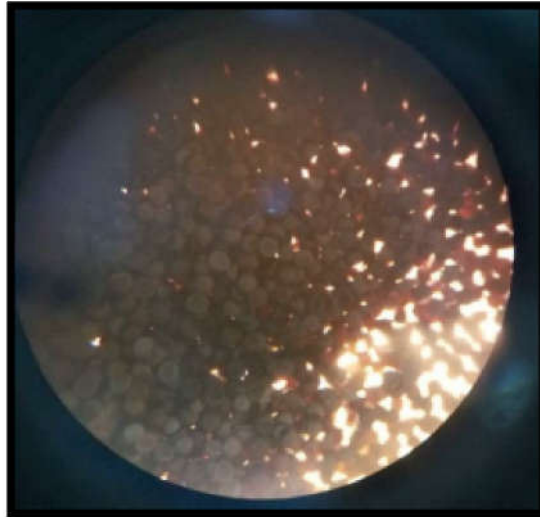


Figure 25: Cystes non hydratés sous binoculaire.

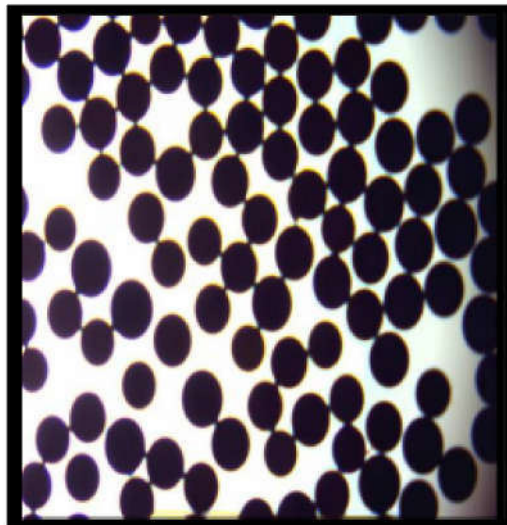


Figure 26 : Cystes hydratés sous microscope (X4).

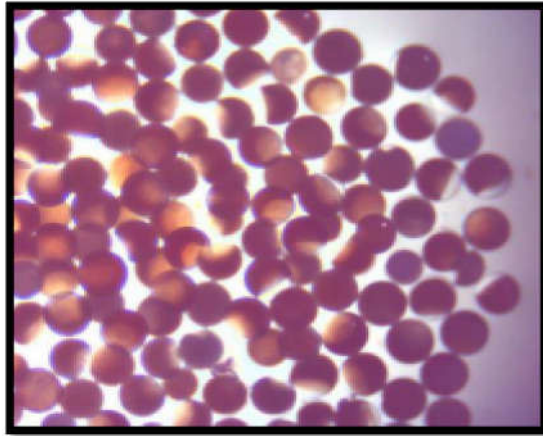


Figure 27 : Cystes décapsulés sous microscope (X4).

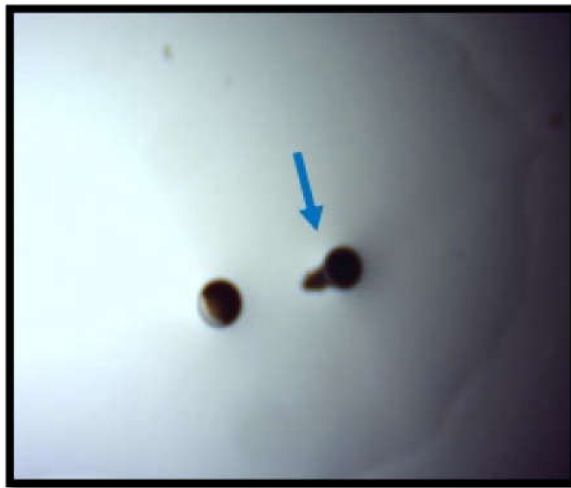


Figure 28: Début d'éclosion sous microscope (flèche) (X4).



Figure 29: Nauplii d'*Artemia salina*.

Résultats et Discussions

Artemia est l'un des organismes le plus disponible pour des essais d'écotoxicité et de toxicité. En effet, Ce test de crevette a été proposé par **Michael et al (1956)** et développé par **Vanhaecke et al. (1981)** et **Sleet et Brendel (1983)**.

Le test est considéré comme un outil utile pour l'évaluation préliminaire de la toxicité des extraits de plantes.

Le faible coût et la facilité d'exécution du test ainsi que la disponibilité commerciale d'œufs de crevette à faible teneur en saumure font du test de létalité de la crevette (BSLT) une méthode de laboratoire très utile.

Après 24-48h d'incubation dans de l'eau de mer, sous agitation, sous illumination et à température contrôlée, les cystes ont éclos et ont été utilisés pour le test de cytotoxicité. Ces étapes sont très importantes en vue d'obtenir des nauplii de stade I ou II efficaces pour le test BSLA (Brine shrimp letality assay) du fait de leur grande sensibilité (**Sorgeloos et al (1978)**). En effet, **Sorgeloos et al (1978)** recommandent l'utilisation de larves fraîchement éclos, autrement dit au stade I ou II, car au-delà de ces stades, *Artemia* est plus exigeante du point de vue nutritionnel ce qui implique l'apport alimentaire avant et durant le test, paramètre qui pourrait fausser les résultats.

2-Rendement d'extraction:

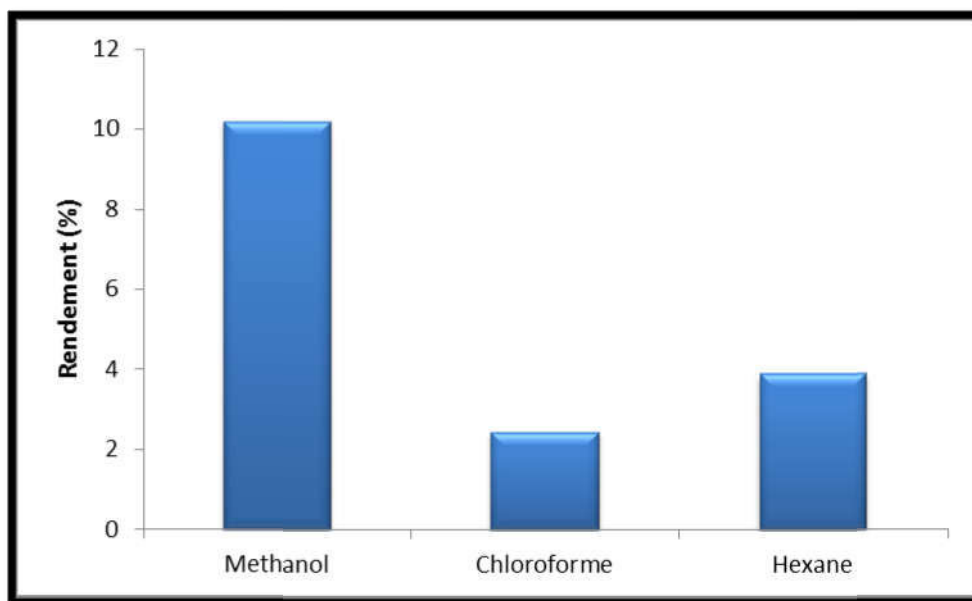


Figure 30 : Rendement de différents extraits de *Caulerpa racemosa*.

Le rendement le plus élevé est celui du méthanol qui était pratiquement 2,5 et 4 fois supérieur à celui du chloroforme et de l'hexane, respectivement. (figure30).

Résultats et Discussions

3-Test de cytotoxicité :

Dans cette expérimentation, les nauplii ont été exposées à trois différents extraits de *Caulerpa racemosa* à trois concentrations différentes. Les taux de mortalité des crevettes saumâtres ont été déterminés et enregistrés dans les 24 heures suivant l'exposition aux concentrations 10, 100 et 1000 ppm des trois extraits. L'eau de mer stérilisée additionnée de DMSO a été utilisée comme témoin négatif dans cette expérimentation.

Le pourcentage de mortalité des crevettes saumâtres augmentait après 24 heures d'exposition aux différents extraits. Le degré de létalité était directement proportionnel à la concentration de l'extrait aussi bien pour le chloroforme, l'hexane que le méthanol. En effet, les mortalités maximales des crevettes saumâtres se sont manifestées à 1000 ppm alors que les mortalités les plus faibles étaient à 10 ppm et ce pour les trois extraits étudiés.

Les valeurs de CL50 des extraits de *Caulerpa racemosa* ont été obtenues à partir de l'équation de régression des courbes du pourcentage de mortalité des nauplii de crevettes en fonction du logarithme des concentrations testées. Le calcul de la CL50 des extraits chloroforme et d'hexane, à partir de l'équation de régression des figures 31 et 32, respectivement, a démontré une CL50 supérieure à 1000 ppm pour les deux extraits.

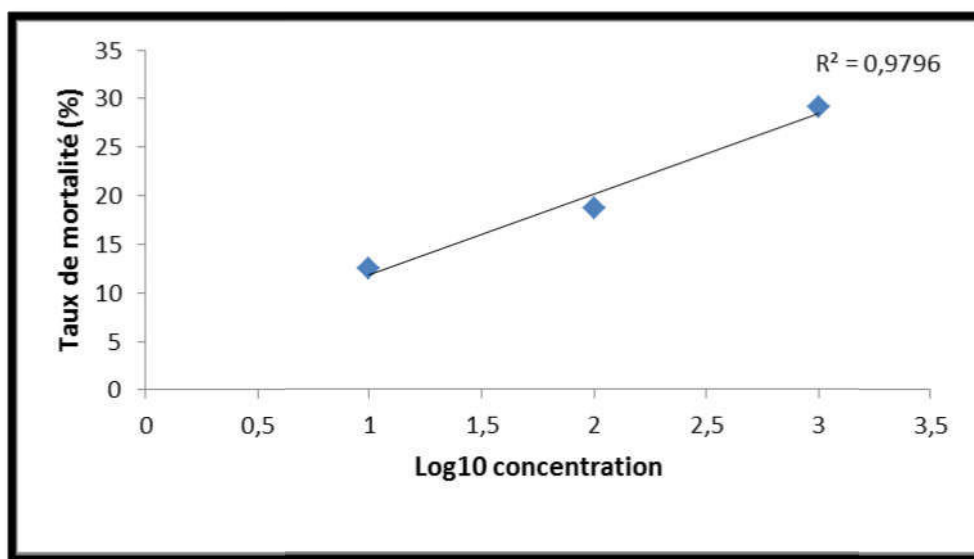


Figure 31 : Courbe représentant le pourcentage de mortalité d'*Artemia salina* en fonction de la concentration de l'extrait chloroforme.

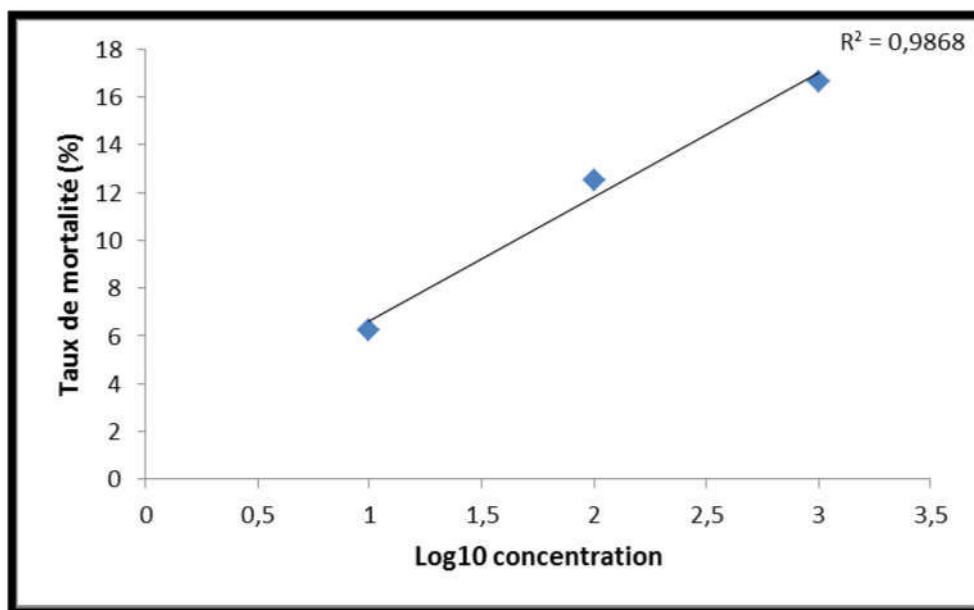


Figure 32 : Courbe représentant le pourcentage de mortalité d'*Artemia salina* en fonction de la concentration de l'extrait hexane.

La CL50 de l'extrait méthanolique, contrairement aux deux précédents extraits était très légèrement inférieure à 1000 ppm. En effet, la CL50 a atteint 954 ppm. (figure33).

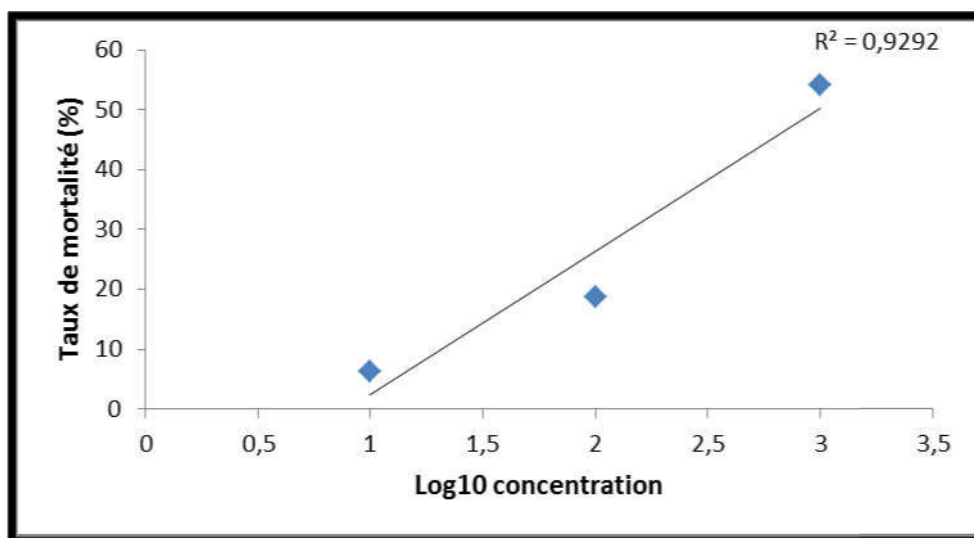


Figure 33 : Courbe représentant le pourcentage de mortalité d'*Artemia salina* en fonction de la concentration de l'extrait méthanol.

Résultats et Discussions

Contrairement aux extraits chloroforme et hexane dont la CL50 était largement supérieure à 1000 ppm, celle du méthanol est inférieure à 1000 ppm mais reste légèrement en dessous, ce qui signifie que cet extrait est très peu toxique selon les critères de Clarkson (**Hamidi et al, 2014**). Les critères de Clarkson sont largement plus détaillés et utilisés. Ils sont donnés comme suit: CL50 > 1000 µg / mL : non toxique, CL50 500-1000 µg / mL : faiblement toxique, LC50 100-500 µg / mL : moyennement toxique, et CL50 0-100 µg / mL est hautement toxique (**Hamidi et al, 2014 ; Rajabi et al, 2015 ; Gelano et Uy, 2016**).

Par contre celle de Meyer et al (1982) est plus restreinte : CL 50 <1000 µg / ml (ppm) est toxique, tandis que la CL 50 > 1000 µg / ml est non toxique.

Enfin, les extraits chloroforme et hexane sont considérés non toxiques ce qui indique l'absence de puissants composants cytotoxiques.

Conclusion

Dans la présente étude dont l'objectif est l'évaluation de la cytotoxicité de différents extraits de *Caulerpa raemosa*, *Artemia salina* a été utilisé durant l'essai de létalité de crevette de saumure (BSLA).

L'utilisation de trois concentrations différentes pour chacun des extraits a permis d'établir des courbes dont l'équation de régression a permis le calcul de la concentration létale CL50.

Les extraits chloroforme et hexane ne présentent aucune activité cytotoxique vis-à-vis des larves d'*Artemia*, leur CL50 étaient supérieures à 1000 ppm. L'extrait méthanolique présentait quant à lui une très légère toxicité, sa CL50 était très légèrement supérieure à 1000 ppm.

En conséquence, des études complémentaires sur la composition chimiques de ces extraits ont été réalisées en vue d'étudier les potentialités de cette algue qui a envahi notre côte.

Références bibliographiques

- ***Abatzopoulos, T.J., J. Beardmore., J. Clegg., P. Sorgeloos. 2010.** Artemia. Basic and applied biology. Kluw. Acad. Publ., 1: 286.
- ***Alongi, G., Cormaci, M., Furnari, G., Giaccone, G, 1993.** Prima segnalazione di *Caulerpa racemosa* (Chlorophyceae, Caulerpales) per le coste italiane. Bollettino de l'Accademia Gioenia di Scienze Naturali Catania 26 (342), 9–53.
- ***Amat, F, 1979.** Differentiation y distribution de las poblaciones Artemia (Crustaeo Branquipodo) de Espana. Ph.D. Thesis. Univ. Barcelona. Spain. 251.
- ***Argyrou M, Demetropoulos A , Hadji Christoph Orou M, 1999 .** The impact of *Caulerpa racemosa* on the macrobenthic communities in the coastal waters of Cyprus proceedings of the workshop on invasive *Caulerpa* in the Mediterranean .Heraklion, Crete, Greece, 18-20 March 1998. UNEP publ, Athens, Greece : 139 – 158.
- ***Bachir Bouiadjra B., Belbachir N., Benkada M.Y., Maarouf A. et Riadi H., 2010a .** Sur la présence de l'algue marine *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J, Agardh (Caulerpales, Chlorophyta) devant la côte Mostaganemoise (Ouest Algérie). Acta Botanica Malacitana, vol. 35, p. 1-7.
- ***Bachir Bouiadjra B., Taleb M.Z., Benkada M.Y., Maarouf A., Youcef M. et Riadi H. 2010-b ;** First record of the invasive alga *Caulerpa racemosa* (Caulerpales, Chlorophyta) in the Gulf of Arzew (western Algeria). Aquatic Invasions, vol. 5, suppl. 1, p. 97-101.
- ***Balata D, Piazzzi L, Cinelli F, 2004 .** A comparison among macroalgal assemblages in areas invaded by *Caulerpa taxifolia* and *C. racemosa* on subtidal Mediterranean reefs. PSZNI Marine Ecology 25: 1–13.
- ***Boudouresque C.F, 1999 .** Introduced species in the Mediterranean : routes, kinetics and consequences. Proceedings of the workshop on invasive *Caulerpa* in the Mediterranean. Heraklion, Crete, Greece, 18-20 March 1998. UNEP publ., Athens, Greece : 51-72.
- ***Boudouresque C.F., Van klaveren M.C., Van klaveren P., 1996b .** Proposal for a list of threatened or endangered marine and brackish species (plants, invertebrates, fish, turtles and mammals) for inclusion in appendices I, II and III of the Bern Convention. Council of Europe, Document S/TPVS96/TPVS48E, 96A : 1-138.
- ***Bruggeman, E., Sorgeloos, P., Vanhaecke, P, 1980.** Improvements in the decapsulation technique of *Artemia* cysts. In: The Brine Shrimp *Artemia*, Vol .3, Ecology, Culturing, Use in Aquaculture (Ed, by G. Persoone., P, Sorgeloos., O, Roels et E, Jaspers), pp. 261-269, Universa Press, Wetteren.
- ***Bruggeman E., P. Sorgeloos, P. Vanhaecke, 1980 .** Improvements in the decapsulation technique of Artem-ia cysts. In : the brine shrimp *Artemia*. Vol. 3. Ecology Culturing, Use in Aquaculture. Eds Persoone G., P. Sorgeloos, O.A. Roels, E. Jaspers, Universa Press, Wetteren (Belgium), 261-270.

Références bibliographiques

- *Camargo W. N, Ely J. S et Sorgeloos P, 2003 Morphometric characterization of thalassohaline *Artémia* Franciscana population from the Colombian. J. of biogeography, 30. P 697 -702.
- *Campbell DL, Lawton LA, Beattie KA, Codd GA, 1994. Comparative assessment of the specificity of the brine shrimp and Microtox assays to hepatotoxic (microcystin-LR containing) cyanobacteria. Environ Toxicol Water Qual 1994; 9: 71-77. Chemistry”, Elsevier, 383-409.
- *Capiomont A., Breugnot E., Den Haan M. and Meinesz A., 2005. *Caulerpa racemosa* in the northwestern Mediterranean sea. *Botanica Marina*, 48 : 80-83.
- *Carruthers, T.J.B., Walker, D.I., Huisman, J.M., 1993. Culture studies on two morphological types of *Caulerpa* (Chlorophyta) from Perth, Western Australia, with a description of a new species. *Botanica Marina* 36, 589–596.
- *Caumette P, 1998. Les bactéries halophiles : la vie dans les conditions extrêmes de salinité. C R Acad Agric Fr 84, p 11- 21.
- *Ceccherelli, G, Piazzì, L, 2001. Dispersal of *Caulerpa racemosa* fragments in the Mediterranean: lack of detachment time effect on Establishment. *Bot. Mar.* 44, 209-213.
- *Ceccherelli, G., Piazzì, L., 2001a. Dispersal of *Caulerpa racemosa* fragments in the Mediterranean: lack of detachment time effect on establishment. *Botanica Marina* 44, 209–213.
- *Ceccherelli G., Piazzì L., Cinelli F., 2001b. The development of *Caulerpa racemosa* at the margin of *Posidonia oceanica*. Fourth international workshop on *Caulerpa taxifolia*, GRAVEZ V., RUITTON S., BOUDOURESQUE C.F., LE DIREAC'H L., MEINESZ A., SCABBIA G., VERLAQUE M. edits., GIS Posidonie publ., Fr. : 376-384.
- *Ceccherelli G, et Campo D, 2002. Different Effects of *Caulerpa racemosa* on two Co-occurring seagrasses in the Mediterranean, *Botanica Marina* 45 :71-76.
- *Ceccherelli, G., Piazzì, L., Cinelli, F., 2000. Response of the non- indigenous *Caulerpa racemosa* (Forsska^ol) J. Agardh to the native seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile: effect of density of shoots and orientation of edges of meadows. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 243, 227–240.
- *Cinelli F, Balata D, Piazzì L ,2007. Threats to coralligenous assemblages: sedimentation and biological invasions. In: United Nations Environment Programme (ed), Proceedings of the 3rd Mediterranean Symposium on Marine Vegetation, Marseille, France, March 27–29, 2007. Regional Activity Centre for Specially Protected Areas, Tunis, Tunisia, pp 42–47.
- *Cottalorda, J.M., J. Gratiot, P.A. Mannoni & J. Vaugelas ,2008 . Evaluation cartographique de l’expansion des *Caulerpes* envahissantes le long du littoral Monégasque et

Références bibliographiques

de ses parages immédiat (Cap d'Ail-Cap Martin). Campagne 2006-2008. Accord RAMOGE et Université de Nice-Sophia Antipolis (E.A.4228 (ECOMERS) Publ.46p.

***Curto E.D, 2006** .Artemia, el camarón de la sal. En: Bañados del río Dulce y laguna Mar Chiquita (Córdoba, Argentina) (ed. Bucher E.H.), pp. 161-171. Academia Nacional de Ciencias (Córdoba, Argentina).

***Dhont .J et Vanstappen .G, 2003**. Biology, Tank production and national value of Artémia.

***Divanach, P., Kentouri. M., J. Paris, 1983**. Recherches sur la production exploitable au niveau aquacole dans les lagunes à Artemia salina. Acad. Sci. Paris., 296: 29-31.

***Dorin D, Le Roch K, Sallicandro P, Alano P, Parzy D, Poulet P, Meijer L, Doerig C, 2001**. Pfnek-1, a NIMA-related kinase from the human malaria parasite Plasmodium falciparum; biochemical properties and possible involvement in MAPK regulation. Eur J Biochem (2001); 268: 2600-2608.

***Durand, C., M. Manuel, C. F. Boudouresque , A. Meinesz, M. Verlaque & Y. Leparco ,2002**. Molecular data suggest a hybrid origin for the invasive Caulerpa racemosa (Caulerpa taxifolia, Caularpaceae, Chlorophyta) In the Mediterranean sea. Journal of Evolutionary Biology 15: 122- 133.

***Edgerton, M.E. et Brimblecome P, 1981**. Thermodynamics of halobacterial environments. Can J Microbiol 27, 899 -909.

***Emslie, S, 2003**. Artemia salina, version du 3 mars 2010.

***Fama` , P., Olsen, J.L., Stam, W.T., Procaccini, G, 2000**. High levels of intra-and inter-individual polymorphism in the rDNS ITS1 of Caulerpa racemosa (Chlorophyta). European Journal of Phycology 35, 349–356.

***Fama` , P., Procaccini, G., Mazzella, L, 2001**. Colonization of Caulerpa racemosa along the southern Italian coasts. II. First approaches to the study of genetic diversity. In: Gravez, V., Ruitton, S., Boudouresque, C.F., Le Direach, L., Meinesz, A., Scabbia, G., Verlaque, M. (Eds.), Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia. GIS Posidonie Publisher, Marseille, France, pp. 361–370.

***Finney D.J, 1971** . Probit analysis, 3 rd ed., Cambridge (1971).

***Ghomari Sidi Mohamed, Attou G, Honrotia F, Moncef M et Amat F, 2012**. Note sur la biographie de la diversité du genre Artémia dans la région ouest d'Afrique du nord. En Ecologia mediterranea. Vol 38(1), pp 29 -38.

***Giaccone, G., Di Martino, V, 1995a**. Le Caulerpe in Mediterraneo: un ritorno del vecchio bacino Tetide verso il dominio Indo-Pacífico. Biologia Marina Mediterranea 2 (2), 607–612.

***Goldsmith, 1952**. Fluctuation in chromosome number in *Artemia salina*. J. Morph. 91 (1) : 111-131.

Références bibliographiques

- ***Goldstein, M., Morall, S, 1970.** Gametogenesis and fertilization in *Caulerpa*. Annals of the New York Academy of Sciences 175, 660– 672.
- ***Granvil, D., Treece ,2000 .***Artemia* Production for Marine Larval Fish Culture. Southern Aquaculture Regional Center. SRAC Publication No. 702.
- ***Gravez V, Boudouresque C,F .et Ruitton S, 2005 .**Proposition d'une stratégie de contrôle des espèces envahissantes marines dans les eaux du Parc national de Port- Cros, illustrée par le cas de deux espèces de *Caulerpa*. GIS Posidonie et Parc national de Port-Cros publ, fr :1-68.
- ***Guiry, M.D., Guiry, G.M, 2007 .** AlgaeBase version 4.2. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 20 May 2007.
- ***Hamidi, M.R., Jovanova, B. & Panovska, T.K., 2014.** Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) model. Macedonian Pharmaceutical Bulletin, 60(1):9-18.
- Publisher, Marseille, France, pp. 12–18.
- ***Haddag M, 1991.** Contribution à l'étude d'une souche d'Artémia (*A.tunisiana*) endémique aux eaux de la saline de Bethiouah, Arzew-Algérie. Thèse de Magister.
- ***Hafner E, Heiner E, Noack E, 1871 .** *Arzneim-Forsch* 1977; 27.
- ***Harvey, W.H, 1858 .** *Phycologia Australica*: Vol. 1. pp. (i)-xi + v-viii (Index), Plates I-LX (with text). Lovell Reeve & Co., London, UK.
- ***Hentschel , 1968.**Successful inoculation of Artémia and production of cystes in man-made salterns in the Philippines :195-163 .
- ***Jousson, O., Pawlowski, J., Zaninetti, L., Meinesz, A., Boudouresque, C.F, 2001.** Intra-individual genetic polymorphism in *Caulerpa taxifolia* populations and related *Caulerpa* species. In: Gravez, V., Ruitton, S., Boudouresque, C.F., Le Direach, L., Meinesz, A., Scabbia, G., Verlaque, M. (Eds.), Fourth International Workshop on *Caulerpa taxifolia*. GIS Posidonie
- ***Kara M.H, 1994 .** Evaluation de la qualité de deux nouvelles souches d'Artémia du Nord-Est de l'Algérie.
- ***Kara M.H., Bengraïne K.A., Derbal F., Chaoui L. & Amarouyache M., 2004 .** Quality evaluation of a new strain of *Artemia* from Chott Merouane. *Aquaculture*, 235, 361-369.
- ***Klein J, 2007 .** Impact de *Caulerpa racemosa* var. *Cylindrea* (*Caulerpales*, chlorophyta) sur les communautés macrophytiques en Méditerranée nord- occidentale. Thèse de Doctorat, Université Aix Marseille II, France.315.
- ***Klein J, Verlaque M, 2007.** *Caulerpa racemosa* effect on macrophyte assemblages of dead *Posidonia* beds. In: United Nations Environment Programme (eds), Proceedings of the 3 rd Mediterranean Symposium on Marine Vegetation, Marseille, France, March

Références bibliographiques

27–29, 2007. Regional Activity Centre for Specially Protected Areas, Tunis, Tunisia, pp 78–82.

***Klein J. & Verlaque M, 2008** . The *Caulerpa racemosa* invasion: a critical review. *Marine Pollution Bulletin* 56: 205-225.

***Klein J. & Verlaque M, 2009** . *Hydrobiologia* 636: 369-378.

***Klein J.C. & Verlaque M, 2011** . *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 91: 117-125.

***Lavens ,P., et Sorgeloos,P, 1996** . Manuel on the production and use of Live Food for Aquaculture. FAO Technical Paper No.361. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome.

***Lavens P et Sorgelos P , 2000** . The history, present status and prospect of the availability of *Artémia* cystes for aquaculture. *Aquaculture*, 181, p 397 – 403.

***Lamouti S, 2010**. Contribution au développement de cartes biocénétiques dans la région centre de la côte algérienne par la combinaison de méthodes de télédétection et d'observation in situ. Mémoire de Magister, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB), Alger, 78 p.

***Lamouti S., Rebzani C. et Bachari N.E.I., 2011**. Répartition de deux espèces introduites à caractère invasif dans la région centre de la côte algéroise : *Caulerpa racemosa* et *Oculina patagonica*. Actes de la "Conférence Méditerranéenne Côtière et Maritime" (Tanger), 2^{ème} édition, p. 361-366, disponible en ligne sur <http://www.paralia.fr>. DOI:10.5150/cmcm.2011.075.

***Leach ,1819** .*Manual* for the *culture* and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture.

***Linnaeus, 1758**. World Register of Marine Species : espèce *Artemia salina*.

***Litchfield C.D, 1998**. Survival strategies for microorganisms in hypersaline environments and their relevance to life on early Mars. *Meteoritics and planetary Science* 33, p813-819 .

***Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E. & McLaughlin, J.L ,1982**. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medicinal Plant Research*, 45:31-34.

***Michael A.S, Thompson C.G, Abramovitz M, 1956**. *Science* (1956) 123:464.

***Michael D. Guiry, 2012** . « How many species of algae are there? », *Journal of Phycology*, vol. 48, n° 5, 2012, p. 1057.

***Milla T et Madani L, 2001** . Manuel pratique sur l'Artémia. CNDPA.

***Nizamudin, M. ,1991** . The Green Marine Algae of Libya. Elga. Publisher Bern.

Références bibliographiques

- *Nuber, N., Gornik, O., Lauc, G., Bauer, N., Z'uljevic', A., Papes', D., Zoldos', V, 2007. Genetic evidence for the identity of *Caulerpa racemosa* (Forsska'l) J. Agardh (Caulerpales, Chlorophyta) in the Adriatic Sea. *European Journal of Phycology* 42 (1), 113–120.
- *Ohba, H., Enomoto, S, 1987. Culture studies on *Caulerpa* (Caulerpales, Chlorophyceae) II. Morphological variation of *C. racemosa* var. *laetevirens* Under various culture conditions. *Japanese Journal of Phycology* 25, 178–188.
- *Ould-Ahmed, N. & A. Meinesz, 2007. First record of the invasive alga *Caulerpa racemosa* (Caulerpales, Chlorophyta) on the coast of Algeria. *Cryptogamie Algologie* 28 (3): 303-305.
- *Panayotidis, P., Zuljevic', A, 2001. Sexual reproduction of the invasive green alga *Caulerpa racemosa* var. *occidentalis* in the Mediterranean Sea. *Oceanologica Acta* 24 (2), 199–203.
- *Parra, L.A., Yhebra, R.S., Sardiñas, I.G., Buela, L.I., 2001. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD 50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. *Phytomed.* 8, 395-400.
- *Piazzì L., Balata D., Ceccherelli G., Cinelli F., 2005b. Interactive effect of sedimentation and *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* invasion on macroalgal assemblages in the Mediterranean Sea. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 64: 467-474.
- *Piazzì L., Balata D., Foresi L., Cristaudo C., Cinelli F., 2007b. Sediment as a constituent of Mediterranean benthic communities dominated by *Caulerpa racemosa* var *cylindracea*. *Science Marina* 71: 129-135.
- *Piazzì L, Ceccherelli G, 2006. persistence of biological Invasion effects : recovery of macro algal assemblages after removal of *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* .*Estuarine, Coastal and shelf Science* 68 : 455-461.
- *Piazzì, L., Ceccherelli, G., Balata, D., Cinelli, F., 2001d. Description des peuplements à *Caulerpa taxifolia* et à *Caulerpa racemosa* à Calafuria (Livorno, Italie). In: Gravez, V., Ruitton, S., Boudouresque, C.F., Le Direac'h, L., Meinesz, A., Scabbia, G., Verlaque, M. (Eds.), Fourth International Workshop on *Caulerpa taxifolia*. GISPosidonie Publ., Marseilles, France, pp. 345–348.
- *Piazzì L., Ceccherelli G., Cinelli F, 2001b. Threat to macro algal diversity: effects of the introduced green alga *Caulerpa racemosa* in the Mediterranean. *Marine Ecology Progress Series*, 210, 149–159.
- *Piazzì, L., Ceccherelli, G., Cinelli, F., 2001c. Expansion de *Caulerpa taxifolia* et de *Caulerpa racemosa* le long des côtes Toscannes (Italie), situation en 1998. In: Gravez, V., Ruitton, S., Boudouresque, C.F., Le Direac'h, L., Meinesz, A., Scabbia, G., Verlaque, M. (Eds.), Fourth International Workshop on *Caulerpa taxifolia*. GISPosidonie Publ., Marseilles, France, pp. 71–77.

Références bibliographiques

- ***Piazzì L, Cinelli F ,2003** . Evaluation of benthic macroalgal invasion in a harbour area of the western Mediterranean Sea. *European Journal of Phycology* 38: 223–231, doi:10.1080/1364253031000136358.
- ***Piazzì L. et, Cinelli F. 2005.** *Cryptogamie Algologie* 26 (2):189–202.
- ***Provasolil. K . Shiraichi, 1959.** Axenic cultivation of the brine shrimp *Artémia Salina* .*Boil. BULL.*117 :347 -355.
- ***Prud'homme van Reine, W.F., Verheij, E., Coppejans, E, 1996.** Species and ecads of *Caulerpa* (Ulvophyceae, Chlorophyta) in Malesia (South- East Asia): taxonomy, biogeography and biodiversity. *Aquatic Ecology* 30, 83–98.
- ***Renoncourt, L., Meinesz, A., 2002.** Formation of propagules on an invasive strain of *Caulerpa racemosa* (Chlorophyta) in the Mediterranean Sea. *Phycologia* 41, 533–535.
- ***Revièrs, B , 2002.** *Biologie et phylogénie des algues*, vol.1 : tome 1, Paris, Belin, coll. « Belin Sup Sciences / Biologie », octobre 2002, 352 p.
- ***Rodier. J, 1996.** *L'analyse de l'eau*, 8ème édition DUNOD, Paris, 1383 P.
- ***Ruitton S, Verlaque M and Boudouresque C-F., 2005.** Seasonal changes of the introduced *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* (Caulerpales, Chlorophyta) at the northwest limit of its Mediterranean range. *Aquatic Botany* 82 :55-70.
- ***Sato N.L., 1967.** Enzymatic contribution to the excystment of *Artemia salina* *Sci. Rep. Tohoku Univ.*, 33 (3-4) : 319-327.
- ***Sea, G, 2011.** (*Caulerpa racemosa*) [archive] Marine Species Identification Portal. Consulté le 2011-08-20.
- ***Seridi H., 2007.** Étude de la flore algale de l'Algérie, Étude phytosociologique des peuplements algaux photophiles de l'infralittoral superficiel de substrat dur. Thèse de Doctorat, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB), Alger, 174 p.
- ***Sleet R.B, Brendel K, 1983** . *Ecotoxicol Env Safety* (1983) 7, 435-446.
- ***Sonder, G, 1845.** *Nova algarum genera et species, quas in itinere ad oras occidentales Novae Hollandiae, collegit L. Priess, Ph. Dr. Botanische Zeitung* 3, 49–57.
- ***Sorgeloos ,P., Lavens,P., Leger,P., Tackaert,W., Versichele,D ,1986** .*Manuel for the culture and use of brine shrimp Artemia in aquaculture.* Artemia Reference Center, State Univ. Ghent, Belgium.319 pp.
- ***Sorgeloos, P.,Persoone, G.,Baeza-Mesa, M.,Bossuyt, P.,Bruggeman,E,1978.**The use of artemia cysts in aquaculture: the concept of "hatching efficiency" and description of a new method for cyst processing: 715-721. In: *Proc. 9 th Ann. Meetings WNS*, Avault,J.W.jr. (Ed .),Louisiana State University,Baton Rouge, U.S.A.,807 pp.

Références bibliographiques

- *Steven, W, 2005. Découvrir la mer Rouge et l'océan Indien, 2005 [détail des éditions], p. 87.
- *Vanhaecke P, Persoone G, Claus C, Soorgeloos P, 1981. Ecotoxicol Env Safety (1981) 5, 382-387.
- *Vanhaecke P., P. Sorgeloos, 1980 .International Study on Artemia. XIV Growth and survival of Artemia larvae of different geographical origin in a standard culture test. Mar. Ecol. Progr. Ser.
- *Vanhaecke,P., Sorgeloos,P , 1982. International study on *Artemia* . XVIII . The hatching rate of *Artemia* cysts – A comparative study. Aquacultural Eng. 1(4) :263-273.
- *Van Stappen G, 1997. Artemia. Introduction, Biology and Ecology of Artemia. FAO fisheries technical (361); p 79-106.
- *Van Stappen G et Sorgeloos P , 1993. The cosmopolitan brine shrimp, Aquaculture INFOFISB. International (4) ; p93.
- *Van stappen, G., Sorgeloos,P. 1996 . Guppy Laps e. Bulletin. April 2004 issue.
- *Vázquez-Luis M., Sanchez-Jerez P. & Bayle-Sempere J.T, 2009 . Estuarine, Coastal and Shelf Science 84: 161-170.
- *Verlaque, M. & C.F. Boudouresque, 2005 . Macrophytes introduites en Méditerranée: la part du trafic maritime. Cryptogamie Algologie 26 (2): 222-223.
- *Verlaque, M., C. F. Boudouresque, A. Meinesz & V. Gravez, 2000. The *Caulerpa racemosa* complex (Caulerpales, Ulvophyceae) in the Mediterranean Sea. Botanica Marina 43: 49-68.
- *Verlaque, M., C. Durand, J.M. Huisman, C.F. Boudouresque, Y. LE Parco ,2003 . On the identity and origin of the Mediterranean invasive *Caulerpa racemosa* (Caulerpales, Chlorophyta). European Journal of Phycology38: 325-339.
- *Verlaque M, et Fritayre P, 1994. Modification des caummunautés algales méditerranéennes et présence de l'algue envahissante *Caulerpa taxifolia* (vahl) C Agardh .Oceanologica Acta ,17(6) : 659-67.
- *Williams W. D, 1996. The largest, highest and lowest lakes of word : saline lakes. Verhandlungen der internationalen vereinigung fur limnologie (26) ; p 61-79.
- *Womersley, H.B.S, 1984. The Marine Benthic Flora of Southern Australia Part I. Adelaide, S.A. Government Printer. pp. 329.
- *Zuljevic´, A., Antolic´, B., 2000 . Synchronous release of male gametes of *Caulerpa*.