

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Abdelhamid Ibn Badis (Mostaganem)

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Mer et de l'Aquaculture

Laboratoire de physiologie animale appliquée

MEMOIRE PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME

DE MAGISTER EN SCIENCES DE LA MER

Option : Connaissance, Gestion et Valorisation de la biodiversité marine côtière

Présenté par: **DAHMOUNE Bouchra**

Thème

**Extraction et évaluation de l'activité biologique des saponines
(glycosides de stéroïde) de l'étoile de mer
Echinaster (Echinaster) sepositus (Retzius, 1783).**

La composition du jury de soutenance

| | | |
|----------------------------|-------------------------------------|---------------------|
| HALBOUCHE Miloud. | Pr. Université de Mostaganem | Président |
| BENAKRICHE Mohamed. | Dr. Université de Mostaganem | Examineur |
| CHADLI Rabah. | Dr. Université de Mostaganem | Examineur |
| MEZALI Karim. | Pr. Université de Mostaganem | Promoteur |
| BEKADA Ahmed M. A. | Pr. Université de Mostaganem | Co-promoteur |

Année universitaire : 2014-2015.

Remerciements

Au terme de ce travail, il m'est agréable de remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Mes remerciements vont particulièrement:

- Au **Pr. HALBOUCHE M**, pour le grand honneur qu'il nous a fait en présidant ce jury. Qu'il veuille bien trouver ici l'assurance de mes profondes estime.
- Au **Dr. BENAKRICHE M et Dr. CHADLI R**, d'avoir accepté d'être présents dans ce jury et d'apporter leurs critiques pertinentes et leurs suggestions. Merci pour votre grandeur scientifique et votre modestie.
- Au **Pr. Mezali K**, d'avoir proposé ce thème, d'avoir accepté de diriger ce travail qu'il trouve ici l'expression de mes sincères remerciements pour sa disponibilité ainsi que pour les précieux conseils qu'il m'a prodigués.
- Au **Pr. BEKADA A.M.A**, je tiens à lui exprimé ma reconnaissance d'avoir co-dirigé ce mémoire, il s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, il n'a jamais ménagé sa personne ni son temps pour le bon déroulement de ce travail.
- Au **Dr. DAHMOUNE A**, pour toute l'aide qu'elle m'a procurée en permettant de réaliser une partie de travail au sein de laboratoire de botanique médical, Merci pour votre soutien attentif et bienveillant.
- À toute l'équipe de laboratoire de Botanique Médicale et de Chimie Analytique, département de pharmacie, Université Mouloud Memmri de Tizi-Ouzou, en particulier **Dr. Mamou M**, Qu'ils trouvent ici mes respects les plus sincères.
- À toute l'équipe des laboratoires pédagogiques (de biochimies 3 et de microbiologie 1) de la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Abdelhamid Ibn Badis, de m'avoir soutenue et encouragée tout le long de mon travail.
- À toute l'équipe du laboratoire de recherche, Valorisation de Matériaux, Faculté des sciences de technologies, en particulier **Dr. Idou A.K**, (Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie) Pour leurs soutiens, leurs conseils et surtout leurs bonnes humeurs.
- À toute l'équipe du club de plongée (Pointe, Alger), qu'il trouve ici l'expression de ma profonde sympathie.

Un très grand merci à mes parents pour leurs innombrables sacrifices, à mes frères et sœurs pour leur soutien, à mon chère Karim qui a été toujours là pour me guider avec ces conseils, je le remercie pour sa patience et son calme, merci une autre fois. Merci de me comprendre même dans les moments les plus difficiles, sans vous je ne serais pas ce que je suis aujourd'hui. Merci une autre fois.

Pour finir, je prie Allah d'éclairer mes lanternes et de me guider dans le droit chemin pour les travaux futurs.

Merci à tous et à toutes.

| Liste des tableaux | Pages |
|--|--------------|
| Tableau 1: Caractéristiques des différents ordres des Asteroidea | 9 |
| Tableau 2: Substances actives isolées des espèces marines | 30 |
| Tableau 3: Différences structurelles entre les saponines des astéries et des holothuries | 44 |
| Tableau 4: Différences structurelles des saponines des astéries | 47 |
| Tableau 5: Propriétés fonctionnelles des saponines des astéries | 49 |
| Tableau 6: Caractéristiques des "étoiles de mer", <i>Echinaster sepositus</i> , <i>Ophidiaster ophidianus</i> , <i>Hacelia attenuata</i> et <i>Asterias rubens</i> | 54 |
| Tableau 7: Bibliographie des travaux relatifs à la macrofaune benthique de la baie d'Alger | 71 |
| Tableau 8: Situation géographique et les caractéristiques de site d'échantillonnage | 72 |
| Tableau 9: Diapositive expérimental du test d'hémolyse | 91 |
| Tableau 10: Caractères morphologiques et biochimiques des germes testés | 93 |
| Tableau 11: Variations mensuelles moyennes des poids corporels, de la longueur des bras, et de diamètre du disque central de la population d' <i>Echinaster sepositus</i> étudiés | 102 |
| Tableau 12: Hauteurs de mousse formée et valeurs de l'indice de mousse calculé | 104 |
| Tableau 13: Pourcentages d'hémolyse des globules rouges par les saponines d' <i>Echinaster sepositus</i> à 60 min et à 120 min | 108 |
| Tableau 14: Activité hémolytique des saponines d' <i>Echinaster sepositus</i> , concentration provoquant 50 % d'hémolyse à différents temps d'incubation | 116 |
| Tableau 15: Concentration des saponines qui provoquent la libération de 50% d'hémoglobines à différentes températures d'incubation | 123 |
| Tableau 16: Activité hémolytique des saponines d' <i>Echinaster sepositus</i> . À une concentration de 100 % et des températures de 37 °C, 45 °C | 125 |
| Tableau 17: Évaluation mensuelle de l'indice ganadosantique moyen pour l'ensemble de la population d' <i>Echinaster sepositus</i> étudiée | 130 |
| Tableau 18: Sensibilité des bactéries aux saponines d' <i>Echinaster sepositus</i> | 132 |
| Tableau 19: Taux de survie de <i>Staphylococcus aureus</i> en présence des saponines gonadiques d' <i>Echinaster sepositus</i> | 134 |

| Liste des figures | Pages |
|---|--------------|
| Figure 1: Divers types d'échinodermes: A: Crinoïde (<i>Comaster schlegelii</i>); B: Echinide (<i>Paracentrotus lividus</i>); C-D: Astérides (<i>Echinaster sepositus</i> , <i>Choriaster granulatus</i>); E: Ophiuride (<i>Ophioderma squamosissimus</i>); F: Holothuride (<i>Holothuria forskali</i>)... | 4 |
| Figure 2: <i>Hudsonaster</i> sp. Un astéroïde de l'Ordovicien | 6 |
| Figure 3 : Schéma représentatif des caractéristiques d'astéroïdea | 7 |
| Figure 4: Hypothèse phylogénétique des Astéries | 8 |
| Figure 5: Face orale et aborale des "étoiles de mer" | 13 |
| Figure 6: Les pieds ambulacraires des "étoiles de mer" | 14 |
| Figure 7: Podia tactiles et tâche oculaire à l'extrémité d'un bras d'une astérie | 15 |
| Figure 8 : Tégument des "étoiles de mer" | 17 |
| Figure 9: Organisation des plaques dermiques chez les "étoiles de mers".. | 19 |
| Figure 10: Appareil digestif des "étoiles de mer" | 20 |
| Figure 11: Système ambulacraire des "étoiles de mer" | 22 |
| Figure 12: Gonade de l'"étoile de mer" <i>Echinaster sepositus</i> | 23 |
| Figure 13: Premières molécules naturelles marine | 29 |
| Figure 14: Distributions des produits naturels marins par phylums | 29 |
| Figure 15: Molécule d'origine marine mise sur le marché, Trabectédine (yondelis)..... | 32 |
| Figure 16: Molécule d'origine marine mise sur le marché, Ziconotide (prialt) | 32 |
| Figure 17: Caractère amphotère des saponines | 33 |
| Figure 18: Structure moléculaire des saponines | 34 |
| Figure 19: Représentation schématique des différentes parties des saponines | 35 |
| Figure 20: Glycosides de triterpène. A: β -Amyrin type (oleananes); B: Amyrin type (ursanes); C: Lupeol type (lupane) | 36 |
| Figure 21: Glycosides stéroïdes. A: Cholestan, B: Spirostan, C: Furostan. | 36 |
| Figure 22: Représentation conventionnelle des glycosides stéroïdes d'alcaloïdes. A: Solanide, B: Spirostan | 37 |
| Figure 23: Représentation schématique de la biosynthèse des stéroïdes et des triterpénoïdes | 38 |
| Figure 24: Structure moléculaire de cholestérol et de l'ergostérol | 39 |
| Figure 25: Modèle schématique des mécanismes moléculaires des activités des saponines sur les membranes | 40 |
| Figure 26: Substitution des fonctions hydroxyle sur l'aglycone | 46 |
| Figure 27: Sepositoside A, saponine d' <i>Echinaster sepositus</i> | 50 |
| Figure 28: Glycone des saponines mineures d' <i>Echinaster sepositus</i> | 51 |
| Figure 29: Les étoiles de mer rouge | 53 |
| Figure 30: Circulation globale en Méditerranée | 61 |
| Figure 31 : Localisation de la côte Algéroise | 62 |
| Figure 32: Délimitation de la baie d'Alger | 63 |
| Figure 33: Carte bathymétrique de la baie d'Alger..... | 64 |
| Figure 34: Carte sédimentaire de la baie d'Alger..... | 65 |

| Liste des figures | Pages |
|--|--------------|
| Figure 35: Bilan des courants de dérive littoral et dynamique sédimentaire dans la baie d'Alger | 69 |
| Figure 36: Rejets d'eaux usées dans la baie d'Alger | 70 |
| Figure 37: Localisation de la station de prélèvement | 73 |
| Figure 38: Photos d' <i>Echinaster sepositus</i> fournies par le MATEV | 75 |
| Figure 39: Les étapes de vérification taxonomique effectuées par WoRMS | 77 |
| Figure 40: Mesures effectuées sur l'"étoile de mer" <i>Echinaster sepositus</i> . | 78 |
| Figure 41: Dissection de l'"étoile de mer" et différents compartiments anatomiques isolés | 79 |
| Figure 42: Procédure générale d'extraction et de purification des saponines | 81 |
| Figure 43: Broyage, filtration et évaporation des extraits | 82 |
| Figure 44: Purification des extraits de saponine d' <i>Echinaster sepositus</i> sur la base de séparation densitométrique | 84 |
| Figure 45: Purification des extraits de saponines d' <i>Echinaster sepositus</i> .A: Chromatographie liquide, B : séparation avec l'iso-butanol .. | 86 |
| Figure 46: Saponification des extraits de saponine au cours de l'évaporation | 87 |
| Figure 47: Test de saponification des extraits des saponines d' <i>Echinaster sepositus</i> | 87 |
| Figure 48: Test d'hémolyse des extraits de saponine sur les érythrocytes des souris | 90 |
| Figure 49: Préparation de l'inoculum bactérien | 95 |
| Figure 50: Activité antibactérienne des extraits des saponines | 98 |
| Figure 51: Caractéristiques de l'"étoile de mer" <i>Echinaster sepositus</i> | 100 |
| Figure 52: Saponification des extraits des saponines d' <i>Echinaster sepositus</i> | 103 |
| Figure 53: Cinétique d'hémolytique produite par les saponines obtenues à partir d' <i>Echinaster sepositus</i> . Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation: 5 min, 10 min, 20 min, 40 min, 60 min, 80 min, 100 min et 120 min. pH= 7.4. La concentration est de 50 %.. | 105 |
| Figure 54: Pourcentages d'hémolyse provoqués par les saponines d' <i>Echinaster sepositus</i> . Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation: 5 min, 10 min, 20 min, 40min, 60 min, 80 min, 100 min et 120 min. pH= 7.4. La concentration est de 50% | 106 |
| Figure 55: Pourcentages d'hémolyse provoqués par l'extrait de saponine obtenue à partir des gonades d' <i>Echinaster sepositus</i> . Les globules rouges des souris sont employés à 2 %, pH=7.4. Les concentrations utilisées sont de 25 %, 50 %, 75 % et 100 % | 109 |
| Figure 56: Pourcentages d'hémolyse provoqués par l'extrait de saponine obtenue à partir du tégument aboral d' <i>Echinaster sepositus</i> . Les globules rouges des souris sont employés à 2 %, pH=7.4. Les concentrations utilisées sont de 25 %, 50%, 75% et 100% | 110 |

Liste des figures

Pages

| | |
|--|-----|
| Figure 57: Pourcentages d'hémolyse provoqués par l'extrait de saponine obtenue à partir du tégument oral d' <i>Echinaster sepositus</i> . Les globules rouges sont employés à 2 %, pH=7.4. Les concentrations utilisées sont de 25 %, 50%, 75% et 100% | 111 |
| Figure 58: Pourcentages d'hémolyse provoqués par l'extrait de saponine obtenue à partir d'estomac d' <i>Echinaster sepositus</i> . Les globules rouges des souris sont employés à 2 %, pH=7.4. Les concentrations utilisées sont de 25 %, 50%, 75% et 100% | 112 |
| Figure 59: Pourcentages d'hémolyse provoqués par l'extrait de saponine obtenue à partir des caeca pyloriques d' <i>Echinaster sepositus</i> . Les globules rouges des souris sont employés à 2 %, pH=7.4. Les concentrations utilisées sont de 25 %, 50%, 75% et 100% | 113 |
| Figure 60: Pourcentages d'hémolyse provoqués par les extraits de saponine d' <i>Echinaster sepositus</i> . Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation: 60 min, 80min. pH= 7.4. Les concentrations sont de: 25%, 50%,75%,100% | 114 |
| Figure 61: Pourcentages d'hémolyse provoqués par les extraits de saponine d' <i>Echinaster sepositus</i> . Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation: 60 min, 80min. pH= 7.4. La concentration est de 50% | 117 |
| Figure 62: Activité hémolytique de l'extrait de saponine obtenue à partir des gonades d' <i>Echinaster sepositus</i> . Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation 60min. pH= 7.4. Les concentrations sont de 25 %, 50%, 75%, 100% | 118 |
| Figure 63: Activité hémolytique de l'extrait de saponine obtenu à partir du tégument aboral d' <i>Echinaster sepositus</i> . Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation : 60min. pH= 7.4. Les concentrations sont de 25 %, 50%, 75%, 100% | 119 |
| Figure 64: Activité hémolytique de l'extrait de saponine obtenue à partir du tégument oral d' <i>Echinaster sepositus</i> . Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation : 60min. pH= 7.4. Les concentrations sont de 25 %, 50%, 75%, 100% | 120 |
| Figure 65: Activité hémolytique de l'extrait de saponine obtenue à partir d'estomac d' <i>Echinaster sepositus</i> . Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation: 60min. pH= 7.4. Les concentrations sont de 25 %, 50%, 75%, 100% | 121 |
| Figure 66: Activité hémolytique de l'extrait de saponine obtenue à partir des caeca pyloriques d' <i>Echinaster sepositus</i> . Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation: 60min. pH= 7.4. les concentrations sont de 25 %, 50%, 75%, 100% | 122 |
| Figure 67: Pourcentages d'hémolyse provoqués par les extraits des saponines d' <i>Echinaster sepositus</i> . Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation: 60 min, 80min. pH= 7.4. La concentration est de 100% | 124 |
| Figure 68: Pourcentages d'hémolyse provoqués par les différents extraits des saponines d' <i>Echinaster sepositus</i> . pH= 7,4. la oncentration est de 100 % (extrait brut), temps d'incubation est de 60 min | 126 |

| Liste des figures | Pages |
|--|--------------|
| Figure 69: Pourcentages d'hémolyse provoqués par les saponines des gonades d' <i>Echinaster sepositus</i> | 128 |
| Figure70: Variance mensuelle de l'ndice gonadosomatique de la population d' <i>Echinaster sepositus</i> étudiée. | 129 |
| Figure 71: Inhibition de prolifération de staphylococcus aureus par les saponines gonadiques d' <i>Echinaster sepositus</i> | 133 |

Liste des abréviations

| | |
|--------------|--|
| AMM | Autorisation de Mise sur le Marché |
| BN | Bouillon Nutritif |
| BW | Eau de Fond |
| CHU | Centre hospitalo-universitaire |
| CMI | Concentration Minimal inhibitrice |
| CIW | Cretan Intermediate Water (Eau de Crétoise Intermédiaire) |
| CP | Caeca pylorique |
| DMSO | Diméthylsulfoxyde |
| E | Estomac |
| DW | Deep Water (Eau Méditerranéenne Profonde) |
| EMDW | Eastern Mediterranean Deep Water (Eau profonde du bassin Est Méditerranéenne) |
| WoRMS | Registre mondial des espèces marines |
| ERMS | Registre européen des espèces marines |
| GN | Gélose Nutritif |
| G | gonade |
| HCl | Acide Chlorhydrique |
| LC | Chromatographie liquide |
| LIW | Levantine Intermediate Water (Eau Intermédiaire Levantine) |
| LEM | Laboratoire d'Étude Maritime |
| MATEV | Ministère de l'Aménagement du Territoire, de l'Environnement et de la Ville |
| MAW | Modified Atlantic Water (Eau Modifiée d'origine Atlantique) |
| MH | Gélose de Muller Hinton |
| N-E | Nord-Est |
| N° | Nombre |
| O-SO | Ouest-sud Ouest |
| O-SO | Ouest –Sud Ouest |
| PBS | Tampon Phosphate Salin |
| pH | potentiel hydrogène |
| PSU | unité de salinité pratique |
| S-SE | Sud-Sud Est |
| SO-NE | Sud Ouest-Nord Est |
| Tab | Tégument aboral |
| TO | Tégument oral |
| TDW | Tyrrhenian Dense Water (Eau Dense Tyrrhénienne) |
| UFC | Unité Formant Colonies |
| VHI | Virus de l'Immunodéficience Humaine |
| WMDW | Winter Mediterranean Deep Water (Eau Profonde du bassin Ouest Méditerranéen) |
| WIW | Winter Intermediate Water (Eau Hivernale Intermédiaire) |

Liste des symboles

| Symbole | Définition | Dimension |
|---------|---|-------------------|
| df | Densité optique de la solution expérimentale ensemencée avant incubation | nm |
| di | Densité optique de la solution expérimentale ensemencée après incubation | nm |
| D | densité | g/cm ³ |
| Df | Densité optique de la solution témoin avant incubation | nm |
| Di | Densité optique de la solution témoin avant incubation | nm |
| HI | Indice hémolytique | % |
| IGS | Indice gonadosomatique | % |
| IGM | Indice gonadosomatique moyen | |
| IM | Indice de mousse | % |
| P | Pourcentage des saponines dans la solution | % |
| Pgo | Poids des gonades | g |
| Pt | Poids corporel total | g |
| r | Rayon du disque central | cm |
| R | Longueur des bras | cm |
| R/r | Rapport entre la longueur des bras et le rayon du disque central | cm |
| s | Volume de la solution des saponines | ml |
| S | Taux de survie | % |
| V | Volume totale de la solution dans le tube | ml |

Liste des formules

| | pages |
|---|-------|
| (1) Calcul de l'indice gonado-somatique | 80 |
| (2) Calcul de l'indice de mousse | 88 |
| (3) Calcul de l'indice hémolytique | 89 |
| (4) Calcul de taux de survie | 97 |

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Liste des symboles

Liste des formules

| | |
|----------------------------------|---|
| <u>Introduction</u> | 1 |
|----------------------------------|---|

Partie I: Synthèse documentaire

| | |
|--|----|
| <u>I. Les échinodermes, Asteroidea</u> | 3 |
| <u>I.1. Les échinodermes</u> | 3 |
| I.1.1. <u>Généralité sur les échinodermes</u> | 3 |
| I.2.2. <u>Morphologie externe et anatomie des échinodermes</u> | 5 |
| <u>I.2. Classe des Asteroidea</u> | 6 |
| I.2.1. <u>Généralité</u> | 6 |
| I.2.2. <u>Classification</u> | 7 |
| I.2.3. <u>Écologie des Astérides</u> | 10 |
| I.2.3.1. <u>Distribution et densité des astérides</u> | 10 |
| I.2.3.2. <u>Prédation et mode de défense</u> | 10 |
| I.2.3.3. <u>Comportement</u> | 11 |
| <u>I.3. Morphologie externe et interne d'une "étoile de mer"</u> | 12 |
| <u>I.3.1. Morphologie externe</u> | 12 |
| <u>I.3.1.1 Tégument</u> | 16 |
| I.3.1.1.1. <u>Couleur du tégument et pigments</u> | 16 |
| I.3.1.1.2. <u>Appendices du tégument</u> | 16 |
| I.3.1. 2. <u>Endosquelette</u> | 18 |
| <u>I.3.2. Organisation interne</u> | 20 |
| I.3.2.1. <u>Système digestif</u> | 20 |
| I.3.2.1.1. <u>Nutrition</u> | 21 |
| I.3.2.2. <u>Cavités coelomiques</u> | 21 |
| I.3.2.3. <u>Système ambulacraire</u> | 21 |
| I.3.2.4. <u>Organes génitaux</u> | 23 |
| I.3.2.4.1. <u>Reproduction</u> | 24 |
| I.3.2.5. <u>Système nerveux, sanguin et endocrinien</u> | 25 |
| <u>I.4. Rôle écologique, biologique et pharmaceutique des "étoiles de mer"</u> .. | 26 |
| I.4.1. <u>Rôle écologique</u> | 26 |
| I.4.2. <u>Rôle biologique</u> | 26 |
| I.4.3. <u>Rôle pharmaceutique</u> | 27 |
| <u>I.5. Pêche, commercialisation et consommation</u> | 27 |
| <u>II. Substances marines actives</u> | 28 |
| <u>II.1. Généralité</u> | 28 |

| | |
|--|----|
| <u>II.2. Saponines</u> | 32 |
| <u>II.2.1. Définition et structure des saponines</u> | 33 |
| <u>II.2.2. Classification des saponines</u> | 35 |
| <u>II.2.3. Biosynthèse des saponines</u> | 37 |
| <u>II.2.4. Propriétés des saponines</u> | 39 |
| <u>II.2.5. Activités des saponines</u> | 39 |
| <u>II.2.5.1. Activité membranolytique</u> | 39 |
| <u>II.2.5.2. Activités pharmacologiques</u> | 41 |
| <u>II.2.5.2.1. Activité hémolytique</u> | 41 |
| <u>II.2.5.2.2. Activité antitumorale</u> | 41 |
| <u>II.2.5.2.3. Activité antifongique</u> | 41 |
| <u>II.2.5.2.4. Activité antivirale</u> | 42 |
| <u>II.2.5.2.5. Activité antibactérienne</u> | 42 |
| <u>II.2.5.3. Activité cytotoxique</u> | 42 |
| <u>II.2.6. Saponines des plantes</u> | 43 |
| <u>II.2.7. Saponines des échinodermes</u> | 43 |
| <u>II.2.7.1. Saponines des holothuries</u> | 45 |
| <u>II.2.7.2. Saponines des astéries</u> | 45 |
| <u>II.2.7.2.1. Propriétés biologiques et pharmacologiques des saponines des astéries</u> | 48 |
| <u>I.2.7.2.2. Saponines d'<i>Echinaster sepositus</i></u> | 50 |

Partie II: Matériels et Méthodes

| | |
|--|----|
| <u>I. Matériel biologique</u> | 52 |
| <u>I.1. L'"étoile de mer" <i>Echinaster sepositus</i></u> | 52 |
| <u>I.1.1. Caractères permettant l'identification d'<i>Echinaster sepositus</i></u> | 57 |
| <u>II. Zone d'étude</u> | 59 |
| <u>II.1. Caractéristiques de la méditerranée</u> | 59 |
| <u>II.1.1. Circulation océanique générale et les principales masses d'eau dans le bassin méditerranéen</u> | 59 |
| <u>II.2. Caractéristiques de la zone d'étude</u> | 61 |
| <u>II.2.1. Baie d'Alger</u> | 61 |
| <u>II.2.1.1. Situation géographique</u> | 63 |
| <u>II.2.1.2. Bathymétrie de la baie d'Alger</u> | 63 |
| <u>II.2.1.3. Sédimentologie</u> | 64 |
| <u>II.2.1.4. Réseau hydrographique</u> | 65 |
| <u>II.2.1.5. Facteur météorologique</u> | 66 |
| <u>II.2.1.6. Facteurs hydrodynamiques</u> | 67 |
| <u>II.2.1.6.1. Houles</u> | 67 |
| <u>II.2.1.6.2. Courants</u> | 67 |
| <u>II.2.1.7. Origine des masses d'eau de la baie d'Alger</u> | 69 |
| <u>II.2.1.8. Source de pollution</u> | 69 |
| <u>II.2.1.9. Macrofaune benthique de la baie d'Alger</u> | 70 |
| <u>II.3. Localisation de station de prélèvement et échantillonnage</u> | 72 |

| | |
|---|----|
| III. <u>Précautions méthodologiques</u> | 74 |
| IV. <u>Traitement au laboratoire</u> | 74 |
| <u>IV.1. Reconnaissance de l'espèce (identification)</u> | 74 |
| <u>IV.1.1. Photos interprétation</u> | 75 |
| <u>IV.1.2. Étude de la morphologie externe</u> | 76 |
| <u>IV.2. Taxonomie</u> | 76 |
| <u>IV.3. Mesure biométrique</u> | 78 |
| <u>IV.4. Dissection</u> | 78 |
| <u>IV.4.1. Indice gonadosomatique</u> | 80 |
| V. <u>Extraction des saponines</u> | 80 |
| <u>V.1. Broyage, filtration et évaporation</u> | 82 |
| <u>V.2. Purification par séparation densitométrique</u> | 83 |
| <u>V.2.1. Premier partitionnage</u> | 83 |
| <u>V.2.2. Deuxième partitionnage</u> | 83 |
| <u>V.2.3. Troisième partitionnage</u> | 83 |
| <u>V.3. Chromatographie en phase liquide</u> | 85 |
| <u>V.4. Séparation densitométrique avec l'iso-butanol</u> | 85 |
| <u>V.5. Détection des saponines</u> | 87 |
| <u>V.5.1. Test de saponification</u> | 87 |
| VI. <u>Activité des saponines</u> | 88 |
| <u>VI.1. Activité hémolytique</u> | 88 |
| <u>VI.1.1. Préparation de sang (Érythrocytes 2 %)</u> | 88 |
| <u>VI.1.2. Préparation des échantillons des saponines</u> | 89 |
| <u>VI.1.3. Test d'hémolyse</u> | 89 |
| <u>VI.1.3.1. Cinétique d'hémolyse</u> | 89 |
| <u>VI.1.3.2. Effet de la concentration</u> | 89 |
| <u>VI.1.3.3. Effet de la température sur l'activité hémolytique</u> | 91 |
| <u>VI.2. Activité antibactérienne</u> | 92 |
| <u>VI.2.1. Souches bactériennes testées</u> | 92 |
| <u>VI.2.2. Milieu de culture</u> | 92 |
| <u>VI.2.3. Préparation de l'inoculum</u> | 94 |
| <u>VI.2.4. Étude de l'activité antibactérienne</u> | 94 |
| <u>VI.2.4.1. Méthode de diffusion en milieu solide</u> | 94 |
| <u>VI.2.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)....</u> | 96 |
| <u>VI.2.5.1. Méthode de dilution en bouillon</u> | 96 |

Partie III : Résultats et discussions

| | |
|--|-----|
| I. <u>Description de l'espèce étudiée</u> | 99 |
| <u>I.1. Morphologie externe</u> | 99 |
| <u>I.2. Actualisation taxonomique</u> | 100 |
| II. <u>Données biométriques</u> | 101 |
| III. <u>Détection des saponines</u> | 103 |
| <u>III.1. Indice de mousse</u> | 103 |
| <u>IV. Activité des extraits des saponines d'<i>Echinaster sepositus</i></u> ... | 105 |
| <u>IV.1. Activité hémolytique</u> | 105 |
| <u>IV.1.1. Cinétique d'hémolyse</u> | 105 |
| <u>IV.1.1.1. Effet de temps d'incubation sur l'activité hémolytique</u> | 106 |
| <u>IV.1.1.1.1. Temps d'incubation identique pour tous les extraits de saponine</u> | 107 |
| <u>IV.1.1.2. Cinétique d'hémolyse et variation de la concentration des extraits</u> | 108 |
| <u>IV.1.2. Effet de la concentration sur l'activité hémolytique</u> | 114 |
| <u>IV.1.3. Effet de la température sur l'activité hémolytique</u> | 117 |
| <u>IV.1.4. Activité hémolytique et la teneur des saponines</u> | 125 |
| <u>IV.1.5. Activité hémolytique des saponines et les fluctuations saisonnières de la teneur des saponines dans les gonades</u> | 128 |
| <u>IV.2. Activité antibactérienne</u> | 132 |
| <u>IV.2.1. Méthode de diffusion en milieu solide</u> | 132 |
| <u>IV.2.2. Méthode de dilution en bouillon</u> | 134 |
| <u>Conclusion</u> | 135 |
| <u>Bibliographie</u> | |
| <u>Glossaire</u> | |
| <u>Annexe</u> | |
| <u>Résumé</u> | |

Introduction

Introduction

Dans le domaine de la biologie et de la biochimie marine plusieurs études ont porté sur les molécules biologiques provenant d'organismes marins plus particulièrement les saponines provenant d'holothuries (Nigrelli,1952; Yamanouchi,1955; Nigrelli *et al.*, 1967), d'astéries (Hashimoto et Yasumoto, 1960; Guido *et al.*, 1965; Mackie *et al.*,1968; Mackie et Turner 1968; Kitagawa et Kobayashi,1977) et d'éponges (Thompson *et al.*, 1985). L'intérêt accordé aux saponines est justifié par leurs multiples activités pharmacologiques et biologiques (Hostettmann et Martson, 1995; Prokof'eva *et al.*, 2003).

Dans la littérature plusieurs chercheurs ont démontré les différentes activités de saponines à savoir **l'activité hémolytique** (Bangham et Horne, 1962; Hostettmann et Martson, 1995; Prokof'eva *et al.*,2003; Chwalek *et al.*, 2006; Jorg *et al.*, 2011), **l'activité antimicrobienne** (Amnisimov *et al.*,1980; Andersson *et al.*, 1987;1989; Hostettmann et Martson, 1995; Prokof'eva *et al.*, 2003), **l'activité antifongique** (Kim *et al.*,1998; Stonik *et al.*, 1999; Takechi *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 2000; Delmas *et al.*, 2000), **l'activité antiviral** (Andersson *et al.*, 1989; Hostettmann et Martson,1995; Mengoni *et al.*, 2002; Prokof'eva *et al.*, 2003) et **l'activité antitumoral** (Rao et Sung ,1995; De Marino *et al.*, 1998; Podolak *et al.*, 1998; Prokof'eva *et al.*, 2003).

En Algérie, les études sur les saponines des échinodermes sont rares, les seules études entamées sont celle de Fetti et Mezali (2013) sur l'activité hémolytique des saponines des holothuries aspidochirotés de la plage de Stidia (Mostaganem); et celle de Mezali *et al.* (2015) sur la caractérisation des saponines des holothuries (*Holothuria sanctori*).

Notre travail s'inscrit dans cette optique. Il porte sur l'extraction des saponines émises par une espèce d'astérie méditerranéenne fréquente dans les côtes algériennes à savoir *Echinaster (Echinaster) sepositus* (Retzius, 1783). L'intérêt porté à ces saponines se justifie par leurs diverses applications médicales, pharmaceutiques, agroalimentaires et cosmétiques (Hostettmann et Martson, 1995; Cheeke, 2000) et leurs rôles dans la défense chimique (Mayo Mackie, 1976; Kubanek *et al.*, 2002; Van Dyck *et al.*, 2009), la communication chimique (kairomone) (Van Dyck *et al.*, 2009) et la reproduction (Mackie *et al.*,1977; Stonik *et al.*, 1999).

Les recherches précédentes sur les saponines d'*Echinaster sepositus* sont principalement centrées sur les saponines du corps entier de l'animal (Minale *et al.*, 1978; 1979; Riccio *et al.*,1981; Minale *et al.*, 1982), mais pas sur celles des différents organes. C'est pourquoi le travail proposé dans cette recherche consiste en l'extraction des saponines émises par les différents compartiments anatomiques d'*Echinaster sepositus* à savoir le tégument (le tégument aboral et oral), les gonades, les caeca pyloriques et l'estomac. Or ce serait une approche intéressante au point de vue biologique de distinguer les organes à étudier. Cela permettrait une meilleure compréhension de l'activité métabolique de ces molécules via la comparaison des rôles des organes incriminés.

L'étude de l'activité hémolytique des saponines permet d'élucider le rôle biologique de ces molécules et d'estimer leurs teneurs (Yasumoto *et al.*, 1966; Mackie *et al.*, 1977; 1975; Garneau *et al.*, 1989).

Introduction

De ce fait, il s'est avéré très important d'évaluer l'activité hémolytique des saponines des cinq organes sélectionnés, afin de mieux comprendre la fonction biologique des saponines extraites à partir d'*Echinaster sepositus* et d'y émettre des hypothèses sur leurs quantités dans les différents organes.

Les saponines suscitent de nos jours un intérêt croissant en médecine et en pharmacie. (Hostettmann et Martson, 1995; Cheeke, 2000; Demeyer *et al.*, 2014) ce qui nous a encouragé à évaluer l'effet antibactérien des astérosaponines sur les bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*).

Les objectifs majeurs de ce travail sont:

- L'extraction des saponines à partir de l'"étoile de mer" *Echinaster sepositus*;
- L'étude de l'activité hémolytique des différents extraits de saponines isolées à partir d'*Echinaster sepositus*, et la quantification relative de ces saponines;
- L'évaluation de l'activité antimicrobienne des saponines isolées sur un ensemble des bactéries pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*).

De ces objectifs se dégage une question majeure:

Les saponines d'*Echinaster sepositus* étudiées sont elles biologiquement actives?

Pour répondre à cette question, des expérimentations sur les différents compartiments anatomiques d'*Echinaster sepositus* (tégument oral, tégument aboral, caeca pylorique, gonade et estomac) ont été menées respectivement au sein des laboratoires suivants: Laboratoire de Botanique Médicale et de Chimie Analytique (Faculté des sciences médicale, Université de Mouloud Memmeri, Tizi-ouzou, Algérie); laboratoire de Valorisation des Matériaux (Faculté des sciences et de la technologie, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie) et le laboratoire de biochimie (1) et de microbiologie (3) (Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie).

Ce travail est articulé autour de trois parties:

La première partie intitulée « Synthèse documentaire», elle présente les différentes caractéristiques des échinodermes (*Asteroidea*) et la morphologie externe et interne des *Asteroidea*. Comme elle traite les saponines, leurs structures et leurs intérêts;

La deuxième partie intitulée « Matériel et méthodes », elle décrit le matériel utilisé au laboratoire, les protocoles expérimentaux relatifs à l'extraction des saponines et aux essais effectués sur l'activité hémolytique, antibactérienne et leurs conditions opératoires ainsi que les techniques d'analyse adaptées;

La troisième partie « Résultats et discussions », dans laquelle sont présentés les résultats relatifs à l'activité hémolytique et l'activité antibactérienne;

Une conclusion générale et des perspectives seront présentées à la fin de ce manuscrit.

Partie I

Synthèse documentaire

I. Les échinodermes, Asteroidea

Le milieu marin est le plus grand volume disponible pour le vivant sur la terre (plus de 70 % de la surface de la planète). Dans cet environnement où a lieu la genèse de la vie (3,8 milliards d'années), le temps d'évolution est beaucoup plus important que celui du milieu terrestre (les 400 millions d'années de la vie continentale), par voie de conséquence la diversité au niveau du phylum est très particulière, parmi les 33 phylums dans le domaine animal, 12 sont exclusivement marins.

En termes de biodiversité nous ne connaissons que 10 % des espèces vivantes dans le milieu marin entre 250 000 et 280 000 car l'environnement marin a reçu beaucoup moins d'attention que le terrestre, malgré sa spécificité chimique et biologique (Kornprobst, 2005) (**Tab. 1, annexe 1**).

Cette biodiversité en phylums se traduit par une richesse de molécules naturelles, c'est: "la chimio diversité marine". Cette chimio diversité est caractérisée par la présence d'éléments chimiques inhabituels ou très rares dans les organismes dulçaquicoles et terrestres (Kornprobst, 2005).

Dans notre travail ce sont ces molécules que nous tentons d'isoler chez une espèce d'astéries fréquente sur les **côtes algériennes à savoir *Echinaster sepositus***.

I.1. Les échinodermes

I.1.1. Généralité sur les échinodermes

Les échinodermes forment un groupe très ancien du règne animal dont les premières traces fossiles remontent à la période cambrienne (700 millions d'années) (Rowe et Doty, 1977). Les formes les plus anciennes de ces invertébrés multicellulaires sont sessiles. Ils ont laissé d'abondantes traces, en particulier avec les groupes des crinoïdes (plumes de mer) et des échinoïdes (oursins), présentent dès l'ordovicien (Rowe et Doty, 1977).

Les échinodermes sont des métazoaires triploblastiques caractérisés par un endosquelette dermique, constitué des spicules de calcite discontinus (holothuries), regroupés en plaques et en piquants, mobiles (étoiles de mer, ophiures) ou soudés (oursins) (Simpson, 1940). Ils constituent un groupe unique des invertébrés car chez ces animaux, on observe pour la première fois un développement du type deutérostome, la présence d'un endosquelette calcaire et une symétrie pentaradiée (Boell, 1955; Rowe et Doty, 1977).

Le nom échinoderme vient des protubérances épineuses externes (Englais: papulae), il signifie « à peau épineuse » en grec (Rowe et Doty, 1977).

L'embrochement des échinodermes comprend cinq classes: les Crinoïdes (Lys de mer, représentés dans le domaine littoral par les Comatules); les Echinides (Oursins); les Astérides (Etoiles de mer); les Ophiurides (Ophiures); les Holothurides (Concombres de mer) (Simpson, 1940) (**Fig.1**).

Ces classes peuvent être divisées en deux groupes (Simpson, 1940):

- **Les Pelmatozoaires**, fixés, mais pouvant se libérer à l'état adulte, comportent une seule classe, les crinoïdes (en forme de fleur de lis).
- **Les Eleuthérozoaires**, libres, comportent quatre classes, les astérides, les ophiurides, les échinides et les holothurides.

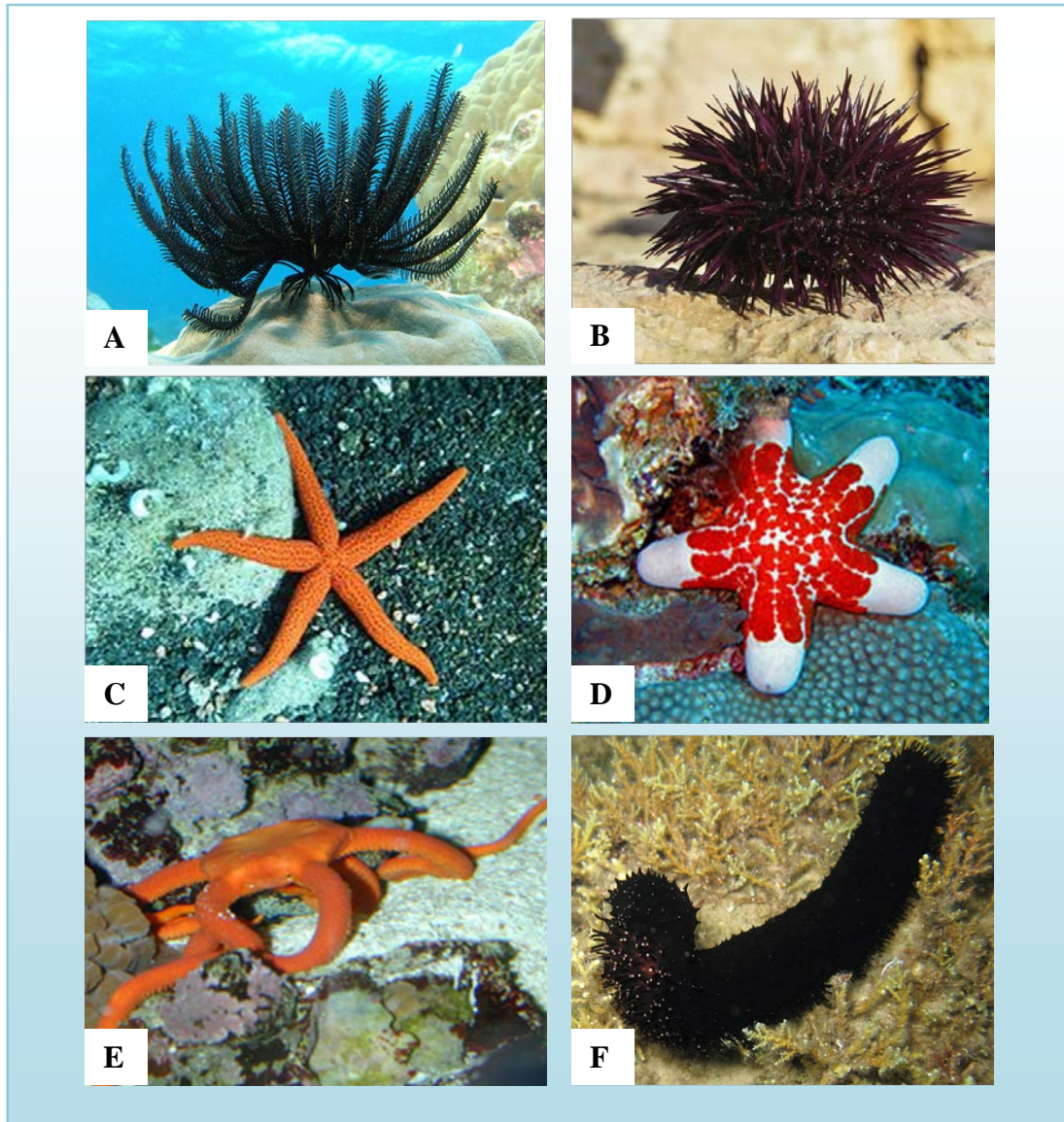


Figure1: Divers types d'échinodermes: **A:** Crinoïde (*Comaster schlegelii*); **B:** Echinide (*Paracentrotus lividus*); **C-D:** Astérides (*Echinaster sepositus*, *Choriaster granulatus*); **E:** Ophiuride (*Ophioderma squamosissimus*); **F:** Holothuride (*Holothuria forskali*)

(Source des photos: Wikipédia, 2014, <http://www.wikipédia.com>).

I.2.2. Morphologie externe et anatomie des échinodermes

Les caractéristiques qui regroupent l'ensemble des échinodermes sont la présence d'un endosquelette dermique, des pédicelles ou podia, des branchies dermiques et une symétrie pentaradiée, ainsi que les trois systèmes suivants (Fardoulis et Termier, 1975):

- Un système cœlomique;
- Un système hémal;
- Un système vasculaire hydraulique (ou aquifère).

Les principaux groupes d'échinodermes se distinguent par: la position des ambulacres; la longueur de l'axe oral-aboral; la présence ou l'absence des bras et l'attitude normale du corps (Fardoulis et Termier, 1975).

Les Crinoïdes, ou "Lis de mer" ont un corps en forme de calice. Le calice porte de longs bras, généralement ramifiés. Dans la surface orale les bras portent des ambulacres ouverts. Elles vivent normalement avec la face orale tournée vers le haut (Boell, 1955; Fardoulis et Termier, 1975).

Les Astérides, ou "Étoiles de mer" ont un corps aplati suivant l'axe de symétrie. Elles portent des bras larges qui ne sont pas nettement séparés du disque central. Leurs ambulacres sont placés dans les sillons sur les bras et sur le disque central. Elles vivent normalement la face orale tournée vers le bas. (Boell, 1955; Fardoulis et Termier, 1975).

Les Ophiures sont, comme les Astérides, aplatis suivant l'axe de symétrie. On les distingue par un disque central clairement délimité, portant des bras longs et fins. Leurs ambulacres sont internes et invisibles de l'extérieur. Elles vivent aussi la face orale tournée vers le bas (Boell, 1955; Fardoulis et Termier, 1975).

Les Holothurides, ou "Concombres de mer", ont un corps mou, allongé suivant l'axe de symétrie. Elles reposent normalement sur l'un des ambulacres courant à la surface du corps (Boell, 1955; Fardoulis et Termier, 1975).

Les Echinides, ou "Oursins" ont un corps dur, assez globuleux ou hémisphérique, couvert de piquants (d'où leur nom). Leurs ambulacres sillonnent la surface du corps, mais ils sont souvent dissimulés par des piquants. Elles vivent la face orale vers le bas (Boell, 1955; Fardoulis et Termier, 1975).

I.2. Classe des Asteroidea

I.2.1. Généralité

Les Astérides communément appelés "étoiles de mer", sont des invertébrés multicellulaires qui font partie de la biomasse marine depuis la période de l'ordovicien (Clark et Downey, 1992) (**Fig. 2**). La mer en compterait environ 1 600 espèces (Hyman, 1955; Clark et Downey, 1992).



Figure 2: *Hudsonaster* sp. Un astéroïde de l'Ordovicien.

Les caractères qui regroupent l'ensemble des astérides sont en nombre de quatre et sont résumés dans **la figure 3**: (Smith, 1981¹; Clark et Downey, 1992).

- Cinq bras peu mobiles pourvus chacun d'un sillon sur la face ventrale avec des ambulacres, des pédicellaires et des ocelles en bout;
- Spicule calcaire dans le tégument;
- Bouche sur la face ventrale;
- Anus sur la face dorsale, parfois absent.

¹ Smith, 1981 in Ratcliffe et Rowley, 1981.

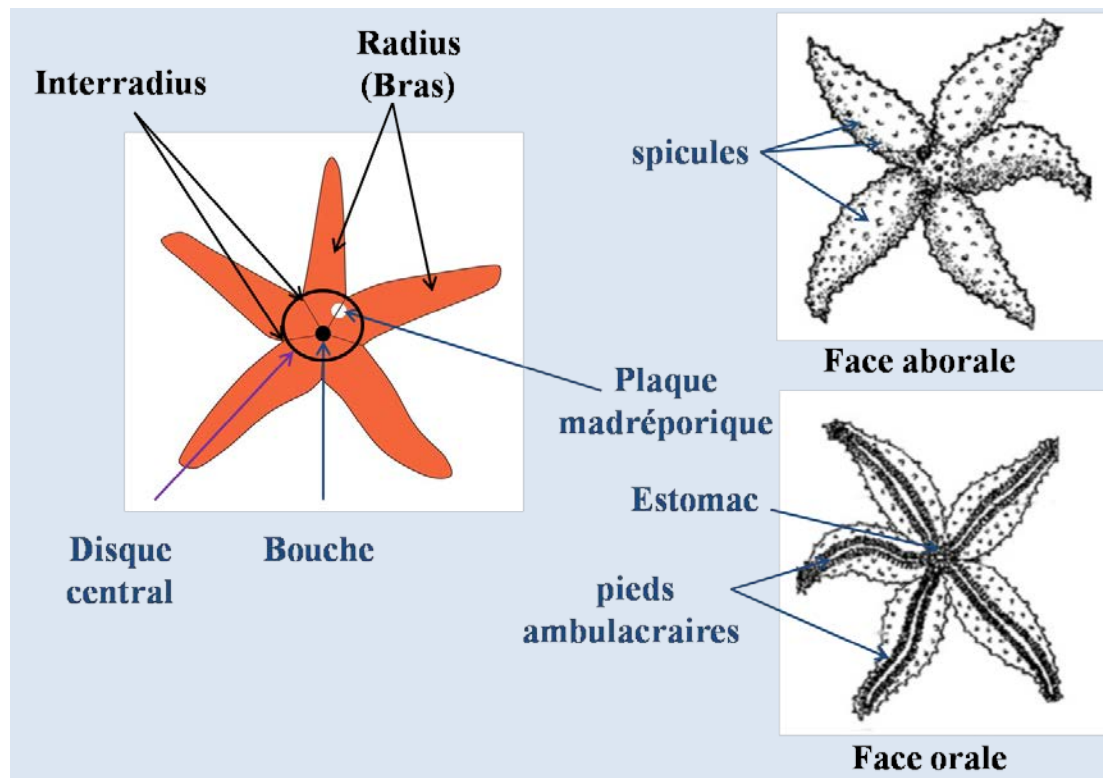


Figure 3: Schéma représentatif des caractéristiques d'astéroïdea.

I.2.2. Classification

La classification des asteroïdea selon Boell (1955); Hyman (1955) dépend de l'examen extérieur du corps qui fournit des renseignements sur:

- Le nombre des bras;
- La forme (stellée, pentagonale, cylindrique ou aplatie);
- La couleur;
- La taille du disque central et des bras.

On utilise aussi d'autres caractères anatomiques pour la détermination des astéroïdes comme les caractéristiques du squelette, en particulier la série des ossicules primaires qui définissent les différentes plaques de la paroi du corps (ambulacraire, adambulacraire, marginale inférieure et supérieure, carénale dorsale), ainsi que les ossicules secondaires comme les épines, les pédicellaires et les piquants ambulacraires (Verrill, 1914; Fisher, 1928; McKnight, 1975).

La classe des Asteroidea se divise en sept ordres: Brisingida, Forcipulatida, Notomyotida, Paxillosida, Spinulosida, Valvatida et Velatida (**Tab. 1; Fig. 4**) (Blake, 1987; Blake, 2000).

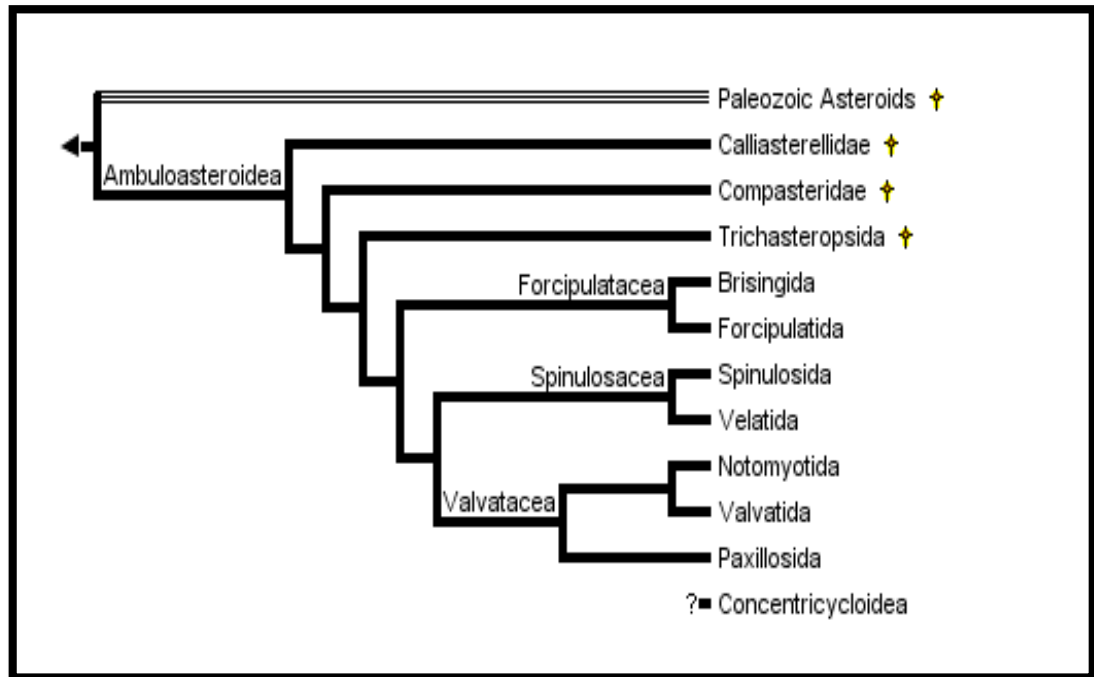


Figure 4: Hypothèse phylogénétique des Astéries.

(D'après Blake, 1987).

✦ Groupes fossiles.

Les astérides fossiles sont rares car les astéroïdes vivent souvent sur des substrats durs, mais qui ne sont pas propices à la formation des fossiles; et les plaques calcaires de leur squelette se dissocient rapidement après la mort (Black, 2000; Blake, et Elliott 2003a; Blake et Hagdorn, 2003b).

Le concentricycloidea a été diagnostiqué comme les astéroïdes inhabituels (Belyaev, 1990). Leur relation à d'autres taxons d'astéroïdes n'est pas bien résolue, mais des alliances avec des espèces de la Velatida et la Forcipulatida ont été proposées (Belyaev, 1990; Black, 2000; Blake et Elliott 2003a; Blake et Hagdorn, 2003b).

Le tableau 1 présente l'ensemble des caractéristiques des différents ordres de la classe des Asteroidea.

| Ordre | Caratéristiques | N° famille | N° genres | N° espèce | Bibliographies |
|----------------------|---|------------|-----------|-----------|--|
| Brisingidées | longueur: 6-16 cm; Bras atténués. | 6 | 17 | 100 | Black (1987). Black (2000). Black et Elliot (2003 a). Black et Hagdon (2003 b). |
| Forcipulatidées | Piquants de la face dorsale sont entourés par une couronne des pédicellaires croisés; Tubes ambulacraires terminés par des ventouses. | 6 | 86 | 300 | |
| Notomyotidées | Bras flexibles; Bras caractérisés par des bandes musculaires longitudinales au niveau interne de la surface dorso-latérale. | 1 | 12 | 75 | |
| Paxillosidées | Peu endofaune, peuvent s'enterrer partiellement sous les sédiments sableux. Plaques de la face dorsale saillantes portent chacune un faisceau de petit piquant très serré (paxille); Plaques marginales très développées; Les tubes ambulacraires n'ont pas de ventouse ou portent une ventouse. | 12 | 46 | 255 | |
| Spinulosidées | Disposition de squelette est délicate à décrire; Les piquants sont petits et disposés irrégulièrement; Les tubes ambulacraires sont bisériés et terminés par une ventouse; Les plaques marginales sont peu développées; Absence totale des pédicellaires. | 1 | 9 | 120 | |
| Valvatida | Ossicules marginaux visibles. | 14 | 165 | 695 | |
| Velatida | Corps épais; Grand disque central; Dépressions inter-radiales. | 5 | 25 | 200 | |

Tableau 1: Caractéristiques des différents ordres des Asteroidea.

I.2.3. Écologie des Astérides

I.2.3.1. Distribution et densité des astérides

Les "étoiles de mer" sont présentes dans toutes les mers et les océans. Elles se répartissent sur toutes les profondeurs, de la zone intertidale aux profondeurs abyssales. Elles peuvent occuper des biotopes variés à savoir les fonds meubles, durs, rocheux ou caillouteux, et les lits de moule ou de palourde (Boell, 1955; Hyman, 1955; Clark et Downey, 1992).

Les "étoiles de mer" constituent une biomasse importante des milieux benthique, et elles font partie des prédateurs les plus importants dans de nombreux écosystèmes marins, notamment l'écosystème à *Posidonia oceanica* (Clark et Downey, 1992; Augier, 2010).

En méditerranée l'espèce la plus commune est l'étoile de mer rouge *Echinaster sepositus*. Elle se répartit sur des profondeurs pouvant atteindre 250 m (Koehler, 1969; Augier, 2010). Sur les côtes algériennes *Echinaster sepositus* est inventoriées par plusieurs chercheurs (Grimes *et al.*, 2004; Grimas, 2010; Boumediene et Bouras, 2014).

Les facteurs qui déterminent la distribution des astéries sont surtout la salinité et la température (Boell, 1955).

En effet, la salinité a un rôle décisif dans la restriction de la zone de répartition des "étoiles de mer" puisqu'elles sont sténohalines. Il semblerait que seules les espèces du genre *Asteria* soient tolérantes aux eaux saumâtres (Boell, 1955; Hyman, 1955). La majorité des astéries habitent dans des eaux tempérées ou froides (Koehler, 1969; Clark et Downey, 1992).

I.2.3.2. Prédation et mode de défense

Les astérides ont peu de prédateurs, elles peuvent représenter une proie pour certains crustacés notamment la "crevette-arlequin" *Hymenocera picta*, les crabes, les mollusques carnivores du genre *Charonia*, et même d'autres espèces des étoiles de mer", l'astérie *Solaster dawsoni* consomme principalement d'autres "étoiles de mer" notamment *Dermasterias imbricata* et *Hippasteria spinosa*, c'est le cannibalisme. Dans les zones intertidales, elles représentent une proie pour les oiseaux marins opportunistes comme les goélands (Boell, 1955; Clark et Downey, 1992).

Le taux de prédatons des étoiles de mer est relativement faible car elles possèdent plusieurs mécanismes de défense (sont bien défendues) (Grassé, 1948):

Les principaux mécanismes de défense des astérides sont:

- L'autotomie des bras et leurs régénérations, les "étoiles de mer" se séparent d'un de leurs bras quand celui-ci est attaqué. Le processus est très simple le bras est fixé par ces podia, tandis que le reste du corps se met en marche et le bras se déchira nettement. le moignon va ensuite régénérer un nouveau bras (voir plus lion, p. 24) (Grassé 1948; Boell, 1955);

- L'utilisation des pédicellaires et la sécrétion de mucus par les cellules glandulaires. Lorsque le prédateur possède des poiles (comme les petits crabes), ceux-ci sont saisis par les pédicellaires, c'est ainsi que le prédateur peut être capturé. En même temps, les cellules glandulaires, si abondantes sur les appendices de tégument rejettent leurs produits et l'animal capturé est enveloppé de mucus criblé de granules qui ont probablement une action d'empoisonnement, et la mort de prédateur ne tard pas (Grassé 1948; Boell, 1955; Clark et Downey, 1992);
- La sécrétion d'un grand nombre de substances toxiques qui leur permettent de se protéger, comme les saponines qui lui donnent une odeur répulsive et un goût désagréable (Mackie *et al.*, 1977);
- Certaines espèces, pour se protéger, sont recouvertes de piquants venimeux comme chez *Acanthaster planci* (Grassé 1948; Boell, 1955).

I.2.3.3. Comportement

Selon les conditions du milieu ambiant, les astéries peuvent être prévues de divers comportements (Grassé, 1948):

- **Un géotropisme négatif (Réaction de fuite)**

Le géotropisme négatif est marqué constamment chez les espèces du genre *Asterias*. Ces espèces lorsqu'elles viennent d'être prises, elles montent jusqu'à la surface de l'eau, et elles s'étalent la face ventrale vers le haut et la face aborale vers le bas. Puis elles redescendent;

- **Un phototropisme négatif pour la forte lumière**

Le phototropisme négatif est marqué chez toutes les astéries adultes. En effet, elles restent inertes en plein soleil où elles se disposent de façon à protéger la face orale, moins pigmentée que la face aborale;

- **Un phototropisme positif pour la faible lumière**

Les astéries sont attirées par les surfaces noires et sombres.

- **Un stéréotropisme positif**

La réaction d'adhérence d'une astérie avec le substrat est en rapport avec un stéréotropisme positif de la ventouse des podia. En effet, les astéries se fixent sur un substrat solide grâce aux ventouses des podia.

- **Une sensibilité à la pression**

La sensibilité à la pression est marquée chez les espèces intercotidales (comme les espèces du genre *Asterias*: *Asterias rubens*). Quand le niveau de la mer commence à descendre, ces espèces gagnent l'eau peu profonde.

Il est à noter que les "étoiles de mer" se déplacent très lentement. Elles peuvent parcourir 5 cm par minute. Certaines ne parcourent pas plus de 1 km durant toute leur vie (Boell, 1955).

I.3. Morphologie externe et interne d'une "étoile de mer "

I.3.1. Morphologie externe

Les "étoiles de mer" ressemblent peu aux autres échinodermes. Elles sont de forme très variable (pentagonales, globuleuses, étoilées) (Grassé, 1948). Leur taille est très variable et leur corps est légèrement aplati, souple et couvert d'un épiderme pigmenté (Grassé, 1948; Boell, 1955).

Elles se caractérisent par un allongement des bras (radius) par rapport aux zones entre les bras (interadius) (**Fig. 3**). Il en résulte que le corps prend la forme d'une étoile à cinq branches. Bien que la plupart des étoiles de mer ont cinq bras, les membres de certaines familles ont beaucoup plus mais toujours des multiples de cinq à l'exception des espèces irrégulières. Les bras sont plus ou moins longs, ils peuvent dépasser dix fois le rayon du disque central (*Chaetaster longipes*), ou au contraire, être tellement courts que le corps devient pentagonal (*Ceramaster placenta*) (Koehler, 1969). Les bras se rejoignent à leur base pour limiter un disque central.

Le disque central est caractérisé par la présence de la bouche sur la face ventrale (face inférieure, face orale), et la présence d'une plaque calcaire blanchâtre (plaque madréporique) au niveau d'un inter radius sur la face dorsale (Face supérieure, face aborale) (Grassé, 1948) (**Fig. 5**).

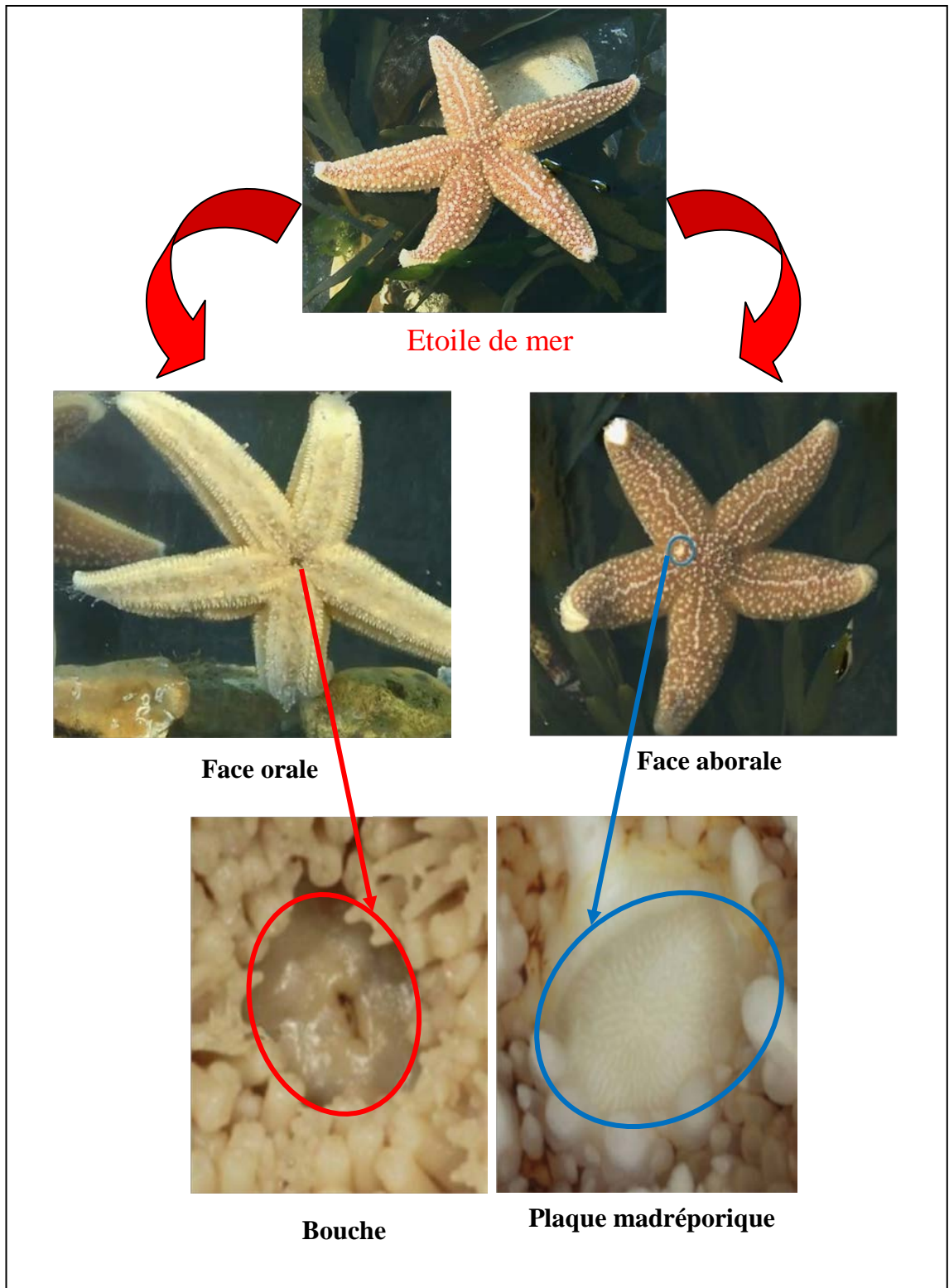


Figure 5: Face orale et aborale des "étoiles de mer".
(Image ©Université Lille, UFR de biologie).

La **face orale** est composée des centaines de pieds ambulacraires (podia), la bouche entourée d'une membrane (le péristomium), l'estomac dévaginable situé à l'intérieur de la bouche. Les podia sont utilisés pour le déplacement et pour la capture de la nourriture (Koehler, 1969).

Les podia sont des tentacules terminés soit par un cône (chez les espèces de genre *Luidia*), soit par une ventouse (chez les espèces du genre *Asterias*). Ils sont disposés en rangées et entourés par des bandes plus extérieures de piquants mobiles qui peuvent se rabattre sur les podia pour les protéger d'une agression (Boell, 1955; Clark et Downey, 1992). À la base de chaque pied se trouve une vésicule musculuse, l'**ampoule ambulacraire** (une dilatation en forme de sac, dont la paroi contient des muscles). L'ampoule se poursuit par un tube vertical, et se termine par une ventouse (Boell, 1955; Clark et Downey, 1992) (**Fig. 6**).

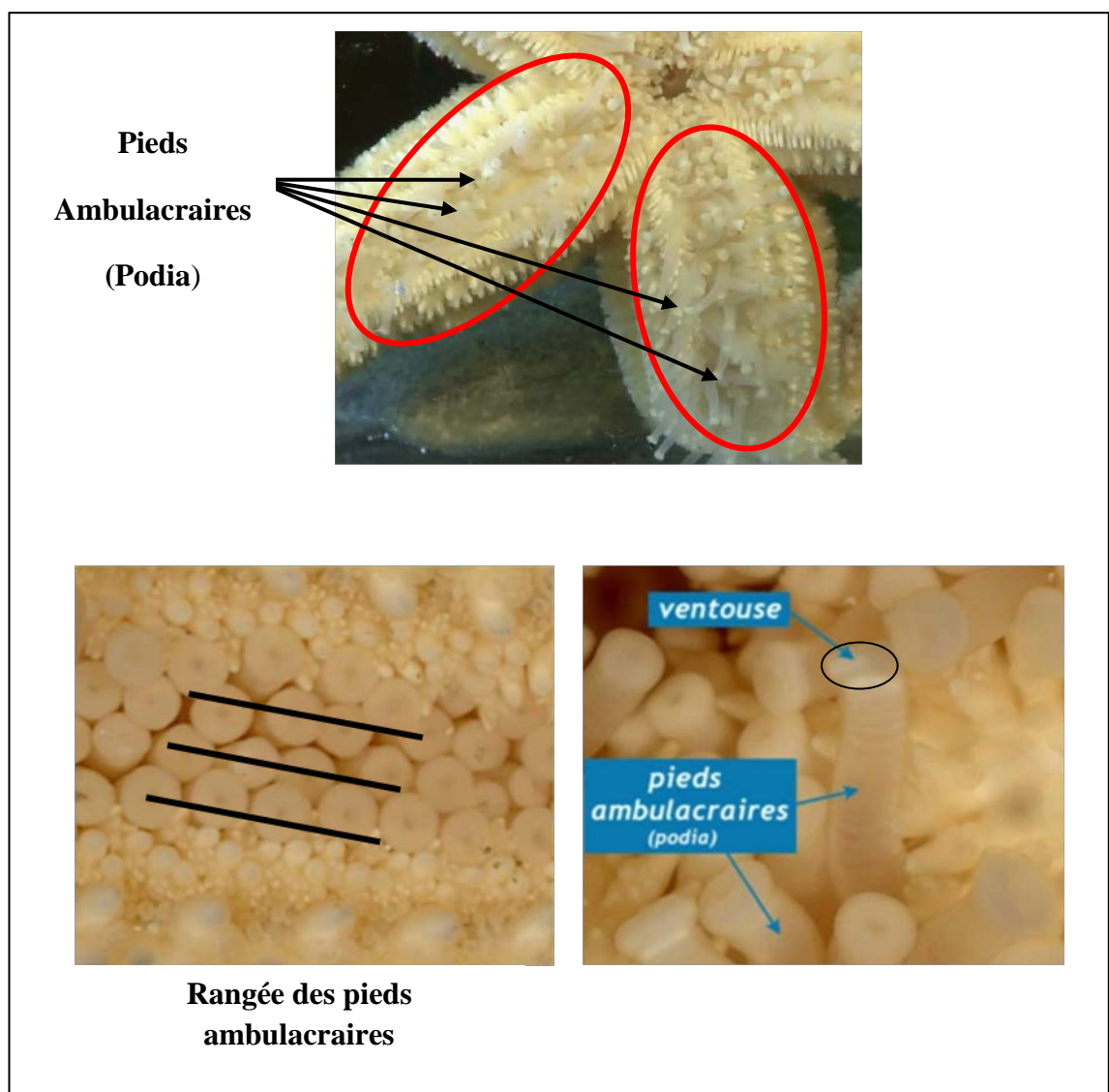


Figure 6: Les pieds ambulacraires des "étoiles de mer".
(Image ©Université Lille, UFR de biologie).

À l'extrémité de chaque bras on marque la présence d'un certain nombre de podia tactiles, et un tentacule terminal impair portant à sa base une tache oculaire d'un rouge vif: organe visuel des astéries (Grassé, 1948; Clark et Downey, 1992) (**Fig. 7**).

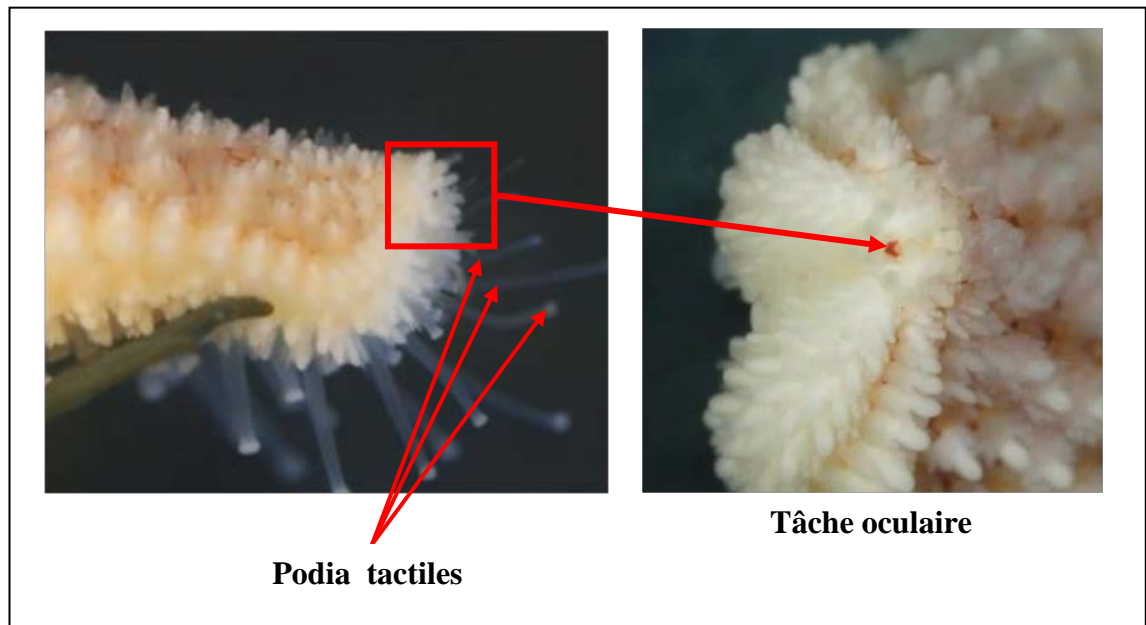


Figure 7: Podia tactiles et tache oculaire à l'extrémité d'un bras d'une astérie.

(Image ©Université Lille, UFR de biologie).

Les podia tactiles sont riches en fibrilles nerveuses et forment le système olfactif des astéries. Ce système permet de percevoir la présence et la nature des substances chimiques dissoutes dans l'eau de mer (comme spermatozoïdes) (Hickman *et al.*, 1996).

L'organe visuel des astéries est photosensible, ne perçoit ni les formes ni les mouvements des objets, mais seulement l'éclairage. Il est constitué d'un ensemble de petites cupules oculaires pigmentées. Ces cupules renferment dans leurs cavités une gelée incolore (sort de corps vitré). La sensibilité à la lumière est utilisée pour placer l'animal dans ce milieu naturel (par exemple sous les rochers) et pour se repérer géographiquement (Clark et Downey, 1992; Hickman *et al.* 1996).

Sur la face aborale on aperçoit au niveau d'un interradius la plaque madréporique (aquifère) qui recommande le mouvement de l'"étoile de mer" dans l'eau (Koehler, 1969) (**Fig. 5**). Bien que la plupart des étoiles de mer ont une seule plaque madréporique, les membres de certaines familles (Asteriidae, Echinasteridae et Linckiidae) ont beaucoup plus. Le nombre de ces plaques peut atteindre 4 chez les espèces qui possèdent 6 à 12 bras (comme chez les espèces de genre *Acanthaster*). Cette propriété est liée à la régénération des bras (voir plus lion, p. 24) (Beoll, 1955; Koehler, 1969).

I.3.1.1. Tégument

La paroi du corps des "étoiles de mer" est coriace mais non rigide. Elle comprend quatre assises: épiderme; derme avec le squelette; musculature et épithélium cœlomique (Boell, 1955).

L'épiderme est cilié, renferme des cellules sensorielles, et de nombreuses cellules glandulaires, les unes remplies de granules, les autres caliciformes sécrétant un mucus. Les cellules glandulaires couvrent la surface du corps par une couche de mucus protecteur. En effet, les petits détritiques qui tombent sur le corps sont enrobés de mucus, puis propulsés par les cils (Grassé, 1948; Boell, 1955; Hyman, 1955).

Le derme est formé, sur la face voisine de l'épiderme, par un feutrage conjonctif de fibres lisses avec des cellules fixes migrantes; sur la face voisine de cœlome, le derme présente des cavités irrégulières (Grassé, 1948; Boell, 1955; Hyman, 1955).

La musculature est formée généralement de 5 gros muscles qui partent du centre de la face aborale et rayonnent en étoile jusqu'à l'extrémité des bras. Ces muscles sont formés des fibres lisses (Grassé, 1948; Boell, 1955; Hyman, 1955).

L'épithélium cœlomique est constitué par des cellules plates portant un cil vibratile (Hyman, 1955).

I.3.1.1.1. Couleur du tégument et pigments

Les astéries ont de riches colorations: rouge vif; rouge; orange et les tons jaunes etc. Ces colorations sont liées à des pigments épidermiques, de la famille des caroténoïdes (Grassé, 1948; Boell, 1955). Le rouge d'*Echinaster sepositus* (espèce étudiée dans ce mémoire) est un caroténoïde tétracétone à caractère acide: l'astacine ($C_{40}H_{48}O_4$) (Clark et Downey, 1992; Hickman *et al.*, 1996).

I.3.1.1.2. Appendices du tégument

Le tégument des "étoiles de mer" porte trois types d'appendices: les piquants; les pédicellaires et les papules (Boell, 1955) (**Fig. 8**).

Les piquants sont très nombreux, ceux de la face dorsale sont des prolongements des pièces squelettiques, et sont immobiles. Par contre, les piquants de la face orale sont très mobiles car ils sont chargés de la protection de l'orifice buccal, et ils aident à l'ingestion des proies (Boell, 1955).

Les pédicellaires sont disposés à la base des piquants, et ils ont une forme didactyle. Ce sont des organes de défense et de nettoyage. Les pédicellaires harponnent les parasites, et les animaux de petite taille (Annélide de 5 à 6 cm de diamètre) qui touchent le tégument de l'"étoile de mer" et les gardent jusqu'à la mort. Comme ils attrapent les débris de larve, puis les rejettent, assurent ainsi le nettoyage de tégument de tout corps étranger (Boell, 1955; Clark et Downey, 1992; Hickman *et al.* 1996).

Les papules sont des expansions de la paroi du corps, passant à travers les mailles de squelette sous forme de petits tubes transparents, remplis de liquide. Ce sont les organes respiratoires des astérides (Boell, 1955; Hyman, 1955).

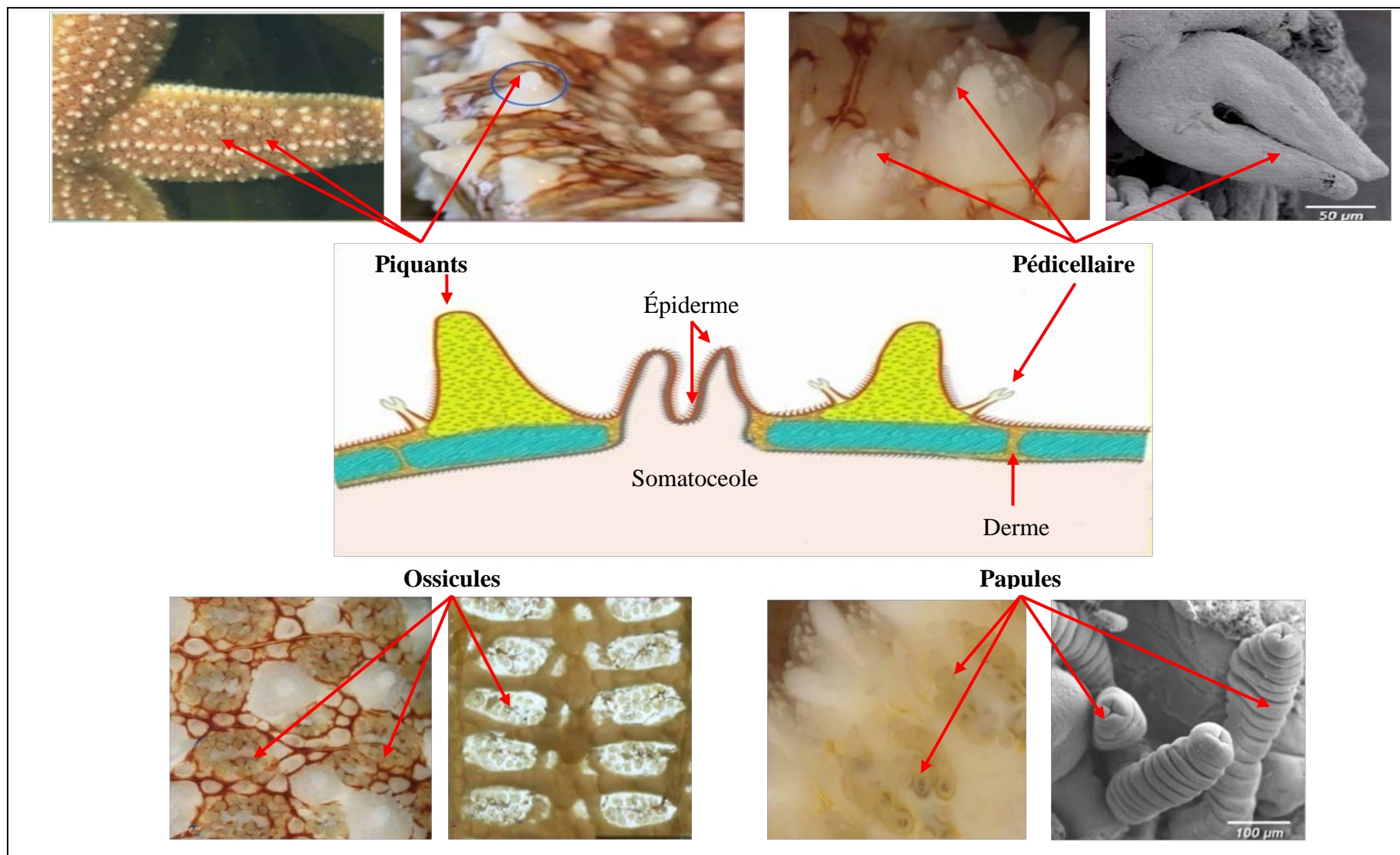


Figure 8: Tégument des "étoiles de mer".

(Image ©Université Lille, UFR de biologie).

I.3.1.2. Endosquelette

L'endosquelette dermique des astéries contient des plaques riches en Calcium appelées ossicules sur lesquelles s'articulent les piquants. Ces ossicules sont largement dispersés ce qui permet à la paroi du corps d'être flexible (Boell, 1955).

Les ossicules forment les plaques dermiques. Cinq types de plaque sont présentes chez les astéries (Boell, 1955) (**Fig. 9**):

- Plaques cardinales dorsales;
- Plaques marginales supérieures;
- Plaques marginales inférieures;
- Plaques adambulacraires;
- Plaques ambulacraires.

Les plaques marginales limitent les bords des bras et se font remarquer par leur grande taille. Les plaques ambulacraires sont caractérisées par la présence des pores ambulacraires. Ces derniers permettent le passage des pieds ambulacraires (podia) (Boell, 1955; Clark et Downey, 1992).

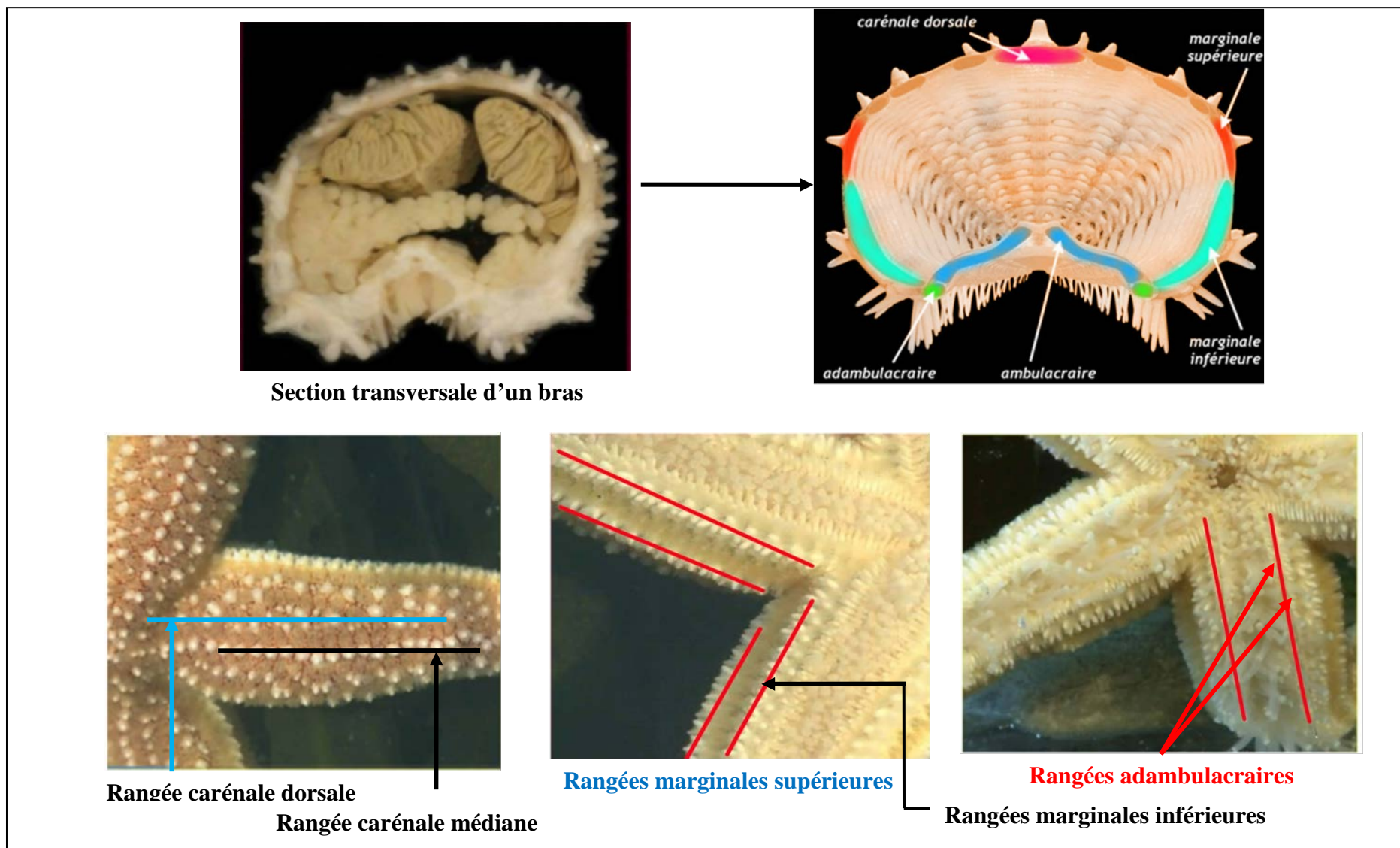


Figure 9: Organisation des plaques dermiques chez les "étoiles de mers". (Image ©Université Lille, UFR de biologie).

I.3.2. Organisation interne

I.3.2.1. Système digestif

L'appareil digestif des astéries comporte la bouche, l'estomac divisé en deux chambres superposées, deux caeca rectaux, les caeca pyloriques et un anus microscopique situé sur la face aborale (Boell, 1955; Clark et Downey, 1992) (**Fig. 10**). Les deux chambres de l'estomac sont la chambre supérieure (**l'estomac pylorique**) et la chambre inférieure (**l'estomac cardiaque**). L'estomac pylorique est de forme pentagonale, celle-ci porte cinq canaux pyloriques qui se prolongent dans les bras de l'"étoile de mer". **Chaque canal pylorique** est lié à deux **caeca pyloriques (glandes digestives)**. Les caeca pyloriques sont composés d'une dizaine de diverticules en sac qui jouent un rôle dans la digestion et le stockage des nutriments (Boell, 1955; Clark et Downey, 1992). L'estomac cardiaque est en forme d'une rosace à cinq lobes c'est cette partie de l'estomac qu'est dévaginable, elle reprend sa position initiale grâce à la contraction des cinq paires de muscles rétracteurs insérés sur les plaques ambulacraires (Boell, 1955; Clark et Downey, 1992).

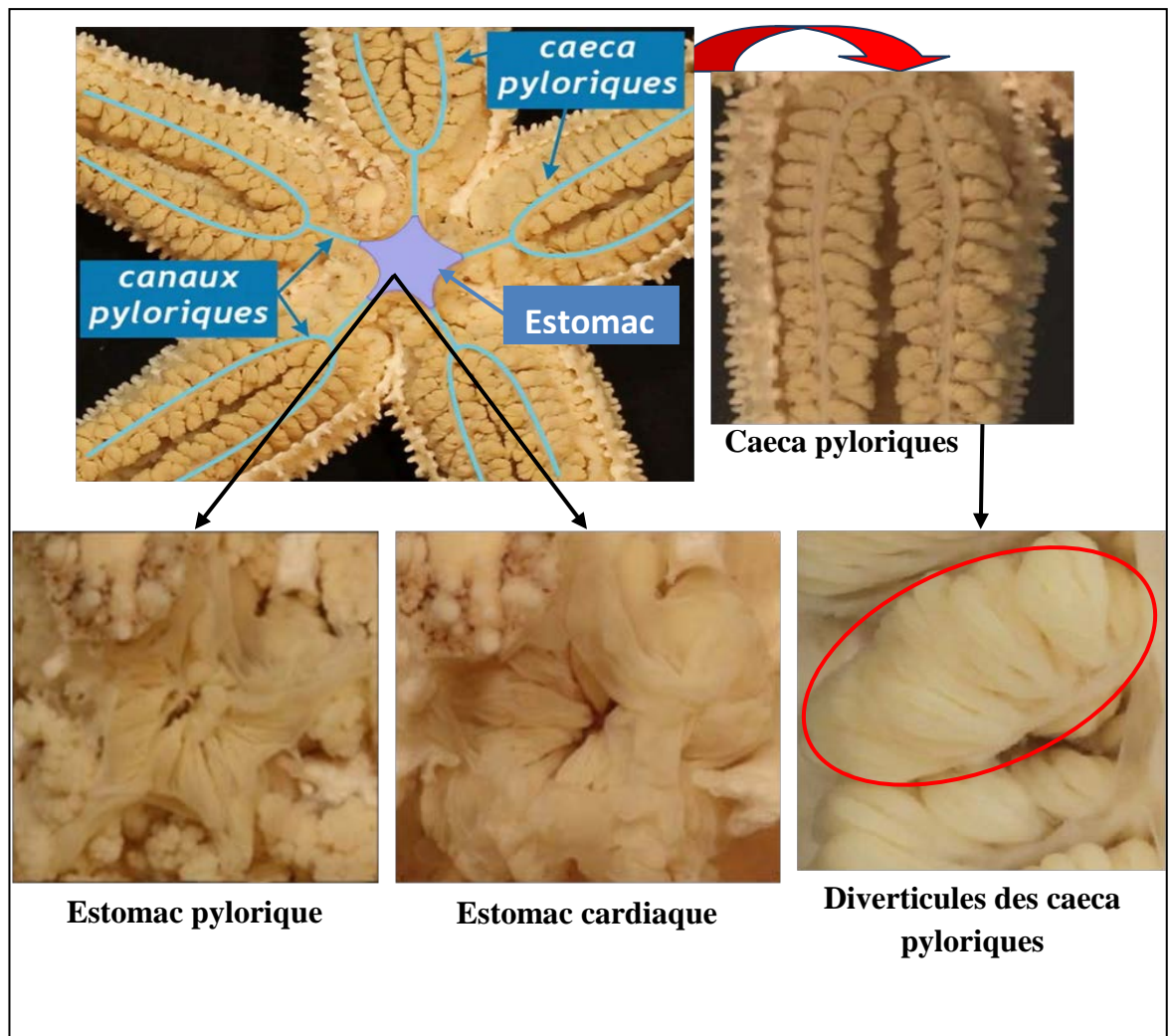


Figure 10: Appareil digestif des "étoiles de mer".
(Image ©Université Lille, UFR de biologie).

I.3.2.1.1. Nutrition

Les astéries sont extrêmement voraces et s'accommodent de toutes sortes de proies vivantes ou mortes qu'elles saisissent avec leurs pieds ambulacraires. Elles consomment surtout les moules (Boell, 1955; Clark et Downey, 1992).

En méditerranée, les astéries consomment abondamment et régulièrement les holothuries qui peuvent représenter 90 % de leur régime alimentaire (Francour, 1989)

Elles capturent et avalent les aliments par un procédé très particulier. Elles dévaginent leur sac stomacal inférieur (estomac cardiaque) et enveloppent complètement leur proie sur laquelle s'exerce l'action des sucs digestifs; tantôt la digestion a lieu dans le sac stomacal dévaginé, tantôt le sac se rétracte et rentre dans le corps avec la proie saisie, ainsi la nourriture est transportée à l'estomac pylorique qui finira la digestion et l'absorption des nutriments grâce à des enzymes digestives (Boell, 1955; Clark et Downey, 1992).

I.3.2.2. Cavités cœlomiques

Chez une astérie la cavité générale du corps (Cœlome) est formée par la superposition de trois cavités cœlomiques séparées par des mésentères, cavité périœsophagienne, cavité hypogastrique (cavité orale), cavité épigastrique (cavité dorsale). Au niveau du disque central la cavité dorsale et orale sont séparés l'une de l'autre par un mésentère pentagonal plus ou moins perforés, qui attache l'estomac à la face aborale de disque central. Ces deux cavités se prolongent dans les bras. Les bras sont remplis de liquide cœlomique hypogastrique (Boell, 1955; Clark et Downey, 1992).

Le liquide cœlomique des "étoiles de mer" renferme les corps azotés de transit, soit pour l'assimilation (azote aminé), soit pour l'excrétion (l'ammoniac) (Clark et Downey, 1992; Hickman *et al.*, 1996). Les globules en suspension dans le liquide cœlomique sont appelées les amibocytes cœlomiques.

Ces amibocytes cœlomiques permettent la sécrétion des déchets car ils ont un grand pouvoir phagocytaire (Grassé, 1948). Ils accumulent les produits à excréter, puis ils se rassemblent au sommet des papules, celles-ci peuvent s'étrangler lorsqu'elles sont engorgées et elles évacuent ainsi les amibocytes dans l'eau environnante. En outre, les papules et les podia sont le siège du transport d'oxygène, diffusant depuis l'eau de mer environnante jusqu'au liquide cœlomique (Clark et Downey, 1992; Hickman *et al.*, 1996).

Le cœlome est connecté à un système complexe de tubes qui contribue à la circulation de l'eau et à la respiration: c'est le système ambulacraire (Boell, 1955).

I.3.2.3. Système ambulacraire

Le système ambulacraire des astéries est composé d'un **anneau central (oral, ambulacraire)** entourant le péristome, ayant comme appendices les **corps de Tiedemann** et les **vésicules de Poli**.

L'anneau central émet **5 canaux radiaires**, un dans chaque bras. Chaque canal ambulacraire émet de courtes branches latérales munies de valves. Ces valves sont connectées aux podia. De ce fait, les cinq canaux radiaires se ramifient dans **les pieds ambulacraires (podias)** (Grassé, 1948) (**Fig. 11**).

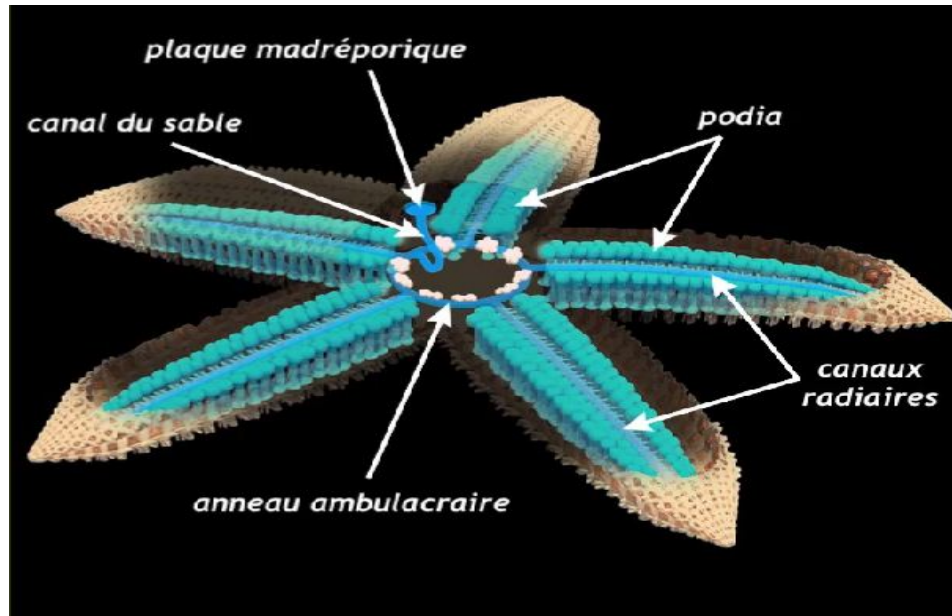


Figure 11: Système ambulacraire des "étoiles de mer".

(Image ©Université Lille, UFR de biologie).

Les **corps de Tiedemann** se sont de petites masses irrégulières, en nombre de 2 par interradius, présentent chez toutes les étoiles de mer. Ils semblent jouer un rôle dans la sécrétion interne. Les **vésicules de Poli** sont de grosses vessies piriformes au nombre de 1 par interradius, parfois 2 à 4 (*astropecten aurantiacus*). Elles manquent dans certain nombre de familles, notamment chez les Asteriidae. Il est possible que ces vésicules jouent un rôle de régulateur de la pression hydrostatique dans le système ambulacraire (Boell, 1955).

Un tel système communique avec l'eau de mer par un ou plusieurs pores aquifères. Ces pores sont regroupés sur la plaque aquifère (madréporique), généralement protégé par un entourage des piquants. La plaque madréporique se poursuit par un canal hydrophore qui descend vers la face orale du disque et se connecte ventralement à l'anneau ambulacraire (Grassé, 1948; Boell, 1955).

Le système ambulacraire permet la locomotion des "étoiles de mer". En effet, l'eau entre dans le système aquifère à travers la **plaque madréporique** et s'écoule vers **les canaux radiaires** en anneau par le **canal hydrophobe**. Les canaux radiaires amènent l'eau aux pieds ambulacraires. Lorsque l'ampoule de chaque pied ambulacraire est remplie de liquide ambulacraire. La valve du canal latéral se ferme et le liquide est chassé dans le tube vertical. Le tube vertical s'étend et peut s'attacher au substrat. Ensuite, les muscles des pieds ambulacraires se contractent, ce qui les courbent et entraîne l'animal vers l'avant (Clark et Downey, 1992; Hickman *et al.*, 1996).

I.3.2.4. Organes génitaux

Les "étoiles de mer" sont sexuellement dimorphes (sexes séparés), mais il est rare qu'il y ait un dimorphisme sexuel net pour qu'on puisse reconnaître les sexes sans dissection. En période de reproduction, *Luidia ciliaris* présente une différence de couleur entre les mâles (brunâtres) et les femelles (jaunâtres). Le mâle d'*Archaster typicus* est un peu plus petit que la femelle. Les cas d'hermaphroditismes (les organes reproducteurs mâles et femelles sont bien présents chez le même individu) sont rares. Parmi les espèces hermaphrodites on cite *Fromia ghardaqana*, *Asterina gibbosa*, *Asterina batheri* (Grassé, 1948) et *Echinaster sepositus* (Cognetti et Delavanlt, 1960).

Fromia ghardaqana et *Asterina gibbosa* sont des hermaphrodites protandriques (mâle au stade juvénile, tout en refermant des œufs en voie de développement, et femelle au stade adulte, il n'y a plus de spermatozoïdes dans les gonades). *Asterina batheri* est caractérisée par un hermaphroditisme irrégulier (mâle exclusif sans œuf, et femelle exclusif sans spermatozoïdes) (Grassé, 1948).

Chez les astéries, les gonades de chaque sexe sont localisées dans le somatocoele, à côté ou sous les glandes digestives et caractérisées par un aspect granulaire. Chaque gonade est divisée en deux lobes qui se prolongent dans les deux bras adjacents. Un **conduit génital** (**spermiducte** chez les mâles et **oviducte** chez les femelles) est issu de chaque gonade. Les conduits génitaux des deux gonades de chaque bras se rejoignent pour former un conduit commun qui débouche à l'extérieur par le **gonopore** (orifice génital), situé dans l'angle interradianal sur le disque central (Grassé, 1948; Boell, 1955) (**Fig. 12**).

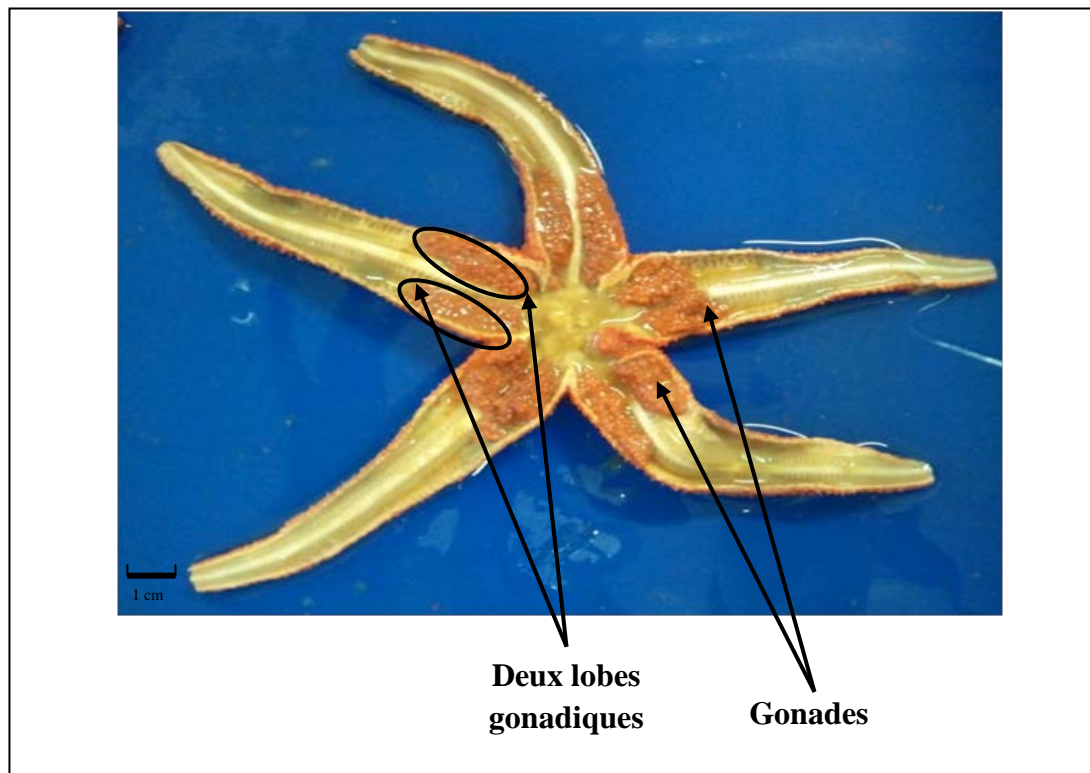


Figure 12: Gonade de l'"étoile de mer" *Echinaster sepositus*.

(Image©DAHMOUNE. B).

I.3.2.4.1. Reproduction

La reproduction des astéries est sexuée à fécondation externe. Elles se reproduisent par émission des gamètes observée généralement entre mars et juin (Clark et Downey, 1992; Hickman *et al.*, 1996). Durant cette période, il est très rare qu'il y ait un rapprochement entre le mâle et la femelle. Quand il a lieu (*Archaster typicus*), le mâle se place sur le dos de la femelle, les bras étant en alternance. Cependant, l'expulsion du sperme par les mâles d'éclanche l'expulsion des ovules par des femelles (Clark et Downey, 1992; Hickman *et al.*, 1996).

L'œuf fécondé se développe dans le plancton. Elle donne naissance à une larve pélagique à symétrie bilatérale qui subit une métamorphose très complexe pour aboutir à la forme adulte sédentaire à symétrie pentaradiée. La larve présente une forme très particulière et très différente de l'adulte. On leur a donné autrefois un nom particulier **pipinnaria** qui sera transformé en une larve **brachiolaria** (Boell, 1955).

Un certain nombre d'espèces d'astérides pratiquant le soin parental de diverses manières. Certaines comme *Asterina gibbosa* restreint leur soin parental uniquement par le dépôt de leurs œufs dans un endroit protégé. D'autres comme *Henricia oculata* s'installent sur leurs œufs jusqu'à leur éclosion. *Henricia sanguinolenta* soulève le disque central et rapproche ces bras de façon à construire une cavité incubatrice. Les larves de *Padasterias meridionalis*, *Leptasterias aequalis* se fixent à la face ventrale de la femelle par un pédoncule. *Stichaster nutrix* logent les larves dans l'estomac (Grassé, 1948, Boell; 1955; Clark et Downey, 1992).

La littérature ne précise pas le type de nourriture qu'elles absorbent dans la grotte d'incubation. Il est possible qu'ils se nourrissent de mucus sécrété par les parents à travers les papules (Clark et Downey, 1992).

Les astéries présentent également un mode de reproduction asexuée qui se fait par une scission d'une partie de corps suivi par une régénération de la partie manquante. La pleine croissance de la partie régénérée se fait en moins d'un mois et l'"étoile de mer" qui en résulte est appelée: "comète de mer" (Boell, 1955).

On distingue chez les astéries deux sortes de multiplication asexuée l'une dite, la schizogonie discale, et l'autre sorte est la schizogonie branchiale. Le nombre de ces multiplications est indéterminé (Grassé, 1948; Boell, 1955; Hickman *et al.* 1996).

La schizogonie discale est une coupure médiane à travers le disque central, elle sépare l'"étoile de mer" en deux moitiés à peu près égale. La blessure se ferme par le rapprochement des deux parties orale et aborale du disque. Et sur la cicatrice apparaissent des bourgeons branchiaux. Le développement se poursuit jusqu'à la réfection du disque central, l'égalité des bras anciens et nouveaux et la formation de la plaque madréporique dans la partie dépourvue de celle-ci. Ce mode de schizogonie est marqué chez les espèces de la famille des Astériidae, notamment chez *Coscinasterias tenuispina* qui se caractérise par 6 à 9 bras et 1 à 5 madréporites (Grassé, 1948; Boell, 1955; Hickman *et al.*, 1996).

La schizogonie branchiale est une coupure d'un bras ou de plusieurs bras près de leur base, et le disque central reste intact. Chaque bras régénère une étoile complète. En outre, le disque central lui-même régénère 5 bras. Avec une étoile, on aura six (Grassé, 1948). Ce mode de schizogonie est privilégié pour les espèces de genre *Linckia*. Chez les autres espèces d'astéries la régénération est mieux si un cinquième au moins du disque central est arraché avec le bras. Chaque bras sectionné bourgeonne sur sa tranche cicatrisée 4 ou 5 petits mamelons, sur ce rudiment il se forme une bouche, un disque central et des nouveaux courts bras. Sur le disque central apparaît l'anus et les nouveaux madréporites (Grassé, 1948; Boell, 1955; Hickman *et al.*, 1996).

Il semble qu'il y a une alternance entre la reproduction asexuée et sexuée. En effet, avant et pendant la reproduction sexuée on trouve un minimum d'exemplaires à bras inégaux (Grassé, 1948).

I.3.2.5. Système nerveux, sanguin et endocrinien

Le système nerveux des astéries est peu développé. Il est formé d'une couche de neurones (cellules nerveuses) appliqués à la face interne de l'épiderme. Un tel système est peu distinct de l'épithélium épidermique, ce qui vaut aux Asteroidea le qualificatif d'épithélioneuriens. Les neurones épithélioneuriens ne sont pas rassemblés en ganglions, ils sont dispersés le long des voies nerveuses (gouttières ambulacraires), c'est pourquoi ils portent le nom de «cordon» (Hickman *et al.*, 1996).

Chez les "étoiles de mer" deux formations nerveuses sont distinguées un système nerveux superficiel ou oral, de nature sensitive, et un système nerveux profond ou hyponeural, de nature motrice (Huet et Lender, 1979). Le système nerveux superficiel est constitué d'un **anneau nerveux central**, autour de l'orifice buccal (anneau péribuccal), duquel s'étendent des nerfs radiaires le long de chacun des bras (cordon radiaire). À l'extrémité des bras, le nerf radial est en liaison avec la tache oculaire (organe visuel). Le système nerveux profond est situé à la face profonde du cordon radial. Il est formé par les nerfs de Lange et par les nerfs latéraux. Ces nerfs sont en relation notamment avec les podia, les papules et le tégument (Grassé, 1948).

Le rôle du système nerveux est très important dans la régénération des bras des "étoiles de mer". Huet et Lender (1979) ont montré que la présence des nerfs radiaux au niveau du bras sectionné, et sa connexion avec l'anneau nerveux oral sont les deux conditions pour qu'il y ait une régénération. L'action du nerf au cours de régénération se manifeste par un taux important des mitoses.

Le système sanguin fait d'un réseau complexe d'espace (Lacunes) creusé dans le mésenchyme, sans parois propres. Il est formé de deux systèmes, le système hémal et périhémal (Boell, 1955).

Le système hémal et le système périhémal présentent une analogie avec le sang des vertébrés et forment un réseau de communication à travers le tissu connectif et (Boell, 1955). Ils semblent permettre le transport de molécules complexes et des gaz (Hickman *et al.*, 1996).

Le **système endocrinien** est présent chez les astéries avec les deux fonctions endocrine et exocrine. Dans chaque bras on trouve deux gonades qui libèrent des ovules ou des spermatozoïdes, selon le sexe, dans l'eau. Comme elles libèrent aussi des hormones qui contrôlent l'équilibre osmotique et la reproduction (Hickman *et al.*, 1996).

I.4. Rôle écologique, biologique et pharmaceutique des "étoiles de mer"

I.4.1. Rôle écologique

Les astéries jouent un rôle essentiel dans l'écosystème marin. Ce sont des "espèces clés": "**prédateurs clés de voûte**". Elles se nourrissent particulièrement des moules, et limitent ainsi leur nombre de façon à ce que ces organismes n'excluent pas les autres espèces de la communauté.

La disparition des "étoiles de mer" pourrait mettre en péril l'équilibre de l'écosystème marin, car n'étant plus mangés par les étoiles de mer ces mollusques augmentent considérablement (Cain *et al.*, 2006). De plus, les larves des astéries sont un composant important du plancton qui forme un élément de base dans la chaîne trophique marine (Cain *et al.*, 2006).

Les espèces d'astéries de genre *Astropecten* ont la particularité de remuer le sable. En effet, *Astropecten irregularis* est très active et elle se déplace sur les fonds sableux des océans en tamisant le sable à la recherche de la nourriture (Boell, 1955).

I.4.2. Le rôle biologique

De nombreux invertébrés (petites crustacés et gastéropodes) vivent soit en symbiose soit en parasite avec les "étoiles de mer".

Une "étoile de mer" qui a un bras abîmé cherche la "crevette arlequin" (*Hymenocera picta*) qui coupe le bras abîmé, et gagne un repas. L'étoile de mer est ainsi débarrassée de bras abîmé qui pourra régénérer plus tard, car la crevette arlequin ne la tue pas. C'est une symbiose (Boell, 1955).

La crevette-nettoyeuse des étoiles de mer (*Periclimenes soror*) est une crevette mimétique de son hôte (étoile de mer). Elle vit sur le tégument de certaines astéries principalement les espèces qui appartiennent à l'ordre des Valvatida, et elle se nourrit de débris de nourriture ou des micro-organismes qui essaieraient de s'accrocher au tégument (Boell, 1955).

Les étoiles de mer sont aussi la cible de parasitisme. Le protozoaire *Orchitophrya stellarum* parasite les organes reproducteurs mâles des "étoiles de mer" de la famille des asteriidae, particulièrement les espèces de genre *Asterias* (*Asterias rubens*, *Asterias forbesi*) où il se nourrit de leur sperme (Boell, 1955).

Des gastropodes parasitent certaines étoiles de mer tropicales, plus particulièrement les espèces de genre *Thyca* (*Thyca crystallina* et *Thyca pellucida*). Ces parasites se fixent par un disque de fixation circulaire sur la gouttière ambulacraire des astéries de genre *Linckia* (*Linckia laevigata*) (Carton, 1974).

L'annélide polychète de la famille des Amphinomidae: *Pherecardia striata* est un parasite de l'étoile de mer *Acanthaster planci*. Cette espèce s'infiltrer dans la blessure de l'étoile de mer pour la dévorer de l'intérieur (Boell, 1955).

I.4.3. Rôle pharmaceutique

La recherche des molécules "pharmaceutiques" dans le milieu marin est assez récente, et date des années 1950 (Nigrelli, 1952; Yamanouchi, 1955; Guido *et al.*, 1965). Et étant donné la large diversité chimique et les nombreuses activités biologiques des molécules découvertes, la pharmacopée s'intéresse actuellement au développement de nouveaux médicaments à partir de produits naturels marins. En effet, les investigations sur les métabolites secondaires (saponines) des invertébrés marins (éponges, holothuries et astéries) ont abouti à des résultats importants (Ebada *et al.*, 2010; Odintsova *et al.*, 2011). Les informations sur la diversité structurale, la distribution taxonomique, les activités biologiques et les rôles pharmaceutiques de ces substances ont été passées en revue par (Ebada *et al.*, 2010; Naruse *et al.*, 2010; Odintsova *et al.*, 2011).

Les saponines (**glucosides de stérol**) des "étoiles de mer" sont caractérisées par une grande diversité chimique. Elles se différencient par l'agencement de leur partie glycone et aglycone et par la substitution de groupement sulfate (D'Auria *et al.*, 1993; Kornprobst, 2005; Maier, 2008). Elles présentent des hétérogénéités structurales entre les genres, entre les espèces et entre les organes de même individu (Maier, 2008; Demeyer *et al.*, 2014). Les saponines de polyhydroxystéroïdes et les astérosaponines sont les composants majeurs des astéries tandis que les saponines macrocycliques sont principalement présentes chez le genre *Echinaster* (Kornprobst, 2005; Maier 2008) (voir plus loin, p. 50).

Les saponines des astéries ont une action membranolytique forte (voir plus loin, p.39) (De Marino *et al.*, 1998; Maier, 2008). Une telle activité des glycosides de stérol est la conséquence de nombreuses activités pharmaceutiques (l'activité antibactérienne, l'activité antifongiques et l'activité anti-inflammatoire) (Mackie *et al.*, 1977; Voogt et Rheenen, 1982; De Marino *et al.*, 1998).

Les saponines isolées à partir de l'"étoile de mer" *Novodinia antillensis* sont des inhibiteurs de canaux à sodium. Ces canaux agissent dans la perception de la douleur et les saponines qui les inhibent sont vues comme un nouveau type d'analgésique (Yang *et al.*, 2007).

I.5. Pêche, commercialisation et consommation

La valeur marchande des astéries est bien inférieure à celle des holothuries. Elles sont souvent vendues séchées aux touristes sur les littoraux balnéaires du fait de leur forme particulière et la beauté de leurs couleurs.

La consommation des astéries est déconseillée car elles peuvent accumuler des toxines dans leurs chairs, et leur valeur nutritive et gastronomique est quasiment inexistante. Cependant, les espèces de la famille Asteriidae sont occasionnellement consommées frites dans plusieurs pays asiatiques.

II. Substances marines actives

II.1. Généralité

Différents groupes d'invertébrés marins produisent des substances spécifiques qui leurs servent comme un agent défensif contre les prédateurs, les parasites et les infections, ou un agent de communication chimique (interspécifique, intraspécifique). Certains de ces composés ont des propriétés intéressantes qui pourraient être potentiellement exploitées en pharmacologie (Dunlap *et al.*, 2007).

En effet, les organismes marins sont susceptibles de renfermer des substances actives aux propriétés inflammatoires, anticancéreuses, antipaludéennes etc.

Un bilan récent des substances actives marines réalisé par Gouletquer (2012) a démontré que près de 20 000 molécules d'origines marines sont bien décrites, dont plus de 5000 sont utilisées dans différentes applications (médecine, beauté).

Prinsep *et al.*, (2004); Dunlap *et al.*, (2007) ont rapporté que 22 produits naturels marins sont maintenant en essais cliniques. La majorité d'entre eux ont des effets anticancéreux potentiels, d'autres ont un potentiel avantage dans la thérapie de l'inflammation, de la douleur, et la maladie d'alzheimer (Prinsep *et al.*, 2004; Dunlap *et al.*, 2007).

Les premières substances importantes découvertes dans le milieu marin en 1950 par Bergmann et Feeny sont deux nucléosides inhabituels, la spongouridine (**Fig.13. 1**) et la spongouthymidine (**Fig. 13. 2**) de l'éponge des caraïbes *Cryptotethya crypta* (Bergmann et Feeny, 1950). Ces nucléosides possèdent de bonnes activités tumorales et antivirales (Bergmann et Feeny, 1950; 1951). Plus tard, la spongouridine a été découverte sous forme de métabolites naturels de la "Méditerranée gorgones" *Eunicella cavolinii* (Dunlap *et al.*, 2007).

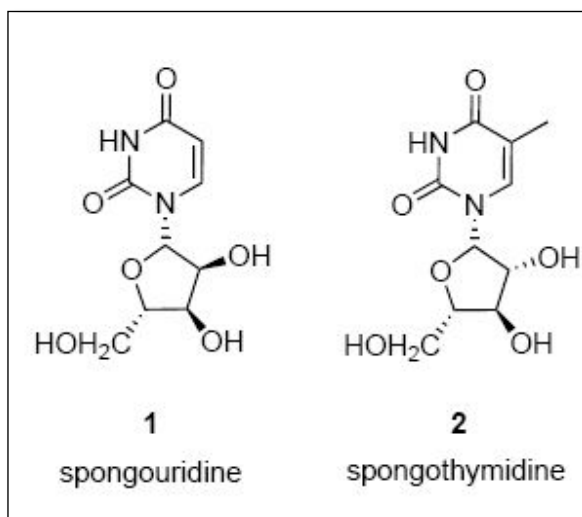


Figure 13: Premières molécules naturelles marine.

(D'après Dunlap *et al.*, 2007).

Grâce au progrès technologique de la plongée sous marine, de nombreux substances actives d'origine marine ont été isolées.

La figure (14) montre la répartition des substances isolées en fonction des organismes.

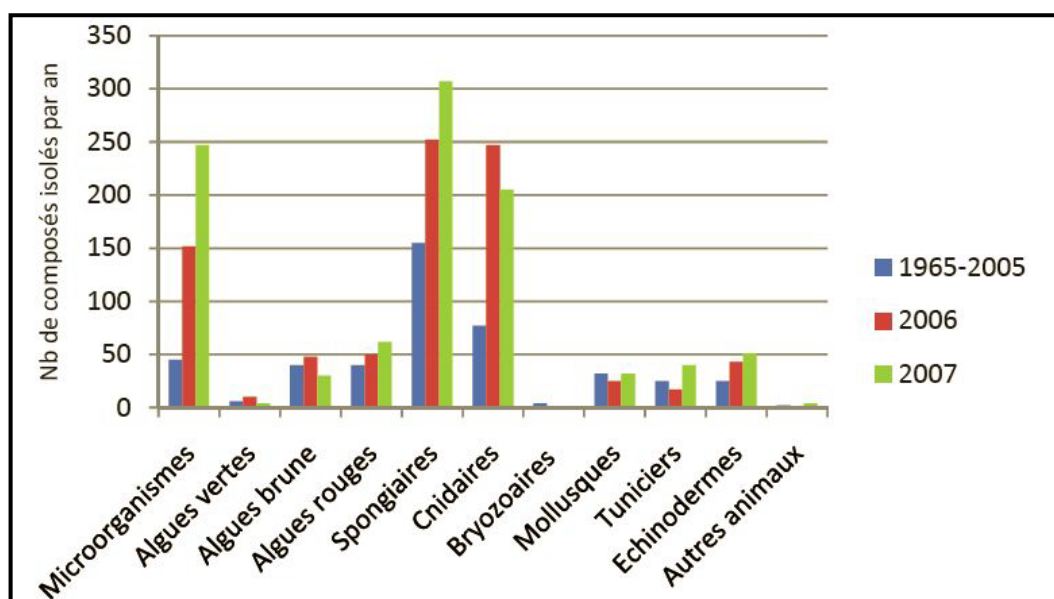


Figure 14: Distributions des produits naturels marins par phylums.

(D'après Blunt *et al.*, 2009).

Le tableau 2 synthétise par phylum l'ensemble des substances les plus actives et leurs intereets.

Tableau 2: Substances actives isolées des espèces marines.

| Phylums | Substances isolées | Intérêts | bibliographies |
|-----------------------------|---|--|--|
| Bryozoaires (Ectoprocta) | Bryostatines (lactones macrolides) | Effets Anticancereux; Famille de la protéine kinase C modulateurs. | Prinsep <i>et al.</i> (2004). Dunlap <i>et al.</i> (2007). Trindade-Silva <i>et al.</i> (2010). |
| Eponges | l'ara-A (vidarabine), | Activité antiviral: <ul style="list-style-type: none"> • L'herpès simplex; • Virus de l'encéphalite. Activité contre le paludisme; Activité contre la tuberculose; Activité antifongique, Activité antivirale. | Laport <i>et al.</i> (2005). |
| | Spongistatins | Effet anticancéreux. | Dunlap <i>et al.</i> (2007). |
| | Mycalamides A, B | Inhibent la synthèse des protéines provoquant l'apoptose; Activité antibiotique potentiel. | Dunlap <i>et al.</i> (2007). |
| | Luffariellolide | Effet anti-inflammatoire; | Ebada <i>et al.</i> (2010). |
| | Chondropsin | Inhibent l'accroissance des tumeurs. | Dunlap <i>et al.</i> (2007). |
| | Isocyanoterpènes kalihinol A et kalihinol F | Inhibe la croissance des bactéries <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Candida albicans</i> , Effets antifongiques contre <i>Mortierella ramannianus</i> , <i>Penicillium</i> <i>chrysogenum</i> . | Paul <i>et al.</i> (2007). |
| | Manoalide | Effets antibiotiques contre <i>Streptomyces pyogenes</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> . | Ebada <i>et al.</i> (2010). |

Tableau 2 (suite): Substances actives isolées des espèces marines.

| Phylums | Substances isolées | Intérêts | bibliographies |
|--------------|---|--|--|
| Tuniciers | Paplidine peptide | Effet potentiel contre Leucémie lymphoblastique aiguë. | Ebada <i>et al.</i> (2010). |
| | Ecteinascidin (ET 743) | 743 Activité anti tumorale: Cancer du sein; Cancer rénale. Sarcomes des tissus mous Comme: ostéosarcomes; mésothéliomes; leiomyosarcomes et liposarcomes. | Ebada <i>et al.</i> (2010). Molinski <i>et al.</i> (2009). |
| | Didemnine B | Efficacité pour le traitement du cancer du pancréas chez des modèles animaux. | Mayer et Gustafson (2008). |
| Gastéropodes | Dolastin | Remède pour le sarcomes des tissus mous, pour le mélanome et cancers du poumon. | Dunlap <i>et al.</i> (2007). Mayer et Gustafson (2008). |
| | Prialt (premier médicament approuvé aux États-Unis en 2004) | Traitement de la douleur chronique de la moelle épinière, | Molinski <i>et al.</i> (2009). |
| Echinodermes | Glycoside de tri terpène Glycoside stéroïdique | Activité antibactérienne Activité antifongique Activité antitumorale Activité antiviral Activité anti-inflammatoire | Van Dyck <i>et al.</i> (2009). D'Auria <i>et al.</i> (1993). Maier (2008). Rodriguez <i>et al.</i> (1993 ²) Stonik <i>et al.</i> (1986 ³). |

²Rodriguez *et al.*, 1993 in Hostettman et Mastron, 1955.³Stonik *et al.*, 1986 in Hostettman et Mastron.

Il est à noter que peu de métabolites secondaires d'origine marine sont utilisés comme médicaments. Actuellement quatre médicaments d'origine marine sont commercialisés. La trabectédine (Yondelis) (**Fig. 15**) issue de l'ascidie *Ecteinascidia turbinata* (Rinehart *et al.*, 1990), a obtenue en juillet 2007 son autorisation de la mise sur le marché AMM. La cytarabine (Aracytine) et la vidarabine (Vira-AR2), respectivement antitumoral et antiviral, elles sont issues de l'éponge *Tectitethya cripta* (Mcintosh *et al.*, 1982). Le ziconotide (Prialt) (**Fig.16**) est un analgésique isolé du mollusque *Conus magnus* (Mcintosh *et al.*, 1982).

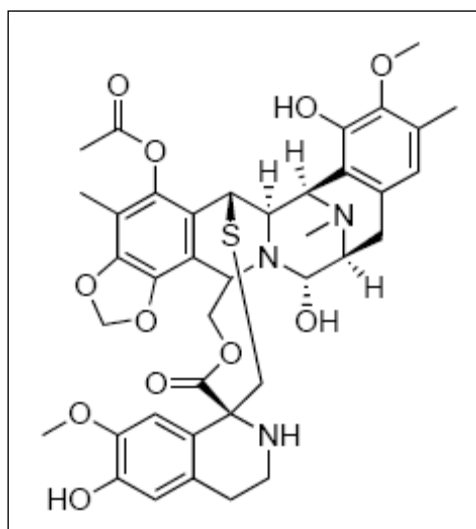


Figure 15: Molécule d'origine marine mise sur le marché, trabectédine (yondelis) (D'après Rinehart *et al.*, 1990).

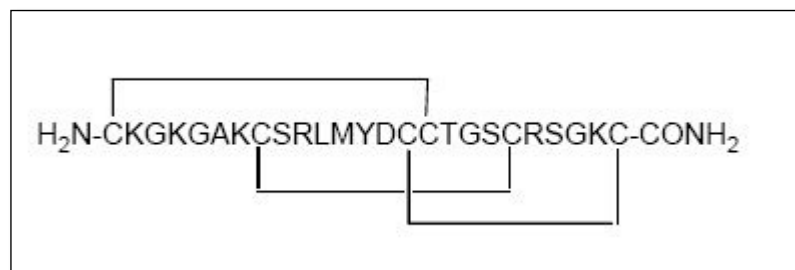


Figure 16: Molécule d'origine marine mise sur le marché, Ziconotide (prialt) (D'après Mcintosh *et al.*, 1982).

II.2. Saponines

Les saponines sont distribuées dans une large variété d'espèces. Découvertes à l'origine dans les végétaux supérieurs, où elles sont très répandues. Plusieurs chercheurs ont identifié ces substances dans des organismes marins tels que les holothuries (Nigrelli, 1952; Yamanouchi, 1955), les "étoiles de mer" (Guido *et al.*, 1965; Mackie et Turner, 1970) et les éponges (Thompson *et al.*, 1985).

Elles sont considérées responsables de nombreuses propriétés pharmacologiques, et elles forment le point de départ de l'**hémi-synthèse** des médicaments stéroïdiens (Sparg *et al.*, 2004; Estrada *et al.*, 2000).

Dans les 30 dernières années, les informations sur la diversité structurale, la distribution taxinomique, l'activité biologiques et les rôles pharmacologiques de ces substances ont été bien examinées.

II.2.1. Définition et structure des saponines

La définition classique des saponines est basée sur leurs activités superficielles (activités de surface), ce sont des hétérosides qu'ont des propriétés tensioactives dans les solutions aqueuses (abaissement de la tension superficielle) et apyrogènes (pouvoir moussant). En effet, le nom saponine dérivé du latin **sapo** (**le préfixe**) qui signifie **mousse** du fait qu'elles peuvent former une mousse stable dans des solutions aqueuses (Jorg *et al.*, 2011). Cette propriété est due au caractère amphotère des saponines (Hostettmann et Marston, 1995) (**Fig. 17**).

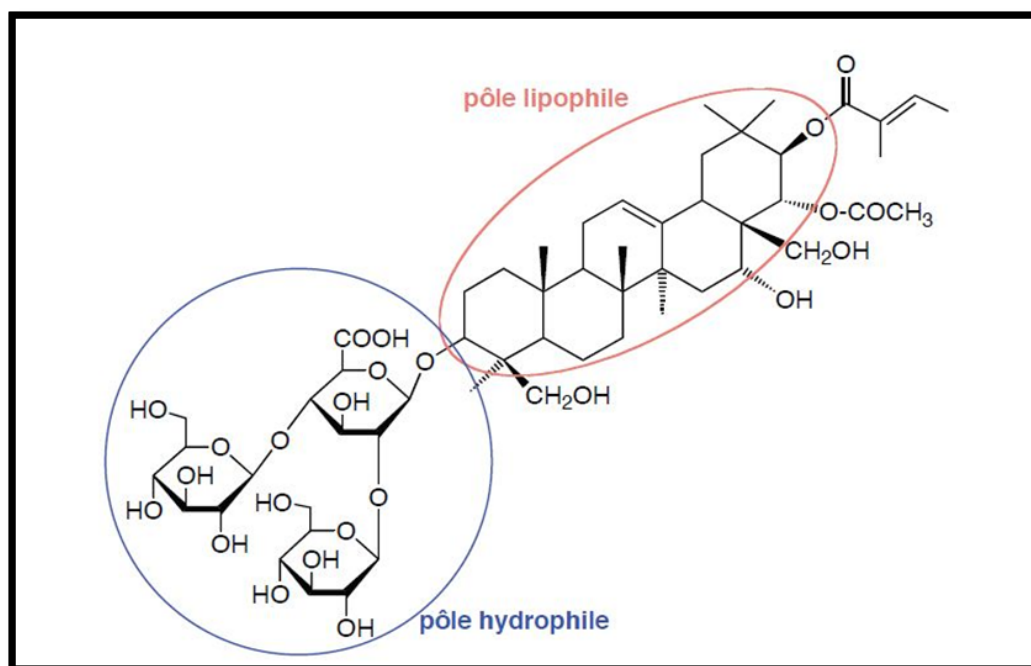


Figure 17: Caractère amphotère des saponines.

(D'après Hostettmann et Marston, 1995 [modifier]).

Les saponines sont maintenant plus commodément définies sur la base de leur structure moléculaire, à savoir les glucosides de triterpène ou les stéroïdes. (Hostettmann et Marston, 1995).

Les saponines sont des glycosides, de poids moléculaire élevé, constituées de deux parties différentes. Un oligosaccharide polaire, forme la partie glycone, lié à une partie non-saccharide ou aglycone (D'Auria *et al.*, 1993) (**Fig. 18**; **Fig. 19**).

Les oses de la partie glycone sont de nature très diverse, oses banales et (ou) acides oroniques (glycuroniques ou galacturoniques). La partie aglycone s'appelle la génine et appartient à deux types structuraux, les stéroïdes ou les triterpénoïdes apolaires (Sandvoss *et al.*, 2001; D'Auria *et al.*, 1993). De ce fait, la nomenclature utilisée pour les saponines distingue les saponines triterpénoïdes (triterpène) et les saponines stéroïdiques.

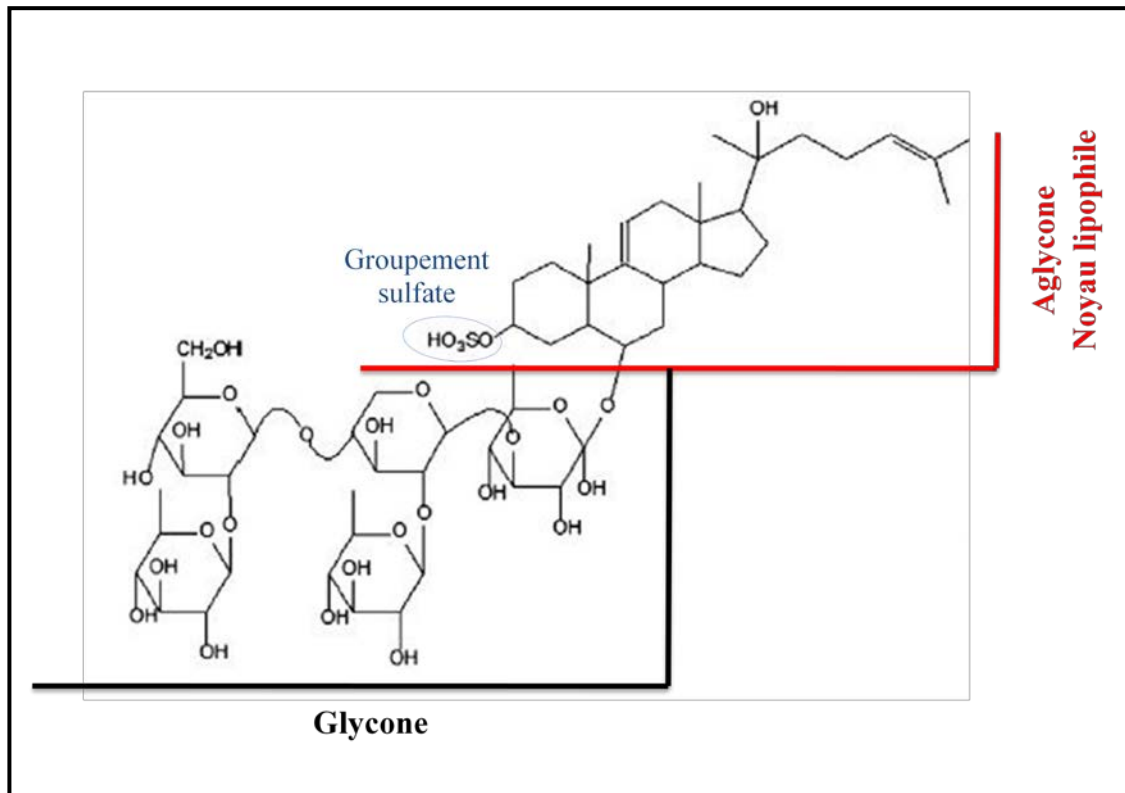


Figure 18: Structure moléculaire des saponines.

(D'après Naruse *et al.*, 2010 [Modifier]).

Les deux parties glycone ou aglycone peuvent être substituées par un ou plusieurs groupements sulfates (Maier, 2008) (**Fig. 19**). Le groupement sulfate joue un rôle important sur l'activité des saponines, il stabilise les fonctions hydroxyles (Maier, 2008) et participe aussi à l'activité hémolytique sur les érythrocytes (Kalinin *et al.*, 1996).

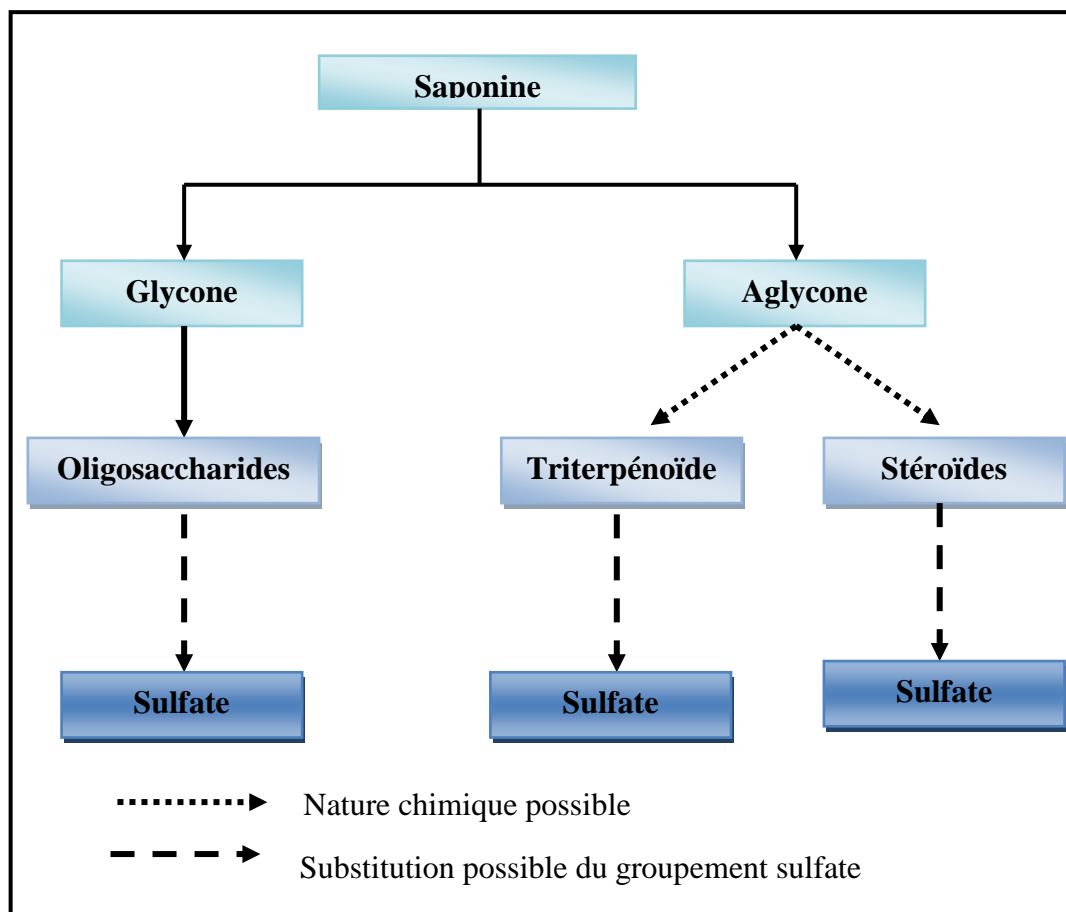


Figure 19: Représentation schématique des différentes parties des saponines.

(D'après D'Auria *et al.*, 1999; Sandvoss *et al.*, 2001[Modifier]).

II.2.2. Classification des saponines

La classification des saponines est basée sur le type de la génine (partie glycone). Elles peuvent être divisées en trois classes importantes, selon Hostettmann et Marston (1995):

- Glycosides de triterpène;
- Glycosides stéroïdes;
- Glycosides stéroïdes d'alcaloïdes.

Les saponines triterpénoïdes sont les plus communes et on les rencontre chez les dicotylédones angiospermes (Sparg *et al.*, 2004) et chez les holothuries (Van Dyck *et al.*, 2009). Le glycone de ces saponines a un hydroxyle du type β en position C_3 substitué par une chaîne osidique. Les positions C_{23} , C_{24} , C_{28} , C_{29} , C_{30} sont fonctionnalisées sous forme hydroxyle, aldéhyde ou acide carboxylique. Les carbones C_2 , C_7 , C_{11} , C_{15} , C_{16} , C_{21} , C_{22} peuvent être hydroxylés. Les génines triterpéniques en C_{30} (30 atomes de carbone) sont dérivées des **noyaux α** ou **β amyrine** pentacyclique, ou parfois **du noyau dammarann** tétracyclique (Hostettmann et Marston, 1995) (**Fig. 20**).

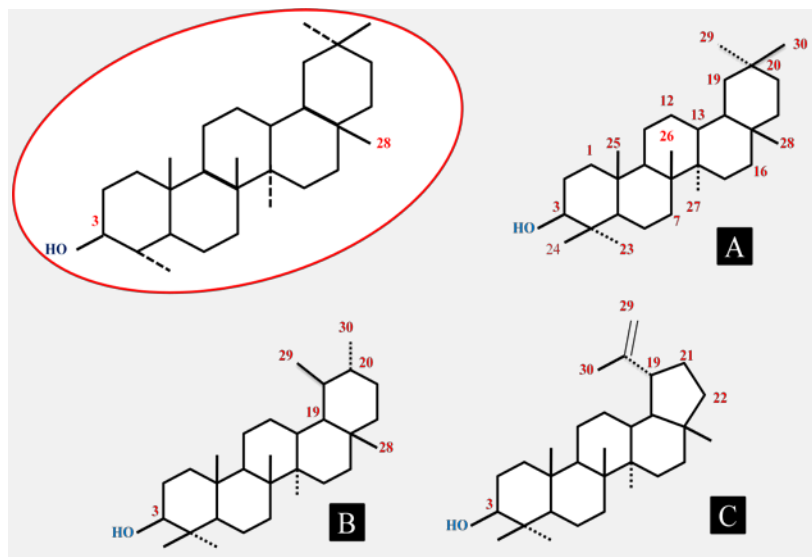


Figure 20: Glycosides de triterpène. **A:** β -Amyrin type (oleananes); **B:** α -Amyrin type (ursanes); **C:** Lupeol type (lupane).

(D'après Hostettmann et Mastron, 1995[Modifier]).

Les saponines stéroïdiennes se rencontrent presque exclusivement dans les monocotylédones angiospermes (Sparg *et al.*, 2004) et chez les "étoiles de mer" (Maier, 2008; D'Auria *et al.*, 1993). Les génines stéroïdiques en C_{27} sont dérivées du noyau spirostane (six cycles), dans quelques cas le groupe hydroxyle se situe à la position 26 (C_{26}) et s'engage dans une liaison glycosidique, ainsi la structure de l'aglycone reste pentacyclique, cela représente un squelette du type **furostane** (Fig. 21. C).

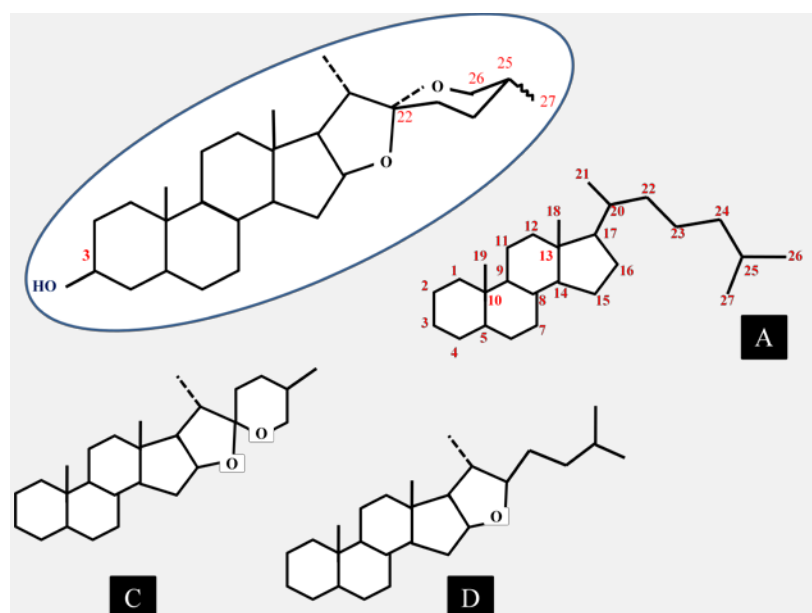


Figure 21: Glycosides stéroïdes. **A:** Cholestan, **B:** Spirostan, **C:** Furostan.

(D'après Hostettmann et Mastron, 1995 [Modifier]).

Certains auteurs distinguent un troisième groupe appelé: **amine stéroïdienne** (Glycosides stéroïdes d'alcaloïdes) (Sparg *et al.*, 2004) (**Fig. 22**).

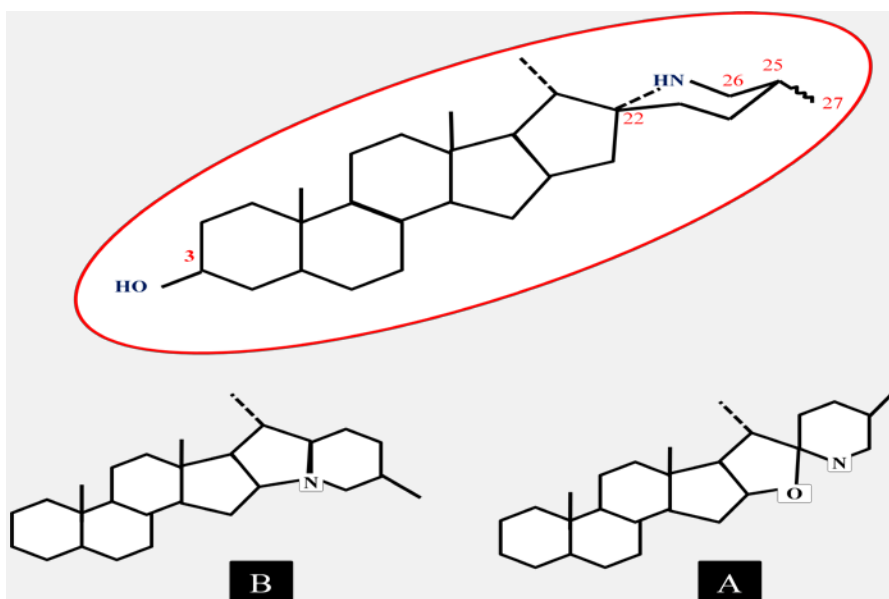


Figure 22: Représentation conventionnelle des glycosides stéroïdes d'alcaloïdes. **A:** Solanide, **B:** Spirostan.

(D'après Hostettmann et Mastron, 1995 [Modifier]).

II.2.3. Biosynthèse des saponines

Les saponines triterpénoïdes et les saponines stéroïdiennes ont une origine biosynthétique commune le squalène (six unités isoprènes) (Hostettman et Marsron, 1995; Kerr et Chen, 1995; Stonik *et al.*, 1999). Elles sont dérivées du squalène par l'intermédiaire de Squalène-2,3-époxydes, suivi d'une cyclisation concentrée (Hostettman et Marsron, 1995). En effet, le squalène est le précurseur des isomères cycloarténol; lanostérol et parkéol.

Pour la biosynthèse **des stéroïdes**, le squalène se cyclise en lanostérol (a une double liaison entre le C₉ et le C₁₁). Le lanostérol se réarrange pour donner le cholestérol qu'est le précurseur des saponines stéroïdiques (Hostettman et Marsron, 1995; Kerr et Chen, 1995; Stonik *et al.*, 1999).

Dans le cas **des triterpènes** le squalène est le précurseur de parkéol (a une double liaison entre C₈ et C₉) et l'holostanol qui sont à l'origine des saponines triterpénoïdiques (Hostettman et Marsron, 1995; Kerr et Chen, 1995; Stonik *et al.*, 1999).

Il est à noter que pour les deux classes des saponines, à savoir les saponines triterpénoïdes et les saponines stéroïdiennes, beaucoup de travaux restent à effectuer afin de clarifier les intermédiaires de la biosynthèse et la classification des molécules insaturées en C₉-C₁₁ et C₈-C₉ (Maier, 2008; Stonik 1999).

La figure 23 est une représentation hypothétique de la biosynthèse des stéroïdes et triterpénoïdes.

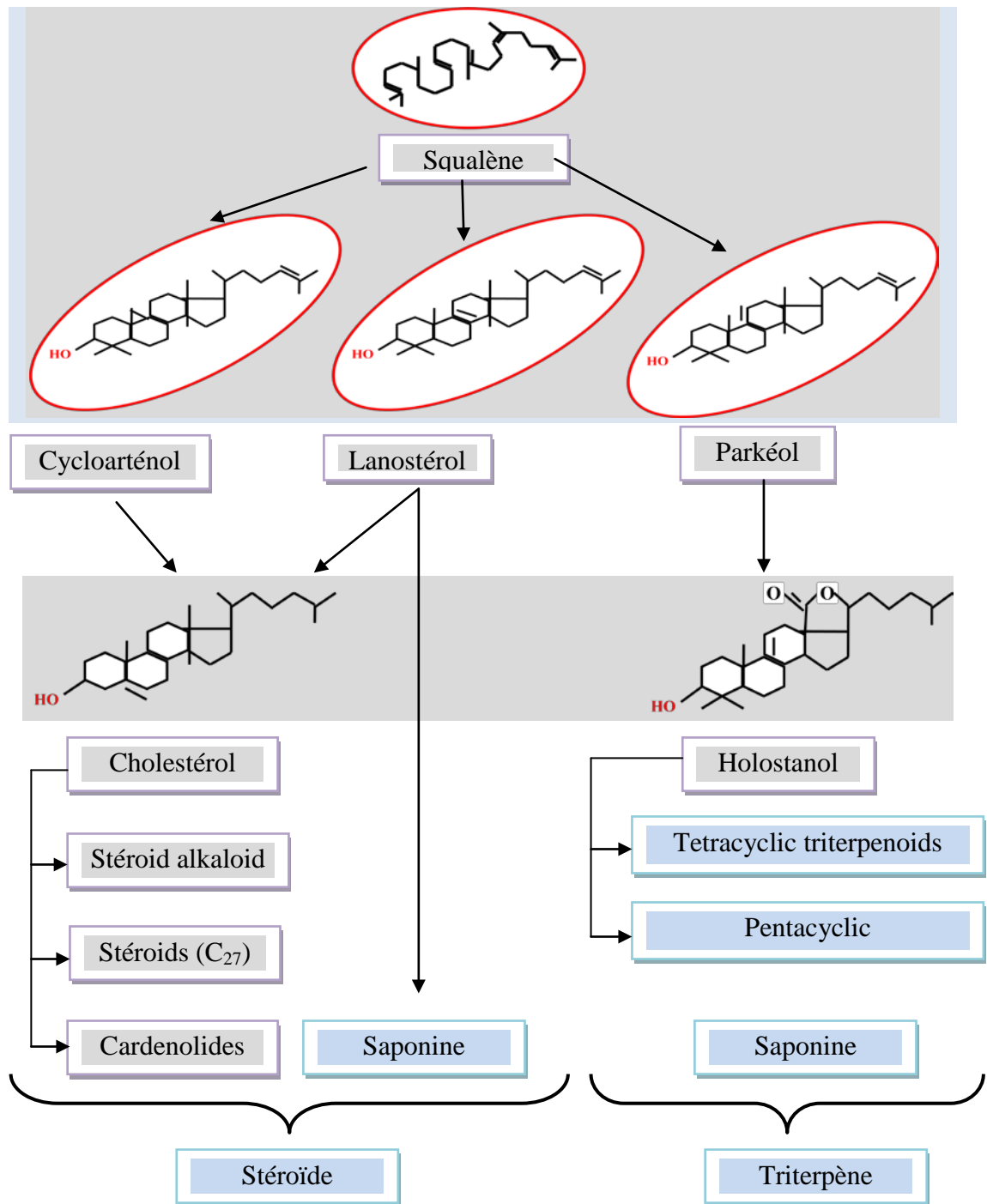


Figure 27 : Représentation schématique de la biosynthèse des stéroïdes et de triterpénoïde. Selon, Maier (2008); Stonik *et al.*, (1999); Hostettman et Marston (1995) et Kerr et Chen, (1995).

II.2.4. Propriétés des saponines

Dans les solutions aqueuses le caractère amphotère des saponines définit ses propriétés physico-chimiques notamment la solubilité et la formation d'une mousse stable (Tyler *et al.*, 1981⁴).

Les saponines sont solubles dans l'eau, l'alcool, le chloroforme, le benzène, l'acétate éthylique. Le glycone est soluble dans l'eau et l'alcool dilué et insoluble dans les solvants organiques apolaires. La sapogénine est insoluble dans l'eau, mais soluble dans des solvants organiques.

La formation des mousses stables est la caractéristique principale des saponines. En effet, la présence des saponines est mise en évidence par la formation de cette mousse stable (Steinner et Holtzem, 1955⁵) et le mécanisme de sa formation selon la littérature n'est pas clair (Hostettmann et Marston, 1995).

II.2.5. Activités des saponines

II.2.5.1. Activité membranolytique

L'activité membranolytique est l'activité principale reconnue pour les saponines. Les saponines provoquent la lyse des cellules des champignons, des virus, et des bactéries, grâce à leurs propriétés tensioactives. (Hostettmann et Martson, 1995; Kalinin *et al.*, 1996; Jorg *et al.*, 2011). En effet, les saponines avec le cholestérol des membranes cellulaires et l'ergostérol des membranes fongiques (**Fig. 24**) forment des complexes qui génèrent des petits canaux solitaires et qui deviennent de plus en plus larges avec de fortes doses (Stonik *et al.*, 1999; Jorg *et al.*, 2011) (**Fig. 25**). Cette capacité spécifique a contribué à leur usage dans les recherches physiologiques (Authi *et al.*, 1988; Chio *et al.*, 2001; Plock *et al.*, 2001).

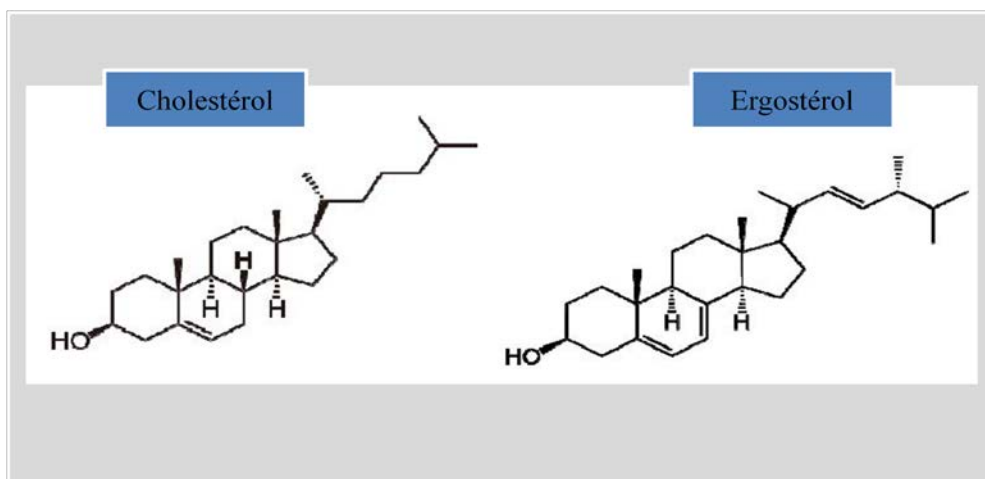


Figure 24: Structure moléculaire de cholestérol et de l'ergostérol.
(D'après Hostettmann et Martson, 1995).

⁴ Tyler *et al.*, 1981 in Sparg *et al.*, 2004.

⁵ Steinner et Holtzem, 1955 in Hostettmann et Martson, 1995.

Le mécanisme de la formation des complexes par l'activité membranolytique s'effectue comme suit:

Les saponines s'intègrent dans la membrane grâce à leur partie hydrophobe (sapogénines). Dans la membrane, elles forment des complexes avec les stérols, qui par la suite, s'accumulent en plaques grâce à l'interaction de leurs résidus saccharidiques (orienté à la phase externe de la membrane) (Armah *et al.*, 1999⁶). L'interférence stérique de ces fractions saccharidiques provoque la courbure de la membrane conduisant ensuite soit à:

- La formation de pores dans la membrane (Stonik *et al.*, 1999; Jorg *et al.*, 2011) (**Fig. 25. A**);
- La formation des protubérances hemi-tubulaires dans la membrane (Keukens *et al.*, 1995⁷) (**Fig. 25. B**);
- La formation de complexe avec les stérols intégrés à la membrane (Lin et Wang, 2010⁸) (**Fig. 25. C**).

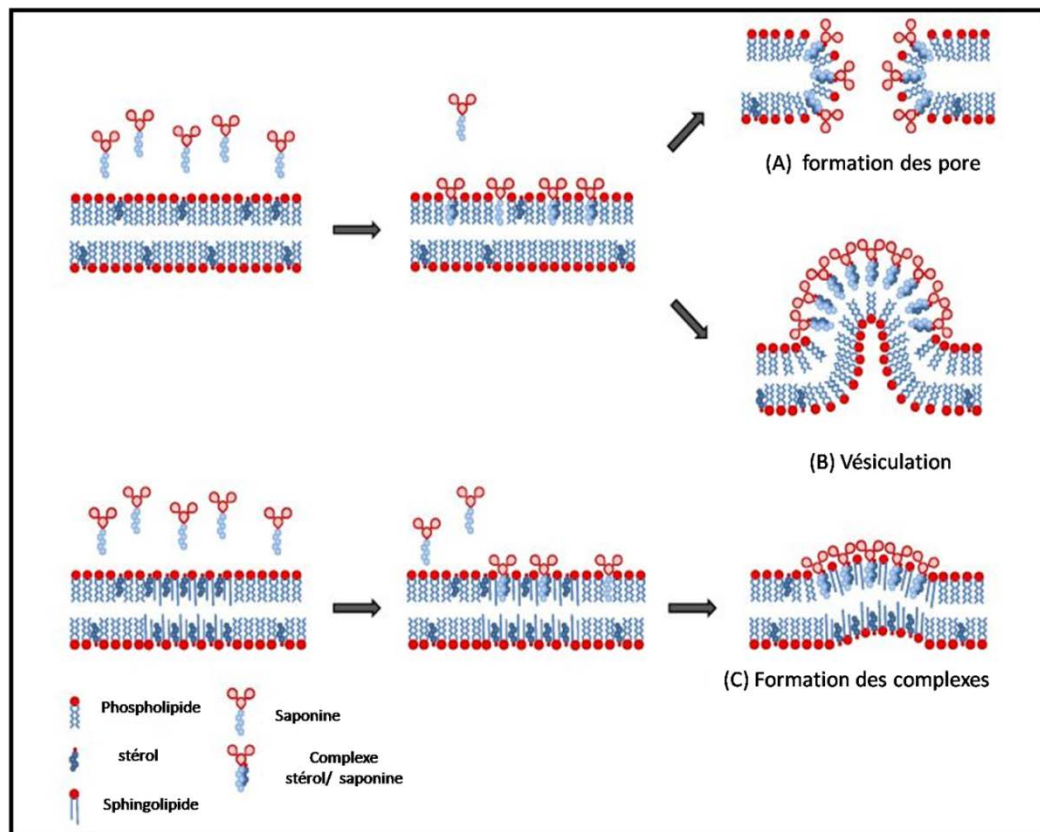


Figure 25: Modèle schématique des mécanismes moléculaires des activités des saponines sur les membranes.

(D'après Jorg *et al.*, 2011[Modifier]).

⁶ Armah et autres, 1999 in Jorg *et al.*, 2011.

⁷ Keukens et autres, 1995 in Jorg *et al.*, 2011.

⁸ Lin et Wang, 2010 in Jorg *et al.*, 2011.

Les effets de la formation de ces complexes sur la cellule selon Stonik *et al.* (1999); Jorg *et al.* (2011) sont:

- La Modification de la perméabilité, de la stabilité et de la microviscosité des membranes ce qui induit à terme la lyse de la cellule;
- La modification des interactions lipide-protéine ce qui rend les enzymes membranaires notamment l'ATP ase inactive;
- L'inhibition de transport actif provoque la libération des substances de faibles poids moléculaires (K⁺, phosphore inorganique) vers l'extérieur de la cellule.

II.2.5.2. Activités pharmacologiques

Un grand nombre d'effets biologiques et de propriétés pharmacologiques des saponines (propriété hémolytique, antitumorale, anti-inflammatoire, antifongique, antibactérienne, antivirale, ichthyotoxique, cytostatique et antinéoplasique) résultent de leurs propriétés tensioactives (Kerr et Chen 1995; Prokof'eva *et al.*, 2003; Caulier *et al.*, 2011).

II.2.5.2.1. Activité hémolytique

L'activité hémolytique est intensivement étudiée. Elle a été rapportée la première fois par Kobert en 1887⁹. Elle désigne la capacité des saponines à causer la lyse des érythrocytes des mammifères (Bangham et Horne 1962; Dourmashkin *et al.*, 1962¹⁰; Chwalek *et al.*, 2006; Jorg *et al.*, 2011).

Le potentiel hémolytique des saponines est affecté par toutes les caractéristiques de sa composition chimique, la structure de la partie aglycone (Voutquenne *et al.*, 2002; Gauthier *et al.*, 2009), le nombre des saccharides de la chaîne latérale et la longueur de la chaîne latérale (Voutquenne *et al.*, 2002; Chwalek *et al.*, 2006) le type et la variation de l'enchaînement des unités de sucre dans la chaîne latérale (Chwalek *et al.*, 2006) et la position de(s)groupement(e) sulfate(s) (Kalinin *et al.*, 1996).

II.2.5.2.2. Activité antitumorale

Selon Rao et Sung (1995); De Marino *et al.* (1998); Podolak *et al.* (1998) les saponines isolées des différentes plantes et animaux empêchent la croissance des cellules cancéreuses *in vitro*. Cet effet dépressif contre les cellules cancéreuses n'est pas lié à l'activité hémolytique et peut avoir lieu par des mécanismes très divers et très complexes (destruction des érythrocytes) (Mimaki *et al.*, 1998).

II.2.5.2.3. Activité antifongique

L'activité des saponines contre les mycètes a été prouvée par plusieurs chercheurs (Kim *et al.*, 1998; Takechi *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 2000; Delmas *et al.*, 2000).

⁹ Kobert, 1887 in Hostettmann et Martson, 1995.

¹⁰ Dourmashkin *et al* 1962 in Jorg *et al.*, 2011.

L'activité fongique contre *Trichoderma viride* (champignon ascomycète de la famille des Hypocreaceae) a été employée comme méthode d'identification des saponines (Kim *et al.*, 1998).

Le mécanisme principal suggéré pour l'activité antifongique des saponines est leurs interactions avec l'ergostérol des membranes fongiques (Stonik *et al.*, 1999).

Selon Takechi *et al.* (1999) les saponines stéroïdiques montrent une activité antifongique plus importante que les saponines triterpénoïdes.

II.2.5.2.4. Activité antivirale

Les saponines sont capables de mettre des virus hors tension, à titre d'exemple l'acide oleanolic de sapogénines de triterpénoïde empêche la réplique de virus de l'immunodéficience humaine (HIV1), en empêchant l'activité de protéase de HIV1 (Mengoni *et al.*, 2002).

Les saponines stéroïdiques de *Asterias forbesi*, *Acanthaster Planci* et *Asterina pectinifera* sont capables d'inhiber la multiplication de virus d'influenza (Hostettmann et Martson, 1995).

Andersson *et al.* (1989) ont démontré que les saponines de *Crossaster papposus* inhibent la formation de plaque du virus de la pseudo-rage.

II.2.5.2.5. Activité antibactérienne

Plusieurs recherches ont démontré que les saponines des plantes leur servent de protection contre les attaques bactériennes. L'activité antimicrobienne est réponde dans les deux types de saponines (stéroïdiques et triterpénoïde).

Certaines saponines ne montrent aucun effet contre les bactéries Gram négatif, mais montrent une faible activité contre les bactéries Gram positif (Amnisimov *et al.*, 1980). Exemple: (i) Chowdhury *et al.* (1987¹¹) ont prouvé que les saponines triterpénoïdes d' *Hydrocotyle asiatica* (plante herbacée de la famille des Apiaceae) montrent une activité contre les bactéries causant la diarrhée (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*); (ii) Les saponines stéroïdiques isolées de *Dracaena mannii* (une plante arbustive de la famille des *Dracaenaceae*) inhibent la prolifération de *staphylococcus aureus* et de *streptococcus pyogenes* (Bactéries Gram positif), et n'ont pas un effet sur les bactéries Gram négatif (Okunjii *et al.*, 1990¹²); (iii) les recherches de Minale *et al.* (1982) et Andersson *et al.* (1987; 1989) ont démontré que les astérosaponines sont actives sur *staphylococcus aureus* (Gram positif) et inactives sur *Escherichia coli* (Gram négatif).

II.2.5.3. Activité cytotoxique

Il a été clairement prouvé par plusieurs chercheurs que l'activité cytotoxique des saponines des invertébrés marins sur les autres animaux est considérable.

En effet, les saponines d'holothuries et d'astéries sont connues par leurs effets d'immobiliser le sperme de l'oursin et d'inhiber le développement des œufs fertiles (Amnisimov *et al.*, 1980; Nobuhiro *et al.*, 1984).

¹¹ Chowdhury *et al.*, 1987 in Hostettmann et Martson, 1995.

¹² Okunjii *et al.*, 1990 in Hostettmann et Martson, 1995.

Les saponines ont de nombreuses activités biologiques et plusieurs rôles dans la défense chimique (Mayo et Mackie, 1976; Kubanek *et al.*, 2002; Van Dyck *et al.*, 2009), la communication chimique (kairomone) (Van Dyck *et al.*, 2009) et la reproduction (Mackie *et al.*, 1977; Stonik *et al.*, 1999) (Voir plus loin, p.45; 48).

II.2.6. Saponines des plantes

Les saponines des plantes sont très exploitées par l'industrie, elles sont utilisées comme additifs à la nourriture et aux produits de beauté (Jorg *et al.*, 2011). Elles peuvent être exploitées comme des agents de déplacement de cholestérol des produits laitiers (San Martín et Briones, 1999) et comme vermicides botaniques (Jorg *et al.*, 2011).

Les saponines des plantes possèdent des activités pharmacologiques très importantes à savoir l'activité anti-inflammatoire (Taponjou *et al.*, 2008), anticancéreuse (Saleem *et al.*, 2010) et antifongique (Coleman *et al.*, 2010).

II.2.7. Saponines des échinodermes

Dans l'embranchement des échinodermes qui referment cinq classes (les Crinoïdes, les Echinides, les Astérides, les Ophiurides et les Holothurides) seuls les "concombres de mer" et les "étoiles de mer" contiennent systématiquement des saponines (Prokof'eva *et al.*, 2003).

De nombreuses recherches ont été effectuées sur les saponines des holothuries et d'astéries. Matsuno et Ishida (1969); Yasumoto *et al.* (1966) ont fait état de la distribution des saponines dans les différentes parties du corps des holothuries. Selon ces auteurs les saponines sont présentes dans la totalité de l'holothurie à savoir les organes digestifs, les muscles rétracteurs longitudinaux, l'épiderme, les vaisseaux hémaux intestinaux, les organes génitaux et les tubes de Cuviers. Les "étoiles de mer" ont des saponines plus particulièrement dans l'estomac, les podia, les gonades, les caeca pyloriques et le tégument (Mackie *et al.*, 1977; Garneau *et al.*, 1989; Demeyer *et al.*, 2014).

Chez les échinodermes deux classes des saponines ont été isolées, celles des **holothuries sont des glycosides de triterpène** (Van Dyck *et al.*, 2009), et celles des **astéries sont des glycosides de stérol** (D'Auria *et al.*, 1993; Maier, 2008).

La partie glycone des saponines des holothuries et des astéries présente un ensemble des disparités numériques, de compositions et d'enchainements, ce qui explique la grande diversité des congénères de ces molécules (Maier, 2008).

Les différences structurelles entre les saponines des holothuries et des astéries sont synthétisées dans le **tableau 3**.

Tableau 3: Différences structurelles entre les saponines des astéries et des holothuries.

| Différences | Etoile de mer | Holothurie | bibliographies |
|--|--|--|---|
| Partie glycone | | | |
| Nombre de saccharide | Un à six saccharides. | Deux à six saccharides Diglycosides à hexasaccharides. | D'Auria <i>et al.</i> (1993). De Marino <i>et al.</i> (1998). |
| Composition de glycone | Le glucose, le quinovose, le fructose, le xylose. | Le quinovose, le xylose, le 3-O-methylglucose et le 3-Omethylxylose. | Maier (2008). |
| Partie aglycone | | | |
| Composition d'Aglycone | Aglycone de type stéroïdique. | Aglycone de type terpénoïde. | Hostettmann et Martson (1995). Kerr <i>et al.</i> (1995). Maier (2008). Van Dyck <i>et al.</i> (2009). |
| Biosynthèse d'aglycone | Le squalène se cyclise en lanosterol . Lanosterol précurseur des saponines stéroïdiques. | Le squalène se cyclise en parkéol . Le parkéole se réarrange en l'holostanol . L'holostanol précurseur des saponines triterpénoïdiques. | Hostettmann et Martson (1995). Maier (2008). |
| Partie sulfate | | | |
| Nombre de sulfate | Un sulfate. | Un ou plusieurs (deux ou trois), voir aucun. | Kornprobst <i>et al.</i> (1998). Maier (2008). |
| Position de substitution de sulfate | Sulfaté sur le carbone 3 (C ₃) de la partie stéroïdique et jamais sur l'oligosaccharide. | Sulfaté sur l'oligosaccharide. | Kornprobst <i>et al.</i> (1998). Maier (2008). |

II.2.7.1. Saponines des holothuries

Les saponines interviennent comme métabolites secondaires de défense chez les holothuries. Van Dyck *et al.* (2009; 2010; 2011) ont démontré l'existence de nombreux isomères de saponines qui ont un rôle défensif pour l'espèce *Holothuria forskali*. L'expression de ces isomères diffère selon l'état de stress, l'hypothèse est que certaines saponines sont plus exprimées que d'autres lors du stress de l'animal (Van Dyck *et al.*, 2009; 2010; 2011). Les saponines des holothuries sont en quantité plus importante dans les tubes de Cuvier que dans le tégument ou les autres organes (Van Dyck *et al.*, 2009). Ces molécules interviennent dans l'anti-prédation envers les poissons, compte tenu de «mauvais goût» qui donne au tube de Cuvier expulsé à l'extérieur en cas d'agression sous forme des filaments blanchâtres (Van Dyck *et al.*, 2009; 2010; 2011).

Plusieurs études ont mis en évidence la participation des saponines dans la communication chimique, où elles agissent comme signal chimique (kairomone) dans la reconnaissance hôte-symbiote. Selon Caulier (2009) le crabe *Lissocarcinus orbicularis* est capable de reconnaître spécifiquement l'holothurie hôte grâce à la reconnaissance de ses saponines.

Les saponines participent dans la régulation de la reproduction chez les holothuries. Les saponines semblent agir sur la synchronisation du processus de maturation des ovocytes en empêchant l'accumulation de Ca^{2+} , ce qui inhibe la maturation spontanée dans cette période (Stonik *et al.*, 1999).

II.2.7.2. Saponines des astéries

Trois catégories de saponines ont été identifiées chez les "étoiles de mer", les glycosides de polyhydroxystéroïdes, les asterosaponins et les saponines macrocycliques (D'Auria *et al.*, 1993; Maier, 2008). Les glycosides de polyhydroxystéroïdes et les astérosaponines sont les deux types les plus répandus chez les "étoiles de mer" tandis que les saponines macrocycliques sont présentes chez le genre *Echinaster* (Kornprobst *et al.*, 1998; Maier *et al.*, 2008). Ce qui fait la différence entre les trois catégories c'est l'enchaînement de la partie glycone, l'enchaînement de l'aglycone et la substitution par le groupement(s) sulfate (s) (D'Auria *et al.*, 1993; Kornprobst *et al.*, 1998; Maier, 2008).

Selon D'Auria *et al.* (1993); Kornprobst (2005); Maier (2008) **les glycosides de polyhydroxystéroïdes** se caractérisent par une variabilité structurelle due à:

- La présence de nombreuses fonctions hydroxyles (**Fig. 26**);
- La présence de sulfate (s);
- La présence d'une instauration sur le stéroïde;
- La composition de la partie aglycone;
- La composition de la partie oligosaccharide.

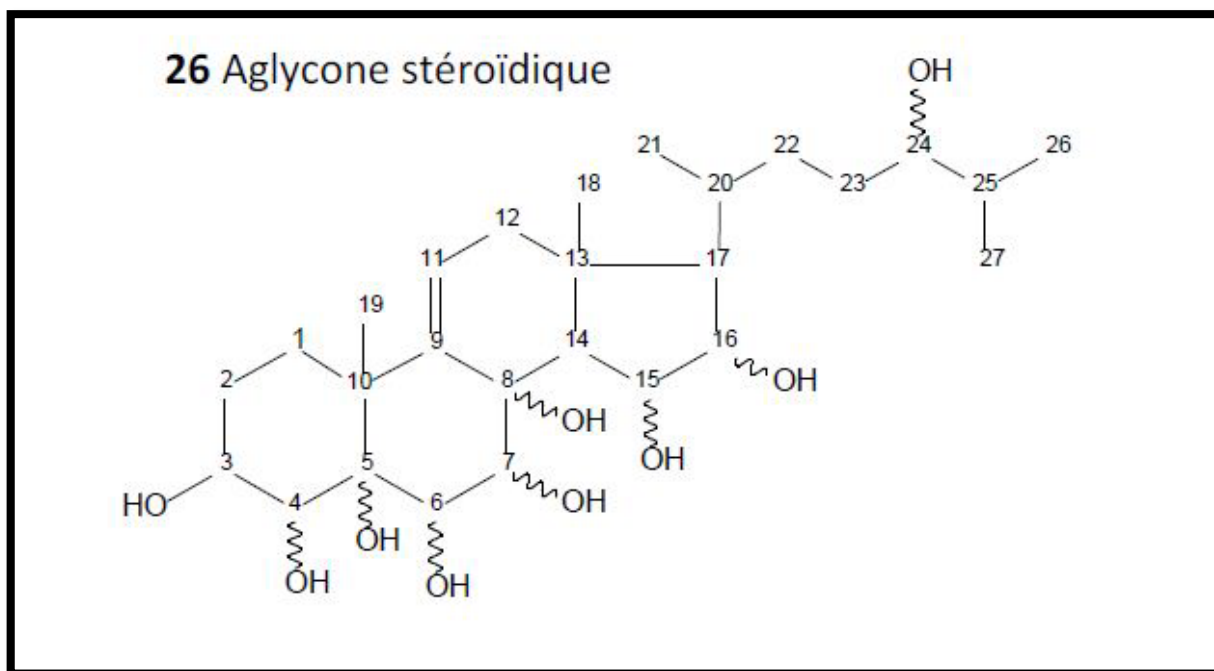


Figure 26: Substitution des fonctions hydroxyle sur l'aglycone.

(D'après D'Auria *et al.*, 1993).

Les astérosaponines sont des pentaglycosides ou hexaglycosides stéroïdiques sulfatés, de haut poids moléculaire 1500 da (Dalton). Leur diversité structurelle est moindre par rapport aux polyhydroxysteroides car le sulfate se substitue toujours en C3 de l'aglycone, et la position des fonctions hydroxyle et de double liaison $\Delta^{9,11}$ ne change pas (Maier, 2008).

Les saponines macrocycliques ont une structure différente des deux premières catégories. Elles présentent chez le genre *Echinaster* (D'Auria *et al.*, 1993; Kornprobst, 2005; Maier, 2008). Leur partie glycone est caractérisée par la présence de trois saccharides formant un cycle entre le C₃ et le C₆ de l'aglycone d'où le nom saponine macrocyclique (D'Auria *et al.*, 1993; Kornprobst, 2005; Maier, 2008).

Les différences structurelles entre les trois catégories des saponines sont reportées dans le **tableau 4**.

Tableau 4: Différences structurales des saponines des astéries.

| Différence | Glycosides de polyhydroxysteroides | Astérosaponines | Macrocycliques | Bibliographies |
|--|--|--|---|--|
| Partie glycone | | | | |
| Nombre de saccharide | Deux à trois saccharides. | Cinq à six saccharides. | Trois saccharides formant un cycle entre le C ₃ et C ₆ . | Kornprobst (2005). |
| Composition | β-D-xylopyranose méthylé en position 2 ou 4. β-L-arabinofuranose. Xylofuranose. Galactofuranose. Fucofuranose. Arabinopyranose. | β-D-fucopyranose. β-D-quinovopyranose. β-D-xylopyranose. β-D-galactopyranose. β-D-glucopyranose. D-6-deoxy-xylo-hex-4-ulose (DXHU). α-L-arabinopyranose. | β-D-glucopyranose. β-D-galactopyranose. Présence d'une fonction acide glucuronique sur l'oligosaccharide. | Minale <i>et al.</i> (1978; 1979; 1982). Riccio <i>et al.</i> (1981). |
| La liaison avec la partie aglycone | Lié en C ₃ ou C ₂₄ . | Lié en C ₃ . | Entre C ₃ et C ₆ . | Maier (2008). |
| Partie aglycone | | | | |
| Composition de l'aglycone | Aglycone polyhydroxyle stéroïdique. | Aglycone stéroïdique Δ ^{9,11} -3β,6α-dihydroxysteroides | Δ ^{7,8} -3β,6β-dihydroxysteroides. | D'Auria <i>et al.</i> (1993). |
| Présence de la fonction hydroxyle | Présente. | Présente. | Présente. | |
| Position de la fonction hydroxyle | En C ₃ toujours présente. Observés aussi en C ₆ , C ₈ , C ₁₅ , C ₂₄ . Observée rarement en C ₄ , C ₅ , C ₇ , C ₁₆ . | En C ₉ et C ₁₁ . | / | |
| Partie sulfate | | | | |
| Nombre de sulfate | Un ou aucun. | Un groupe. | Fonction sulfate Absente. | |
| Position de substitution de sulfate | C ₃ , C ₂₄ . | C ₃ . | / | |

II.2.7.2.1. Propriétés biologiques et pharmacologiques des saponines des astéries

Les saponines des "étoiles de mer " présentent des propriétés biologiques très importantes à savoir l'intervention dans la communication chimique et la reproduction.

Plusieurs études ont mis en évidence la participation des saponines comme kairomone dans les relations prédateur-proie. En effet, les saponines de l'épiderme de certaines astéries (*Leptasterias polaris*, *Marthasterias glacialis* et *Asterias rubens*) sont chimiodétectées par les coquilles St-Jacques (*Pecten maximus*) (Thomas et Gruffydd, 1971), les oursins (*Sphaerechinus granularis*) (Ghyoot, 1991) et les mollusques (*Buccinum undatum*) (Makie *et al.*, 1968; Harvey *et al.*, 1978). La détection des saponines par ces espèces provoque des réactions de fuite qui deviennent d'autant plus importantes avec l'augmentation de la concentration des saponines dans l'eau de mer (Thomas et Gruffydd, 1971).

Plusieurs chercheurs ont démontré que la quantité des saponines dans les gonades des "étoiles de mer" présente de forte variation saisonnière, ce qui hypothétise l'intervention de ces molécules dans la reproduction des "étoiles de mer" (Ikegami *et al.*, 1972 a; b; Gilgan *et al.*, 1976; Mackie *et al.*, 1977; Voogt et Huiskanps, 1979; Naruse *et al.*, 2010).

Les autres propriétés fonctionnelles des saponines des "étoiles de mer" à savoir les propriétés biologiques et pharmacologiques sont résumées dans le **tableau 5**.

Il est très important de noter que les étoiles de mer et les holothuries sont immunisées contre leurs saponines, car leurs stérols membranaires comprennent une double liaison en C₇, contrairement aux stérols des membranes cellulaires et fongiques qui ont une double liaison en C₅ (Maier, 2008).

Tableau 5: Propriétés fonctionnelles des saponines des astéries.

| Propriétés | | Bibliographies | |
|--|--|---|---------------------------------|
| Propriétés biologiques | Rôle dans la digestion. | Garneau <i>et al.</i> (1989). Kisha <i>et al.</i> (2001). | |
| | Rôle dans la reproduction. | Mackie <i>et al.</i> (1977). Naruse <i>et al.</i> (2010). | |
| | Rôle dans la signalisation chimique et communication chimique interspécifique. | Mackie <i>et al.</i> (1968). Harvey <i>et al.</i> (1987). | |
| | Activité répulsive montrée par d'autres organismes marins. | Thomas et Gruffydd (1971). Harvey <i>et al.</i> (1987). | |
| | Activité cytotoxique. Anomalies dans le développement précoce des larves des oursins. | Nigrelli <i>et al.</i> (1967). | |
| | Activité ichthyotoxique. | Mackie <i>et al.</i> (1977). | |
| | Propriétés pharmaceutiques | Activité antinéoplasique. | Nigrelli <i>et al.</i> (1967). |
| | | Activité antivirale. | Andersson <i>et al.</i> (1989). |
| | | Activité antifongique. | Nigrelli <i>et al.</i> (1967). |
| | | Blocus phrénique de nerf diaphragme du rat. | Friess (1972). |
| Activité anti-inflammatoire. | | Mackie <i>et al.</i> (1977). | |
| Activité hémolytique. Activité antibactérienne. Activité antifongique. | | Mackie <i>et al.</i> (1975;1977). Voogt et huishkamp (1979). Voogt et Rheenen (1982). Voogt et Groot (1983). | |

I.2.7.2.2. Saponines d'*Echinaster sepositus*

Les saponines d'*Echinaster sepositus* au même titre que les saponines des espèces du genre *Echinaster* font partie de la catégorie des saponines macrocycliques (D'Auria *et al.*, 1993; Kornprobst, 2005; Maier, 2008). Le glucoside stéroïdien major d'*Echinaster sepositus* est nommé **Sepositoside A: 3 β -HYDROXY-5 α -CHOLESTA 8,14-DIEN-23-ONE** (Minale *et al.*, 1978). Il présente 80% du mélange total de saponine avec un poids moléculaire de l'ordre de 899,02 da (Dalton) (De Simone *et al.*, 1979) (Fig. 27).

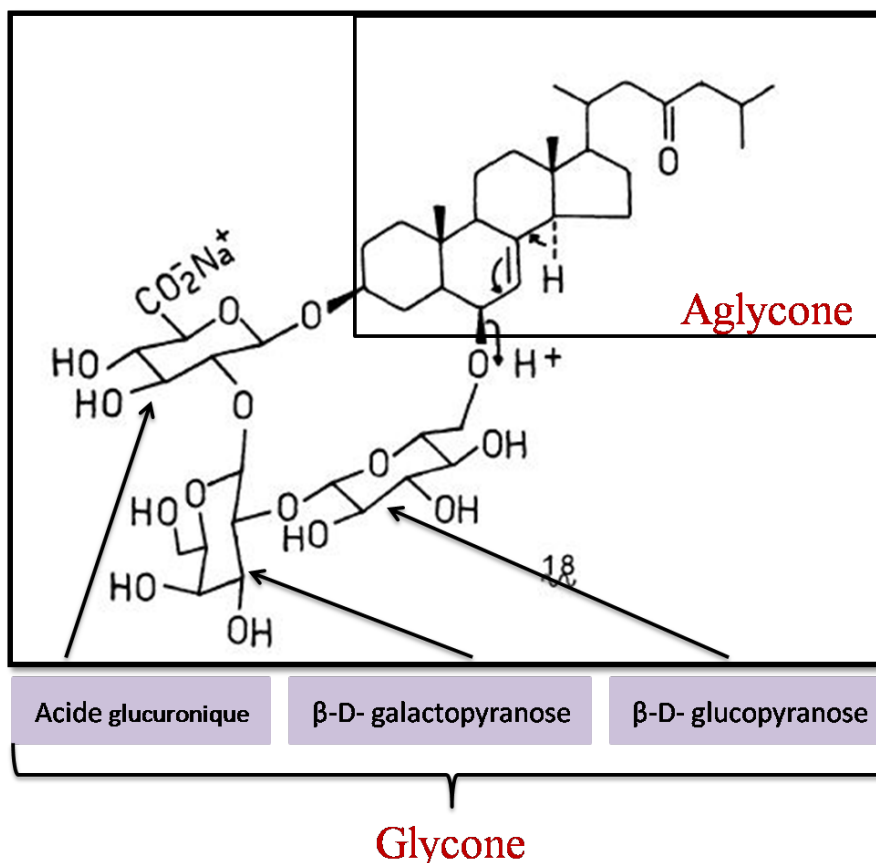


Figure 27: Sepositoside A, saponine d'*Echinaster sepositus*.

(D'après Minale *et al.*, 1982 [Modifier]).

Selon Minale *et al.* (1978; 1979; 1982); De Simone *et al.* (1979) les caractéristiques structurales les plus remarquables de la sepositoside A sont:

- La présence de trois saccharides, dans la partie glycone, qui forment un cycle entre le C₃ et le C₆ de l'aglycone;
- L'absence de la fonction sulfate;
- La présence d'un acide glucuronique sur l'oligosaccharide lié au C₃;
- La présence d'un aglycone du type $\Delta^{7,8}$ -3 β ,6 β -dihydroxysteroïde.

Chez *Echinaster sepositus* la saponine majeure Sepositoside A est accompagnée par trois saponines mineures (Minale *et al.*, 1979; De Simone *et al.*, 1979) (**Fig. 28**). Ces saponines sont caractérisées par:

- La spécificité de Sepositoside A (Les trois saccharides de la partie glycone forment un cycle entre le C₃ et le C₆ de l'aglycone);
- La présence de la fonction époxyde sur le C₂₂ et C₂₃ de l'aglycone (**aglycone 22, 23-époxystéroïde**).

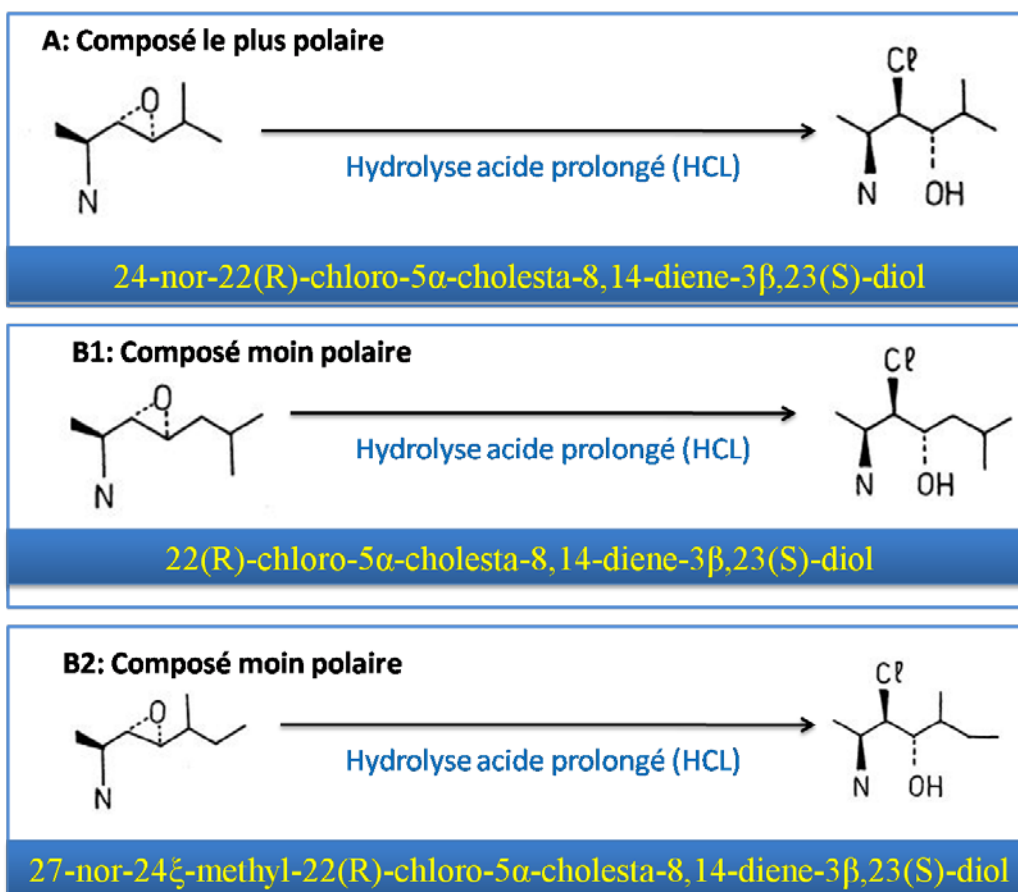


Figure 28: Glycone des saponines mineures d'*Echinaster sepositus*.

(D'après Minale *et al.*, 1982 [Modifier]).

Partie II

Matériels et méthodes

I. Matériel biologique

I.1. L'"étoile de mer" *Echinaster sepositus*

L'"étoile de mer" étudiée dans ce mémoire est *Echinaster sepositus* (étoile de mer rouge), car elle est commune dans les petits fonds en méditerranée. Du point de vue biotope, elle vit de 0 à 40 m de profondeur sur les roches, dans les bancs de moules, et dans l'herbier de posidonie (Grimas *et al.*, 2004; Augier, 2010).

Sur les côtes algériennes *Echinaster sepositus* est inventoriée par plusieurs auteurs (Koehler, 1969; Grimas *et al.*, 2004; Grimas *et al.*, 2010; Boumediene et Bouras, 2014). Elle fait partie de la biocénose de l'horizon moyen (5-13 m) (Boumediene Bouras, 2014) et elle est rencontrée sur des fonds hétérogènes des étages médiolittoral et infralittoral, notamment dans l'herbier à posidonie.

Echinaster sepositus à été identifiée par Retzius, 1783, elle appartient à l'ordre des Spinulosida. Et tous les individus de cet ordre sont caractérisés par de petits piquants à disposition irrégulière, des tubes ambulacraires brisés qui se termine chacun par une ventouse, des plaques marginales peu développées, squelette très délicat à décrire, et l'absence totale des pédicellaires (Clark et Mah, 2001). Cependant cette espèce qui possède une coloration rouge (rouge brique ou rouge orangé) et de longs bras peut être confondue par les non systématiciens avec d'autres espèces possédant eux aussi des colorations voisines, et de longs bras.

Echinaster sepositus ressemble aux deux autres "étoiles de mer" rouges visibles en méditerranée: *Ophidiaster ophidianus* et *Hacelia attenuata* (appartiennent à l'ordre des Valvatida), et ressemble aussi à une autre astérie possédant des colorations et des formes de bras assez variables à savoir *Asterias rubens* (qui appartient à l'ordre des Forcipulatidé) très répandue au Nord-Est de l'océan Atlantique (Koehler, 1969).

La figure 29 montre ces quatre espèces.

Afin de déceler les hétérogénéités morphologiques qui facilitent l'identification d'*Echinaster sepositus* une étude synthétique d'un ensemble des données, particulièrement les données morphologiques des quatre espèces, qui s'est avérée importante.

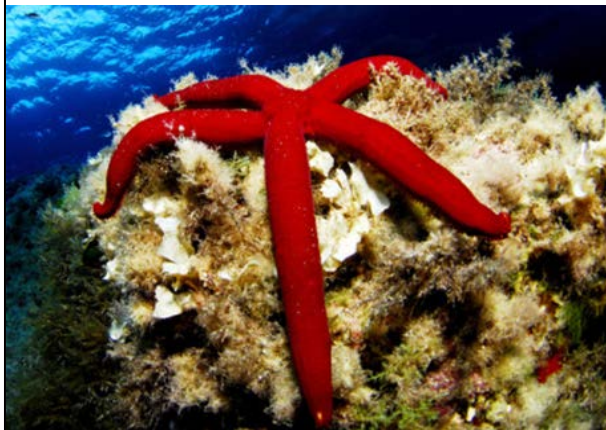
L'ensemble de ces données sont présentées dans le **tableau 6**.



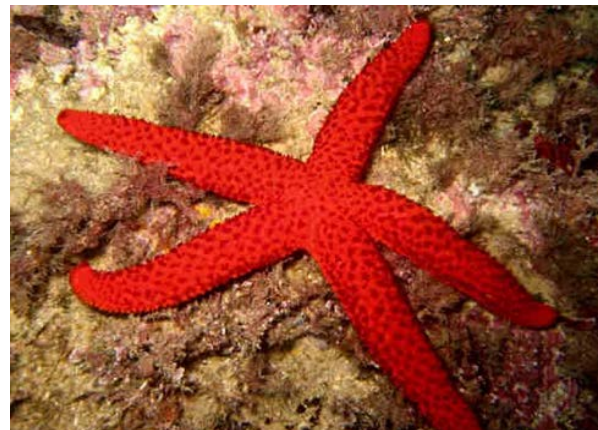
Echinaster sepositus



Echinaster sepositus



Ophidiaster ophidianus



Asterias rubens



Hacelia attenuata

Figure 29: Les étoiles de mer rouge.

(Source des photos: <http://doris.ffessm.fr/>; <http://www.planete-homeo.org/asterias-rubens-angor>).

Matériels et méthodes

Tableau 6: Caractéristiques des "étoiles de mer", *Echinaster sepositus*, *Ophidiaster ophidianus*, *Hacelia attenuata* et *Asterias rubens*.

| Caractéristiques | Espèces | | | | Bibliographies |
|----------------------------------|--|--|---|---|------------------------------|
| | <i>Echinaster sepositus</i> Retzius, 1783 | <i>Ophidiaster ophidianus</i> Lamarck, 1846 | <i>Hacelia attenuata</i> John Edward Gray, 1840 | <i>Asterias rubens</i> Linnaeus, 1758 | |
| Classification | | | | | |
| Ordre | Spinulosida Perrier, 1884 | Valvatida Perrier, 1884 | Valvatida Perrier, 1884 | Forcipolatida Perrier, 1884 | Boell (1955). |
| Famille | Echinasteridae Verrill, 1870 | Ophidiasteridae Verrill, 1870 | Ophidiasteridae Verrill, 1870 | Asteriidae Gray, 1840 | |
| Genre | <i>Echinaster</i> Müller & Troschel, 1840 | <i>Ophidiaster</i> L. Agassiz, 1836 | <i>Hacelia</i> Gray, 1840 | <i>Asterias</i> Linnaeus, 1758 | Boumediane et Bouras (2014). |
| Distribution Géographique | Méditerranée (Algérie), Atlantique Est | Méditerranée (Algérie), Atlantique Est | Méditerranée (Algérie), Nord de l'atlantique | Nord- Est de l'atlantique | Harmelin et Ruitton (2010). |
| Profondeur | De 0 à 40 m signalée à 250 m | De 5 à 30 m Rarement à 100 m | De 50 à 150 m | De 0 à 200 m | |
| Morphologie externe | | | | | |
| La couleur | Pour les quatre espèces la face orale est un peu plus claire que la face aborale | | | | |
| | Rouge intense: Rouge brique, rouge orangé plus ou moins foncée | Rouge carmin très vif ou rouge orangé | Rouge écarlate (grands individus) Rouge jaunâtre petits individus) | Orange, blanc jaunâtre, jaune grisâtre, Rouge vif, rouge grisâtre, violet foncé et tous les intermédiaires entre ces colorations | |
| Longueur de l'espèce | 7 à 10 cm, atteindre 15 à 20 cm | 18 à 20 cm, atteindre 25 cm | 5 à 7 cm, atteindre 20 cm | 12 à 15 cm, dépasse 20 cm | |
| disque central | Petit | Petit | Un peu gros qu' <i>Ophidiaster ophidianus</i> | Variable (petit ou grand) | Koehler (1969). |

Matériels et méthodes

Tableau 6 (suite): Caractéristiques des "étoiles de mer", *Echinaster sepositus*, *Ophidiaster ophidianus*, *Hacelia attenuata* et *Asterias rubens*.

| Caractéristiques | | Espèces | | | | Bibliographies |
|---------------------|-----------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|---|-----------------|
| | | <i>Echinaster sepositus</i> | <i>Ophidiaster ophidianus</i> | <i>Hacelia attenuata</i> | <i>Asterias rubens</i> | |
| Radius | Nombre | 6 à 7 | 5 à 6 | 5 à 6 | 4 à 9 | Koehler (1969). |
| | Longueur (R) cm | 6 à 15 | Plus de 5 | Plus de 5 | Variable | |
| | Forme | Aplatie | Cylindrique | Élargie | Large et courte Mince et allongé | |
| | Forme d'extrémité | Obtuse | Arrondie | Pointue | - | Boell (1955). |
| Rapport R/r | | 6 à 15 | 8 à 10 | 5 à 6 | Variable | |
| Face dorsale | | | | | | |
| Piquants | Nombre par plaque | - | 8 | - | - | Hyman (1955). |
| | Forme | Petite et courte | Arrondie et percée | Arrondie et percée | Cylindrique | |
| | Longueur | 1.5 cm | - | - | - | |
| | Forme d'extrémité | Obtuse | - | - | Arrondie, spinuleuse Renflée, capitée | |
| | Disposition | Irrégulière | Régulière (en rangée longitudinale) | Régulière (en rangée longitudinale) | Irrégulière | |
| | Les aires porifères intercalaires | Absentes | Présentes | Présentes | Absentes | |
| | Les pédicellaires | Absents | Présents | Présents | Présents | |

R/r: Rapport entre la longueur des bras (R) et le diamètre du disque central (r).

Matériels et méthodes

Tableau 6 (suite): Caractéristiques des "étoiles de mer", *Echinaster sepositus*, *Ophidiaster ophidianus*, *Hacelia attenuata* et *Asterias rubens*.

| Caractéristiques | | Espèces | | | | Bibliographies |
|------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|--|--|---|---|
| | | <i>Echinaster sepositus</i> | <i>Ophidiaster ophidianus</i> | <i>Hacelia attenuata</i> | <i>Asterias rubens</i> | |
| Plaques cardinales Dorsales | Nombre de Piquants | - | - | - | 1 à 2 | Koehler (1969). Boell (1955). Hyman (1955). |
| | Nombre | - | 2 rangées carénales 1 rangée latéro-dorsale | 2 rangées carénales et 1 rangée latéro-dorsale | 1 rangée cardinale latérale 1 rangée cardinale médiane | |
| Plaque marginale dorsale | Forme des piquants | Grande | - | - | - | |
| | Nombres des piquants | - | 2 | 2 | 1 | |
| Face orale | | | | | | |
| Piquants | Forme | Petite et courte | Arrondie et percée | Arrondie et percée | Cylindrique | |
| | Disposition | Irrégulière | 2 rangées latéro-ventrales. | 3 rangées latéro-ventrales | Irrégulière | |
| | Les aires porifères intercalaires | Absentes | Présentes 1 rangée | Présentes 2 rangées | Absentes | |
| | Les pédicellaires | Absents | Présents | Présents | Présents | |
| Plaques | | | | | | |
| Plaques marginales ventrales | Forme des piquants | Grande | - | - | Petite | |
| Plaques Adambulacraire | Nombre des piquants | 3 | - | - | 1 à 2 | |
| | Disposition | Irrégulière | Régulière 2 rangées | Régulière 2 rangées | Irrégulière | |

Le tableau ci-dessus qui synthétise l'ensemble des différences entre *Echinaster sepositus*, *Ophidiaster ophidianus*, *Hacelia attenuata* et *Asterias rubens* permet de déduire les caractères d'identification d'*Echinaster sepositus*.

I.1.1. Caractères permettant l'identification d'*Echinaster sepositus*

Les caractères permettant l'identification d'*Echinaster sepositus* sont:

a) La forme des radius

Echinaster sepositus, *Ophidiaster ophidianus*, *Hacelia attenuata* et *Asterias rubens* présentent tous des bras longs, et les différences se manifestent surtout au niveau de **l'extrémité des bras**. Les bras d'*Echinaster sepositus* mincissent progressivement jusqu'à l'extrémité qui devient obtuse. Cependant l'extrémité des bras est arrondie chez *Ophidiaster ophidianus* et pointue chez *Hacelia attenuata*. Les bras d'*Asterias rubens* ne présentent pas ces caractéristiques et sont ordinaires par rapport aux autres.

b) La disposition et la forme des piquants

Les piquants d'*Echinaster sepositus* au même titre que ceux d'*Asterias rubens* présentent des dispositions irrégulières, contrairement à ceux d'*Ophidiaster ophidianus* et de *Hacelia attenuata* qui sont disposées régulièrement en rangées longitudinales et définissent des aires porifères intercalaires (**Tab. 6**).

Entre *Echinaster sepositus* et *Asterias rubens* les piquants diffèrent les uns des autres, **(i) par leurs forme**, courte et petite qui ne dépasse pas 1.5 mm avec une extrémité obtuse chez *Echinaster sepositus*, et tantôt cylindrique avec des pointes arrondies, et tantôt renflé et capité chez *Asterias rubens*, **(ii) par la présence des pédicellaires**, *Asterias rubens* porte de nombreux pédicellaires droits, (aussi bien sur la face ventrale que dorsale), *Echinaster sepositus* est caractérisée par l'absence des pédicellaires, **(iii) par le rapprochement des piquants**, les piquants d'*Echinaster sepositus* sont très rapprochés et ne sont pas réunis par groupe, mais ils suivent les contours de réseau squelettique, ceux d'*Asterias rubens* ne sont pas rapprochés et forment des intervalles nus, le premier est entre la plaque marginale dorsale et la plaque marginale ventrale, et le deuxième est entre la plaque marginale dorsale et la plaque adambulacraire.

c) Plaques dermiques

Chez *Echinaster sepositus* les plaques dorsales (carénales et marginales) sont difficiles à distinguer, cependant chez *Asterias rubens* elles forment des rangées longitudinales bien apparentes. Et on distingue la plaque carénale médiane de la plaque carénale latérale par une disposition peu sinueuse des piquants.

Chez *Ophidiaster ophidianus* et *Hacelia attenuata* les piquants dorsales sont aussi disposés en rangées, deux rangées carénales et une latéro-dorsale définissent la plaque carénale dorsale, et deux autres rangées définissent la plaque marginale dorsale.

La plaque adambulacraire Chez *Echinaster sepositus* est formée de trois piquants. Cependant, chez *Asterias rubens* est peu irrégulière et elle est formée de deux piquants par plaque parfois un piquant, avec des alternances irrégulières. Et chez *Ophidiaster ophidianus* et *Hacelia attenuata* les plaques adambulacraires sont formées de deux rangées de piquants.

II. Zone d'étude

II.1. Caractéristiques de la méditerranée

La Méditerranée est une mer intercontinentale, située entre l'Afrique, l'Europe et l'Asie, et s'étend sur une superficie d'environ 2.5 millions de kilomètres carrés. Elle communique avec l'océan atlantique, de l'Ouest, par le détroit de Gibraltar (largeur 14 km, et profondeur estimée à moins de 286 m); avec la mer noire, de l'Est, par les détroits du Dardanelles (moins de 200m de profondeur) et du Bosphore (moins de 50 m de profondeur) et avec la mer Rouge par le canal de Suez.

Elle s'étend sur 4000 km d'Est en Ouest, et sur 800 Km de Nord au Sud entre le Golf de Gênes et la Tunisie, et seulement sur 138 Km entre la Sicile et la Tunisie. Elle se présente comme un ensemble de deux bassins orientale et occidentale séparés par le détroit de la Sicile.

La méditerranée est une mer relativement profonde (la profondeur moyenne est estimée à 1500 m). La profondeur maximale de la méditerranée atteint 5121 en mer Ionienne au creux de la fosse de Matapan (Grèce). Son plateau continental est relativement réduit n'excédant pas les 200 m de profondeur.

La méditerranée est influencée par un climat tempéré au Nord (les côtes européennes) et par un climat aride au Sud et à l'Est (les côtes Africaines et Moyen-Orientales). L'aridité de climat se conjugue avec l'effet des vents pour générer une évaporation intense qui crée sur le bassin un déficit en eau. En effet le bilan d'évaporation positif fait de cette mer semi-fermée un bassin de concentration (Millot et Taupier, 2005).

II.1.1. Circulation océanique générale et les principales masses d'eau dans le bassin méditerranéen

La mer Méditerranée est connue par son déficit hydrique, lié à un phénomène d'évaporation non compensé par les précipitations et les apports fluviaux. Ce déficit hydrique est de l'ordre de 0.7 m/an (Millot et Taupier, 2005) il est compensé par un flux d'eau Atlantique (31600 Km³/ans) entrant par le détroit de Gibraltar. Cette eau ayant une salinité de 36.15 PSU recouvre pratiquement toute la mer d'Alboran. À ce niveau, les caractéristiques initiales de l'eau Atlantique se modifient. Celle-ci se transforme en une eau plus dense et d'une salinité plus élevée (eau méditerranéenne) dénommée Eau Modifiée d'origine Atlantique (MAW: Modified Atlantic Water). À la sortie de cette mer, la circulation est pratiquement permanente, dirigée d'abord vers les côtes espagnoles (2°Ouest), puis change de direction vers les côtes algériennes pour les longer d'Ouest vers l'Est en prenant la dénomination de "**courant algérien**" (Millot et Taupier, 2005).

Ce courant suit les côtes Est Algériennes jusqu'au détroit de Sicile. À ce niveau il remonte vers le Nord-Ouest en suivant la côte Nord de la Sicile et les côtes Italiennes, puis il prend deux directions différentes, vers l'Ouest dans le golfe de Gênes et sur les côtes de Provence, vers le Sud Ouest dans les côtes d'Espagne ce qui forme dans le bassin occidental un circuit en sens inverse des aiguilles d'une montre (Pinardi et Masetti, 2000).

Entre la Tunisie et la Sicile le courant se dirige vers l'Est le long des côtes de la Libye et l'Égypte, au Port-Saïd (Nord-Est de l'Égypte) il remonte vers le Nord et le

Nord-Ouest le long des côtes Palestiniène et syrienne. Au niveau des côtes de l'Asie mineure (Anatolie) il se dirige vers l'Ouest (Pinardi et Masetti, 2000).

En mer Égée il remonte vers le Nord puis vers le Sud sous l'effet des courants Dardanelles très puissants qui s'écoulent de la mer Noir. De ce fait, le courant est dirigé vers le Sud au niveau des côtes Grecques. Au cap Matapan une branche de courant se dirige à l'Ouest et remonte la mer Ionienne, et l'autre branche se dirige vers le sud le long des côtes Sud de la Sicile en fermant ainsi le circuit oriental (Conan et Millot, 1995).

Selon Conan et Millot (1995); Millot et Taupier (2005) les principales masses d'eau de la Méditerranée sont (**Fig. 30**):

- **MAW (*Modified Atlantic Water*):** Eau Modifiée d'origine Atlantique, elle constitue l'essentiel du courant algérien qui est défini comme une veine de 30 à 40 Km de largeur et de 150 à 200 m d'épaisseur. C'est de l'eau océanique qui est modifiée dans la mer d'Alboran, par interaction avec l'atmosphère et le mélange avec les eaux méditerranéennes. Elle est caractérisée par des températures variables en surface (15 à 23°C), et des salinités variant de 36.5 à 38 PSU (Millot et Taupier, 2005). Ce courant circule d'Ouest en Est avec des vitesses maximales de l'ordre 80-100 cm/s. Et Il génère des upwellings côtiers plus ou moins intenses près des côtes (Millot et Taupier, 2005).
- **WIW (*Winter Intermediate Water*):** Eau Hivernale Intermédiaire, formée dans le plateau continental du golfe du Lion et dans la mer Ligure lors de convections hivernales. Elle se situe entre 150 et 250 m, avec un minimum relatif de température (de 12.65 à 13.20°C) et une salinité d'environ 38.3 PSU (Chouiki *et al.*, 1993; Benzohra et Millot, 1995). Ce courant forme une veine d'eau entre la MAW et la LIW (*Levantine Intermediate Water*: Eau Intermédiaire Levantine) qui se retrouve dans le bassin algérien (Benzohra et Millot, 1995a; b).
- **LIW (*Levantine Intermediate Water*):** Eau Intermédiaire Levantine, pénètre dans le bassin occidental par la mer Tyrrhénienne, au détroit de Sicile et contribue aux flux sortant du bassin oriental. Elle circule sous les eaux atlantiques modifiées de surface entre -250 à -300 m et entre -500 et -600 m. Elle est reconnaissable par des maxima relatifs de température potentielle de 13.2 à 14°C.
- **DW (*Winter Mediterranean Deep Water*):** Eau Méditerranéenne Profonde, se forme au cours d'hivers rigoureux par le mélange de LIW et MAW. L'eau Méditerranéenne Profonde plonge dans la zone centrale du golfe du Lion pour tapisser le fond du bassin occidental. Elle est située sous LIW et identifiable vers 600-700 m par des faibles températures variant de 12.75 à 12.90°C et une salinité qui varie entre 38.42 et 38.47 PSU.
- **BW (*Bottom Water*):** Eau de Fond, ayant une épaisseur de quelques centaines de mètres. Épisodiquement, elle se situe près du fond. Elle est relativement plus chaude et plus salée que l'eau profonde.

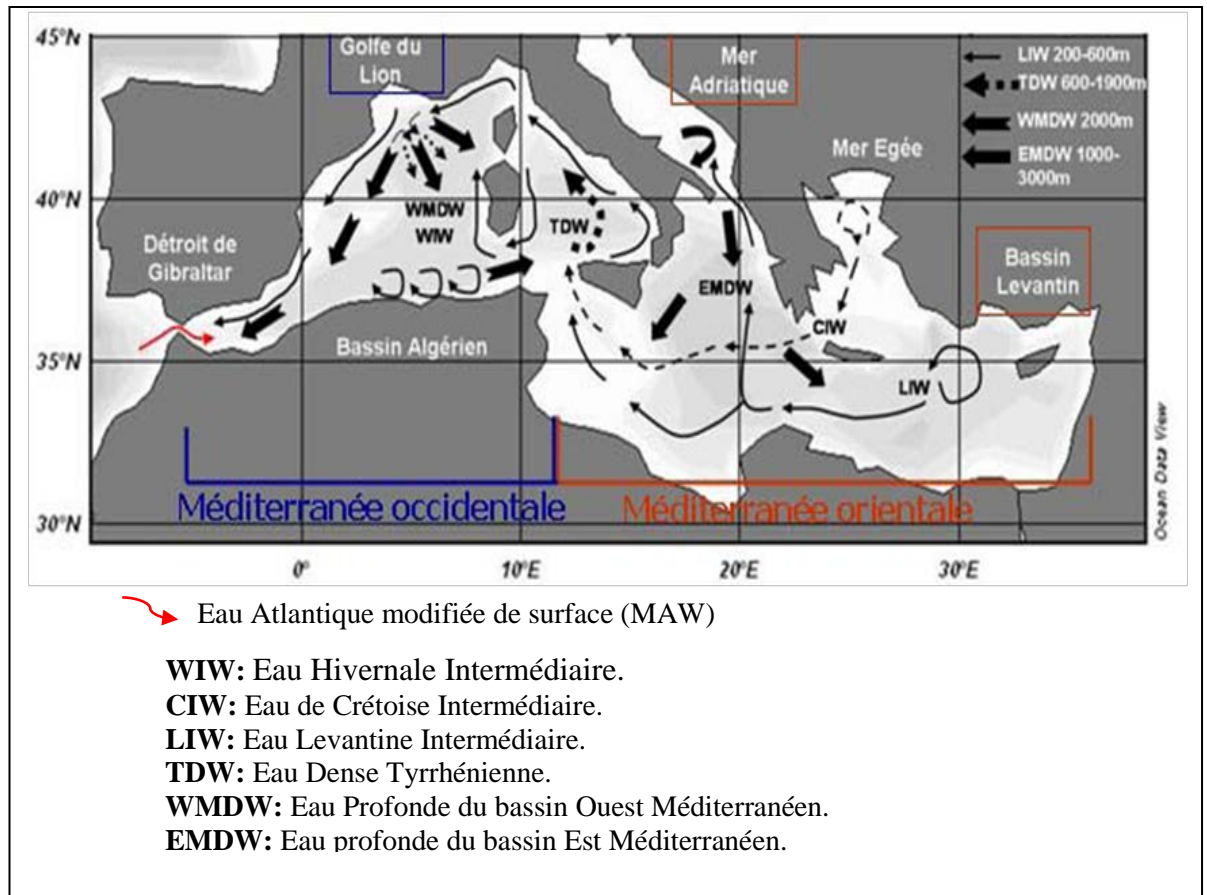


Figure 30: Circulation globale en Méditerranée (D'après Millot, 1999¹³).

II.2. Caractéristiques de la zone d'étude

II.2.1. Baie d'Alger

La marge Algérienne est située au Sud de bassin méditerranéen Nord-Occidental. Elle est de direction Sud Ouest–Nord Est (SO-NE), et s'étend de Marsat Ben M'Hidi à l'Ouest au Cap Roux à l'Est sur 1640 km. Elle se présente comme une succession de baies et de golfes séparés par des régions très escarpées (Grimas, 2010) (Fig. 31).

L'espèce d'Astérie étudiée est prélevée au niveau de la baie d'Alger. La baie d'Alger s'inscrit dans la partie centrale de la côte algérienne (région d'Alger) qui regroupe d'autres baies, la baie de l'El Djamila et la baie de Bou Ismail (Fig. 31).

¹³ Millot, 1999 in Grimass, 2010.

Matériels et méthodes

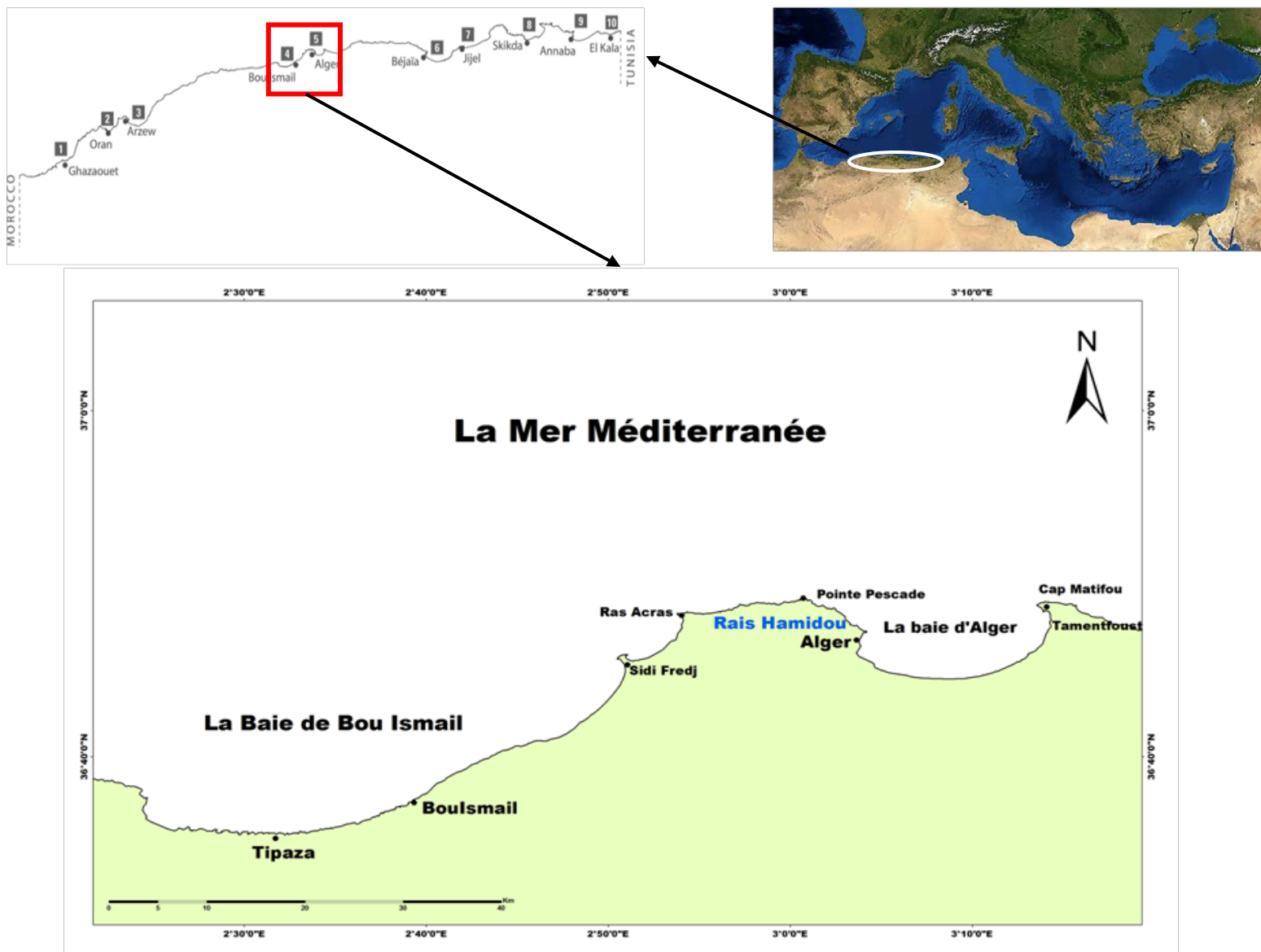


Figure 31: Localisation de la côte Algéroise.

II.2.1.1. Situation géographique

La baie d'Alger s'étend de cap Matifou (Bordj El- Bahri), à l'Est, à la pointe Pescade (Rais Hamidou), à l'Ouest, sur une superficie de 180 Km². Elle est délimitée au Nord par la mer Méditerranée (avec une longitude Est 03°.14'.50 à 03°.00'.40 et une latitude nord 36°.49'.35 à 36°.49'.50) et au Sud par la plaine de la Mitidja (**Fig. 32**)

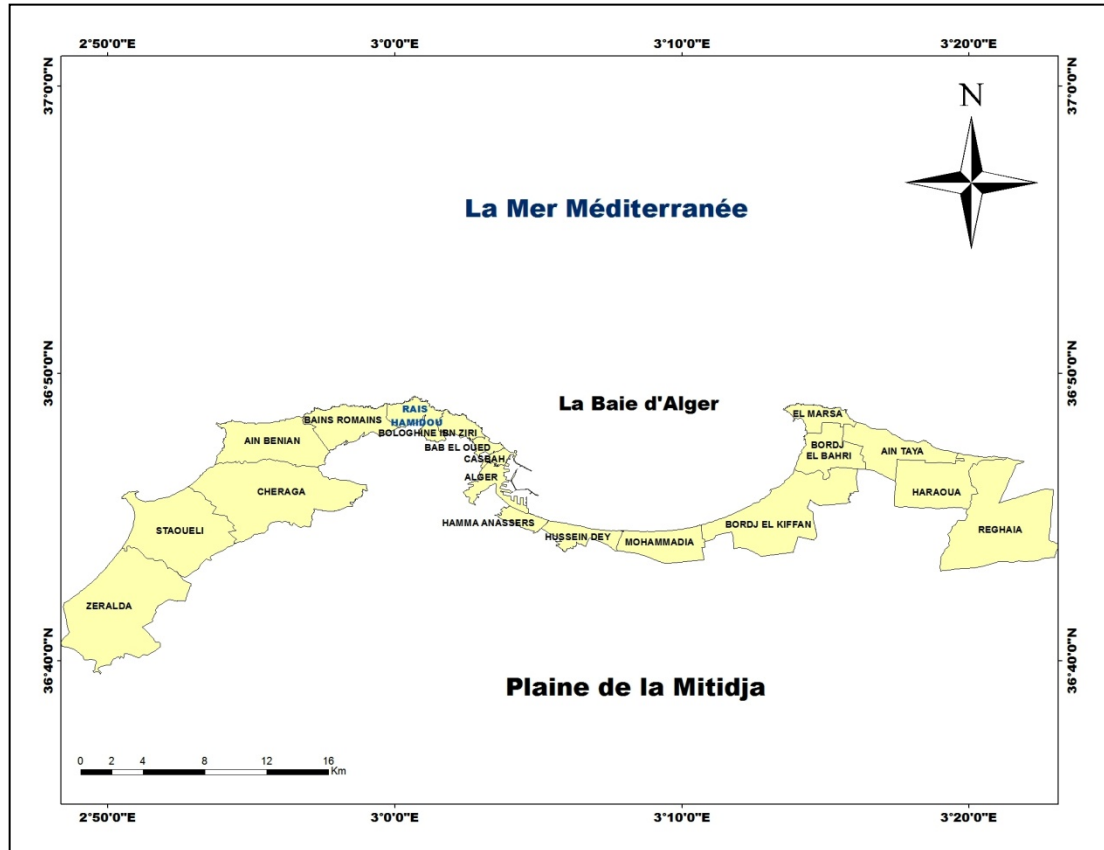


Figure 32: Délimitation de la baie d'Alger.

II.2.1.2. Bathymétrie de la baie d'Alger

La baie d'Alger est caractérisée par une morphologie sous marine régulière sans accèdent topographiques majeurs. En effet le plateau continental est très étroit au niveau de la pointe Pascale et le cap Matifou mais s'élargi au centre de la baie. De pointe Pescade au cap Matifou le talus continental passe d'une façon rectiligne. Ce talus continental ne dépasse pas l'isobathe 120 m (Caulet, 1972; Leclaire, 1972). Les isobathes sont régulières et parallèles à la côte, et la distance qui sépare deux isobathes est d'environ 6 milles descendante en pente douce et uniforme de 0 à -100 m. L'isobathe 50 m est à 4.1 Km de la côte, celui de 100 m est à 7.6 Km, quant à celui 1000 m il ne se trouve qu'à 12.1 Km de la côte (Coulet, 1972; Leclaire, 1972) (**Fig. 33**).

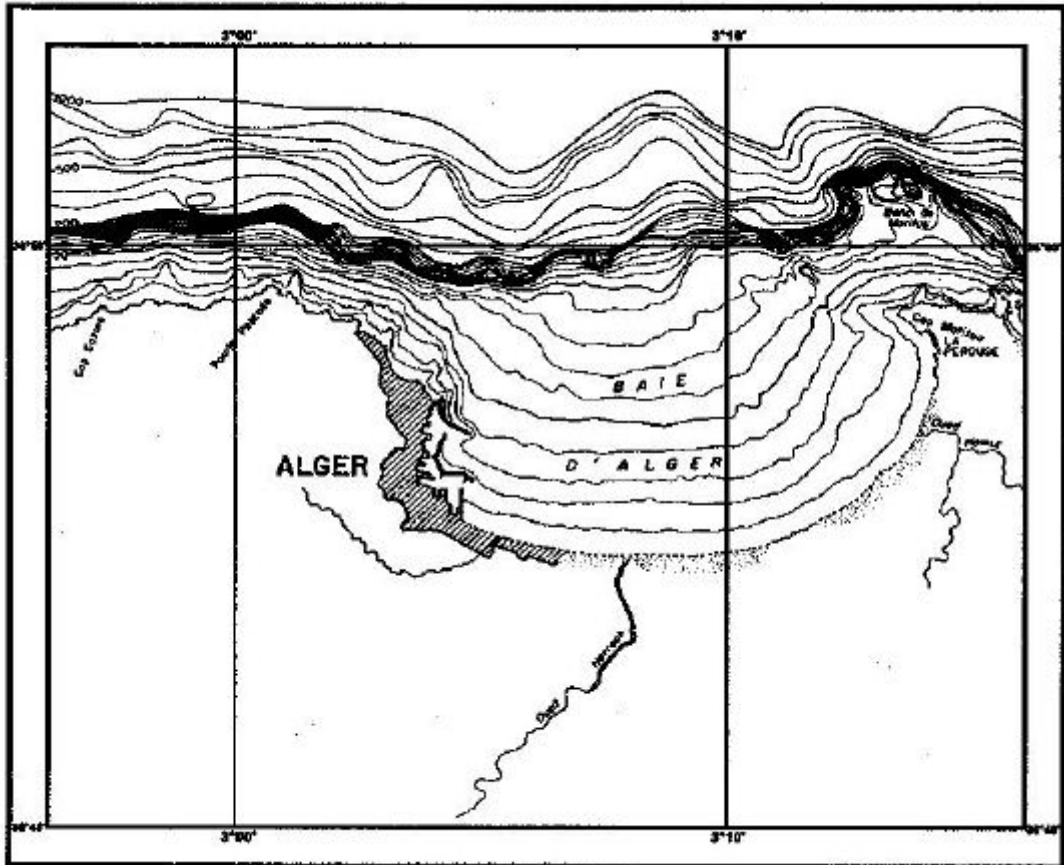


Figure 33: Carte bathymétrique de la baie d'Alger (D'après Leclaire, 1972).

II.2.1.3. Sédimentologie

Selon Maouche (1987), la répartition générale des sédiments en fond de la baie d'Alger est fonction de la bathymétrie, et montre trois principaux faciès qui se succèdent de la côte vers le large (Fig. 34) :

- **Faciès sableux**

Les faciès sableux sont caractérisés par la présence des sables fins d'origine terrigène dans les petits fonds, des sables moyens dans la bordure Ouest, où ils forment des bandes étroites parallèles au rivage, des sables grossiers dans la bordure Est où ils sont mélangés aux faciès pélitiques.

Ces faciès se limitent à la bordure littorale, ils sont entre -10 m et -35 m de profondeur au niveau des émissaires et en prolongement des caps, ou ils s'étendent à des profondeurs plus importantes, au centre de la baie;

- **Faciès carbonatés**

Les faciès carbonatés caractérisés par des graviers organogènes et des formations grossières carbonatées (coquilles entières, fragments des Bivalves et des Gastéropodes), localisés dans des zones trop réduites du plateau continental qui font suite aux bordures rocheuses Ouest (jusqu'à -35 et -50 m) et Est de la baie, ainsi qu'aux hauts fonds rocheux de secteur Est de la baie (au droit du cap Matifou).

La fraction carbonatée représente 30 à 35 % du sédiment total dans la bordure Ouest (Pointe Cascade), elle peut être supérieure à 35 % dans la bordure Est et dans le haut fond du Matifou. Elle constitue plus de 50 % des sédiments de la baie d'Alger.

- **Faciès pélitiques**

En baie d'Alger, on observe un envasement central avec 75 à 95 % des fractions pélitiques. En effet, les vases pures sont localisées dans la partie centrale et septentrionale de la baie, témoignant d'un envasement important de ce secteur. Les vases sableuses et les sables envasés constituent 70 % des dépôts superficiels de la baie d'Alger, et assurant le passage progressif des sables fins infralittoraux aux vases pures.

La fraction pélitique apparaît à partir de -10 m de profondeur où elle représente 10 %, son pourcentage augmente pour atteindre plus de 50 % dès -25 m (-35m au droit des oueds), à -30 m (-50 m au droit des oueds) cette fraction représente 75 % et plus souvent 95 % (Bachari *et al.*, 2004).

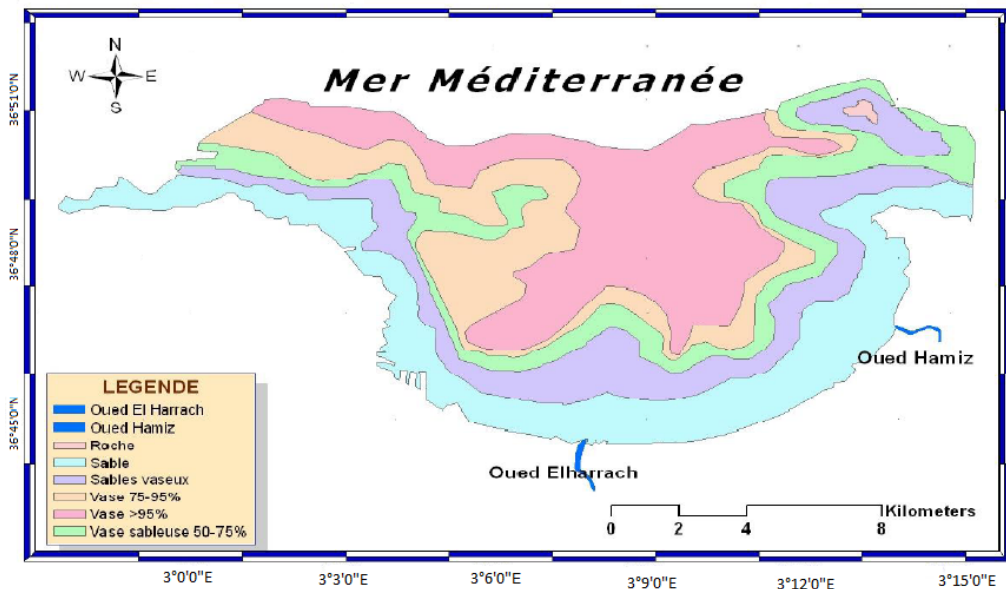


Figure 34: Carte sédimentaire de la baie d'Alger (Maouche, 1987).

II.2.1.4. Réseau hydrographique

Oued El Harrach et oued Hamiz sont les deux cours d'eau qui alimentent la baie d'Alger. Ils prennent leurs sources d'eau dans l'atlas Blidéen et traversent la plaine de Mitidja avant de déboucher en mer. Le régime hydrographique de ces oueds est très irrégulier. Ils sont caractérisés par un long étiage de six mois et des crues d'hiver et de printemps soudaines et fortes (LEM, 1998).

- **Oued El Harrach**

Il englobe les oueds Djemââ, Smar à l'Est et Terro à l'Ouest. Son bassin versant couvre une superficie de 970 km². Il coule du Sud vers le Nord pendant la majeure partie de l'année et se déverse au centre de la baie d'Alger.

Cet oued prend l'aspect d'un égout à ciel ouvert à son arrivée dans la mer (Bachari *et al.*, 2004).

- **Oued El Hamiz**

Les principaux effluents de ce cours d'eau sont oued Segia et oued Barek. Son bassin versant a une superficie de 160 km², et son débit est irrégulier pratiquement nul en été, et relativement important au moment des pluies. Il se déverse à l'Est de la baie près du cap Matifou.

II.2.1.5. Facteur météorologique

- **Les vents**

Le régime des vents et leur vitesse dans la baie d'Alger ont été étudiés par plusieurs chercheurs Leclair (1972); Caulet (1972); Maouche (1987). Selon Maouche (1987) le régime et la vitesse des vents dans la baie d'Alger sont caractérisés par un régime saisonnier:

- En été, les vents de secteur Nord-Est (NE) sont les plus fréquents, leur vitesse se répartit entre 1 et 30 nœuds;
- En hiver, les vents dominants sont de secteurs Ouest-Sud Ouest (O-SO), leur vitesse est de 6 à 10 nœuds.
- En automne, les vents de secteurs Sud- Sud Est (S-SE) sont observés, Ces vents sont moins fréquents en hiver, leur vitesse est de 6 à 10 nœuds.

Ces vents agissent sur la circulation des eaux superficielles, le transport et la dispersion des apports terrigènes fins et des éléments polluants (Maouche, 1987).

- **La température**

Selon le Laboratoire d'étude Maritime LEM (2012), la baie d'Alger se distingue par deux périodes dans le cycle saisonnier annuel:

- **La première période** est chaude, s'étale de mai à octobre avec un maximum de température enregistrée en mois d'août (39.2°C);
- **La deuxième période** est relativement froide, couvre les autres mois de l'année avec un minimum de température enregistrée en mois de février.

- **La pluviométrie**

Dans la baie d'Alger, selon les moyennes mensuelles des pluies enregistrées par le Laboratoire d'étude Maritime (LEM, 2012) on peut noter l'existence de deux saisons:

- **Une saison humide** qui s'étale du mois de septembre au mois de mai avec une moyenne mensuelle de précipitation 31.40 mm, cette moyenne augmente progressivement jusqu'au mois de décembre où elle atteint un maximum de 104.54 mm, puis elle diminue graduellement jusqu'au mois de mai avec une moyenne mensuelle de 31.36 mm.
- **Une saison sèche** qui s'étale du mois de juin au mois d'août, avec une moyenne mensuelle de 13.18 mm. Le mois de juillet est le plus sec avec une moyenne mensuelle de précipitation de 1.73 mm.

II.2.1.6. Facteurs hydrodynamiques

Les facteurs hydrodynamiques (houles et courants) sont les facteurs responsables des mouvements des masses d'eau et de la dynamique sédimentaire des petits fonds.

II.2.1.6.1. Houles

Selon Leclaire (1972); Caulet (1972) la direction de propagation de la houle dans la baie d'Alger est liée à celle du vent, et suit ainsi le même régime des vents qui est un régime saisonnier.

En hiver, les houles prédominantes sont de direction Oest- Nord Oest (O-NO) avec une période moyenne de 8 à 9 secondes (s). Des périodes supérieures à 10 s, pouvant atteindre 13 secondes sont relevées lors de grandes tempêtes. L'amplitude moyenne de la houle d'hiver est de 2 à 3 m.

La longueur d'onde des houles d'hivers les plus fréquentes est de 150 à 170 m avec une célérité de 14m/s.

En été, les houles sont de direction Nord-Nord Est (N-NE) avec une période moyenne plus faible de 6 à 7 secondes et des amplitudes élevées de 0.5 à 1 m.

Dans la baie d'Alger, les houles jouent un rôle très important dans la dynamique sédimentaire des petits fonds, notamment dans le transport et la dispersion des apports terrigènes fins des oueds (El Harrach et El Hamiz). Comme elles permettent le transport et la dispersion des polluants issus de l'ensemble de l'agglomération algéroise et des villes côtières de la baie (Bakalem, 2008).

II.2.1.6.2. Courants

La baie d'Alger au même titre que le bassin algérien se caractérise par la présence de deux types de courant, les courants généraux et les courants côtiers (LEM, 1998).

- **Les courants généraux (Atlantiques)**

Il s'agit de l'eau d'origine atlantique qui pénètre en surface dans le bassin méditerranéen par le détroit de Gibraltar. Cette eau océanique ne se mélange pas directement aux eaux méditerranéennes, du fait de gradient de densité à Gibraltar entre les eaux Atlantiques (chaudes et peu salées) et les eaux Méditerranéennes (froides et très salées). Mais elle crée des veines de courant dans la tranche superficielle jusqu'aux environs de - 200 m (Belsher et Houlgatte, 2000). Ces veines de courant longent les côtes Nord-africaines sous la force de Coriolis, puis elles se divisent en plusieurs branches (Beckers *et al.*, 1997). L'une de ces branches se progresse vers l'Est le long des côtes algériennes et constitue le **courant algérien** (Benzohra, 1993). Ce **courant général** crée dans la plupart des baies algériennes un **contre courant** littoral vers l'ouest (Benzohra, 1993). En effet, à partir de 1°Ouest, le courant algérien peut générer, par des processus adventifs des tourbillons cycloniques et anticycloniques qui se déplacent en augmentant de dimension. Ces structures hydrodynamiques induisent des contres courants affectent généralement les baies (Milot et Taupier, 2005).

Le contre courant, dans la baie d'Alger, engendré par le courant atlantique tourne dans le sens des aiguilles d'une montre avec une vitesse moyenne en surface de l'ordre de 0.3 km/h. À proximité du fond la vitesse de ces courants diminue très rapidement et devient pratiquement négligeable (LEM, 1998).

- **Les contres courants**

La houle en contact avec les irrégularités du fond donne lieu à des rouleaux (courants coutières) qui provoquent la mise en suspension des particules, ce qui favorisent leurs déplacements. Deux types de courants qui prennent naissance de la zone de déferlement de la houle, les courants de retour et les courants de la dérive littorale (**Fig. 35**) (LEM, 1998).

Selon Millot et Taupier (2005) l'intensité et la direction de ces courants sont liées à:

- L'amplitude et l'intensité de la houle;
- La topographie de la plage sous-marine;
- La granulométrie des sédiments.

- **Le courant de retour**

Le courant de retour correspond à une zone de flot de retour vers la mer à partir du courant existant au lieu de déferlement de la houle. Ces courants sont responsables de la dispersion d'une partie des sédiments côtiers vers le large. Leurs vitesses dépendent de l'énergie de la houle et de la pente de la plage (Millot et Taupier, 2005).

- **Le courant de la dérive littorale**

Le courant de la dérive littoral est un courant parallèle à la côte qui permet la remise en suspension et le transit des particules sédimentaires. Elle prend naissance au niveau de la zone de déferlement de la houle (où l'énergie est maximale), lorsque la houle arrive avec une incidence oblique. La vitesse de ce courant est maximale pour un angle d'incidence de 45 % à 50 % (Millot et Taupier, 2005).

D'une façon générale, l'hydrologie de la baie est caractéristique des eaux atlantiques dont la circulation varie en fonction du régime des vents. Dans la région de pointe Pescade la baie est largement ouverte et reçoit les eaux océaniques qui s'écoulent à des vitesses moyennes de trois nœuds avec un maximum en décembre et un minimum en juillet et août (Millot et Taupier, 2005).

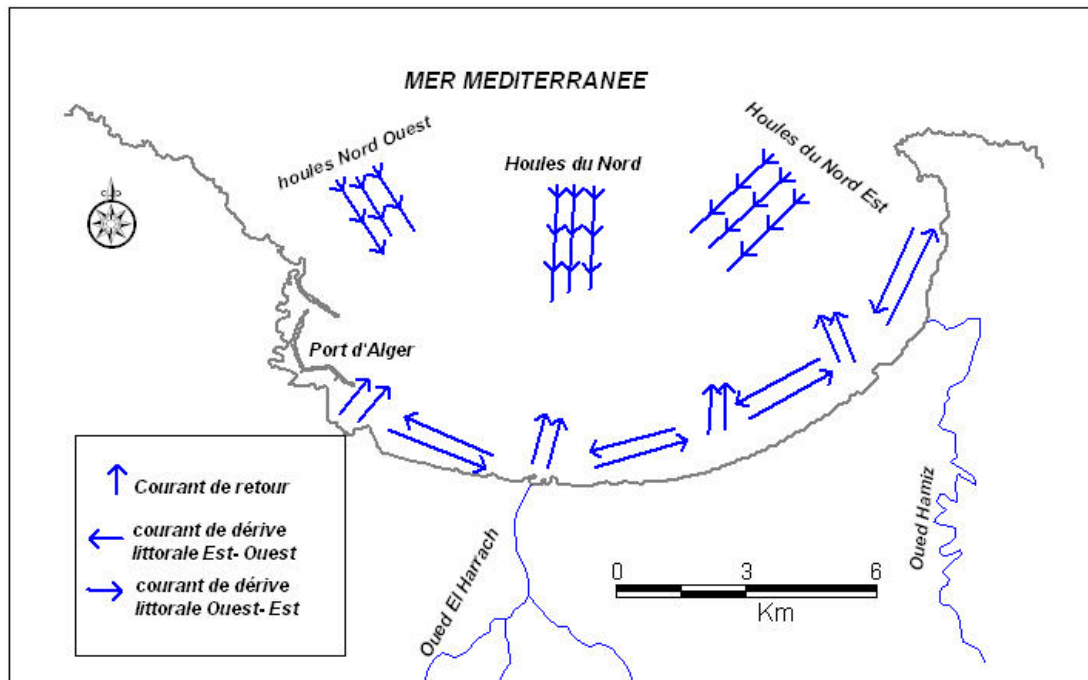


Figure 35: Bilan des courants de dérive littorale et dynamique sédimentaire dans la baie d'Alger (D'après LEM, 1998).

II.2.1.7. Origine des masses d'eau de la baie d'Alger

Boulahtid et al. (2003) ont conclu à partir du diagramme température-salinité que la baie d'Alger et le siège d'un mélange de trois masses d'eau d'origines différentes:

- Une eau superficielle ayant les caractéristiques de l'eau Atlantique légèrement mélangée avec l'eau de la Méditerranée le long de son parcours (Eau Modifiée d'origine Atlantique: MAW). Cette eau constitue l'essentiel du courant Algérien (*Chouikhi et al.*, 1993);
- Une eau qui remonte d'une profondeur de l'ordre de 100 m au centre de la baie.
- Une eau continentale non négligeable qui adoucit en partie les eaux de la baie.

II.2.1.8. Source de pollution

La baie d'Alger reçoit les rejets urbains, industriels et portuaires de l'agglomération algéroise. Ces rejets arrivent directement (émissaires urbains) ou indirectement (le port d'Alger, L'oued El Harrach et d El Hamiz) dans le milieu marin.

- **Les émissaires urbains**

Une multitude d'égouts d'origine urbaine et industrielles sont drainées vers le port ou la baie d'Alger par à un réseau d'assainissement complexe (environ soixante-dix points de rejets) (*Bakalem, 2004*¹⁴) (**Fig. 36**). Les émissaires urbains les plus importants sont ceux de Bab El Oued, Hussein Dey et Bordj El Kiffan.

¹⁴Bakalem, 2004 in Mennad, 2008.

- **Le port d'Alger**

Le plus important en Algérie par son activité commerciale. Le port d'Alger est situé dans la partie Ouest d'Alger avec une superficie de 185 hectares (ha). Il reçoit de nombreux égouts provenant de la ville. Diverses installations industrielles y sont implantées (huileries, centrales thermiques etc).

- **L'oued El Harrach et d El Hamiz**

Ils traversent la plaine de Mitidja, lieu d'une intense activité agricole. Ils drainent vers la mer toutes les eaux usées domestiques, agricoles et industrielles des zones qu'elles traversent.

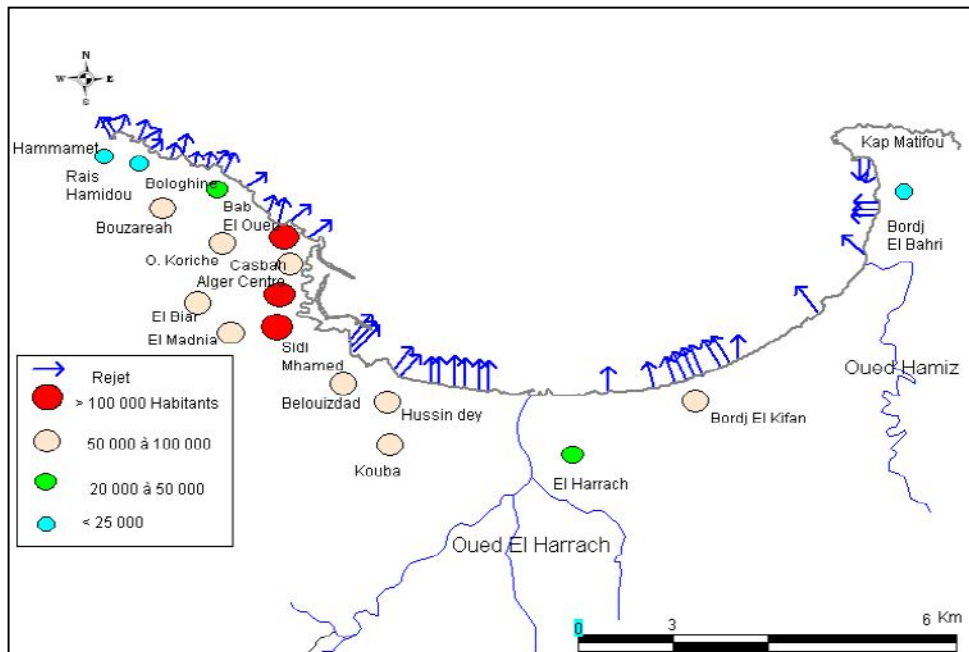


Figure 36: Rejets d'eaux usées dans la baie d'Alger (D'après Bakalem, 2004¹⁵).

II.2.1.9. Macro faune benthiques de la baie d'Alger

Les composantes biologiques des fonds algériens sont peu connues, notamment la composante benthique et plus particulièrement le macro zoobenthos (Bakalem, 2008; Grimas, 2010).

Les travaux sur la macrofaune benthique de la baie d'Alger sont rares. En effet, les travaux les plus anciens sont relatifs à l'étude de benthos des fonds chalutables. Les travaux récents sont portés essentiellement sur les peuplements de substrat meuble, cependant les peuplements de substrats durs n'ont fait l'objet que de rares travaux (Tab. 7). La macrofaune benthique des milieux portuaires a été également étudiée par plusieurs chercheurs, à titre d'exemple en site les travaux de Bakalem et Romano (1985¹⁶); Bakalem (2008); Grimas (2010).

L'essentiel des travaux qui ont porté sur la macrofaune benthique de la baie d'Alger sont synthétisés dans le **tableau 7**.

¹⁵ Bakalem, 2004 in Mennad, 2008.

¹⁶ Bakalem et Romano 1985 in Bakalem, 2008.

Tableau 7: Bibliographie des travaux relatifs à la macrofaune benthique de la baie d'Alger.

| Chercheurs | Les travaux réalisés | Bibliographies |
|---------------------------|---|--|
| | 1. Les travaux réalisés sur la macrofaune benthique des substrats meubles | |
| Danois (1925) | Prospecte les fonds de la baie d'Alger Décrit sommairement les peuplements benthiques de sédiments fins de la baie d'Alger | Bakalam (2008). |
| Spack (1931) | Prospecte les fonds chalutables de la baie d'Alger Données sur la bionomie benthique des fonds chalutables | |
| Vaissière et Fredj (1963) | Prospectent les fonds meubles de la baie d'Alger Données très fragmentés sur la bionomie benthique des fonds meubles | |
| Petit (1972) | Prospecte les fonds de la zone de Tamentfoust (Est de la baie d'Alger) Données très fragmentés sur la bionomie benthique de la zone de Tamentfoust | |
| Bakalem et Romano (1978). | Étudié la macrofaune benthique des substrats meubles | Bakalem et Romano (1978 ¹⁷). |
| Bakalem (1979) | Étudié la macrofaune benthique des substrats meubles (- 5 à 100 m de profondeur) Établit la carte biosédimentaire de la baie d'Alger Décrit sur les fonds de la baie d'Alger 5 peuplements benthiques: le peuplement des sables fins envasés (FV); le peuplement des vases sableuses à (VS); le peuplement des vases pures (VV);le peuplement des graviers envasés | Bakalem (1979). |
| Messili (2004) | Décrit la biologie, l'écologie et la dynamique de population de <i>Venus gallina</i> de sables infralittoraux de la baie d'Alger | Messili (2004). |
| Bakalem (2008) | Étudié la Macrofaune benthique des substrats meubles (0 à 120 m de profondeur) Cartographie des peuplements macrobenthiques Évalué la densité ou/et la biomasse de la macrofaune benthique | |
| Grimas (2010) | Étudie la richesse spécifique ainsi que la structure taxonomique de la macrofaune benthique des substrats meubles des côtes algériennes (0 à 120 m) | Grimas (2010). |
| | 2. Les travaux réalisés sur la macrofaune benthique des substrats durs | |
| Abada-Boudjema (1983) | Décrit le dynamique de deux populations de moules <i>Mytilus galloprovincialis</i> (Lmk.) et <i>Perna perna</i> (L.) de Bordj El Kiffan (Est de la baie) | Bakalam (2008). |
| Boubezari (1992) | étudie des peuplements moulières de la région d'Alger | Boubezari (1992). |
| Semroud (1992) | Étudie l'écosystème à <i>Posidonia oceanica</i> et les échinodermes de l'herbier à <i>Posidonia oceanica</i> | Semroud (1992). |
| Soualili (2008) | Étudie les populations naturelles d'oursin comme un indicateur biologique de la pollution dans le milieu marin | Soualili (2008). |

¹⁷ Bakalem et Romano, 1978 in Bakalem, 2008.

Sur l'ensemble de ces travaux ceux qui traitent les échinodermes, dans la baie d'Alger sont encore plus rares. Dans la littérature, on trouve que quelques synthèses qui portent sur les échinodermes de l'herbier à posidonie (Semroud, 1992). Et d'autres qui s'intéressent aux échinodermes, particulièrement les oursins, comme étant des indicateurs biologiques de la pollution du milieu marin (Soualili, 2008). En effet, les échinodermes de la côte algérienne n'ont fait l'objet que de très peu de travaux. Les plus anciens sont ceux de Seurat (1932); Pallary (1898, 1935); Dieuzeïde (1933); Llabador (1941); Devries (1957).¹⁸

Les travaux les plus récents ont été à l'initiative de Mezali (2008). Les travaux menés par ce chercheur portent sur les holothuries aspidochirotés (Holothuroidea: Echinodermata) et traitent différents aspects, la phylogénie et la systématique des populations des holothuries aspidochirotés, la dynamique et la nutrition des populations des holothuries aspidochirotés. À ces travaux s'ajoutent les données de Grimas (2010) et Bakalem (2008) sur les échinodermes. Selon ces derniers chercheurs le groupe des échinodermes apparaît de moindre importance que les autres groupes tant sur le plan de la richesse spécifique que sur le plan numérique (2.73 % de la biodiversité totale).

La côte algérienne dans sa globalité n'a pas fait l'objet d'étude portant sur les Astérides (classe d'échinoderme étudié dans ce mémoire). Les seules données passées en revue portent sur les espèces d'astéries inventoriées par plusieurs auteurs à savoir Koehler (1969); Grimes *et al.* (2004); Bakalem (2008); Boumediene et Bouras (2014). Les espèces d'astéroïdes les plus communes dans les côtes algériennes sont présentées dans **le tableau 2 en annexe 2**.

II.3. Localisation de station de prélèvement et échantillonnage

Dans le but d'étudier les saponines d'*Echinaster sepositus* un certain nombre d'espèces ont été collectées (120 individus) avec des prélèvements mensuels réalisés de septembre 2013 à septembre 2014. Les espèces étudiées provenaient d'une récolte faite en plongée sous marine dans la baie d'Alger au niveau de la pointe Pescade (**Fig. 37**) entre 5 à 10 m de profondeur. Le choix de cette station tient compte de ses caractéristiques, un site exposé aux houles et aux vents des secteurs Nord-Ouest et Nord-Est, mais protégé naturellement par les deux îlots de pointe Pescade (formé d'une petite crique). Ce qui facilite le prélèvement et l'échantillonnage. Les coordonnées géographiques et les principales caractéristiques de la station d'échantillonnage sont rapportés dans **le tableau 8**.

Tableau 8: Situation géographique et les caractéristiques de site d'échantillonnage.

| Situation géographique de la station étudiée | | | | Direction des vents et des houles | |
|---|------------|---------------------|----------------------------------|--|---|
| Station | Nom | Localisation | Coordonnées géographiques | Vents | Houles |
| | | Pointe pescade | Baie d'Alger | 3°1 de longitude Est et 36° 49 de latitude Nord. | E hiver: Nord-Ouest En été: Nord-Est |

¹⁸ Seurat (1932); Pallary (1898, 1935); Dieuzeïde (1933); Llabador (1941); Devries (1957) *in* Bakalam, 2008.

La **figure 37** renseigne sur la localisation de site qui a fait l'objet de la présente étude.

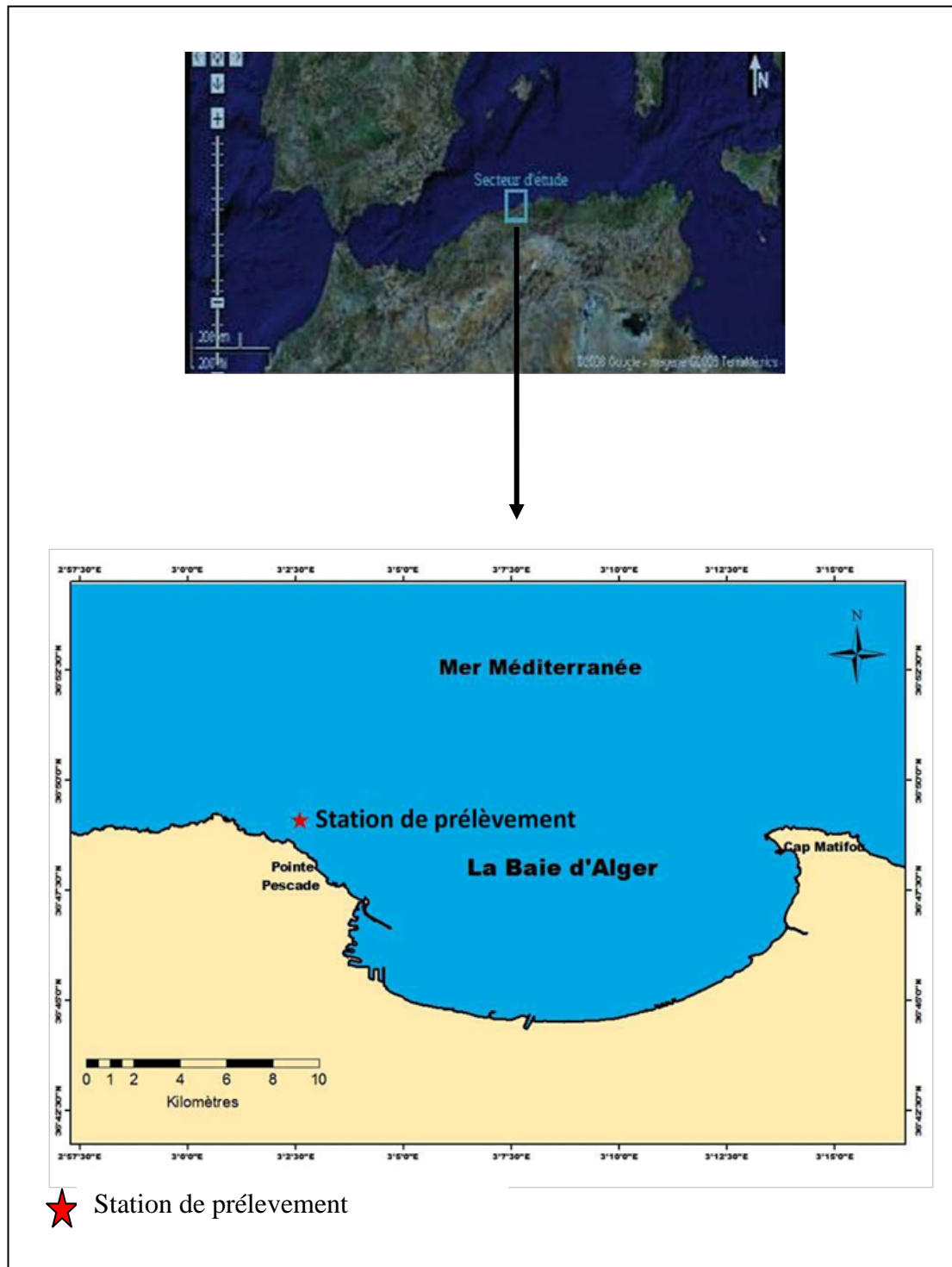


Figure 37: Localisation de la station de prélèvement.

Après le prélèvement, les individus d'astéries sont mis séparément dans des sachets en plastique préalablement étiquetés et contenant de l'eau de mer. Ils sont transportés au laboratoire pour procéder à l'étude de leurs saponines. Au laboratoire, les spécimens récoltés ont été conservés dans une solution de méthanol à 70 %.

III. Précautions méthodologiques

Le matériel utilisé lors de l'extraction et de purification des saponines est en verre (**Tab. 3, annexe 2**) mais jamais en plastique, car une matière plastique est soluble dans un solvant ou un mélange de solvant ayant un paramètre de solubilité voisine, ce qui représente un risque de présence des traces de plastique dans les extraits de saponines. Dans le but d'éviter tout risque et source de contaminations la verrerie ainsi que le matériel de dissection sont lavés avant et après chaque utilisation avec du détergent, rincée plusieurs fois avec de l'eau distillée et avec de l'acide chlorhydrique HCl (70 %), puis rincés soigneusement encore une fois avec de l'eau distillée et séchés à l'étuve.

L'extraction des saponines se fait par différents solvants organiques (**Tab. 4, annexe 2**). Les solvants organiques sont très dangereux, ils peuvent être absorbés par les voies respiratoires (grâce à leur volatilité), voies cutanées (quel que soit l'état de la peau), voies digestives (absorption accidentelle), ce qui provoque des effets nocifs sur plusieurs organes, notamment la peau, les poumons, le système nerveux central et périphérique, les reins et le foie. Les solvants sont inflammables et peuvent engendrer des risques d'incendie et d'explosion. De ce fait, plusieurs précautions ont été prises en considération lors des manipulations à savoir le port des gants de protection et un masque de protection respiratoire, l'aération de laboratoire pendant et après les manipulations, la manipulation est faite loin des sources de chaleur (bec Bunsen par exemple), le solvant utilisé n'est jamais jeté dans l'évier, le solvant récupéré est stocké au laboratoire dans des récipients en verre conditionnés au préalable et étiquetés, pour qu'ils seront collectés par la suite par des sociétés spécialisées. Les mêmes précautions ont été prises lors de la manipulation de sang.

IV. Traitement au laboratoire

L'identification et la vérification taxonomique de l'espèce étudiée, ainsi que l'étude biométrique des individus récoltés se sont avérées très importantes, vu le manque des travaux sur les astéries en Algérie.

IV.1. Reconnaissance de l'espèce (identification)

Cette étape s'est avérée primordiale pour confirmer l'espèce étudiée: *Echinaster sepositus* car elle est souvent confondu avec *Ophidiaster ophidianus*, *Hacelia attenuata* et *Asterias rubens* (voir plus haut, p. 52).

La reconnaissance de l'espèce étudiée est opérée en deux étapes principales:

- Traitement des photos (photo- interprétation);
- Étude de la morphologie externe de l'espèce.

IV.1.1. Photos interprétation

Elle est effectuée à l'œil nue par des observations des photos prises au fond et au laboratoire, puis la détermination de l'espèce en se référant à une documentation spécialisée Beoll (1955); Hyman (1955); Koehler, (1969); Gothel (1996); Augier (2010).

De nombreux sites internet ont été consultés pour la vérification de l'espèce notamment: <http://doris.ffesm.fr>; <http://www.webplongee.com>.

Les photos ci-dessous illustrent la photo interprétation.

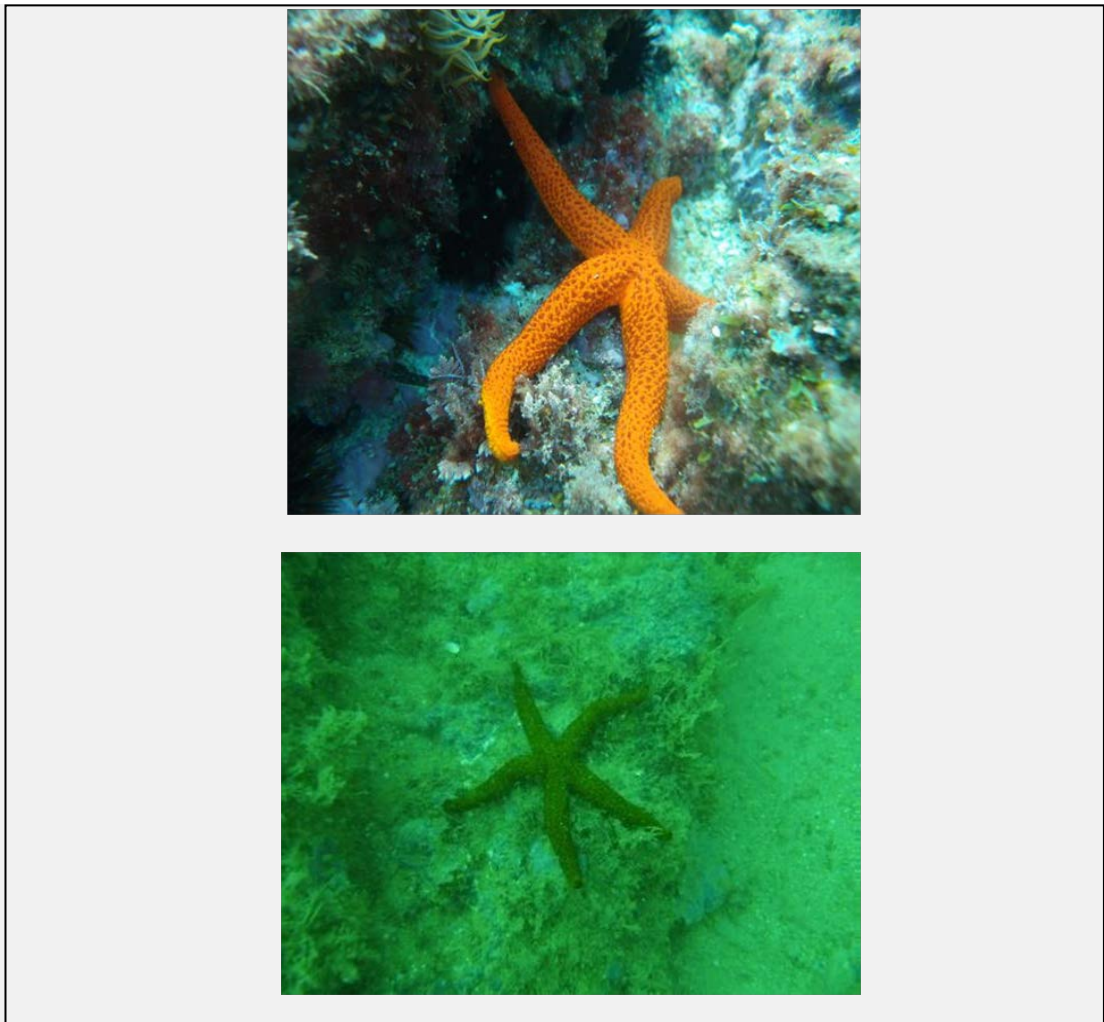


Figure 38: Photos d'*Echinaster sepositus* fournies par le MATEV¹⁹.

¹⁹ Photos d'*Echinaster sepositus* fournies par le MATEV in Atialla et Behlouli, 2013.

IV.1.2. Étude de la morphologique externe

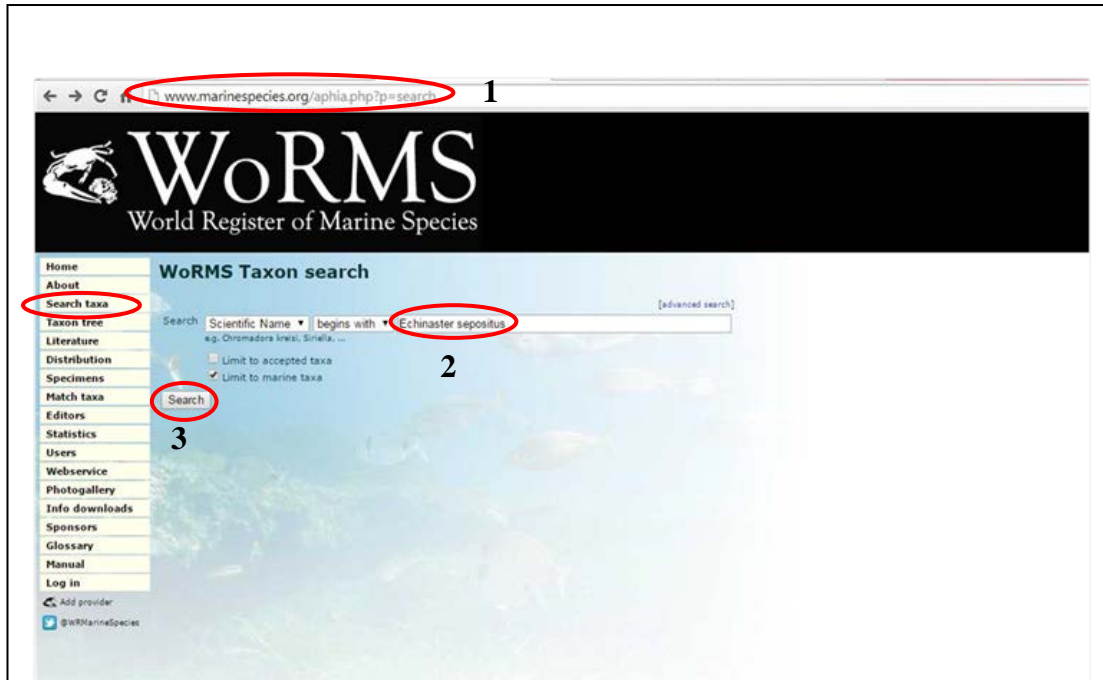
La détermination des astéries est faite grâce à l'examen extérieur du corps (Boell, 1955) qui fournit des renseignements importants sur:

- La couleur;
- Le nombre et la taille des bras;
- La forme des bras (stellée, pentagonale, cylindrique ou aplatie);
- La disposition des tubes ambulacraires deux ou quatre rangées;
- Le développement des plaques marginales;
- Le recouvrement des plaques.

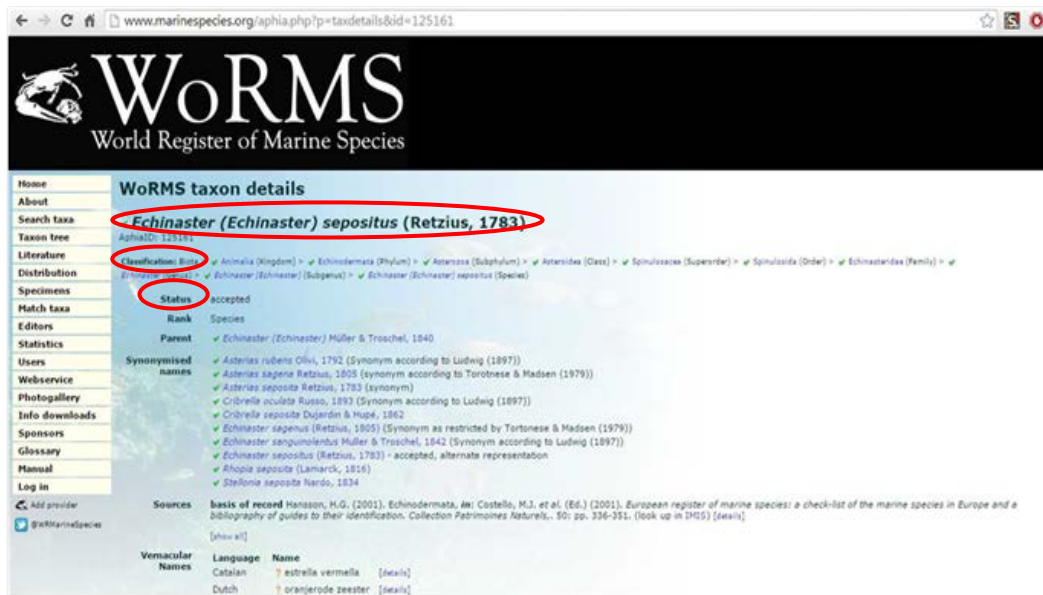
IV.2. Taxonomie

La position systématique de l'espèce est vérifiée en se référant à des bases de données taxonomiques standardisées, pour les différents groupes taxonomiques: L'ERMS (**European Register of Marine Species**: www.marbef.org/data/erms.php) et le WoRMS (**World Register of Marine Species**: <http://www.marinespecies.org>) Ces bases des données sont des registres de références taxonomiques qui regroupent des milliers d'informations taxonomiques, notamment benthiques. Ils sont activement mis à jour par un comité de rédaction de la taxonomie, composé des experts mondiaux sur la taxonomie.

Les étapes à suivre pour réaliser cette actualisation par le World Register of Marine Species sont résumées dans **la figure 39**.



- 1 : Accéder au site
- 2 : Introduire le nom du taxon à identifier
- 3 : Lancer la requête



- 4 : Vérifier les détails du taxon

Figure 39: Les étapes de vérification taxonomique effectuées par WoRMS.

IV.3. Mesure biométrique

Au laboratoire, une série de mesure à l'aide d'une règle graduée est réalisée sur chaque individu récolté. La longueur des bras (R) comptée depuis la bouche juste à l'extrémité des bras, et le rayon du disque centrale (r), de chaque individu, sont mesurés. Le rapport R/r est calculé.

D'autre part, une mesure pondérale est effectuée pour chaque individu pour déterminer le poids humide du corps (P_t) à l'aide d'une balance du type ACCULAB VICON à 0.1 g de précision (**Fig. 40**).



Figure 40: Mesures effectuées sur l'«étoile de mer» *Echinaster sepositus*.

IV.4. Dissection

Afin d'isoler les 5 organes (le tégument aboral, le tégument oral, l'estomac, les gonades et les caeca pyloriques) qui font objet d'extraction des saponines, nous avons procédé à la dissection des étoiles de mer.

La dissection des étoiles de mer est une opération délicate qui nécessite beaucoup de précaution, afin de ne pas endommager les différents organes.

Pour réussir la dissection il faut:

- Rincer l'«étoile de mer» plusieurs fois avec de l'eau courante pour enlever les impuretés, avant de commencer la dissection;
- Placer l'individu à disséquer sur la face orale (ventrale) dans la cuve de dissection;
- Repérer la plaque ambulacraire sur la face aborale.

Lors de la dissection la partie orale des individus est séparée de reste du corps par des incisions latérales, de part et d'autres de chaque bras. L'incision débute à l'inter-rayon vers l'extrémité du rayon et ce le plus près possible de la partie orale pour éviter d'endommager les organes. La partie aborale et les caeca pyloriques sont prélevés en sectionnant les mésentères, qui attachent les caeca pyloriques à la partie aborale et en coupant les canaux pyloriques. Les gonades sont enlevées après avoir sectionné le gonoducte avec une paire de ciseaux fins.

Ainsi, les étoiles de mer ont été séparées en cinq compartiments anatomiques, le tégument aboral, le tégument oral, l'estomac, les gonades et les caeca pyloriques (**Fig. 41**). Chaque organe est pesé, puis conservé dans le méthanol à 100 % et stocké au congélateur à 4 °C.

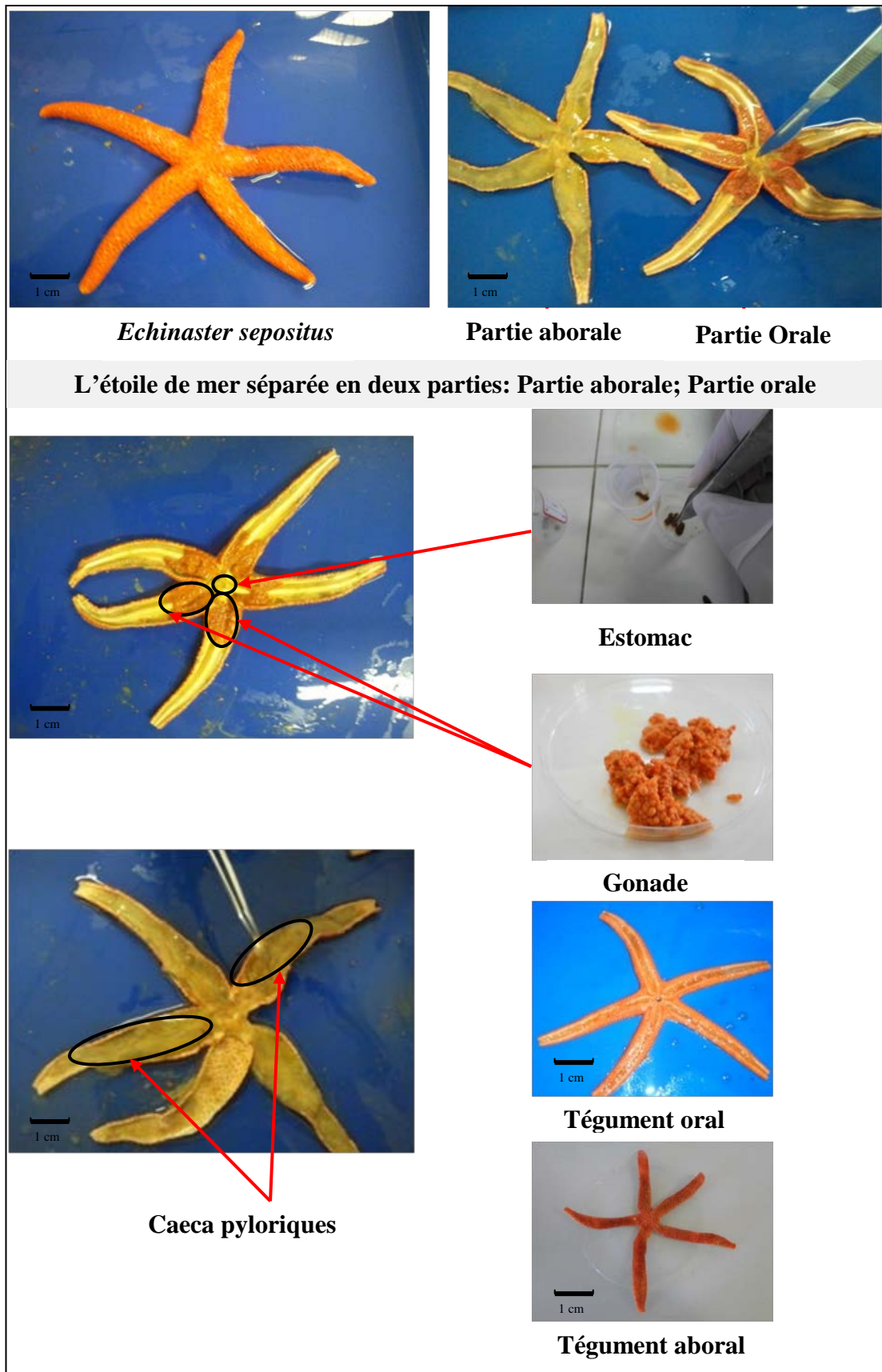


Figure 41: Dissection de l' "étoile de mer" et différents compartiments anatomiques isolés. (Image©DAHMOUNE. B).

IV.4.1. Indice gonadosomatique

Dans notre étude nous visons à étudier les fluctuations saisonnières de la teneur des saponines dans les gonades d'*Echinaster sepositus*. De ce fait, l'indice gonadosomatique des espèces récoltées est calculé.

L'indice gonado-somatique (IGS) est le poids des gonades (Pgo) en gramme (g) par rapport au poids corporel total (Pt) en gramme (g). Il est calculé par la formule suivante:

$$\text{IGS}(\%) = \frac{\text{pgo (g)}}{\text{pt(g)}} * 100\% \dots\dots\dots(01)$$

V. Extraction des saponines

Les saponines sont extraites des différents organes de l'astérie *Echinaster sepositus* selon la procédure d'extraction établie par Van Dyck *et al.* (2009).

La figure 42 montre la procédure générale d'extraction et de purification des saponines.

Matériels et méthodes

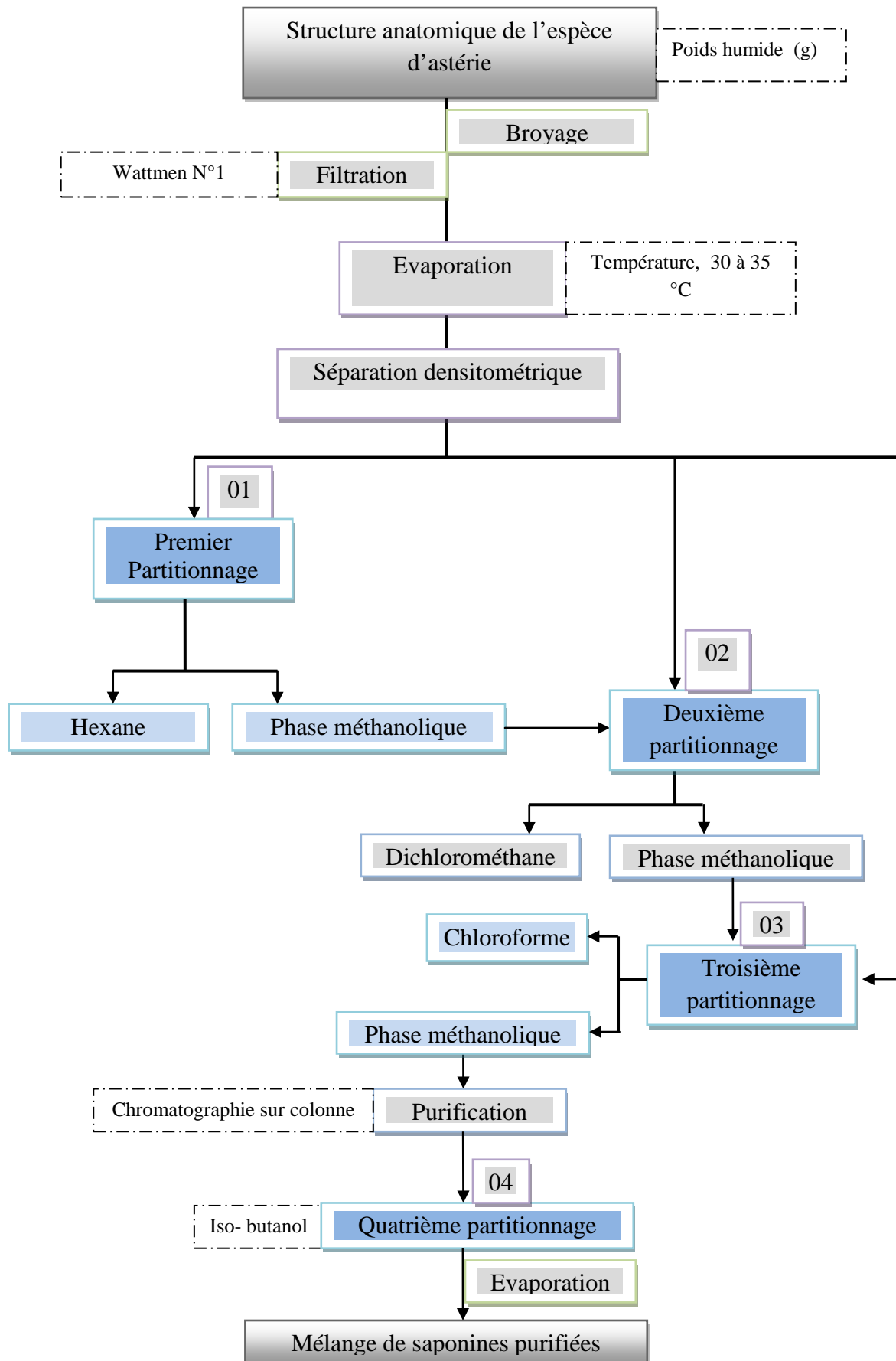


Figure 42: Procédure générale d'extraction et de purification des saponines.

V.1. Broyage, filtration et évaporation

En vue de réaliser les extractions, les cinq compartiments corporels isolés (le tégument aboral, le tégument oral, l'estomac, les gonades et les caeca pyloriques) des individus sont broyés séparément dans le méthanol à 70% au moyen d'un outil de dispersion (homogénéisation ou broyeur manuel). Ensuite, chaque broyat est filtré au moyen d'un papier filtre Wattman n° 1 monté sur un entonnoir relié à une pompe à vide.

Afin de changer le solvant, les extraits obtenus sont roto-évaporés au moyen de roto-évaporateur Buchi (R-120) à basse pression dans un bain marie à 30 °C pendant une à deux heures (jusqu'à l'évaporation de méthanol). Les résidus sont récupérés dans le méthanol à 100% et sont conservés à 4 °C, après avoir ajusté le volume d'eau à 10 % (Fig. 43).

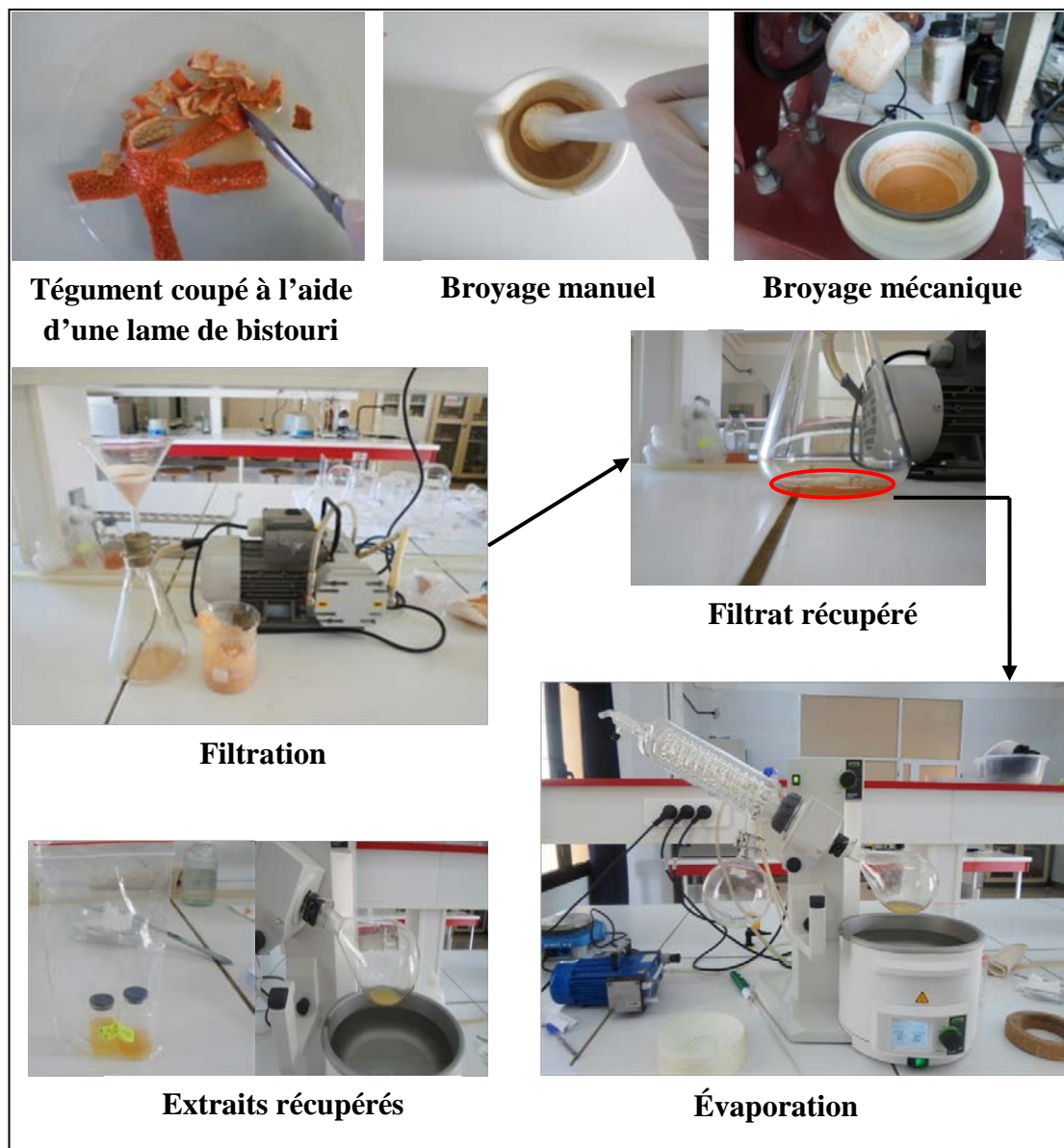


Figure 43: Broyage, filtration et évaporation des extraits.
(Image©DAHMOUNE. B).

V.2. Purification par séparation densitométrique

Dans cette étape trois extractions liquide-liquide ont été réalisées, au départ de l'extrait méthanolique récupéré après la filtration et l'évaporation, en augmentant à chaque fois la polarité du solvant d'extraction (n-hexane 0.09 D, dichlorométhane 1.60 D, chloroforme 1.04 D) (Lide, 2009), afin de purifier les extraits et de retirer le maximum de composants indésirables (**Fig. 44**).

V.2.1. Premier partitionnage

Le premier partitionnage avec la solution méthanol eau (90: 10) et le **n-hexane** est réalisé, afin d'éliminer les composés les plus apolaires que les saponines (graisses, acides gras).

Un volume équivalent de l'hexane est ajouté à la solution méthanol eau, le mélange est agité vigoureusement et laissé dans une ampoule à décanter pour permettre la séparation des phases. Une fois les deux phases sont bien distinguées, l'extrait **méthanolique est récupéré (phase inférieure)** et son volume est mesuré, l'hexane (phase supérieure) est éliminé.

Le volume d'eau est ajusté à 20 % de la phase méthanolique. Nous avons ainsi une solution méthanol eau (80: 20).

V.2.2. Deuxième partitionnage

Le deuxième partitionnage a été réalisé entre la solution méthanol eau (80: 20) et le **dichlorométhane**, pour éliminer les composés de polarités intermédiaires entre les acides gras et les saponines.

Dans cette nouvelle séparation densimétrique la phase récupérée est la phase supérieure (phase méthanolique) et celle éliminée est la phase inférieure (dichlorométhane).

Le volume d'eau est ajusté à 40 % de la phase méthanolique. Nous avons ainsi une solution méthanol eau (60: 40).

V.2.3. Troisième partitionnage

La dernière séparation a été réalisée entre la solution méthanol eau (60: 40) et le **chloroforme** (pendant 24 h), afin d'éliminer les composés de polarités intermédiaires entre les acides gras et les saponines.

Les saponines restent dans le méthanol (1.70 D) phase supérieure.

L'extrait méthanolique final récupéré est roto-éaporé puis re-dissout dans l'eau bi-distillée.

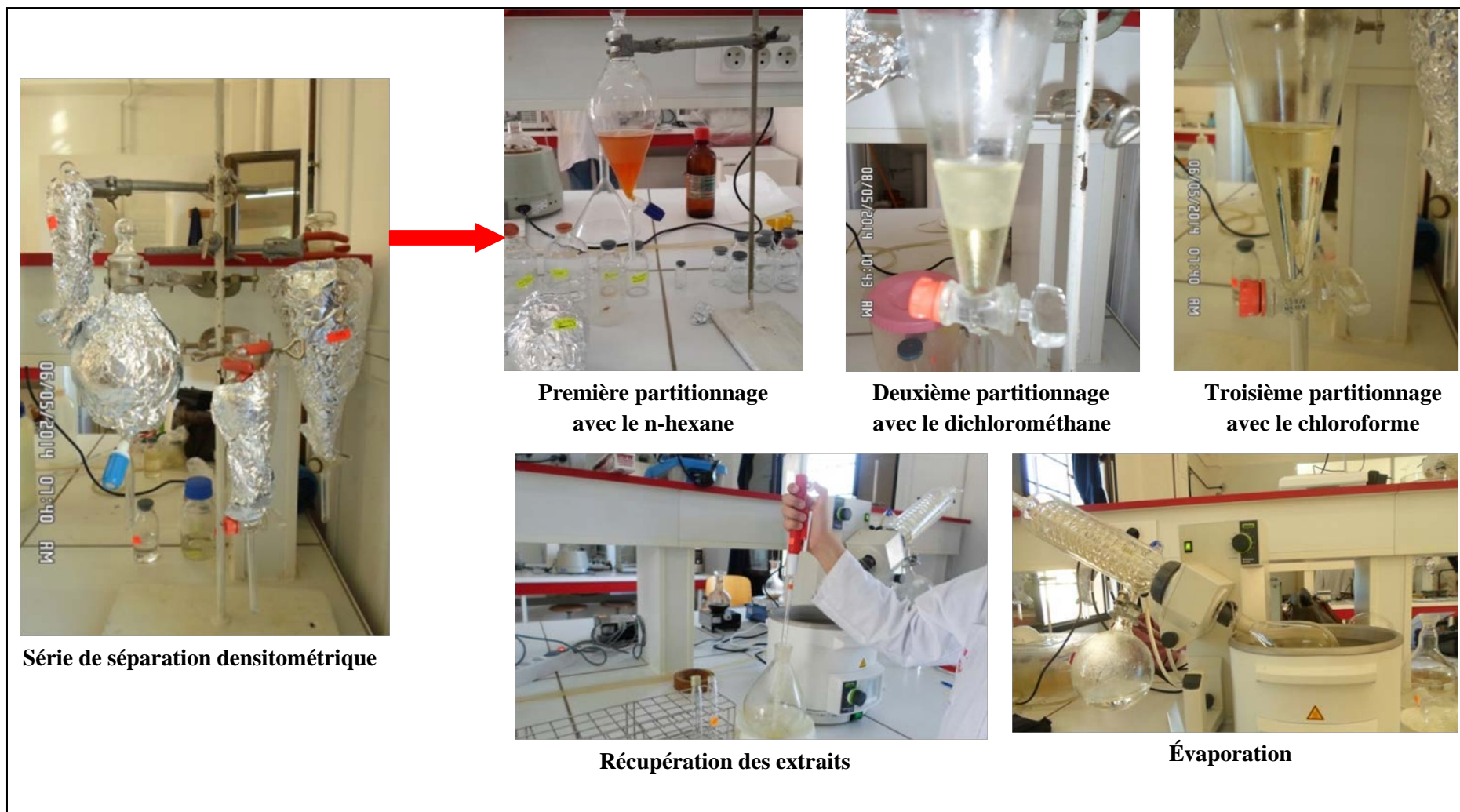


Figure 44: Purification des extraits des saponines d'*Echinaster sepositus* par séparation densitométrique.

(Image©DAHMOUNE. B).

V.3. Chromatographie en phase liquide

La chromatographie en phase liquide est la méthode utilisée pour purifier les mélanges bruts des saponines obtenues des différentes structures anatomiques d'*Echinaster sepositus* (**Fig. 45. A**).

La chromatographie est réalisée à l'aide d'une colonne de chromatographie (NS 12.5; 2.5 mm, lenz) contenant des billes d'amberlite XAD-4 préalablement lavée avec le méthanol et avec l'eau bi-distillée (**Fig. 1, annexe 2**).

Notre échantillon est déposé manuellement sur le sommet de la colonne, ensuite il est **lavé avec de l'eau distillée** pour éliminer les sels inorganiques puis par **du méthanol (100 %)** pour décrocher les saponines des billes. La phase méthanolique recueillie est évaporée dans les mêmes conditions que précédemment puis dissoute dans 5 ml d'eau bi-distillée.

V.4. Séparation densitométrique avec l'iso-butanol

Une dernière séparation liquide-liquide avec **l'iso-butanol** est effectuée, pour améliorer la pureté des extraits de saponines (**Fig. 45. B**).

On ajoute 5 ml d'iso-butanol aux 5 ml d'eau bi-distillée contenant l'extrait. Le mélange est agité vigoureusement et laissé reposer dans une ampoule à décanter pendant deux à trois heures, afin de permettre la séparation des phases.

Les saponines migrent dans la phase supérieure correspondant à la phase isobutanolique de 1.66 D (Lide, 2009), cette phase est récupérée dans des tubes à essai en verre et stockée au congélateur à 4°C. La phase inférieure correspondant à l'eau (de densité 1) est éliminée.

Il est à noter que l'ajout d'une petite quantité de **l'iso-butanol**, lors de toutes les évaporations, empêche la formation de mousse qu'ont tendance à produire les mélanges des saponines en solution dans du méthanol et particulièrement dans du méthanol aqueux (**Fig. 46**).

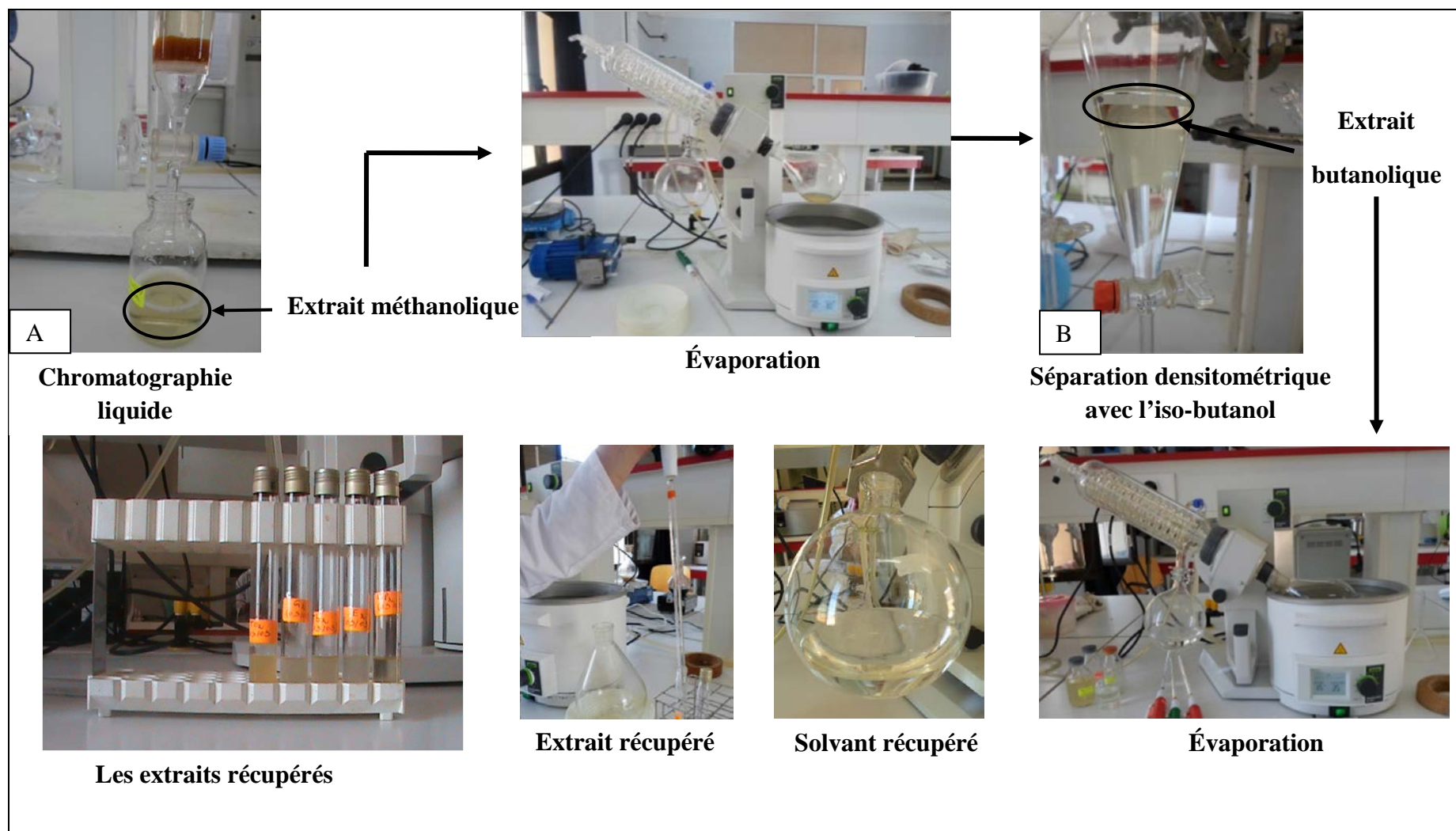


Figure 45: Purification des extraits de saponines d'*Echinaster sepositus*. A: Chromatographie liquide, B: séparation avec l'iso-butanol.

(Image©DAHMOUNE. B).



Figure 46: Saponification des extraits de saponines au cours de l'évaporation.
(Image©DAHMOUNE. B).

V.5. Détection des saponines

V.5.1. Test de saponification

Dans le but de prouver que l'extraction des saponines à partir des différents organes d'*Echinaster sepositus* (le tégument aboral, le tégument oral, l'estomac, les gonades et les caeca pyloriques) est réussie, le test de saponification est effectué et l'indice de mousse est calculé.

Les saponines sont caractérisées par leur pouvoir moussant en solution aqueuse qu'on peut exprimer par l'indice de mousse (IM) (Bruneton, 1999).

Pour obtenir la mousse une série des dilutions est préparée (10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 %) en introduisant dans 10 tubes à essai 1 à 10 ml de l'extrait de chaque compartiment anatomique, en complétant le contenant à 10 ml avec de l'eau bi-distillée. Ensuite chaque tube est agité pendant 15 secondes dans le sens de la longueur à raison de deux agitations par secondes. Après 15 min de repos, la hauteur de mousse formée au niveau de chaque tube est mesurée (**Fig. 47**).

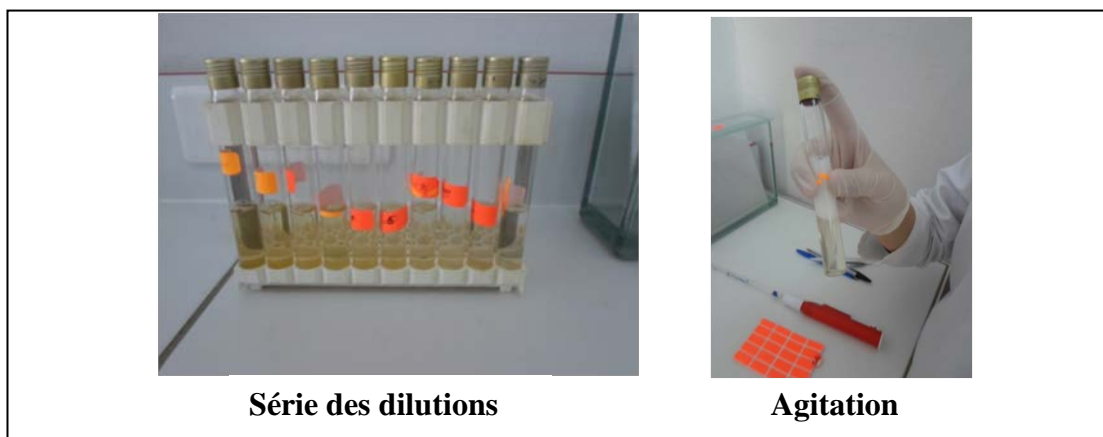


Figure 47: Test de saponification des extraits des saponines d'*Echinaster sepositus*.
(Image©DAHMOUNE. B).

Le tube N dans lequel la hauteur de mousse est de 1 cm sert de base au calcul de l'indice.

L'indice de mousse (IM) est calculé par la formule suivante:

$$\text{IM} = 1000/N \dots \dots \dots (2)$$

N: nombre de tube dans lequel la hauteur de mousse est égale ou supérieure à 1 cm.

VI. Activité des saponines

Il est à noter que pour les essais de l'activité hémolytique et antibactérienne décrits en dessous, les extraits des saponines utilisés sont ceux obtenus à partir des individus échantillons durant le mois de **février**. Car ce sont des individus matures selon l'indice gonadosomatique.

Les extraits gonadiques des autres individus d'*Echinaster sepositus* récoltés sont utilisés pour l'étude de l'activité hémolytique et de la variation saisonnière de la teneur des saponines dans les gonades.

L'étude de la variation saisonnière de la quantité des saponines gonadiques est effectuée sur l'ensemble de la population (sans distinction entre mal et femelle) vu le nombre important des individus récoltés 121 individus.

VI.1. Activité hémolytique

L'une des méthodes précédemment utilisées pour la quantification des saponines s'articule sur l'évaluation de l'activité hémolytique de ces substances (Yasumoto *et al.*, 1966; Mackie *et al.*, 1977).

Le pouvoir hémolytique des saponines de chaque organe a été évalué selon la méthode décrite par Apers *et al.* (2001) sur le sang des souris de laboratoire.

Cette méthode consiste en trois étapes, la préparation de sang, la préparation des échantillons des saponines et le test d'hémolyse (**Fig. 48**).

VI.1.1. Préparation de sang (Érythrocytes 2 %)

Le pouvoir hémolytique est évalué sur une suspension d'érythrocytes (2 %) des souris de laboratoire dans une solution du tampon phosphate salin (PBS), préalablement préparée (**Fig. 2, annexe 2**).

Une quantité de sang brut citraté (10 ml) est lavée avec du PBS (40 ml) dans un flacon de 50 ml, puis centrifugée pendant 15 minutes à 10000 t/min au moyen d'une centrifugeuse (Modèle Segma 1-15).

Le surnageant résultant est éliminé et la centrifugation est renouvelée puis arrêtée dès que le surnageant est devenu clair et sans couleur. Ensuite le surnageant résultant est éliminé et le culot est récupéré dans une solution de PBS (chaque 1 ml de culot est récupéré dans 49 ml de PBS ce qui forme une suspension d'érythrocytes à 2 %).

VI.1.2. Préparation des échantillons des saponines

Afin de tester l'effet hémolytique des saponines, des concentrations différentes ont été préparées pour chaque extrait issu de chaque compartiment anatomique d'*Echinaster sepositus*.

Les extraits sont solubilisés avec différents volumes de PBS (tampon phosphate salin) suivant la concentration approximative souhaitée 0 % (Témoin: le PBC), 25 %, 50 %, 75 % et 100 % (Extrait brut).

VI.1.3. Test d'hémolyse

Le pourcentage d'hémolyse provoqué par les extraits de saponines préparés préalablement est évalué comme suit:

- Une quantité de suspension d'érythrocytes 1980 µl est mélangée avec 20 µl d'extrait de saponine préalablement préparé dans des tubes eppendorf. Les tubes sont délicatement retournés pour bien mélanger les échantillons. Les échantillons sont incubés à une température de 20°C.
- Après le temps d'incubation souhaité (5 min, 10 min, 20 min, 40 min, 60 min, 80 min, 100 min et 120 min) les tubes contenant les échantillons sont centrifugés pendant 10 min à 10000 t/min.
- Le surnageant de chaque échantillon est récupéré et sa densité optique est mesurée à 540 nm, en utilisant comme témoin un blanc sans extrait (PBS), à l'aide d'un spectrophotomètre (modèle 7305, JENWAY).

VI.1.3.1. Cinétique d'hémolyse

Pour déterminer le temps d'incubation optimal des globules rouges des souris avec les saponines d'*Echinaster sepositus*. La cinétique d'hémolyse est étudiée à différents temps d'incubation à savoir 5 min, 10 min, 20 min, 40 min, 60 min, 80 min, 100 min et 120 min.

VI.1.3.2. Effet de la concentration

L'activité hémolytique est exprimée par l'indice hémolytique. L'indice hémolytique (IH) est calculé à partir de la concentration minimale qui cause l'hémolyse complète des globules rouges par la formule suivante (Fusetani *et al.*, 1984):

$$IH = \frac{V}{\left(\frac{P}{100}\right) * s} \dots\dots\dots (03)$$

V: Le volume total de la solution dans le tube à essai (ml);

P: Le pourcentage des saponines dans la solution (%);

s: le volume de la solution des saponines (ml).

Ainsi pour déterminer l'indice hémolytique, l'activité hémolytique de chaque extrait de saponine est évaluée à différentes concentrations: 25 %, 50 %, 75 %, 100 %.

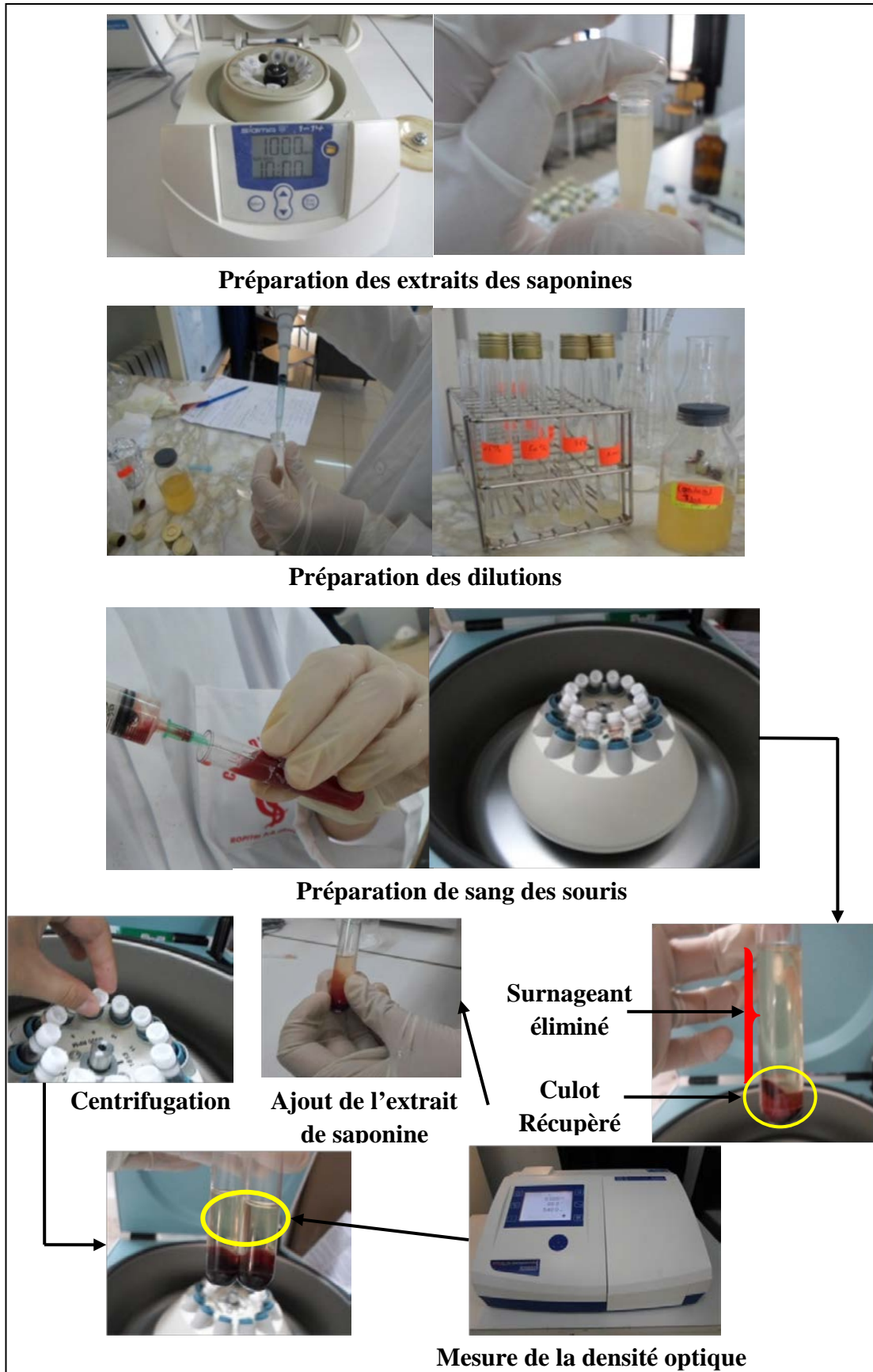


Figure 48: Test d'hémolyse des extraits de saponine sur les érythrocytes des souris. (Image©DAHMOUNE. B).

VI.1.3.3. Effet de la température sur l'activité hémolytique

Pour déterminer l'effet de la température sur l'hémolyse des globules rouges, des essais hémolytiques sont effectués sur les globules rouges des souris, en variant la température d'incubation (20°C, 25°C, 37°C et 45°C).

- **Récapitulatif des essais hémolytiques**

Le **tableau 9** résume l'ensemble des conditions opératoires pour le test d'hémolyse.

Tableau 9: Diapositive expérimental du test d'hémolyse.

| | Cinétique | Effet de la concentration | Effet de la Température |
|--|---------------------------------------|--|----------------------------------|
| Nombre d'échantillons | 8 Par extrait | 4 Par extrait | 4 Par extrait |
| Origine d'extrait de saponine | Tab, TO, CP, E, G. | Tab, TO, CP, E, G | T.ab, TO, CP, E, G |
| Temps d'incubation (min) | 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 120 | 60 | 60 |
| Vitesse de Centrifugation (t/min) | 10000 | 10000 | 1000 |
| Temps de centrifugation (min) | 10 | 10 | 10 |
| Volume des érythrocytes μl | 1980 | 1980 | 1980 |
| Volume de saponine μl | 20 | 20 μ | 20 |
| Concentration de saponine (%) | 25, 50, 75, 100 | 25, 50, 75, 100 | 100 |
| pH de solution | 7.4 \pm 0.05 | 7.4 \pm 0.05 | 7.4 \pm 0.05 |
| T °C | 37 \pm 0.5 | 20, 25, 37, 45 \pm 0,5 | 37 |

Tab: Tégument aboral, **TO:** Tégument oral, **CP:** Caeca pylorique, **E:** Estomac, **G:** gonad.

VI.2. Activité antibactérienne

VI.2.1. Souches bactériennes testées

Le choix des bactéries a été porté sur trois souches courantes en pathologie humaine, *Staphylococcus aureus* (Bactérie Gram positif), *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Bactéries Gram négatif). Ces espèces sont caractérisées par leur résistance naturelle à divers agents antimicrobiens.

Ces souches sont des souches hospitalières, elles ont été fournis par le laboratoire de microbiologie de l'hôpital de Ain Tadlesse de Mostaganem (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) et le service d'infection de centre hospitalo-universitaire (CHU) de Tizi Ouzou (*Pseudomonas aeruginosa*).

***Staphylococcus aureus*: (Bactérie Gram positif)**

Staphylococcus aureus (staphylocoque doré) tend à se regrouper en amas comme tous les staphylococcus. C'est une bactérie qui a un pouvoir pathogène chez l'homme. Elle apparaît souvent lors d'infections à la suite d'opérations chirurgicales.

***Escherichia coli*: (Bactérie Gram négatif)**

C'est une bactérie qui intervient dans un grand nombre d'infection chez l'homme. Elle est capable de coloniser les muqueuses et de produire des toxines. Elle est présente naturellement dans nos intestins sans conséquence néfaste, elle devient pathogène dans nos urines.

***Pseudomonas aeruginosa*: (Bactérie Gram négatif)**

Pseudomonas aeruginosa est un bacille à Gram négatif se comporte comme des bactéries opportunistes.

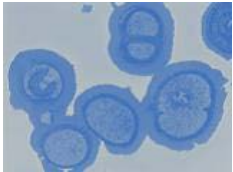

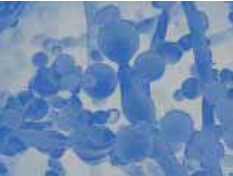
Le tableau 10 résume les caractères morphologiques et biochimiques des germes testés.

VI.2.2. Milieu de culture

Suivant les méthodes employées, et selon les souches bactériennes choisis, nous avons utilisé les milieux de cultures suivant la gélose nutritive (GN), la gélose de Mueller Hinton (MH), le bouillon nutritif (BN) et l'eau physiologique.

La composition de ces milieux est décrite dans **les tableaux 5 et 6 en annexe 2**.

Tableau 10: Caractères morphologiques et biochimiques des germes testés.

| Espèce bactérienne | Caractères morphologiques | | Caractères biochimiques | | | |
|-------------------------------|---------------------------|---|-------------------------|-----------|----------|--------------------------------|
| | Gram | Aspect morphologique | Catalase | Coagulase | oxydase | Pigment |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Positif | Coccus en grappe de Raisins  (Pieri et Kirkiacharian, 1992) | Positive | Positive | - | - |
| <i>Escherichia coli</i> | Négatif | Coccobacille  (Pieri et Kirkiacharian, 1992) | - | - | Négative | - |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Négatif | Bacille  (Pieri et Kirkiacharian, 1992) | - | - | Positive | Pyocyanine et Pyoverdine |

VI.2.3. Préparation de l'inoculum

Les tests antibiotiques doivent être réalisés à partir des cultures jeunes (en phase de croissance exponentielle), d'où la nécessité de réactiver chaque souche bactérienne testée (Bassole *et al.*, 2001).

La préparation de l'inoculum s'effectue en deux étapes, la préparation de la pré-culture et la préparation de la suspension bactérienne (**Fig. 49**).

- **Préparation de pré- culture**

Chaque souche estensemencée dans un bouillon nutritif (BN). Puis elle est incubée à une température de 37°C pendant 24 h. Ensuite ces souches bactériennes (souches de 24 h) ont été cultivées dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive, pendant 18 h à 37°C.

- **Préparation de la suspension bactérienne**

À partir des cultures jeunes sur GN, on prélève 3 à 5 colonies identiques et bien isolées dans 5 ml d'eau physiologique et stérile, et on agite pendant quelques secondes au vortex.

L'ajustement de la suspension à une concentration de 10^5 à 10^6 UFC/ml (UFC: Unité Formant une Colonie) est réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 650 nm (Bassole *et al.*, 2001).

VI.2.4. Étude de l'activité antibactérienne

Pour évaluer l'activité antibactérienne des saponines isolées des différents compartiments anatomiques d'*Echinaster sepositus*, nous avons adopté la méthode de diffusion en milieu solide ou méthode des disques.

VI.2.4.1. Méthode de diffusion en milieu solide

La méthode de diffusion en milieu solide appelée aussi antibioaromatogramme a pour objectif la mise en évidence de l'activité antimicrobienne.

Le principe de la méthode repose sur la diffusion de produit antimicrobien, en milieu solide, à partir d'une zone source d'antibiotique déposé à la surface de la gélose sur une boîte de Pétri. Elle consiste à mesurer le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance microbienne autour de disque, ce qui traduit l'effet du produit antimicrobien sur la cible. La mesure de la zone d'inhibition a lieu après 24 h d'incubation à 37°C (Bassole *et al.*, 2001).

- **L'ensemencement**

Dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre, le milieu de culture gélose Mueller Hinton (MH) est coulé aseptiquement sur une épaisseur de 4 ml et laissé refroidir et solidifier sur la paillasse. Par la suite, Chaque boîtes de Pétri est inoculé avec 1 ml de la suspension microbienne fraîchement préparée (L'ensemencement est effectué dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum) à l'aide d'un râteau (**Fig. 49**).

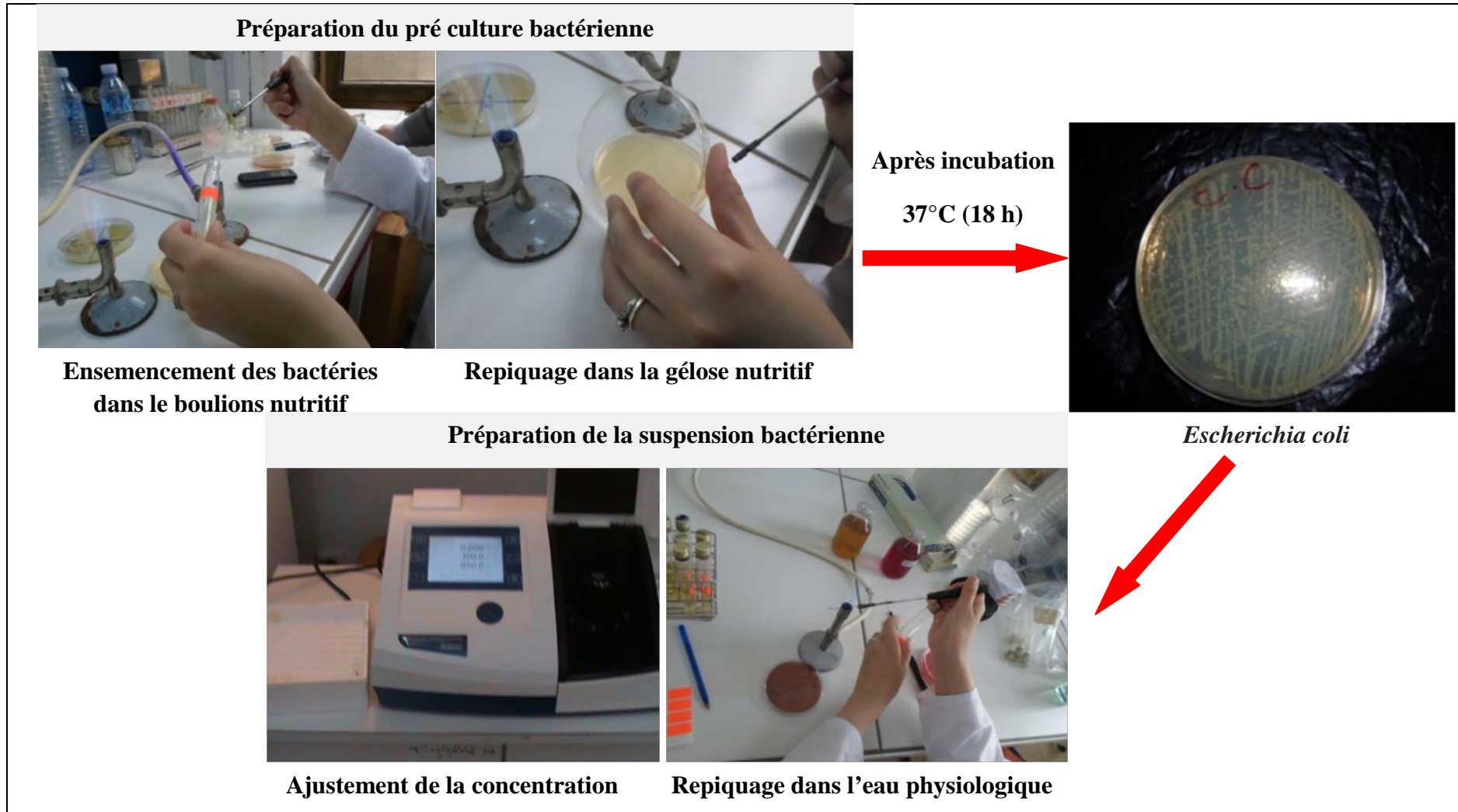


Figure 49: Préparation de l'inoculum bactérien.

(Image©DAHMOUNE. B).

- **Dépôt des disques**

Les disques sont fabriqués à partir de papier Wattman N°, avec un diamètre de 6 mm. Ils sont stérilisés dans des tubes à essai dans l'autoclave.

Chaque disque est imbibé de 20 µl de la solution de saponine (Andersson *et al.*, 1989) en mettant seulement en contact le bout du disque, celui-ci va absorber progressivement l'extrait jusqu'à son imprégnation totale. Par la suite, le disque est déposé à la surface du milieu ensemencé à l'aide d'une pince stérilisée au bec Bunsen.

Le dépôt des disques doit être à 15 mm du bord de la boîte de Pétri avec une distance entre eux pour éviter la fusion des zones d'inhibition.

Dans les boîtes témoins les disques sont imbibés dans l'iso-butanol.

L'expérience est répétée trois fois pour chaque extrait et pour chaque bactérie pour s'assurer du bon déroulement de la méthode.

- **La lecture**

Après 24 h d'incubation à 35°C, la lecture est effectuée par la mesure de la zone d'inhibition autour de chaque disque, à l'aide d'une règle graduée, à l'extérieur de la boîte fermée.

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peuvent être symbolisés, par des signes, d'après la sensibilité des souches (Ponce *et al.*, 2003):

- Non sensible ou résistante (-): diamètre < 8 mm;
- Sensible (+): diamètre compris entre 9 à 14 mm;
- Très sensible (++) : diamètre compris entre;
- Extrêmement sensible (+++): diamètre > 20 mm.

VI.2.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Nous avons déterminé la concentration minimale inhibitrice uniquement pour les extraits des saponines d'*Echinaster sepositus* qui ont présenté une activité antibactérienne importante, lors de l'étude sur le milieu solide.

VI.2.5.1. Méthode de dilution en bouillon

Le but des méthodes de dilution en bouillon est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée.

Le principe de la méthode consiste à réaliser des dilutions des extraits, les incorporer dans le bouillon nutritif, et tester sur ce milieu les souches bactériennes.

Dans cette méthode la détermination de la concentration minimale inhibitrice est effectuée par la mesure de la turbidité introduite par la croissance des germes étudiés. La concentration minimale inhibitrice correspond à la plus petite concentration, pour laquelle il y avait l'absence de turbidité (Moroh *et al.*, 2008).

- **Préparation de la gamme des dilutions**

Pour chaque extrait testé, des dilutions ont été préparées avec le diméthyle sulfoxyde (DMSO) (Andersson *et al.*, 1989).

La gamme des dilutions préparées est de 20 %, 40 %, 60 %, 80 % et 100 % (**Fig. 50**).

- **Ensemencement**

Dans des tubes à essai 5 ml de bouillon nutritif (BN) est mélangé avec 1 ml de la solution de saponine, puis le mélange est agité manuellement. Chaque tube est ensemencé par 0.1 ml de l'inoculum de 18h (Cellule en phase de croissance exponentielle) de concentration de 10^6 UFC/ml à l'aide de pipette Pasteur.

La densité optique de chaque tube est mesurée à 650 nm avant incubation.

Des témoins de croissance et de stérilité du milieu sont réalisés pour chaque souche et chaque extrait. Chaque expérience est réalisée trois fois.

- **Incubation et lecture**

Les tubes sont incubés à 37°C pendant 18 à 24 h. La croissance bactérienne est comparée à celle du témoin et la densité optique de chaque tube est mesurée une deuxième fois à 650 nm. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie par la mesure de taux de survie.

- **Taux de survie (S)**

Le taux de survie est déterminé par l'intermédiaire de la densité optique mesurée au spectromètre par la formule suivante:

$$S = (df - di / DF - Di) * 100 \dots \dots \dots (04)$$

df-di: Différence de la densité optique de la solution expérimentale ensemencée avant (df) et après incubation (di) à 37°C pendant 18 à 24 h.

Df-Di: Différence de la densité optique de la solution témoin sans extrait avant (DF) et après incubation (Di) à 37°C pendant 18h à 24h.

La CMI est définie comme étant la plus petite concentration d'extrait pour laquelle le taux de survie est égal à 0%.

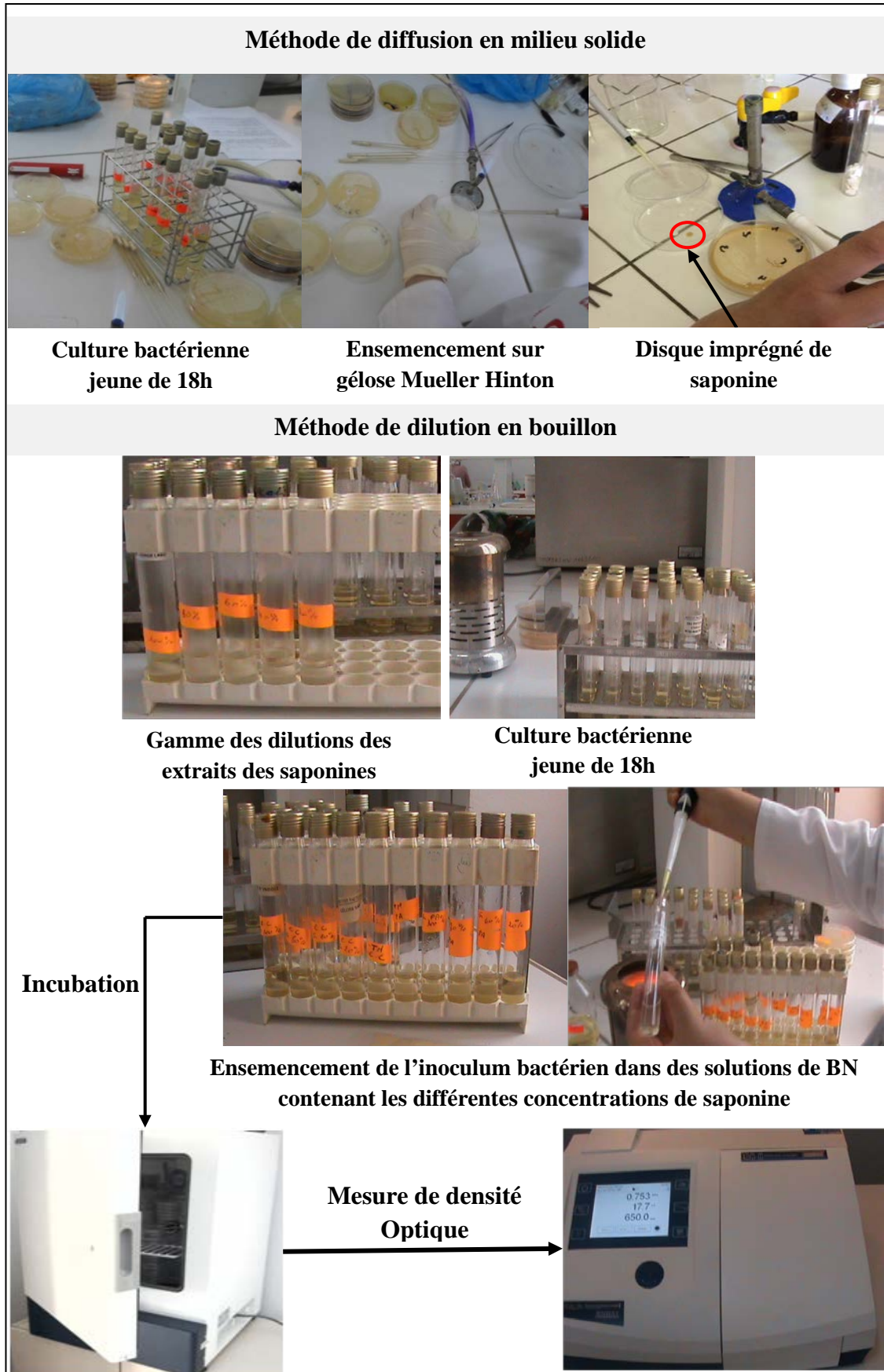


Figure 50: Activité antibactérienne des extraits des saponines.
(Image©DAHMOUNE. B).

Partie III

Résultats et discussions

I. Description de l'espèce étudiée

I.1. Morphologie externe

L'identification de l'espèce d'Asteroidea (*Echinaster sepositus*) étudiée est basée sur la photo-interprétation, et l'étude de la morphologie externe des individus récoltés. Les photographies réalisées in situ et/ ou au laboratoire ont pleinement attribué à la vérification de l'espèce. Selon Boell (1955); Hyman (1955) la forme, la couleur du corps, la taille et le nombre des bras sont parmi les critères d'identification des astéries.

Pour les individus récoltés:

- La couleur du corps est rouge brique sur la face aborale, il prend une couleur plus claire sur la face orale. Cette coloration passe dans le solvant de conservation (méthanol);
- La forme du corps est pentagonale (5 bras), avec des bras mince, allongés et arrondis sur face ventrale (**Fig. 51**);
- L'extrémité des bras est obtuse (**Fig. 51**).

L'examen extérieur des deux faces dorsale et orale des spécimens récoltés a permis de fournir des renseignements importants sur le nombre, la forme et la disposition des piquants au niveau des plaques dermiques.

Les piquants sur la face dorsale du corps sont trop petits et très rapprochés, ils forment un réseau très irrégulier et lâche, limitant de nombreux espaces. Ils sont un peu plus grands au niveau des plaques marginales à savoir la plaque marginale dorsale et ventrale, et sont très nombreux au niveau de cette dernière. Sur la face ventrale la plaque adambulacraire est formée de trois piquants.

Les tubes ambulacraires sont disposés en deux rangées (**Fig. 51**), ils se terminent par une ventouse. Ces données morphologiques sont en accord avec ceux validées par Ludwig (1897²⁶) pour la description externe d'*Echinaster sepositus*. Ce qui confirme pertinemment que l'espèce étudiée est *Echinaster sepositus*.

²⁶ Ludwig, 1897 in Koehler, 1969.

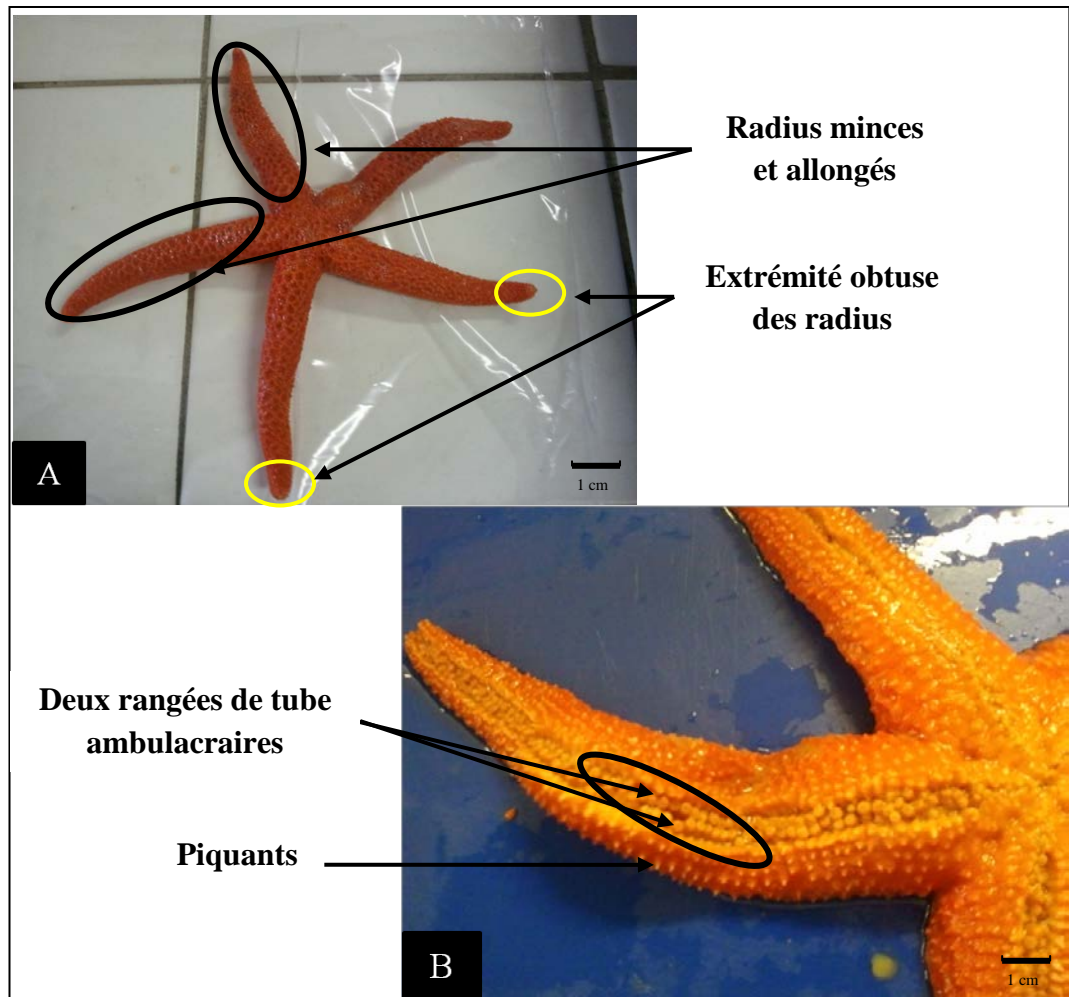


Figure 51: Caractéristiques de l' "étoile de mer" *Echinaster sepositus*.

A: face aborale, **B:** Face orale. (Image©DAHMOUNE. B).

L'identification de l'espèce a été vérifiée par le Pr. Mezali (Enseignant chercheur au département des sciences de la mer et de l'aquaculture, université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem) en collaboration avec le personnel du laboratoire de biologie des organismes marins et biomimitisme (Université de Mons, Belgique).

I.2. Actualisation taxonomique

La vérification taxonomique effectuée par le WoRMS (**World Register of Marine Species**) démontre qu'*Echinaster sepositus* est une espèce valide à plusieurs synonymes, et son statut taxonomique est: « Alternate representation: représentation alternative » en général, dans ce cas, le nom du genre et de l'espèce est maintenu, et dans la majorité des cas le nom du genre est rajouté avant celui de l'espèce entre parenthèses: *Echinaster sepositus* (Retzius, 1783) représentée par: *Echinaster (Echinaster) sepositus* (Retzius, 1783).

II. Données biométriques

Les échantillons prélevés sont de taille et de poids moyens, de l'ordre de 17.7 cm (± 0.12) et de 68.9 g (± 0.7) respectivement (**Tab. 11; Tab. 7, annexe 3**).

Le diamètre du disque central (r) des individus étudiés est de l'ordre de 18.46 mm (± 0.03) en moyenne, et la longueur de leurs bras (R) est de 11.92 cm (± 0.22) en moyenne. Le rapport R/r varie entre 4.8 et 7.10 cm, avec une valeur moyenne de l'ordre de 6.41 cm (± 0.22).

Le plus grand individu est prélevé au mois d'avril avec un poids corporel de l'ordre de 79.8 g, une longueur des bras de l'ordre de 14.9 cm, un diamètre du disque central de 2.1 cm et un rapport R/r de 7.09. Le plus petit individu est prélevé au mois d'aout avec un poids corporel de 42.1 g, une longueur des bras de l'ordre de 7.2 cm, un diamètre du disque central de 1.5 cm et un rapport R/r de 4.8.

Les variances mensuelles moyennes des poids corporels, de la longueur des bras, de diamètre du disque central et de rapport R/r des individus étudiés sont représentées dans **le tableau 11**.

Résultats et discussion

Tableau 11: Variations mensuelles des poids corporels, de la longueur des bras, et de diamètre du disque central
de la population d'*Echinaster sepositus* étudiés.

| | Mois de prélèvement | | | | | | | | | | | | |
|---|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Septembre | Octobre | Novembre | Décembre | Janvier | Février | Mars | Avril | Mai | Juin | Juillet | Aout | Septembre |
| Poids En (g) | 63.69 (±0.57) | 68.73 (±0.70) | 72.84 (±0.76) | 74.96 (±0.37) | 78.06 (±0.75) | 77.61 (±0.47) | 78.46 (±0.55) | 78.69 (±0.54) | 67.92 (±0.58) | 62.67 (±2.02) | 53.99 (±0.48) | 51.73 (1.92) | 65.05 (±0.24) |
| Longueur Des bras (R) cm | 10.96 (± 0.18) | 11.85 (±0.09) | 12.67 (±0.29) | (13.3) (±0.2) | 14.23 (±0.09) | 14.2 (±0.4) | 14.46 (±0.124) | 14.05 (±0.4) | 11.76 (±0.05) | (10.77) (±0.51) | 7.98 (± 0.3) | 7.42 (±0.22) | 11.41 (±0.09) |
| Rayon du disque central (r) cm | 1.71 (±0.02) | 1.79 (±0.02) | 1.91 (±0.02) | 1.97 (±0.04) | 2.09 (±0.02) | 2.08 (±0.03) | 2.08 (±0.03) | 2.09 (±0.02) | (1.77) (±0.04) | (1.72) (±0.04) | (1.52) (±0.04) | (1.51) (±0.02) | (1.79) (±0.04) |
| Rapport R/r | 6.41 (±0.1) | 6.62 (±0.1) | 6.63 (±0.12) | 6.76 (±0.19) | 6.81 (±0.13) | 6.83 (±0.16) | 9.95 (±0.09) | 6.72 (±0.12) | 6.65 (±0.14) | 6.26 (±0.14) | 5.25 (±0.14) | 4.91 (±0.14) | 6.49 (±0.14) |
| Effectifs | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |

R/r: rapport entre la longueur du bras et le rayon du disque central.

III. Détection des saponines

III.1. Indice de mousse

Le test de saponification est effectué pour prouver la réussite de l'extraction, et pour déceler la présence des saponines dans les différents extraits obtenus à partir des différents compartiments anatomiques d'*Echinaster sepositus* (le tégument aboral, le tégument oral, l'estomac, les gonades et les caeca pyloriques).

L'agitation des cinq extraits obtenus respectivement à partir du tégument aboral, du tégument oral, de l'estomac, des gonades et des caeca pyloriques provoque la formation d'une mousse importante. La mousse formée est due à la saponification des extraits testés. Ce résultat reflète la présence des saponines dans les différents extraits d'*Echinaster sepositus*.

La mousse formée par les saponines d'*Echinaster sepositus* est représentée dans la **figure 52**.

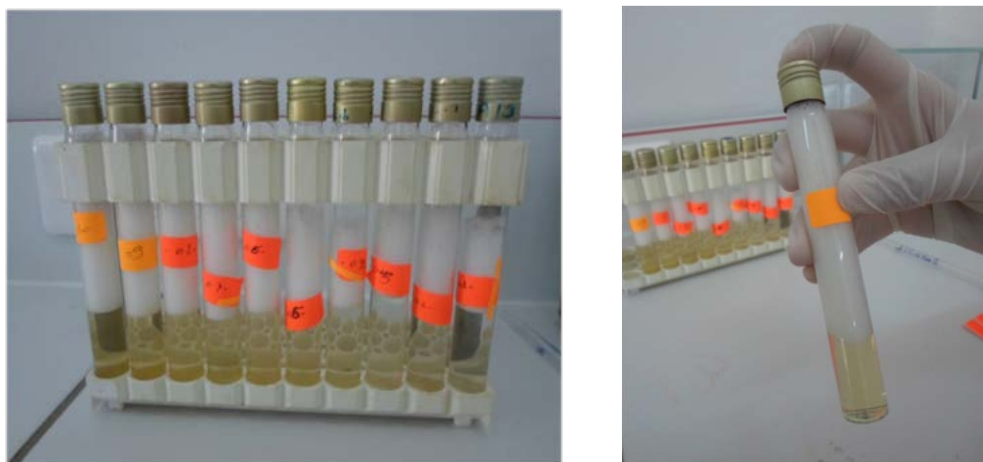


Figure 52: Saponification des extraits des saponines d'*Echinaster sepositus*.
(Image©DAHMOUNE. B).

La hauteur de mousse formée au niveau des tubes dépasse 1 centimètre. En effet, pour tous les extraits et toutes les dilutions, la hauteur de mousse est supérieure à 4 cm. Elle est entre 7.5 cm et 8 cm pour l'extrait obtenu à partir des gonades, entre 7.2 cm et 8 cm pour l'extrait obtenu à partir de tégument aborale, entre 6.7 cm et 8 cm pour l'extrait obtenu à partir de tégument orale, entre 5.5 cm et 8 cm pour les extraits obtenus à partir d'estomac et des caeca pyloriques (pour les concentrations de 10 % et 100 % respectivement) (**Tab. 12**).

L'indice de mousse calculé pour les cinq extraits testés est de 100 % (**Tab. 12**).

Ces résultats confirment bien la présence des saponines dans les extraits obtenus à partir des différents organes d'*Echinaster sepositus* (le tégument aboral, le tégument oral, l'estomac, les gonades et les caeca pyloriques). En effet, la présence des saponines dans l'"étoile de mer" *Echinaster sepositus* est antérieurement décelée par Minale *et al.* (1979); De Simone *et al.* (1981); Minale *et al.* (1979).

Résultats et discussion

Tableau 12: Hauteurs de mousse formée et valeurs de l'indice de mousse calculé.

| Hauteur de la mousse formée (cm) | Origine de l'extrait | Concentrations des extraits dans les tubes à essais (%) | | | | | | | | | | IM (%) |
|----------------------------------|----------------------|---|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|--------|
| | | 10 % | 20 % | 30 % | 40 % | 50 % | 60 % | 70 % | 80 % | 90 % | 100 % | |
| | Gonade | 7.5 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 100 % |
| | Tégument aborale | 7.2 | 7.8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 100 % |
| | Tégument orale | 6.7 | 7.3 | 7.8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 100 % |
| | Estomac | 5.5 | 6.2 | 6.7 | 7.5 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 100 % |
| | Caeca pyloriques | 5.5 | 6 | 6.5 | 7.2 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 100 % |
| | Effectifs | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | |

IM: indice de mousse.

La hauteur de mousse moyenne est de l'ordre de 8 cm pour l'extrait gonadique, de 7.9 cm (± 0.16) pour l'extrait obtenu à partir du tégument oral; 7.78 cm (± 0.31) pour l'extrait obtenu à partir du tégument aboral; 7.93 (± 0.75) pour l'extrait obtenu à partir d'estomac et 7.52 cm (± 0.63) pour l'extrait obtenu à partir des caeca pyloriques.

IV. Activité des extraits de saponines d'*Echinaster sepositus*

IV.1. Activité hémolytique

L'analyse des résultats des tests d'hémolyse réalisés, montre une activité hémolytique remarquable vis-à-vis des saponines obtenues à partir des différents compartiments anatomiques d'*Echinaster sepositus* à savoir le tégument aboral, le tégument oral, les caeca pyloriques, l'estomac et les gonades.

IV.1.1. Cinétique d'hémolyse

Afin de déterminer les conditions opératoires optimales de l'activité hémolytique des saponines d'*Echinaster sepositus* en particulier le temps d'incubation, la cinétique d'hémolyse des érythrocytes (à 2 %), des souris de laboratoire, a été étudiée pour les extraits de saponines d'*Echinaster sepositus* à différents temps d'incubation (5 min, 10 min, 20 min, 40 min, 60 min, 80 min, 100 min, 120 min).

Les figures 53 et 54 représentent respectivement la cinétique d'hémolyse et le pourcentage hémolytique provoqués par les différentes saponines isolées à partir d'*Echinaster sepositus*.

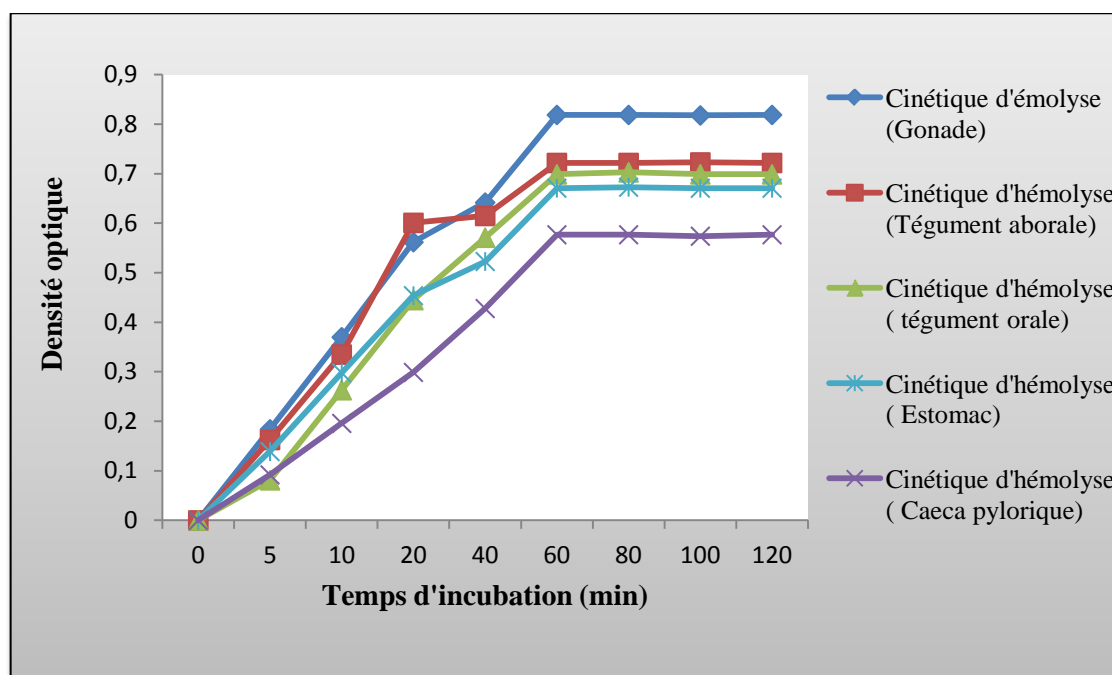


Figure 53: Cinétique d'hémolytique produite par les saponines obtenues à partir d'*Echinaster sepositus*. Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation: 5 min, 10 min, 20 min, 40 min, 60 min, 80 min, 100 min et 120 min. pH= 7.4. La concentration est de 50 %.

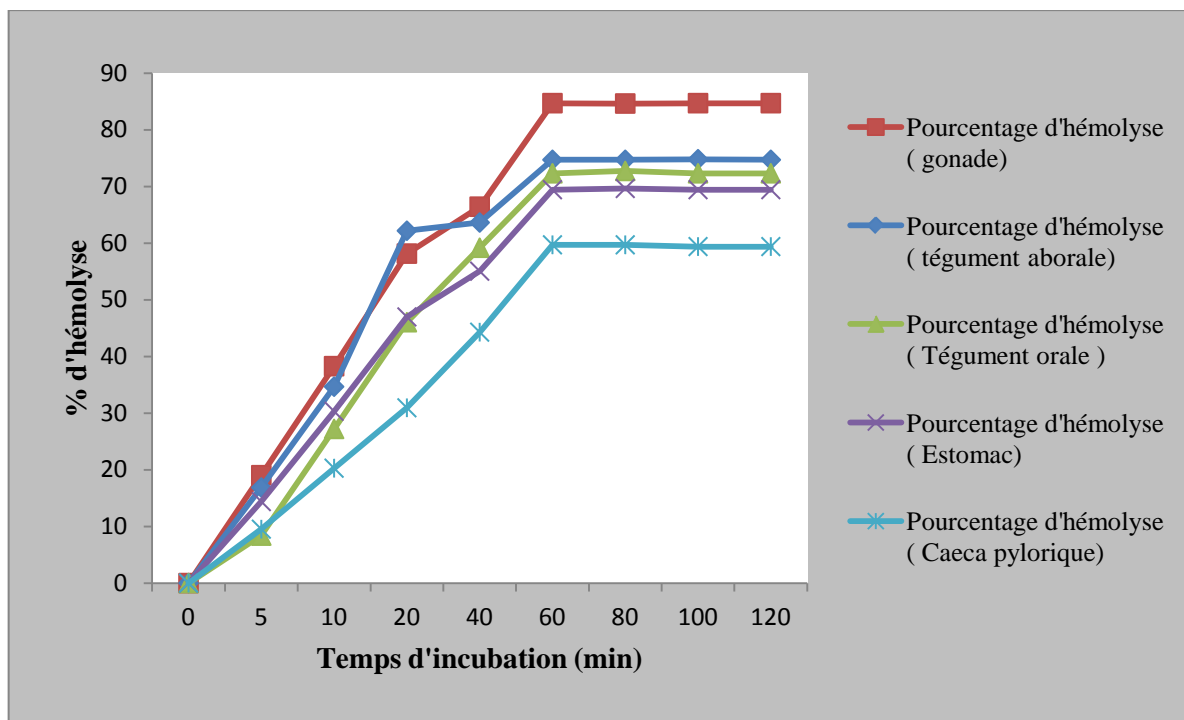


Figure 54: Pourcentages d'hémolyse provoqués par les saponines d'*Echinaster sepositus*. Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation: 5 min, 10 min, 20 min, 40min, 60 min, 80 min, 100 min et 120 min. pH= 7.4. La concentration est de 50 %.

IV.1.1.1. Effet de temps d'incubation sur l'activité hémolytique

Les résultats obtenus à l'issue des expériences, présentés dans les figures 53 et 54 montrent que les courbes obtenues pour les cinq extraits des saponines présentent les mêmes allures, et un temps d'incubation identique de 60 minutes.

Dans le processus d'hémolyse des globules rouges on distingue deux phases:

- **Durant la première phase (de 5 à 60 min) (Fig. 53)**, la densité optique enregistrée après 5 min d'incubation est de 0.18, de 0.16, de 0.08, de 0.13 et de 0.09 pour les extraits des saponines obtenues respectivement à partir des gonades, du tégument aboral, du tégument oral, d'estomac et des caeca pyloriques. Une augmentation très importante de densité optique est notée après 60 min d'incubation, elle est de 0.81 pour l'extrait gonadique, de 0.72 pour les saponines du tégument aboral, de 0.69 pour les saponines du tégument oral, de 0.67 pour les saponines de l'estomac et de 0.57 pour les saponines des caeca pyloriques.

Ces résultats indiquent une relation corrélative entre l'activité hémolytique et le temps d'incubation (l'activité hémolytique produite par les extraits des saponines d'*Echinaster sepositus* augmente en fonction du temps d'incubation.

- **La deuxième phase (60 minutes à 120 minutes)** présentée par un palier pratiquement horizontal où l'hémolyse des globules rouges par les saponines atteint son maximum (**Fig. 53; Fig. 54**).

Cette action hémolytique des saponines sur les globules rouges semble être due à la capacité spécifique des saponines à former des pores dans les membranes cellulaires (Al Izzi *et al.*, 1992; Stonik *et al.*, 1999; Jorg *et al.*, 2011). Les pores formés sont le résultat de l'affinité de la partie de l'aglycone des saponines avec les stérols de la membrane, en particulier le cholestérol (Glauert *et al.*, 1962; Mackie *et al.*, 1975, 1977) avec lesquelles ils forment des complexes insolubles (Bangham et Horne, 1962).

L'"étoile de mer" est résistante à cette réaction car ses stérols membranaires sont différents du cholestérol (Mackie *et al.*, 1977). Ils comprennent une double liaison en C₇ contrairement aux stérols des membranes cellulaires et fongiques qui ont une double liaison en C₅ (Mackie *et al.*, 1977; Maier, 2008).

IV.1.1.1.1. Temps d'incubation identique pour tous les extraits de saponine

Le temps d'incubation nécessaire pour atteindre un maximum de lyse des globules rouges est de 60 minutes.

Au vu des résultats du pourcentage d'hémolyse, (**Tab. 8; 9; 10; 11; 12, annexe 3; Fig. 54**) le temps d'incubation ne correspond pas à l'hémolyse complète des érythrocytes, puisque le pourcentage d'hémolyse n'est que de 59.72 % pour l'extrait de saponine obtenue à partir des caeca pyloriques, de 69.45 % pour l'extrait de saponine obtenue à partir de l'estomac, de 72.35 % pour l'extrait de saponine obtenue à partir du tégument oral, de 74.73 % pour l'extrait de saponine obtenue à partir du tégument aboral et de 84.73 % pour l'extrait de saponine obtenue à partir des gonades.

Par ailleurs, l'extension de ce temps jusqu'à (120 minutes) ne conduit pas à une amélioration du pourcentage d'hémolyse (**Tab. 13**). Ce qui justifie bien la prise en compte de ce temps d'incubation pour l'étude de l'effet de la concentration d'extrait de saponine et de la température d'incubation, sur l'hémolyse des globules rouges par les saponines d'*Echinaster sepositus*.

Tableau 13: Pourcentages d'hémolyse des globules rouges par les saponines d'*Echinaster sepositus* à 60 min et à 120 min d'incubation.

| Origine de saponine | Pourcentage d'hémolyse à 60 min | | | | Pourcentage d'hémolyse à 120 min | | | |
|---------------------|---------------------------------|-------|-------|--------|----------------------------------|-------|-------|-------|
| | 25 % | 50 % | 75% | 100% | 25 % | 50 % | 75 % | 100 % |
| Gonade | 62.99 | 84.73 | 97.43 | 99.99 | 62.99 | 84.73 | 97.43 | 99.99 |
| Tégument Aborale | 52.99 | 74.73 | 96.68 | 99.85 | 52.99 | 74.73 | 96.68 | 99.85 |
| Tégument orale | 59.34 | 72.35 | 96.47 | 99.782 | 59.34 | 72.35 | 96.47 | 99.78 |
| Estomac | 58.89 | 69.46 | 94.29 | 99.685 | 58.89 | 69.45 | 94.40 | 99.68 |
| Caeca pylorique | 58.27 | 59.72 | 72.35 | 99.67 | 58.37 | 59.41 | 7.35 | 99.78 |
| Total des essais | 20 | | | | 20 | | | |

IV.1.1.2. Cinétique d'hémolyse et variation de la concentration des extraits

Afin de confirmer le choix de temps d'incubation de 60 min, pour les expériences qui suivent (effet de la concentration et effet de la température sur l'activité hémolytique) différentes concentrations de saponine (25 %, 50 %, 75 %, 100 %) ont été testées sur les globules rouges des souris à différents temps d'incubation, pour chaque extrait.

- **Extraits des saponines obtenues à partir des gonades d'*Echinaster sepositus***

Les pourcentages d'hémolyse provoqués par les extraits de saponines des gonades d'*Echinaster sepositus* sont présentés dans la **figure 55**.

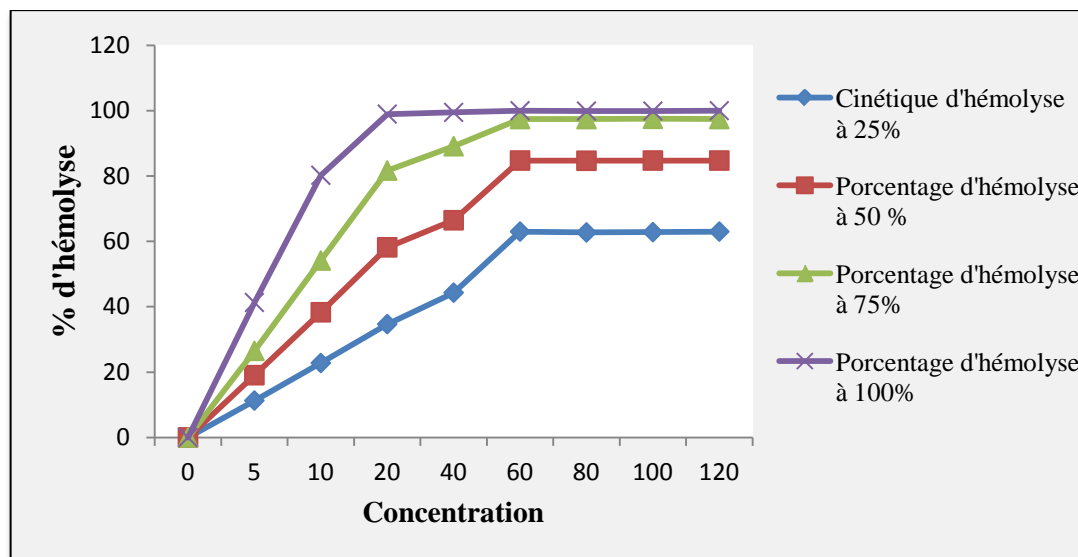


Figure 55: Pourcentages d'hémolyse provoqués par l'extrait de saponine obtenue à partir des gonades d'*Echinaster sepositus*. Les globules rouges des souris sont employés à 2 %, pH=7.4. Les concentrations utilisées sont de 25 %, 50 %, 75 % et 100 %.

D'après la figure 55, l'extrait de saponine obtenue à partir des gonades d'*Echinaster sepositus* à montrer une importante activité hémolytique. En effet, pour toutes les concentrations testées (25 %, 50 %, 75 %, 100 %) les taux d'hémolyse augmentent en fonction du temps d'incubation et enregistrent deux phases, la première phase de 5 min à 60 min; la deuxième phase de 60 min à 120 min.

Durant la première phase, et à 5 minutes d'incubations des taux d'hémolyse allant de 11.28 % à 41.3 % ont été enregistrés (pour des concentrations de l'ordre de 25 % et de 100 % respectivement). Une augmentation très importante de l'activité hémolytique a été notée après 60 minutes d'incubation, les pourcentages d'hémolyse enregistrés sont de l'ordre de 44.30 % et de 99.47% (pour des concentrations de l'ordre de 25% et de 100 % respectivement) (Tab. 8; annexe 3).

Durant la deuxième phase, le pourcentage d'hémolyse des érythrocytes des souris, par les saponines gonadiques, ne montre pas une amélioration significative avec l'augmentation du temps d'incubation. À 60 minutes les pourcentages d'hémolyses enregistrés sont de l'ordre de 62.99 %, de 84.73 %, de 97.43 %, de 99.98 % (pour des concentrations de l'ordre de 25 %, 50 %, 75 % et de 100 % respectivement). Les mêmes pourcentages sont enregistrés à 80 min, 100 min et 120 min d'incubation (Fig. 55; Tab. 13; Tab. 8, annexe 3).

Les résultats obtenus indiquent que le temps d'incubation optimal des globules rouges des souris avec les saponines gonadiques d'*Echinaster sepositus* est de 60 minutes.

- **Extraits des saponines obtenues à partir du tégument aboral d'*Echinaster sepositus***

Les taux d'hémolyse obtenus suite à l'incubation des globules rouges des souris avec les saponines de tégument aboral, sont représentés dans la **figure 56**.

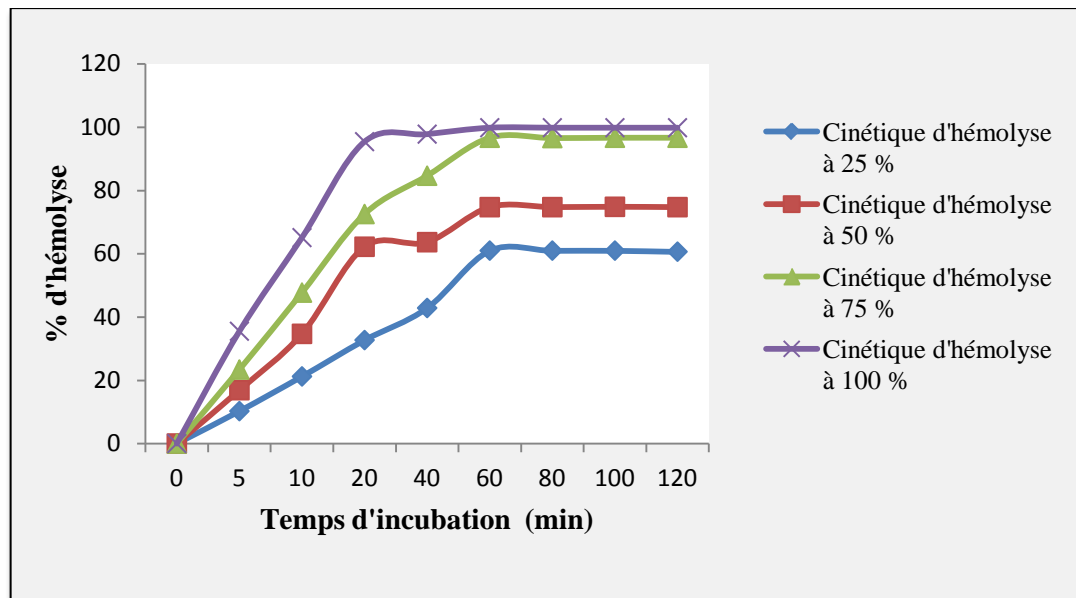


Figure 56: Pourcentages d'hémolyse provoqués par l'extrait de saponine obtenue à partir du tégument aboral d'*Echinaster sepositus*. Les globules rouges des souris sont employés à 2 %, pH=7.4. Les concentrations utilisées sont de 25 %, 50 %, 75 % et 100 %.

D'après la **figure 56**, nous enregistrons à 5 minutes d'incubation des pourcentages d'hémolyse de l'ordre de 10.24%, de 16.87%, de 23.39 et de 35.50% (pour les concentrations des extraits de l'ordre de 25 %, 50 %, 75 % et 100 % respectivement). Ces pourcentages augmentent après 60 minutes d'incubation, pour atteindre **52.99 %** pour un extrait de 25 % de concentration, **74.73 %** pour un extrait de 50 % de concentration, **96.67 %** pour un extrait de 75 % de concentration et **99.85 %** pour l'extrait brut (100 %). Au-delà de 60 minutes d'incubation (80 min, 100 min, 120 min) on remarque que le pouvoir hémolytique des saponines de tégument aboral sur les globules rouges des souris ne change plus. (**Fig. 46; Tab. 9, annexe 3**). **Ce qui indique que le temps d'incubation optimal des globules rouges des souris avec les saponines de tégument aboral d'*Echinaster sepositus* est de 60 minutes.**

- **Extraits des saponines obtenues à partir du tégument oral d'*Echinaster sepositus***

La **figure 57** présente les pourcentages d'hémolyse engendrés par les saponines isolées à partir de tégument oral d'*Echinaster sepositus*.

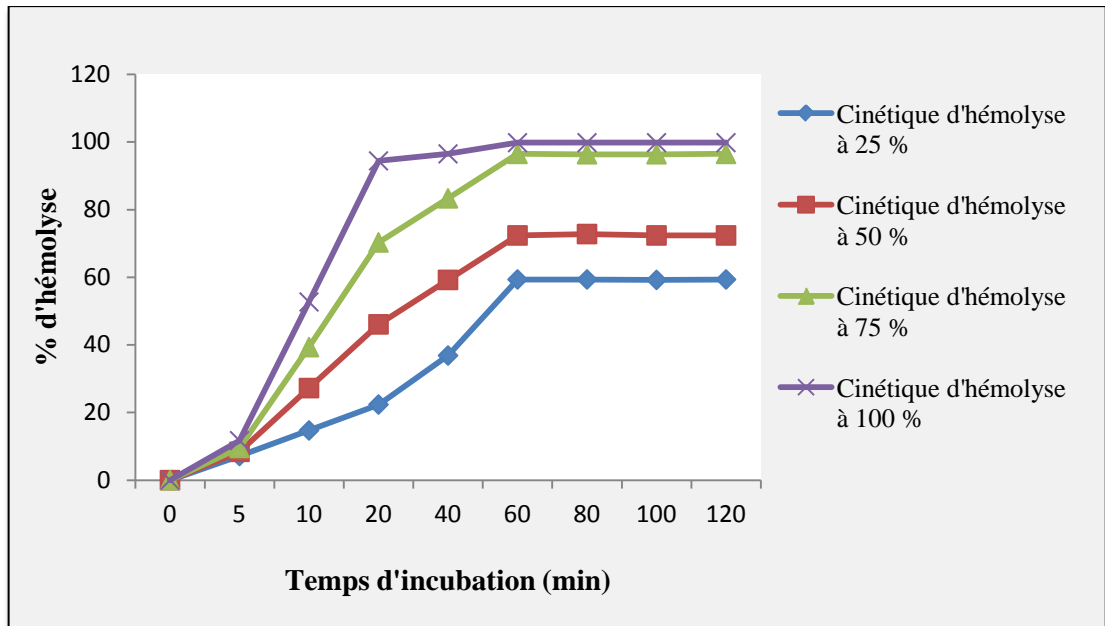


Figure 57: Pourcentages d'hémolyse provoqués par l'extrait de saponine obtenue à partir du tégument oral d'*Echinaster sepositus*. Les globules rouges sont employés à 2 %, pH=7.4. Les concentrations utilisées sont de 25 %, 50 %, 75% et 100 %.

D'après l'allure de la **figure 57**, l'activité hémolytique de l'extrait de saponine obtenue à partir du tégument oral suit le même modèle d'évolution montré par les saponines des gonades et de tégument aboral. En effet, les pourcentages d'hémolyse enregistrés à 5 minutes d'incubation sont de 7.14 %, de 8.38 %, de 9.52 %, de 11.96 % (pour des concentrations de l'ordre de 25%, de 50 %, de 75% et de 100 % respectivement). Une augmentation très importante de l'activité hémolytique a été notée après 60 minutes d'incubation, des taux d'hémolyse allant de 59.34 % à 99.78 % ont été enregistrés (pour des concentrations de l'ordre de 25% et de 100 % respectivement). Au-delà de 60 minutes d'incubation (80 min, 100 min et 120 min) les taux d'hémolyse ne varient plus. (**Fig.57; Tab. 10, annexe**). **Ces résultats indiquent que le temps d'incubation optimal des globules rouges des souris avec les saponines de tégument oral d'*Echinaster sepositus* est de 60 minutes.**

- **Extraits des saponines obtenues à partir de l'estomac d'*Echinaster sepositus***

Les pourcentages d'hémolyse provoqués par les extraits de saponines isolées à partir de l'estomac d'*Echinaster sepositus* sont présentés dans la **figure 58**.

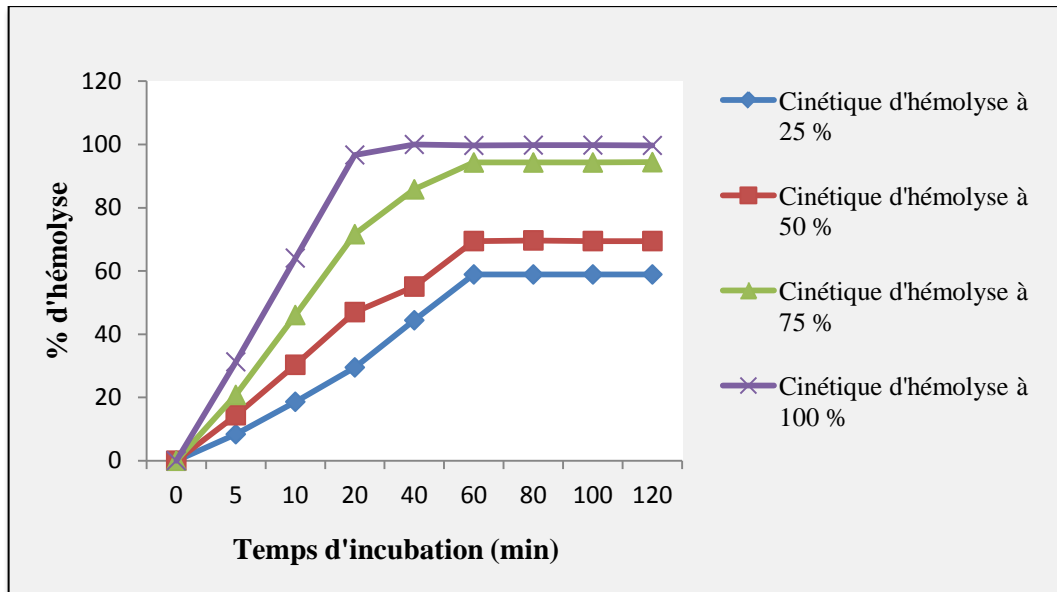


Figure 58: Pourcentages d'hémolyse provoqués par l'extrait de saponine obtenue à partir d'estomac d'*Echinaster sepositus*. Les globules rouges des souris sont employés à 2 %, pH=7.4. Les concentrations utilisées sont de 25 %, 50 %, 75 % et 100 %.

Les résultats obtenus des extraits des saponines de l'estomac d'*Echinaster sepositus* montrent que le processus d'hémolyse des globules rouges des souris, est en fonction du temps d'incubation, au même titre que les extraits isolés à partir des gonades, de tégument aboral de tégument oral.

Les pourcentages d'hémolyse enregistrés entre 5 et 60 minutes d'incubation augmentent d'une valeur minimale de l'ordre de 8.38 % (pour une concentration d'extrait de 25 %) à une valeur maximale de l'ordre de 99.68 % (pour une concentration d'extrait de 100 %) (**Fig.58; Tab. 11, annexe3**). Au-delà de 60 minutes d'incubation (80 min, 100 min, 120 min) les taux d'hémolyse ne montrent plus de variation. **Ces résultats indiquent que le temps d'incubation optimal des globules rouges des souris avec les saponines de l'estomac d'*Echinaster sepositus* est de 60 minutes.**

- **Extraits des saponines obtenues à partir des caeca pyloriques d'*Echinaster sepositus***

La figure 59 représente les pourcentages d'hémolyse provoqués par les saponines isolées à partir du tégument oral d'*Echinaster sepositus*.

Les résultats enregistrés dans la **figure 59** montrent que les pourcentages hémolytiques provoqués par les extraits des saponines des caeca pyloriques, augmentent en fonction du temps d'incubation. Une activité hémolytique de l'ordre de 7.86 % a été notée pour une concentration de 25 % et en un temps d'incubation de 5 minutes.

Cette activité augmente pour atteindre des valeurs maximales à 60 minutes d'incubation, les taux d'hémolyse enregistrés sont de l'ordre de 58.27 %, de 59.72 %, de 72.35 % et de 99.69 % (pour des concentrations de l'ordre de 25 %, de 50 %, de 75% et de 100 % respectivement). Ces valeurs ne varient plus à 80 min, 100 min et à 120 min d'incubation (**Fig.59; Tab.12, annexe 3**).

Ce qui indique que le temps d'incubation optimal est de 60 minutes pour les extraits des saponines isolées à partir des caeca pyloriques.

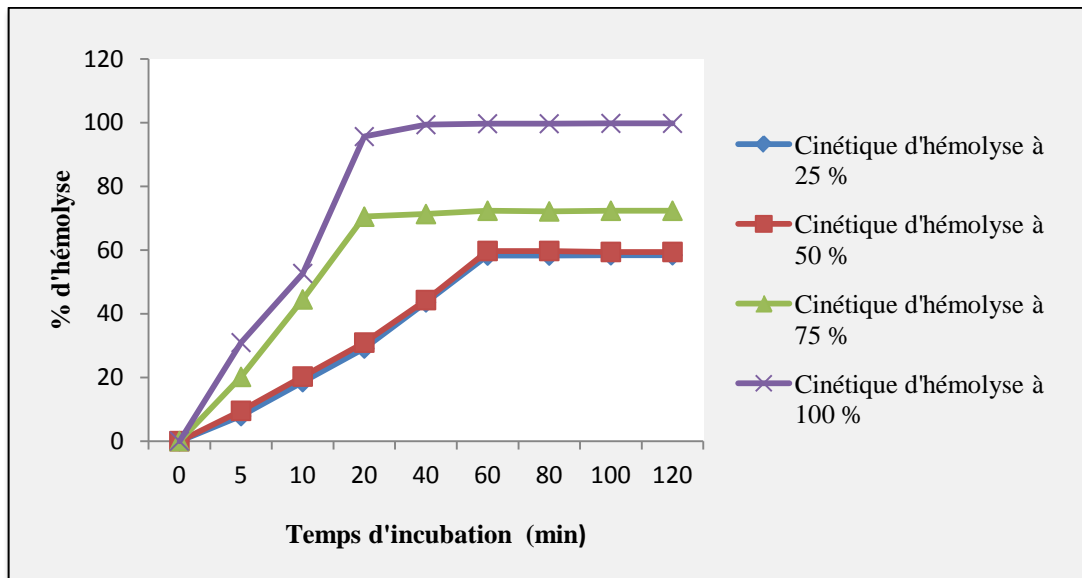


Figure 59: Pourcentages d'hémolyse provoqués par l'extrait de saponine obtenue à partir des caeca pyloriques d'*Echinaster sepositus*. Les globules rouges des souris sont employés à 2 %, pH=7.4. Les concentrations utilisées sont de 25 %, 50 %, 75 % et 100 %.

Les figures 55; 56; 57; 58; 59 confirment le choix du temps d'incubation de 60 minutes pour les études qui suivent (effet de concentration et effet de température sur l'activité hémolytique). En effet, au-delà de 60 minutes pour toutes les concentrations de chaque extrait il n'y a aucune amélioration significative dans le pourcentage d'hémolyse (**Tab. 13**). Ce choix repose entre autres, sur les données de la littérature rapportant les études de l'activité hémolytique des saponines des "étoiles de mer".

S'intéressant aux saponines issues de *Pycnopodia helianthoides*, *Asteria forbesi*, *Patiria miniata*, *Pisaster ochraceous*, et *Pisaster brevispinus* Guido *et al.* (1965) ont utilisé un temps d'incubation d'une heure pour évaluer l'activité hémolytique des saponines isolées de ces espèces.

En étudiant l'activité cytotoxique et hémolytique des glycosides stéroïdiques de l'"étoile de mer" *Mediaster murrayi*, Nina *et al.* (2003) ont utilisé une heure comme temps maximum d'incubation.

IV.1.2. Effet de la concentration sur l'activité hémolytique

Les pourcentages d'hémolyse de chaque extrait de saponine d'*Echinaster sepositus* provoqués suite à l'incubation des globules rouges pendant 60 min, à différentes concentrations sont représentés dans la figure 60.

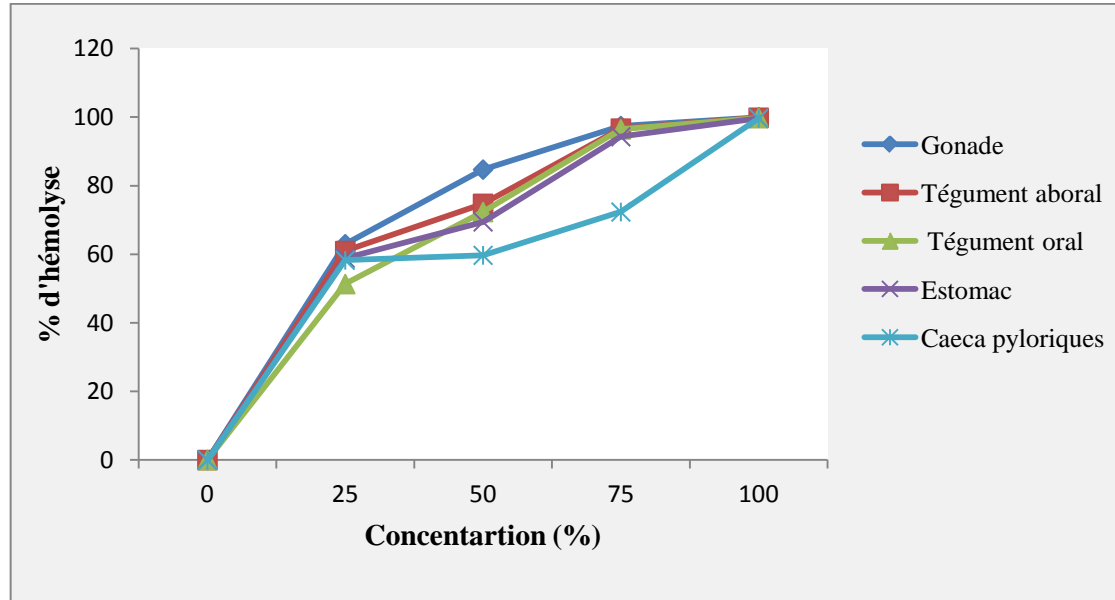


Figure 60: Pourcentages d'hémolyse provoqués par les extraits de saponine d'*Echinaster sepositus*. Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation: 60 min. pH= 7.4. Les concentrations sont de 25 %, 50 %, 75 %, 100 %.

L'allure des courbes montre, dans un premier temps que l'augmentation de la concentration des saponines induit à une augmentation de la capacité hémolytique.

D'après les résultats obtenus, on note pour une concentration de 25 % un pourcentage hémolytique de l'ordre de 62.99 %, 52.99 %, 59.34 %, 58.89 %, 58.27 % (pour les extraits de saponine obtenus respectivement à partir des gonades, du tégument aboral, du tégument oral, de l'estomac et des caeca pyloriques). Ce pourcentage d'hémolyse augmente jusqu'à 99 % pour une concentration de 100% (extrait brut), il est de l'ordre de 99.98 % pour les saponines des gonades, de 99.85 % pour les saponines du tégument aboral, de 99.78 % pour les saponines du tégument oral, de 99.68 % pour les saponines de l'estomac et de 99.67 % pour les saponines des caeca pyloriques.

Ces résultats nous amènent à déduire:

- **Que l'activité hémolytique est proportionnelle aux concentrations des extraits de saponine d'*Echinaster sepositus*. En effet, plus la concentration des saponines est élevée plus l'effet hémolytique est important.**

- Et que les saponines d'*Echinaster sepositus* possèdent **un pouvoir hémolytique trop fort**, car le pourcentage hémolytique est fortement élevé sous l'effet d'une concentration de l'ordre de 25 % d'extrait avec un taux d'hémolyse dépassant les 50 % (pour un temps d'incubation de 60 min). Et l'extrait brut provoque une lyse totale des globules rouges et libération d'hémoglobine, avec un indice hémolytique de 1 pour les saponines des différents organes.

Les diverses études réalisées par Guido *et al.* (1965); Mackie *et al.* (1975; 1977) Nina *et al.* (2003) sur les saponines des "étoiles de mer" confirment que les saponines des astéries montrent une forte activité hémolytique. Takechi *et al.* (1992²¹); Takechi et tanaka (1995²²) ont rapporté dans leurs travaux que l'activité hémolytique des saponines stéroïdiques est plus importante que celle des saponines triterpénoïdes. Ce qui peut justifier les taux d'hémolyse élevés provoqués par les saponines d'*Echinaster sepositus*.

Selon la littérature, l'activité hémolytique des saponines est exprimée par la concentration qui provoque 50 % d'hémolyse (Nina *et al.*, 2003, Mackie *et al.*, 1975).

Le tableau 14 représente ces concentrations pour les différents extraits à différents temps d'incubation.

²¹ Takechi *et al.*, 1992 in Masayuki *et al.*, 1996.

²² Takechi an tanaka, 1995 in Masayuki *et al.*, 1996.

Résultats et discussion

Tableau 14: Activité hémolytique des saponines d'*Echinaster sepositus*, concentration provoquant 50 % d'hémolyse à différents temps d'incubation.

| Origine de saponine | Temps d'incubation (min) | | | | | | | |
|---------------------|--------------------------|------------------|-----------------------|------------------|-----------------------|------------------|-----------------------|------------------|
| | 60 | | 40 | | 20 | | 10 | |
| | [C] d'extrait % | Hémolyse en % | [C] d'extrait % | Hémolyse en % | [C] d'extrait % | Hémolyse en % | [C] d'extrait % | Hémolyse en % |
| G | 25 | 62.99 | 50 | 66.45 | 50 | 58.17 | 75 | 54.13 |
| Tab | 25 | 52.99 | 50 | 63.65 | 50 | 62.21 | 75 | 47.72 |
| TO | 25 | 59.34 | 50 | 59.21 | 50 | 46.06 | 100 | 52.69 |
| E | 25 | 58.89 | 50 | 55.07 | 50 | 46.99 | 100 | 64.07 |
| C P | 25 | 58.27 | 50 | 44.30 | 50 | 30.95 | 100 | 52.68 |
| Total des essais | 5 | | 5 | | 5 | | 5 | |

Selon les résultats portés dans le **tableau 14**, à 10 min d'incubation 50 % d'hémolyse est provoqué par une concentration de 75 % pour les saponines des gonades et de tégument aboral, et par une concentration de 100 % pour les saponines issues de tégument oral, estomac et caeca pylorique. En revanche, à 60 minutes d'incubation le taux d'hémolyse de 50 % est provoqué par une concentration de 25 % pour les cinq extraits de saponine (extrait des gonades, du tégument aboral, du tégument oral, de l'estomac et de caeca pyloriques).

Ces résultats indiquent **une relation proportionnelle entre l'activité hémolytique et les concentrations des extraits de saponines, et entre l'activité hémolytique et la durée de l'incubation de l'extrait de saponine avec les globules rouges.**

Ces résultats correspondent avec ceux obtenus par Guido *et al.* (1965); Mackie *et al.* (1975; 1977); Nina *et al.* (2003). Ces chercheurs ont démontré dans leurs travaux sur l'activité hémolytique des saponines des "étoiles de mer" **que le pouvoir hémolyse des saponines est influencé par le temps d'incubation et la concentration de l'extrait.**

IV.1.3. Effet de la température sur l'activité hémolytique

La température est un facteur important pour l'activité biologique des composés amphiphiles (Prokof'eva *et al.*, 2003; Chou *et al.*, 1999). De ce fait, et afin de mieux comprendre l'impact de la variation de la température sur l'hémolyse des globules rouges des souris, par les saponines d'*Echinaster sepositus*, des essais ont été effectués, en variant la température (20°C, 25°C, 37°C et 45°C).

Les pourcentages d'hémolyse provoqués par les saponines de différents organes d'*Echinaster sepositus*, suite à une incubation à différentes températures sont représentés dans **la figure 61**.

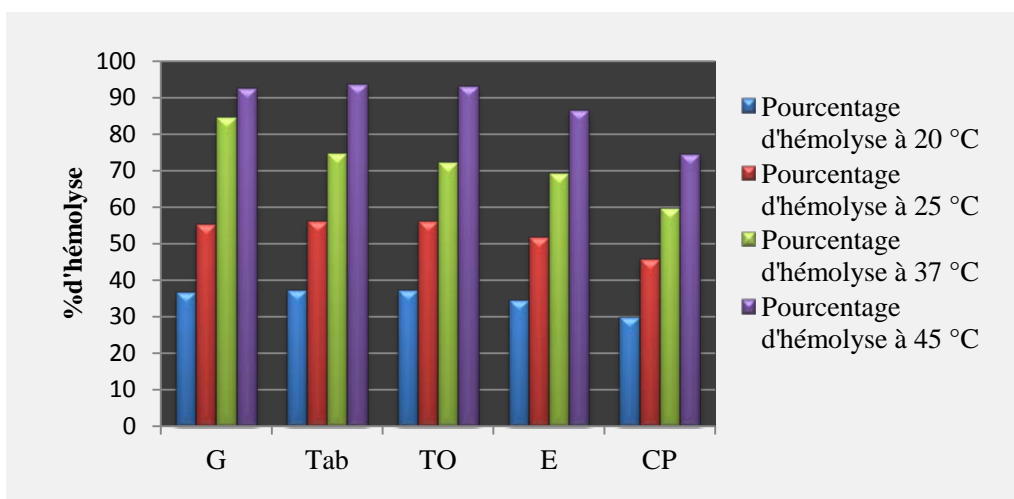


Figure 61: Pourcentages d'hémolyse provoqués par les extraits de saponine d'*Echinaster sepositus*. Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation: 60 min. pH= 7.4. La concentration est de 50 %.

G: gobade, Tab: tégument abora, TO: tégument oral, E: Estomac, CP: Caeca pylorique.

La figure 61 démontre que pour une concentration de 50 % des extraits de saponine d'*Echinaster sepositus*, le pourcentage d'hémolyse à 20°C est de l'ordre de 36.746 %, 37.36 %, 37.263, 34.46 %, 29.91 % pour les saponines obtenues respectivement à partir des gonades, du tégument aboral, du tégument oral, de l'estomac et des caeca pyloriques. Cette activité hémolytique augmente en fonction de la température d'incubation.

Pour une température de 25°C, des taux d'hémolyse de l'ordre de 50 % ont été enregistrés, à cette température les pourcentages d'hémolyse provoqués par les saponines obtenus à partir des gonades, du tégument oral, du tégument aboral, de

l'estomac et des caeca pylorique sont respectivement 55.274 %, 56.102 %, 56.102 %, 51.858 %, 45,854 %.

Pour une température de 37°C et 45°C, on note des taux d'hémolyse de l'ordre de 70 % pour les saponines de l'estomac et des caeca pyloriques et de l'ordre de 90 % pour les saponines des gonades, du tégument aboral et oral.

D'après ces résultats, on conclut qu'**une augmentation de la température produit une augmentation apparente de l'activité hémolytique des saponines d'*Echinaster sepositus***. Nina *et al.* (2003) ont abouti à la même conclusion dans leurs études portant sur les saponines isolées de l'"étoile de mer" *Mediaster Murrayi*.

Afin de confirmer cette conclusion nous avons effectué une étude comparative des capacités hémolytiques des cinq extraits de saponines à l'encontre des les globules rouges des souris à différentes températures d'incubation et à différentes concentrations.

Les résultats obtenus pour les différents extraits de saponines sont présentés dans les figures 62; 63; 64; 65 et 66 et (Tab. 8;9;10;11;12, annexe3).

- **Extraits de saponines obtenues à partir des gonades d'*Echinaster sepositus***

La figure 62 représente les pourcentages d'hémolyse provoqués par les saponines isolées à partir des gonades d'*Echinaster sepositus*.

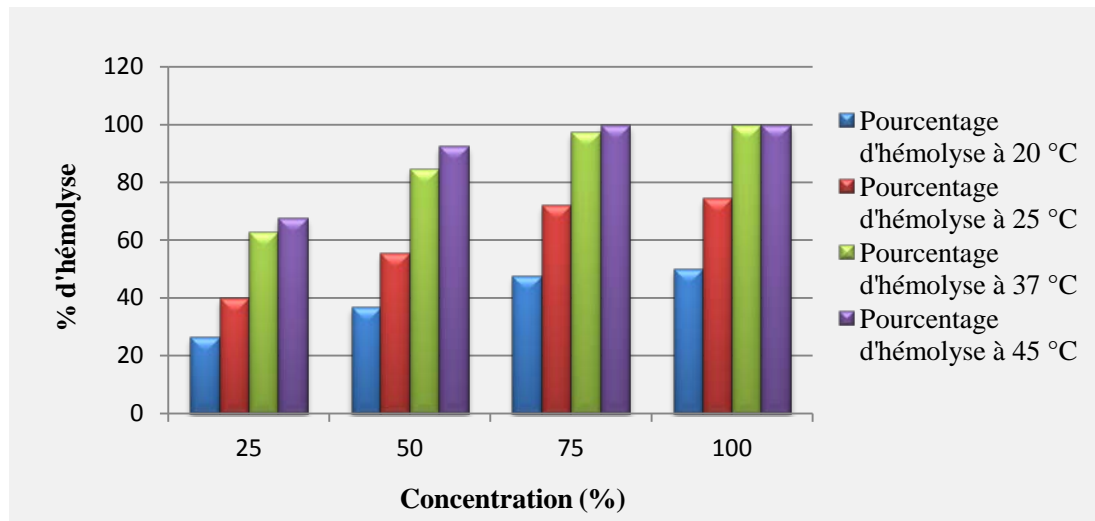


Figure 62: Activité hémolytique de l'extrait de saponine obtenue à partir des gonades d'*Echinaster sepositus*. Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation 60 min. pH= 7.4. Les concentrations sont de 25 %, 50 %, 75 %, 100 %.

D'après les résultats représentés dans la figure 62, l'activité hémolytique exercée par les saponines des gonades d'*Echinaster sepositus* à l'encontre des globules rouges est en fonction de la température et de la concentration de l'extrait.

En effet, pour une température d'incubation de 20°C l'activité hémolytique enregistrée est de l'ordre de 26.49 %, de 36.74 %, de 47.71 % et de 49.99 % pour des concentrations d'extrait de l'ordre de 25 %, 50 %, 75 % et 100 % respectivement. Cette activité augmente avec l'augmentation de la température pour atteindre des valeurs maximales à 47°C. À cette température les valeurs enregistrées sont de l'ordre de 67.69 %, de 92.64 %, de 99.67 % et de 99.98 % pour des concentrations d'extrait de l'ordre de 25 %, 50 %, 75 % et 100 % respectivement. **Ces résultats indiquent que pour une température d'incubation donnée, le pourcentage hémolyse augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits des saponines des gonades.**

Les résultats obtenus montrent aussi que pour chaque concentration d'extrait testée, le pouvoir hémolytique augmente avec l'augmentation de la température d'incubation (**Fig. 62; Tab. 8, annexe 3**). Exemple, pour une concentration de 25 % d'extrait de saponine des gonades, le pouvoir hémolytique enregistré est de 26.49 % pour une température d'incubation de 20°C, de 39.85 % pour une température d'incubation de 25°C, de 62.96 % pour une température d'incubation de 37°C et de 67.69 % pour une température d'incubation de 45°C.

Ces résultats montrent l'effet combiné de la concentration des saponines des gonades d'*Echinaster sepositus* et de la température d'incubation sur l'hémolyse des globules rouges des souris.

- **Extraits de saponines obtenues à partir du tégument aboral d'*Echinaster sepositus***

La figure 63 représente les pourcentages d'hémolyse provoqués par les saponines isolées à partir du tégument aboral d'*Echinaster sepositus*.

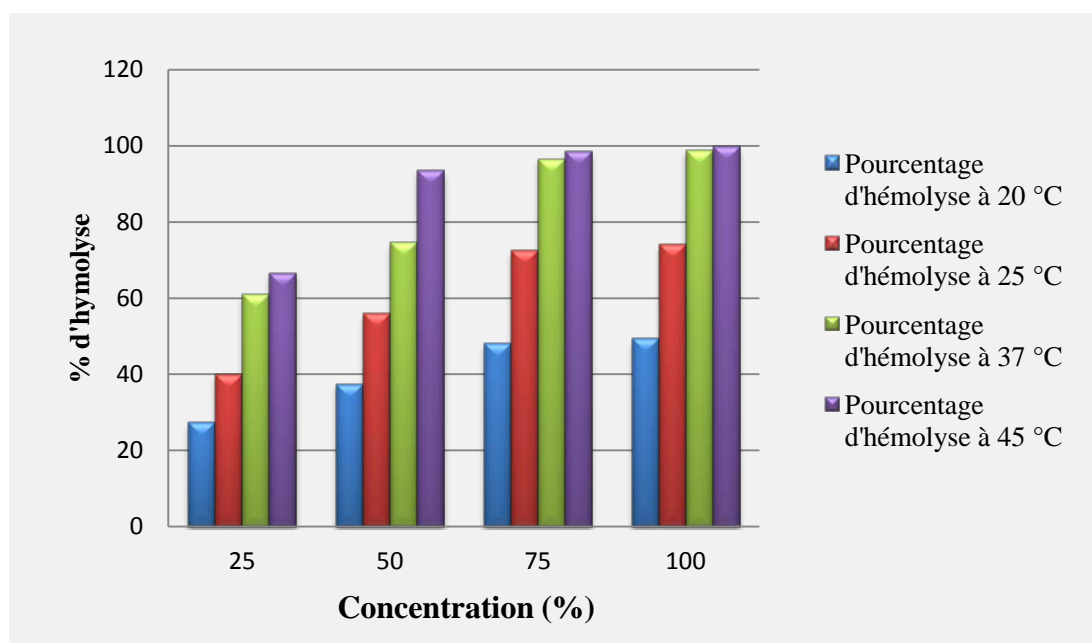


Figure 63: Activité hémolytique de l'extrait de saponine obtenue à partir du tégument aboral d'*Echinaster sepositus*. Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation: 60 min. pH= 7.4. Les concentrations sont de 25 %, 50 %, 75 %, 100 %.

Les résultats enregistrés dans la **figure 63** montrent que le pourcentage hémolytique provoqué par les extraits des saponines du tégument aboral augmente avec l'augmentation de la température d'incubation et avec l'augmentation de la concentration d'extrait.

Pour une température de 20°C, on note des pourcentages d'hémolyses de l'ordre de 27.43 %, de 37.36 %, de 48.13 % et de 49.47 % (pour des concentrations d'extrait de l'ordre de 25 %, de 50 %, 75 %, et de 100 % respectivement). Cette activité augmente pour atteindre des valeurs maximales à une température d'incubation de 47°C. Les taux d'hémolyse enregistrés à cette température sont de l'ordre de 66.76 %, de 93.67 %, de 98.4 % et de 99.78 % (pour des concentrations de l'ordre de 25 %, de 50 %, de 75 % et de 100 %). **Ces résultats indiquent que pour une température d'incubation donnée, le pourcentage d'hémolyse augmente avec l'augmentation de la concentration d'extrait des saponines de tégument aboral.**

Les pourcentages d'hémolyse enregistrés pour les différentes concentrations montrent que pour chaque concentration d'extrait testée, le taux d'hémolyse des globules rouges des souris augmente avec l'augmentation de la température d'incubation (**Fig. 63; Tab. 9, en annexe 3**). Par exemple, pour une concentration de 25 % de l'extrait des saponines de tégument aboral, les taux d'hémolyse enregistrés sont de 27.43 %; de 39.95 %, de 60.96 % et 66.76 % (pour des températures d'incubation de 20°C, 25°C, 37°C, 45°C respectivement).

Ces résultats montrent l'effet combiné de la concentration des saponines de tégument aboral d'*Echinaster sepositus* et de la température d'incubation sur l'hémolyse des globules rouges des souris.

- **Extraits des saponines obtenues à partir du tégument oral d'*Echinaster sepositus***

La **figure 64** représente les pourcentages d'hémolyse provoqués par les saponines isolées à partir du tégument oral d'*Echinaster sepositus*.

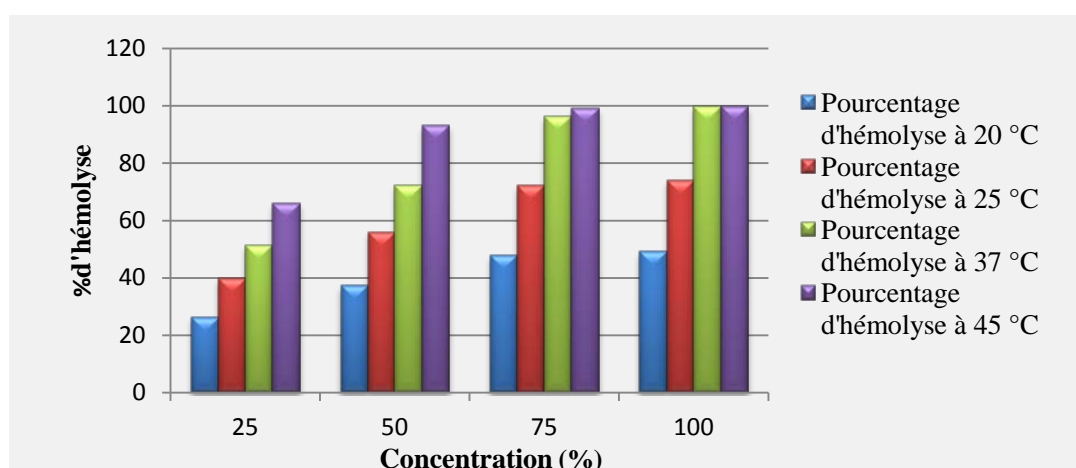


Figure 64: Activité hémolytique de l'extrait de saponine obtenue à partir du tégument oral d'*Echinaster sepositus*. Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation: 60 min. pH= 7.4. Les concentrations sont de 25 %, 50 %, 75 %, 100 %.

D'après la **figure 64**, l'extrait de saponine obtenue à partir du tégument oral d'*Echinaster sepositus* a montré une importante activité hémolytique qui dépend de la température d'incubation et de la concentration d'extrait.

En effet, pour les concentrations testées (25 %, 50 %, 75 %, 100 %) les taux d'hémolyse enregistrés à 20°C sont de l'ordre de 26.39 %, de 37.26 %, de 48.02 %, 49.16 % respectivement. Une augmentation très importante de l'activité hémolytique est notée à une température de 47°C. Les pourcentages enregistrés pour les concentrations testées (25 %, 50 %, 75 %, 100 %) sont de l'ordre de 66.24 %, de 99.36 %, 99.26 % et de 99.88 % respectivement. **Ces résultats indiquent que pour une température donnée d'incubation le pourcentage d'hémolyse augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait des saponines du tégument aboral.**

Les résultats obtenus montrent aussi que l'effet hémolytique augmente pour chaque concentration d'extrait avec l'augmentation de la température d'incubation (**Fig. 64; Tab. 10, annexe 3**). Exemple, pour une concentration de 25 % d'extrait de saponines du tégument oral, les pourcentages d'hémolyse notés sont de: 26.39 %; 39.85 %; 51.34 %; 66.24 % (pour des températures d'incubation de: 20°C; 25°C; 37°C; 45°C respectivement).

Ces résultats montrent l'effet combiné de la concentration des saponines de tégument oral d'*Echinaster sepositus* et de la température d'incubation sur l'hémolyse des globules rouges des souris.

- **Extraits des saponines obtenues à partir de l'estomac d'*Echinaster sepositus***

La **figure 65** représente les pourcentages d'hémolyse provoqués par les saponines isolées à partir d'estomac d'*Echinaster sepositus*.

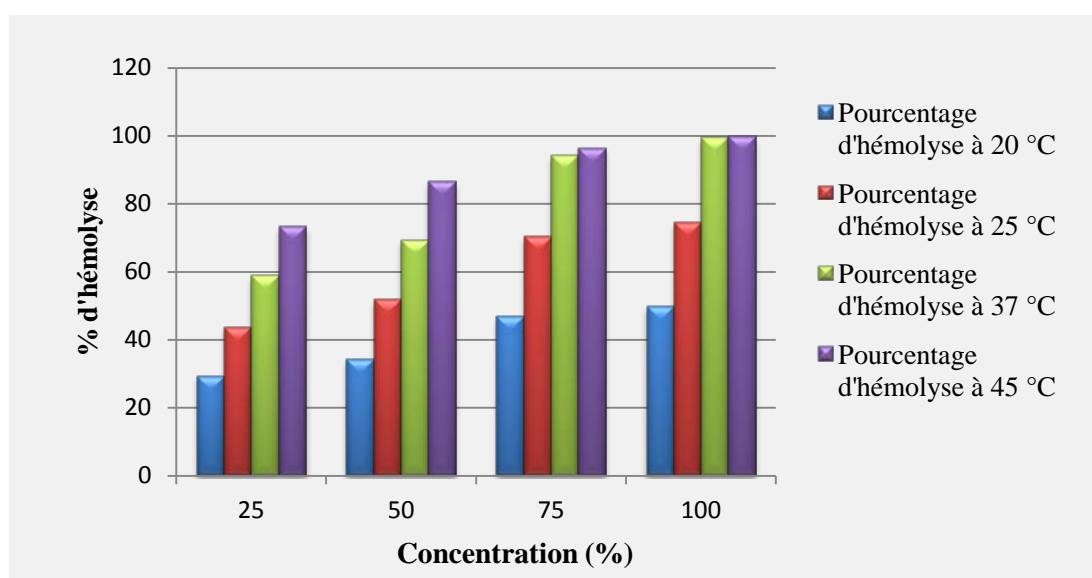


Figure 65 : Activité hémolytique de l'extrait de saponine obtenue à partir d'estomac d'*Echinaster sepositus*. Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation: 60 min. pH= 7.4. Les concentrations sont de 25 %, 50 %, 75 %, 100 %.

D'après la **figure 65**, on note qu'à une température d'incubation de 20°C des pourcentages d'hémolyse de l'ordre de 29.39 %, de 34.46 %, de 47.09 % et de 49.780 % (pour les concentrations d'extrait de l'ordre de 25 %, 50 %, 75 % et 100 % respectivement).

Ces pourcentages augmentent avec l'augmentation de la température d'incubation pour atteindre à 47°C des valeurs de l'ordre de **73.99 %** pour un extrait de 25 % de concentration, de **86.63 %** pour un extrait de 50 % de concentration, de **99.63 %** pour un extrait de 75 % de concentration et **99.78 %** pour l'extrait brut (100 %). **Ces résultats indiquent que pour une température d'incubation donnée, le pourcentage hémolyse augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait des saponines de l'estomac.** Et pour chaque concentration testée les taux d'hémolyse augmentent avec l'augmentation de la température (**Fig. 65; Tab. 11, annexe 3**). En effet, pour une concentration de 25 % d'extrait des saponines d'estomac, les pourcentages d'hémolyse notés sont de 25.39 %, 43.88 %, 58.89 %, 73.38 % (pour des températures d'incubation de 20°C, 25°C; 37°C, 45°C respectivement)

Ces résultats montrent l'effet combiné de la concentration des saponines de l'estomac d'*Echinaster sepositus* et de la température d'incubation sur l'hémolyse des globules rouges des souris.

- **Extraits de saponines obtenues à partir des caeca pyloriques d'*Echinaster sepositus***

La **figure 66** présente les pourcentages d'hémolyse provoqués par les saponines isolés à partir des caeca pyloriques d'*Echinaster sepositus*.

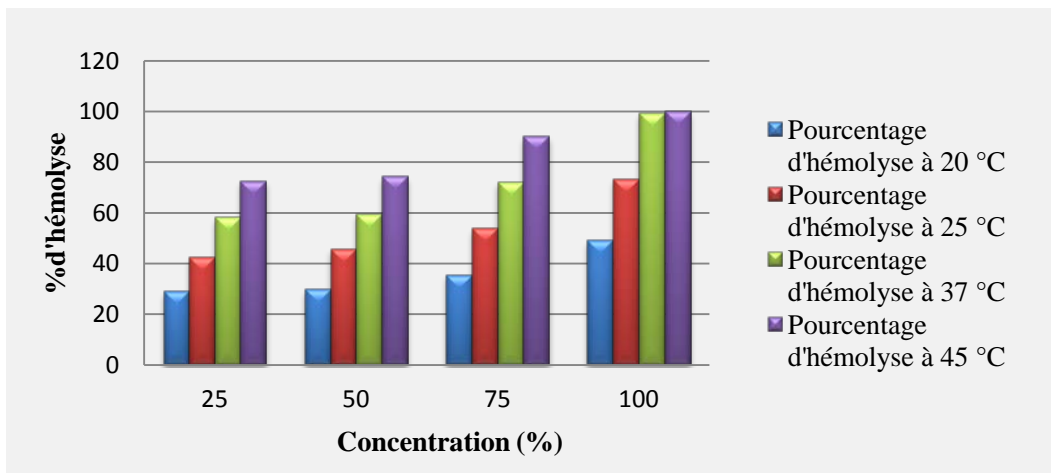


Figure 66: Activité hémolytique de l'extrait de saponine obtenue à partir des caeca pyloriques d'*Echinaster sepositus*. Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation: 60min. pH= 7.4. Les concentrations sont de 25 %, 50 %, 75 %, 100 %.

Les taux d'hémolyse enregistrés entre une température d'incubation de 20°C et de 45°C montrent que l'activité hémolytique de l'extrait de saponine obtenue à partir des caeca pyloriques d'*Echinaster sepositus* est en fonction de la température d'incubation et de la concentration des extraits.

Résultats et discussion

Pour une température de 20°C, les taux d'hémolyse sont de l'ordre de 28.91 %, de 29.91 %, de 35.71 %, de 35.71 %, de 49.27% (pour les concentrations d'extrait de l'ordre de 25 %, 50 %, 75 % et 100 % respectivement). Pour une température de 47°C, les taux d'hémolyse sont de l'ordre de 72.76 %, de 74.62 %, de 90.15 %, de 99.98 % (pour les concentrations d'extrait de l'ordre de 25 %, 50 %, 75 % et 100 % respectivement). Ces taux d'hémolyse enregistrés indiquent que l'effet hémolytique de chaque concentration testée augmente avec l'augmentation de la température d'incubation (**Fig. 66; Tab. 12, annexe**). Pour une concentration de 25 % d'extrait de saponine des caeca pyloriques, les pourcentages d'hémolyse notés sont de: 28.911 %; 42.5 %; 85.27 %; 72.76 % (pour des températures d'incubation de 20°C; 25°C; 37°C ; 45°C respectivement)

Ces résultats montrent l'effet combiné de la concentration des saponines des caeca pyloriques d'*Echinaster sepositus* et de la température d'incubation sur l'hémolyse des globules rouges des souris.

Le **tableau 15** représente les concentrations des saponines qui provoquent la libération de 50 % d'hémoglobines à différentes températures d'incubation, pour les différents extraits testés.

Tableau 15: Concentration des saponines qui provoque la libération de 50 % d'hémoglobine à différentes températures d'incubation.

| Origine Des saponines | Température d'incubation (°C) | | | | | | | |
|-----------------------------|-------------------------------|------------------|-----------------------|------------------|-----------------------|------------------|-----------------------|------------------|
| | 20 | | 25 | | 37 | | 45 | |
| | [C] d'extrait % | Hémolyse en % | [C] d'extrait % | Hémolyse en % | [C] d'extrait % | Hémolyse en % | [C] d'extrait % | Hémolyse en % |
| G | 100 | 49.99 | 50 | 55.27 | 25 | 62.97 | 25 | 67.69 |
| Tab | 100 | 49.48 | 50 | 56.102 | 25 | 60.97 | 25 | 66.76 |
| TO | 100 | 59.17 | 50 | 56.102 | 25 | 51.34 | 25 | 66.25 |
| E | 100 | 49.79 | 50 | 51.86 | 25 | 48.89 | 25 | 73.39 |
| CP | 100 | 9.27 | 75 | 54.13 | 25 | 58.27 | 25 | 72.77 |

D'après le **tableau 15** on constate que la libération de 50 % d'hémoglobine, à 20°C est induite par une concentration de 100 % (extrait brut) pour les cinq extraits. Cependant à 25°C, elle est provoquée par une concentration de 50 % pour les

Résultats et discussion

saponines obtenues à partir des gonades, de tégument aboral, de tégument oral et d'estomac et une concentration de 75 % pour les saponines des caeca pyloriques.

À une température de 37°C et à 45°C l'hémolyse de 50 % des globules rouges est provoquée par une concentration de 25 % pour tous les extraits de saponines d'*Echinaster sepositus*.

La figure 67 représente les pourcentages d'hémolyse provoqués par les saponines brutes (100 %) d'*Echinaster sepositus* à différentes températures (20°C, 25°C, 37°C, 45°C).

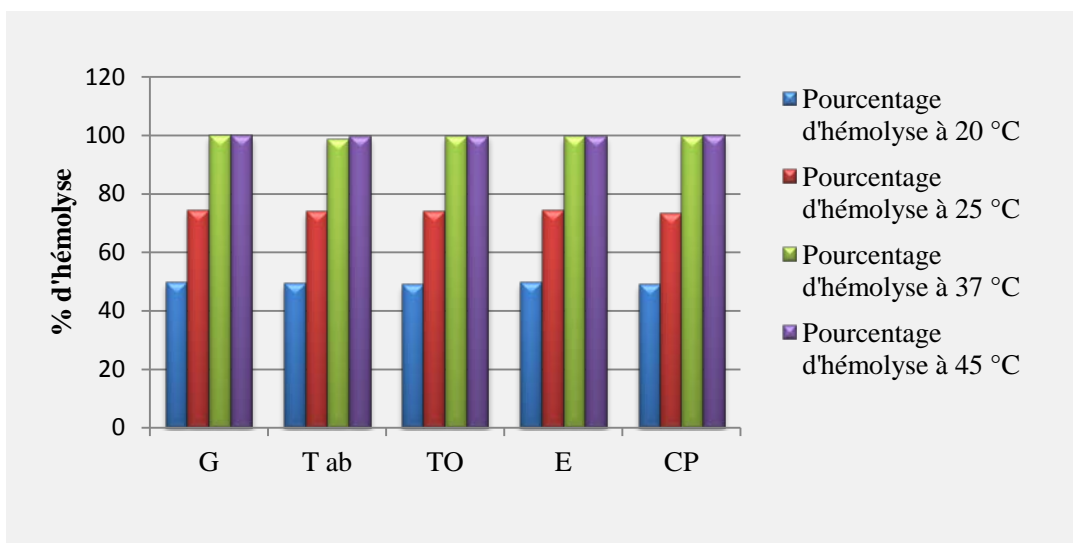


Figure 67: Pourcentages d'hémolyse provoqués par les extraits des saponines d'*Echinaster sepositus*. Les globules rouges des souris sont employés à 2 %. Temps d'incubation: 60 min, 80 min. pH= 7.4. La concentration est de 100 %. G: Conade, Tab: tégument aboral, TO: tégument oral, E: estomac, CP: Caeca pyloriques.

D'après **cette figure**, nous observons une amélioration significative de la capacité hémolytique des différents extraits à une concentration de 100 % quand la température augmente de 37°C à 45°C (**Tab. 16; Fig. 67**).

Résultats et discussion

Tableau 16: Activité hémolytique des saponines d'*Echinaster sepositus*. À une concentration de 100 % et des températures de 37°C, 45°C.

| Origine de saponines | Température d'incubation (°C) | | | |
|----------------------|-------------------------------|--------------|-------------------------------|--------------|
| | 37 | | 45 | |
| | Concentration des saponines % | % d'hémolyse | Concentration des saponines % | % d'hémolyse |
| G | 100 | 99.99 | 100 | 99.99 |
| Tab | 100 | 99.85 | 100 | 99.78 |
| TO | 100 | 99.78 | 100 | 99.88 |
| E | 100 | 99.68 | 100 | 99.78 |
| Cp | 100 | 99.98 | 100 | 99.99 |
| Total des essais | 5 | 5 | 5 | 5 |

G: Conade, Tab: tégument aboral, TO: tégument oral, E: estomac, CP: Caeca pyloriques.

Ces résultats indiquent que l'augmentation de la température produit une augmentation du pouvoir hémolytique des saponines d'*Echinaster sepositus* sur les globules rouges des souris, et démontre **l'effet combiné de la concentration des extraits et de la température d'incubation sur la capacité hémolytique des saponines d'*Echinaster sepositus*.**

En conclusion, nous avons démontré que l'activité hémolytique des saponines des différents compartiments anatomiques d'*Echinaster sepositus* (gonade, tégument aboral, tégument oral, estomac et caeca pylorique) dépend du temps d'incubation, de concentration de l'extrait des saponines et de la température d'incubation.

IV.1.4. Activité hémolytique et la teneur des saponines

Les méthodes précédemment exploitées pour estimer les teneurs des saponines des "étoiles de mer" **ont été dépendus de l'effet hémolytique des saponines** (Mackie *et al.*, 1977; Yasumoto *et al.*, 1966).

La figure 68 montre l'effet hémolytique des différents extraits de saponines issues de différents organes d'*Echinaster sepositus* à savoir les gonade(G), le tégument aboral (Tab), le tégument oral(TO), l'estomac (E), les caeca pyloriques (CP).

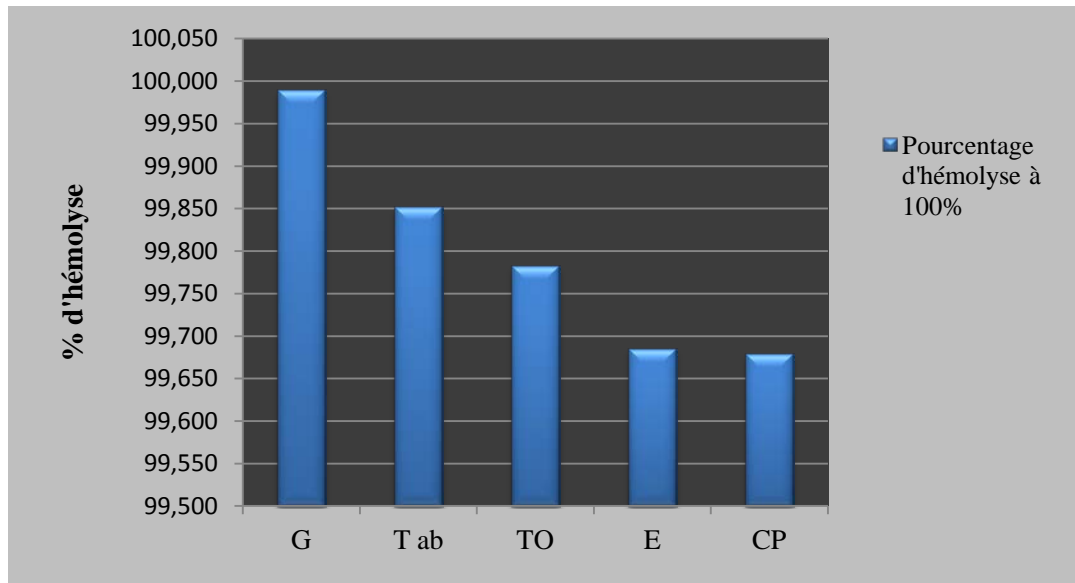


Figure 68: Pourcentages d'hémolyse provoqués par les différents extraits des saponines d'*Echinaster sepositus*. pH= 7.4. La concentration est de 100 % (extrait brut), temps d'incubatio est de 60 min.

Cette figure permet d'émettre des conclusions sur les extraits les plus actifs et les quantités des saponines présentes dans les différents organes d'*Echinaster sepositus*. Un pouvoir hémolytique très fort est enregistré pour **les saponines des gonades** d'*Echinaster sepositus* avec un pourcentage d'hémolyse de l'ordre de 99.989 % (100 %) pour l'extrait brut suite à une incubation de 60 min, ce qui le caractérise comme étant l'extrait le plus actif, suivi des extraits de saponine obtenus à partir du tégument aboral et oral avec des taux d'hémolyse de l'ordre de 99.85 % et 99.78 % respectivement.

Selon les résultats obtenus le degré de l'activité hémolytique de saponines étudiées sera décrit selon le classement décroissant suivant:

Saponine des gonades > saponine du tégument aboral > saponine du tégument oral > saponine de l'estomac > saponine des caeca pylorique. **La quantité des saponines dans les différents organes d'*Echinaster sepositus* suit le même classement.** Selon Yasumoto *et al.* (1966); Mackie *et al.* (1977).

Cette différence dans le degré de toxicité des différentes saponines d'*Echinaster sepositus* à l'encontre des globules rouges peut être attribuée à:

- La quantité des saponines dans les différents organes.
- La structure chimique des saponines qui reflète l'existence de grandes diversités chimiques des molécules des saponines et une hétérogénéité inter – organe importante.

Les travaux réalisés par les différents chercheurs sur plusieurs espèces d'astérie ont démontré que les saponines ne sont pas réparties de façon uniforme dans les constituants anatomiques d'une même espèce et entre les différentes espèces.

En se référant à l'activité hémolytique des extraits, de fortes concentrations des saponines ont été retrouvées dans l'estomac, les caeca pyloriques et les gonades chez *Asterias rubens* (Yasumoto *et al.*, 1966). Cependant Voogt et Huiskamp (1979) ont rapporté que les ovocytes d'*Asterias rubens* contiennent la plus forte concentration de saponines. Selon les mêmes auteurs les saponines sont absentes ou non détectables dans le liquide péricébral d'*Asterias rubens*. Chez *Asterias murensis* les concentrations les plus élevées des saponines ont été retrouvées dans l'estomac et les gonades (Yasumoto *et al.*, 1966). Chez *Crossaster papposus* les podia sont les plus riches en saponines et chez *Solaster endeca* c'est les sillons des épines marginales qui contiennent de fortes concentrations (Mayo et Mackie, 1976). Cependant chez *Asterias pianci* des quantités comparables des saponines du même type chimique sont présentes dans les œufs, les ovaires et dans l'"étoile de mer" entière (Mackie *et al.*, 1975). Les études de Feder et Arvidsson (1967); Mackie *et al.* (1977) sur les saponines de *Martasterias glacialis* ont montré que l'épiderme, les podia et l'estomac contiennent les plus grandes quantités de saponines.

Plusieurs auteurs ont émis des hypothèses pour expliquer cette répartition quantitative des saponines dans les différents organes des "étoiles de mer" en se basant sur le rôle des saponines dans ces organes. Mackie *et al.* (1975) suggèrent que la présence des saponines au niveau des gonades et des larves sert de défenses contre les agents chimiques et contre la prédation par les poissons planctonophages. Ce qui peut expliquer la présence des saponines en quantités élevées dans les gonades d'*Echinaster sepositus*. La présence des teneurs élevées des saponines dans les podia et l'épiderme, expliquent les réactions violentes d'évasion observées chez beaucoup d'invertébrés marins en contact avec les "étoiles de mer", elles sont compatibles avec le rôle des saponines comme système de défense contre les agents chimiques, contre les prédateurs, les parasites et les micro-organismes (Mackie *et al.*, 1977). Les mêmes auteurs suggèrent que les saponines d'estomac et des caeca pyloriques peuvent jouer un rôle dans la solubilisation du cholestérol de la proie d'estomac et des caeca pyloriques (Mackie *et al.*, 1977).

En relation avec ces différentes fonctions biologiques, plusieurs chercheurs ont suggéré que chaque organe possède son propre mélange de saponine (Mackie *et al.*, 1977; Voogt et Van Rheenen, 1982; Voogt et Groot, 1983; Garneau *et al.*, 1989; Kisha *et al.*, 2001). Les travaux de Demeyer *et al.* (2014) sur l'hétérogénéité inter-organes des saponines d'*Asterias rubens* ont confirmé cette hypothèse. Dans leurs études ces auteurs ont montré que chaque organe est caractérisé par un mélange spécifique des saponines

L'activité hémolytique des saponines est aussi corrélée avec leurs compositions et structures chimiques. En effet, le potentiel hémolytique des saponines est affecté par toutes les caractéristiques de sa composition chimique y compris (i) la structure de la partie aglycone (Voutquenne *et al.*, 2002; Gautier *et al.*, 2009), (ii) le nombre des saccharides de la chaîne latérale et la longueur de cette chaîne (Voutquenne *et al.*, 2002; Chwalek *et al.*, 2006).

(iii) le type et la variation de l'enchaînement des unités de sucre dans la chaîne latérale (Chwalek *et al.*, 2006) et la position de(s)groupement(e) sulfate(s)(Kalinin *et al.*, 1996).

Selon les données de la littérature et les résultats rapportés dans notre étude concernant l'activité hémolytique d'*Echinaster sepositus* on peut émettre les conclusions suivantes:

- La teneur en saponine est plus importante dans les gonades et les téguments. Elles présentent une activité hémolytique importante ce qui peut justifier la présence des saponines hémolytiques prédominantes dans les gonades et le tégument;
- L'estomac et les caeca pyloriques présentent aussi des quantités importantes de saponine avec une activité hémolytique importante mais inférieure à celle des gonades et de tégument.

IV.1.5. Activité hémolytique des saponines et les fluctuations saisonnières de la teneur des saponines dans les gonades

Afin d'étudier la variation saisonnière de la teneur des saponines dans les gonades d'*Echinaster sepositus*. Une étude comparative du pouvoir hémolytique des saponines issues des gonades de différents individus d'*Echinaster sepositus*, échantillonnés sur une période d'une année (de septembre 2013 à septembre 2014), a été effectuée. L'étude de la variation saisonnière des saponines gonadiques a été faite sur l'ensemble de la population sans distinction entre le mal et la femelle car *Echinaster sepositus* est une espèce gonochorique mais présente un taux d'hermaphrodisme important (Cognetti et Delavanlt, 1957).

La figure 69 montre les pourcentages d'hémolyse moyens provoqués par les saponines des gonades d'*Echinaster sepositus*.

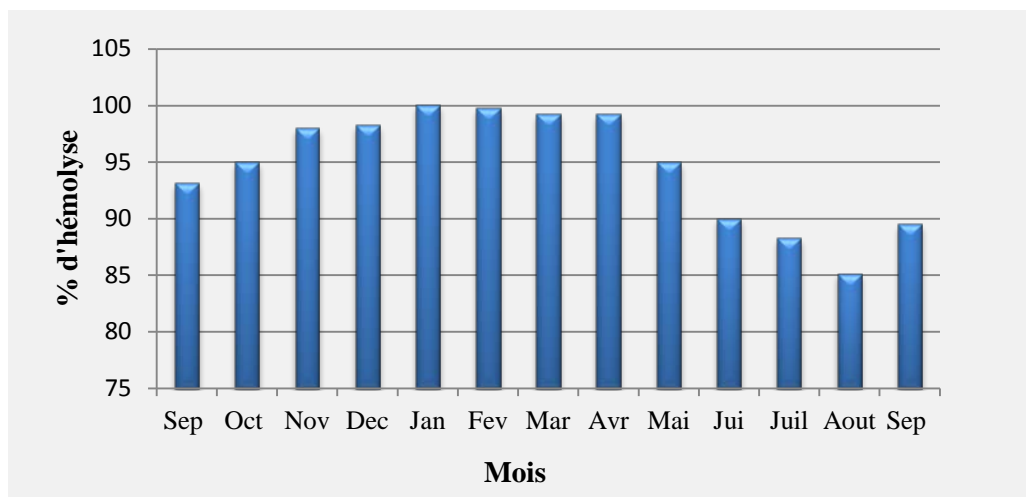
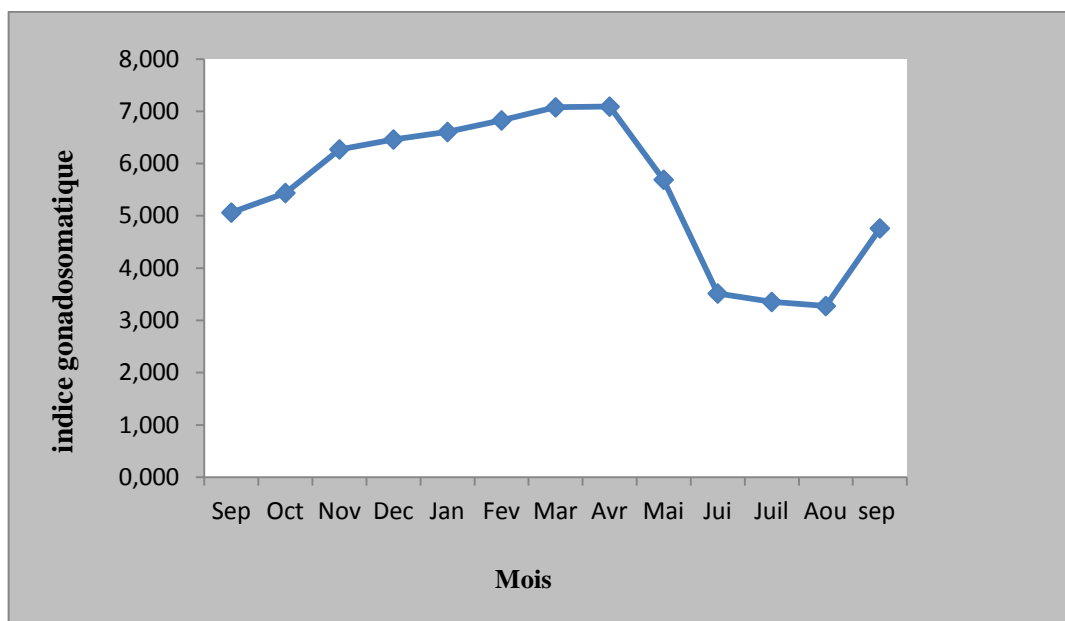


Figure 69: Pourcentages d'hémolyse provoqués par les saponines des gonades d'*Echinaster sepositus*.

D'après la **figure 69**, nous observons que le pouvoir hémolytique des saponines des gonades d'*Echinaster sepositus* sur les érythrocytes des souris diffère d'un extrait à un autre selon le mois de prélèvement des individus.

Les saponines gonadiques des individus d'hiver montrent un pouvoir hémolytique très puissant de l'ordre de 99.33 % en moyenne, ce pouvoir hémolytique diminue pour les extraits d'été avec des pourcentages d'hémolyse moyens de 87.80 %. Par contre, les extraits d'automne sont plus actifs avec un pourcentage d'hémolyse moyen de 95.35 %. Ces résultats reflètent la teneur des saponines au niveau des gonades et leurs variations saisonnières, ils montrent clairement que la teneur des saponines dans les gonades est basse en été, augmente à partir du septembre pour atteindre des teneurs maximales en hiver, puis diminue après le mois d'avril.

Pour pouvoir expliquer ces résultats les indices gonadosomatiques moyens des individus d'*Echinaster sepositus* échantillonnés sur une période d'une année sont représentés sur la **figures 70 et le tableau 17**.



Graphique 70: Variance mensuelle de l'indice gonadosomatique de la population d'*Echinaster sepositus* étudiée.

Tableau 17: Évaluation mensuelle de l'indice gonadosomatique moyen pour l'ensemble de la population d'*Echinaster sepositus* étudiée.

| Mois | IGm | Mois | IGm | Effectifs |
|-----------|--------------|-----------|---------------|-----------|
| Septembre | 5.06 (±0.24) | Mars | 7.08 (±0.12) | 10 |
| Octobre | 5.44 (±0.44) | Avril | 7.09 (±0.27) | 10 |
| Novembre | 6.27 (±0.41) | Mai | 5.691 (±0.53) | 10 |
| Décembre | 6.46 (±0.53) | Juin | 3.51 (±0.18) | 10 |
| Janvier | 6.60 (±0.53) | Juillet | 3.35 (±0.21) | 10 |
| Février | 6.82 (±0.12) | Aout | 3.27 (±0.21) | 10 |
| | | Septembre | 4.76 (±0.24) | 10 |

IG m: indice gonadosomatique moyen

Le suivi mensuel montre que l'indice gonadosomatique augmente progressivement en automne pour atteindre des valeurs élevées en hiver et en printemps, avec des valeurs de 5.06 (±0.24) et de 7.09 (±0.27) en mois de septembre et mois d'avril respectivement. Puis chute brutalement en été pour revenir à des valeurs relativement élevées en automne, avec respectivement 3.51 (±0.18) et 4.76 (±0.24) en mois de mai et septembre.

D'après Cognetti et Delavanlt (1957); Marsh *et al.* (1985); Riesgo *et al.* (2011) les fluctuations de l'indice gonadosomatique d'*Echinaster sepositus* sont liées directement à l'état de maturation des gonades. Selon ces auteurs la maturation des gonades d'*Echinaster sepositus* est précoce, elle débute en automne et s'achève en début d'été. La chute de l'indice gonadosomatique en été avec une valeur moyenne de 3,81(±0.08) indique une ponte chez la population d'*Echinaster sepositus*. En effet, Selon Cognetti et Delavanlt (1957) et Marsh *et al.* (1985); Riesgo *et al.* (2011) la ponte d'*Echinaster sepositus* se fait en été et peut s'étendre jusqu'au début d'automne.

L'analyse des résultats représentés dans la figure 69 et 70 indiquent une corrélation positive entre l'indice gonadosomatique, et la teneur des saponines dans les gonades. D'après la **figure 60**, on peut conclure que les saponines sont présentes dans les gonades d'*Echinaster sepositus* tout au long de l'année, alors que leur concentration montre un modèle de fluctuation saisonnière:

- Durant le mois de septembre jusqu' au mois de janvier on marque une augmentation de la concentration des saponines qu'est corrélé avec l'augmentation de poids des gonades et par conséquent l'indice gonadosomatique grimpe au mois de septembre de 5.06 (±0.24) au 6.60 (±0.53) au mois de janvier.
- De mois du janvier jusqu'au mois d'avril la concentration des saponines reste toujours élevée mais montre une légère diminution (pourcentage d'hémolyse de l'ordre de 99.98 % pour les extraits de mois de janvier et de 99.24 % pour les extraits de mois d'avril). Tandis que l'indice gonadosomatique augmente toujours jusqu'au mois d'avril (Il est de 6.60

(± 0.53) au mois de janvier et de 7.09 (± 0.27) au mois d'avril. Cognetti et Delavanlt (1957); Riesgo *et al.* (2011) ont montré que durant cette période (du moins de février à avril), les ovaires contiennent à la fois des ovocytes en cours de croissance et des ovocytes en voie de maturation, cependant la spermatogenèse est bien établie en février et se poursuit en avril. Ces résultats justifient l'augmentation de l'indice gonadosomatique, dans notre étude.

- Du mois d'avril au mois de juin, la concentration des saponines est basse (activité hémolytique de l'ordre 94.74 %) et l'indice gonadosomatique chute brutalement de 7.09 au mois d'avril à 3.51 en juin.
- De la mi-juin jusqu'à la fin août et début septembre, la concentration des saponines diminue (le pourcentage d'hémolyse diminue de 90.01 % pour les extraits du mois de juin jusqu'à 89.53 % pour les extraits de mois de septembre). Cependant le poids des gonades est toujours bas mais demeure pratiquement inchangé et en conséquence l'indice gonadosomatique est constant de l'ordre de 3.51 (± 0.18), de 3.35 (± 0.21), de 3.27 (± 0.18) pour le mois de juin, juillet et août respectivement. Durant cette période (juillet) et selon Cognetti et Delavanlt (1960); Riesgo *et al.* (2011). Les ovaires d'*Echinaster sepositus* ont expulsé la plupart des ovocytes mûrs, elles sont susceptibles de contenir de jeunes ovocytes alors que la spermatogenèse est achevée. Ce qui peut expliquer les valeurs basses de l'indice gonadosomatique obtenues dans notre étude.

Des fluctuations saisonnières au niveau de l'abondance des saponines dans les gonades des "étoiles de mer" ont été démontrées par plusieurs auteurs. Voogt et Huiskamp (1979) ont démontré que les saponines dans les gonades d'*Asterias rubens* sont de très faibles concentrations après la ponte et qu'elles sont absentes durant le reste de l'année. En effet, la concentration des saponines chez *Asterias rubens* est faible en été, augmente en automne, et elle est très haute en hiver jusqu'à la ponte. Selon Ikegami et Kamiya (1972 a); Ikegami *et al.* (1972 b) le contenu en saponines des ovaires atteint des valeurs minimales chez *Asterias amurensis* durant l'hiver. Mackie *et al.* (1977) ont montré que la concentration des saponines dans les gonades de *Martasterias glacialis* atteint son maximum en été durant la période de reproduction.

Les données de littérature et nos résultats permettent d'y émettre l'hypothèse suivante: les saponines des gonades d'*Echinaster sepositus* semblent agir sur le processus de reproduction de l'espèce. En effet, l'un des rôles bien décrit des saponines stéroïdiques des "étoiles de mer" est leur intervention dans la réaction acrosomique lors de la fécondation chez l'"étoile de mer" *Asterias amurensis*. Cette réaction fait intervenir 3 saponines, Co-ARIS I Co-ARIS II et Co-ARIS III qui se trouvent dans la zone pellucide des ovocytes (Naruse *et al.*, 2010).

IV.2. Activité antibactérienne

IV.2.1. Méthode de diffusion en milieu solide

Le **tableau 18** résume l'ensemble des observations effectuées sur l'effet, des cinq extraits, des saponines D'*Echinaster sepositus* sur la croissance de souches bactériennes testées.

Tableau 18: Sensibilité des bactéries aux saponines d'*Echinaster sepositus*.

| Souches | Origine de l'extrait de saponines | | | | |
|-------------------------------|-----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | G | Tab | TO | E | CP |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Sensible 1.54 cm | Résistante - | Résistante - | Résistante - | Résistante - |
| <i>Escherichia coli</i> | Résistante | Résistante | Résistante | Résistante | Résistante |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Résistante | Résistante | Résistante | Résistante | Résistante |

Les résultats ci-dessus concernent l'activité antibactérienne in vitro obtenue à l'aide de la méthode de diffusion sur un milieu solide.

D'après les résultats obtenus, il s'est avéré qu'aucune zone d'inhibition autour des disques n'a été observée vis-à-vis *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ces bactéries possèdent un potentiel de résistance très élevé contre l'action antibactérienne des cinq extraits de saponine d'*Echinaster sepositus*. En revanche, *Staphylococcus aureus* a montré une sensibilité à l'extrait de saponine des gonades d'*Echinaster sepositus*.

Ces résultats concordent avec les travaux de Minale *et al.* (1982) qui ont testé l'effet antibactérien des trois types des saponines des astérides (les glycosides de polyhydroxystéroïdes, les astérosaponines, les saponines macrocycliques) sur les bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et Gram négatif (*Escherichia coli*).

Leurs résultats ont indiqué que les saponines sont peu actives sur *Staphylococcus aureus* (Gram positif) et non actives sur *Escherichia coli* (Gram négatif). La grande résistance des bactéries à Gram négatif aux saponines peut être liée en partie à la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces micro-organismes qui contiennent une double membrane contrairement à la structure membranaire simple des bactéries Gram positif.

Les résultats obtenus ont montré aussi que les saponines du tégument aboral et oral, d'estomac et des caeca pyloriques n'ont pas une activité antibactérienne. Par contre, les saponines des gonades ont montré une activité antibactérienne modérée dont le diamètre de la zone d'inhibition est situé à 1.54 cm (**Fig. 71**).



Figure 71: Inhibition de prolifération de *staphylococcus aureus* par les saponines gonadiques d'*Echinaster sepositus*.

La sensibilité des bactéries aux saponines est due à l'affinité de la sapogénine (la partie glycone pour les stérols des membranes en particulier le cholestérol (Al Izzi *et al.*, 1992; Stonik *et al.*, 1999; Jorg *et al.*, 2011) avec lesquels se forment des complexes insolubles (Bangham et Horne, 1962). Ces complexes générant des canaux et des pores dans la membrane (Stonik *et al.*, 1999; Jorg *et al.*, 2011). Le mécanisme d'action des saponines sur les membranes cellulaires est expliqué par l'activité membranolytique des saponines (voir plus haut, p. 39).

La sensibilité variable de *staphylococcus aureus* vis-à-vis des saponines de différents organes d'*Echinaster sepositus* nous permettent de suggérer que chaque organe semble comprendre un mélange particulier d'isomères de saponines.

Anderson *et al.* (1987; 1989) ont démontré que la Seposituside A d'*Echinaster sepositus* n'a pas un effet antibactérien mais révèle une activité cytotoxique importante. Cependant ces derniers ont travaillé sur des saponines obtenues d'un broyat d'un individu entier d'*Echinaster sepositus* et pas sur les extraits obtenus des broyats d'organes bien ciblés (tégument, gonades, caeca pyloriques et d'estomac), comme dans notre cas. Ce qui peut indiquer que les propriétés structurales des saponines des gonades sont un peu différentes des saponines des autres organes. En effet, les mêmes auteurs suggèrent que la présence de groupement OH (fonction alcool) en C₇ augmente l'activité antibactérienne.

IV.2.2. Méthode de dilution en bouillon

Les résultats de la méthode de dilution en milieu solide sont motionnés dans le **tableau 19**. Ce tableau montre les taux de survie de *Staphylococcus aureus* déterminés par l'intermédiaire de la densité optique.

Tableau 19: Taux de survie de *Staphylococcus aureus* en présence des saponines gonadiques d'*Echinaster sepositus*.

| | Concentration des saponines des gonades | | | | |
|----------------------|---|-------|------|------|-------|
| | 20 % | 40 % | 60 % | 80 % | 100 % |
| La turbidité de tube | +++ | +++ | ++ | + | + |
| Taux de survie | 100 % | 100 % | 87 % | 69 % | 51 % |

+++ : Tube trop trouble, ++ : Tube trouble, + : Tube peu trouble.

Il est à noter que le témoin DMSO (diméthylsulfoxyde) n'a exercé aucune activité inhibitrice, les colonies se développent normalement en sa présence.

D'après les résultats on remarque que l'extrait brut inhibe la prolifération de *staphylococcus aureus* à un pourcentage moyen de l'ordre 49 %. Ce qui indique que les saponines testées ont un effet inhibiteur modéré vis-à-vis des *staphylococcus aureus*. Ce résultat est en accord avec celui obtenu précédemment dans la méthode de diffusion en milieu solide avec un diamètre de zone d'inhibition de l'ordre de 1.54 cm.

Conclusion

Conclusion

Notre étude s'est fixée comme objectif principal l'extraction des saponines d'*Echinaster sepositus* et l'étude de leur activité hémolytique et antibactérienne.

Une démarche a été adoptée pour réaliser cette étude, elle consiste en une extraction des saponines basée sur différentes techniques de chimie organique, afin d'isoler au mieux les biomolécules actives d'*Echinaster sepositus*. Puis une détection des saponines dans les extraits partiellement purifiés suivie d'une évaluation de leurs capacités hémolytiques à l'égard des globules rouges des souris, en faisant varier plusieurs paramètres à savoir le temps d'incubation, la concentration et la température d'incubation, et enfin une étude quantitative des saponines des cinq organes sélectionnés (Tégument oral, tégument aboral, gonade, estomac), et une étude des fluctuations saisonnières de leur abondance dans les gonades à été effectuée.

La nature des résultats obtenus dans ce travail ne nous permet pas d'établir une conclusion unique et définitive, mais de présenter différentes conclusions possibles dont la solution finale nécessite la continuité du travail.

Tout d'abord, l'indice de mousse nous a permis de confirmer qu'effectivement le contenu des différents extraits était formé de saponines.

L'étude de l'activité hémolytique des saponines nous a permis de mieux comprendre les fonctions biologiques des saponines. Lors des tests, nous avons constaté que l'incubation des globules rouges avec les saponines d'*Echinaster sepositus* entraîne une libération d'hémoglobines qui se manifeste après le contacte des globules rouges avec les saponines. Cet effet dépend de la durée d'incubation, de la concentration de l'extrait testé, et de la température. Les résultats obtenus indiquent une relation proportionnelle entre l'activité hémolytique et la durée de l'incubation de l'extrait de saponine avec les globules rouges, et indiquent aussi que l'augmentation des taux d'hémolyse est positivement corrélée avec l'augmentation de la concentration des saponines, ainsi qu'avec l'augmentation de la température d'incubation.

Les performances d'hémolyse des cinq extraits de saponines sont différentes. L'analyse des résultats de test d'hémolyse a démontré que les organes reproducteurs (gonade) et le tégument présentent les extraits des saponines les plus actives qui entraînent l'effet le plus important avec des taux d'hémolyse allant du 62.99 % à 99.98 % pour les saponines des gonades et du 52.99 % à 99.85 % pour les saponines de tégument, ainsi que l'estomac et les caeca pyloriques présentent une activité hémolytique importante mais inférieure de celle des gonades et de tégument. Plusieurs hypothèses concluantes ont été tirées pour expliquer la différence de performance telle que (i) la quantité des saponines dans les différents organes, (ii) et la grande diversité chimique des molécules des saponines et leurs hétérogénéités inter-organes.

L'analyse quantitative réalisée par la détermination du pourcentage d'hémolyse des globules rouges, produit par chaque extrait, démontre que les teneurs des saponines sont relativement différentes dans les différents organes.

Conclusion

La quantité des saponines dans les différents organes d'*Echinaster sepositus* est décrite selon le classement décroissant suivant: Saponine des gonades > saponine du tégument aboral > saponine du tégument oral > saponine de l'estomac > saponine des caeca pyloriques. Cette distribution est probablement corrélée à leurs rôles dans les différents organes.

L'étude des fluctuations saisonnières de l'abondance des saponines dans les gonades démontre que leurs teneurs sont basses en été, augmentent en automne et sont très hautes en hiver jusqu'à la ponte. L'indice gonadosomatique suit le même modèle de variation ce qui suggère une corrélation positive entre les deux entités (teneur des saponines et indice gonadosomatique).

Les travaux menés par notre étude ont permis de mettre en évidence l'activité antibactérienne des saponines étudiées. En effet, les saponines des gonades ont exercé une activité antimicrobienne à l'encontre de *S. aureus* par rapport aux saponines de tégument, d'estomac et des caeca pyloriques.

Nous avons constaté que la sensibilité de *S. aureus* est modérée avec un taux de mortalité de 49 %. En revanche les bactéries Gram négatif *E.coli* et *Ps. aeruginosa* ont manifesté une résistance à l'égard des différents extraits des saponines testées.

En conclusion, la démarche pluridimensionnelle adoptée dans cette étude a permis de comprendre un peu plus l'activité biologique des saponines d'*Echinaster sepositus* et de déterminer relativement la quantité de chaque organe, et d'émettre des conclusions importantes sur les fluctuations saisonnières de leurs teneurs dans les gonades.

En raison des résultats prometteurs qui ont été obtenus, ce mémoire ouvre de nombreuses perspectives relatives à la recherche sur les saponines des astéries en général et d'*Echinaster sepositus* en particulier, notamment:

- L'identification et la caractérisation par spectrométrie de masse du contenu des saponines de l'"étoile de mer" *Echinaster sepositus* et la détermination de l'hétérogénéité inter-organe de leur distribution;
- L'utilisation des approches pertinentes pour élucider la ou les fonctions des différentes saponines détectées dans chaque organe;
- L'étude des relations structure-fonction afin de mieux comprendre et expliquer la variabilité inter-organe de la distribution des saponines;
- Des études plus poussées de l'activité antibactérienne pour confirmer l'efficacité ou non des saponines d'*Echinaster sepositus*;
- L'étude de l'aspect toxicologique des saponines isolées des astéries et la détermination de leur mode d'action sur les communautés benthiques marines qui sont des études d'actualité en écologie chimique;
- L'isolement de principe actif par des méthodes plus spécifiques de chimie.

Bibliographie

Bibliographie

Al Izz, A., Benie, T., Thieulant, M.T., Le Men-oliver, L., Duval, J. (1992). Stimulation of LH release from cultured pituitary cells by saponins of *Petersianthus macrocarpus*: a permeabilising effect. *Planta Medica*, **58**: 229-233.

Amnisimov, .M., Prokofeva, N.G., Korotkikh, L.Y.Kapustina, I.I., Stonik, A.V.(1980).Comparative study of cytotoxic activity of triterpène glycosids from marine organisms. *Toxicom*, **18**: 221-223.

Andersson, L., Nasir, A., Bohlin, L. (1987). Stadies of Swidish marine organisms, IX.Polyhydroxylated steroidal glycosides from the starfish *Porania pulvillus*. *Natural Products*, **50**: 128-131.

Andersson, L., Bohlin, L., Iorizzi, M., Riccio, R., Minale. L., Morenolopez,W. (1989). Biological activity of saponins and saponin-like compounds from starfish and brittle-stars. *Toxicon*, **27**:179-188.

Apers, S., Baronikova, S., Sindambiwe, J.B., Witvrouw., M, Clercq, E.D., Berghe, D.V., Marck, E.V., Vlietinck, A., Pieters, L. (2001). Antiveral, Haemolytique and molluscidal activities of triterpénoïde saponins from *Maesa lanceolata*. Establishment of structure-Activity relationships. *Planta Medica*, **67**: 528-532.

Atialla, H., Behlouli, F. (2013). Caractérisation des peuplements benthiques des aires marines protégées en Algérie : Analyse comparée. Mémoire d'ingénieur. *ENSSMAL*, Alger.

Augier, H. (2010). Guide des fonds marins de la méditerranée. Ecologie, flore, faune, plongées. *Edition Delachaux et Nestlé*, Neuchâtel.

Authi, K.S., Rao, G.H.R., Evenden, B.J., Crawford, N. (1988). Action of goanosine 50- (Beta- thiol) diphosphate on thrombin-induced activation and calcium mobilization in saponin permeabilized and intact human platelets. *Biochemical*, **255**: 885-894.

Bachari N.E.I., Belkessa R., Houma F. (2004). Contribution of multispectral satellite imagery to the bathymetric analysis of coastal sea bottom. MWWD-IEMES 3rd *Conference on Marine Waste Water Discharges and Marine Environment*. Tenu à Catania, Italie.

Bakalem A., (1979). Contribution à l'étude des peuplements benthiques de la baie d'Alger. Thèse de 3ème cycle, *Université de Brest*.

Bakalem, A. (2008). Contribution a l'étude des peuplements benthiques du plateau continental algerien. Thèse de doctorat. *Universite Des Sciences Et De La Technologie Houari Boumediene*, Alger.

Beckers, J.M., Brasseur, P., Nihoul, J.C.J. (1997). Circulation of the western Mediterranean sea: from global to regional scales. *Deep Sea Research II: Topical Studies in Oceanography*, **44**: 531-549.

Bibliographie

- Benzohra, M. (1993).** Les structures hydrodynamiques le long des côtes algériennes. *Workshop sur la circulation des eaux et pollution des côtes méditerranéennes du Maghreb, tenu à Rabat, Maroc.*
- Belsher, T., Houlgatte, E. (2000).** Étude des sédiments superficiels marins des herbiers à phanérogames et des peuplements à *Caulerpa taxifolia* de Menton au cap d'Ail. *Rapport d'Ifremer.*
- Bangham, A.D., Horne, R.W. (1962).** Action of saponins biological cell membranes. *Nature*, **196**: 952-953.
- Bassole, I.H.N., Ouattara, A.S., Nebie, R., Ouattara, C.A.T., Kabore, Z., Traore, S.A. (2001).** Composition chimique et activités antibactériennes des huiles essentielles des feuilles et des fleurs de *Cymbopogon proximus* (STAPF.) ET *d'ocimum canum* (SIMS). *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine*, **11**:37-51.
- Belsher, T., Houlgatte, E. (2000).** Etude des sédiments superficiels marins des herbiers à phanérogames et des peuplements à *Caulerpa taxifolia* de Menton au cap d'Ail. *Rapport d'Ifremer.*
- Belyaev, G.M. (1990).** Is it valid to isolate the genus xyloplax as an independent class of echinoderms. *Zoological*, **69**:83-96.
- Benzohra M., Millot C., (1995 a).** Characteristics and circulation of the surface and intermediate water masses of Algeria. *Deep Sea Research*, **42 (10)**:1803-1830.
- Benzohra M., Millot C., (1995 b).** Hydrodynamics of an open sea Algerian. *Deep Sea Research*, **42(10)**: 1831-1847.
- Bergmann, W., Feeny.R.J.J. (1950).** The isolation of new thymine pentoside from sponges. *American Chemical Society*, **72**: 2809-2810.
- Bergmann, W., Feeny.R.J.J.(1951).** Contributions to the study of marine product. XXX II. The nucleosides of sponges. *American Chemical Society*, **16**: 981-987.
- Blake, D.B. (1987).** A classification and phylogeny of post-Paleozoic sea stars (Asteroidea: Echinodermata). *Natural History*, **21**:481-528.
- Blake, D.B. (2000).** The class Asteroidea (Echinodermata): Fossils and the base of the crown group. *American Zoologist*, **40**:316-325.
- Blake, D.B., Elliott.D.R. (2003 a).** Ossicular homologies, systematics and phylogenetic implications of certain North American Carboniferous asteroids (Echinodermata). *Paleontology*, **77(3)**: 476-489.
- Blake, D.B., Hagdorn, H. (2003 b).** The Asteroidea (Echinodermata) of the Muschelkalk (Middle Triassic of Germany). *Paläontologische Zeitschrift*, **77(1)**:23-58.

Bibliographie

Blunt, J.W., Copp, B.R., Hu, W.P., Munro, M.H.G., Northcole, P.T., Prinsep, M.R. (2009). Marine Natural Products. *Natural Products*, **26**:170-244.

Boell, E.J. (1955). The invertebrates: Echinodermata. The Coelomate Bilateria. *Editions McGraw-Hill*, New York.

Boubezari K., (1992). Contribution à l'étude des peuplements de trois moulières naturelles de la région d'Alger. Thèse de Magistère, *Université Des Sciences Et De La Technologie Houari Boumediene*, Alger.

Boumediene, H., Bouras, D. (2014). First observation of the macrozoobenthos biodiversity of Oran coastal area, Algeria. *Biodiversity and Environmental Sciences*, **5**: 625-637.

Cain, M., Damman, H., Lue, R.A., Yoon, C.K. (2006). Discover Biology. *Edition Norton Critical*, New York.

Carton, Y. (1974). Copépodes Parasites De Madagascar II. Description De *Sabellacheres Aenigmatopygus* N.GEN., N.SP. (Lichomolgidae) Parasite D'*Othilia Purpurea* (Echinodermata, Asteridae). Étude De Ses Relations Anatomiques Avec L'hôte. *Crustaceana*, **26**:56-79.

Caulet, J. (1972). Les sédiments organogènes du précontinent Algérien. *Memoires du Museum National D'histoire Naturelle. Serie C, Science de la terre*, **XXV**: 78-104.

Chouikhi A., Izdar E., et Menio M., 1993. Circulation des eaux et pollution des côtes méditerranéennes des pays du Maghreb. *Workshop sur la Circulation des Eaux et Pollution des côtes Méditerranéennes du Maghreb, tenu à Rabat, Maroc.*

Caulier, G., Séverine, V.D., Pascal, G., Igor, E., Patrick, F. (2011). Étude sur la diversité des saponines parmi les holothuries de la famille des holothuroïdes (Holothuriidae). *La Bêche-de-mer. Bulletin de la CPS.*

Cheeke, P. R. (2000). Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. *Animal Science*, **77**:1-10.

Chio, S., Jung, S.y., Kim, H.S., Rhim., H., Kim, S.C., Nah, S.Y. (2001). Effect of ginsenosides on voltage-dependent Ca⁺² Channel subtype in bovine chromaffin cells. *Ethnopharmacologie*, **74**: 75-81.

Chou, C.H., Waller, G.R., Reinhardt, C. (1999). Biodiversity and Allelopathy: From Organisms to Ecosystems in the Pacific. *Academia Sinica*, **18**: 193-197.

Chwalek, M., Lalun, N., Bobichon, H., Ple, K., Voutquenne-Nazabadioko, L. (2006). Structure-activity relationships of some hederagenin diglycosides: haemolysis, cytotoxicity and apoptosis induction. *Biochemical Biophysical Acta*, **1760**: 141-1427.

Bibliographie

Clark, A. M., Downey, E.M. (1992). Starfishes of the Atlantic. *Edition Chapman and Hall*, London.

Cognettl, G., Delavanlt, P. (1960). Recherches sur la sexualité d'*Echinaste sepositus*. *Cahiers de Biologie Marine*, **1**:421-432.

Conan, P., Millot, C. (2005). Variability of the Northern Current off Marseilles, Western Mediterranean Sea, from february to june 1992. *Oceanologica Acta*, **18**: 193-205.

Coleman, J.J., Okoli, I., Tegos, G.P., Holson, E.B., Wagner, F.F., Hamblin, M.R., Mylonakis, E. (2010). Characterization of plant-derived saponin natural products against *Candida albicans*.ACS. *Chemical Biology*, **5**: 321-332.

De Simone, F., Dini, A., Minal., L., Riccio, R., Zollo, F. (1979). The stérols of asteroid *Echinaster sepositus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **66**: 351-357.

D' Auria, M.V., Minale, L., Riccio, R. (1993). Polyoxygenated steroids of marine origin. *Chemical Reviews*, **93**:1839-1895.

Delmas, F., Di Giorgio, C., Elias, R., Gasquet, M., Azas, N., Mshvildadze, V., Dekanosidze, G., Kemertelidze, E., Timon-David, P., (2000). Antileishmanial activity of three saponin isolated from *holothuria polli*, alpha-hederin, Beta-hederin and hederacolchiste a (1), as compared with their action on mammalian cells in vitro. *Planta Medica*, **66**: 343-347.

De Marino, S., Iorizzi, M., Palagiano, E., Zollo, F., Roussakis, C. (1998). Starfish Saponins. 55. Isolation, Structure Elucidation, and Biological Activity of the Steroid Oligoglycosides from an Antarctic Starfish of the Family *Asteriidae*. *Natural Products*, **61**: 11.

Demeyer, M., De Winter, J., Caulier, G., Eeckhaut, I., Flammang, P., Gerbaux, P. (2014). "Molecular diversity and body distribution of saponins in the sea star *Asterias rubens* by mass spectrometry". *Comparative Biochemistry and Physiology*, **168**: 1-11.

Dunlap, W.C., Battershill, C.N., Liptrot, C.H., Coob, R.E., Bourne, D.G., Jaspars, M., Long ,P.F., Newman, D.J. (2007). Biomedicinals from the phytosymbionts of marine invertebrates. *Molecular approach Methods*, **42**:358-376.

Ebada, S.S., Lin, W.H., Proksch, P. (2010). Bioactive sesterterpenes and triterpenes from marine sponges: occurrence and pharmacological significance. *Marine Drugs*, **8**: 313-346.

Bibliographie

- Estrada, A.G.S., Katselis, B., Laarveld, and Barl, B. (2000).** Isolation and evaluation of immunological adjuvant activities of saponins from *Polygala senega*. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, **23**:27-43.
- Fardoulis, F., Termier, G. (1975).** Zoologie des invertébrés (**Arthropodes mandibulés et Deutérostomiens**). *Edition Doin*, Paris.
- Feder, H.M., Arvidsson, J. (1967).** Studies on a sea-star (*Marthasterias glacialis*) extract responsible for avoidance reactions in a gastropod (*Buccinum undatum*). *Arkiv fur Zoologi*, **19**: 369-379.
- Fetti, K (2013).** Extraction des saponines à partir des Holothiries Aspidochiriotes (Echinodermata: Holothuroidea) de la cote de stidia (Mostaganem). Mémoire de master. *Université de Mostaganem*.
- Fisher, W. K. (1928).** Asteroidea of the North Pacific and adjacent waters. Part2: Forcipulata. *Bulletin of the United States National Museum*. **76**:1-245.
- Francour, P. (1989 c).** Taux d'ingestion de sédiment par *Holothuria (L.) polii* et *Holothuria (H.) tubulosa* dans un herbier de posidonie. *Posidonia newsletter*, **2**:33-43.
- Friess, S. I. (1972).** Mode of action of marine saponins on neuromuscular tissues. Federation Product. *Federation American Society for experimental biology*, **31**: 1146-1153 .
- Fusetani, N., Kato, Y., Hashimoto, K., (1984).** Biological activities of asterosaponins with special reference to structure- Activity relationships. *Natural products*, **47**: 997-1002.
- Garneau, F.X., Harvey, C., Simard, S.L., Apsimon, J., Burnell, D., and Himmelman, J., (1989).** The distribution of asterosaponins in various body components of starfish *Leptasterias polaris*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **92**: 411-416.
- Gauthier, C., Legault, J., Piochon, M., Lavoie, S., Tremblay, S., Pichette, A. (2009).** Synthesis, cytotoxicity, and haemolytic activity of chacotrioside lupane-type neosaponins and their germanicane-type rearrangement products. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **19**: 2310-2314.
- Ghyoot, M. (1991).** Le pédicellaire globifère de *Shaerechinus granularis*: morphologie et comportement d'un appendice défensif. Thèse. *Université libre de Bruxelles (ULB)*.
- Gilgan, M.W., Pike, R.K., Apsimon, J.W. (1976).** Quantification of saponin steroid from the starfish *Asterias vulgaris*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **41(4)**: 561-563.
- Glauert, A.M., Dingle, J.T and Lucy, J.A. (1962).** Action of saponin on biological membrane. *Nature*, **196**: 953-955.

Bibliographie

- Gouletquer, P. (2012).** De la biodiversité aux biotechnologies bleues: La caractérisation et l'exploitation des ressources marines sont elles compatibles. *Rapport scientifique de l'ifremer*, France.
- Grassé, P.P. (1948).** Traité de zoologie. Anatomie systématique et biologie. Echinodermes-Stomacardés. Arocordé. *Editions Masson*, Paris.
- Grimes, S., Boutiba, Z., Bakalem, A., Bouderbala, M., Boudjellal, B., Boumaza, S., Boutiba, M., Guedioura, A., Haffessas, A., Hemida, F., Kaidi, N., Khelifi, H., Kerzabi, F., Merzoug, A., Nouar, A., Sellali, B. (2004).** Biodiversité Marine et Littorale Algérienne. *Edition, Djazair, Alger, Sonatrach*, Alger.
- Grimas, S. (2010).** Peuplements benthiques des substrats meubles de la côte algérienne. Thèse de doctorat. *Université d'Oran*.
- Guido, J. Rio., Martin, F., Stempien, J.R., Ross, F., Nigrelli, R.F., George, D., Ruggieri. (1965).** Echinoderm toxins-some biochemical and physiological properties of toxins from several species of asteroidean. Osborn Laboratories of Marine Sciences, NewYork Aquarium, *Zoological Society*, **3**: 147-155.
- Harmelin1, J.G., Ruitton1, S. (2010).** The thermophilic Asteroidea *Ophidiaster ophidianus* on the NW Mediterranean coasts : evidence of frequency increase. *Scientific Reports of Port-Cros national Park*, **24**: 127-137.
- Harvey, C., Garneau, F.-X., Himmelman, J. (1987).** Chemodetection of predatory seaster *Leptasterias polaris* by whelk *Buccinum undatum*. *Marine Ecology Progress Series*, **40**: 79–86.
- Hashimoto, Y., Yasumoto, T. (1960).**Confirmation of saponin as a toxic principle of starfish. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, **26**:1132-1138.
- Hickman, C.P., Roberts, L.S., Larson, A. (1996).** "Integrated Principles of Zoology." *Edition WCBMcGraw-Hill*, New York.
- Hostettmann, K., Martson, A.(1995).** Chemistry & Pharmacology of Natural Products, Saponins. *Cambridge University Press*, New York.
- Huet, M ., Lender, Th. (1979).** Le rôle du système nerveux au cours de la régénération du bras chez une Etoile de mer: *Asterina gibbosa* (Echinoderme, Asteride). *Embryology and. Experimental Morphology*, **33**: 535-552.
- Hyman, L. H. (1955).** The Invertebrates: Echinodermata. Volume IV. *Edition McGraw-Hill*, New York.
- Ikegami, S., Y. Kamiya. (1972a).** Isolation and identification of spawning ovaries of the starfish, *Asterias amuren*, **36 (6)**: 1078-1089.
- Ikegami, S., Kamiya, Y and Tamura, S. (1972b).** Isolation and characterization of spawning inhibitors in ovary of thestarfish. *Astérias amurensis*. *Organic & Bimolecular Chemistry*, **38 (11)**:2005-2011.

Bibliographie

Jorg, M., Augusti., Vera Kuzina., Sven, B., Andersen., Soren, B. (2011). Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. *Phytochemistry*, **72**:435-457.

Kalinin, V.I., Prokofieva, N.G., Likhatskaya, G.N., Schentsova, E.B., Agafonova, I.G., Avilov, S. A., Drozdova, O. A. (1996). Hemolytic activities of triterpene glycosides from the holothurians order dendrchirotida: some trends in the evolution of this group of toxins. *Toxicon*, **34**: 475-483.

Kerr, R.G., Chen, Z. (1995). In vivo and in vitro biosynthesis of saponins in sea cucumbers. *Natural Products*, **58 (2)**: 172-176.

Kim, D.H., Jung, J.S., Suh, H.W., Huh.,S.O., Min, S.K., Son, B.K. Park, J.H., Kim, N.D., Kim, Y.H., Song, D.K.(1998). Inhibition of stress induced plasma corticosterone levels by ginsenosides in mice: involvement of nitric oxide. *Neuroreport*, **9**: 2261-2264.

Kisha, A.A., Ivanchina, N.V., Kalinovsky, A.I., Dmitrenok, P.S., Stonik, V.A. (2001). Sulfated steroid compounds from the starfish *Aphelasterias japonica* of the Kuril population. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **128**: 43-52.

Kitagawa, I., Kobayashi, M. (1977). On the structure of the major saponin from the starfish *Acanthaster planci*. *Tetrahedron Letters*, **10**: 859-862.

Koehler.R, (1969). Faune de France échinodermes. *Edition Nendeln Ile htenstein*. Paris.

Kornprobst, J.M., Sallenave, C., Barnathan, G. (1998). Sulfated Compounds from Marine Organisms. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **119**: 1-51.

Kornprobst, J.M. (2005). Substances naturelles d'origine marine: chimidiversité, pharmacodiversité, biotechnologie. *Edition Tec & Doc Lavoisier*.

Kubanek, J., Walen, K., Engel, S., Kelly, S., Henkel, T., Fenical, W., Pawlik, J. (2002). Multiple defensive roles for triterpene glycosides from two Carrabean sponges. *Oecologia*, **131**: 125-136.

Leclaire. L, (1972). La sédimentation holocène sur le versant méridional du bassin Algéro -Baléares (précontinent algériens). *Memoires du Museum National D'histoire Naturelle. Serie C, Science de la terre*, **XXIV**:391.

LEM., 2012. Étude des facteurs météorologique en baie d'Alger. Rapport de *Laboratoire d'Études Maritime*. Alger.

LEM., 1998. Étude de délimitation d'une zone d'extraction de sable en baie d'Alger. *Rapport de Laboratoire d'Études Maritime*. Alger.

Lide, D.R. (2009). CRC Handbook of Chemistry and Physics: a ready-reference book of chemical and physical data. *Edition CRC Press*. London.

Bibliographie

- Mah, C. L. (2000).** Preliminary phylogeny of the Forcipulatacean Asteroidea. *American Zoologist*, **40**:375-381.
- Mackie, A.M., Lasker, R., Grant, P.T. (1968).** Avoidance reactions of mollusc *Buccinum undatum* to saponin-like surface-active substances in extracts of the starfish *Astéris rubens* and *Martasterias glacialis*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **26**: 415-428.
- Mackie, A.M., Turner, A.B. (1970).** Partial characterization of biologically active steroid glycoside isolated from the starfish *Marthasterias glacialis*. *Biochemical*, **117**: 543-550.
- Mackie, A.M., Singh, H.T., Fletcher, T.C. (1975).** Studies on the Cytolytic effects of seastar (*Martasterias glacialis*) Saponins and Synthetic Surfactants in the plaice *Pleuronectes platessa*. *Marine biology*, **29**: 307-314.
- Mackie, A.M., Singh, H., Owen, J. (1977).** Studies on the distribution, biosynthesis and function of steroidal saponins in echinoderms. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **56**: 9-14.
- Maier, M. (2008).** Biological activities of sulfated glycosides from echinoderms. *Natural Products Chemistry*, **35**, 311-354.
- Maouche, S. (1987).** Mécanisme hydro sédimentaires en baie d'Alger (Algérie): approche sédimentologiste, géochimique et traitement statistiques. Thèse de Doctorat. *Université de Perpignan*.
- Marsh, A.G., Watts, S.A., Chen, C.P and McClintock, J.B. (1985).** The effect of high salinity on development, mortality and ray number of *Echinaster sepositus* (echinodermata: asteroidea) at different developmental stages. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **83**: 229-231.
- Masayuki, T., Chkari, U., Yasuyo, T. (1996).** Structure- Activity relationships of synthetic saponins. *Phytochemistry*, **41**: 121-123.
- McKnight, D.G. (1975).** Classification of somasteroids and asteroids (Asterozoa: Echinodermata). *Royal Society of New Zealand*, **5**:13-19.
- Matsuno, T., Ishida, T. (1969)** . Distribution and seasonal variation of toxic principles of sea cucumber (*Holothuria leucospilota* Brandt). *Experientia*, **25**:1261.
- Mayer, A.M.S., Gustafson, K.R. (2008).** Marine pharmacology in 2005-2006: Antitumour and cytotoxic compounds. *European Journal of Cancer*, **44**: 2357-2387.
- Mayo, P., Mackie, A.M. (1976).** Studies of Avoidance Reactions in Several Species of Predatory British Seastars (Echinodermata: Asteroidea). *Marine Biology*, **38**: 41-49.

Bibliographie

Mennad, M. (2008). Approche des systèmes d'information géographique(SIG) pour l'analyse spatio-temporelle de la pollution marine des eaux côtières. Application à la baie d'Alger. *Thèse de magister. Université Des Sciences Et De La Technologie Houari Boumediene*, Alger.

Mengoni, F., Lichtner, M., Battinelli, Marzi, M., Mastroianni, C.M., Vullo, V., Mazzanti, G. (2002). In vitro anti- HIV activity of oleanolic acide on infected human mononuclear cells. *Planta Medica*, **68**:111-114.

Mezali, K. (2008). Phylogénie, Systématique, dynamique des populations et nutrition de quelques espèces d'holothuries aspidochiotes (Holothuroidea: Echinodermata) inféodées aux herbiers de *Posidonies* de la côte algéroise. *Université Des Sciences Et De La Technologie Houari Boumediene*, Alger.

Mezali, K., Caulier, G., Gerbaux, P., Demeyer, M., Corentin Decroo, C., Eeckhaut., Flammang, P. (2015) Chemical characterization of the saponins contained in the integument and the Cuvierian tubules of the sea cucumber *Holothuria (Platyperona) sanctori*(Delle Chiaje, 1823).*Marine drugs*(in press).

Mcintosh, M., Cruz, L.J., Hunkapiller, M.W., Gray, W.R., Olivera, B.M. (1982). Isolation and structure of a peptide toxin from the marine snail *Conus magus*. *Biochemistry & Biophysics*, **218**: 329-334.

Millot C., Taupier, L.I., 2005. Circulation in the Mediterranean Sea. *The Handbook of Environmental Chemistry*, **5**: 26-66.

Mimaki, Y., Kuroda, M., Kameyama, A., Yokosuka, A., Sashida, Y.G., Francis, E. (1998). Steroidal saponins from the underground parts of *Ruscus aculeatus* and their cytostatic activity on HL-60 cells. *Phytochemistry*, **48**: 485-493.

Minale, L., Ruccio, R., De Simone,F., Dini,A., Pizza, C., Ramundo. (1978). Starfish saponins I. 3 β -HYDROXY-5- α -CHOLESTA-8, 14-DIEN-23-ONE, The major genin rom STARFISH *Echinaster sepositus*.*Tetrahedron letters*, **29**: 2609-2612.

Minale, L., Ruccio, R., Dini,A., Pizza, C. (1979). Starfish saponins II. 22,23-EPOXYSTEROIDS,Minor genins from the starfish *Echinaster sepositus*. *Tetrahedron letters*, **20**:645-684.

Minale, L., Pizza, C., Ruccio, R., Zolla, F. (1982). Stériodal Glycoside from starfishes. *Pure and Applied Chemistry*, **54**: 1935-1950.

Molinski ,T.F., Dalisay, D.S., Lievens, S.L., Saludes, J.P. (2009). Drug development from marine natural products. *Nature Rewiew Drug Discovery*, **8**:69-85.

Moroh, J.L.A., Bachi, C., Dje, K., Loukou, Y.G., Guede-Guina, A.F. (2008). Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'*Escherichia coli*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, **77**: 44-61.

Bibliographie

- Naruse, M., Suetomo, H., Matsubara, T., Sato, T., Yanagawa, H., Hoshi, M., Matsumoto, M., (2010).** Acrosome reaction-related steroidal saponin, Co-ARIS, from the starfish induces structural changes in microdomains. *Developmental Biology*, **20**: 1-7.
- Nigrelli, R.F. (1952).** The effect of holothurin on fish, and mice with sarcoma 180. *Zoologica*, **37**: 89-90.
- Nigrelli, R.F., Stempien, M.F., Ruggieri, G.D., Liguori, V.R., Cecil, J.T. (1967).** Substances of potential biomedical importance from marine organisms. *American Society for experimental biology*, **26**:1197.
- Nina, G. P., Elena, L. Chaikina ., Alla, A. Kicha., Nataly., V. I. (2003).** Biological activities of steroid glycosides from starfish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **134**: 695-701.
- Nobuhiro, F., Yuko, K., Kanhisa., H. (1984).** Biological activity of asterosaponins with special reference to structure- activity relationships. *Natural Products*, **47**:997-1002.
- Odintsova, N.A., Usheva, L.N., Yakovlev, K.V., Kiselev, K.V. (2011).** Naturally occurring and artificially induced tumor-like formations in marine invertebrates: A search for permanent cell lines. *Experimental Marine Biology and Ecology*, **407**: 241-249.
- Paul, V.J., Arthur, K., Ritson-Williams, R., Ross, C., Kotty, S. (2007).** Chemical defenses: From Compounds to Communities. *Biological Bulletin*, **213**: 226-251.
- Pieri, F., Kirkiacharian, S. (1992).** Pharmacologie et Thérapeutique. *Edition Marketing*. Paris.
- Pinardi, N., Masetti, E. (2000).** Variability of the large scale general circulation of the Mediterranean Sea from observations and modeling. *Palaeogeography, Palaeoclimatologie, Palaeocology*, **158**: 153-173.
- Plock, A., Sokolowska-Kahler, W., Presber, W., (2001).** Application of flow cytometry and microscopic methods to characterize the effect of herbal drugs on leishmania spp. *Experimental Parasitology*, **97**: 141-153.
- Ponce, A., Fritz, R., Del Valle, C., Rowa, S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-wissenschaft & Technology*, **36**: 679-684.
- Prinsep, M.R., Yao. B., Nicholson ,B.K., Gordon, D.P. (2004).** The pterocellins, bioactive alkaloids from the marine bryozoan *Pterocella vesiculosa*. *Phytochemistry Reviews*, **3**:325-331.

Bibliographie

Prokof'eva, N.G., Chaikina, E.L., Kicha, A.A., Ivanchina, N.V. (2003). Biological activities of steroid glycosides from starfish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **134**:695-701.

Podolak, I., Elas, M., Cieszka, K. (1998). In vitro antifungal and cytotoxic activity of triterpene saponosides and quinoid pigment from *Lysimachia vulgaris*. *Phytotherapy Research*, **12**:70-73.

Ratcliffe, N.A., Rowley, A.F. (1981). Invertebrate Blood, Vol. 2. *Edition Academic Press*, London.

Rao, A.V., Sung, M.K. (1995). Saponine as anticarcinogens. *Nutrition*, **125**: 717-724.

Riesgo, A., Villamor, A., Becerr, M. (2011). Ultrastructure of the gametogenesis of the common Mediterranean starfish, *Echinaster (Echinaster) sepositus*. *Invertebrate Reproduction & Development*, **55**: 138-151.

Rinehart, K.L., Holt, T.G., Fregeau, N.L., Stroh, J.G., Keifer, P.A., Sun, F., Li, L.H., Martin, D.G.J. (1990). Ecteinascidins 729, 743, 745, 759 A, 759B, and 770: potent antitumor agents from the Caribbean tunicate *Ecteinascidia turbinata*. *Organic Chemistry*, **55**: 4512-4515.

Rowe, F.W.E., Doty, J.E. (1977). The Shallow water holothurians of Guam. *Micronesica*, **13**(2): 217-250.

Saleem, M., Nazir, M., Ali, M.S., Hussain, H., Lee, Y.S., Riaz, N., Jabbar, A. (2010). Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates. *Natural Products*, **27**: 238-254.

Sandvoss, M., Weltring, A., Preiss, A., Levsen, K., Wuensch, G. (2001). Combination MSPD and LCNMR-MS as a new efficient approach for rapid screening of natural products: Application to the total asterosaponin fraction of the starfish *Asterias rubens*. *Chromatography A*, **917**: 75-86.

Semroud, 1992 : Contribution à la connaissance de l'écosystème à *Posidonia oceanica* (L.) Delile dans la région d'Alger (Algérie): Etude de quelques compartiments. Thèse de doctorat. *Université Des Sciences Et De La Technologie Houari Boumediene*, Alger.

San Martin, R., Briones, R. (1999). Industrial uses and sustainable supply of *Quillaja saponaria* (Rosaceae) saponins. *Economic Botany*, **53**: 302-31.

Simpson, G.G. (1940). Types in modern taxonomy. *American journal of science*, **238**: 413-431.

Soualili, (2008). Les populations naturelles d'oursins: un outil évaluateur de l'état de santé de la baie d'Alger. Thèse de doctorat. *Université Des Sciences Et De La Technologie Houari Boumediene*, Alger.

Bibliographie

Sparg, S.G., Light, M.E., Staden, J., Van, J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Ethnopharmacology*, **94**: 219-243.

Stonik, V., Kalinin, V., Avilov, S., (1999). Toxins from sea cucumbers (holothuroids): chemical structures, properties, taxonomic distribution, biosynthesis and evolution. *Natural Toxins*, **8(2)**: 235-247.

Takechi, M., Matsunami, S., Nishizawa, J., Uno, C., Tanaka, Y. (1999). Haemolytic and antifungal activities of saponins or anti-ATPase and antiviral activities of cardiac glycosides. *Planta medica*, **65**: 585-586.

Tapondjou, L.A., Ponou, K.B., Teponno, R.B., Mbiantcha, M., Djoukeng, J.D., Nguelefack, T.B., Watcho, P., Cadenas, A.G., Park, H.J. (2008). In vivo anti-inflammatory effect of a new steroidal saponin, mannioside A, and its derivatives isolated from *Dracaena mannii*. *Archives of Pharmacal Research*, **31**: 653-658.

Thomas, G.E., Gruffydd, LL.D. (1971). The types of escape reactions elicited in the scallop *Pecten maximus* by selected sea-star species. *Marine Biology*, **10**: 87-93.

Thompson, J.E., Walker, R.P., Faulkner, D.J. (1985). Screening and bioassays for biologically-active substances from forty marine sponge species from San Diego, California, USA. *Marine Biology*, **88**:11-21.

Trindade-Silva, A.E., Lim-Fong, G.E., Sharp, K.H., Haygood, M.G. (2010). Bryostatins: biological context and biotechnological prospects. *Current Opinion in Biotechnology*, **21**: 834-842.

Van Dyck, S., Gerbaux, P., Flammang, P. (2009). Elucidation of molecular diversity and body distribution of saponins in the sea cucumber *Holothuria forskali* (Echinodermata) by mass spectrometry. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **152**: 124-134.

Van Dyck, S., Flammang, P., Meriaux, C., Bonnel, D., Salzet, M., Fournier, I., Wisztorski, M., Fournier, I. (2010). Localization of Secondary Metabolites in Marine Invertebrates: Contribution of MALDI MSI for the Study of Saponins in Cuvierian Tubules of *H. forskali*. *PLOS ONE*, **5 (11)**: e13923.

Van Dyck, S., Caulier, G., Todesco, M., Gerbaux, P., Fournier, I., Wisztorski, M., Flammang, P. (2011). The triterpene glycosides of *Holothuria forskali*: usefulness and efficiency as a chemical defense mechanism against predatory fish. *Experimental Biology*, **214**:1347-1356.

Verrill, A.E. (1914). Monograph of the shallow-water starfishes of the North Pacific coast from the Arctic Ocean to California. *Harriman Alaska Series of the United States National Museum*, **110**: 401-408.

Voogt, P.A., Huiskamp, R. (1979). Sex –dependence and seasonal variation of saponins in the gonads of star-fish: their relation to reproduction. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **62**: 1049-1055.

Bibliographie

Voogt, P.A., Rheenen, A.V. (1982). Carbohydrate content and composition of asterosaponins from different organs of the sea star *Astéris rubens*: relation to their haemolytic activity and implications for their biosynthesis. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **72**:683-688.

Voogt, P.A., Groot, B.F. (1983). Stimulation of germinal vesicle breakdown in zebrafish oocytes by ovarian asterosaponins from the sea star *Astéris rubens*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **74**: 419-429.

Voutquenne, L., Lavaud, C., Massiot, G., le Men-Olivier, L. (2002). Structure-activity relationships of haemolytic saponins. *Pharmaceutical Biology*, **40**: 253-262.

Wang, Y., Mcallister, T.A., Yanke, L.J., Cheeke, P.R. (2000). Effect of steroidal saponin from *Yucca Schidigera* extract on nominal microbes. *Applied Microbiology*, **88**: 887-896.

Yamanouchi, T. (1955). On the poisonous substance contained in holothurians. *Seto Marine Biological Laboratory*, **4**:183-203.

Yasumoto, T., Tanaka, M., Hashimoto, Y. (1966). Distribution of saponin in echinoderms. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, **32**: 673-676.

Yang, S.W., Chan, T.M., Buevich, A., Priestley, T., Crona, J., Reed, J., Wright, A.(2007). Novel steroidal saponins, Sch 725737 and Sch 725739, from a marine starfish *Novodinia antillensis*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **17**, 5543-5547.

Site internet

Wikipedia, 2014. L'encyclopédie libre en ligne: <http://www.wikipédia.com>

<http://doris.ffesm.fr>

<http://www.webplongee.com>

www.marbef.org/data/erms.php

<http://www.marinespecies.org>

Glossaire

Glossaire

Activité antinéoplasique: la capacité d'un médicament à bloquer des mitoses (divisions cellulaires). Les médicaments qui ont cette capacité sont employés en thérapeutique anticancéreuse.

Activité ichtyotoxique: la capacité des toxines à *empoisonner* les poissons.

Analgésique: un médicament qui prévient ou diminue la sensation de douleur.

Apoptose: correspond à un suicide, ou mort cellulaire programmée.

Bionomie benthique: une discipline de l'écologie qui s'intéresse à l'identification, la classification, la caractérisation des peuplements benthiques.

Cannibalisme: est une pratique qui consiste à consommer un individu de sa propre espèce.

Composés amphiphiles: composé organique portant à la fois un groupement hydrophile (pouvant se lier à l'eau), et un groupement hydrophobe (qui n'aime pas l'eau).

Courant: tout déplacement d'ensemble des particules d'un fluide. S'agissant de la mer, mouvement permanent ou périodique des eaux, généralement dans le sens horizontal, dû à diverses causes telles que des différences de température, le vent, et les marées.

Courant de dérive générale: courant océanique superficiel de faible vitesse et affectant une grande étendue d'eau, provoqué principalement par le vent.

Courant de dérive littorale: la dérive littorale consiste en un déplacement effectué par les vagues, le vent et les courants le long du rivage de matières déposées sur les littoraux (sable et graviers).

Courant de flot: mouvement horizontal de l'eau avec un décalage plus ou moins important de la masse d'eau montante. Les courants de flot portent généralement vers la côte.

Courant de retour (Contre-courant): courant secondaire de direction contraire à celle du courant principal.

Dalton: Unité de mesure de masse des atomes, un dalton égal 1/12 de la masse d'un atome de carbone 12.

Déferlement de la houle: Lorsque la houle approche de la côte (vague), la diminution de la profondeur de l'eau entraîne la réduction de la longueur d'onde de la houle. Cette réduction de la longueur d'onde peut provoquer, la destruction totale ou partielle de la vague: on assiste au déferlement.

Glossaire

Dimorphisme sexuel: l'ensemble des différences morphologiques (forme, taille, couleur) plus ou moins marquées entre les individus mâles et femelles d'une même espèce.

Encéphalite: désigne une inflammation de l'encéphale, partie du système nerveux central situé dans la boîte crânienne et comprenant les hémisphères cérébraux, le cervelet et le tronc cérébral.

Herpèce simplexe: est une maladie virale contagieuse responsable d'affection de la peau et des muqueuses caractérisée par une éruption vésiculeuse de boutons groupés.

Espèce clé de voûte: une espèce clé de voûte englobe n'importe quel consommateur ou prédateur relativement peu abondant, qui a une grande influence sur les interactions entre les autres espèces et par conséquent sur la richesse et l'abondance des espèces dans la communauté.

Espèce gonochorique: espèce dans laquelle chaque individu n'a qu'un seul sexe (mâle ou femelle).

Ergostérol: stérol des membranes fongiques portant une double liaison entre les atomes de carbone (C₇ et C₈) de la chaîne latérale.

Érythrocyte: (du grec *erythro* : rouge et *kutos* : cellule) plus communément appelé globule rouge faisant partie des éléments du sang, il assure le transport du dioxygène (O₂) et du dioxyde de carbone (CO₂).

Force de Coriolis: force d'inertie à prendre en compte pour étudier le mouvement d'un corps par rapport à un repère (repère inertiel), par exemple par rapport à la Terre dans les applications de la géodynamique et de la géophysique.

Phototropisme: la capacité d'un organisme à s'orienter par rapport à la lumière. Si l'organe s'oriente en direction de la lumière, son phototropisme est dit positif, sinon son phototropisme est négatif.

Fraction pélitique: fraction qui comporte de pélite (roche gréseuse constituée par l'agglomération d'une poussière de quartz et d'oxyde ferrique).

Géotropisme: orientation imposée par les champs de gravitation, en particulier par la pesanteur.

Hermaphrodisme: désigne un phénomène biologique dans lequel l'individu est morphologiquement mâle et femelle, soit simultanément soit alternativement.

Houle: oscillation régulière de la surface de la mer, indépendante du vent local.

Liquide aquifère: ou liquide ambulacraire, caractérisé chez les astéries par la même composition de l'eau de mer avec des traces d'urée et d'ammoniaque.

Leucémie lymphoblastique aiguë: est un cancer qui prend naissance dans les cellules souches du sang. Les cellules souches sont des cellules de base, ou cellules

Glossaire

mères, capables de se transformer en différents types de cellules qui ont des fonctions distinctes.

Mélanome: cancer de la peau ou des muqueuses.

Métabolite secondaire: molécules qui n'appartiennent pas au métabolisme primaire (métabolisme indispensable à la nutrition) mais appartient au métabolisme secondaire (se manifeste dans des compartiments particuliers ou à des moments précis de la vie d'un organisme) comme les toxines des végétaux et des invertébrés marins.

Mille: unité de longueur ancienne, 1 mille égale 1852 mètres.

Nœud: unité de vitesse utilisée en navigation correspondant à un mille marin par heure.

Paludisme: est une maladie potentiellement mortelle transmise par des moustiques du genre *Plasmodium*.

Protandrique: une forme d'hermaphroditisme correspondant à une acquisition des caractères sexuels mâles et femelles différée dans le temps.

Sarcome: c'est un cancer des tissus conjonctifs. Les tissus conjonctifs incluent les nerfs, les muscles, les tendons, le cartilage, les os, les articulations et les vaisseaux sanguins.

Stéréo tropisme: réaction d'adhérence d'un organisme avec un substrat solide.

Température potentielle: température estimée d'un fluide (ou d'un gaz) qui serait soumis à une pression standard (1 bar).

Tourbillon: Partie d'une masse d'eau animée d'un mouvement de rotation, se produit par exemple lorsqu'un courant passe au-dessus d'une obstruction, ou à la limite de deux courants adjacents s'écoulant dans des sens opposés, ou en bordure d'un courant permanent. **Tourbillon cyclonique** tourne dans le sens inverse des aiguilles d'une montre. **Tourbillon anticyclonique** tourne dans le sens des aiguilles d'une montre.

Tuberculose: est une infection bactérienne (*Mycobacterium tuberculosis*) pouvant toucher de nombreux organes (tuberculose pulmonaire et osseuse).

ANNEXE

Table des annexes

Liste des figures

Liste des tableaux

Annexe 1: Synthèse documentaire

1. Concentration des vingt éléments les plus abondants dans l'eau de mer

Annexe 2: Matériel et méthode

1. Les astéries de la côte algérienne
2. Verrerie utilisée au laboratoire
3. Produits chimiques utilisés au laboratoire
4. Préparation de la résine d'amberlite
5. Préparation de la solution PBS (Phosphate Buffered Saline)
6. Composition des milieux de cultures

Annexe 3 : Résultats et discussion

1. Données biométriques
2. Résultats de l'activité hémolytique
3. Poids corporels et valeurs de l'indice gonado-somatique

Liste des figures

Figure 1: Préparation de la résine d'amberlite

Figure 2: préparation de la solution tampon PBS.

Liste des tableaux

Tableau 1: Concentration des vingt éléments les plus abondants dans l'eau de mer.

Tableau 2 : Les astéries de la côte Algérienne.

Tableau 3: Inventaire de la verrerie utilisée au laboratoire.

Tableau 4: Récapitulatif des caractéristiques des produits utilisés.

Tableau 5: Composition des milieux solides.

Tableau 6: Composition des milieux solides.

Tableau 7: Données biométrique de la population d'*Echinaster sepositus* étudiée.

Tableau 8: Densités optiques mesurés à 540 nm et les pourcentages d'hémolyse induits par les extraits des saponines obtenues à partir des gonades d'*Echinaster sepositus*.

Tableau 9: Densités optiques mesurés à 540 nm et les pourcentages d'hémolyse induits par les extraits des saponines obtenues à partir du tégument aboral d'*Echinaster sepositus*.

Tableau 10: Densités optiques mesurés à 540 nm et les pourcentages d'hémolyse induits par les extraits des saponines obtenues à partir du tégument aboral d'*Echinaster sepositus*.

Tableau 11: Densité optique mesuré à 540 nm et les pourcentages d'hémolyse induits par les extraits des saponines obtenues à partir d'estomac d'*Echinaster sepositus*.

Tableau 12: Densité optique mesuré à 540 nm et les pourcentages d'hémolyse induits par les extraits des saponines obtenues à partir des caeca pyloriques d'*Echinaster sepositus*.

Tableau 13: Le poids corporels, le poids des gonades et les valeurs de l'indice gonado-somatique de la population d'*Echinaster sepositus* étudiée.

Annexe 1

1. Concentration des vingt éléments les plus abondants dans l'eau de mer

Les ordres de grandeur des concentrations des 20 éléments les plus abondants dans l'eau de mer après l'hydrogène et l'oxygène sont reportés dans le tableau 1.

Le tableau montre que tous les halogènes sont présents dans l'eau de mer sous forme d'ions halogénures et par ordre d'abondance, on trouve successivement:

Cl > Br > F > I.

Tableau 1: Concentration des vingt éléments les plus abondants dans l'eau de mer.

| Ordre de grandeur (mg/kg de l'eau de mer) | Éléments | ppm |
|--|----------|-------|
| >10 ³ | Cl | 18980 |
| | Na | 10560 |
| | Mg | 1275 |
| de 10 ³ à 10 ² | S | 885 |
| | Ca | 400 |
| | K | 380 |
| de 10 ² à 10 | Br | 65 |
| | C | 30 |
| | Sr | 15 |
| de 10 à 1 | B | 5.00 |
| | Si | 4.00 |
| | F | 1.50 |
| de 1 à 10 ⁻¹ | N | 0.7 |
| | Al | 0.5 |
| | Rb | 0.2 |
| de 10 ⁻¹ à 10 ⁻² | Li, p | 0.1 |
| | Ba, I | 0.05 |
| | As | 0,02 |
| | | |

ppm: partie par million.

Annexe 2

1. Les astéries de la côte algérienne

Les espèces d'Astérides les plus communes en Algérie selon Koehler (1969); Grimes *et al.* (2004); Bakalem (2008); Boumediene et Bouras(2014) sont reportées dans le tableau 2.

Tableau 2: Les astéries de la côte Algérienne.

| Espèces | Bibliographies |
|---|--|
| <i>Echinaster (Echinaster) sepositus</i> (Retzius, 1783) | Grimas <i>et al.</i> (2004). Boumediene et Bouras (2014). |
| <i>Asterina gibbosa</i> (Pennant, 1777) | Grima (2004). Derbal et Kara (2005). |
| <i>Astropecten aranciacus</i> (Linnaeus, 1758) | |
| <i>Astropecten bispinosus</i> (Otto, 1823) | Grimas <i>et al.</i> (2004.) Bakalem (2008). |
| <i>Astropecten irregularis</i> (Pennant, 1777) | Grimas <i>et al.</i> (2004). |
| <i>Astropecten irregularis- pentacanthus</i> (Delle Chiaje, 1825) | Grimas <i>et al.</i> (2004). |
| <i>Astropecten jonstoni</i> Delle Chiaje, 1827 | Grimas <i>et al.</i> (2004). |
| <i>Astropecten spinulosus</i> (Philippi, 1837) | Grimas <i>et al.</i> (2004). |
| <i>Luidia sarsi</i> Düben & Koren, 1845 | Grimas <i>et al.</i> (2004). |
| <i>Coscinasterias tenuispina</i> (Lamarck, 1816) | Grimas <i>et al.</i> (2004). |
| <i>Marthasterias glacialis</i> (Linnaeus, 1758) | |
| <i>Ophidiaster ophidianus</i> (Lamarck, 1816) | Grimas <i>et al.</i> (2004). Boumediene et Bouras (2014). |
| <i>Hacelia attenuata</i> Gray, 1840 | Grimas <i>et al.</i> (2004). Boumediene et Bouras (2014). |

2. Verrerie utilisée au laboratoire

Les manipulations au laboratoire dans le cadre de notre étude ont nécessité la verrerie suivante (Tab. 3).

Tableau 3: Inventaire de la verrerie utilisée au laboratoire.

| Matériel | Contenance (ml) | Erreurs | Fabriquant |
|-------------|-----------------|---------|------------------------------------|
| Béchers | 25 | - | SILAX |
| | 50 | - | SCHOTT DURAN |
| | 100 | - | SCHOTT DURAN |
| | 250 | - | SILAX |
| | 800 | - | SILAX |
| Erlenmeyers | 250 | - | SILAX |
| Eprouvettes | 10 | ± 0,2 | RIVIERA |
| | 100 | ± 1 | RIVIERA |
| Pipettes | 1 | ± 0,01 | RIVIERA |
| | 2 | ± 0,02 | RIVIERA |
| | 5 | ± 0,045 | HIRSCHMANN TechColor, Allemagne |
| | 10 | ± 0,1 | RIVIERA |
| Matrat | 100ml | - | SILAX |

3. Produits chimiques utilisés au laboratoire

Les produits consommables utilisés durant ce travail sont résumés dans le **tableau 4**.

Tableau 4: Récapitulatif des caractéristiques des produits utilisés.

| Formule | Dénomination | Fabriquant | Contenance |
|---|---|----------------|------------|
| NaCl | Chlorure de sodium | Sigma-Aldrich | 500 g |
| Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O | Hydrogénophosphate de sodium, dihydrate | Sigma-Aldrich | 1 Kg |
| KCl | Chlorure de potassium | Sigma-Aldrich | 500g |
| KH ₂ PO ₄ | Potassium dihydrogène phosphate | Sigma-Aldrich | 1 Kg |
| MgCL ₂ | Chlorure de magnésium | Sigma-Aldrich | 500g |
| CaCL ₂ | Chlorure de calcium | Sigma-Aldrich | 1kg |
| NaHCO ₃ | Bicarbonate de sodium | Sigma-Aldrich | 500g |
| CH ₃ OH | Méthanol | Riedel-de Haen | 2,5 L |
| C ₆ H ₁₄ | n-Hexane | Labosi | 1 L |
| CHCl ₃ | Chloroforme | Sigma aldrich | 2,5 L |
| CH ₂ Cl ₂ | Dichlorométhane | Sigma aldrich | 1 L |
| C ₄ H ₉ OH | Iso-butanol | Sigma adriche | 2,5 L |
| - | Résine-d'amberlite XAD-4 | Fluka | 500 g |
| CH ₂ O ₂ | Acide sulfurique | Sigma adrich | 2,5 L |
| DMSO | Diméthyle solfo-oxyde | Sigma aldrich | 1L |
| H ₂ O | Eau bidistillé | - | - |

4. Préparation de la résine d'amberlite

La phase stationnaire de chromatographie liquide est une résine d'amberlite XAD-4 (résine non ionique).

La résine d'amberlite est conditionnée comme suit :

- Une quantité d'eau bi-distillée est mis dans un erlenmeyer puis la résine humide est déposée à l'intérieur, pendant 3 h en minimum afin que les billes gonflent et acquièrent leurs propriétés hydrophobes. L'erlenmeyer permet de retirer le plus de liquide possible (sans assécher l'amberlite);
- Dans la colonne de chromatographie l'amberlite est lavée successivement avec 100 ml de méthanol à 25 %, 100 ml de méthanol à 50 %, 100 ml de méthanol à 75 %, 100 ml de méthanol à 100 %. Puis avec 100 ml de méthanol à 100 %, 100 ml de méthanol 75%, 100 ml de méthanol 50 %, 100 ml de méthanol à 25 %;
- Enfin la résine d'amberlite est lavée avec 100 ml de l'eau bidistillée afin d'enlever toutes les petites bulles apparues pendant le lavage avec le méthanol.

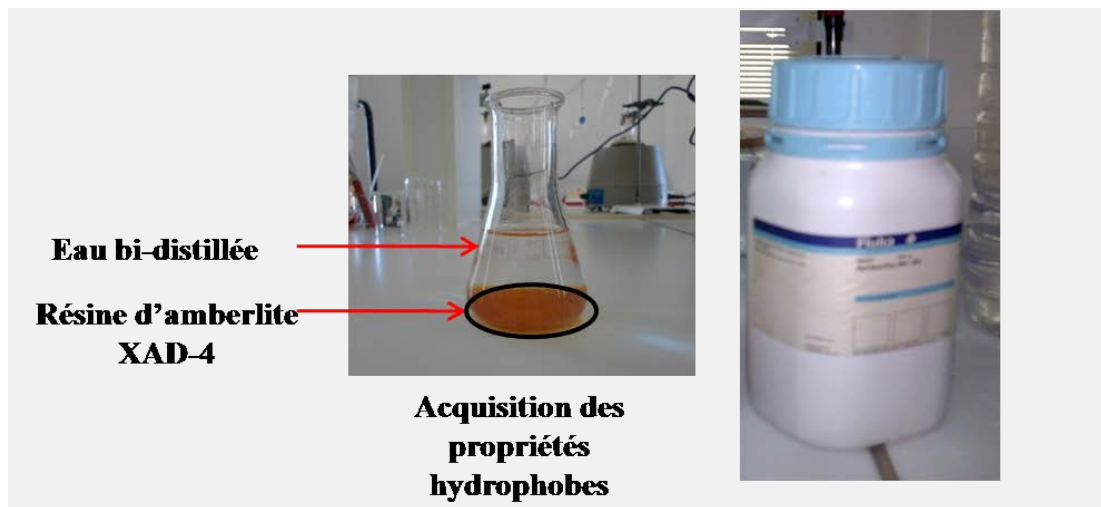


Figure 1: Préparation de la résine d'amberlite.

5. Préparation de la solution PBS (Phosphate Buffered Saline)

Pour préparer un litre de la solution phosphate salin (PBS) une quantité d'eau est mis dans un bécher de 800 ml avec:

- 8g de NaCl;
- 1.45 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$;
- 0.2 g de KCL;
- 0.2 g de KH_2PO_4 .

Le mélange est transverse dans matras de 1 litre et son volume est ajusté au trait, puis le pH de la solution est ajusté à 7.4.



Figure 2: préparation de la solution tampon PBS.

6. Composition des milieux cultures

La composition des milieux de cultures utilisés pour l'étude de l'activité antibactérienne des saponines d'*Echinaster sepositus* est reportée dans les **tableaux 5 et 6**.

6.1. Composition des milieux solides

Tableau 5: Composition des milieux solides.

(La gélose nutritive, la gélose de Mueller Hinton).

| La gélose nutritive (GN) Composition en (g/L) | | La gélose de Mueller Hinton (MH) Composition en (g/L) | |
|--|------|--|---------------|
| Peptone | 10g | Agar | 18 g |
| Extrait de viande | 3 g | Hydrolysate acide de caséine | 17,5 g |
| Extrait de levure | 3g | Extrait de viande | 3 g |
| Chlorure de sodium | 5g | Ca ²⁺ | 0,02-0,025 g |
| Agar | 18 g | Mg ²⁺ | 0,01-0,0125 g |
| Eau distillé | 1L | Eau distillé | 1L |

pH= 7,3 ± 0,2, Stérilisation 121°C pendant 15 minutes.

6.2. Composition des milieux liquides

Tableau 6: Composition des milieux liquides.

| Bouillon nutritif (BN) | | Eau physiologique | |
|------------------------|-----|----------------------|----|
| Composition en (g/L) | | Composition en (g/L) | |
| Peptone | 10g | Chlorure de sodium | 9g |
| Extrait de viande | 3 g | Eau distillé | 1L |
| Extrait de levure | 3g | pH=7 | |
| Chlorure de sodium | 5g | | |
| Eau distillé | 1L | | |

Stérilisation à 121°C pendant 15 minutes.

Annexe 3

1. Données biométrique

La longueur des bras, et le diamètre du disque central des échantillons d'*Echinaster sepositus* étudiés sont représentés dans le **tableau 7**.

Tableau 7: Données biométrique de la population d'*Echinaster sepositus* étudiée.

| Septembre | | | Octobre | | | | Novembre | | | | |
|-----------|--------|--------|---------|-------|--------|--------|----------|-------|--------|--------|------|
| N° | R(cm) | r(cm) | R/r | N° | R(cm) | r(cm) | R/r | N° | R(cm) | r(cm) | R/r |
| ind 1 | 11.1 | 1.7 | 6.53 | ind 1 | 11.9 | 1.8 | 6.61 | ind 1 | 12.5 | 1.9 | 6.58 |
| ind 2 | 10.8 | 1.7 | 6.35 | ind 2 | 11.8 | 1.8 | 6.56 | ind 2 | 12.5 | 1.9 | 6.58 |
| ind3 | 11.1 | 1.7 | 6.53 | ind3 | 11.9 | 1.8 | 6.61 | ind3 | 12.9 | 1.9 | 6.79 |
| ind4 | 10.5 | 1.7 | 6.18 | ind4 | 11.8 | 1.8 | 6.56 | ind4 | 13.3 | 2 | 6.65 |
| ind5 | 11.1 | 1.7 | 6.53 | ind5 | 11.9 | 1.8 | 6.61 | ind5 | 12.8 | 1.9 | 6.74 |
| ind6 | 10.9 | 1.7 | 6.41 | ind6 | 11.7 | 1.8 | 6.50 | ind6 | 12.9 | 1.9 | 6.79 |
| ind7 | 11.3 | 1.8 | 6.28 | ind7 | 11.7 | 1.8 | 6.50 | ind7 | 12.9 | 1.9 | 6.79 |
| ind8 | 11.1 | 1.7 | 6.53 | ind8 | 12.1 | 1.7 | 7.12 | ind8 | 12.4 | 1.9 | 6.53 |
| ind 9 | 10.9 | 1.7 | 6.41 | ind 9 | 11.9 | 1.8 | 6.61 | ind 9 | 12.6 | 1.9 | 6.63 |
| ind10 | 10.8 | 1.7 | 6.35 | ind10 | 11.8 | 1.8 | 6.56 | ind10 | 11.9 | 1.9 | 6.26 |
| Decembre | | | Janvier | | | | Février | | | | |
| N° | R (cm) | R (cm) | R/r | N° | R (cm) | r (cm) | R/r | N° | R (cm) | R (cm) | R/r |
| ind 1 | 12.5 | 2 | 6.25 | ind 1 | 14.3 | 2.1 | 6.81 | ind 1 | 14.2 | 2.1 | 6.76 |
| ind 2 | 13.5 | 2 | 6.75 | ind 2 | 14.2 | 2.1 | 6.76 | ind 2 | 14.2 | 2.1 | 6.76 |
| ind3 | 13.1 | 2 | 6.55 | ind3 | 14.6 | 2.1 | 6.95 | ind3 | 14.2 | 2.1 | 6.76 |
| ind4 | 13.3 | 2 | 6.65 | ind4 | 14 | 2.1 | 6.67 | ind4 | 14 | 2.1 | 6.67 |
| ind5 | 13.3 | 2 | 6.65 | ind5 | 14.1 | 2.1 | 6.71 | ind5 | 14 | 1.9 | 7.37 |
| ind6 | 13.5 | 2 | 6.75 | ind6 | 14.1 | 2.1 | 6.71 | ind6 | 14.1 | 2.1 | 6.71 |
| ind7 | 13.4 | 1.9 | 7.05 | ind7 | 13.8 | 2 | 6.90 | ind7 | 14 | 2.1 | 6.67 |
| ind8 | 13.3 | 1.9 | 7.00 | ind8 | 14.9 | 2.1 | 7.10 | ind8 | 14.9 | 2.1 | 7.10 |
| ind 9 | 13,6 | 2 | 6.80 | ind 9 | 14.2 | 2.1 | 6.76 | ind 9 | 14.2 | 2.1 | 6.76 |
| ind10 | 13.5 | 1.9 | 7.11 | ind10 | 14.1 | 2.1 | 6.71 | ind10 | 14.2 | 2.1 | 6.76 |

N°: Numéro d'individu récolté, **ind:** individu, **R :** Longueur des bras, **r:** Rayon du disque centrale.

R/r: Rapport entre la longueur de bras et le rayon du disque central.

Tableau 7(suite): Données biométrique de la population d'*Echinaster sepositus* étudiée.

| N° | Mars | | | N° | Avril | | | N° | Mai | | |
|-------|--------|-------|------|-------|---------|--------|------|-------|--------|--------|------|
| | R(cm) | r(cm) | R/r | | R(cm) | r(cm) | R/r | | R(cm) | r(cm) | R/r |
| ind 1 | 14.5 | 2.1 | 6.90 | ind 1 | 14.1 | 2.1 | 6.71 | ind 1 | 11.8 | 1.8 | 6.56 |
| ind 2 | 14.2 | 2.1 | 6.76 | ind 2 | 14.1 | 2.1 | 6.71 | ind 2 | 11.8 | 1.8 | 6.56 |
| ind3 | 14.6 | 2.1 | 6.95 | ind3 | 14.3 | 2.1 | 6.81 | ind3 | 11.8 | 1.8 | 6.56 |
| ind4 | 14.5 | 2.1 | 6.90 | ind4 | 14.2 | 2.1 | 6.76 | ind4 | 11.8 | 1.8 | 6.56 |
| ind5 | 14.6 | 2 | 7.30 | ind5 | 13.2 | 2.1 | 6.29 | ind5 | 11.8 | 1.8 | 6.56 |
| ind6 | 14.5 | 2.1 | 6.90 | ind6 | 12.9 | 2 | 6.45 | ind6 | 11.7 | 1.7 | 6.88 |
| ind7 | 14.1 | 2 | 7.05 | ind7 | 14.9 | 2.1 | 7.10 | ind7 | 11.7 | 1.7 | 6.88 |
| ind8 | 14.5 | 2.1 | 6.90 | ind8 | 14.2 | 2.1 | 6.76 | ind8 | 11.7 | 1.7 | 6.88 |
| ind 9 | 14.5 | 2.1 | 6.90 | ind 9 | 14.2 | 2.1 | 6.76 | ind 9 | 11.8 | 1.8 | 6.56 |
| ind10 | 14.6 | 2.1 | 6.95 | ind10 | 14.4 | 2.1 | 6.86 | ind10 | 11.7 | 1.8 | 6.50 |
| N° | Juin | | | N° | Juillet | | | N° | Aout | | |
| | R (cm) | r(cm) | R/r | | R (cm) | r (cm) | R/r | | R (cm) | r (cm) | R/r |
| ind 1 | 9.9 | 1.6 | 6.19 | ind 1 | 8.1 | 1.6 | 5.06 | ind 1 | 7.2 | 1.5 | 4.80 |
| ind 2 | 11.4 | 1.8 | 6.33 | ind 2 | 8.1 | 1.5 | 5.40 | ind 2 | 7.2 | 1.5 | 4.80 |
| ind3 | 11.5 | 1.8 | 6.39 | ind3 | 8.1 | 1.5 | 5.40 | ind3 | 7.3 | 1.5 | 4.87 |
| ind4 | 11.6 | 1.8 | 6.44 | ind4 | 7.6 | 1.5 | 5.07 | ind4 | 7.3 | 1.5 | 4.87 |
| ind5 | 11.1 | 1.7 | 6.53 | ind5 | 7.6 | 1.5 | 5.07 | ind5 | 7.6 | 1.5 | 5.07 |
| ind6 | 10.8 | 1.7 | 6.35 | ind6 | 8.2 | 1.5 | 5.47 | ind6 | 7.6 | 1.5 | 5.07 |
| ind7 | 10.5 | 1.7 | 6.18 | ind7 | 7.7 | 1.5 | 5.13 | ind7 | 7.5 | 1.5 | 5.00 |
| ind8 | 10.2 | 1.7 | 6.00 | ind8 | 7.6 | 1.5 | 5.07 | ind8 | 8.1 | 1.6 | 5.06 |
| ind 9 | 10.3 | 1.7 | 6.06 | ind 9 | 7.9 | 1.5 | 5.27 | ind 9 | 7.2 | 1.5 | 4.80 |
| ind10 | 10.4 | 1.7 | 6.12 | ind10 | 8.9 | 1.6 | 5.56 | ind10 | 7.2 | 1.5 | 4.80 |

Tableau 7 (suite): Données biométrique de la population d'*Echinaster sepositus* étudié.

| N° | Septembre (2014) | | |
|-------|------------------|-------|------|
| | R(cm) | r(cm) | R/r |
| ind 1 | 14.5 | 2.1 | 6.90 |
| ind 2 | 14.2 | 2.1 | 6.76 |
| ind3 | 14.6 | 2.1 | 6.95 |
| ind4 | 14.5 | 2.1 | 6.90 |
| ind5 | 14.6 | 2 | 7.30 |
| ind6 | 14.5 | 2.1 | 6.90 |
| ind7 | 14.1 | 2 | 7.05 |
| ind8 | 14.5 | 2.1 | 6.90 |
| ind 9 | 14.5 | 2.1 | 6.90 |
| ind10 | 14.6 | 2.1 | 6.95 |

1. Résultats l'activité hémolytique

Les densités optiques mesurées à 540 nm et les pourcentages d'hémolyse obtenus à partir de l'incubation des globules rouges des souris avec les différents extraits des saponines d'*Echinaster sepositus* (saponines des gonades, saponines du tégument aboral, saponines du tégument oral, saponines d'estomac et saponines des Caeca pyloriques) sont représentés dans les tableaux 8.9.10.11.12.

2. Poids corporels et valeurs de l'indice gonado-somatique

Le poids corporel, le poids des gonades et les valeurs de l'indice gonado-somatique des échantillons d'*Echinaster sepositus* étudiés sont représentés dans le **tableau 13**.

Tableau 8: Densités optiques mesurés à 540 nm et les pourcentages d'hémolyse induits par les extraits des saponines obtenues à partir des gonades d'*Echinaster sepositus*.

| | | Densité optique | | | | Pourcentage d'hémolyse (%) | | | |
|-------------------------------|-----|--|-------|-------|-------|--|--------|--------|--------|
| | | Concentration des extraits de saponine (%) | | | | Concentration des extraits de saponine (%) | | | |
| | | 25 | 50 | 75 | 100 | 25 | 50 | 75 | 100 |
| Temps d'incubation (min) | 5 | 0.109 | 0.184 | 0.256 | 0.399 | 11.282 | 19.046 | 26.489 | 41.300 |
| | 10 | 0.22 | 0.370 | 0.523 | 0.775 | 22.772 | 38.298 | 54.135 | 80.219 |
| | 20 | 0.335 | 0.562 | 0.789 | 0.956 | 34.675 | 58.172 | 81.668 | 98.954 |
| | 40 | 0.428 | 0.642 | 0.861 | 0.961 | 44.302 | 66.453 | 89.121 | 99.472 |
| | 60 | 0.608 | 0.819 | 0.941 | 0.966 | 62.996 | 84.733 | 97.434 | 99.989 |
| | 80 | 0.606 | 0.819 | 0.941 | 0.965 | 62.726 | 84.670 | 97.434 | 99.886 |
| | 100 | 0.607 | 0.818 | 0.942 | 0.965 | 62.83 | 84.733 | 97.505 | 99.886 |
| | 120 | 0.608 | 0.819 | 0.941 | 0.966 | 62.996 | 84.733 | 97.434 | 99.989 |
| Température d'incubation (°C) | 20 | 0.256 | 0.355 | 0.461 | 0.483 | 26.498 | 36.746 | 47.718 | 49.995 |
| | 25 | 0.385 | 0.534 | 0.695 | 0.72 | 39.851 | 55.274 | 71.939 | 74.526 |
| | 37 | 0.608 | 0.819 | 0.941 | 0.966 | 62.966 | 84.733 | 97.434 | 99.989 |
| | 47 | 0.654 | 0.895 | 0.963 | 0.966 | 67.695 | 92.64 | 99,679 | 99.989 |

Tableau 9: Densités optiques mesurés à 540 nm et les pourcentages d'hémolyse induits par les extraits des saponines obtenues à partir du tégument aboral d'*Echinaster sepositus*.

| | | Densité optique | | | | Pourcentage d'hémolyse (%) | | | |
|-------------------------------|-----|---|-------|-------|-------|--|--------|--------|--------|
| | | Concentration des extraits de saponine(%) | | | | Concentration des extraits de saponine (%) | | | |
| | | 25 | 50 | 75 | 100 | 25 | 50 | 75 | 100 |
| Temps d'incubation (min) | 5 | 0.099 | 0.163 | 0.226 | 0.343 | 10.247 | 16.72 | 23.393 | 35.504 |
| | 10 | 0.205 | 0.335 | 0.461 | 0.629 | 21.219 | 34.675 | 47.718 | 65.107 |
| | 20 | 0.316 | 0.601 | 0.701 | 0.922 | 32.709 | 62.209 | 72.560 | 95.435 |
| | 40 | 0.414 | 0.615 | 0.818 | 0.945 | 42.853 | 63.658 | 84.670 | 97.816 |
| | 60 | 0.589 | 0.722 | 0.934 | 0.964 | 52.996 | 74.733 | 96.677 | 99.851 |
| | 80 | 0.589 | 0.722 | 0.933 | 0.965 | 53,100 | 74.733 | 96.575 | 99.851 |
| | 100 | 0.589 | 0.723 | 0.934 | 0.964 | 52,789 | 74.837 | 96.677 | 99.851 |
| | 120 | 0.586 | 0.722 | 0.934 | 0.964 | 52,996 | 74.733 | 96.677 | 99.851 |
| Température d'incubation (°C) | 20 | 0.265 | 0.361 | 0.456 | 0.478 | 27.43 | 37.366 | 48.131 | 49.477 |
| | 25 | 0.386 | 0.542 | 0.701 | 0.715 | 39.954 | 56.102 | 72.560 | 74.009 |
| | 37 | 0.589 | 0.722 | 0.932 | 0.934 | 60.966 | 74.733 | 96.677 | 98.851 |
| | 47 | 0.649 | 0.905 | 0.953 | 0.964 | 66.763 | 93.675 | 98.643 | 99.782 |

Tableau 10: Densité optique mesuré à 540 nm et les pourcentages d'hémolyses par les extraits des saponines obtenues à partir du tégument oral d'*Echinaster sepositus*.

| | | Densité optique | | | | Pourcentage d'hémolyse (%) | | | |
|-------------------------------|-----|---|-------|-------|-------|--|--------|--------|--------|
| | | Concentration des extraits de saponine(%) | | | | Concentration des extraits de saponine (%) | | | |
| | | 25 | 50 | 75 | 100 | 25 | 50 | 75 | 100 |
| Temps d'incubation (min) | 5 | 0.069 | 0.081 | 0.092 | 0.113 | 7.142 | 8.384 | 9.523 | 11.969 |
| | 10 | 0.142 | 0.263 | 0.38 | 0.509 | 14.689 | 27.223 | 39.333 | 52.686 |
| | 20 | 0.216 | 0.445 | 0.679 | 0.912 | 22.358 | 46.061 | 70.282 | 94.400 |
| | 40 | 0.356 | 0.571 | 0.805 | 0.932 | 36.849 | 59.207 | 83.325 | 96.470 |
| | 60 | 0.573 | 0.699 | 0.932 | 0.964 | 59.340 | 72.353 | 96.470 | 99.782 |
| | 80 | 0.572 | 0.703 | 0.931 | 0.964 | 59.340 | 72.767 | 96.367 | 99.782 |
| | 100 | 0.573 | 0.699 | 0.931 | 0.964 | 59.207 | 72.353 | 96.369 | 99.782 |
| | 120 | 0.573 | 0.699 | 0.932 | 0.964 | 59.340 | 72.353 | 96.470 | 99.782 |
| Température d'incubation (°C) | 20 | 0.255 | 0.36 | 0.465 | 0.475 | 26.39 | 37.263 | 48.02 | 49.166 |
| | 25 | 0.385 | 0.542 | 0.699 | 0.718 | 39.85 | 56.102 | 72.353 | 74.319 |
| | 37 | 0.469 | 0.699 | 0.932 | 0.964 | 51.340 | 72.353 | 96.470 | 99.782 |
| | 47 | 0.64 | 0.902 | 0.959 | 0.965 | 66.247 | 99.364 | 99.265 | 99.885 |

Tableau 11: Densité optique mesuré à 540 nm et les pourcentages d'hémolyse induits par les extraits des saponines obtenues à partir d'estomac d'*Echinaster sepositus*.

| | | Densité optique | | | | Pourcentage d'hémolyse (%) | | | |
|-------------------------------|-----|---|-------|-------|-------|--|--------|--------|--------|
| | | Concentration des extraits de saponine(%) | | | | Concentration des extraits de saponine (%) | | | |
| | | 25 | 50 | 75 | 100 | 25 | 50 | 75 | 100 |
| Temps d'incubation (min) | 5 | 0.081 | 0.139 | 0.201 | 0.619 | 8.384 | 14.388 | 20.805 | 31.260 |
| | 10 | 0.18 | 0.289 | 0.445 | 0.934 | 18.632 | 30.323 | 46.061 | 64.072 |
| | 20 | 0.285 | 0.454 | 0.692 | 0.935 | 29.500 | 46.993 | 71.628 | 96.677 |
| | 40 | 0.429 | 0.532 | 0.829 | 0.963 | 44.405 | 55.067 | 85.809 | 99.989 |
| | 60 | 0.569 | 0.671 | 0.911 | 0.963 | 58.896 | 69.456 | 94.296 | 99.685 |
| | 80 | 0.569 | 0.673 | 0.911 | 0.964 | 58.896 | 69.661 | 94.296 | 99.782 |
| | 100 | 0.567 | 0.671 | 0.911 | 0.964 | 58.896 | 69.456 | 94.296 | 99.782 |
| | 120 | 0.567 | 0.671 | 0.912 | 0.963 | 58.896 | 69.454 | 94.400 | 99.685 |
| Température d'incubation (°C) | 20 | 0.284 | 0.333 | 0.455 | 0.481 | 29.396 | 34.468 | 47.096 | 49.788 |
| | 25 | 0.424 | 0.501 | 0.68 | 0.72 | 43.888 | 51.858 | 70.386 | 74.526 |
| | 37 | 0.569 | 0.671 | 0.911 | 0.963 | 58.896 | 69.454 | 94.296 | 99.679 |
| | 47 | 0.709 | 0.873 | 0.932 | 0.964 | 73.388 | 86.637 | 96,47 | 99.782 |

Tableau 12: Densité optique mesuré à 540 nm et les pourcentages d'hémolyse induits par les extraits des saponines obtenues à partir des caeca pyloriques d'*Echinaster sepositus*.

| Densité optique | Pourcentage d'hémolyse (%) |
|---|--|
| Concentration des extraits de saponine(%) | Concentration des extraits de saponine (%) |

| | | 25 | 50 | 75 | 100 | 25 | 50 | 75 | 100 |
|-------------------------------|-----|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|
| Temps d'incubation (min) | 5 | 0.076 | 0.092 | 0.195 | 0.299 | 7.866 | 9.522 | 20.184 | 30.949 |
| | 10 | 0.179 | 0.196 | 0.43 | 0.509 | 18.258 | 20.287 | 44.509 | 52.685 |
| | 20 | 0.281 | 0.299 | 0.681 | 0.924 | 29.085 | 30.949 | 70.489 | 95.642 |
| | 40 | 0.421 | 0.428 | 0.689 | 0.96 | 43.577 | 44.302 | 71.318 | 99.368 |
| | 60 | 0.563 | 0.577 | 0.699 | 0.963 | 58.275 | 59.725 | 72.353 | 99.679 |
| | 80 | 0.563 | 0.577 | 0.697 | 0.963 | 58.275 | 59.725 | 72.146 | 99.679 |
| | 100 | 0.564 | 0.574 | 0.699 | 0.964 | 58.275 | 59.414 | 72.353 | 99.782 |
| | 120 | 0.564 | 0.577 | 0.697 | 0.963 | 58.378 | 59.414 | 72.353 | 99.782 |
| Température d'incubation (°C) | 20 | 0.28 | 0.289 | 0.345 | 0.474 | 28.911 | 29.911 | 35.71 | 49.27 |
| | 25 | 0.425 | 0.43 | 0.523 | 0.711 | 42.5 | 45.854 | 54.13 | 73.59 |
| | 37 | 0.563 | 0.577 | 0.699 | 0.963 | 85.275 | 59.725 | 72.353 | 99.679 |
| | 47 | 0.703 | 0.721 | 0.871 | 0.966 | 72.766 | 74.629 | 90.156 | 99.989 |

Tableau 13: Le poids corporels, le poids des gonades et les valeurs de l'indice gonado-somatique de la population d'*Echinaster sepositus* étudiée.

| N° | Septembre | | | N° | Octobre | | | N° | Novembre | | |
|----|-----------|-----|-----|----|---------|-----|-----|----|----------|-----|-----|
| | Pt | Pgo | IGS | | Pt | Pgo | IGS | | Pt | Pgo | IGS |

| ind 1 | 64 | 3.1 | 4.84 | ind 1 | 69 | 4 | 5.79 | ind 1 | 73 | 4.9 | 6.71 |
|----------|-------|-----|------|---------|------|-----|------|---------|------|------|------|
| ind 2 | 63.0 | 3 | 4.76 | ind 2 | 68.5 | 3.7 | 5.36 | ind 2 | 72.1 | 4.5 | 5.89 |
| ind3 | 64.1 | 3.3 | 5.14 | ind3 | 69.0 | 3.6 | 5.21 | ind3 | 73.5 | 5.0 | 6.83 |
| ind4 | 62.9 | 3 | 4.76 | ind4 | 68.1 | 3.5 | 5.07 | ind4 | 74.7 | 5.25 | 7.02 |
| ind5 | 64.1 | 3 | 4.67 | ind5 | 69.0 | 4 | 5.79 | ind5 | 72.9 | 4.82 | 6.60 |
| ind6 | 63.1 | 3.2 | 5.07 | ind6 | 67.0 | 3.1 | 4.52 | ind6 | 73.5 | 4.54 | 6.17 |
| ind7 | 64.8 | 3.7 | 5.70 | ind7 | 67.9 | 3.3 | 4.78 | ind7 | 73.1 | 4.39 | 6.00 |
| ind8 | 64.2 | 3.4 | 5.29 | ind8 | 71.0 | 4.5 | 6.52 | ind8 | 71.9 | 4.25 | 5.90 |
| ind 9 | 63.2 | 3.2 | 5.13 | ind 9 | 69.1 | 3.9 | 5.76 | ind 9 | 72.4 | 4.32 | 5.96 |
| ind10 | 63.1 | 3.3 | 5.22 | ind10 | 68.5 | 3.8 | 5.53 | ind10 | 70.9 | 3.98 | 5.60 |
| Decembre | | | | Janvier | | | | Février | | | |
| N° | Pt | Pgo | IGS | N° | Pt | Pgo | IGS | N° | Pt | Pgo | IGS |
| ind 1 | 75.2 | 5.1 | 6.78 | ind 1 | 78.9 | 5.7 | 7.22 | ind 1 | 78.0 | 5.4 | 6.92 |
| ind 2 | 74.98 | 4.9 | 6.64 | ind 2 | 78.5 | 5.5 | 7.00 | ind 2 | 78.0 | 5.4 | 6.98 |
| ind3 | 75.32 | 5.1 | 6.83 | ind3 | 79.3 | 5.9 | 7.43 | ind3 | 78.2 | 5.4 | 6.91 |
| ind4 | 74.31 | 4.0 | 5.50 | ind4 | 77.1 | 4.9 | 6.35 | ind4 | 77.2 | 5.1 | 6.65 |
| ind5 | 74.52 | 4.1 | 5.52 | ind5 | 77.9 | 4.8 | 6.15 | ind5 | 77.2 | 5.1 | 6.63 |
| ind6 | 75.5 | 5.1 | 6.82 | ind6 | 77.6 | 4.7 | 6.11 | ind6 | 77.5 | 5.3 | 6.85 |
| ind7 | 74.7 | 5.1 | 6.86 | ind7 | 76.0 | 4.3 | 5.65 | ind7 | 77.1 | 5.2 | 6.84 |
| ind8 | 74.3 | 4.2 | 5.67 | ind8 | 78.9 | 5.7 | 7.24 | ind8 | 76.5 | 5.00 | 6.56 |
| ind 9 | 75.5 | 5.3 | 7.04 | ind 9 | 78.4 | 5.3 | 6.76 | ind 9 | 78.0 | 5.4 | 6.88 |
| ind10 | 75.1 | 5.1 | 6.90 | ind10 | 77.6 | 4.7 | 6.09 | ind10 | 78.1 | 5.4 | 6.97 |

N: numéro d'individu, **ind** : individu, **Pt** : Poids corporel total, **Pgo** : Poids des gonades, **IGS:** Indice gonadosomatique.

Tableau 13 (suite): Le poids corporels, le poids des gonades et les valeurs de l'indice gonado-somatique des échantillons d'*Echinaster sepositus* étudiée.

| Septembre | | | | Octobre | | | | Novembre | | | |
|-----------|----|-----|-----|---------|----|-----|-----|----------|----|-----|-----|
| N° | Pt | Pgo | IGS | N° | Pt | Pgo | IGS | N° | Pt | Pgo | IGS |

| | | | | | | | | | | | |
|-----------------|-----------|------------|------------|----------------|-----------|------------|------------|----------------|-----------|------------|------------|
| ind 1 | 78.2 | 5.4 | 6.90 | ind 1 | 77.9 | 5.3 | 6.79 | ind 1 | 68.0 | 3.8 | 5.58 |
| ind 2 | 78.1 | 5.4 | 6.94 | ind 2 | 78.0 | 5.6 | 7.19 | ind 2 | 68.5 | 4.0 | 5.86 |
| ind3 | 79.1 | 5.7 | 7.26 | ind3 | 78.5 | 5.3 | 6.81 | ind3 | 68.1 | 3.8 | 5.58 |
| ind4 | 78.9 | 5.5 | 7.08 | ind4 | 78.0 | 5.4 | 7.03 | ind4 | 68.8 | 4.7 | 6.84 |
| ind5 | 77.5 | 5.5 | 7.13 | ind5 | 79.5 | 5.9 | 7.53 | ind5 | 68.0 | 3.8 | 5.61 |
| ind6 | 78.6 | 5.5 | 7.00 | ind6 | 79.1 | 5.7 | 7.22 | ind6 | 67.5 | 3.5 | 5.18 |
| ind7 | 77.4 | 5.6 | 7.23 | ind7 | 79.8 | 5.8 | 7.34 | ind7 | 67.0 | 3.4 | 5.14 |
| ind8 | 78.2 | 5.5 | 7.02 | ind8 | 78.4 | 5.3 | 6.78 | ind8 | 67.1 | 3.2 | 4.84 |
| ind 9 | 79.1 | 5.7 | 7.21 | ind 9 | 78.4 | 5.2 | 6.64 | ind 9 | 68.8 | 4.8 | 7.04 |
| ind10 | 79.2 | 5.5 | 6.96 | ind10 | 78.9 | 5.9 | 7.53 | ind10 | 67.1 | 3.5 | 5.21 |
| Décembre | | | | Janvier | | | | Février | | | |
| N° | Pt | Pgo | IGS | N° | Pt | Pgo | IGS | N° | Pt | Pgo | IGS |
| ind 1 | 59.1 | 2.5 | 4.23 | ind 1 | 54.5 | 2.0 | 3.67 | ind 1 | 52.1 | 1.7 | 3.26 |
| ind 2 | 65.1 | 2.3 | 3.56 | ind 2 | 54.3 | 1.7 | 3.13 | ind 2 | 52.2 | 1.7 | 3.31 |
| ind3 | 65.2 | 2.3 | 3.50 | ind3 | 54.4 | 1.8 | 3.41 | ind3 | 52.5 | 1.8 | 3.34 |
| ind4 | 65.8 | 2.4 | 3.64 | ind4 | 53.9 | 1.8 | 3.43 | ind4 | 52.6 | 1.6 | 3.03 |
| ind5 | 64.0 | 2.2 | 3.44 | ind5 | 53.1 | 1.8 | 3.40 | ind5 | 53.1 | 1.6 | 3.03 |
| ind6 | 63.1 | 2.2 | 3.43 | ind6 | 54.1 | 1.8 | 3.36 | ind6 | 53.0 | 1.7 | 3.29 |
| ind7 | 62.5 | 2.2 | 3.53 | ind7 | 53.2 | 1.7 | 3.27 | ind7 | 52.9 | 1.7 | 3.38 |
| ind8 | 60.1 | 2.1 | 3.48 | ind8 | 53.1 | 1.6 | 3.04 | ind8 | 54.1 | 1.8 | 3.41 |
| ind 9 | 60.6 | 1.9 | 3.11 | ind 9 | 53.9 | 1.6 | 3.13 | ind 9 | 52.1 | 1.7 | 3.30 |
| ind10 | 60.9 | 1.9 | 3.18 | ind10 | 54.9 | 2.0 | 3.65 | ind10 | 52.3 | 1.7 | 3.36 |

Tableau 13 (suite): Le poids corporels, le poids des gonades et les valeurs de l'indice gonado-somatique des échantillons d'*Echinaster sepositus* étudiée.

| N° | Septembre (2014) | | |
|-------|------------------|-----|------|
| | Pt | Pgo | IGS |
| ind 1 | 65.1 | 3.1 | 4.83 |
| ind 2 | 64.9 | 3.0 | 4.75 |
| ind3 | 64.8 | 3.0 | 4.64 |
| ind4 | 64.3 | 2.8 | 4.48 |
| ind5 | 65.1 | 3.1 | 4.79 |
| ind6 | 65.00 | 3.1 | 4.81 |
| ind7 | 65.1 | 3.1 | 4.79 |
| ind8 | 64.8 | 3.0 | 4.71 |
| ind 9 | 65.2 | 3.1 | 4.83 |
| ind10 | 65.8 | 3.2 | 4.93 |

Résumé

Résumé

Notre travail porte sur l'étude des saponines isolées de l'étoile de mer *Echinaster sepositus*. Les saponines sont extraites à partir du tégument aboral, tégument oral, gonade, estomac et caeca pyloriques par différentes techniques de chimie organique.

À partir des tests d'hémolyse *in vitro*, nous avons noté une importante activité hémolytique qui dépend de la concentration des saponines, de la durée et de la température d'incubation avec les globules rouges. Les performances d'hémolyse des cinq extraits de saponines sont différentes. Les saponines des gonades et de tégument sont les plus actives sur les globules rouges. Les mécanismes qui pourraient expliquer cette différence sont discutés.

Une étude comparative de pouvoir hémolytique des saponines obtenues à partir des gonades de différents individus d'*Echinaster sepositus*, échantillonnée sur une période d'une année, a démontré que les saponines sont présentes dans les gonades tout au long de l'année et leur effet toxique dépend de la saison d'échantillonnage.

Les saponines gonadiques des individus échantillonnés en automne montrent un pouvoir hémolytique important. Ce pouvoir hémolytique augmente pour les extraits d'hiver et diminue pour les extraits d'été. Cet effet toxique montre un modèle de fluctuation reflétant les variations saisonnières de la teneur des saponines dans les gonades. La concentration des saponines est basse en été, augmente en automne pour atteindre des teneurs plus hautes en hiver et diminue après la période de frai.

Au terme de notre étude nous avons évalué l'activité antimicrobienne des saponines des différents organes d'*Echinaster sepositus* sur *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats obtenus ont révélé que seules les saponines des gonades d'*Echinaster sepositus* exercent une activité antimicrobienne modérée à l'encontre de *S. aureus*, avec un diamètre d'inhibition de 1.54 cm et un taux de survie de l'ordre de 51 %.

Mots clés

Saponines stéroïdiques, *Echinaster sepositus*, biomolécules actives, activité hémolytique, activité antibactérienne, côte d'Alger.

Abstract

Our work focuses on the study of saponins isolated from the starfish *Echinaster sepositus*. Saponins are extracted from bodywall (aboral face and oral face), gonads, stomach and pyloric caeca by different techniques of chemistry.

From the in vitro hemolytic tests, we have noted an important hemolytic activity which depends on the concentration of saponins, the duration and temperature of incubation with the blood red cells. The hemolytic performance of the five saponins extracts is different. The gonads's and bodywall saponins are the most active in blood red cells. Mechanisms that could explain this difference are discussed.

A comparative study of hemolytic power obtained from gonads of different individuals of *Echinaster sepositus*, harvested over a period of one year, demonstrated that saponins are present in the gonads throughout the year and their toxic effect depend on the harvest season.

Gonads's saponins of individuals sampled during autumn show an important hemolytic power. This hemolytic power increases for the extract of winter and decreases for summer's extracts. This toxic effect showed a clear pattern of fluctuation reflecting seasonal variations of the saponins rate in the gonads. Concentrations are low in summer increase in autumn and are high in winter until the spawning.

Throughout our study we evaluated the antimicrobial activity of saponins of the various organs of *Echinaster sepositus* on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. The results obtained revealed that only gonads's saponins of *Echinaster sepositus* exercise moderate antimicrobial activity against *S. aureus*, with an inhibition diameter of 1.54 cm and survival rate of about 51%.

Key Words

Steroidal saponins, *Echinaster sepositus*, actives biomolecules, hemolytic activity, antimicrobial activity, Algiers coast.

موضوع بحثنا هذا يتمحور حول دراسة الصابونيات المستخلصة من أحد أصناف نجوم البحر والمسماة *Echinaster sepositus*، وهذه الصابونيات المدروسة استخلصت من الغشاء العلوي والسفلي، ومن الأعضاء التكاثرية، ومن المعدة ، وأعضاء تخزين المدخرات الغذائية، باستعمال عدة تقنيات في الكيمياء العضوية.

وقد أثبتنا أنّ الصابونيات المستخلصة، ذات مفعول بيولوجي. إذ تسببت في انحلال كريات الدم الحمراء التي توقفت نسبة انحلالها على تركيز المستحضر، وعلى المدة الزمنية للرخم ودرجة حرارته. كما أثبتنا أنّ فعالية المستخلصات المدروسة مختلفة فالصابونيات الأكثر فعالية هي صابونيات الأعضاء التكاثرية والغشاء.

إنّ دراسة الصابونيات حسب مرحلة النضوج الجنسي لنج البحر المدروسة، أثبت أنّ هذه المستخلصات متواجدة في الأعضاء التكاثرية على مدار السنة، ومفعولها البيولوجي يختلف باختلاف موسم أخذ العينات. فصابونيات الأعضاء التكاثرية لعينات فصل الخريف ذات مفعول قوي على انحلال كريات الدم الحمراء. ونسبة هذا المفعول أقوى عند الصابونيات المتواجدة في الأعضاء التكاثرية لعينات موسم الشتاء. وينخفض عند الصابونيات المستخلصة من الأعضاء التكاثرية لعينات موسم الصيف. وهذا ما يدل على أنّ كمية الصابونيات في الأعضاء التكاثرية تختلف حسب مرحلة النضوج الجنسي.

وقد تمّ خلال دراستنا اختبار الصابونيات المدروسة كمضادات حيوية على ثلاث أنواع من البكتريا، والمتمثلة في *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa*. وتشير النتائج المتحصل عليها على أنّ صابونيات الأعضاء التكاثرية وحدها تمارس نشاطا معتدلا ضد نوع واحد من البكتريا، ألا وهو *Staphylococcus aureus* مع قطر تثبيط قيمته 1.54 سم، ومعدل بقاء على قدر الحياة قيمته 51%.

المفاتيح

الصابونيات الستيرويدية، الصابونيات، نجوم البحر، المواد النشطة البيولوجية، انحلال كريات الدم الحمراء، النشاط ضد المكروبي، ساحل الجزائر.

