

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ ABDELHAMID IBN BADIS DE MOSTAGANEM  
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEARTEMENT DES SCIENCES DE LA MER ET DE L'AQUACULTURE  
LABORATOIRE DE PROTECTION, VALORISATION DES RESSOURCES MARINE  
LITTORAL ET SYSTÉMATIQUE MOLÉCULAIRE



UNIVERSITE  
Abdelhamid Ibn Badis  
MOSTAGANEM

**THESE**

*En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat LMD*

*Filière : Hydrobiologie marine et continentale*

*Spécialité : Ecosystème aquatique*

Présenté par :

**M<sup>me</sup> BENMEHAL Amina**

**THEME**

---

***Etude de la dynamique de la composition biochimique et la  
variabilité génétique des Artémias de l'écosystème extrême  
d'Algérie***

---

*Soutenu le 13/09/2025 devant le jury composé de*

<b>Présidente</b>	Pr	MEZALI Karim	UMAB Mostaganem
<b>Examinatrice</b>	Pr	NEMCHI Fadela	UMAB Mostaganem
<b>Examineur</b>	Pr	SAHRAOUI Tawfik	Université d'Oran 1
<b>Examinatrice</b>		SOUALILI Dina Lila	UMAB Mostaganem
<b>Directeur de thèse</b>	Pr	GHOMARI Sidi Mohamed	UMAB Mostaganem
<b>Invité</b>	Pr	BENABDELMOUMENE Djilali	UMAB Mostaganem

Année universitaire 2024/ 2025

## *REMERCIEMENTS*

*Tout d'abord, merci à DIEU tout puissant ALLAH qui nous a réunis dans le chemin de la science et qui nous a porté la foi, la force et le courage pour accomplir ce travail.*

J'exprime ma profonde gratitude à mon encadrant, le Professeur Ghomari Sidi Mohamed, pour son accompagnement précieux, la qualité de ses conseils et la pertinence de ses remarques, qui ont grandement contribué à la réalisation de ce travail. Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur Mezali Karim, Professeur à l'Université de Mostaganem, pour avoir accepté de présider ce jury.

Mes remerciements s'adressent également à Madame Soualili Dina Lila, Madame Nemchi Fadela et Monsieur Sahraoui Tawfik pour avoir accepté d'évaluer ce travail, ainsi qu'au Directeur du laboratoire *Protection, Valorisation des Ressources Marines Littorales et Systématique Moléculaire* pour son encadrement et son appui.

Je remercie chaleureusement le Professeur Benabdelmoumene Djilali et Monsieur Bettaher Mohamed Cherif pour leur aide précieuse et leur disponibilité tout au long de ce parcours.

Ma reconnaissance va également à Mademoiselle Belmerdja Rachida pour son soutien.

Enfin, je souhaite remercier sincèrement toutes les personnes qui m'ont tendu la main, soutenu ou accompagné, de près ou de loin, dans la réalisation de cette recherche.

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à :*

- *Mes chers parents*
- *Mon époux*
- *Mes frères et mes sœurs*
- *Mes trois petites filles*
- *Mes amis*

## Résumé

Cette étude analyse les caractéristiques biométriques, biochimiques et génétiques des cystes d'*Artémia* provenant de différentes régions d'Algérie afin d'évaluer leur potentiel pour l'aquaculture. L'*Artémia*, un crustacé d'eau salée des environnements hypersalins, est largement utilisé comme aliment pour les larves de poissons et de crustacés en raison de sa richesse en acides gras polyinsaturés (HUFA) et en vitamines, essentiels à la croissance et à la survie des larves aquatiques. Les analyses biométriques ont révélé des variations significatives des dimensions des cystes entre les sites étudiés, avec un diamètre des cystes hydratés allant de 24,786  $\mu\text{m}$  à Sebkhath Ezzemoulee à 27,726  $\mu\text{m}$  à El-Bahira. Ces différences reflètent l'adaptation des populations d'*Artémia* aux conditions locales. Par ailleurs, la taille des nauplii issus des cystes variait également, allant de 460,43  $\mu\text{m}$  pour Sebkhath Ezzemoulee à 549,12  $\mu\text{m}$  pour la souche parthénogénétique d'El-Bahira. Sur le plan biochimique, une analyse des acides gras a démontré une composition variable entre les échantillons, avec des proportions d'acides gras saturés (SFA) de 10 à 16 % et d'acides gras polyinsaturés (PUFA) de 30 à 35 %. Notamment, les taux d'acide eicosapentaénoïque (C20 :5), un indicateur clé de qualité nutritionnelle, variaient de 5 à 8 %, suggérant un potentiel élevé pour l'utilisation des cystes d'*Artémia* en aquaculture. L'analyse génétique basée sur des marqueurs moléculaires (ADN mitochondrial et nucléaire) a confirmé la présence de plusieurs espèces d'*Artemia* en Algérie, mettant en évidence une grande diversité génétique et une forte capacité d'adaptation à divers environnements. Cette étude fournit des informations détaillées sur les caractéristiques biométriques, biochimiques et génétiques des cystes d'*Artémia* en Algérie, mettant en lumière leur potentiel élevé pour l'aquaculture. La diversité et l'adaptabilité des populations locales d'*Artémia* suggèrent un potentiel d'exploitation commerciale prometteur, contribuant ainsi à une approche plus durable de l'aquaculture en Algérie.

**Mots clés : Artémia, cyste, Biométrie, Acide gras, Variabilité génétique.**

## **Abstract**

This study examines the biometric, biochemical, and genetic characteristics of *Artemia* cysts from various regions in Algeria to assess their potential for aquaculture. *Artemia*, a small crustacean found in hypersaline lakes, is widely used as feed for fish and shrimp larvae in aquaculture due to its high content of polyunsaturated fatty acids (HUFA) and vitamins, which are essential for larval growth and survival. Biometric analysis revealed significant variations in cyst dimensions across the studied regions, with the diameter of hydrated cysts ranging from 24.786  $\mu\text{m}$  in Sebkhath Ezzemoulee to 27.726  $\mu\text{m}$  in El-Bahira, reflecting the local adaptation of *Artemia* populations to specific environmental conditions. The size of nauplii also varied, from 460.43  $\mu\text{m}$  in Sebkhath Ezzemoulee to 549.12  $\mu\text{m}$  in the parthenogenetic strain of El-Bahira. Biochemical analysis showed a varied fatty acid composition, with saturated fatty acids (SFA) ranging from 10% to 16% and polyunsaturated fatty acids (PUFA) from 30% to 35%. Notably, eicosapentaenoic acid (C20:5) levels ranged from 5% to 8%, indicating a high nutritional value of the cysts for aquaculture applications. Genetic analysis using mitochondrial and nuclear DNA markers revealed the presence of multiple *Artemia* species in Algeria, indicating significant genetic diversity and adaptability to diverse environmental conditions. These findings provide essential insights into the biometric, biochemical, and genetic characteristics of *Artemia* cysts in Algeria, highlighting their high potential for aquaculture. The observed diversity and adaptability of *Artemia* populations suggest promising opportunities for commercial exploitation, contributing to a more sustainable approach to aquaculture.

**Key word: Artemia, cyst, biometric, biochemical, genetic.**

## ملخص الدراسة

حلت هذه الدراسة الخصائص البيومترية والبيوكيميائية والجينية لأكياس الأرتيميا من مناطق مختلفة في الجزائر بهدف تقييم إمكاناتها في مجال الاستزراع المائي. اعتبرت الأرتيميا، وهو كائن قشري صغير يعيش في البحيرات شديدة الملوحة، غذاءً أساسياً ليرقات الأسماك والقشريات في الاستزراع المائي نظراً لاحتوائها على نسبة عالية من الأحماض الدهنية غير المشبعة (HUFA) والفيتامينات الضرورية لنمو اليرقات وبقائها. أظهرت التحليلات البيومترية وجود تباينات كبيرة في أبعاد أكياس الأرتيميا بين المناطق التي تُرست، حيث تراوح قطر الأكياس المائية من 24.786 ميكرومتر في سبحة الزمول إلى 27.726 ميكرومتر في البحيرة، مما عكس تكيف تجمعات الأرتيميا مع الظروف البيئية المحلية. كما تنوع حجم اليرقات (النولي)، حيث تراوح من 460.43 ميكرومتر في سبحة الزمول إلى 549.12 ميكرومتر في السلالة التكاثرية العذرية في البحيرة. أظهرت التحليلات البيوكيميائية تنوعاً في تركيبة الأحماض الدهنية، حيث تراوحت نسبة الأحماض الدهنية المشبعة (SFA) بين 10% و16%، بينما تراوحت نسبة الأحماض الدهنية غير المشبعة (PUFA) بين 30% و35%. بالإضافة إلى ذلك، تراوحت مستويات حمض الإيكوسانثينويك (C20:5) بين 5% و8%، مما دل على القيمة الغذائية العالية للأكياس في مجال الاستزراع المائي. وكشفت التحليلات الجينية، باستخدام مؤشرات الحمض النووي الميتوكوندري والنووي، عن وجود أنواع متعددة من الأرتيميا في الجزائر، مما أظهر تنوعاً جينياً كبيراً وقدرة على التكيف مع الظروف البيئية المختلفة. قدمت هذه الدراسة معلومات أساسية حول الخصائص البيومترية والبيوكيميائية والجينية لأكياس الأرتيميا في الجزائر، وأبرزت إمكاناتها العالية في الاستزراع المائي. وأشار التنوع والتكيف الملحوظ في تجمعات الأرتيميا إلى فرص واعدة للاستغلال التجاري، مما ساهم في تعزيز الاستدامة في مجال الاستزراع المائي.

الكلمات المفتاحية:

أكياس أرتيميا- الأحماض الدهنية- التحاليل البيوكيميائية- التحاليل الجينية.

## Table des matières

### Table des matières

Introduction .....	1
<i>Chapitre I : Synthèse Bibliographique</i> .....	3
<b>1. Présentation de l'Artémia</b> .....	3
<b>1.1. Taxonomie</b> .....	3
<b>1.2. Morphologie et anatomie de l'Artémia</b> .....	3
<b>1.2.1. Morphologie</b> .....	3
<b>1.2.2. Anatomie</b> .....	4
<b>2. Cycle biologique</b> .....	6
<b>3. Reproduction</b> .....	9
<b>4. Mode de nutrition et rôle trophique</b> .....	11
<b>5. Écologie d'Artémia</b> .....	11
<b>6. Répartition</b> .....	13
<b>7. Production des cystes d'Artémia à l'échelle mondiale</b> .....	14
<b>8. Présence d'Artémia dans les lacs salés en Algérie</b> .....	18
<b>9. Écologie et Biologie de l'Artémia en Algérie</b> .....	18
<b>10. Processus d'éclosion du cyste d'Artémia</b> .....	20
<b>10.1 Désactivation de la diapause des Artémies</b> .....	20
<b>10.2. Facteurs environnementaux influençant le succès d'éclosion d'Artémia</b> ....	21
<b>10.3. Rôle des artémias dans l'aquaculture et autres applications</b> .....	23
<b>11. Composition nutritionnelle de l'Artémia</b> .....	25
<b>11.1. Teneur en protéines</b> .....	26
<b>11.2. Teneur en lipides</b> .....	26
<b>11.3. Glucides, vitamines et minéraux</b> .....	26
<b>12. Problèmes taxonomiques de l'Artémia</b> .....	26
<b>13. Obtention de données moléculaires</b> .....	30
<b>14. Marqueurs moléculaires</b> .....	30
<b>14.1. Marqueurs utilisés</b> .....	31
<b>14.1.1. ADN mitochondrial et 'ADN nucléaire</b> .....	31
<b>14.1.2. Gènes et régions ribosomales nucléaires et mitochondriales</b> .....	32

<b>15. Interactions entre la Biogéographie, la Phylogénie et la Phylogéographie.....</b>	<b>34</b>
<i>Chapitre II : Biométrie et la qualité d'éclosion de l'Artémia.....</i>	<i>36</i>
<b>Introduction.....</b>	<b>36</b>
<b>1. Objectifs.....</b>	<b>38</b>
<b>2. Matériel et méthodes. ....</b>	<b>38</b>
<b>2.1. Zone d'étude .....</b>	<b>38</b>
<b>2.1.1. Saline de Bethioua .....</b>	<b>38</b>
<b>2.1.2. La sebkhat de Timimoune .....</b>	<b>38</b>
<b>2.1.3. Le Chott Marouane .....</b>	<b>38</b>
<b>2.1.4. Le lac El Bahira .....</b>	<b>39</b>
<b>2.1.5. Sebkhat Ezzemoulee .....</b>	<b>39</b>
<b>2.1.6. Saline de Sidi Bouziane .....</b>	<b>39</b>
<b>3. Exploitation des cystes et la Récolte.....</b>	<b>40</b>
<b>3.1. Séparation par densité dans la saumure saturée.....</b>	<b>40</b>
<b>3.2. Lavage à l'eau douce .....</b>	<b>40</b>
<b>3.3. Séparation par densité dans l'eau douce .....</b>	<b>41</b>
<b>3.4. Séchage .....</b>	<b>41</b>
<b>3.5. Stockage.....</b>	<b>41</b>
<b>4. Étude biométrique .....</b>	<b>42</b>
<b>5. Paramètres d'éclosion .....</b>	<b>43</b>
<b>5.1. Détermination du pourcentage d'éclosion (H %).....</b>	<b>43</b>
<b>5.2. Efficacité de l'éclosion .....</b>	<b>44</b>
<b>5.3. La vitesse d'éclosion .....</b>	<b>45</b>
<b>6. Résultat .....</b>	<b>46</b>
<b>6.1. Paramètres biométriques .....</b>	<b>46</b>
<b>6.2. Paramètres d'éclosion .....</b>	<b>47</b>
<b>7. Discussion .....</b>	<b>50</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>54</b>
<i>Chapitre III : Profil en acide gras de l'Artémia .....</i>	<i>55</i>
<b>Introduction.....</b>	<b>56</b>
<b>1. Objectifs.....</b>	<b>58</b>
<b>2. Matériel et Méthode .....</b>	<b>58</b>

2.1.	Analyse des acides gras .....	58
2.2.	Extraction des lipides .....	58
2.3.	Méthylation et identification par Chromatographie en Phase gazeuse.....	59
3.	Résultats .....	60
4.	Discussion .....	68
	Conclusion .....	73
	<b>Chapitre IV : Étude de la variabilité génétique de l'Artémia</b> .....	74
	<b>Introduction</b> .....	75
1.	Objectif .....	77
2.	Matériels et Méthodes .....	77
2.1.	Prélèvement et conservation des échantillons .....	77
2.2.	Extraction d'ADN génomique .....	77
2.3.	Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) .....	81
2.4.	L'électrophorèse .....	82
2.5.	Séquençage des produits PCR.....	83
2.6.	Outils d'Analyse Bioinformatique.....	83
2.7.	Numéros d'accèsion des séquences nucléiques .....	84
3.	Résultat .....	86
3.1.	Caractérisation phylogénétique .....	87
4.	Discussion .....	100
	Conclusion .....	103
	Discussion générale.....	104
	Conclusion générale.....	109

## LISTE DES ABREVIATIONS

ASA	<i>Artemia salina</i>
SFA	Acides gras saturé (Saturated fatty acids)
UFA	Acides acide gras insaturé (Unsaturated fatty)
FAME	Fatty Acid Methyl ester (s)
GSL	Grand Lac Salé
HE	Efficacité d'éclosion (Hatching Efficiency)
EPA	Acide eicosapentaénoïque
H%	Taux d'éclosion (Hatching Rate)
HUFA	Acides gras hautement insaturé (Highly Unsaturarated fatty Acid)
MUFA	Acides gras mono-insauré (Mono Unsaturated Fatty Acid (s))
AGPI	Acides gras poly-insauré
ND	Non détecté (no detected)
COI	Cytochrome oxydase I
Cytb	Cytochrome b
PCR	Réaction de polymérisation en chaîne
µm	Micromètre
AGE	Acides gras essentiel
DHA	L'acide docosahexaénoïque
ARA	Arachidonique
ALA	Linolénique
LOA	Linoléique

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
1	Formes adultes de l'Artémia .....	4
2	La structure morphologique d'adulte d'Artémia... ..	5
3	Schéma des adultes : mâles et femelles de l'Artémia. ....	6
4	Cycle de vie de d'Artémia. ....	7
5	A : étape de rupture B : instar1, C : nauplius instar 2.....	8
6	Artémia couple en position d'équitation.....	9
7	Cycles de vie alternatifs d'artémies bisexuées.....	10
8	Distribution mondiale des espèces d'artémie.....	14
9	Production totale de Cycts d'Artémia récoltée à partir des principales sources dans le monde (les valeurs en tonnes sèches) .....	16
10	Cassette ribosomale .....	33
11	Répartition géographique des zones d'échantillonnage des cystes .....	40
12	Schéma de la méthodologie adoptée pour le processus de purification .....	42
13	Mesure des cystes au microscope USB en ligne.....	43
14	Cystes d'Artémia sous différents états : a : décapsulé ; b : hydraté ; c : normal.....	43
15	Dispositif expérimental pour évaluer le taux et l'efficacité d'éclosion .....	44
6	Diamètre des cystes hydraté et décapsulé .....	47
17	Pourcentage d'éclosion des cystes des populations provenant de différent lac salé d'Algérie .....	48
18	Efficacité d'éclosion des cystes des populations provenant de différent lac salé d'Algérie .....	49
19	Le temps d'éclosion des cystes des populations provenant de différent lac salé d'Algérie. ....	49
20	Chromatographe Hewlett Packard Agilent 6890 plus utilisé pour le dosage des acides gras. ....	60
21	Lipides totaux contenus (% du poids sec) dans les six échantillons de cystes d'Artémia algériennes .....	61
22	Représentation de l'analyse discriminante ACP de la composition en acides gras pour la séparation des différents groupes d'Artémia. ....	64

23	Acides gras totaux contenus (% du poids sec) dans les six échantillons de Cystes d'Artémia algériennes .....	66
24	Acides gras polyinsaturé contenus (% du poids sec) dans les six échantillons de cystes d'Artémia algériennes. ....	67
25	Le rapport C16 :0/16 :1 et les acides gras C18 :3 et C20 :5 dans les six échantillons de cystes d'Artémia algériennes .....	68
26	Protocole simplifier du Kit MagaZorb® selon le fournisseur (Promega, France) .....	80
27	Résultats de PCR pour les Artémia sur un gel d'agarose à 2.5 %. Voies 1-6 ( <i>Artemias</i> ) et voie 7 (échelle de poids moléculaire). ....	88
28	Alignement Multiple des Séquences de l'ADN du gène 18S d'Artémia des échantillons, par l'algorithme MUSCLE .....	91
29	Alignement Multiple des Séquences de l'ADN du gène 18S d'Artémia de l'étude et celle références trouvées sur Genbank, par l'algorithme MUSCLE pour la construction de l'arbre phylogénique. ....	92
30	Arbre phylogénétique de différentes espèces du genre <i>Artemia</i> , basé sur les données des séquences de gène S18 ainsi que celle trouvées sur NCBI.	93
31	Arbre phylogénétique de différentes espèces du genre <i>Artemia</i> , basé sur les données des séquences de gène S18. ....	94
32	Alignement Multiple des Séquences de l'ADN du gène COI d'Artémia de l'étude et celle trouvées sur Genbank, par l'algorithme MUSCLE pour la construction de l'arbre phylogénique.....	98
33	Arbre phylogénétique de différentes espèces du genre <i>Artemia</i> , basé sur les données des séquences de gène COI ainsi que celle trouvées sur NCBI.	99
34	Arbre phylogénétique de différentes espèces du genre <i>Artemia</i> isolé, basé sur les données des séquences de gène COI.....	100

## Liste des Tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Les résultats du diamètre hydraté et décapsulé des cystes et de l'épaisseur du chorion Discussion.....	<b>44</b>
<b>2</b>	Résultats de l'analyse de l'éclosion des échantillons des cystes des populations provenant de différent lac salé d'Algérie... ..	<b>45</b>
<b>3</b>	La composition en acides gras (% des acides gras totaux) des cystes d'Artemia décapsulés collectés dans différentes régions d'Algérie.....	<b>55</b>
<b>4</b>	Les amorces et conditions PCR.....	<b>74</b>
<b>5</b>	Des numéros d'accession des séquences des gènes 18S et COI d'espèce d'Artemia disponibles sur GenBank .....	<b>77</b>
<b>6</b>	Numéros d'Accession des Séquences des gènes 18S et COI d'Artemia Déposées sur GenBank pour cette Étude.....	<b>79</b>

## Introduction

L'aquaculture représente un secteur clé capable de contribuer à la réduction de la faim, de la malnutrition, et de la pauvreté, tout en favorisant le développement économique et une utilisation plus durable des ressources naturelles (Mugwanya *et al.*, 2021). Actuellement, le poisson constitue environ 17 % des protéines animales consommées à l'échelle mondiale (FAO, 2020), ce qui souligne l'importance croissante de l'aquaculture pour répondre à la demande alimentaire mondiale. En effet, la production de l'industrie aquacole est estimée à passer de 40 millions de tonnes en 2008 à 82 millions de tonnes d'ici 2050, en raison de la croissance démographique mondiale (FAO, 2020). Pour répondre à cette demande, il est essentiel de mettre en place des stratégies de développement durable, notamment l'amélioration de la qualité de l'alimentation et des programmes d'alimentation (Dawood, 2021).

Parmi les principaux aspects de la nutrition en aquaculture, l'alimentation des larves de poissons et de crustacés est cruciale pour assurer leur développement optimal. Les cystes d'*Artémia*, petits crustacés vivant dans des lacs hypersalins, sont actuellement l'aliment vivant le plus couramment utilisé pour nourrir les larves de poissons et de crustacés grâce à leur praticité et leur haute valeur nutritionnelle (Sorgeloos *et al.*, 2021). Ces crustacés fournissent des nauplii riches en acides gras polyinsaturés à longue chaîne (HUFA) et en vitamines, contribuant ainsi à la croissance et à la survie des larves de poissons (Rasdi et Qin, 2016). En outre, l'utilisation de nauplii d'*Artémia* a montré une amélioration significative de la croissance des larves de poissons et une réduction des taux de mortalité (Łaczyńska *et al.*, 2016 ; Prusińska *et al.*, 2020).

L'*Artemia* est un genre regroupant plusieurs espèces bisexuelles et des populations parthénogénétiques, endémiques à diverses régions telles que l'Asie, l'Europe, l'Afrique et l'Australie (FAO, 2022). Historiquement, le Grand Lac Salé aux États-Unis a été la principale source d'*Artémia* pour l'industrie aquacole. Toutefois, en raison de la demande croissante et de la baisse de production de cystes liée au déclin mondial des lacs salins, il est devenu impératif de trouver de nouvelles souches d'*Artémia* offrant une qualité de cystes adéquate pour la commercialisation (Wurtsbaugh *et al.*, 2017).

La production mondiale de cystes d'*Artémia* est estimée à environ 4 000 tonnes par an (Camara, 2020). Les principales sources de production demeurent le Grand Lac Salé (Utah,

États-Unis), les biotopes salins de Russie, du Kazakhstan et de Chine (Litvinenko *et al.*, 2015). Cependant, face à la demande croissante de l'industrie aquacole et à la diminution de la disponibilité des cystes d'Artémia, la recherche de nouvelles sources fiables est devenue essentielle. Cela inclut l'étude de la biométrie des cystes, les caractéristiques biochimiques, ainsi que la diversité génétique des différentes souches d'Artémia (Camara *et al.*, 2004).

En Algérie, des travaux préliminaires ont été menés pour étudier les qualités d'éclosion, la biométrie et la qualité nutritionnelle de l'Artémia Ghomari *et al.*, (2013) ; Ammarouayache *et al.*, (2017). Toutefois, il existe encore un manque de données génétiques et biochimiques sur les populations d'Artémia de cette région, ce qui justifie la nécessité d'une étude plus approfondie.

L'objectif principal de cette étude est d'explorer les caractéristiques biométriques, biochimiques et génétiques des cystes d'Artémia en Algérie, en se concentrant sur les axes suivants :

1. **Étude de la biométrie des cystes d'Artémia** : Comparaison des dimensions des cystes entre différentes régions afin de mieux comprendre la variabilité des populations.
2. **Analyse des caractéristiques biochimiques** : Évaluation de la qualité nutritionnelle en termes d'apport en acides gras chez l'Artémia, afin de déterminer son potentiel en tant qu'aliment de haute qualité pour l'aquaculture.
3. **Analyse génétique** : Étudier la diversité et la variabilité génétique des populations d'Artémia des milieux hypersalins en Algérie, afin de contribuer à une meilleure compréhension de leur adaptation et de leur potentiel d'exploitation commerciale.

Cette étude vise à compléter et approfondir les travaux antérieurs en fournissant des données précises sur la qualité des cystes d'Artémia d'Algérie, ce qui pourrait contribuer à une meilleure gestion et valorisation de cette ressource dans l'industrie aquacole.

*Chapitre I : Synthèse  
Bibliographique*

## 1. Présentation de l'Artémia

### 1.1. Taxonomie

La classification des espèces d'Artémia repose sur des caractéristiques morphologiques, génétiques et écologiques. Les principales catégories taxonomiques incluent comme suit : (Martin et Davis, 2001)

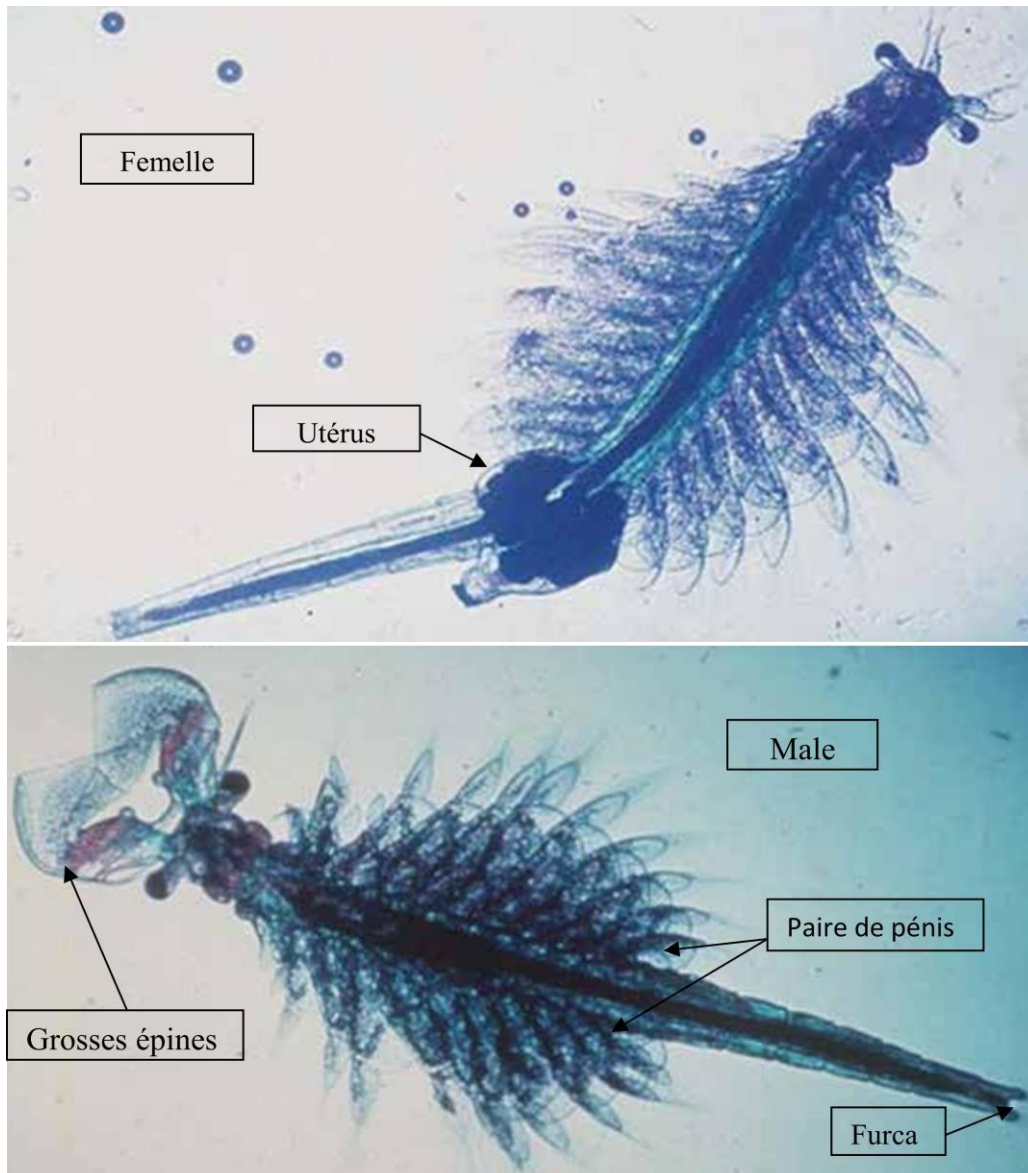
Embranchement	Arthropodes
Classe :	Crustacés
Subclasse :	Branchiopodes
Ordre :	Anostraca
Famille :	Artémiidae
Genre :	<i>Artemia Leach, 1819</i>

### 1.2. Morphologie et anatomie de l'Artémia

#### 1.2.1. Morphologie

L'Artémia est un petit crustacé aquatique de forme allongée sans carapace qui subit 15 mues au cours de son développement (Ke Li *et al.*, 2023). Sa morphologie se compose d'au moins 19 segments corporels et de 11 paires d'appendices plats, semblables à des feuilles et appelés phyllopoies ou pattes, qui battent à un rythme régulier ; en général, les mâles sont plus petits, plus rapides dans leur nage, consomment moins de nourriture et présentent une coloration moins marquée que les femelles (Trigui, 2017). La couleur de leur corps peut varier du blanc laiteux au bleuvert, en passant par le rouge brique et le vermillon, en fonction de leur alimentation et de leur environnement, en particulier de la teneur en oxygène dissous dans l'eau. Chez les souches bisexuées, la taille adulte d'Artémia se situe généralement entre 8 et 12 mm, tandis qu'elle peut dépasser 20 mm chez les souches parthénogénétiques (Abatzopoulos *et al.*, 2013). Il est à noter que la petite taille des mâles peut être influencée par les conditions environnementales, notamment les niveaux élevés de salinité (Amat, 1979).

La capacité de l'Artémia à résister à de longues périodes de sécheresse est remarquable. Les mâles se distinguent par deux grandes épines sur la tête et une paire de pénis située sur l'abdomen. En revanche, les femelles possèdent uniquement un utérus dans la région abdominale, capable de contenir jusqu'à 200 cystes (Sugumar, 2010). Dans leur environnement naturel, les Artémiades se nourrissent d'algues, de protozoaires et de matières en décomposition) (figure 01) (Meezanur Rahman *et al.*, 2022)



**Figure 1 :** Formes adultes de l'Artémia (Meezanur Rahman *et al.*, 2022)

### 1.2.2. Anatomie

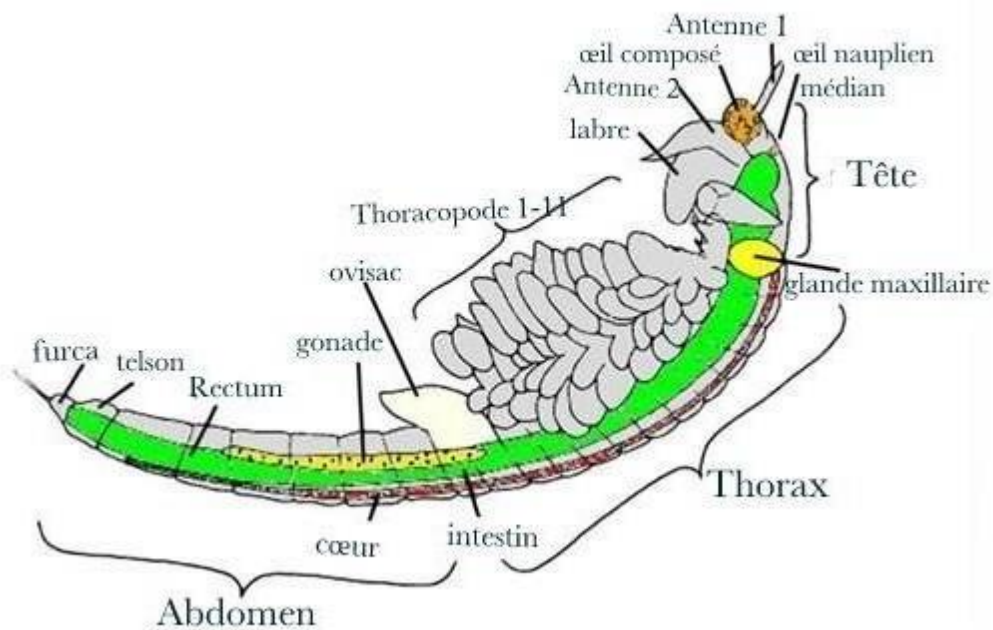
Le corps d'une Artémia adulte est dépourvu de carapace (anostracée) mais clairement segmenté, il est allongé avec une paire d'yeux latéraux, deux paires d'antennes, 11 paires de thoracopodes et un tube digestif long et visible par transparence (Michael Oliewo, 2020). Il comprend trois parties (figure 02 ; 03) :

- **La tête** renferme un œil nauplien médian, une paire d'yeux latéraux pédonculés et un simple cerveau en forme d'anneau comme une structure autour de la bouche. À sa partie antérieure, il y a une paire d'antennes courbées portant à leurs extrémités trois petites soies et une seconde paire d'antennes, plus développées, constituant un caractère de dimorphisme sexuel ; chez le mâle, les antennes forment une grosse pince avec deux épines qui servent à saisir la femelle lors de

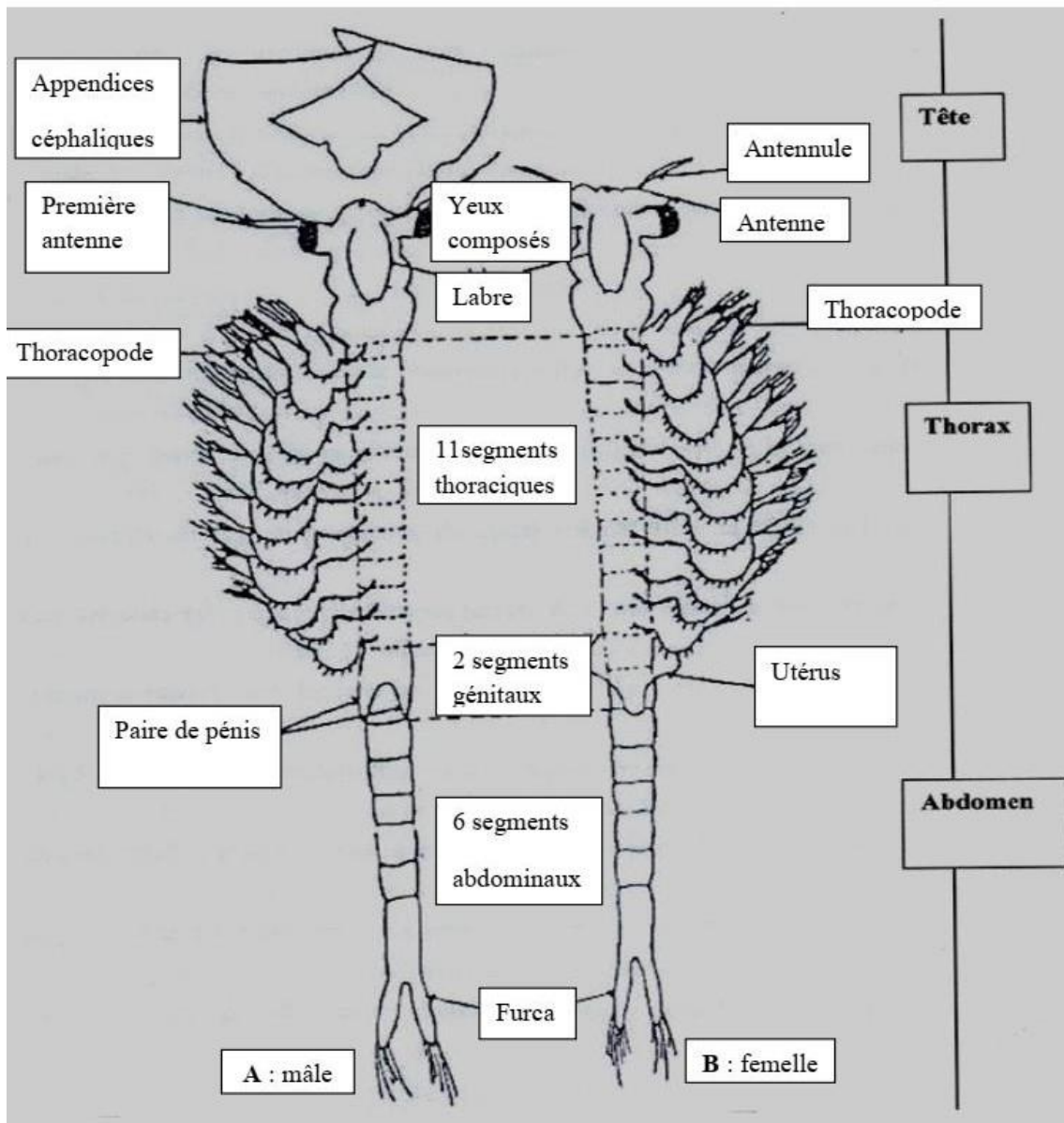
l'accouplement, alors que chez la femelle, elles sont beaucoup plus réduites (Ghomari *et al.*, 2013). Sur la tête se trouve la cavité buccale qui est représentée par un large labrum, une paire de mandibules et deux paires de maxillaires (Browne, 2018), ces diverses pièces constituant la cavité buccale sont reliées à l'œsophage qui aboutit dans l'estomac.

- **Le thorax** est composé de 11 segments portant chacun une paire d'appendices natatoires foliacés. Les 11 paires de phyllopodes, tous semblables, interviennent dans l'alimentation, la natation et la respiration (Haddag, 1991).

- **L'abdomen** est composé de 8 segments dont les deux premiers soutiennent les organes génitaux externes d'où le nom de segments génitaux. Chez la femelle, cette région est constituée d'une poche incubatrice de forme conique appelée ovisac (ou sac ovigère) localisé de chaque côté du troisième segment abdominal. Les mâles ont une paire de testicules et une paire de pénis tubulaires et rétractiles (Dhont et Van stappen, 2003). Les 6 derniers segments sont presque cylindriques ; le dernier présent à son extrémité distale deux appendices appelés furca (Khemakhem, 1988).



**Figure 2** : la structure morphologique d'adulte d'Artémia (Piper, 2018).

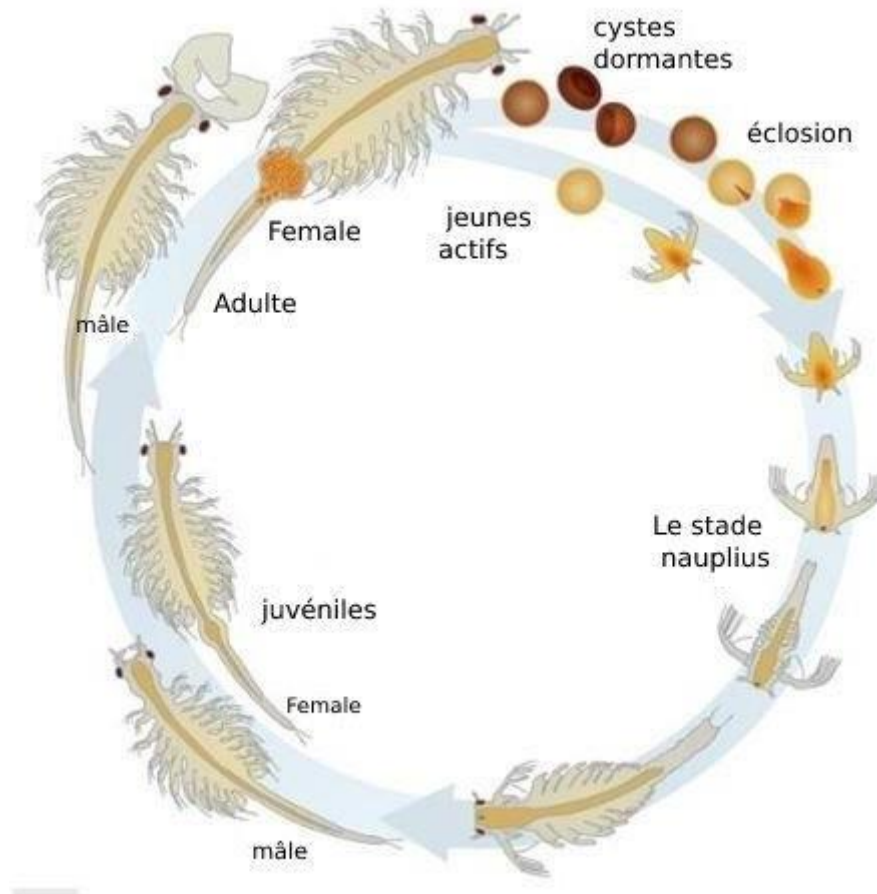


**Figure 3 :** Schéma des adultes : mâles et femelles de l'Artémia (d'après Khemakhem, 1988).

## 2. Cycle biologique

Les femelles peuvent se reproduire en donnant directement des nauplius ou bien des œufs de durée ou cystes qui sont très résistants (Rachael *et al.*, 2019). Ces cystes flottent à la surface de l'eau et sont transportés par l'action du vent vers les berges où ils se mélangent avec le sable. En hiver, ces cystes sont emportés par les eaux de pluies à l'intérieur des bassins de la saline. La présence de la pellicule d'eau douce favorise leur éclosion pour donner des nauplius (au bout de 24 à 36 heures). Ces derniers passent par plusieurs stades de développement (15 mues) pour arriver au dernier stade qui est le stade adulte après une quarantaine de jours en moyenne. La durée de développement du nauplius à l'adulte a été décrite comme suit :

Nauplius instar I → nauplius instar II (8 heures) ; nauplius instar II → juvénile → préadulte (1 à 3 semaines) ; préadulte → adulte (1 à 2 semaines) (Lavens et Sorgeloos, 1996) (figure 04) Mohamed Omar El-Magsodi, 2018). Sous des conditions optimales, les nauplius de l'Artémia peuvent devenir adultes au bout de 8 jours seulement. Ces adultes vont se reproduire et donner plus de 300 cystes ou nauplius tous les 4 jours (Stottrup et McEvoy, 2008)

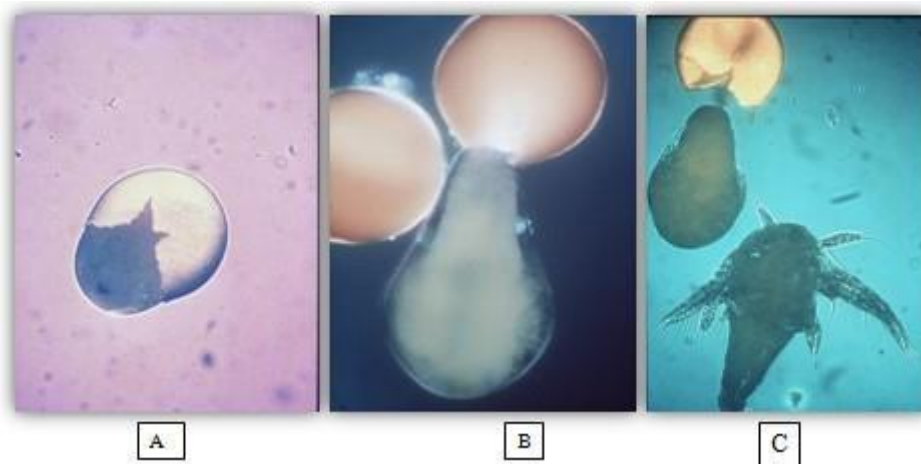


**Figure 4 :** Cycle de vie d'Artémia (Mohamed Omar El-Magsodi, 2018)

Le cyste d'Artémia produite par le mode ovipare, a une forme biconcave de couleur brun foncé parfois pâle (Ghomari *et al.*, 2014). Il constitue un embryon qui est entouré d'une coquille épaisse, une structure complexe et rigide qui ne sert pas seulement de couverture à l'embryon dormant métaboliquement inactif qui peut se reposer pendant une longue période, mais protège également l'animal des fortes doses de rayons UV (Van Stappen, 2002 ; Tanguay *et al.*, 2004). Dans des conditions appropriées, les cystes peuvent être produits en grand nombre, et la structure alvéolaire du chorion leur permet de flotter à la surface de l'eau et d'être emportés sur le rivage par l'action du vent et des vagues, où ils s'accumulent le long du rivage (Meezanur Rahman *et al.*, 2022). Dans la nature, les cystes sont séchés par le soleil

et reprennent leur métabolisme et se développent à nouveau lorsqu'ils sont hydratés (MacRae, 2016).

Pendant l'hydratation, le métabolisme aérobie comprend, entre autres, une conversion tréhalose-glycogène qui assure respectivement l'apport d'énergie pour la respiration et l'accumulation de composés hygroscopiques pour l'éclosion (Clegg 1964 ; 1965 ; Van Stappen, 1996). Après 8 à 20 heures d'hydratation, l'enveloppe du cyste (y compris la membrane cuticulaire externe) éclate (= stade de rupture) (figure 5) et l'embryon entouré de la membrane d'éclosion ("parapluie") devient visible (Figure 5). L'embryon quitte alors la coquille et pend sous la coquille vide (la membrane d'éclosion peut encore être attachée à la coquille) (El-Magsodi, 2018).



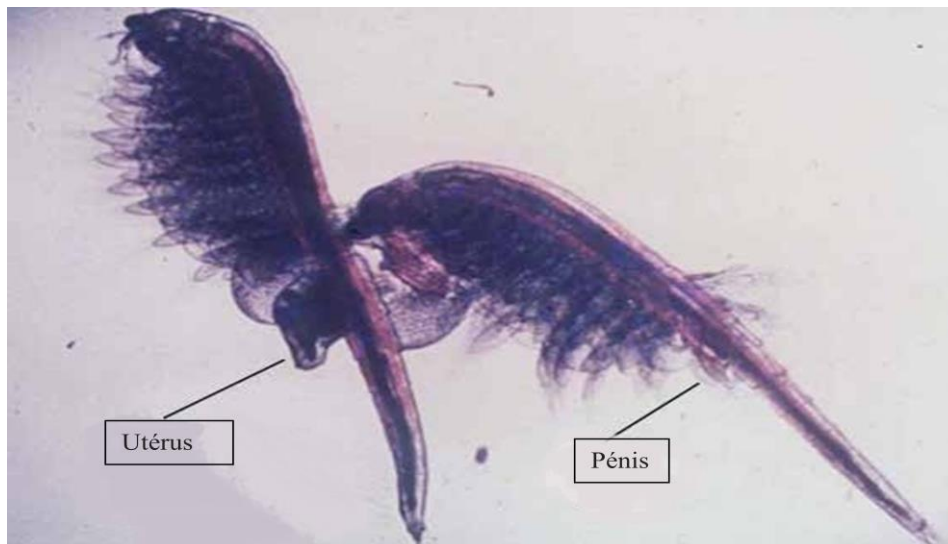
**Figure 5** : A : étape de rupture B : instar1, C : nauplius instar 2 (Mohamed Omar El-Magsodi, 2018)

A travers la membrane d'éclosion transparente, on peut suivre la différenciation du prénauplius en nauplius de stade I qui commence à bouger ses appendices.

Une enzyme d'éclosion est alors sécrétée dans la région de la tête du nauplius, affaiblissant la membrane d'éclosion. Peu de temps après, la membrane d'éclosion s'ouvre (= éclosion) et la larve nageant librement (tête la première) naît. Ce premier stade larvaire, d'une longueur d'environ 400 à 500  $\mu\text{m}$ , ne se nourrit pas, mais dépend de son stock d'énergie dans le vitellus, ce qui donne à ce stade d'Artémia une couleur brun orange. Après quelques heures, la larve passe au stade II, où la bouche s'ouvre et l'absorption de la nourriture commence par une alimentation par filtration. La larve subit 15 mues jusqu'au stade adulte en environ 2 semaines selon les conditions de culture (Clegg et Conte, 1980 ; Sorgeloos, 1980).

### 3. Reproduction

Le mode de reproduction est contrôlé par des facteurs environnementaux : la concentration d'oxygène dans l'eau et sa fluctuation, le type de nourriture, la salinité (Tatyana *et al.*, 2023). Les populations naturelles de l'Artémia peuvent être soit bisexuées soit parthénogénétiques capables de se reproduire pendant plusieurs générations sans être fécondée (Sorgeloos *et al.*, 1986). Chez les souches bisexuées, la position d'accouplement ou « position d'équitation » est la phase pendant laquelle le mâle saisit la femelle entre l'utérus et la dernière paire de thoracopodes et le couple peut aussi nager durant une longue période dans cette position (Sorgeloos, 1980) (figure 6).



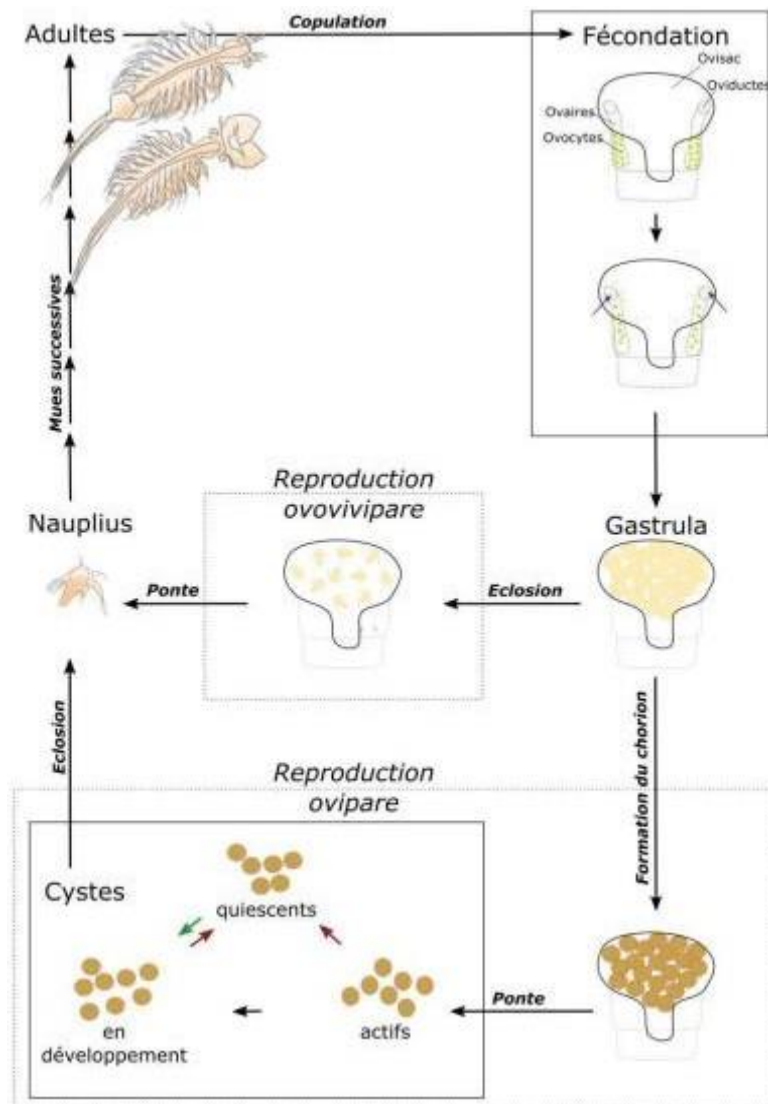
**Figure 6 :** Artémia couple en position d'équitation (Meezanur Rahman *et al.*, 2022)

Le comportement reproducteur des différentes souches de l'Artémia dépend également des conditions du milieu (Tan et Macrae, 2018 ; Iryani *et al.*, 2020) :

- Si les conditions sont favorables, le mode de reproduction est ovovivipare (production des nauplius).
- Si les conditions sont défavorables, l'oviparité (production de cystes) l'emporte sur l'ovoviviparité (figure 7).

Les cystes produits peuvent rester en diapause (métabolisme embryonnaire bloqué en métaphase) pendant plusieurs années consécutives sans perdre leur faculté germinative à condition qu'ils restent secs dans des conditions aérobiques ou si la salinité du milieu est supérieure à 85 g/l qui est le seuil d'éclosion (Sorgeloos et Sorgeloos, 1980). Cette particularité a généralisé l'utilisation des nauplius de l'Artémia à des fins alimentaires dans

Les écloséries (Sorgeloos *et al.*, 1986). La capacité de l'Artémia d'alterner les modes de reproduction rappelle le cas des daphnies et des rotifères.



**Figure 7 :** Cycle de vie alternative d'artémia bisexuée (Odrade Nougé, 2015)

#### 4. Mode de nutrition et rôle trophique

L'Artémia est un crustacé filtreur grâce à ses antennes, il est capable de filtrer les particules alimentaires (phytoplancton, bactéries) (Gui *et al.*, 2022) ainsi que débris organiques (Ogburn *et al.*, 2023). La taille optimale de la nourriture pour les métanauplius d'artémias est d'environ 16,0 µm ; cependant, elle peut varier de 6,8 à 27,5 µm (Chaoruangrit *et al.*, 2017). Les adultes d'artémias peuvent consommer des particules alimentaires de moins de 50 µm (Nevejan *et al.*, 2018). Le processus d'alimentation de cette espèce diffère selon les stades de développement :

- ❖ Chez les nauplius, elles se font par la deuxième paire d'antennes.
- ❖ Chez l'adulte, elle est assurée par les thoracopodes (11 paires d'appendices thoraciques remplacés au fil des mues) (Tobias *et al.*, 1980) lorsque le phytoplancton devient rare, *Artemia sp* se positionne sur les fonds vaseux et agite les microparticules organiques sédimentées afin de les mettre en suspension pour les filtrer et les ingurgiter. Cependant, le phytoplancton, surtout les chlorophycées *Dunaliella salina* et *Chlamydomonas sp.*, reste la nourriture préférée pour ce branchiopode (Ayadi *et al.*, 2004). *Artemia sp.* Contribue également à la boucle microbienne, les métabolites excrétés par l'Artémia, fournissent des substances nutritives essentielles pour le développement de la flore bactérienne comme *Halobacterium sp.*, et représente un substrat riche en aminoacides idéals pour le développement de ces communautés (Ghomari *et al.*, 2013) ; et contribue à augmenter la vitesse d'évaporation dans la production de sel. Cette eau claire est transportée des bassins d'évaporation aux bassins de cristallisation pour obtenir un produit final de sel de bonne qualité (Chiraz Ladhar, 2014).

#### 5. Écologie d'Artémia

Les artémias prospèrent dans des environnements d'eau de mer, profitant de leur adaptation physiologique à des salinités élevées. Leur système osmorégulateur très efficace leur permet de faire face aux niveaux d'oxygène faibles dans des conditions de salinité élevée, ainsi que dans des environnements à température élevée (Clegg et Trotman, 2002). Un aspect crucial de leur survie réside dans leur capacité à produire des cystes dormants en réponse à des conditions environnementales extrêmes, tandis qu'ils se développent directement en embryons dans des environnements plus favorables (MacRae, 2016).

L'augmentation des populations d'Artémia, qu'elles se trouvent dans leur habitat naturel ou dans des environnements où elles ont été introduites, peut également être attribuée à leur capacité à se nourrir par filtration non sélective. Artémia agit comme un filtreur non sélectif, se nourrissant d'algues microscopiques, de matières organiques en décomposition et de bactéries (Jeyavani *et al.*, 2022). Les biotopes d'Artémia présentent une structure trophique extrêmement simple avec une faible diversité d'espèces (Gajardo et Beardmore, 2012).

Dans des conditions de salinité élevée, dépassant les 100 g/l, les concurrents et les prédateurs sont généralement éliminés grâce à un approvisionnement alimentaire abondant, combiné à des facteurs environnementaux favorables, permettant aux populations d'artémias de prospérer en tant que monocultures denses. Bien que la salinité élevée soit le principal facteur abiotique déterminant la présence des artémias, d'autres facteurs tels que la température peuvent influencer l'abondance des populations et, dans certains cas, entraîner une absence temporaire des espèces (Van Stappen, 2002 ; Litvinenko *et al.*, 2007).

De plus, il est important de noter que différentes souches géographiques d'Artémia présentent une remarquable capacité d'adaptation à des conditions locales très variables en termes de salinité, de température (6 - 35 °C) et de composition ionique de leur environnement (biotope). Il convient de souligner que si Artémia se trouve uniquement dans des eaux où ses prédateurs ne peuvent survivre en raison de la salinité, elle peut également être confrontée à des niveaux de salinité extrêmes, dépassant les 250 g/l. Dans de telles conditions, Artémia consomme davantage d'énergie pour réguler ses processus physiologiques, et le stress environnemental extrême ainsi que la toxicité de l'eau peuvent entraîner sa mortalité (Gajardo et Beardmore, 2012 ; MacRae, 2016).

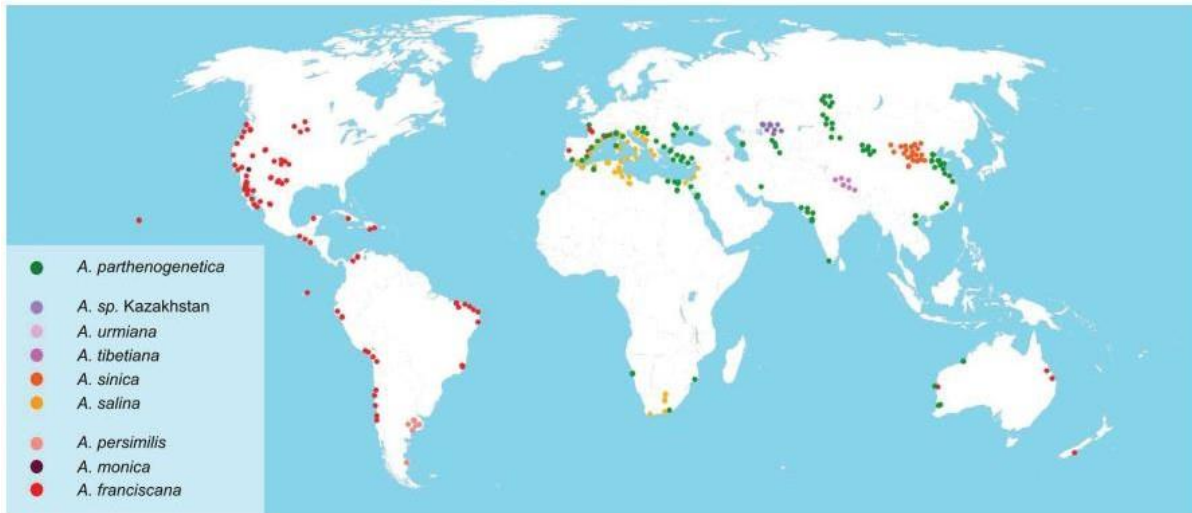
Des études ont révélé que la reproduction des nauplius d'Artémia prédomine à des niveaux de salinité plus bas, tandis que la production de cystes se produit à des salinités plus élevées, dépassant les 150 g/l (Wurtsbaugh et Gliwicz, 2001 ; Dhont *et al.*, 2013). Étant donné l'incapacité d'Artémia à se disperser activement, les principaux vecteurs naturels de dispersion sont le vent et les précipitations, tandis que les oiseaux aquatiques, en particulier les flamants roses, ont été identifiés comme des acteurs majeurs dans ce processus (Vanhaecke *et al.*, 1987). Par ailleurs, la pratique antérieure courante de l'introduction délibérée d'Artémia dans les bassins salins par l'homme constitue un autre moyen de dispersion des cystes.

Les artémies ont été signalées comme ayant une large représentation mondiale étant donné leur capacité à d'habiter un large éventail d'écosystèmes hypersalins. La littérature indique que les populations d'Artémia ont été enregistrées dans plus de 600 lacs salés naturels et salins artificiels, répartis à l'intérieur des terres et sur les côtes des zones climatiques tropicales, subtropicales et tempérées (Triantaphyllidis *et al.*, 1998 ; Van Stappen, 2002).

En outre, des efforts d'enquête sont toujours en cours dans le but d'identifier davantage de biotopes d'*Artémia* à travers le monde. Alors que *l'Artemia franciscana* (Kellogg, 1906) est originaire d'Amérique du Nord, centrale et du Sud, un certain nombre d'espèces ont également été identifiées dans différentes régions, qui incluent *Artemia salina* (Triantaphyllidis *et al.*, 1997) dans le bassin méditerranéen, *Artemia sinica* (Yaneng, 1989) en Chine, *Artemia persimilis* décrite dans les travaux de Peccinelli et Prosdocimi et citée par Støttrup et McEvoy (2008) trouvés dans l'extrême sud de l'Amérique du Sud, *Artemia tibetiana* (Abatzopoulos *et al.*, 1998) du Tibet, *Artemia urmiana* (Günther, 1899) du lac Urmia en Iran, et une autre *Artemia* sp au Kazakhstan (Pilla et Beardmore, 1994). Les populations parthénogénétiques (Barigozzi, 1974) ont été rapportées dans différentes régions, dont l'Europe, l'Asie, l'Afrique et l'Australie. Depuis la découverte des espèces d'*Artemia* un certain nombre de souches ont également émergé (Abatzopoulos *et al.*, 2013). Bien que ces souches se sont avérées être de qualité inférieure à celles du Grand Lac Salé et de la baie de San Francisco (Perumal *et al.*, 2015), leur offre est en augmentation. La littérature montre que, dans les années 1980, *Artémia* a été inoculé dans plusieurs pays, dont le Vietnam, l'Indonésie, les Philippines, la Thaïlande, le Sri Lanka, l'Iran, la Chine, Égypte, l'Inde et le Panama (Lavens et Sorgeloos, 1996). Néanmoins, *Artémia* s'est également répandue involontairement au-delà des zones d'inoculation initiales et a envahi de nouveaux territoires en Espagne, en France, en Inde, au Portugal, en Égypte, en Chine et dans les Émirats arabes unis (Van Stappen, 2002). Le Vietnam en Asie du Sud-Est se distingue en ayant gagné une part de marché considérable dans l'offre de cystes d'*Artémia* à l'échelle locale et internationale (Le *et al.*, 2018)

## 6. Répartition

*Artemia* sp est un groupe cosmopolite qui peut survivre à des conditions environnementales stressantes : salinités extrêmes, faibles ou fortes températures et anoxie (Torreterra et Dodson, 2004). Grâce à cette flexibilité, les habitats de ces organismes sont distribués partout dans le monde à l'exception de l'Antarctique (Utemuratova *et al.*, 2022). Ils vivent dans les lacs salés et hypersalés, les lagunes côtières et dans les étangs (Turcihan *et al.*, 2021). L'absence de compétiteurs favorise le développement de ce branchiopode dans les bassins sur salés (figure 8).



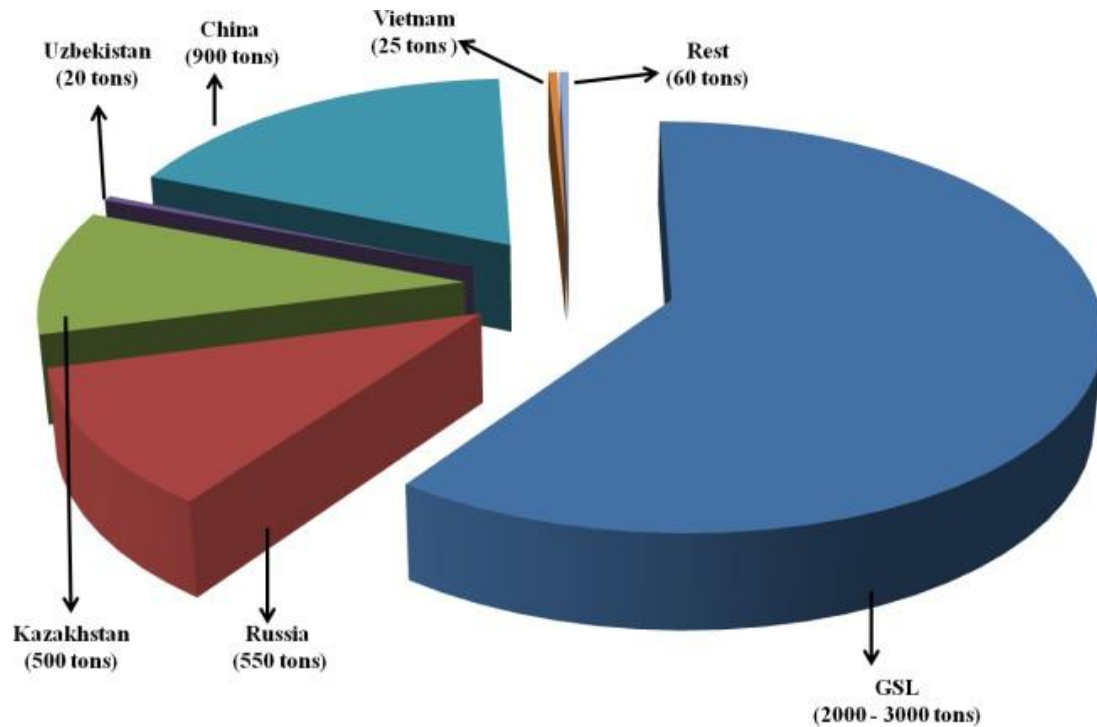
**Figure 8 :** Distribution mondiale des espèces d'artémies. (Odrade Nougué., 2015)

## 7. Production des cystes d'Artémia à l'échelle mondiale

Les cystes d'Artémia ont été exploités commercialement pour la première fois au début des années 1950, récoltés sur les berges des salines de la baie de San Francisco en Californie et du Grand lac Salé dans l'Utah, aux États-Unis. À l'origine, Artémia était vendue à des prix abordables pour le commerce des animaux de compagnie destinés aux aquariums (Islam *et al.*, 2019). La valeur des cystes a connu une augmentation significative au milieu des années 1970, en raison de la demande croissante pour les nouvelles installations d'écloserie de larves de poissons marins, de la baisse des récoltes au GSL, et de potentielles manipulations de l'offre par certaines entreprises commerciales (Lavens et Sorgeloos, 2000). Par conséquent, la production de cystes d'Artémia est passée de quelques tonnes métriques par an à près de 3000 tonnes métriques par an après l'expansion du marché de l'aquaculture marine à la fin des années 1970 (Litvinenko *et al.*, 2015) (Figure 9). Depuis les années 1970, le Grand Lac Salé (GSL) est devenu le principal fournisseur de cystes d'Artémia pour l'industrie de l'aquaculture, suscitant des spéculations quant à sa capacité à répondre à la demande croissante de cette industrie (Lavens et Sorgeloos, 2000). À partir du milieu des années 1980, les cystes d'artémie du GSL ont conquis le marché mondial. Au fil des ans, le GSL a fourni plus de 90 % de la récolte commerciale mondiale de cystes d'Artémia. Litvinenko *et al.*, (2015) ont révélé que les densités annuelles les plus élevées de cystes d'artémie dans la colonne d'eau du GSL ont fluctué entre 80 cystes par litre et plus de 240 de 2007 à 2019. Les quantités récoltées à sec de cystes dans le GSL ont également varié de 1995 à 2018, passant de quelques tonnes à plus de 2000 tonnes. Le GSL a produit entre 1000 et 2000 tonnes de cystes d'artémia, suivi de 900

tonnes en Chine et de 550 tonnes en Russie. Un approvisionnement suffisamment abondant en nauplies a été disponible pour répondre à la demande croissante du marché (Lavens et Sorgeloos, 2000). Selon Bengtson *et al.*, (2018), la fourniture de cystes par le GSL a été cruciale, car les coûts des cystes de l'Artémia ont augmenté en raison des faibles rendements du GSL, ce qui a fini par avoir des répercussions sur le marché de la culture des larves. La production d'artémie a été confrontée à divers défis à l'échelle mondiale, notamment des différences dans les propriétés des cystes, des variations dans les aspects nutritionnels des nauplies provenant de différentes sources d'artémia, ainsi que des conditions environnementales qui ont impacté la production d'artémie dans certaines régions pendant plusieurs années (Bengtson *et al.*, 2018). Le développement de l'aquaculture dépend principalement de la disponibilité continue des stocks de cystes. De nombreuses études se sont penchées sur les quantités de kystes disponibles à l'échelle mondiale et sur les besoins en kystes pour répondre à l'industrie aquacole mondiale (Van Stappen *et al.*, 2020). Plusieurs recherches ont été menées pour étudier la production d'artémies dans différentes régions.

Une étude de recherche a scruté la position de la Russie dans le contexte des réserves mondiales de cystes et les méthodes pour les renforcer. Malgré une augmentation constante de la récolte de cystes en Russie, la part du pays sur le marché mondial des cystes demeure inférieure à 20 %, légèrement influencée par les variations annuelles de précipitations tout en maintenant un taux de production stable par rapport au Grand Lac Salé (GSL). Pour améliorer l'extraction commerciale des cystes en Russie et optimiser l'utilisation des ressources disponibles, il est essentiel de mettre en œuvre des techniques de récolte avancées, tout en garantissant une utilisation durable des zones de production grâce à des améliorations dans les méthodes de collecte, de traitement, de stockage et d'enclos. De plus, il convient d'explorer de nouvelles sources de production de cystes, telles que la Crimée, et d'accroître la qualité des habitats d'artémia en développant des technologies et des méthodes de gestion de l'eau, notamment en ce qui concerne la gestion de la salinité et des volumes d'eau (Litvinenko *et al.*, 2015).



**Figure 9 :** Production totale de Cycts d'Artémia récoltée à partir des principales sources dans le monde (les valeurs en tonnes sèches) (Litvinenko *et al.*, 2015 ; Hoa et Sorgeloos, 2014).

La Chine représente le principal consommateur d'artémia, absorbant plus de la moitié de la production mondiale (Hasan, 2016). Toutefois, la production d'artémia dans les bassins chinois reste sujette à des fluctuations imprévisibles. Il est donc impératif de développer des techniques adaptées à l'environnement local, comme les méthodes de fertilisation. Les informations sur l'adaptation des populations d'*Artemia franciscana* introduites à leurs nouvelles conditions, ainsi que les moyens d'améliorer leurs performances, restent limitées. Par exemple, l'élevage sélectif, qui a bien fonctionné au Vietnam, n'a pas rencontré le même succès en Chine. Des facteurs locaux ont entravé les améliorations, notamment la densité en vrac difficile à contrôler dans la plupart des sites de production de sel. De plus, la gestion du secteur de la production de sel, principalement entre les mains de grandes entreprises, peut freiner les avancées. Cependant, cette situation peut également offrir des avantages en termes d'échelle, notamment pour soutenir les investissements dans les installations de traitement. Enfin, la complexité et l'instabilité du marché chinois de l'artémia, avec une large gamme de produits d'artémia cyste, aux prix variés, ont entravé les conditions d'offre et de demande, décourageant la production de cystes de haute qualité sur le marché chinois (Van Stappen *et al.*, 2020); ils ont éclairé la situation en Chine concernant les fluctuations des prix des produits commerciaux de cystes sur la période 1993-2017. Ces prix ont connu une trajectoire variant de 10 USD par kilogramme de produit sec à

leur point culminant, à plus de 70 USD en 2000, pour ensuite se stabiliser autour de 30 USD en 2017. En parallèle, la demande de cystes a présenté des fluctuations notables sur la même période, passant de légèrement plus de 200 tonnes en 1993, atteignant un pic d'environ 1600 tonnes en 2011 et 2012, pour finalement amorcer une baisse jusqu'à environ 1000 tonnes en 2017.

Une autre étude a exploré la répartition d'*Artemia franciscana* dans le nord-est du Brésil. Elle a révélé que la sélection induite par l'exploitation menace la nouvelle industrie aquacole de la région. Par conséquent, il est impératif de développer des techniques de gestion avancées qui tiennent compte des conséquences de cette sélection due à l'exploitation, afin de gérer les sources d'artémia. Il est essentiel d'évaluer l'impact de la récolte sur la variation génétique et les caractéristiques d'*Artemia franciscana*. Une telle méthodologie fournirait les données nécessaires pour élaborer une stratégie de récolte durable des cystes d'Artémia dans les salines brésiliennes (Camara, 2020).

Dans les années 1980, le Vietnam a introduit l'artémia pour améliorer la production de cystes et de biomasse destinés à l'élevage larvaire et aux premières étapes de l'aquaculture. Les producteurs d'artémias ont alors entrepris de produire des cystes de manière saisonnière dans le delta du Mékong, notamment dans les provinces de Soc Trang et de Bac Lieu. Les institutions de recherche et les universités, en particulier l'Université de Can Tho, ont largement diffusé les connaissances techniques parmi les communautés locales d'éleveurs d'artémias. Cette production d'artémia en étang au Vietnam est devenue une industrie florissante, offrant aux résidents producteurs de sel une source de revenus complémentaire substantielle avec un investissement modéré et des bénéfices rapides. Toutefois, les producteurs d'artémias, qui souvent disposent de ressources financières limitées et de terrains restreints, sont confrontés à des marges bénéficiaires inégales. Ils sont sensibles aux variations des coûts et des besoins en cystes dans l'aquaculture vietnamienne. Depuis le début des années 2000, la production annuelle de cystes brut n'a cessé d'augmenter, passant de 15 à 20 tonnes à 50 à 60 tonnes, avec des rendements atteignant de 50 à 70 kg de cystes bruts par « récolte ». Actuellement, les couvoirs vietnamiens ont besoin d'environ 400 à 500 tonnes de cystes d'artémia séchés par an, mais seule une petite partie de cette demande est satisfaite par la production dans le delta du Mékong (Van Stappen *et al.*, 2020).

## 8. Présence d'*Artémia* dans les lacs salés en Algérie

En Algérie, les crevettes saumâtres sont surtout associées aux Sebkhats et aux Chotts, termes d'origine arabe. Ils sont des dépressions peu profondes remplies d'eaux salines. Le remplissage est irrégulier dans le temps et dans l'espace (Morgan, 1982), une Sebkhata est un bassin intérieur fermé avec un fond imperméable, qui accumule des matières solubles et des matières organiques apportées par les apports d'eau, de grandes zones hydrologiques. Elle peut être remplie et inondée pendant de courtes et fortes périodes de pluie, mais devient sèche, peu après, à cause de l'évaporation. Un Chott ne devient généralement pas complètement sec, car il dépend de l'apport d'eau souterraine. Les plus grands Chott d'Algérie se situent sur les hautes plaines entre les deux chaînes de l'Atlas. D'ouest en est sont : Chott Ech-Chergui, Chott El Hodna, Chott Melghir. La présence d'*Artémia* dans les lacs hyperhalins en Algérie est signalée pour la première fois par Blanchard et Richard (1890), puis en 1928 par Gauthier (Gauthier, 1928) et en 1931 par Seurat (Seurat, 1931), Sorgeloos *et al.*, (1986) ont répertorié neuf plans d'eau hyperhalins en Algérie, dont certaines sont exploitées pour la production de sel (Ez-Zzemoule, Djeloud, Guergour El-Amri, Marouane, Bethioua, Sidi Bouziane). Zemmouri (1991) a mentionné cinq sites : Sebkhata Arzew, Sebkhata N'Zouri, Sebkhata Sidi Bouziane, Chott Marouane, Mellaha, Guergour El-Amri. Néanmoins, la comparaison des coordonnées géographiques montre que 4 d'entre eux étaient déjà cités, mais avec des noms différents : Sebkhata Arzew/Salines de Bethioua ou, Sebkhata N'zouri/ Sebkhata Ezzemoulee, Sebkhata Sidi Bouziane / saline d'oued Djemaa et Chott Marouane / Chott Djeloud (Sorgeloos *et al.*, 1986). Dans le même but, quatre autres sites salins ont été étudiés par Kara (1998) (El Ghaba, Ed-dar, Melha, Magtaa) dans le voisinage de Chott Djeloud.

Chott Marouane appelé Chott Djeloud par Morgan (1982) et Sorgeloos *et al.*, (1986). Ceux-ci sont dépourvus d'*Artémia* (Kara, 1998), ainsi que la Sebkhata Djendli (wilaya de Batna) a été identifiée comme *Artemia salina* par Blanchard et Richard (1890) (Samraoui *et al.*, 2006 ; Amarouayache, 2009).

## 9. Écologie et Biologie de l'*Artémia* en Algérie

Les études les plus importantes qui décrivent l'écologie et la biologie des *Artémias* en Algérie concernent le Chott Marouane (Kara *et al.*, 2004 ; Amarouayache, 2009 ; Amarouayache *et al.*, 2009a, b ; Amarouayache et Kara, 2010) et la Sebkhata Ez-Zemoulee (Amarouayache, 2009 ; Amarouayache *et al.*, 2010, 2012, Ghomari *et al.*, 2011). Les aspects abordés sont principalement la biométrie et la dynamique des populations. Au cours des deux dernières décennies, le suivi saisonnier de la Sebkhata Arzew, Chott Marouane, Sebkhata Ez-Zemoulee,

Lac El Bahira a montré que les populations bisexuées (Betioua, Marouane et Ez-Zemoule) et parthénogénétiques (El Bahira) ne se développent qu'en hiver et au printemps, même lorsque les bassins sont pleins d'eau en été et en automne (Haddag, 1991 ; Amarouayache *et al.*, 2009a, 2010 ; Derbal *et al.*, 2010). La salinité maximale enregistrée dans la nature est de 250 g/l pour Sebkhath Ezzemoulee et Sebkhath Betioua, et 360 g/l pour Chott Marouane (Haddag, 1991 ; Amarouayache *et al.*, 2009a ; 2010).

Dans la Sebkhath Ezzemoulee où la salinité décroît jusqu'à 30 g/l, les Artémias cohabitent avec d'autres crustacés comme *Phallocryptus spinosa*, *Cletocamptus retrogressus*, *Moina salina* et *Heterocypris sp.* (Amarouayache *et al.*, 2012). Les densités les plus élevées d'Artémia sont atteintes en mars/avril avec 56 ind./l à Sebkhath Ez-Zemoule et 107 ind./l au lac El-Bahira, ce qui est considéré comme très élevée par Lavens *et al.*, (1986). Même si les espèces parthénogénétiques et bisexuelles cohabitent ensemble selon Ghomari *et al.*, (2011), le sexe ratio est toujours en faveur des mâles à Chott Marouane, Sebkhath Arzew et Sebkhath Ez-Zemoul (Haddag, 1991 ; Amarouayache *et al.*, 2009a) et augmente avec la salinité dans ce dernier site jusqu'à 32 mâles/femelles (Amarouayache *et al.*, 2010). Les populations citées peuvent se reproduire aussi bien par oviparité que par ovoviviparité, mais le premier mode est toujours dominant (90%). Les femelles de Chott Marouane sont les moins fertiles et produisent 10 contre 60 à Sebkhath Ez-Zemoule, probablement à cause des salinités élevées du milieu variant entre 250 et 360 g/l (Amarouayache *et al.*, 2009a ; 2010). En situation de forte salinité, les femelles doivent économiser leurs réserves énergie pour résister en produisant moins de cystes (Barata *et al.*, 1995). La biomasse totale de cystes produits à Chott Marouane (36 000 ha) est estimée, par observations directes, à 7,6 t (Amarouayache et Kara, 2010). Les cystes hydratés et les nauplii fraîchement éclos de Chott Marouane sont les plus petits parmi les souches algériennes : 236,5 et 428,7 µm, respectivement, vs 247,86 et 460,43 µm pour Sebkhath Ez-Zemoule, 239,1 et 460µm pour Sebkhath Arzew. Les tailles les plus importantes sont observées dans la souche parthénogénétique d'El-Bahira avec 277,26 µm pour les cystes et 549,12 µm pour les nauplii. Ceci corrobore les conclusions d'Amat (1980) pour les populations méditerranéennes qui admet que parthénogénétiques, les nauplii et les adultes sont plus grands que les bisexuels. L'artémia est l'hôte intermédiaire de 14 espèces de cestodes (Georgiev *et al.*, 2005 ; Vasileva *et al.*, 2009). Le parasitisme par le parasite du flamant rose *Flamingolepis liguloides* (cestode) a été signalé dans certaines populations méditerranéennes : la Camargue Française (Thiéry *et al.*, 1990 ; Robert et Gabrion, 1991), salines de Bonmati en

Espagne (Amat *et al.*, 1991), salines de Sardaigne (Mura, 1995), d'Andalousie (Georgiev *et al.*, 2005, 2007), et pour la première fois en Afrique du Nord par Amarouayache *et al.*, (2009b). Les cysticercoïdes de Fliguloides infectent les juvéniles et les adultes d'Artémia de Chott Marouane en hiver et de Sebkhath Ez-Zemoule au printemps avec une prévalence qui atteint 33 %. Ils ont été trouvés à l'intérieur du thorax, de l'abdomen ou de l'ovisac. Le parasite a un effet négatif sur la reproduction de ces populations, en réduisant la fécondité ou provoquant la castration des femelles, ce qui est l'effet le plus dramatique connu dans le genre Artemia (Amat *et al.*, 1991).

## 10. Processus d'éclosion du cyste d'Artémia

### 10.1. Désactivation de la diapause des Artémies

En principe, les embryons d'Artémia libérés sous forme de cystes dans le milieu sont en diapause et ne reprennent pas leur développement, même dans des conditions favorables, à moins que le processus de diapause ne soit interrompu (Drinkwater et Crowe, 1987). La sortie de diapause est appelée "activation" et nécessite généralement une exposition transitoire à un stimulus environnemental spécifique (Drinkwater et Crowe, 1987). Dès l'interruption de la diapause, les cystes entrent dans la phase de "quiescence", ce qui signifie que l'activité métabolique peut reprendre au moment où ils sont mis dans des conditions favorables à l'éclosion, ce qui aboutit finalement à l'éclosion. Dans la phase de quiescence, l'arrêt métabolique dépend uniquement de facteurs externes (Dhont et Van Stappen, 2003).

Pour l'utilisateur des cystes d'Artémia, plusieurs techniques se sont avérées efficaces pour mettre fin à la diapause. Cependant, la sensibilité des cystes d'Artémia à ces techniques montre une spécificité de souche ou même de lot, d'où la difficulté de prédire l'effet sur le résultat de l'éclosion. Dans de nombreux cas, l'élimination de l'eau des cystes est un moyen efficace de mettre fin à l'état de diapause. Ceci peut être réalisé en séchant les cystes à des températures ne dépassant pas 35°C à 40°C ou en suspendant les cystes dans une solution de saumure saturée de NaCl (300 g/L). Comme une certaine forme de déshydratation peut être considérée comme faisant partie de la plupart des procédures de traitement et/ou de stockage, la fin de la diapause ne nécessite souvent aucune manipulation supplémentaire particulière. Néanmoins, avec certaines souches de cystes d'Artémia, les techniques habituelles de traitement des cystes ne permettent pas d'obtenir une qualité d'éclosion suffisamment élevée, ce qui indique qu'une méthode de désactivation de la diapause plus spécifique est nécessaire. L'exposition à de basses températures (hibernation), la décapsulation ou l'incubation dans une solution de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) se sont avérées efficaces pour désactiver la

diapause, lorsqu'elles sont appliquées avec des sources spécifiques de cystes d'Artémia (Van Stappen, 1996). Là encore, la sensibilité d'une souche (ou d'un lot) à une solution spécifique de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est difficile à prévoir.

Un surdosage entraîne une réduction ou une absence d'éclosion, probablement en raison de la toxicité du produit chimique (Dhont et Van Stappen, 1996).

Il a également été prouvé que le monoxyde d'azote (NO) affecte l'état de diapause à des concentrations beaucoup plus faibles que celles du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, bien que plus de kystes soient sortis de diapause en utilisant H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Robbins *et al.*, 2010). Un pH interne différent existe entre les kystes en diapause et les cystes quiescents, et la dépression du pH interne pourrait conduire à la rupture de la diapause (Crowe *et al.*, 1987 ; in Lavens et Sorgeloos, 1987).

Cependant, ces auteurs ont également constaté qu'il pourrait y avoir deux compartiments distincts dans les kystes dormants qui ont un pH interne différent, ce qui conduit à la conclusion que la rupture de la diapause des cystes d'Artémia est un processus complexe qui nécessite beaucoup plus de temps que prévu.

## **10.2. Facteurs environnementaux influençant le succès d'éclosion d'Artémia**

L'éclosion d'Artémia peut être influencée par des facteurs maternels (la quantité de nourriture reçue par le parent Artémia affectera l'éclosion de sa progéniture) (Lavens *et al.*, 1986a) et par des facteurs environnementaux (Versichele et Sorgeloos, 1980 ; Dana et Lenz, 1986), donc avoir des conditions d'éclosion optimales est extrêmement important dans un contexte d'aquaculture. Le processus de manipulation des cystes (récolte, nettoyage, séchage et stockage) peut avoir un impact sur l'éclosion, car une déshydratation ou une réhydratation partielle des cystes quiescents peut avoir un impact sur l'éclosion.

Réhydratation des cystes quiescents déclenchera une activité métabolique, réduisant de façon critique le contenu énergétique, ce qui rendra l'éclosion impossible même si l'incubation se fait dans des conditions optimales (Lavens et Sorgeloos, 1987).

La salinité joue un rôle dans l'éclosion ; si elle est trop faible ou trop élevée, elle affectera négativement le pourcentage d'éclosion. La salinité optimale varie selon les différentes souches d'Artémia, mais en général, les Artémia peuvent éclore dans des conditions optimales. Artémia peuvent bien éclore dans une gamme de salinité comprise entre 15 g/l et 35 g/l (Sorgeloos *et al.*, 2001).

Lors de l'incubation des cystes, la salinité interfère avec la quantité de glycérol nécessaire à la rupture de la coquille. Les cystes incubés à un faible niveau de salinité auront une éclosion plus rapide parce qu'ils ont besoin de moins de temps pour atteindre le niveau osmotique

intracystique requis, tandis que les niveaux de salinité élevés laisseront les nauplii avec moins de réserve d'énergie (Lavens et Sorgeloos, 1987).

La température est connue pour être l'un des paramètres abiotiques importants pour le développement des organismes aquatiques. La température est directement liée à l'éclosion des cystes et à leur taux d'éclosion, et le taux de développement ainsi qu'avec la capacité de reproduction (Vanhaecke et Sorgeloos, 1989).

La plupart des souches ne peuvent pas survivre à des températures inférieures à 6°C et supérieures à 35°C, mais ceci est spécifique à chaque souche (Browne *et al.*, 1988). La température optimale pour l'éclosion de la plupart des souches d'Artémia se situe entre 23 et 30 °C (Van Stappen, 1996). D'autres facteurs environnementaux importants sont les niveaux d'oxygène.

Les autres facteurs environnementaux importants sont les niveaux d'oxygène et le pH : l'intensité de l'aération doit être suffisante pour maintenir des niveaux d'oxygène supérieurs à 2 mg L<sup>-1</sup>, de préférence 5 mg/L, et l'éclosion optimale est acquise dans des conditions légèrement alcalines à un pH de 8 à 8,5. Un pH optimal est nécessaire pour que l'enzyme d'éclosion puisse digérer la membrane cuticulaire, permettant la libération des nauplii en nage libre (Lavens et Sorgeloos, 1987).

En dernier, l'exposition à la lumière a été identifiée comme l'une des conditions préalables au déclenchement de l'éclosion dans les œufs de nombreux groupes de crustacés branchiopodes (Pinceel *et al.*, 2013), y compris Artémia (Sorgeloos, 1973). En outre, la lumière joue un rôle essentiel dans les processus suivant l'activation du métabolisme et la fin de la dormance, tant chez les plantes que chez les animaux. La qualité de la lumière qui est disponible pour les processus d'éclosion n'est pas seulement caractérisée par son intensité, mais aussi par sa longueur d'onde, son spectre et la durée de la photopériode. La durée d'exposition à la lumière a été identifiée comme un facteur important influençant les mécanismes d'éclosion. Cependant, dans la nature, la durée d'exposition à la lumière varie souvent en même temps que température et l'irradiation (c'est-à-dire avec la latitude ou la saison), ce qui rend difficile la séparation de ces facteurs.

La durée et la séquence des phases de lumière et d'obscurité sont également un déterminant important de l'éclosion chez d'autres crustacés, comme les œufs de cladocères (Vandekerckhove *et al.*, 2005). De plus, le mode de reproduction d'Artémia est entre autres influencé par la photopériode en combinaison avec la température (Nambu *et al.*, 2004) : des jours courts et une température plus élevée favorisent l'oviparité (production de cystes), tandis que les jours longs et les températures plus basses favorisent l'ovoviviparité (libération de nauplii nageant

librement).

Le rôle physiologique de la lumière pendant l'éclosion d'*Artémia* n'a pas encore été entièrement compris. Plusieurs études qui ont tenté d'élucider les processus physiologiques déclenchés par l'exposition à la lumière (Van Der Linden *et al.*, 1985 ; 1986 ; 1988 ; 1991) ont conclu qu'il existe une corrélation entre l'intensité de la lumière et le pourcentage d'éclosion. La longueur d'onde de 450 - 470 nm est le pic principal pour les cystes décapsulés de San Francisco Bay pour déclencher le métabolisme, tandis que les pics de 525 à 575 nm ont entraîné une éclosion maximale chez les cystes non décapsulés. On suppose qu'un photorécepteur (peut-être un pigment d'hème) est à l'origine de l'éclosion induite par la lumière.

La quantité de lumière nécessaire peut varier d'une souche à l'autre en raison de l'épaisseur différente du chorion et de la concentration en pigments d'hématine, qui peuvent réduire l'infiltration de la lumière (Vanhaecke *et al.*, 1981). Ces auteurs ont émis l'hypothèse que l'effet de la lumière est plus un désactivateur de diapause que le déclenchement du métabolisme. L'obscurité a également favorisé la terminaison de la diapause embryonnaire de cystes dormant d'*Artémia* (Nambu *et al.*, 2008 ; 2009).

### 10.3. Rôle des artémias dans l'aquaculture et autres applications

Malgré les progrès considérables réalisés par l'industrie de l'alimentation aquacole, il n'existe toujours pas de formule d'aliment artificiel capable de remplacer complètement l'aliment vivant qu'est l'*Artémia*.

*Artémia* reste essentielle dans la plupart des écloséries de poissons et de crustacés marins, en particulier au cours des premiers stades de la vie (Kolkovski *et al.*, 2004). Au sein de l'industrie aquacole, les écloséries de crevettes sont les plus gros consommateurs de cystes d'*artémia*, utilisant environ 80 à 85 % de la disponibilité totale de marché, tandis que le reste est utilisé principalement pour la larviculture des poissons marins (FAO, 2017). Sur le plan nutritionnel, les nauplii d'*Artémia* nouvellement éclos sont riches en protéines et en lipides, constituent une excellente source de nourriture pour les larves de poissons et de crevettes (Sebesta *et al.*, 2018). Autres caractéristiques importantes des nauplii d'*Artémia* sont la présence d'acides gras essentiels (AGE) qui détermine sa valeur nutritionnelle pour les larves de divers poissons et crustacés marins (Ben naceur *et al.*, 2017), ainsi que de plusieurs enzymes protéolytiques, qui jouent un rôle important dans la décomposition des artémias dans le tube digestif des larves de prédateurs, qui ont de faibles niveaux d'enzymes digestives, surtout à leurs premiers stades larvaires. En outre, la capacité des artémias à se nourrir de particules en suspension et leur capacité de filtrage non sélectif permet l'ingestion de nutriments bio encapsulés, de pigments (Sorgeloos *et al.*, 2001), d'agents antimicrobiens (Dixon *et al.*, 1995), de vaccins (Campbell *et*

*al.*, 1993), et des probionts (Gatesoupe, 1994), et différentes techniques ont été développées pour améliorer les profils nutritionnels des aliments. Cela a permis d'améliorer les résultats de la larviculture, non seulement au niveau de la survie, de la croissance et de la réussite de la métamorphose des poissons et des crustacés, mais aussi en réduisant l'incidence des malformations tout en améliorant la pigmentation et la résistance au stress (Van Stappen, 1996 ; Harzevili *et al.*, 1998 ; Ringo et Birkbeck, 1999) Outre l'utilisation des nauplii d'Artémia comme nourriture vivante, la biomasse d'Artémia (sous forme vivante et congelée) est largement utilisée par les aquariophiles, les éleveurs de poissons et les aquaculteurs (Anh *et al.*, 2011).

La biomasse d'Artémia est riche en protéines, lipides, attractants, pigments et autres substances actives, ce qui en fait un aliment direct attrayant pour les poissons ou une excellente source de protéines, par exemple comme déclencheur de maturation pour les stocks de géniteurs de crevettes, et comme aliment de nurserie pour les poissons marins, les crevettes et les crabes (Anh *et al.*, 2011 ; FAO, 2017). En outre, il est même utilisé pour la consommation humaine dans certains pays.

La biomasse d'Artémia était consommée il y a des siècles par les tribus primitives d'Amérique, d'Asie et d'Afrique : Les Indiens habitant cette région ramassaient de grandes quantités de ce crustacé et l'utilisaient comme nourriture" (Jensen, 1918).

Le peuple Dawada vivant autour du lac Gaber-oun dans la région du désert du Sahara libyen consomme des flocons d'Artémia séchés comme "une superbe source de protéines riche en  $\beta$ -carotène et en riboflavine" (Ghannudi et Tufail, 1978). En outre, les cystes d'Artémia sont utilisés pour cultiver des insectes dans le cadre de la lutte biologique contre les ravageurs des cultures (De Clercq *et al.*, 2005 ; Vandekerkhove *et al.*, 2009). Les cystes décapsulés peuvent être utilisés comme complément alimentaire et comme source de nourriture alternative économiquement viable pour la production de masse en intérieur de différentes espèces d'insectes prédateurs. L'artémia est également utilisée comme espèce modèle dans les études évolutives, car les cystes, présents dans l'habitat, peuvent être considérés comme des banques de gènes qui stockent la mémoire génétique des populations historiques (Djamali *et al.*, 2010 ; Manaffar *et al.*, 2011). Lenormand *et al.*, (2018) ont montré que l'Artémia possède de

multiples caractéristiques qui en font un modèle attractif pour les théories de l'écologie de la résurrection, et ont montré en détail comment les cystes peuvent être récupérés dans des sédiments pour documenter l'histoire et la dynamique des invasions biologiques, par exemple.

Outre ce qui est mentionné ci-dessus, l'utilisation des cystes et nauplii d'*Artémia* en tant qu'aliments vivants dans l'aquaculture présente certaines limites. Les différences de taille des cystes et de longueur des naupliaires entre les populations d'*Artémia* sont bien documentées (Vanhaecke et Sorgeloos, 1980). Lavens et Sorgeloos (1996) ont rapporté que différents lots de cystes d'*Artémia*, récoltés dans le même lac, peuvent présenter des caractéristiques d'éclosion différentes. La qualité nutritionnelle des *Artémias* peut varier considérablement entre les souches et les espèces (Watanabe *et al.*, 1978 ; Léger *et al.*, 1986 ; Bengtson *et al.*, 1991). Ces propriétés peuvent affecter la réussite de l'utilisation des *Artémias* en tant qu'aliment vivant. C'est pourquoi une variété de cyste avec des caractéristiques qualitatives différentes est proposée sur le marché. En outre, les techniques de récolte et de traitement des cystes sont très variées, ce qui peut entraîner une qualité inférieure des cystes. La qualité globale des cystes peut en outre dépendre de caractéristiques telles que la saison de production des cystes, la quantité et la qualité de la nourriture disponible pour les adultes reproducteurs, les caractéristiques de la diapause des cystes, les niveaux de composés éventuellement toxiques. En outre, les cystes peuvent être exposés à des niveaux élevés de rayonnement UV, à des températures extrêmement élevées ou basses, à une anoxie prolongée, à une salinité élevée ou à des températures élevées ou à des cycles répétés d'hydratation et de dessiccation sévère à partir du moment où qu'ils sont relâchés dans l'eau par la femelle, qu'ils sont en suspension dans la colonne d'eau ou qu'ils s'accumulent le long des côtes et se couvrent de sédiments et de débris, etc. En tant qu'*Artémia* reste une denrée naturelle, la diversification des ressources demeure une question importante ainsi que la rationalisation de son utilisation (Mohamed Omar El-Magsodi, 2018)

### **11. Composition nutritionnelle de l'*Artémia***

L'*Artémia*, en tant que microorganisme aquatique, présente une composition nutritionnelle riche et variée qui en fait un élément clé des chaînes alimentaires aquatiques. Cette section examinera en détail les composants nutritionnels de l'*Artémia*, en mettant l'accent sur la teneur en protéines, lipides, glucides, vitamines et minéraux.

### 11.1. Teneur en protéines

L'Artémia est reconnue pour sa teneur élevée en protéines, ce qui en fait une source de nourriture précieuse pour de nombreuses espèces aquatiques. Les études ont montré que la teneur en protéines varie en fonction de l'âge et du stade de développement de l'Artémia. Par exemple, les nauplius et les juvéniles d'Artémia présentent une teneur en protéines plus élevée que les adultes (Vahdat et Oroujlou, 2021).

### 11.2. Teneur en lipides

Les lipides jouent un rôle essentiel dans le métabolisme de l'Artémia et sont une source d'énergie importante. Les lipides d'Artémia sont composés principalement de triglycérides et de phospholipides (Michael Oliewo Aluma., 2020). La teneur en lipides varie également en fonction des conditions environnementales, avec des concentrations plus élevées dans les environnements riches en nutriments (Guinot *et al.*, 2013).

### 11.3. Glucides, vitamines et minéraux

Les glucides sont présents en quantités relativement faibles dans l'Artémia, mais ils jouent un rôle important dans le métabolisme énergétique. L'Artémia contient également une gamme de vitamines essentielles, telles que la vitamine C, la vitamine E et diverses vitamines B. En ce qui concerne les minéraux, l'Artémia est une source importante de sels minéraux, notamment le potassium, le magnésium, le calcium et le phosphore (Aluma, 2020)

Ces composants nutritionnels variés font de l'Artémia un élément clé de l'alimentation de nombreuses espèces aquatiques, notamment les poissons et les crevettes en Algérie et dans d'autres régions du monde.

## 12. Problèmes taxonomiques de l'Artémia

La pratique taxonomique englobe deux activités distinctes, mais étroitement liées : la reconnaissance et la définition des unités biologiques résultant des processus de spéciation, ainsi que la fourniture d'un nom universel pour chacune de ces unités biologiques (Wiley, 1981 ; Minelli, 2003 ; De Carvalho *et al.*, 2005 ; Padial *et al.*, 2010). La reconnaissance des unités biologiques suit la méthodologie scientifique classique : observation, formulation d'hypothèses, collecte de données, test des hypothèses et proposition à la communauté scientifique en vue de tests ultérieurs, car les espèces sont également des hypothèses de travail. La fourniture d'un nom universel pour chaque animal est effectuée en appliquant

strictement les règles et recommandations d'un code de pratique, le Code international de nomenclature zoologique (Commission internationale de nomenclature zoologique, 1999), établi par la Commission internationale de nomenclature zoologique.

La confusion historique entre ces deux activités, l'identification des unités biologiques et leur nomination, a rendu la taxonomie une discipline presque obscure, presque mystique, difficile à intégrer à la société ou même à comprendre pour les scientifiques non-taxonomistes (Rosen, 1986 ; Dubois, 2003 ; Lipscomb, Platnick et Wheeler, 2003 ; Mace, 2004 ; Wheeler et Valdecasas, 2005 ; Garnett et Christidis, 2007 ; Ebach, Valdecasas et Wheeler, 2011).

La systématique et la nomenclature du branchiopode *Artemia leach*, 1819, illustrent clairement les problèmes que peut engendrer la pratique nomenclature lors de l'étude d'organismes modèles. Artémia est un groupe peu diversifié de petits crustacés branchiopodes d'eau hypersaline (Crustacea, Anostraca), actuellement constitué par moins d'une douzaine d'espèces réparties dans le monde entier. Ces organismes sont souvent associés à la production de sel et servent de modèle dans diverses recherches, tout en représentant une source alimentaire précieuse en aquaculture (Lenz, 1984 ; Sorgeloos *et al.*, 1986 ; Sorgeloos, Dhert et Candreva, 2001 ; Van Stappen, 1996 ; Ruebhart, Cock et Shaw, 2008 ; Amat *et al.*, 2005 ; Baxevanis, Kappas et Abatzopoulos, 2006).

Malgré le nombre limité d'espèces, les différents taxons au sein d'Artémia ont été désignés dans la littérature scientifique par plus de 50 noms, presque tous utilisés au niveau de l'espèce (Daday de Deés, 1910 ; Belk et Brtek, 1995 ; Rogers, 2013 ; Asem *et al.*, 2020). La plupart des noms appliqués de la fin du XVIIIe siècle au milieu du XXe siècle dans la caractérisation taxonomique d'Artémia ont été oubliés et n'ont pas été réutilisés par la suite. Certains de ces noms n'étaient pas accompagnés de descriptions adéquates ou étaient appliqués à des populations n'existant plus ou difficiles à localiser, rendant difficiles leur évaluation et leur application ultérieures (Fischer, 1851 ; King, 1855 ; Liévin, 1856 ; Verrill, 1869 en partie ; Grube, 1874 ; Walter, 1887 ; Grochowski, 1896). Cependant, cela n'a pas été le cas pour d'autres (Fischer de Waldheim, 1834 ; Verrill, 1869 en partie ; Sars, 1904).

L'abandon des anciens noms a entraîné une nouvelle série de descriptions d'espèces, parfois appliquées à des populations déjà nommées, générant des problèmes nomenclatureaux nécessitant des interventions directes de la Commission internationale de nomenclature zoologique (Commission internationale de nomenclature zoologique (CINZ), 1985, 1993). Toutefois, ces actions de la CINZ n'ont pas suffi à stabiliser la nomenclature des brachiopodes, et certains noms demeurent problématiques aujourd'hui. Les raisons de cette situation nomenclaturelle problématique sont diverses, certaines étant intrinsèques et liées aux

caractéristiques biologiques particulières d'*Artémia*, tandis que d'autres sont extrinsèques, liées à la perspective humaine de leur étude.

Parmi les facteurs intrinsèques, nous pouvons d'abord considérer la plasticité phénotypique morphologique et physiologique extrême montrée par *Artémia*. Ces crustacés peuvent subir des changements significatifs en termes de taille, de forme, voire même de degré de développement des structures anatomiques, en réaction à la concentration en sel à laquelle les premiers stades sont exposés au cours de leur développement (Schmankewitsch, 1875, 1876, 1877a, 1877b ; Artom, 1907a, 1907b ; Asem et Rastegar-Pouyani, 2010 ; Asem *et al.*, 2010). Un deuxième facteur notable est la diversité des modes de reproduction, allant de la reproduction bisexuée typique chez les Anostraca, à la parthénogenèse stricte, et de la production d'œufs de résistance (cystes) à une quasi-ovoviviparité (Artom, 1906a, 1906b, 1906c, 1908 ; Baxevanis, Kappas et Abatzopoulos, 2006 ; Maccari *et al.*, 2013, 2014). Une troisième source de complexité réside dans la présence de la polyploïdie, avec des spécimens parthénogénétiques de  $3n$ ,  $4n$  et  $5n$  qui peuvent coexister soit avec des spécimens diploïdes, soit en formant des populations exclusivement composées d'individus parthénogénétiques diploïdes ou tétraploïdes (Artom, 1913, 1921b ; Gross, 1932 ; Barigozzi, 1934, 1980 ; Barigozzi et Tosi, 1959 ; Zhang et Lefcort, 1991 ; Zhang et King, 1993 ; Sun *et al.*, 1999 ; Abatzopoulos *et al.*, 2002b, 2003 ; Maniatsi *et al.*, 2011 ; Asem, Eimanifar et Sun, 2016). Bien que l'on pourrait penser que les attributs reproducteurs pourraient simplifier la taxonomie d'*Artémia*, cette diversité a en réalité engendré une confusion taxonomique avec des descriptions multiples, les noms étant attribués indépendamment aux populations parthénogénétiques et bisexuées.

Les défis taxonomiques rencontrés chez *Artémia* découlent des évolutions dans les pratiques taxonomiques au fil du temps. La première période de la taxonomie des artémies a été marquée par une multiplication des noms d'espèces, définis sur la base de caractères morphologiques ultérieurement révélés comme étant variables, et généralement attribués à des populations d'une seule saline ou d'un seul lac salé (Fischer de Waldheim, 1834 ; Fischer, 1851 ; Liévin, 1856 ; Entz, 1886 ; Verrill, 1869 ; Grube, 1874 ; Walter, 1887 ; Grochowski, 1896 ; Günther, 1899 ; Sayce, 1903 ; Kellogg, 1906). Une deuxième période historique a impliqué la définition des espèces en fonction du mode de reproduction et de l'isolement reproducteur en laboratoire, couplés ou non à des analyses protéiques ou cytogénétiques. Au cours de cette période, des unités précédemment considérées ont été redéfinies, entraînant l'émergence d'un nouvel ensemble de noms (Piccinelli et Prosdoci, 1968 ; Bowen et Sterling, 1978 ; Barigozzi, 1980 ; Cai, 1989a, 1989b ; Browne et Bowen, 1991 ; Pilla et

Beardmore, 1994). La troisième et actuelle période de délimitation des espèces, principalement basée sur des informations moléculaires d'ADN, a conduit à l'introduction de quelques noms d'espèces supplémentaires, mettant l'accent sur la délimitation des espèces presque exclusivement grâce aux analyses de séquences mitochondriales (Asem, Eimanifar et Sun, 2016 ; Naganawa et Mura, 2017). En dépit de ces nombreuses propositions taxonomiques, un travail nomenclatural mal réalisé persiste, parfois enfreignant les principes de priorité, ignorant les descriptions antérieures d'espèces, ou présentant des localités types imprécises, voire ne désignant pas de spécimens types (Kellogg, 1906 ; Bowen et Sterling, 1978 ; Abatzopoulos *et al.*, 1998). Il est surprenant qu'une révision appropriée de la nomenclature selon les règles du Code international de nomenclature zoologique (Commission internationale de nomenclature zoologique, 1999) n'ait pas encore été entreprise pour l'un des invertébrés les plus largement commercialisés à l'échelle mondiale. Seules les tentatives de clarification menées par Asem, Rastegar-Pouyani et De Los Ríos-Escalante (2010) et, plus récemment, par Asem *et al.*, (2020), ont abordé les problèmes taxonomiques associés à l'Artémia asiatique indigène.

La résolution des problèmes taxonomiques liés à Artémia a probablement été évitée, soit en raison de l'inclusion précoce de données génétiques partielles, ce qui a compliqué l'image d'ensemble (Alonso, 1996), soit en raison de la prolifération précoce de noms, rendant la sélection de noms valides pour les taxons définit d'un point de vue moléculaire comme une tâche ardue. Les monographies ou catalogues mondiaux des Anostraca ont inclus tous les noms sous la synonymie d'Artémia salina (Linnaeus, 1758) (Linder, 1941 ; Botnariuc et Orghidan, 1953), ou plus récemment, ont considéré de nombreux noms disponibles comme nomina nuda (Belk et Brtek, 1995 ; Rogers, 2013).

Récemment, diverses équipes de recherche ont tenté de résoudre les problèmes taxonomiques découlant de la biologie complexe des artémies (Baxevanis, Kappas et Abatzopoulos, 2006 ; Muñoz *et al.*, 2008 ; Kappas *et al.*, 2009 ; Kappas, Baxevanis et Abatzopoulos, 2011 ; Maniatsi *et al.*, 2011 ; Maccari, Amat et Gómez, 2013 ; Maccari *et al.*, 2014 ; Eimanifar *et al.*, 2014 ; Asem, Eimanifar et Sun, 2016). Ces chercheurs ont réussi à traiter l'origine et les relations des souches parthénogénétiques, ainsi que les relations évolutives des populations polyploïdes. Cependant, les actes nomenclaturaux nécessaires pour régler la situation taxonomique des unités déjà identifiées ne peuvent pas être entrepris sans une révision complète de l'ensemble actuel des problèmes nomenclaturaux. Cette situation doit être clarifiée, y compris l'identification des zones réellement problématiques qui ont des conséquences directes sur l'identification des espèces, la conservation ou l'impact économique.

### 13. Obtention de données moléculaires

La découverte de la structure de l'ADN par Watson et Crick en 1953 a marqué le début de la génomique, une discipline dédiée à l'étude de la structure et du fonctionnement des génomes. Les avancées récentes en biologie moléculaire ont conduit à des progrès significatifs, tels que le séquençage complet du génome (Asem *et al.*, 2021).

L'émergence de la bio-informatique, en tant que discipline nouvellement créée, a apporté une assistance informatique cruciale à la biologie moléculaire. Cette discipline trouve des applications dans divers domaines, notamment la phylogéographie, la phylogénie, et les projets génomiques. Les progrès technologiques dans le domaine du séquençage ont permis la disponibilité d'une quantité considérable de données moléculaires (Chiraz 2014).

Ces données revêtent une importance particulière dans l'identification moléculaire des espèces, en particulier lorsque les caractéristiques morphologiques sont considérées comme "réduites" (Adamowicz *et al.*, 2010). L'utilisation des séquences d'ADN comme source d'information complémentaire à une classification morphologique s'avère être une solution adaptée dans de tels contextes (Lanzotti *et al.*, 2022, Zhou *et al.*, 2023)

### 14. Marqueurs moléculaires

La diversité des espèces représente un sujet d'une importance capitale pour les scientifiques ainsi que pour le grand public. L'intérêt croissant pour la biodiversité a incité à explorer de nouvelles approches et outils, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives dans ce domaine. L'une des approches particulièrement prometteuses qui a émergé au cours de la dernière décennie est celle de la génétique moléculaire (Machida *et al.*, 2009 ; Bucklin *et al.*, 2011). Cette approche vise à développer de nouveaux critères d'identification et à permettre la discrimination entre les espèces (Hebert *et al.*, 2003 ; Stoeckle et Hebert, 2008). L'étude des marqueurs génétiques constitue l'un des instruments établis dans le cadre de cette initiative.

Les marqueurs moléculaires sont des éléments génétiques polymorphes employés pour caractériser les variations génétiques au sein de groupes d'individus. Ils permettent d'analyser la répartition du polymorphisme à différents niveaux, incluant l'intra-individuel, l'intra populationnel, et l'intraspécifique (Asem *et al.*, 2021). Le choix des marqueurs génétiques repose sur divers critères tels que leur taux d'évolution, leur structure, et leur universalité.

Le niveau d'information génétique obtenu grâce aux marqueurs moléculaires est influencé par leur taux d'évolution. Ces marqueurs peuvent être classés en catégories codantes ou non codantes, en fonction de variations de longueur ou de séquence (De Vienne, 1998). Ces classifications orientent les approches de développement des marqueurs et les méthodes moléculaires utilisées pour les détecter.

Le développement des marqueurs moléculaires a été étendu à un nombre croissant d'espèces, visant à améliorer la compréhension de leurs relations généalogiques (Sunnucks, 2000), à établir une "cartographie génétique" pour marquer le génome, ou à fournir une description plus détaillée de leur diversité génétique et de leur classification taxonomique (Chen *et al.*, 2011). Les marqueurs moléculaires présentent l'avantage de mettre en évidence les flux géniques entre taxons proches, de permettre la distinction entre espèces sœurs ou cryptiques, où les taxons ne sont discernables que par des caractères mal définis. Ainsi, la combinaison de marqueurs morphologiques et moléculaires devient de plus en plus intéressante pour étudier la délimitation entre taxons au sein de complexes d'espèces (Muñoz *et al.*, 2008)

#### **14.1. Marqueurs utilisés**

##### **14.1.1. ADN mitochondrial et 'ADN nucléaire**

Au cours des dernières décennies, des méthodes d'identification des espèces basées sur l'ADN moléculaire, telles que le code-barres ADN, ont été établies pour étudier la biodiversité, en particulier lorsque l'information morphologique est limitée (Kneib *et al.*, 2014).

Des approches plus récentes, comme le métabarcoding de l'ADN environnemental (eDNA), ont également été testées (Taberlet *et al.*, 2012). L'eDNA, défini comme l'ensemble de l'ADN extrait d'échantillons environnementaux tels que le sol, l'eau ou l'air (Barnes *et al.*, 2016) présente un défi de distinction entre l'ADN intraorganismal, extraorganismal, et extra membranaire au sein d'un échantillon d'eDNA (Turner *et al.*, 2015). Cette étude se concentre spécifiquement sur l'eDNA "extracellulaire" ou "extraorganismal" présent dans l'environnement marin (Taberlet *et al.*, 2012). Les premières analyses de l'eDNA microbienne provenant des sédiments remontent au siècle dernier (Ogram *et al.*, 1987). Au cours de la dernière décennie, l'application de l'eDNA s'est étendue aux études de la flore et de la faune, révélant diverses applications telles que la description des processus écosystémiques, l'estimation de l'abondance relative et la détection d'espèces envahissantes connues et inconnues (Thomsen *et al.*, 2015). Ces méthodes ont même été utilisées pour surveiller des environnements actuels et anciens (Créer *et al.*, 2016).

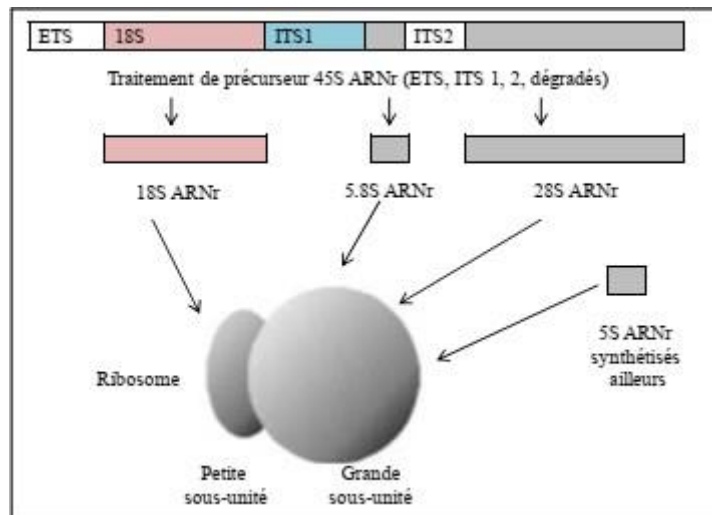
Jusqu'à présent, peu d'études ont appliqué l'analyse d'eDNA à l'identification des espèces dans des échantillons d'eau de mer ou des réservoirs d'aquarium d'eau de mer. La plupart de ces études se sont limitées à des groupes taxonomiques spécifiques tels que les poissons (Yamamoto *et al.*, 2017), les mammifères (Foot *et al.*, 2012), ou l'ensemble des vertébrés (Andruszkiewicz *et al.*, 2017). En revanche, O'Donnell *et al.*, (2017) a adopté cette approche pour étudier l'ensemble des métazoaires, visant à quantifier les schémas spatiaux des communautés dans un environnement marin dynamique. Dans l'ensemble, les fragments d'ADN analysés, principalement issus de gènes mitochondriaux tels que les ARN ribosomiques 12S ou 16S, ou le cytochrome b (cytb), ont varié en longueur de 60 à 185 paires de bases (pb). L'utilisation de gènes mitochondriaux présente l'avantage d'une corrélation démontrée avec l'abondance relative dans certains cas (Ji *et al.*, 2013).

Chez les organismes eucaryotes animaux, l'ADN est présent sous forme de deux génomes distincts : le génome nucléaire (ADNn) et le génome mitochondrial (ADNmt) (Chiraz Ladher, 2014)

L'ADNmt est souvent préféré à l'ADNn en raison de sa vitesse d'évolution plus élevée, environ 5 à 10 fois supérieure chez les mammifères (Wilson *et al.*, 1985). De plus, il échappe aux complications liées à la recombinaison et au polymorphisme individuel qui sont inhérents à l'ADNn. Cette molécule d'ADN circulaire double brin réside dans les mitochondries des cellules eucaryotes et est abondante, présente à des milliers d'exemplaires par cellule. Dans le règne animal, la taille du génome mitochondrial est d'environ 16 Kb, bien que cette taille puisse varier de 14 à 48 Kb (Minxiao *et al.*, 2011). L'ADNmt est utilisé dans environ 70 % des études phytogéographiques en raison de ses caractéristiques favorables (Avisé, 2000).

#### 14.1.2. Gènes et régions ribosomales nucléaires et mitochondriales

Dans le génome eucaryote nucléaire, une cassette ribosomale (Figure 10) englobe les gènes 18S, 5.8S et 28S, séparés par les régions intercalaires transcrites, à savoir ITS1 et ITS2. Les zones adjacentes aux cassettes correspondent aux régions transcrites externes, désignées sous le nom de ETS (External Transcribed Spacer) (Harris et Crandall, 2000).



**Figure 10:** Cassette ribosomale (Marine Flatworms of the World, Wolfgang Seifarth 1997-2002, Trang, 2006)

Les gènes responsables de la synthèse des ARNr sont hautement conservés et présents en abondance dans toutes les cellules, facilitant ainsi les comparaisons entre les différentes copies intracellulaires (Asem *et al.*, 2021). En revanche, les régions ITS1 et ITS2 présentent une moindre conservation par rapport aux gènes 18S, 5.8S et 28S, principalement en raison de la pression sélective réduite qui s'exerce sur ces parties non codantes. C'est pourquoi les séquences des ITS sont préférentiellement utilisées pour la discrimination des espèces (Asem *et al.*, 2017). De plus, leur longueur, ne dépassant pas 1000 paires de bases, les rend adaptées à l'étude de la structure phylogénétique de diverses communautés autotrophes et hétérotrophes (Chen *et al.*, 2002). D'autres marqueurs génétiques ont démontré leur efficacité pour les analyses intraspécifiques, telle que le Cytb, qui accumule une diversité nucléotidique suffisante, en faisant un choix pertinent pour les études phylogénétiques intraspécifiques des mollusques et potentiellement d'autres invertébrés (Merritt *et al.*, 1998).

Les séquences codant pour le cytochrome b (Cytb) et le COI présentent une plus grande variabilité que les séquences nucléaires 28S et 18S (Clarke *et al.*, 2017 ; Williams *et al.*, 2010 ; Blanco-Bercial *et al.*, 2011). Cette variabilité accrue s'explique par la conservation élevée des gènes des ARNr, qui jouent un rôle central et vital dans le fonctionnement cellulaire, les rendant sensibles à la pression de sélection. Par ailleurs, le génome mitochondrial évolue plus rapidement que le génome nucléaire. Les gènes mitochondriaux, tels que le COI et le Cytb, sont principalement utilisés pour étudier les relations de parenté au niveau du genre et de la famille en raison de leur variabilité élevée (Harrison, 2004 ; Pfeiler *et al.*, 2005). Les analyses

du polymorphisme mitochondrial offrent également des perspectives intéressantes pour comprendre l'histoire de l'expansion géographique des espèces (Muths *et al.*, 2008).

Le gène responsable de la première sous-unité de la cytochrome oxydase (COI) subit une pression sélective significative, malgré laquelle il maintient un niveau élevé de variabilité. Étant donné son caractère codant, ce gène est sujet à de nombreuses mutations silencieuses qui n'altèrent pas le fonctionnement cellulaire. En comparaison avec l'ITS, qui est non codante, les mutations observées dans le COI sont nettement plus nombreuses (Eimanifar *et al.*, 2014).

Cette variabilité représente une information précieuse pour la distinction entre espèces, populations, voire même entre individus au sein d'une même population (Tang *et al.*, 2003). Les séquences du gène COI ont été utilisées avec succès pour établir des différences génétiques entre les populations de zooplancton, permettant ainsi l'étude de leur phylogéographie (Blanco-Bercial *et al.*, 2011). De même, l'utilisation du COI a conduit à l'identification de nouvelles espèces de crustacés branchiopodes en eau douce (Jeffery *et al.*, 2011). Ce gène a également facilité une séparation plus précise entre les espèces de bivalves telles que *Cerastoderma glaucum* et *Cerastoderma edule* (Freire *et al.*, 2005), *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis* (Kijewski *et al.*, 2009), ainsi que *Cerastoderma gigas* et *Cerastoderma angulata* (Arnaud et George, 2000).

## 15. Interactions entre la Biogéographie, la Phylogénie et la Phylogéographie

D'après Darwin (1859), l'évolution des espèces repose sur l'accumulation de mutations aléatoires conjuguée aux mécanismes de sélection naturelle. Ces processus permettent aux espèces ou aux populations de s'adapter à leur environnement, engendrant ainsi leur diversification. Afin de saisir l'évolution du monde vivant, il devient essentiel de comprendre comment les organismes se répartissent dans le temps et l'espace. La biogéographie, en tant que discipline scientifique, se donne pour objectif d'étudier la distribution géographique des taxons à l'échelle des peuplements (Muñoz *et al.*, 2008). Elle identifie les caractéristiques partagées par ces distributions et vise à dévoiler les processus ainsi que les phénomènes environnementaux, biologiques et historiques qui y sont impliqués (Myers et Giller, 1988).

La configuration géographique apparaît comme un facteur déterminant les variations entre les populations, comme démontré dans une étude réalisée par (Muñoz *et al.*, 2008) sur les populations de l'Artémia. Pour élucider les liens de parenté entre différents taxons en vue de reconstituer l'histoire évolutive de ces taxons, l'approche phylogénétique se révèle être une méthode pertinente. Cette méthode peut être appliquée non seulement à un niveau interspécifique, mais également à un niveau intraspécifique. Initialement, les phylogénies

étaient élaborées en se basant principalement sur des données morphologiques. Cependant, de nos jours, les relations entre les espèces, ainsi qu'à l'intérieur de celles-ci, sont évaluées à l'aide de données moléculaires (Chiraz Ladhar., 2014).

Le résultat d'une analyse phylogénétique se présente sous la forme d'un arbre phylogénétique, une représentation graphique des liens de parenté entre les groupes d'organismes vivants (Sainz-Escudero *et al.*, 2022). Le nombre de nœuds entre les branches, symbolisant les ancêtres communs, reflète le degré de parenté entre les taxons. Une plus grande quantité de nœuds, et par conséquent d'ancêtres, entre deux espèces indique une parenté plus éloignée, signifiant que leur ancêtre commun est ancien. Dans toute démarche de reconstruction phylogénétique, l'approche moléculaire est privilégiée, car elle permet de créer des phylogénies à différents niveaux taxonomiques. Le séquençage des gènes demeure l'une des méthodes les plus couramment utilisées pour élucider les relations phylogénétiques, tant à l'échelle interquartiers que intra espèces.

En s'appuyant sur des approches similaires, une discipline dérivée de la biogéographie et de la phylogénie, la phylogéographie, a émergé pour explorer les principes et les processus régissant la répartition géographique des lignées généalogiques, en particulier à un niveau intraspécifique. Cette discipline fournit des données cruciales pour alimenter et tester les hypothèses biogéographiques. Elle examine les phénomènes génétiques et démographiques, notamment les mécanismes de spéciation, processus évolutifs donnant naissance à de nouvelles espèces vivantes, qui ont façonné la distribution spatiale et temporelle de groupes monophylétiques, qu'ils soient animaux ou végétaux (Avisé *et al.*, 1987), contribuant ainsi à la structuration actuelle des populations. Ainsi, la biogéographie, la phylogénie et la phylogéographie se complètent mutuellement en explorant principalement la distribution de la diversité biologique (Muñoz *et al.*, 2010).

*Chapitre II : Biométrie et la  
qualité d'éclosion de  
l'Artémia*

## Introduction

L'aquaculture, en tant que secteur en constante expansion, joue un rôle central dans la satisfaction croissante de la demande mondiale en produits aquatiques (Xiao-Fang Wu *et al.*, 2022). La production durable de poissons et crustacés repose non seulement sur des pratiques d'élevage efficaces, mais également sur la qualité des aliments vivants utilisés dans le processus de nutrition larvaire (Sebesta *et al.*, 2018). Parmi ces organismes essentiels, l'Artémia, une petite crevette branchiopode, occupe une place prépondérante en tant que source nutritive clé, en particulier pour les larves de poissons marins (Kujawa *et al.*, 2017).

L'Algérie, avec ses vastes étendues de salins, offre un environnement propice à l'élevage de l'Artémia. La qualité d'éclosion de cette crevette revêt une importance capitale dans la réussite des programmes d'aquaculture. Cependant, la diversité des souches d'Artémia, associée à des conditions environnementales variables, soulève des questions cruciales quant à la biométrie de ces organismes et à son impact sur la qualité d'éclosion.

Les informations sur la variation biométrique des cystes dans de nouveaux environnements restent limitées. Outre plusieurs facteurs biologiques, tels que la nutrition et le pourcentage d'éclosion, l'efficacité d'éclosion (c'est-à-dire le nombre de nauplii obtenus par gramme de cystes secs) joue un rôle crucial dans l'évaluation de la qualité des cystes et dans leur commercialisation (Sellami *et al.*, 2020).

Bien que les conditions physico-chimiques puissent influencer le pourcentage et l'efficacité d'éclosion (Camargo *et al.*, 2004 ; Sayg, 2004 ; Salma *et al.*, 2012 ; El-Magsodi *et al.*, 2016 ; Sharahi et Zarei, 2016), la taille des cystes d'Artémia a un impact sur le nombre d'œufs par unité de poids, un paramètre crucial pour l'efficacité d'éclosion indépendamment des conditions d'éclosion (Asem *et al.*, 2007, 2010). La biométrie, une discipline émergente qui quantifie les caractéristiques biologiques à l'aide de mesures précises, offre un cadre méthodologique pour évaluer la variabilité morphologique, génétique et physiologique au sein des populations d'Artémia. Comprendre ces variations est essentiel pour optimiser les procédés d'élevage, notamment en ce qui concerne l'alimentation des larves dans les unités d'aquaculture.

Cette étude s'engage à explorer la biométrie de l'Artémia en Algérie et à évaluer son lien direct avec la qualité d'éclosion. En se basant sur des analyses précises des paramètres biométriques et des facteurs environnementaux, elle vise à fournir des informations cruciales pour améliorer la gestion de l'Artémia en tant que ressource aquacole. En mettant en lumière

les spécificités locales et en examinant les implications pour l'éclosion réussie, cette recherche aspire à contribuer de manière significative aux pratiques d'aquaculture durable en Algérie et au-delà.

## **1. Objectifs**

L'objectif de la recherche était d'étudier le diamètre et la qualité d'éclosion des cystes des différentes populations algériennes, collectés dans leur milieu naturel et reproduits en laboratoire. Par manque de matériel biologique, la détermination de certains paramètres d'éclosion a été possible uniquement pour cinq populations prélevées de leur milieu naturel.

## **2. Matériel et méthodes.**

### **2.1. Zone d'étude**

L'Algérie compte un nombre important de lacs hypersalés continentaux (chotts et sebkhas), répartis entre les deux chaînes montagneuses de l'Atlas tellien, l'Atlas saharien et l'Erg oriental. Ces écosystèmes hypersalins font partie des ressources les plus précieuses sur le plan de la diversité biologique et de la productivité naturelle (Demnati, 2017). Au cours de ce travail, six environnements hypersalins situés dans différentes zones géographiques ont été étudiés :

#### **2.1.1. Saline de Bethioua**

La saline de Bethioua est distante de 15 km de la côte méditerranéenne. Elle est située à 20 km au sud de la ville d'Arzew et à 50 km de la ville d'Oran. Elle se trouve sur une altitude de 58,6 m de la mer, la latitude 35° 41' 21" Nord et la longitude 0° 18' 15" west. Elle a une superficie de 2900 hectares et atteint une profondeur maximale d'environ 1,20 m et se caractérise par un climat méditerranéen. Le lac est actuellement géré par la Nationale Salt Company (NSC ou ENASEL).

#### **2.1.2. La sebkhat de Timimoune**

La sebkhat de Timimoune est localisée au niveau de la wilaya de Timimoune dont les coordonnées géographiques sont 29° 02'54" Nord et 0° 03'59" Est. Le climat de la région est du type saharien hyperaride, les températures moyennes fluctuent entre 19°C en janvier et 45°C en juillet.

#### **2.1.3. Le Chott Marouane**

Chott Merouane est situé dans la zone est du Sahara d'Algérie à une quinzaine de kilomètres de la wilaya de Meghaeir dont les coordonnées géographiques sont 34° 02' 45" Nord - 6° 02' 06" Est. Le climat est du type aride. Il dispose d'une superficie de 350 km<sup>2</sup> et une profondeur

moyenne de 9m. Il est géré par l'ENASEL (Entreprise Nationale du Sel) qui l'exploite partiellement sur une longueur d'environ 2,5 km du côté ouest. Son alimentation en eau est assurée par les apports pluviaux, les oueds (El-Mellah et El-Krouf). La salinité est très élevée, elle varie entre 230 et 360 PSU et les températures sont élevées et atteignent souvent 50 °C en été.

#### **2.1.4. Le lac El Bahira**

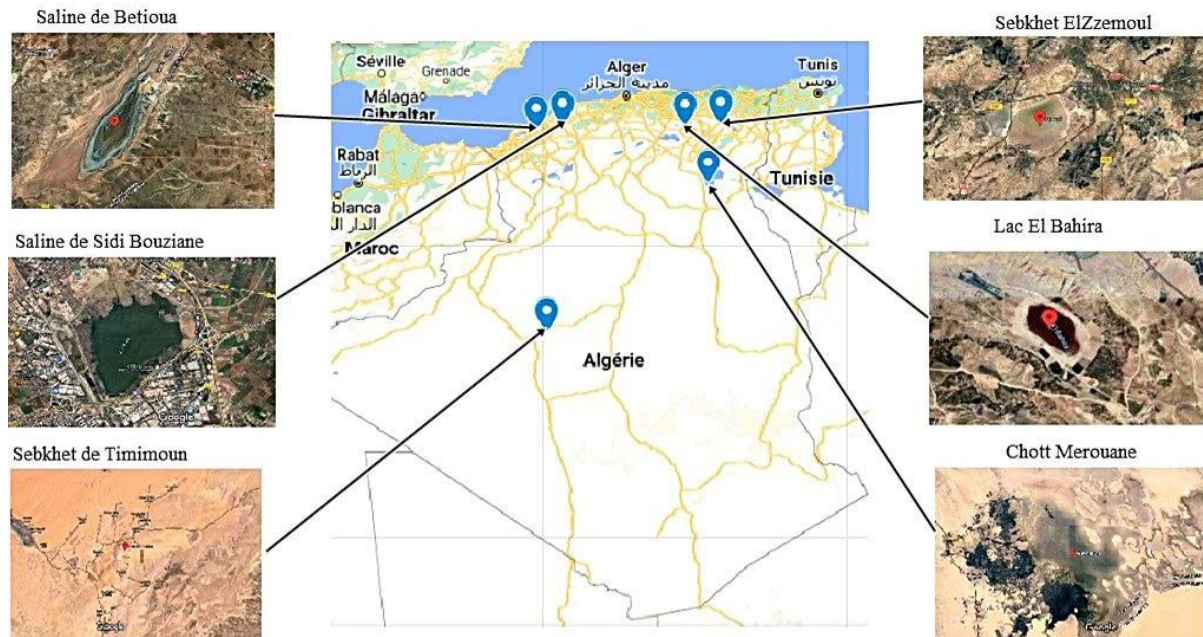
Le lac El Bahira est situé dans les hauts plateaux du nord-est de l'Algérie à proximité de la wilaya de Sétif dont les coordonnées géographiques sont 35° 50' 07" N et 5° 15' 04" E. Le climat est du type semi-aride, sa superficie est 10 ha.

#### **2.1.5. Sebkhât Ez-Zemoulee**

Sebkhât Ez-Zemoulee est situé sur les hauts plateaux du nord-est de l'Algérie dans la wilaya d'Oum El Bouaghi. Elle est distante de 17 km au sud d'Ain M'lila commune d'Ouled Zouai dont les coordonnées géographiques sont 35° 52' 57" N et 6° 32' 54" E de l'Algérie. Le climat est du type semi-aride. Elle a une superficie de 6765 ha et une profondeur de 0,6 mètre. La sebkha est divisée en 12 tables salantes ou bassins de concentration et un bassin de cristallisation, gérée par l'ENASEL (Kharroub, 2007).

#### **2.1.6. Saline de Sidi Bouziane**

La saline de Sidi Bouziane est situés au nord-ouest du pays à environ 18 km de la ville de Relizane dont les coordonnées géographiques sont 35° 51' 07" N-0° 39' 02" E. Le climat est du type semi-aride. Elle a une superficie de 1740 ha dont 32 ha sont répartis en huit étendues, constituant les tables salantes destinées à la production de sel, gérées par l'ENASEL (Bennabi *et al.*, 2015)



**Figure 11** : Répartition géographique des zones d'échantillonnage des cystes.

### 3. Exploitation des cystes et la Récolte

Les échantillons de cystes utilisés dans cette étude ont été prélevés entre 2019 et 2020 dans six lacs hypersalins d'Algérie. La récolte des cystes est effectuée sur les berges des lacs et transportée dans la saumure. Une fois au laboratoire, ils sont nettoyés avec de l'eau de mer et séparés des impuretés en utilisant différents tamis de 125  $\mu\text{m}$ , 400 $\mu\text{m}$  et 600 $\mu\text{m}$  de maille sous vide.

Une fois récoltés, les cystes sont traités selon la méthode de Sorgeloos *et al.*, (1986) (voir figure 12). Les étapes sont les suivantes

#### 3.1. Séparation par densité dans la saumure saturée.

Cette opération a été réalisée dans une ampoule de décantation et a pour but de séparer les débris lourds, qui sédimentent au fond, des cystes et des débris légers qui surnagent à la surface de la saumure.

#### 3.2. Lavage à l'eau douce

Le lavage est effectué à l'eau de robinet dans des tamis à 125 $\mu\text{m}$  pendant 5 à 10 min pour enlever le sel.

### **3.3. Séparation par densité dans l'eau douce**

Cette étape est également réalisée dans une ampoule de décantation pendant une durée ne dépassant pas les 15 min pour que les cystes n'atteignent pas le niveau d'hydratation qui déclenche le métabolisme embryonnaire. Elle permet d'obtenir des cystes pleins qui sédimentent au fond de l'ampoule et des débris légers ainsi que des cystes vides qui remontent à la surface de l'eau

### **3.4. Séchage**

Les cystes pleins obtenus sont étalés en couches minces et séchés à l'étuve à une température de 35°C pendant 48 heures.

### **3.5. Stockage**

Une fois séchés, les cystes sont conservés dans des boîtes métalliques ou dans des sacs en plastique sous vide, dans l'obscurité et à température ambiante. Ces conditions sont indispensables, car elles permettent de garder les embryons se trouvant dans les cystes pendant plusieurs années sans être endommagés.

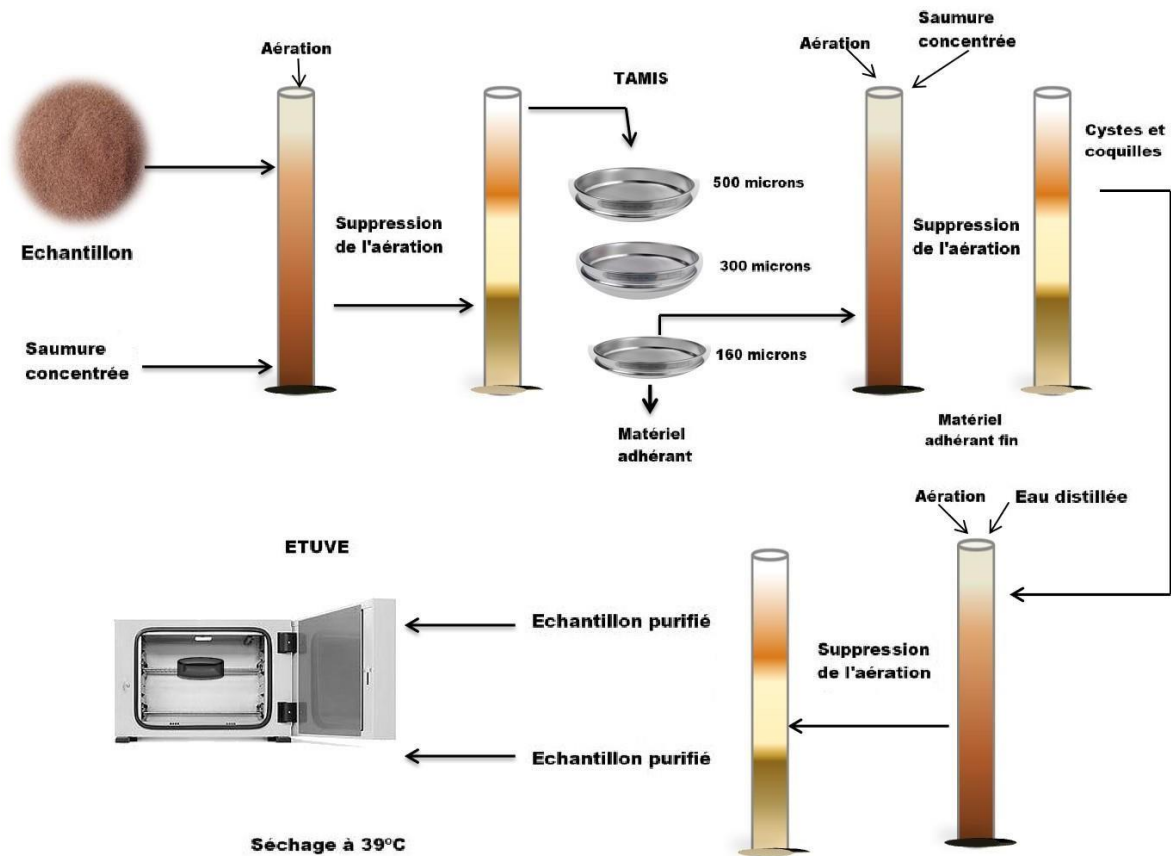


Figure 12 : Schéma de la méthodologie adoptée pour le processus de purification

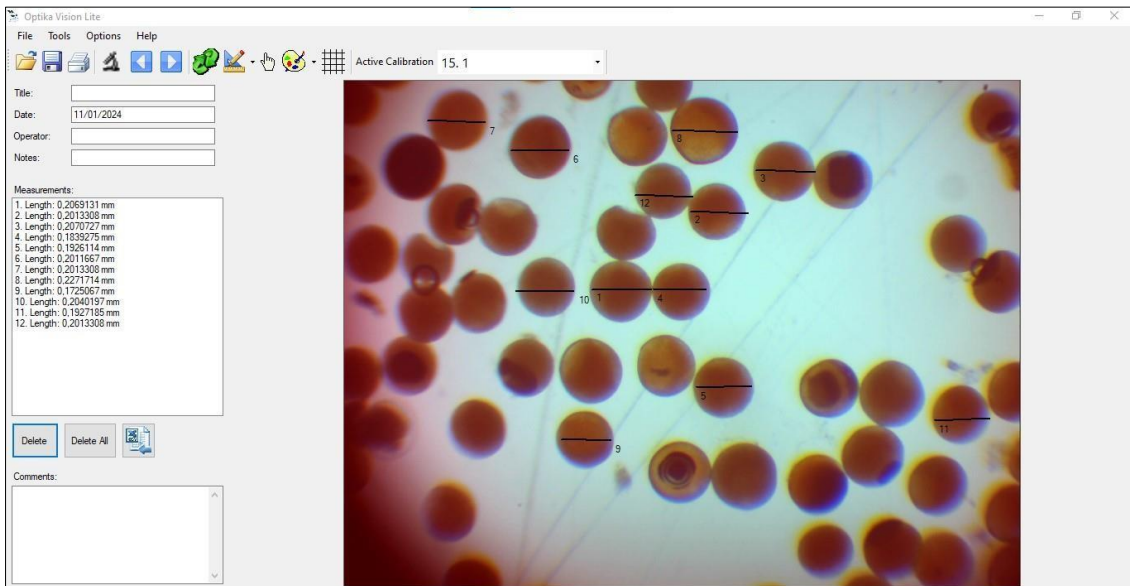
#### 4. Étude biométrique :

Le diamètre des cystes hydratés ( $n=100$ ) a été mesuré sous un microscope muni d'un oculaire micrométrique calibré (figure 13), conformément à la méthode de Sorgeloos (1997). Pour ce faire les cystes sont d'abord hydratés pendant 2 h dans l'eau de mer, jusqu'à ce que l'on observe que les cystes sont complètement sphériques (figure 14), et puis fixés dans du lugol à 1% pendant toute la nuit. Pour ce qui est des cystes décapsulés, 1 g de cystes de chaque échantillon est hydraté dans l'eau de mer pendant 2 heures et ensuite décapsulé avec l'hypochlorite de sodium selon la méthodologie décrite dans Sorgeloos *et al.*, (1986). Une fois décapsulés (figure 14), les cystes sont fixés avec du Lugol à 1% pendant 1 h et laissés toute la nuit dans l'obscurité (Sorgeloos, 1997).

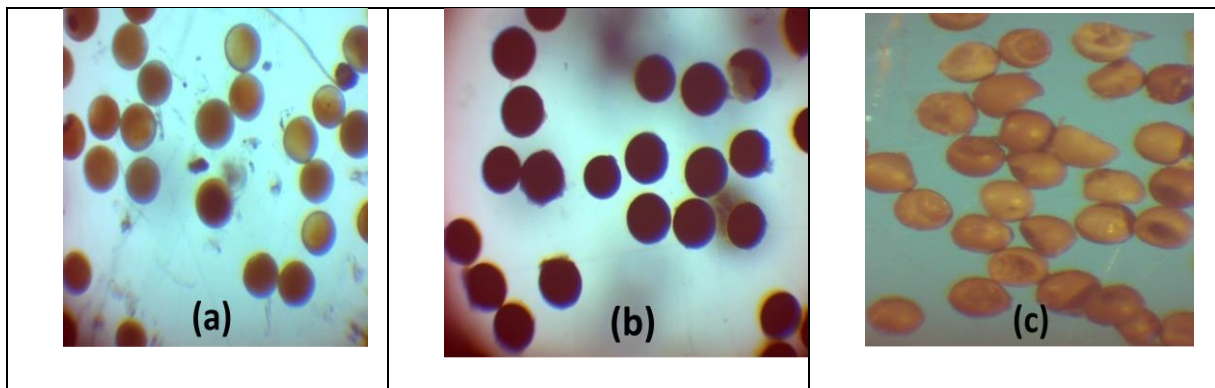
Le diamètre des cystes décapsulés ( $n=100$ ) a été mesuré comme cité ci-dessus et l'épaisseur du chorion est calculée selon la méthodologie décrite dans Sorgeloos (1997) :

$$\text{Épaisseur du chorion} = \frac{\text{diamètre des cystes hydratés} - \text{diamètre des cystes décapsulés}}{2}$$

Les données ont été analysées statistiquement par une ANOVA standard à facteur unique.



**Figure 13 :** Mesure des cystes au microscope USB en ligne



**Figure 14 :** Cystes d'Artémia sous différents états : a : décapsulé ; b : hydraté ; c : normal

## 5. Paramètres d'éclosion

Il existe différents paramètres pour déterminer la qualité de l'éclosion d'un échantillon de cyste d'Artémia

### 5.1. Détermination du pourcentage d'éclosion (H %)

Il s'agit du nombre de nauplii qui peuvent être produits dans des conditions d'éclosion standard à partir de 100 cystes pleins. Ce critère ne tient pas compte des impuretés des cystes (c'est-à-dire les coquilles fissurées, le sel, etc.) et traite uniquement la capacité d'éclosion des cystes pleins (Bruggeman *et al.*, 1980).

Les cystes sont incubés dans des tubes cylindroconiques immergés en position verticale, dans un bain Marie. Le pourcentage d'éclosion des cystes est déterminé selon la méthode décrite par Sorgeloos *et al.*, 1986 selon des conditions standards d'incubation :  $T = 25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $S = 35$  à  $37\text{‰}$ ,  $\text{pH} = 8$  à  $9$  et photopériode 24 h lumière (intensité lumineuse = 1000 à 2000 lux), (figure 15) le pourcentage d'éclosion est calculé selon la formule suivante (Sorgeloos et Kulasekarapandian, 1984) :

$$\text{H\%} = [\text{N} / (\text{N} + \text{C})] \times 100$$

Où :

N : nombre de nauplii, C : nombre de cystes



**Figure 15 :** Dispositif expérimental pour évaluer le taux et l'efficacité d'éclosion

## 5.2. Efficacité de l'éclosion

Sorgeloos *et al.*, (1978), évoquent le paramètre de l'efficacité d'éclosion (Hatching Efficiency HE) défini comme étant le nombre de nauplii obtenu dans un gramme de cystes déshydraté ou bien le poids de cyste nécessaire pour obtenir un million de nauplii. Ce paramètre représente une grande utilité surtout quand il s'agit de quantifier la qualité de l'éclosion d'un produit par rapport à son utilisation pratique comme source d'aliment pour un élevage larvaire. L'efficacité d'éclosion est donnée par la formule suivante :

$$\text{HE} = \text{N} \times 4 \times 100 \times 4$$

### 5.3. La vitesse d'éclosion

L'analyse de la vitesse ou le synchronisme de l'éclosion est impératif, ainsi il est évalué le temps d'incubation nécessaire pour obtenir 10 et 90% du total de nauplii qui éclore (T10 et T90). Ces périodes sont plus fiables et simples à déterminer, vues que les courbes d'éclosion décrivent des formes sigmoïdes correspondant dans la réalité à des valeurs concrètes (T10 temps nécessaire d'incubation pour l'éclosion des premiers cystes, T90 temps pour l'éclosion des derniers cystes).

La synchronie d'éclosion ou temps d'éclosion  $T_s$ , exprime la synchronisation de l'éclosion des cystes. Plus  $T_s$  est grand plus la synchronisation d'éclosion des cystes est faible, et inversement. Il est estimé selon la formule suivante :

$$T_s = T_{90} - T_{10}$$

## 6. Résultat

### 6.1. Paramètres biométriques

Les résultats des mesures des diamètres des cystes hydratés et décapsulés ainsi que l'épaisseur du chorion sont récapitulés dans le Tableau 1.

**Tableau 1** : Les résultats du diamètre hydraté et décapsulé des cystes et de l'épaisseur du chorion

<b>Cystes Saline</b>	<b>Hydraté (µm)</b>	<b>Décapsulé (µm)</b>	<b>Épaisseur de chorion (µm)</b>
<b>El Bahira</b>	276± 20 <sup>a</sup>	233,5±15,5 <sup>c</sup>	21,25
<b>Timimoune</b>	237,5±15,5 <sup>c</sup>	202,5±12,5 <sup>d</sup>	17,5
<b>Chott Merouane</b>	239,5±14 <sup>c</sup>	188,5±14 <sup>c</sup>	25,5
<b>Sidi Bouziane</b>	262,5±24 <sup>b</sup>	201±41 <sup>d</sup>	30,75
<b>Bethioua</b>	241,5±16 <sup>c</sup>	207,5±16,5 <sup>d</sup>	17
<b>Ez-Zemoule</b>	242,5±17,5 <sup>c</sup>	208±15,5 <sup>d</sup>	17,25

Le diamètre des cystes hydratés non décapsulés varie entre 237.5 µm et 276 µm respectivement pour Sebkhet Timimoune et le lac d'El bahira. Il existe une différence significative entre le diamètre des cystes (ANOVA à sens unique,  $p < 0,05$ ).

Le diamètre des cystes décapsulés varie entre 188.5 µm et 233.5 µm. De même des différences significatives (une voie ANOVA à sens unique,  $p < 0,05$ ) ont également existé pour les diamètres des cystes décapsulés.

Les cystes hydratés du lac El Bahira et la saline de Sidi Bouziane étant significativement plus grands que les autres (276 µm et 262.5 µm) respectivement (figure16).

Il est à noter que l'épaisseur du chorion des cystes de la saline de Bethioua étant sensiblement inférieure à celle des cystes collectés au niveau des différentes salines d'échantillonnage (17 µm), suivi par les populations d'Ez-Zemoule (17.25 µm). La Saline de Sidi Bouziane. La couche de chorion la plus épaisse appartient aux populations de Sidi Bouziane (30.75 µm).

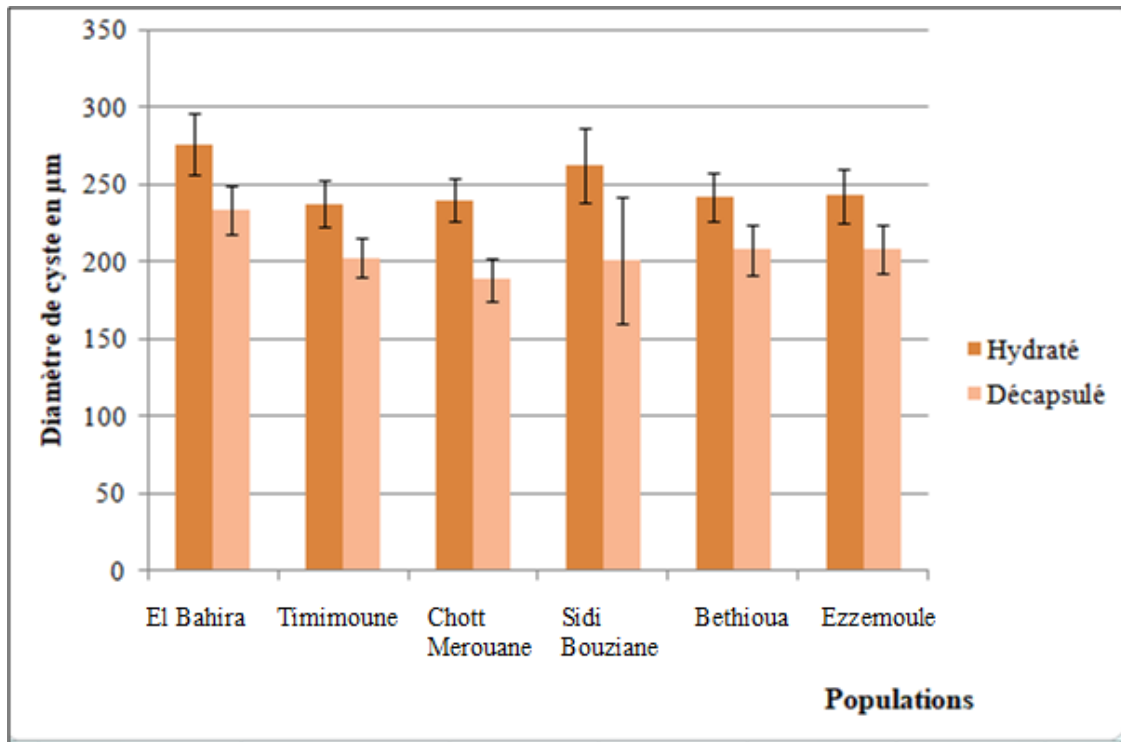


Figure 16 : Diamètre des cystes hydratés et décapsulés

## 6.2. Paramètres d'éclosion

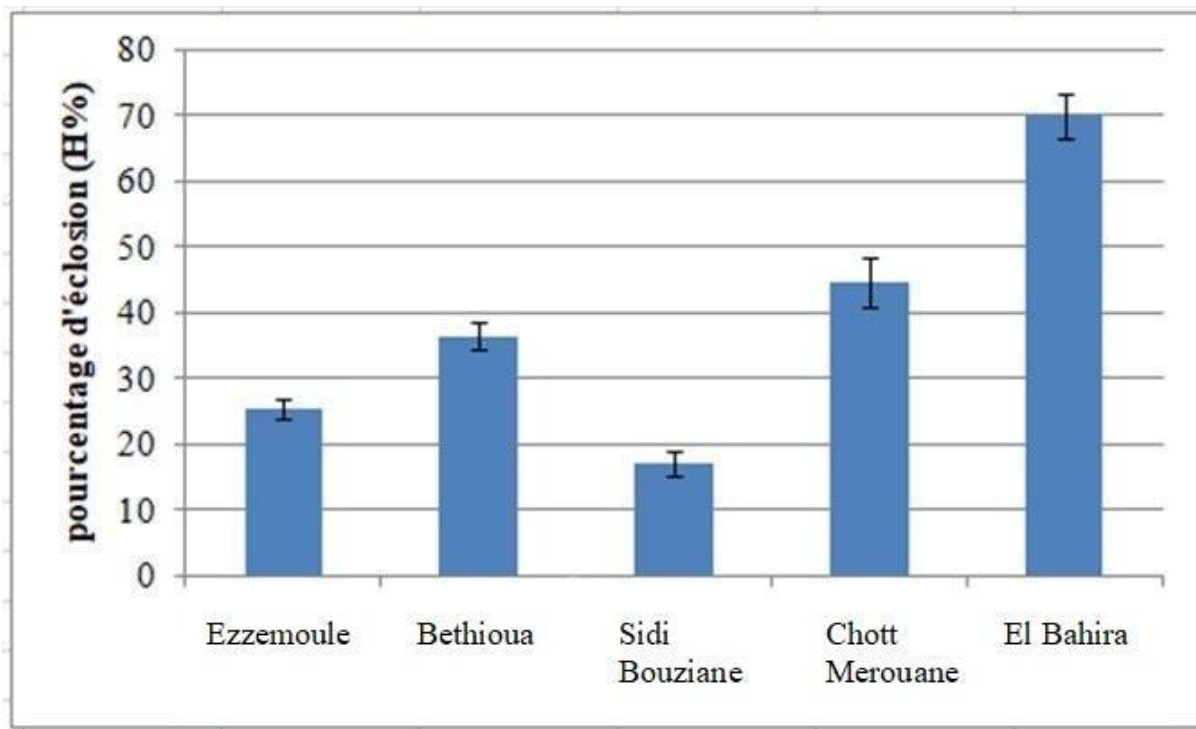
Les résultats du pourcentage d'éclosion sont représentés dans le tableau 2 (ANOVA à sens unique,  $P < 0,05$ ).

**Tableau 2 :** Résultats de l'analyse de l'éclosion des échantillons des cystes des populations provenant de différents lacs salés d'Algérie.

Saline	H%	EH	TS (heure)
Ez-Zemoule	$25,333 \pm 1,528^d$	39040	$4 \pm 1^b$
Betioua	$36,333 \pm 2,082^c$	94720	$3,8 \pm 1,311^b$
Sidi Bouziane	$17 \pm 2^c$	35840	$10 \pm 2,166^a$
Chott marouane	$44,667 \pm 3,786^b$	105600	$5 \pm 1,562^b$
El Bahira	$69,833 \pm 3,329^a$	159200	$7 \pm 2^{ab}$

En ce qui concerne les paramètres d'éclosion, il est à noter que la souche du lac El Bahira qui présente les valeurs les plus élevées, avec un pourcentage d'éclosion de 69,83%, une efficacité d'éclosion variant entre 39 040 et 159 200 nauplii, et une synchronie d'éclosion allant de 3,8 à 10 heures en fonction du traitement appliqué aux cystes d'origine.

En revanche, la population de Rélizane s'avère être la plus faible en termes de taux d'éclosion (17 %) (Figure 17) et d'efficacité d'éclosion (35840) (figure18) et une synchronie d'éclosion variant de 3.8 à 10 heures.



**Figure 17 :** Pourcentage d'éclosion des cystes des populations provenant de différent lac salé d'Algérie.

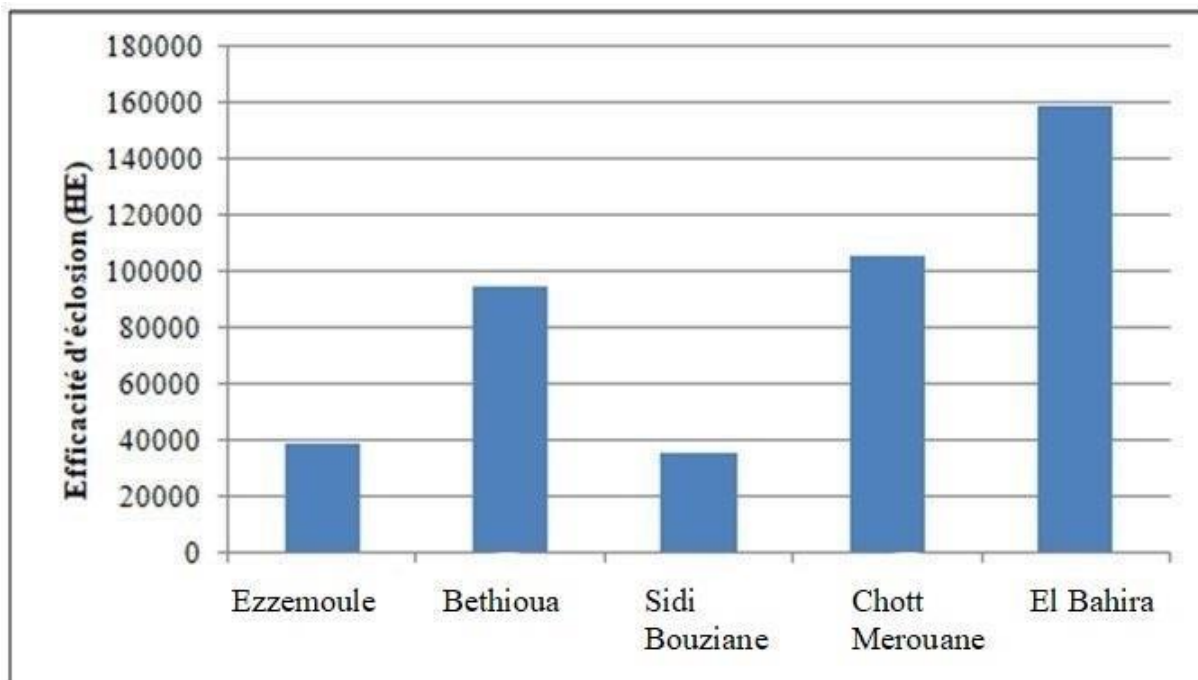


Figure 18 : Efficacité d'éclosion des cystes des populations provenant de différent lac salé d'Algérie.

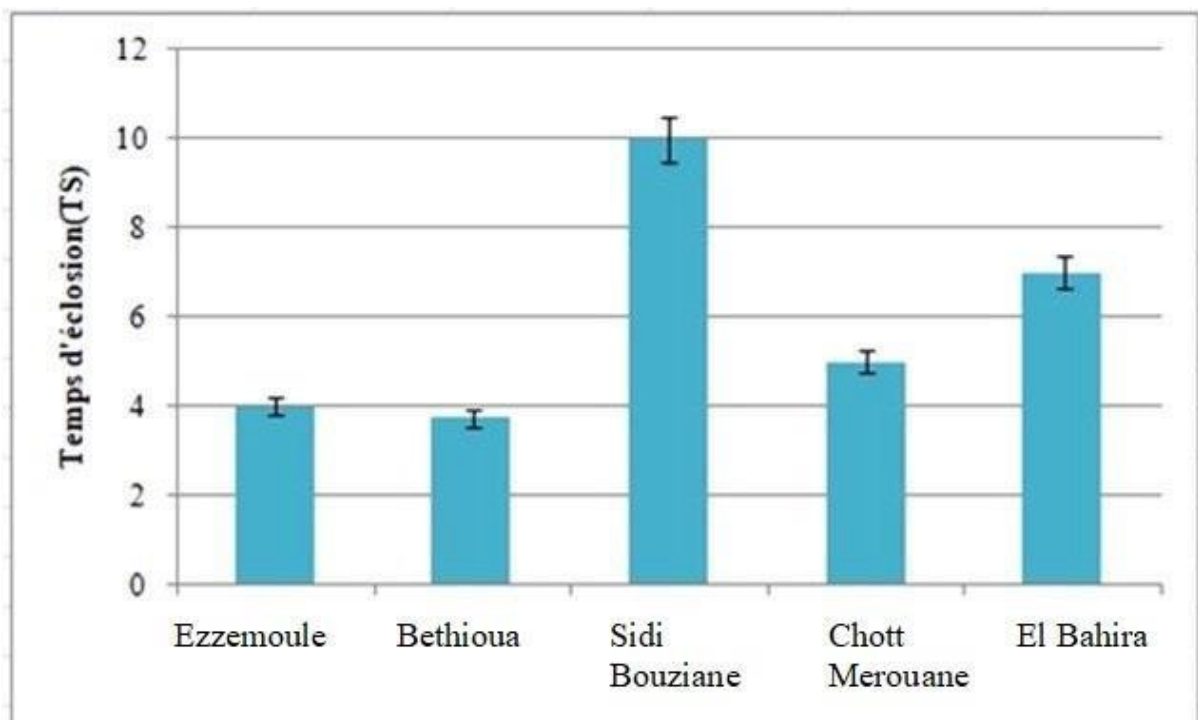


Figure 19 : Le temps d'éclosion des cystes des populations provenant de différent lac salé d'Algérie.

## 7. Discussion

Les cystes décapsulés peuvent être utilisés pour la larviculture de diverses espèces comme le poisson-chat africain d'eau douce (*Clarias gariepinus*), la carpe commune (*Cyprinus carpio*), les crevettes marines et autres larves de poisson (Verreth *et al.*, 1987, Stael *et al.*, 1995).

La caractérisation des espèces d'Artémia pour l'aquaculture est importante pour juger de la valeur économique des cystes. Parmi les critères les plus importants dans la caractérisation des espèces d'Artemia sont la détermination du diamètre des cystes (Sellami *et al.*, 2020). Selon Aluma (2020) le diamètre des cystes reste un bon outil pour caractériser les souches d'Artémia ainsi que pour définir l'origine des échantillons de cystes mixtes inégaux ou inconnus. Parallèlement, Zhichao Wang *et al.*, (2018) ont confirmé aussi que la caractérisation biométrique permet d'évaluer la qualité de la taille des cystes d'Artémia et reste toujours un bon outil pour caractériser ces souches.

La première observation montre que les cystes étudiés présentent une grande diversité biométrique, ce qui est en accord avec les conclusions des recherches menées par Sorgeloos 1997, Abatzopoulos *et al.*, 2006 et Xiao-Fang Wu *et al.*, 2022, sur l'Artémia.

Selon Vanhaecke et Sorgeloos (1980), diamètre des cystes d'Artémia du Grand lac salé (Utah, États-Unis) est plus important que celui de la baie de San Francisco (Californie, États-Unis).

Castro *et al.*, (2006) ont observé une variation considérable dans le diamètre des cystes au sein des populations chiliennes de 220,5 à 241 µm pour les cystes non traités avec 5,4 à 7,9 µm pour l'épaisseur du chorion, ainsi que des populations mexicaines d'*A. franciscana* 200,4 à 292,3 µm pour les cystes non traités et 2,11 à 10,78 µm pour l'épaisseur du chorion. Il a été conclu que la différenciation intraspécifique de la taille des cystes peut être attribuée aux variations saisonnières des paramètres écologiques et de la disponibilité des aliments (Asem *et al.*, 2010).

Leger *et al.*, (1986) signalent que le diamètre des cystes varie largement de 224,7 à 284,9 µm pour les cystes hydratés non décapsulés et de 207,3 à 266,3 µm pour les cystes décapsulés ;

Ammaroyache *et al.*, (2010) ont montré que le diamètre moyen des cystes hydratés de Chott Merouane est de 236 µm qui se rapproche de nos résultats (239.5 µm) et épaisseur de chorion est estimée à 13,5 µm alors que les résultats de notre travail sont nettement supérieurs (25.5 µm). Cette différence est peut-être dû aux variations des conditions environnementales particulièrement les taux de salinité. Selon Alvarez et Sanchez (1994), les conditions environnementales sont les causes fondamentales des différences observées dans les

caractéristiques biométriques des cystes.

La taille des cystes varie aussi avec la taille de la femelle, la latitude et l'altitude des biotopes (VANHAECK *et al.*, 1984). D'autre part Abatzopoulos *et al.*, (2006) ont expliqué que cette variabilité est liée aux changements saisonniers des paramètres physico-chimiques et à la disponibilité alimentaire dans différentes salines. Ces différences peuvent être observées à des moments différents, même sur un site spécifique. Les études de Zhichao Wang *et al.*, (2018) ont indiqué que la salinité influence la caractérisation biométrique d'Artémia, leurs résultats du traitement témoin ont montré une augmentation de la salinité corrélée de manière non significative avec le diamètre des cystes décapsulés et corrélée négativement avec la taille des cystes non traités et l'épaisseur du chorion, d'autre part Armin Eskandari *et al.*, (2019) ont signalé qu'il y a une relation entre la biométrie des cystes, la salinité et température.

Les cystes hydratés de Chott Marouane sont les plus petits parmi les souches algériennes :  $239,5 \pm 14 \mu\text{m}$  vs  $242,5 \pm 17,5 \mu\text{m}$  provenant de Sebkhath Ez-Zemoule, et  $241,5 \pm 16 \mu\text{m}$  pour Sebkhath Bethioua. Les tailles les plus importantes sont observées pour la souche d'El-Bahira avec un diamètre de cystes hydratés de  $276 \pm 20 \mu\text{m}$ .

Ghomari *et al.*, (2013) ont obtenu des résultats comparables à nos résultats pour l'espèce bisexuelle *Artemia salina* de la saline Ez-Zamoule ( $247,1 \pm 15,5 \mu\text{m}$ ), et la souche de Bethioua  $237,18 \mu\text{m}$  pour les cystes hydratés (Kherraz-Chemlal *et al.*, 2017).

La comparaison des tailles de cystes décapsulés d'Artémia provenant de différentes régions de la planète a montré que les populations d'Artémia de l'Algérie appartenaient au groupe des cystes de petite taille. Selon Ghomari *et al.*, (2013), les cystes collectés au niveau des salines Algériennes sont identiques à ceux provenant du continent européen et des pays adjacents.

Plusieurs paramètres, tels que la biométrie des cystes, la qualité de l'éclosion et nutritionnelle, ont été pris en compte dans la caractérisation de la souche d'Artémia (Sellami *et al.*, 2020). Il a été démontré que des interactions significatives entre certains facteurs physico-chimiques biotiques, tels que la salinité et la chlorophylle a, et la production de cystes d'Artémia peuvent influencer la qualité des cystes (Camargo *et al.*, 2003). En raison de la distribution mondiale de l'Artémia, on observe une grande diversité de caractéristiques parmi ces souches. Certaines de ces caractéristiques sont de nature phénotypique, comme la composition nutritionnelle des cystes (Léger *et al.*, 1986) ; d'autres, telles que le diamètre des cystes et la résistance à des températures élevées, sont considérées comme propres à chaque souche (Vanhaecke et Sorgeloos, 1980).

En comparant avec d'autres souches, le pourcentage d'éclosion obtenu dans le présent travail se situe entre les valeurs les plus faibles (17 %) et les plus élevées (69.83 %), avec ces valeurs elles ne peuvent être admises comme une source de nourriture acceptable dans les écloséries aquacoles.

Les différences dans les résultats d'éclosion des cystes soutiennent l'idée d'une localisation géographique qu'elle soit toujours associée à des variables environnementales (Chalabia *et al.*, 2021).

Le taux d'éclosion (H %) des populations d'Artémia après 48 heures d'incubation se situe dans la fourchette moyenne (entre 20 % et 90 %), tel que rapporté par Vanhaecke et Sorgeloos (1980). Nos résultats s'avèrent satisfaisants, en particulier pour les échantillons collectés dans le lac El Bahira et Chott Merouane.

Pour l'efficacité d'éclosion (HE) est plus ou moins acceptable pour ces deux souches étudiées en comparaison avec la souche de la baie de San Francisco (SFB), qui affichait une efficacité d'éclosion de 127 222 nauplii par gramme (Camargo *et al.*, 2005).

Une bonne synchronie d'éclosion observée pour la majorité des échantillons, selon les données de Sorgeloos *et al.*, (1986) et Camargo et al (2005), T<sub>0</sub> pour les cystes de différentes populations du monde varie largement de 12 à 26 heures, T<sub>90</sub> - de 20 à 48 heures. Fondamentalement, les limites d'oscillation sont T<sub>0</sub>-14-20 h, T<sub>10</sub>-13-21 h, T<sub>90</sub>-20-37 h, T<sub>s</sub>-5- 10 h.

Il a été justifié que plusieurs facteurs puissent contrôler la qualité d'éclosion, comme la nature énergétique des cystes et les impuretés (coquilles vides, sel, sable). Dans le même contexte, il est possible que les cystes collectés aient été exposés à des conditions suboptimales, notamment des cycles répétés d'hydratation-déshydratation ou une exposition prolongée au soleil (Sorgeloos *et al.*, 1976), entraînant une augmentation de la mortalité des embryons, et il y a aussi la période de récolte, le traitement inapproprié et/ou du stockage qui influe négativement sur l'éclosion (Sorgeloos *et al.*, 1986). El-Magsodi (2018) a observé l'effet de ces cycles sur la qualité des cystes, il a signalé quels cycles successifs d'hydratation/déshydratation ont affecté de plus en plus sur le pourcentage d'éclosion.

Les échantillons ont été prélevés à la fin de la saison des pluies, ce qui pourrait avoir influencé le degré de fin de diapause, le contenu énergétique des cystes et la proportion d'embryons morts, non viables ou avortés.

Cette situation pourrait également expliquer la présence d'une substance gélatineuse dans le matériau de cyste non traité, pouvant avoir un impact significatif sur la capacité d'éclosion des cystes (Abatzopoulos *et al.*, 2006). Les cystes d'Artémia ont nécessité entre 13 et 18 heures pour éclore, un délai situé dans les limites signalées par Sorgeloos *et al.*, (1986), variant de 13,9 à 25,8 heures. La lenteur du taux d'éclosion et la faible synchronie d'éclosion représentent des inconvénients potentiels pour leur utilisation dans les installations d'aquaculture (Mahdhi *et al.*, 2012).

Sellami *et al.*, (2020) affirment qu'il y a une amélioration de la qualité de l'éclosion lorsque les conditions environnementales deviennent favorables. Les conditions physico-chimiques puissent influencer à la fois le pourcentage et l'efficacité d'éclosion (Camargo *et al.*, 2004 ; Sayg, 2004 ; Salma *et al.*, 2012 ; El-Magsodi *et al.*, 2016 ; Sharahi et Zarei, 2016), la taille des cystes d'Artémia a un impact sur le nombre d'œufs par unité de poids, un paramètre crucial pour l'efficacité d'éclosion, indépendamment des conditions d'éclosion (Asem *et al.*, 2007, 2010). Ghomari (2013) a signalé quel traitement au peroxyde d'hydrogène agit sur le pouvoir de diapause et améliore le taux d'éclosion, l'hypochlorite de soude qui permet la décapsulation des cystes, favorise aussi une meilleure éclosion. Litvinenko et al (2021) ont démontré que la température, la salinité et la qualité des cystes influencent sur le pourcentage d'éclosion.

Lavens et Sorgeloos (1996) ont rapporté que différents lots de cystes d'Artémia, récoltés dans le même lac peuvent présenter des caractéristiques d'éclosion différentes, d'après Vanhaecke et Sorgeloos (1989) la température d'incubation affecte significativement le pourcentage d'éclosion chez l'Artémia, ils ont signalé que le pourcentage d'éclosion était toujours maximum dans l'intervalle de température entre 25-30°C, mais aucune recherche n'a été effectuée sur l'effet de la température sur le taux d'éclosion. Nos résultats ont montré une amélioration significative d'éclosion entre les échantillons, allant de 69% (lac el bahira) à 44.66% (Chott Merouane). Ces résultats sont proches par rapport aux populations tunisiennes (63,7%) (Ben Naceur *et al.*, 2012) et aussi avec les cystes récoltés dans le lac Urmia (35 %) (Abatzopoulos *et al.*, 2006), des sites des Caraïbes colombiennes (46,7 % - 53,7 %) (Ben Naceur *et al.*, 2012). (46,7 % - 53,1 %, (Camargo *et al.*, 2005), et GSL (43,9% cystes non commerciaux) (Sorgeloos *et al.*, 1986). D'autre part Mahdhi *et al.*, (2012) ont signalé quels cystes d'Artémia de Sebkhah El Meleh, Sebha Moknine, les salines de Sfax et les salines de Sahline présentaient un pourcentage d'éclosion de 52,7%, 53,75%, 70,16% et 43,74%, respectivement, ces études sont

comparables à nos résultats. Concernant la qualité d'Artémia salina de Chott Marouane (nord-est de l'Algérie) Kara *et al.*, (2004) ont trouvé une grande variabilité du pourcentage d'éclosion allant entre 0,9 %, 55 % et 24,7 % pour les cystes collectés en 1994, 2000 et 2001 respectivement. Une faible éclosion des cystes d'Artémia pourrait être attribuée à un traitement inadéquat des cystes après l'échantillonnage et à son stockage à long terme (Vanhaecke et Sorgeloos, 1982). El-magsodi *et al.*, (2014) ont confirmé que le métabolisme des cystes, tel qu'il est initié après l'hydratation, est dans une certaine mesure réversible et que les cystes ne peuvent pas être conservés. Ils ont également révélé que des cycles H/D répétés entraînent une d'éclosion et une qualité inférieure des nauplii qui éclosent.

Selon Amaroayeche (2010) Les caractéristiques de l'éclosion des cystes varient considérablement en fonction de la période d'échantillonnage, elle a été trouvée que les cystes récoltés en mai (période sèche) ont donné les meilleurs résultats ce qui est en accord avec les conclusions de Vanhaecke et Sorgeloos (1983). Selon Sorgeloos et al (1986), l'efficacité maximum enregistrée est de 294000 nauplii/g et correspond à un pourcentage d'éclosion de 90 %. Selon Silas 1984, les cystes déposés sur les berges humides sont confrontés aux cycles d'hydratation et de déshydratation, ce qui diminue de leur performance d'éclosion.

## **Conclusion**

En conclusion, les caractéristiques biométriques des cystes d'Artémia algérienne ont révélé une variation intraspécifique. La taille des cystes, soumise aux conditions environnementales influençant les adaptations aux paramètres biotiques et abiotiques, apparaît comme une cause significative de la variabilité observée. Bien que la petite taille des cystes ne soit pas la seule déterminante de leur haute qualité, son impact sur l'efficacité d'éclosion et la commercialisation doit être pris en considération. L'étude des variations interspécifiques et intraspécifiques, ainsi que des modèles de régression des cystes d'Artémia, requiert des recherches approfondies sur les mécanismes biologiques afin de comprendre comment les facteurs biotiques et abiotiques influent sur la variabilité de la taille des cystes et la qualité d'éclosion. En générales cystes sont de qualité biométrique et d'éclosion acceptable et peuvent être employés en aquaculture en comparaison avec les études précédentes.

# *Chapitre III : Profil en acide gras de l'Artémia*

## Introduction

Le développement de l'aquaculture dans le monde s'appuie sur l'aliment vivant bien calibré, notamment pour les jeunes larves (Sorgeloos, 1980).

Le nauplius d'Artémia est l'organisme bien connu utilisé comme aliment vivant pour les larves de poissons et de crustacés (Ben naceur *et al.*, 2017). Il est devenu nourriture vivante courante pour la larviculture des poissons et des crustacés en raison de ses caractéristiques, telle considérée comme proie à corps mou et ses teneurs élevées en nutriments (Basford *et al.*, 2020 ; Kujawa *et al.*, 2017). Aussi du fait de sa facilité d'élevage et l'existence dans son cycle de vie, une forme de conservation (cystes ou œuf de durée) (leger *et al.*, 1986 ; brown *et al.*, 1991 ; Iryani *et al.*, 2020), permet une grande souplesse d'utilisation ce qui explique le fait que le nauplius d'Artémia soit la proie la plus utilisée en élevage larvaire (Bengtson *et al.*, 1991).

L'importance de ce crustacé réside dans sa valeur nutritive en protéines et en acides gras. Il demeure une nourriture potentielle pour les larves d'écloserie et les espèces d'aquariophilie (Guermazi *et al.*, 2008 ; Vieira et Bio, 2011). En plus de sa qualité nutritive, la petite taille des nauplius convient parfaitement aux jeunes stades larvaires de poissons et de crustacés (De Los Santos *et al.*, 1980).

Les nauplii d'Artémia ont une valeur nutritionnelle élevée et une composition biochimique unique très riche en acides gras, qui ont un effet stimulant sur la croissance des poissons et assurent leur survie à différents stades de l'ontogenèse post embryonnaire (Magalhaes *et al.*, 2020). Les acides gras sont des matières nutritives majeures et des métabolites dans les organismes vivants (Chen *et al.*, 2002).

Il est admis aussi que la composition biochimique d'Artémia varie d'une souche à l'autre en raison des facteurs abiotiques et génétiques, ainsi que de la nourriture ingérée (Léger *et al.*, 1986 ; Navarro *et al.*, 1992 ; Torrentera et Dodson 2004 ; Ruiz *et al.*, 2008).

Le profil en acides gras essentiels (AGE) et des séries n-3 et n-6 sont d'une grande importance pour évaluer la valeur diététique de l'Artémia avant son utilisation (Sorgeloos *et al.*, 2001). En effet, l'acide docosahexaénoïque (DHA, C22 :6n-3), l'acide eicosapentaénoïque (EPA, C20 :5n-3), arachidonique (ARA, C20 :4n-6),  $\alpha$ -linoléique (ALA, C18 :3n-3), et linoléique (LOA, C18 :2n-6) sont indispensables à la plupart des espèces en aquaculture, avec des proportions variables selon les besoins des espèces en élevage (Glencross, 2009).

Il a été démontré qu'un supplément en acide gras polyinsaturé essentiel à un régime alimentaire d'Artémia a un effet positif sur la croissance des poissons et leur développement et diminue le taux de mortalité. (Kolman *et al.*, 2018 ).

La connaissance de la composition biochimique d'Artémia dans différentes salines d'Algérie est un aspect qui va permettre d'étudier la valeur nutritive de ce branchiopode.

L'étude des acides gras prévue dans ce travail est un complément des travaux de recherche biologique et écologique antérieurs sur les populations d'Artémia en Algérie, prélevés des chotts et sebkhas (Kara et Amarouayache, 2012), (Amarouayache *et al.*, 2009, 2012; Ghomari, 2013).

## 1. Objectifs

Dans ce chapitre, nous procédons à l'étude du profil d'acides gras des cystes d'Artémia décapsulée provenant de différentes origines géographiques, afin d'identifier les principaux acides gras intervenant dans la classification des Artémias, et analyser leur rentabilité pour l'aquaculture en Algérie.

## 2. Matériel et Méthode

### 2.1. Analyse des acides gras

Avant l'extraction des lipides, les cystes sont hydratés dans l'eau distillée sous forte aération jusqu'à ce que les cystes soient complètement sphériques (voir chapitre 1). Ensuite, ils sont décapsulés selon le protocole de Sorgeloos *et al.*, (1986). Par la suite les cystes sont séchés dans un four à 38 °C jusqu'à ce qu'ils aient un poids constant.

L'extraction est effectuée selon la méthode de Folch et collaborateurs (1957) modifiée par Bligh et Dyer (1959) et a été déterminée en suivant 3 étapes :

- Extraction des lipides
- Préparation des Esters méthyliques d'Acides gras (EMAG)
- Chromatographie en Phase gazeuse (CPG).

(La teneur en acides gras est exprimée en % des acides gras totaux)

### 2.2. Extraction des lipides

#### a. Principe

Les lipides totaux des échantillons sont extraits par la méthode de Folch *et al.*, (1957). Cette technique repose sur le principe d'une extraction à froid des lipides par un mélange de solvants chloroforme / méthanol (2/1; v/v; réactif de Folch). Cette extraction s'effectue par la séparation de phases : la phase inférieure (chloroforme + lipides) et la phase supérieure (méthanol + eau). L'addition d'une solution aqueuse de NaCl à 0.58% permet la séparation des phases.

#### b. Mode opératoire

La phase supérieure constituée de méthanol de l'eau contient les composés hydrophiles (glucides et protéines) dont la dissolution est favorisée par la présence de sel, tandis que les lipides sont dissous dans la phase organique inférieure. La pesée du ballon contenant l'extrait

lipides après évaporation du solvant permet de calculer la teneur en lipides exprimée en pourcentage.

Un échantillon de 30g sont mis en présence de 60 ml de réactif de Folch (méthanol + chloroforme) et broyés à l'aide d'un homogénéisateur pendant 3 minutes. Le mélange obtenu est filtré à travers un verre fritté de porosité 1.

Ainsi, ce filtrant additionné d'une solution de Na Cl à 0.73 % à raison d'un volume de Na Cl pour 4 volumes de filtrat est soumis à décantation dans une ampoule à décanter.

La phase inférieure (chloroforme + lipides) est soutirée puis filtrée sûre du sulfate de sodium (chauffé à 80°C) et récupérer dans un ballon préalablement pèse. La phase supérieure (méthanol + eau + lipides résiduels), restée dans l'ampoule, et rincée avec une solution contenant 20% de Na Cl à 0.58% + réactif de Folch. Après agitation, laisse décanter à nouveau environ 20 minutes. La phase inférieure est récupérée et ajoutée au premier filtrat.

Le chloroforme est ensuite évaporé sur une colonne à distiller sous vide. il ne reste alors dans le ballon que les lipides mis à sec.

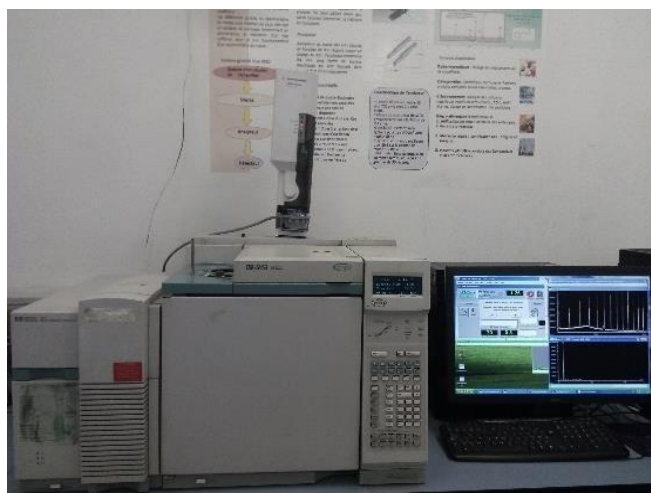
Le pourcentage des lipides totaux peut être déterminé par la formule suivante :

$$\% \text{ lipides totaux} = (\text{poids ballon plein} - \text{poids ballon vide}) \times 100 / \text{poids de l'échantillon}.$$

### 2.3. Méthylation et identification par Chromatographie en Phase gazeuse

Les esters méthyliques d'acides gras (FAME) sont préparés à partir de six échantillons. Les dosages des acides gras ont été analysés sur un HP (Hewlett Packard) Chromatographe en phase gazeuse (GC) Agilent 6890N (voir figure 20), équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et équipé d'une colonne capillaire HP-5MS (30 m, 0,25 mm i.d. et 0,25 µm). La température de l'Injecteur et détecteur sont de 250°C. L'étuve a été programmée à 70°C de température et 5 minutes de temps initial. Par la suite, la température a été augmentée à 130°C à 10°C/min, puis augmenté à 200°C à 3°C/min pendant 2 min et maintenue à 220°C pendant 4 min et augmentée à 280°C à 10°C/min pendant 7min. La durée totale du cycle était de 60 min. Le gaz porteur utilisé est l'hélium à pureté min). L'analyse des a été effectuée dans trois réplifications.

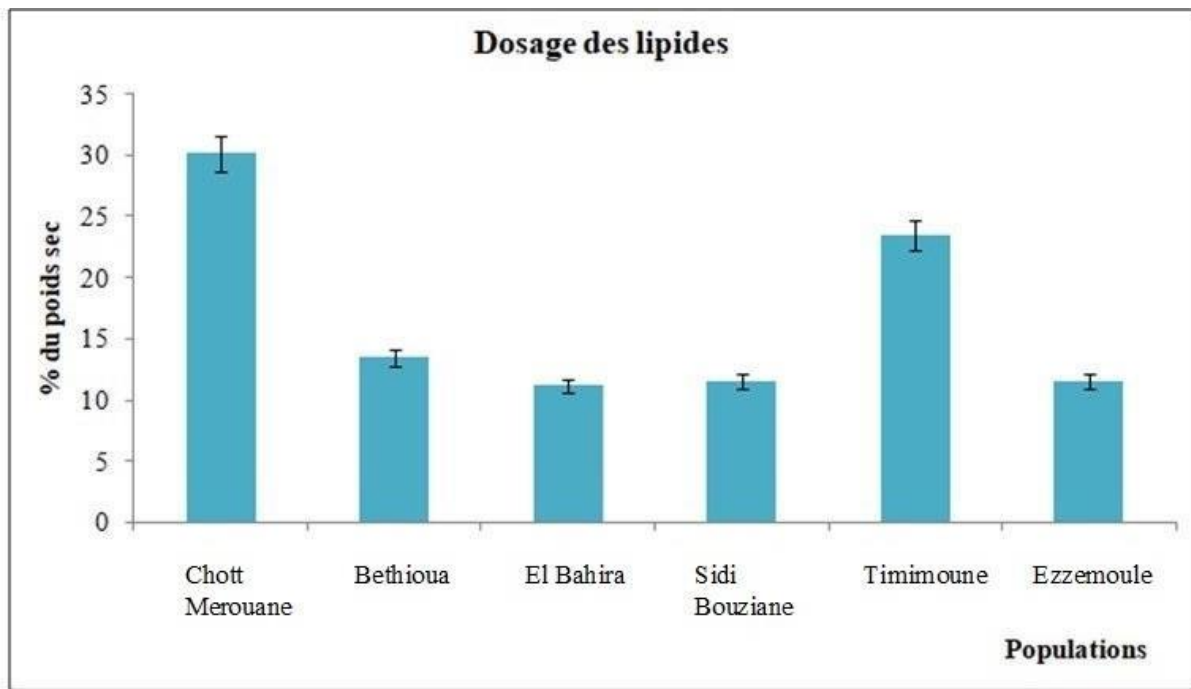
L'identification des acides gras a été effectuée en comparant les temps de rétention relatifs des pics de FAME de nos échantillons avec ceux obtenus par Alltech (Carolean Industrial Drive, State College, PA). Les résultats ont été exprimés en pourcentage relatif de la zone de réponse du DIZ, puis en milligramme par gramme de poids sec.



**Figure 20 :** Chromatographe Hewlett Packard Agilent 6890 plus utilisé pour le dosage des acides gras.

### 3. Résultats

La Figure 21 présente la répartition en pourcentage des lipides totaux dans les échantillons de cystes d'Artémia originaires d'Algérie. Ces pourcentages varient de 11.13 % à 30.06 % du poids sec, avec les valeurs maximales observées dans les échantillons provenant de Chott Merouane et Timimoune. Le rapport de différence entre la teneur en lipides des cystes de Chott Merouane et ceux de Bahira est estimé 32.97%.



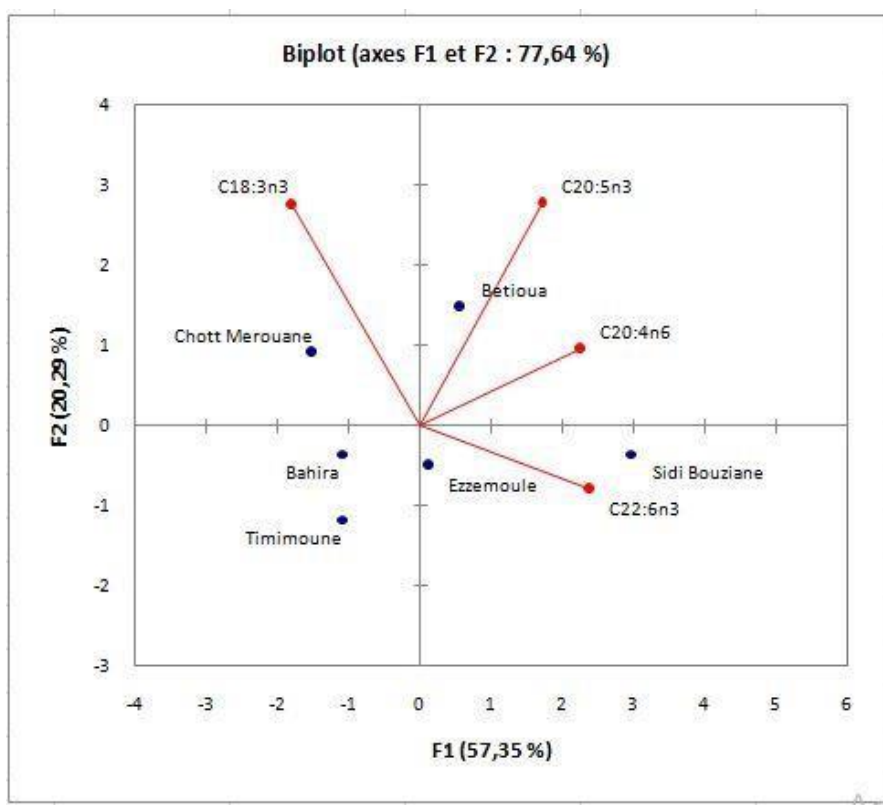
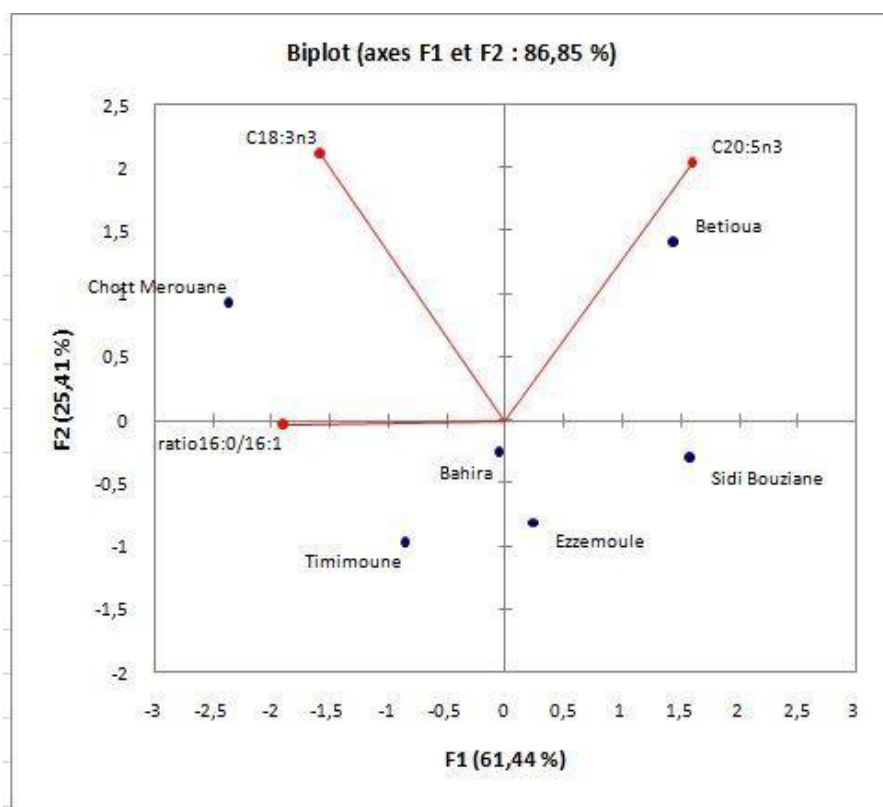
**Figure 21 :** Lipides totaux contenus (% du poids sec) dans les six échantillons de cystes d'Artémia algérienne

Le pourcentage de lipides totaux et la composition en acides gras des cystes décapsulés des six souches sont indiqués dans le tableau 3.

**Tableau03** : La composition en acides gras (% des acides gras totaux) des cystes d'Artémia décapsulés collectés dans différentes régions d'Algérie (means ± SD).

	Bahira	Timimoune	Chott Merouane	Sidi Bouziane	Bethioua	Ezzemoule
%lipides totaux	11,136± 0,193 <sup>c</sup>	23,433±0,200 <sup>b</sup>	30,063 ±0,650 <sup>a</sup>	11,493± 0,314 <sup>c</sup>	13,42 ±0,370 <sup>c</sup>	11,516±0,319 <sup>c</sup>
Acides gras	% Acides gras totaux					
<b>C10:0</b>	1,79±0,03 <sup>b</sup>	0,11±0,02 <sup>b</sup>	0,123±0,05 <sup>b</sup>	0,15±0,01 <sup>b</sup>	0,100±0,02 <sup>b</sup>	0,090±0,01 <sup>b</sup>
<b>C11:0</b>	ND	ND	ND	1,78±0,02 <sup>a</sup>	ND	ND
<b>C13:0</b>	0,443±0,088 <sup>a</sup>	0,593±0,389 <sup>a</sup>	ND	0,533±0,112 <sup>a</sup>	0,450±0,041 <sup>a</sup>	0,517±0,066 <sup>a</sup>
<b>C14:0</b>	ND	ND	2,14±0,04 <sup>b</sup>	ND	ND	ND
<b>C15:0</b>	ND	1,463±0,087 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	ND
<b>C16:0</b>	12,423±0,159 <sup>c</sup>	20,844±0,487 <sup>b</sup>	20,241±1,06 <sup>b</sup>	21,21±2,091 <sup>b</sup>	29,379±0,508 <sup>a</sup>	22,588±2,383 <sup>b</sup>
<b>C17:0</b>	ND	ND	3,901±0,349 <sup>a</sup>	1,267±0,409 <sup>b</sup>	ND	0,484±0,136 <sup>c</sup>
<b>C18:0</b>	3,460±0,229 <sup>b</sup>	3,589±0,158 <sup>b</sup>	3,901±0,430 <sup>b</sup>	0±0,159 <sup>c</sup>	4,464 ±0,044 <sup>b</sup>	6,732±0,852 <sup>a</sup>
<b>C20:0</b>	3,847±1,537 <sup>a</sup>	0,333±0,366 <sup>b</sup>	ND	4,599±0,73 <sup>a</sup>	4,433±1,372 <sup>a</sup>	ND
<b>C16:1 n7</b>	7,854±0,147 <sup>c</sup>	2,38±0,266 <sup>b</sup>	2,185±0,302 <sup>b</sup>	19,954±1,391 <sup>a</sup>	19,364±0,467 <sup>a</sup>	10,6±0,761 <sup>b</sup>
<b>C16:1 n9</b>	7,84±0,03 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	ND	ND
<b>C16:1 n3</b>	3,24±0,02 <sup>c</sup>	38,02±0,72 <sup>a</sup>	ND	ND	16,9±0,64 <sup>b</sup>	ND
<b>C16:1 n5</b>	4,34±0,04 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	ND	ND
<b>C18:1 n9</b>	47,364±0,434 <sup>a</sup>	38,032±2,106 <sup>b</sup>	9,784±1,927 <sup>b</sup>	22,716±7,334 <sup>c</sup>	21,538±1,396 <sup>c</sup>	48,204±2,756 <sup>a</sup>
<b>C18:1 n11</b>	ND	0,800±0,089 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	0,827±0,121 <sup>a</sup>
<b>C18:1 n10</b>	ND	1,967±0,335 <sup>b</sup>	ND	1,333±0,692 <sup>b</sup>	13,567±3,491 <sup>a</sup>	13,333±1,605 <sup>a</sup>
<b>C18:1 n8</b>	ND	0,287±0,181 <sup>b</sup>	ND	ND	1,867±0,527 <sup>a</sup>	0,48±0,225 <sup>b</sup>
<b>C18:1 n6</b>	0,2±0,376 <sup>a</sup>	1,323±0,729 <sup>a</sup>	2,143±1,875 <sup>a</sup>	0,4±0,498 <sup>a</sup>	1,1±0,882 <sup>a</sup>	0,8±0,671 <sup>a</sup>
<b>C18:3 n3</b>	34,43±1,931 <sup>b</sup>	22,73±1,207 <sup>b</sup>	55,04±5,835 <sup>a</sup>	16,670±2,429 <sup>b</sup>	32,26±1,273 <sup>b</sup>	25,18±1,234 <sup>b</sup>
<b>C20:4 n6</b>	3,67±0,815 <sup>c</sup>	2,033±0,677 <sup>bc</sup>	4,867±0,89 <sup>ab</sup>	11,33±3,811 <sup>a</sup>	5,633±0,829 <sup>ab</sup>	7,067±1,531 <sup>a</sup>
<b>C22.6 n3</b>	ND	ND	ND	5,64±0,01 <sup>a</sup>	ND	ND
<b>C20:5n3</b>	ND	ND	ND	0,05±0,02 <sup>b</sup>	0,09±0,01 <sup>a</sup>	ND
<b>Total SFA</b>	<b>21,963± 2,146<sup>d</sup></b>	<b>26,822±1,59<sup>c</sup></b>	<b>30,182±2,348<sup>b</sup></b>	<b>27,609± 3,521<sup>c</sup></b>	<b>38,726± 2,068<sup>a</sup></b>	<b>30,321±3,802<sup>b</sup></b>
<b>Total MUFA</b>	<b>70,838±1,047<sup>a</sup></b>	<b>82,8±3,706<sup>c</sup></b>	<b>14,112 ±1,875<sup>d</sup></b>	<b>44,403 ±9,915<sup>b</sup></b>	<b>74,33±6,763<sup>b</sup></b>	<b>74,244±6,139<sup>a</sup></b>
<b>Total PUFA</b>	<b>38,1 ± 2,012<sup>d</sup></b>	<b>28,433±1,275<sup>b</sup></b>	<b>59,907±6,725<sup>a</sup></b>	<b>36,66±6,241<sup>b</sup></b>	<b>24,246±1,356<sup>c</sup></b>	<b>25,587±1,387<sup>c</sup></b>
<b>UFA/SFA</b>	<b>4,96 ±0,05<sup>a</sup></b>	<b>4,14±0,652<sup>c</sup></b>	<b>2,433± 0,15<sup>c</sup></b>	<b>2,93±0,221<sup>c</sup></b>	<b>2,54±0,181<sup>c</sup></b>	<b>3,292 ±0,251<sup>b</sup></b>
<b>Total PUFA n-3</b>	<b>42,32 ± 1,245<sup>d</sup></b>	<b>32,45 ±1,354<sup>d</sup></b>	<b>57,12±3,215<sup>a</sup></b>	<b>42,264 ±2,567<sup>b</sup></b>	<b>55,91±1,956<sup>c</sup></b>	<b>35,78 ±1,321<sup>d</sup></b>
<b>Total PUFA n-6</b>	<b>3,870 ±0,488<sup>d</sup></b>	<b>3,356±0,658<sup>b</sup></b>	<b>7,010±1,279<sup>a</sup></b>	<b>11,73±0,752<sup>c</sup></b>	<b>6,733 ±1,023<sup>b</sup></b>	<b>7,867±1,541<sup>c</sup></b>
<b>Total PUFA n-9</b>	<b>55,204 ±1,522<sup>a</sup></b>	<b>38,032±1,112<sup>c</sup></b>	<b>9,784 ±0,956<sup>c</sup></b>	<b>22,716 ±3,254<sup>c</sup></b>	<b>21,538 ±1,562<sup>d</sup></b>	<b>48,204±2,031<sup>b</sup></b>
<b>n3/n6</b>	<b>10,93±1,254<sup>b</sup></b>	<b>9,68±0,250<sup>a</sup></b>	<b>8,04±0,678<sup>a</sup></b>	<b>3,6±1,041<sup>c</sup></b>	<b>8,3±1,321<sup>c</sup></b>	<b>4,54 ±1,020<sup>c</sup></b>
<b>Ratio16:0/16:1</b>	<b>1,58</b>	<b>8,75</b>	<b>9,28</b>	<b>1,06</b>	<b>1,51</b>	<b>2,13</b>

A Valeurs rapportées et moyenne  $\pm$  S.D. de trois mesures parallèles ; AGS : acide gras saturé ; AGMI : acide gras mono insaturé ; AGPI : acide gras poly insaturé ; UFA : acide gras insaturé ; ND : non détecté



**Figure 22 :** Représentation de l'analyse discriminante ACP de la composition en acides gras pour la séparation des différents groupes d'Artémia

Pour toutes les populations, les résultats montrent l'existence de 21 acides gras, les plus dominants sont l'acide linoléique (C18:3n3), l'acide palmitique (C16 :0), acide palmitoleique (C16 :1n3), l'acide oléique (C18 :1n9) et l'acide arachidique (C20:4 n6).

Les teneurs en lipides totaux varient significativement ( $p < 0.05$ ) entre les cystes prélevés dans le lac El Bahira et ceux de Chott Merouane (11,13% vs 30.06%) respectivement.

Les valeurs de l'acide palmitique (C16 :0) sont plus importantes dans la population de la saline de Bethioua (29,37 %) par rapport à ceux des populations du lac El Bahira de l'ordre de (12,423%).

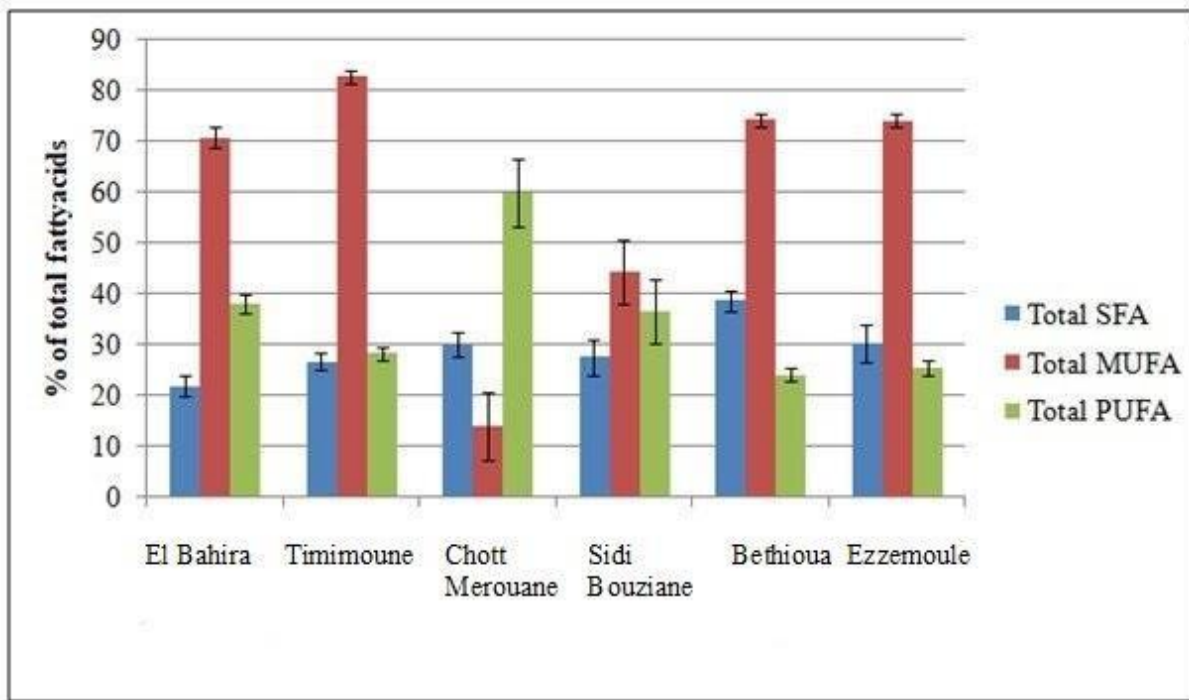
Les proportions de l'acide gras mono-insaturé (AGMI) varient entre 14,11% et 74,24% respectivement pour les populations de Chott Merouane et Sebkheth Ezzemoulee.

Par rapport à la composition en C18 :3 et C20 :4 on remarque une certaine spécificité pour les populations d'El Bahira et Sidi Bouziane comparés aux autres populations (figure 22).

Les acides gras polyinsaturés (AGPI) présentent de fortes concentrations dans les populations de Chott Merouane (59,90%), (figure 23).

Les teneurs en acides gras saturés (AGS) présentent des teneurs quasi identiques pour toutes les populations.

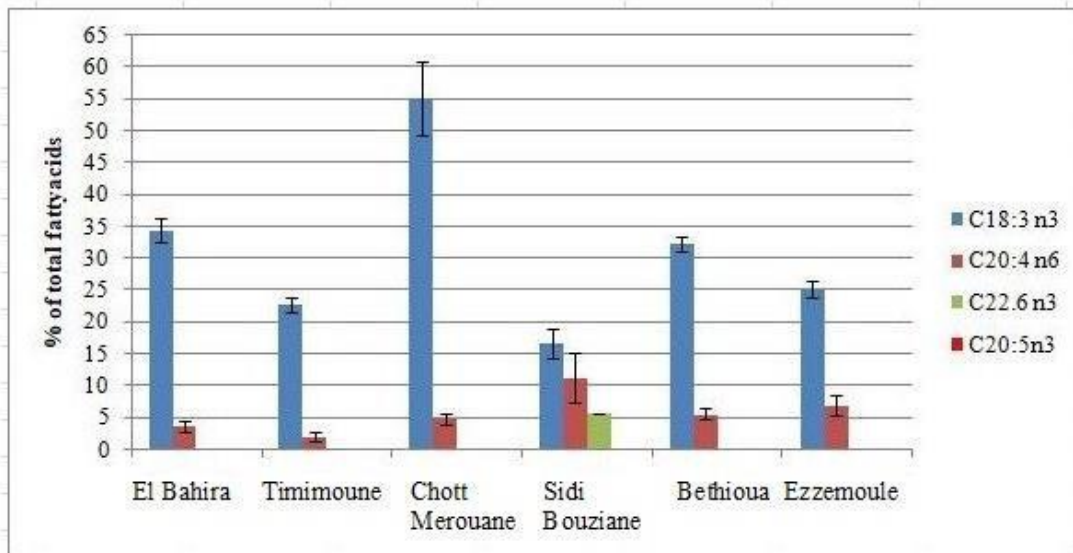
L'acide gras arachidonique (C20 :4n6) est élevé dans les populations de Sidi Bouziane (11.33%), la teneur la plus faible est enregistrée dans les populations de Sebkhath Timimoune (2.03%).



**Figure 23 :** Acides gras totaux contenus (% du poids sec) dans les six échantillons de cystes d'Artémia algérienne

Le taux le plus élevé d'acide linoléique (C18 :3n3) se retrouve dans les populations de Chott Merouane (55,04%). Pour l'acide palmitoleique (16 :1n3) les valeurs de Bethioua et de Sidi Bouziane sont très proches (19,36 % et 19,95 %) et demeurent élevées par rapport aux autres populations.

Pour les séries n3 et n6, l'acide palmitoleique (C16 :1n3) est plus élevé dans les populations de Sidi Bouziane (19,95 %), l'acide oléique (C18 :1n6) est dominant dans les populations de Chott Merouane (2,14%). L'acide linoléique (C18 :3n3) est présent dans toutes les populations avec des valeurs significativement différentes ( $p < 0.05$ ) allant de 55,04% pour chott Merouane et 16,67% pour Sidi Bouziane, par contre l'acide oléique C18 :1(n-6) est disponible avec des valeurs basses 0,2% pour les populations du lac El Bahira et 2,14 % des populations de Chott Merouane, l'acide docosahéxanoïque (C22 :6 n3) est enregistré que dans la population de Sidi Bouziane (5,64%). L'acide eicosapentaénoïque (C20 :5n3) qui est présent à de faibles proportions (0,05% et 0,09%) dans les deux populations de Sidi Bouziane et Bethioua respectivement. (Figure 24).



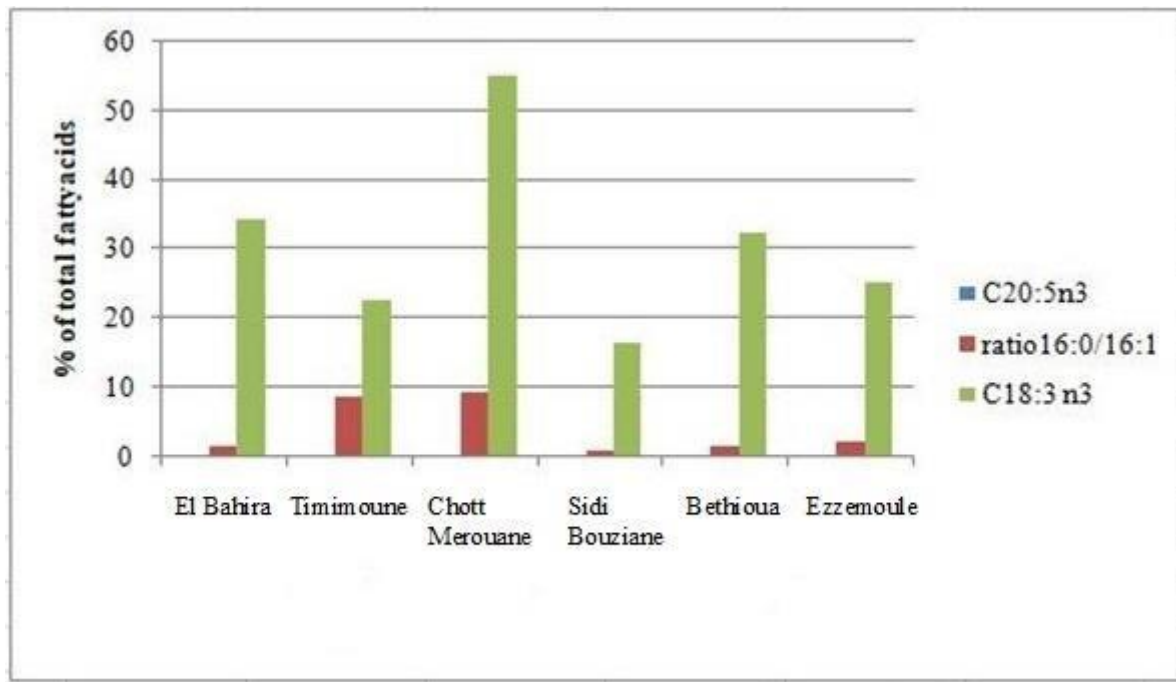
**Figure 24** : Acides gras polyinsaturés contenus (% du poids sec) dans les six échantillons de cystes d'Artémia algérienne

Le rapport n3/n6 se situe entre 10.93% et 3.60% dans la population de Lac El Bahira et de Sidi Bouziane respectivement.

Le rapport de différence en acides gras mono-insaturés entre Sebkheth Ezzemoulee et Chott Merouane est estimé à 80.99%, concernant les acides gras polyinsaturés, le rapport de différence entre Lac El Bahira et Chott Merouane est estimé à 65.278%.

L'étude statistique ( $p < 0.05$ ) révèle que les cystes d'Artémia collectée dans la zone de Chott Merouane ont présenté des taux significativement importants en N-3 par rapport à ceux enregistrés dans la zone de Sebkheth Timimoune (57.12% vs 32.45%) respectivement.

L'acide linoléique était présent dans tous les échantillons en quantités élevées, avec un maximum de 55.04% dans les cystes de Chott Merouane. L'acide eicosapentaénoïque et le 20:4n-6 étaient présents en quantités très faibles dans la saline de Sidi Bouziane et saline de Bethioua. Un rapport élevé de 16 :0/16 :1 ( $>1$ ) a été déterminé pour tous les cystes des populations étudiées (Tableau 3). Les six populations algériennes montrent une similitude avec le type dulçaquicole (poisson d'eau douce) (une teneur élevée en acide eicosapentaénoïque et faible en acide linoléique) tel que décrit par NAVARRO *et al.*, (1992) et qui permet de déterminer le type d'Artémia (marin ou d'eau douce).



**Figure 25** : le rapport C16 :0/16 :1 et les acides gras C18 :3 et C20 :5 dans les six échantillons de cystes d'Artémia algérienne.

## Discussion

Les résultats obtenus sur les taux de lipides totaux contenus dans les cystes décapsulés des populations d'Artémia algérienne sont proches de celles rapportées dans les travaux des populations connues, comme le cas de l'espèce du Grand Lac Salé (GSL) et celle de la baie de San Francisco, les valeurs obtenues sont de 14,7% et 15,7%, respectivement (Dendrinou et Thorpe 1987 ; Garcia-Ortega 1998). En comparaison avec d'autres souches algériennes, les résultats obtenus ici peuvent être considérés proches des résultats de Ghomari *et al.*, (2013) compris entre 19,27% et 24,43% du poids sec, les valeurs les plus élevées ont été trouvées dans les échantillons de Bethioua et El Golea, dans notre cas pour Chott Merouane et Sebkhath Timimoun.

Par rapport aux travaux de Amarouayache *et al.*, (2017), les pourcentages des lipides totaux étaient compris entre 7,78 % et 24,55 % pour les souches des salines de Bethioua et Sidi Bouziane respectivement, ceux de Chalabia *et al.*, (2021), la teneur en lipides la plus élevée des cystes d'Artémia a été retrouvée dans la saline El Melah (17,9% du poids sec), suivie par Timimoune (16,2% du poids sec), et la plus faible à Bethioua (14,7% du poids sec) plus ou moins comparable à nos résultats. Cette variabilité peut être due à l'origine de la période d'échantillonnage.

Les acides gras les plus abondants dans les cystes d'Artémia décapsulés sont les acides palmitique (C16 :0), stéarique (C18 :0), palmitoléique (C16 :1n-7), cis-vaccénique (C18 :1n-7), oléique (C18 :1n-9), linoléique (C18 :2n-6), linoléique (C18 :3n-3) et eicosapentaénoïque (C20 :5n-3) (Abatzopoulou *et al.*, 2006 ; Bennaceur *et al.*, 2013 ; Navarro *et al.*, 1992 ; Ruiz *et al.*, 2007). Les résultats de nos travaux corroborent la présence de ces acides dans les populations algériennes. Les valeurs de Bennaceur *et al.*, (2020) ont montré que l'acide palmitique (C16 :0) a été trouvé dans des proportions relativement constantes de 11,4 à 20,6% des acides gras totaux dans les cystes de toutes les populations, ce qui conforme nos résultats.

Le dosage des acides gras chez Artémia révèle une variabilité annuelle entre les espèces (Leger *et al.*, 1986, Navarro *et al.*, 1992), Cette différence est due probablement à la nature de la faune et flore primaire du milieu ingéré par les femelles productrices de cystes (Ghomari *et al.*, 2013).

Il s'est avéré que le pourcentage des acides gras insaturés particulièrement l'acide palmitique (C16 :0) est présent dans les six populations algériennes en quantités remarquables, cela peut être dû à une alimentation à base de chlorophycées (Farhadian *et al.*, 2013), vu que l'acide myristique (C14 :0) et l'acide palmitique (C16 :0) sont les acides gras majeurs et spécifiques

des algues vertes (Brett *et al.*, 2006). Les résultats de Muhamad *et al.*, (2022) ont montré que les différentes nourritures microalgales affectaient la teneur en acides gras, la croissance et le taux de survie d'Artémia. Ils ont signalé que la nourriture d'Artémia à base d'un mélange d'espèces microalgales, est fortement recommandée pour améliorer les teneurs en AGPI (acide gras polyinsaturé), car ces AGPI, en particulier l'oméga-3, jouent un rôle significatif dans le développement des larves de poissons marins (Roo *et al.*, 2019). Ils améliorent aussi la qualité et de la croissance des crustacés marins ainsi que des larves de poissons (Francis *et al.*, 2019 ; Lund *et al.*, 2018). Paulo *et al.*, (2020) ont considéré les microalgues comme des sources potentielles d'acides gras spécifiques chez les artémias. Le taux élevé des AGPI est également pertinent pour les humains en tant que consommateurs de poisson (Romanova *et al.*, 2023).

En général, les acides gras 16 :0, 16 :1 n7, 18 :1 n9, 18 :2 n6, 18 :3 n3, et 20 :5 n3 constituent jusqu'à 80% du profil d'acides gras dans les souches d'Artémia (Leger *et al.*, 1986 ; Mura et Fancello, 2005). Dans le cas de nos échantillons de cystes d'Artémia, ces acides gras constituent environ 55.04% du profil des acides gras.

Les acides gras polyinsaturés C22 :6, C20 :4 et C20 :5 sont considérées comme des acides gras essentiels pour l'alimentation des larves de crustacés et de poissons (Sukrutha *et al.*, 2014 ; Muhamad *et al.*, 2022), leur absence ou déficience dans le régime alimentaire entraînerait leurs mortalités (Glencross, 2009). Les résultats de Bennaceur *et al.*, (2020) ont montré que le profil d'acides gras est à la fois sous un contrôle génétique et influencé par les conditions abiotiques prédominantes et que la valeur nutritionnelle n'est pas constante, mais varie entre les souches et au sein des lots de chaque souche. Par contre l'Artémia est déficiente en acides gras polyinsaturés (AGPI), notamment en acides eicosapentaénoïques (EPA, 20 :5n-3), l'acide docosahexaénoïque (DHA, 22 :6n-3) et arachidonique (ARA, 20 :4n-6) (Nieves-Soto *et al.*, 2021). En dehors de l'influence de l'alimentation naturelle sur le profil des acides gras, l'existence du C20 :5 n3 dans la population de Bethioua et Sidi Bouziane révèle peut-être une indication de l'existence d'une composante génétique qui pourrait favoriser l'accumulation de certains composés, ce qui vaut la peine d'être étudié. Michael Oliewo Aluma (2020) a confirmé que des variations de salinité peuvent avoir un effet sur la composition lipidique particulièrement en acides gras polyinsaturés (AGPI) après une adaptation à long terme à la salinité.

L'acide arachidonique est présent à différents niveaux de concentration. Cet acide gras joue un rôle important dans l'amélioration de la croissance des larves et la pigmentation chez plusieurs espèces de poissons marins, et la production d'eicosanoïdes (Castell *et al.*, 1994 ; Estevez *et al.*, 1997 ; Sargent *et al.*, 1995), il participe à la régulation des premiers stades de l'ontogenèse post embryonnaire et de la métamorphose, il joue un rôle prépondérant dans la mise en œuvre du mécanisme du processus inflammatoire (Lecerf, 2004).

L'EPA et le DHA sont considérés comme ayant un impact positif à croissance de poisson (Magalhaes *et al.*, 2020). Selon Gwangseok Yoon *et al.*, (2022) l'EPA et le DHA sont très importants au début de la vie de poisson, ils agissent sur la croissance et la survie, ce qui pourrait être utilisé comme facteur pour améliorer les taux de survie en aquaculture. Parallèlement, des quantités d'EPA supérieures à 4-5% dans l'Artémia favorisent la survie et la croissance des espèces marines (Amarouyache *et al.*, 2017). La biomasse d'Artémia, qui est riche en EPA et DHA, est non seulement bonne pour la larviculture des poissons et des crustacés, mais aussi également accélérer la maturité gonadale chez les géniteurs de crevettes (Dineshbabu *et al.*, 2019 ; Kaparapu, 2018 ; Muhamad *et al.*, 2022) ainsi que sur la santé humaine (Simopoulos, 2002). L'EPA est très répandu dans les algues et les huiles de poisson, et il a été démontré qu'il est un constituant essentiel des phospholipides dans les tissus

animaux (Burdge, 2018). Ces AGPI n3 peuvent également avoir un effet positif sur le développement du système nerveux des nourrissons (Cardoso *et al.*, 2018). En outre, entre autres effets, l'EPA peut agir sur les lipoprotéines de haute densité, renforçant ainsi leur action anti-inflammatoire (Tanaka *et al.*, 2014). D'autre part, le DHA est considéré comme la molécule de départ pour différentes voies métaboliques conduisant à des composés bénéfiques qui atténuent les processus inflammatoires (Kuda, 2017). L'acide docosahexaénoïque occupe une place prépondérante en termes d'importance pour l'organisme, il prévient l'apparition des maladies cardiovasculaires, stimule le métabolisme (Romanova *et al.*, 2023). La littérature montre également que le DHA se trouve à des concentrations élevées dans diverses espèces d'algues, Navarro et Amat (1992) ont suggéré qu'en plus de l'influence phénotypique de l'alimentation vivante dans le processus de transfert des acides gras, l'influence génotypique et la capacité de bioconversion chez *Artémia* sont également des facteurs qui devraient être étudiés.

En général, l'*Artémia* contient de faibles niveaux d'EPA et de DHA, ainsi lorsqu'elle est utilisée comme aliment, elle est enrichie en lipides riches en acides gras essentiels pour répondre aux besoins alimentaires des larves de poissons (Hawkyard *et al.*, 2016). Cet enrichissement est donc essentiel pour produire des aliments vivants ayant un profil nutritionnel efficace (Feh'er *et al.*, 2013).

La majorité des études publiées indiquent que le DHA constitue une limite plus contraignante pour la croissance, la survie et le développement du système nerveux et du comportement grégaire par rapport à l'EPA (Izquierdo *et al.*, 2011). En revanche, d'autres recherches signalent que des niveaux élevés de DHA dans l'alimentation peuvent causer une dystrophie musculaire (Betancor *et al.*, 2011) ou des anomalies de la colonne vertébrale chez les larves (Villeneuve *et al.*, 2006), en raison du risque élevé de peroxydation du DHA et de la formation de composés oxydés toxiques, à moins d'une protection adéquate par des substances antioxydantes (Mesa-Rodriguez *et al.*, 2018).

Selon les résultats de Elena *et al.*, (2023) le DHA dans l'*Artémia* se situait entre 0,4 et 0,7 %. Ce qui corrobore nos résultats quoique l'acide linoléique est le plus dominant.

Cette variabilité de la composition en acides gras des cystes et des nauplii des salines est probablement corrélée avec les changements des conditions d'eau existante, qui sont courante dans ces habitats hypersalins extrêmes, telle que la température, la salinité, et la variation de l'oxygène dissous qui influe sur la qualité et les quantités des proliférations de phytoplanctons (Torretera et Dodson, 2004).

D'autre part le ratio n-3/n-6 est considéré comme un indicateur utile pour comparer la valeur nutritionnelle des lipides selon les conclusions de Piggott et Tucker (1990). Amarouayache *et al.*, (2017) ont rapporté que pour les poissons tempérés, les acides gras de la série n-3 sont les plus importants, car ils sont plus facilement incorporés dans les tissus des poissons dans des environnements froids, tandis que les poissons des environnements chauds nécessitent à la fois des séries n-3 et n-6 (Glencross, 2009). D'après cette étude, les cystes décapsulés d'Artémia ont montré des ratios relativement élevés de n-3/n-6, en particulier pour Lac El Bahira avec 10.93, par rapport aux ratios de 0,41 à 3,69 trouvés dans cinq cystes décapsulés de souches d'Artémia grecques (Moraiti-Ioannidou *et al.*, 2007) et c'est le cas pour les études de Amarouayache *et al.*, (2017).

Selon la classification de Watanabe *et al.*, (1978a), il existe deux catégories de cystes d'Artémia : le type eau douce et le type eau de mer, selon la composition en acides gras.

La première catégorie se caractérise par une concentration élevée d'acide linoléique (LNA) et une faible concentration d'eicosapentaénoïque (EPA), par contre la seconde catégorie présente une concentration plus élevée d'EPA.

Les données obtenues pour les populations algériennes font apparaître un taux de LNA (C18 :3) élevé, sont considérées de type dulçaquicole. La littérature montre que ces dernières années, les cystes du Grand Lac salé, par exemple, contenaient des niveaux élevés d'acide linoléique 18:3(n-3) et de faibles niveaux d'EPA : 20:5(n-3), ce qui les rend adéquats uniquement pour la culture d'organismes d'eau douce (Bengtson *et al.*, 2018).

Les résultats obtenus de Ben Naceur *et al.*, (2020) identifient l'Artémia de la saline de Sahline et sebkhat ElAdhibet en Tunisie comme un type eau douce, avec une teneur plus élevée en LNA et une teneur plus faible en EPA, ainsi que l'étude de Van Ballaer *et al.*, (1987) a montré que les trois souches d'*Artemia salina* de la saline de Megrine et Sfax en Tunisie et *Artemia franciscana* de GSL ont considéré comme type eau douce qui est conforme à nos résultats. De plus, l'*Artemia urmiana* récoltée du lac Urmia a été décrite dans la littérature comme une Artémia de type eau douce avec une teneur plus élevée en LNA et une teneur plus faible en EPA (Abatzopoulos *et al.*, 2006), ce qui est confirmé aussi par notre étude.

Navarro *et al.*, (1993) a expliqué que le rapport C16:0/C16:1 est un bon indice pour caractériser les échantillons en termes de type marin ou d'eau douce. Les populations de type d'eau douce ayant un rapport plus élevé. Le rapport 16:0:16:1n-7 qui était soit proche de 2 soit supérieur, ainsi que les valeurs de LNA élevées et un EPA très faible, confirment que ces

échantillons sont du type eau douce (Watanabe *et al.*, 1978). En effet, le groupe d'acides gras C16 est une signature pour les diatomées silicariches (>40%), en particulier 16 :1n-7 (Jónasdóttir, 2019). En outre, Pedersen *et al.*, (1999) ont signalé que 16 :1n-7 est un bio marqueur lipidique des diatomées. Wilhelm *et al.*, (2006) et Obata *et al.*, (2013) ont noté que les diatomées sont considérées comme les microalgues les plus performantes sur le plan écologique. Elles sont omniprésentes dans des endroits marins et d'eau douce (Zaslavskaja *et al.*, 2000), et elles sont des bio marqueurs particulièrement utiles pour l'identification des interactions trophiques compte tenu des valeurs élevées du rapport C16 :0/C16 :1.

Ghomari *et al.*, (2013) ont signalé que les cystes de Bethioua, Rélizane et El Goléa sont du type marin avec un pourcentage relativement élevé d'EPA et une LNA faibles, alors que ces populations provenaient de biotopes intérieurs. Les populations d'Adrar montrent un profil de type eau douce avec LNA élevé et faible en EPA. Par ailleurs, Chalabia *et al.*, (2021) ont montré que les populations de Timimoune, Bethioua et EL Melah appartiennent au type d'eau douce, ce qui concorde avec nos résultats. Amarouyache *et al.*, (2017) suggèrent que la structure des acides gras est non seulement associée aux conditions abiotiques prédominantes, mais aussi partiellement soumises à un contrôle génétique, cependant des recherches supplémentaires (environnementales et génétiques) sont nécessaires pour mieux comprendre les facteurs qui influent sur la composition en acides gras.

## Conclusion

L'analyse biochimique a montré une dominance des acides gras saturés. Il s'est avéré que les artémies accumulent certains acides gras tels que l'acide palmitique (C16:0) et l'acide linoléique (C18:3n3) qui constituent des réserves énergétiques susceptibles d'assurer leur survie en période de carence nutritive du milieu. Les acides gras mono-insaturés et polyinsaturés sont présents en grandes quantités, ceci pourrait être un indicateur d'utilisation comme aliment d'aquaculture. Par ailleurs, la détermination de profil en acides gras des cystes d'Artémia d'Algérie révèle une variabilité entre les différentes populations. En définitive compte tenu de la composition en acides gras des cystes décapsulés, l'Artémia algérienne est bonne sur le plan qualitatif et serait une source adéquate comme aliment pour les larves de poissons.

**Chapitre IV : *Étude de la variabilité génétique  
de l'Artémia***

## Introduction

L'Artémia constitue un organisme d'un intérêt particulièrement exceptionnel, offrant une plateforme précieuse pour une vaste gamme d'études expérimentales (MacRae *et al.*, 1988 ; Sorgeloos *et al.*, 1987). Les domaines de recherche activement explorés englobent la biochimie, la biologie cellulaire, la biologie moléculaire, la morphologie, l'écologie et la biologie des populations. Une part significative des recherches portant sur Artémia, notamment dans les domaines de la biochimie, de la biologie cellulaire et moléculaire, est axée sur le développement moléculaire (Lenormand *et al.*, 2018 ; De Vos *et al.*, 2021)

Ce crustacé est extrêmement halophile, largement répandu dans le monde. Le genre a été relativement bien décrit sur le plan taxonomique et est composé de quelques espèces se reproduisant sexuellement et de quelques lignées parthénogénétiques (Muñoz et Pacios, 2010). Ces espèces habitent des lacs salés et hypersalés ainsi que des zones humides, en grande partie liée aux activités humaines telles que les marais salants, depuis plusieurs millénaires. Cela suggère que la distribution actuelle de diverses espèces d'*Artemia* pourrait résulter d'une inoculation délibérée ou accidentelle (Muñoz et Pacios, 2010).

La caractérisation morphologique et moléculaire peut être d'une grande importance dans l'industrie de l'aquaculture. L'identification morphologique de l'Artémia se fait principalement par des caractéristiques telles que le pénis, l'ovisac, la longueur et la largeur de l'abdomen, la furca, l'antenne, les yeux, la tête et le nombre de soies sur les tubercules frontaux (Vetriselvan et Munuswamy, 2011; Scalone et Rabet, 2013; Krishnakumar et Munuswamy, 2014). La taxonomie morpho-biométrique traditionnelle présente certaines limitations, telles que le polymorphisme mimétique qui dépend de l'expertise des taxonomistes. Il ne fait guère de doute qu'il est nécessaire d'avoir des preuves complémentaires au niveau de la séquence moléculaire de l'ADN (Biju *et al.*, 2023). Le système d'identification standard par séquençage moléculaire a été introduit dans les années 1990 avec le séquençage de l'ADN par réaction de polymérase en chaîne. Le code-barres ADN a été utilisé avec succès pour évaluer la biodiversité et détecter des modifications de produits basés sur l'aquaculture et également pour identifier différentes espèces de crevettes de la mer Méditerranée et de la mer rouge (Galal-Khallaf *et al.*, 2014 ; El-Sharawy *et al.*, 2017 ; Ahmed *et al.*, 2021).

Les relations phylogénétiques entre les espèces d'*Artemia* ont été établies par des études combinées basées sur le croisement, la différenciation morphologique, la cytogénétique, les marqueurs nucléaires (y compris les allozymes et d'autres séquences d'ADN nucléaire) et les marqueurs de séquence d'ADN mitochondrial (Baxevanis *et al.*, 2006). Les séquences des gènes et des régions intercalaires ribosomales et les séquences mitochondriales sont les plus

utilisées pour effectuer des comparaisons entre les taxons (Clarck *et al.*, 2017).

Plusieurs études ont révisé la taxonomie des espèces en utilisant l'identification moléculaire, remettant en question les critères morphologiques établis (comme illustré par Wyngaard *et al.*, 2010). Cela a incité à explorer de nouveaux critères de caractérisation pour résoudre les incertitudes liées à l'identification des espèces. Bien que de nombreuses recherches se soient penchées sur ces aspects moléculaires dans le contexte marin (Schwartz *et al.*, 2006), peu de travaux ont été réalisés dans les milieux salins et en particulier, sur la caractérisation génétique des artémies des milieux hypersalins.

## 1. Objectif

L'absence de données génétiques sur les organismes zooplanctoniques des milieux extrêmes et salins d'Algérie soulève des questions directement liées à la diversité et à la variabilité génétique de ces espèces, notamment l'Artémia dans cet environnement. Nous avons examiné la distribution et l'identification des différentes populations d'Artémia provenant de certaines salines d'Algérie.

## 2. Matériels et Méthodes

### 2.1. Prélèvement et conservation des échantillons

Les échantillons destinés à l'étude de la structure génétique ont été des cystes prélevés sur les berges des salines et décapsulés avec l'eau de javel (voir chapitre 1)

### 2.2. Extraction d'ADN génomique

L'extraction du matériel génétique des Artémia a été effectuée selon les recommandations du fournisseur du kit (PromegaMagaZorb®).

#### 2.2.1. Lyse

Pour extraire l'ADN à partir des cystes d'Artémia décapsulés, il faut mettre les échantillons sur la glace pendant les deux premières étapes. Tout d'abord, ajoutez 5 à 10 mg de cystes broyés à l'aide d'azote liquide dans un tube à centrifuger stérile de 2 ml. Ensuite, homogénéisez le tissu en ajoutant 200 µl de tampon TE (contenant 10 mM de Tris-HCl et 1 mM d'EDTA, pH 8.0) à l'aide d'un broyeur de tissus. Il est essentiel d'obtenir une suspension uniforme dans les 5 à 10 minutes qui suivent. Après cela, ajoutez 20 µl de la solution PK au tube, en veillant à bien mélanger au niveau du fond central du tube, sans toucher les parois pendant le pipetage. Effectuez ensuite une agitation douce par rotations manuelles, en prenant soin d'éviter que la solution d'échantillon/PK ne pénètre dans le bouchon du tube. Pour dégrader l'ARN, ajoutez 20 µl de la solution mère de RNase A (20 mg/ml) au tube. Refermez le bouchon du tube et agitez doucement en vortex pendant 15 secondes. Incubez le mélange à température ambiante pendant 5 minutes. Suite à cette incubation, ajoutez 200 µl de tampon de lyse clair au tube, en agitant soigneusement. Assurez-vous d'obtenir un mélange parfaitement homogène en agitant par impulsions au vortex, généralement pendant 15 secondes. Ensuite, placez le tube dans un bain-marie d'eau préchauffée à 56°C et laissez l'incubation se poursuivre pendant 10 minutes. À la fin de cette étape, retirez le tube du bain-

Marie et essuyez l'extérieur du tube avec un essuie-tout. Suivez ces étapes avec précision pour garantir une extraction d'ADN efficace à partir des échantillons des cystes.

### 2.2.2. Fixation

Avant de commencer les étapes de fixation, quelques précautions sont à prendre. Tout d'abord, assurez-vous de bien mélanger le tampon de fixation en l'inversant ou en utilisant de brèves impulsions au vortex. De même, assurez-vous que le réactif MagaZorb® est bien mélangé en le tourbillonnant vigoureusement à la main jusqu'à ce que les particules soient en suspension. Il est important de répéter ce processus de mélange avant chaque ajout du réactif. Pour la fixation, commencez par ajouter 500 µl du tampon de fixation préalablement mélangé à votre échantillon. Effectuez une agitation au vortex par impulsions pendant environ 15 secondes pour obtenir un mélange homogène, en veillant à appuyer doucement sur le tube pour libérer toute solution piégée dans le bouchon. Ensuite, ajoutez directement 20 µl du réactif MagaZorb® soigneusement mélangé dans la solution, suivi d'une agitation douce au vortex, généralement pendant 15 secondes. Laissez le mélange reposer à température ambiante pendant 10 minutes, en remuant manuellement toutes les 2 minutes. Ensuite, utilisez un support magnétique pour faire sédimenter les particules MagaZorb® ; elles devraient se déposer habituellement en 60 à 90 secondes. Tout en maintenant les tubes sur l'aimant, effectuez 2 à 3 retournements pour rincer le bouchon avec le liquide en suspension. Enfin, éliminez-le surnageant par aspiration. Assurez-vous que le tube est étroitement appliqué contre l'aimant lors de l'aspiration pour que les particules magnétiques restent fortement fixées à l'aimant. Retirez autant de liquide que possible, y compris celui piégé dans le bouchon du tube, en veillant à ne pas éliminer les particules.

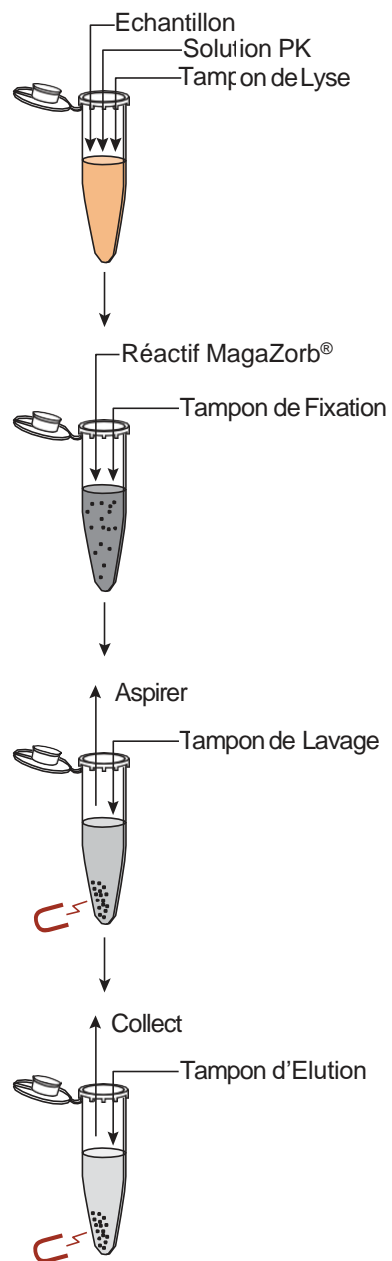
### 2.2.3. Lavage

Pour l'étape de lavage, commencez par agiter le tampon de lavage en l'inversant ou en le tourbillonnant. Ensuite, ajoutez 1 ml de ce tampon de lavage parfaitement mélangé au tube. Retirez le tube de l'aimant et effectuez plusieurs inversions pour vous assurer que les particules sont complètement dispersées dans le liquide. Ensuite, faites sédimenter les particules sur la grille magnétique. Après cela, éliminez délicatement le surnageant par aspiration. Répétez ces étapes de lavage. Après le second lavage, le surnageant devrait être très clair. Assurez-vous de retirer tout le liquide par aspiration après le second lavage, y compris celui piégé dans le bouchon du tube. Soyez attentif à ne pas éliminer toutes les particules. Le tube doit être sec, avec seulement les particules MagaZorb® solidement sédimentées au fond du tube.

**2.2.4. Élution des fragments d'ADN à partir du gel d'agarose**

Pour récupérer les fragments d'ADN, le kit Wizard SV Gel de Promega est utilisé conformément au protocole du fournisseur. L'ADN est repris dans 25 µl d'eau exempte de nucléases (Nuclease Free Water) et stockée à -20°C en vue d'une utilisation ultérieure pour la réaction de séquençage. Pour l'étape d'élution, commencez par mélanger le tampon d'élution en l'inversant ou en utilisant de brèves impulsions au vortex juste avant de l'ajouter. Ajoutez ensuite 200 µl de ce tampon d'élution bien mélangé au tube. Effectuez un mélange doux en retournant et en tourbillonnant après avoir retiré l'aimant. Incubez le tube pendant 10 minutes à température ambiante, en effectuant une agitation manuelle toutes les 2 minutes.

Ensuite, faites sédimenter les particules sur la grille magnétique. Avec précaution, transférez-le surnageant dans un tube propre, en évitant de recueillir des particules lors du transfert. Le surnageant transféré contient de l'ADN purifié. L'ADN isolé est maintenant prêt pour une analyse ultérieure. Si l'échantillon ne doit pas être testé le même jour, il peut être stocké à -20°C jusqu'au moment de l'analyse.



**Figure 26 :** Protocole simplifier du Kit MagaZorb® selon le fournisseur (Promega, France)

### 2.3. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

La PCR (pour polymérase Chain Reaction ou réaction de polymérisation en chaîne) est une technique de répllication *in vitro* qui a été mise au point en 1986 par Kary Mullis. Elle permet d'obtenir d'importantes quantités d'un fragment d'ADN spécifique et de longueur définie. Le nombre de copies est de l'ordre de grandeur du million en quelques heures. Il s'agit de réaliser une succession de réactions de répllication d'une matrice double brin d'ADN. Chaque réaction met en œuvre deux amorces oligonucléotidiques (sens et anti-sens) complémentaires. Les amorces ou «primers» bornent alors la séquence à amplifier. Les couples d'amorces employés lors des amplifications par PCR sont décrits dans le tableau 04.

Ces cycles thermiques ont été réalisés à l'aide d'un thermocycleur iCycler<sup>TM</sup> Thermal cycler (BIO-RAD, USA) qui permet de programmer les différentes températures, la durée de chaque étape et le nombre de cycles (n) selon les conditions décrites pour chaque analyse. Pour chaque série de cas testé, il est nécessaire de réaliser en parallèle un témoin négatif ne contenant pas d'ADN matrice, afin de vérifier l'absence de contamination éventuelle des réactifs utilisés.

L'amplification est réalisée selon le programme suivant : dénaturation à 93°C pendant 3 min, puis 35 cycles comprenant trois étapes : la dénaturation (30 s à 93°C) de l'ADN qui permet la séparation des doubles brins d'ADN ; l'hybridation des amorces (30 s à la température optimale (T<sub>m</sub>)) qui permet leur fixation sur l'ADN dénaturé ; et l'élongation (72°C pendant 40 s jusqu'à 1,5 min (pour le 18S ayant une taille de 1400 pb) ) du brin complémentaire de l'ADN matrice à partir des amorces hybridées et à l'aide des désoxynucléotides libres.

À la fin de la série des cycles thermiques, une aliquote du produit amplifié est chargée sur un gel d'agarose et soumise à une électrophorèse. Une réaction positive se traduit par la présence d'une bande colorée de l'ADN par le Gel Red<sup>TM</sup> Nucleic Acid Gel Stain, 10 000 X (Biotium) dont la taille est estimée grâce à un marqueur de poids moléculaire ayant migré simultanément.

**Tableau 4** : Les amorces et conditions PCR

Nom	Amorces	Tm
FAs18sa	5'-CGT GGT GTG GTT GAA AGT TG-3'	64 °C
RAAs18sa	5'-TCC CTC AAA CAA GGC CAA T-3'	63 °C
LCO1490	5' GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'	40°C
HCO2198	5' TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'	40°C

*Tm* : Température d'hybridation ;

### 2.3.1. Préparation du Mix PCR

Un kit d'amplification par PCR (Promega) a été utilisé pour l'amplification des fragments d'intérêt. Le milieu réactionnel de la PCR (Mix PCR) contient pour chaque tube de réaction de chaque échantillon dans un volume final de 25 µl :

25-50 ng d'ADN,

150 mM de chaque dNTP (dATP, dCTP, dTTP et dGTP) (Promega), 6,25 pmol  
chaque amorce oligonucléotidique (Eurogentec),

1 Unité de Taq d'ADN polymérase GoTaq® G2 Hot Start Polymerase (Promega)

4 mM de MgCl<sub>2</sub> (Promega),

5 µl de 5x du tampon de PCR GoTaq (Promega).

Chaque réaction est réalisée dans un microtube à PCR de 200 µl.

### 2.4. L'électrophorèse

Le gel d'agarose à 2,5 %, visant à créer un gel de séparation précis, a été préparé comme suit : 50 ml de tampon TAE (composé de 40 mM de Tris, 20 mM d'acide acétique et 1 mM d'EDTA) à pH 8 ont été préparés dans un flacon. Ensuite, 1,25 g d'agarose ont été ajoutés aux 50 ml de TAE dans le flacon, et le mélange a été agité à l'aide d'un agitateur magnétique. Pour éviter l'évaporation pendant le chauffage, le flacon a été scellé avec du papier aluminium. L'agarose a été fondue au four à micro-ondes tout en surveillant pour éviter les projections, en agitant périodiquement pour homogénéiser le mélange. Après avoir laissé refroidir jusqu'à ce qu'il puisse être manipulé sans danger à la main (environ 60 °C), 5 µl de l'intercalaire de l'acide nucléique Gel Red™ Nucleic Acid Gel Stain, 10 000 X (Biotium) ont été ajoutés à la solution. Les joints de coulage fournis avec la cuve ont été utilisés pour fermer le support de gel, et le peigne a été positionné à 1 mm du fond et à environ 0,5 cm de l'extrémité du support, en veillant

à ce que le support de gel soit horizontal. Le gel a été coulé lentement sur une épaisseur de 3 à 5 mm pour s'assurer qu'il entoure correctement les dents du peigne, puis il a été laissé refroidir. Une fois refroidis, le peigne et les joints ont été retirés, laissant le gel prêt pour le dépôt des échantillons.

Enfin, les puits ont été remplis avec environ 7 µl de chaque échantillon d'amplifiant, en veillant à ne pas endommager le fond du gel avec la pointe de la pipette. Un marqueur de poids moléculaire (100 – 1 500 pb, Promega) a été utilisé pour déterminer la taille des fragments d'ADN amplifiés.

#### **2.4.1. Préparation de la cuve d'électrophorèse.**

La procédure d'électrophorèse a été effectuée en plaçant d'abord le support avec le gel chargé dans la cuve, en veillant à ce que les puits soient orientés du côté de la cathode. La cuve a été remplie délicatement et très lentement de tampon TAE, réutilisable plusieurs fois, pour éviter les fuites d'ADN vers le tampon, en particulier lorsque le gel a commencé à être recouvert. L'électrophorèse a été menée dans une minicuve à électrophorèse reliée à un générateur électrique (ALLSHENG, Mini-ES2, Chine). La cuve a ensuite été fermée, les fils ont été connectés et la tension a été appliquée. L'électrophorèse a été autorisée à se poursuivre jusqu'à ce que le colorant de charge atteigne approximativement le bord du gel, ce qui a pris environ 37 minutes à 100 V pour un gel de 60 mm dans une mini cuve.

#### **2.4.2. Révélation des bandes d'ADN**

Les bandes d'ADN ont été visualisées en plaçant le gel sur un Trans illuminateur UV (300 nm).

### **2.5. Séquençage des produits PCR**

Les produits PCR isolés et purifiés ont été séquencés par la technique de Sanger [Sanger *et al.*, 1977] en utilisant le kit BigDye v3.1 d'Applied Biosystems et les amorces PCR utilisées pour l'amplification des fragments d'intérêt.

### **2.6. Outils d'Analyse Bio-informatique**

Au cours de cette étude, nous avons exploité la base de données génétique GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) pour notre analyse bio-informatique. Ce processus implique la comparaison des séquences nucléotidiques avec celles déjà répertoriées dans les bases de données susmentionnées. Pour établir des similitudes entre les séquences, nous avons utilisé l'outil BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), une méthode largement reconnue pour l'identification de l'origine spécifique d'une séquence donnée (Altschul *et al.*, 1990).

Il est important de noter que BLAST est accessible gratuitement aux chercheurs via le site du NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/)). Cette ressource s'est révélée cruciale pour notre analyse bio-informatique des séquences nucléotidiques.

Les séquences brutes obtenues sont analysées et nettoyées par le logiciel CHROMAS PRO (version 2.6.6). Les séquences ainsi traitées sont alors comparées avec celles se trouvant dans la banque de données GeneBank par l'utilisation du Programme BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> Blast) de NCBI pour l'identification des souches étudiées en se basant sur le pourcentage d'homologie ainsi que l'évalue avec les souches de références. Les électrophorégrammes ont été édités à l'aide du logiciel MEGA 11 (Molecular Evolutionary Genetic Analysis) (Tamura *et al.*, 2021).

Ce processus implique la réalisation d'alignements, une étape essentielle pour plusieurs raisons. Tout d'abord, elle facilite la détection d'éventuels artefacts, tels que des insertions, des délétions, ou des pics anormaux sur les chromatogrammes. De plus, l'alignement permet de comparer les séquences entre elles, une opération cruciale pour notre analyse. Nous avons utilisé les paramètres par défaut c'est-à-dire l'algorithme d'alignement de séquence multiple « Muscle » (Edgar, 2021) intégré au programme MEGA, et chaque séquence a été soigneusement vérifiée visuellement pour garantir la qualité de nos données.

L'arbre phylogénétique est construit alors sur le logiciel MEGA, en se basant sur la méthode du Neighbor-Joining avec un bootstrap de 1000 (Sainz-Escudero *et al.*, 2022)

### **2.7. Numéros d'accèsion des séquences nucléiques**

Les séquences du gène de l'ARNr 18S et COI obtenus lors dans cette étude ont été déposés dans la banque Gene Bank avec des numéros d'accèsion.

**Tableau 5 :** Des numéros d'accèsion des séquences des gènes 18S et COI d'espèce d'*Artemia* disponibles sur Gen Bank

Gène	Espèces	N° d'accèsion	Localité	Référence
18S	<i>Artemia sorgeloos</i>	MW 995330	Chine	Asem <i>et al.</i> , (2023)
	<i>Artemia tibitenna</i>	MW 995269	Chine	Asem <i>et al.</i> , (2023)
	<i>Artemia urimiana</i>	MK 752753	Ukraine	Abatzopoulos <i>et al.</i> , 2019
	<i>Artemia parthénogénétique</i>	KF 736271	United Kingdom	Maccari <i>et al.</i> , (2013)
	<i>Artemia sinica</i>	MW 995221	Chine	Asem <i>et al.</i> , (2023)
	<i>Artemia salina</i>	KY 000020	Libye	Xu <i>et al.</i> , (2017)
	<i>Daphnia magna</i>	AM 490278	Belgique	Van Damme, (2007)
COI	<i>Artemia salina</i>	OM 737922	Égypte	Asem, (2022)
	<i>Artemia salina</i>	DQ 426833	Espagne	Munoz (2008)
	<i>Artemia sorgeloos</i>	NC 072958	Chine	Asem <i>et al.</i> , (2023)
	<i>Artemia sp. kazakhstan</i>	GU 4591386	Kazakhstan	Munoz <i>et al.</i> , (2010)
	<i>Artemia urimiana</i>	OM 737919	Iran	Asem, (2022)
	<i>Artemia parthenogenetica</i>	MT792829	Grèce	Rode, (2020)
	<i>Artemia tibitenna</i>	EF 615588	Chine	Wang, (2016)
	<i>Daphnia magna</i>	NC 059183.1	USA	Swart <i>et al.</i> , (2019)

### 3. Résultat

La caractérisation au niveau moléculaire par séquençage des gènes ribosomal 18S et mitochondrial COI sont considérés comme étant l'approche la plus utilisée pour l'identification des espèces zooplanctonique (Schroeder *et al.*, 2021 ; Blanco-Bercial, 2020). Ainsi, les échantillons collectés durant cette étude ont été identifiés au niveau du genre en utilisant le séquençage des amplicons PCR des gènes 18S/COI (Figure 27). Un total de douze séquences *Artemia salina* et *A. parthenogenetica* ont été récupérées et déposées dans le NCBI GenBank avec des numéros d'accèsion (tableau 06).

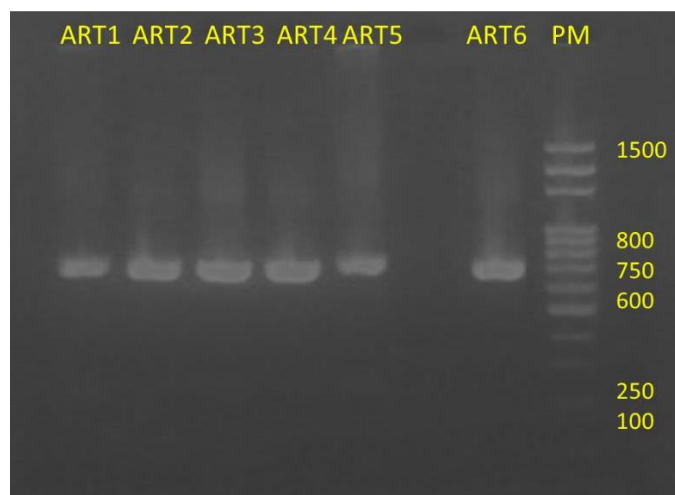
**Tableau 6 :** Numéros d'Accession des Séquences des gènes 18S et COI d'Artémia déposée sur GenBank pour cette Étude

Gène	Espèces	Abréviation	N° d'accèsion	Localisation	Coordonnées géographiques	Référence
18S	<i>Artemia parthenogenetica</i>	ART 1	OP526369	Saline Bethioua	35° 41' 21" N 0° 18' 15" W	Présente étude
	<i>Artemia parthenogenetica</i>	ART 3	OP738725	Lac El Bahira	35° 50' 07" N 5° 15' 04" E	Présente étude
	<i>Artemia salina</i>	ART 6	OP738726	Chott Marouane	34° 02' 45" N 6° 02' 06" E	Présente étude
	<i>Artemia salina</i>	ART 5	OP738723	Saline Sidi Bouzian	35° 51' 07" N 0° 39' 02" E	Présente étude
	<i>Artemia salina</i>	ART 2	OP617241	Sebkhat Ezzemoulee	35° 52' 57" N 6° 32' 54" E	Présente étude
	<i>Artemia salina</i>	ART 4	OP738724	Sebkhat Timimoune	29° 02' 54" N 0° 03' 59" E	Présente étude
COI	<i>Artemia salina</i>	ART 1	OR186210.1	Bethioua saline	35° 41' 21" N 0° 18' 15" W	Présente étude
	<i>Artemia salina</i>	ART 6	OQ921833.1	Chott merouane	34° 02' 45" N 6° 02' 06" E	Présente étude
	<i>Artemia salina</i>	ART 2	OQ891758.1	Sebkhat Ezzemoulee	35° 52' 57" N 6° 32' 54" E	Présente étude
	<i>Artemia salina</i>	ART 4	OQ921824.1	Sebkhat Timimoune	29° 02' 54" N 0° 03' 59" E	Présente Etude
	<i>Artemia salina</i>	ART 5	OR018835.1	Saline Sidi Bouziane	35° 51' 07" N 0° 39' 02" E	Présente Etude
	<i>Artemia parthenogenetica</i>	ART 3	OQ891757.1	Lac El Bahira	35° 50' 07" N 5° 15' 04" E	Présente étude

### 3.1. Caractérisation phylogénétique

#### 3.1.1. Étude phylogénétique des populations d'Artémia avec un fragment du gène 18S

Six séquences d'un fragment du gène codant l'ARN ribosomal 18S d'une longueur entre 600 et 800 pb ont été obtenues pour les différents échantillons d'Artémia des lacs et salines d'Algérie (figure 27).



**Figure 27 :** Résultats de PCR pour les Artémia sur un gel d'agarose à 2.5 %. Voies 1-6 (Artémias) et voie 7 (échelle de poids moléculaire).

L'alignement multiple des séquences S18 établis par l'algorithme MUSCLE est présenté dans les figures 28 et 29.

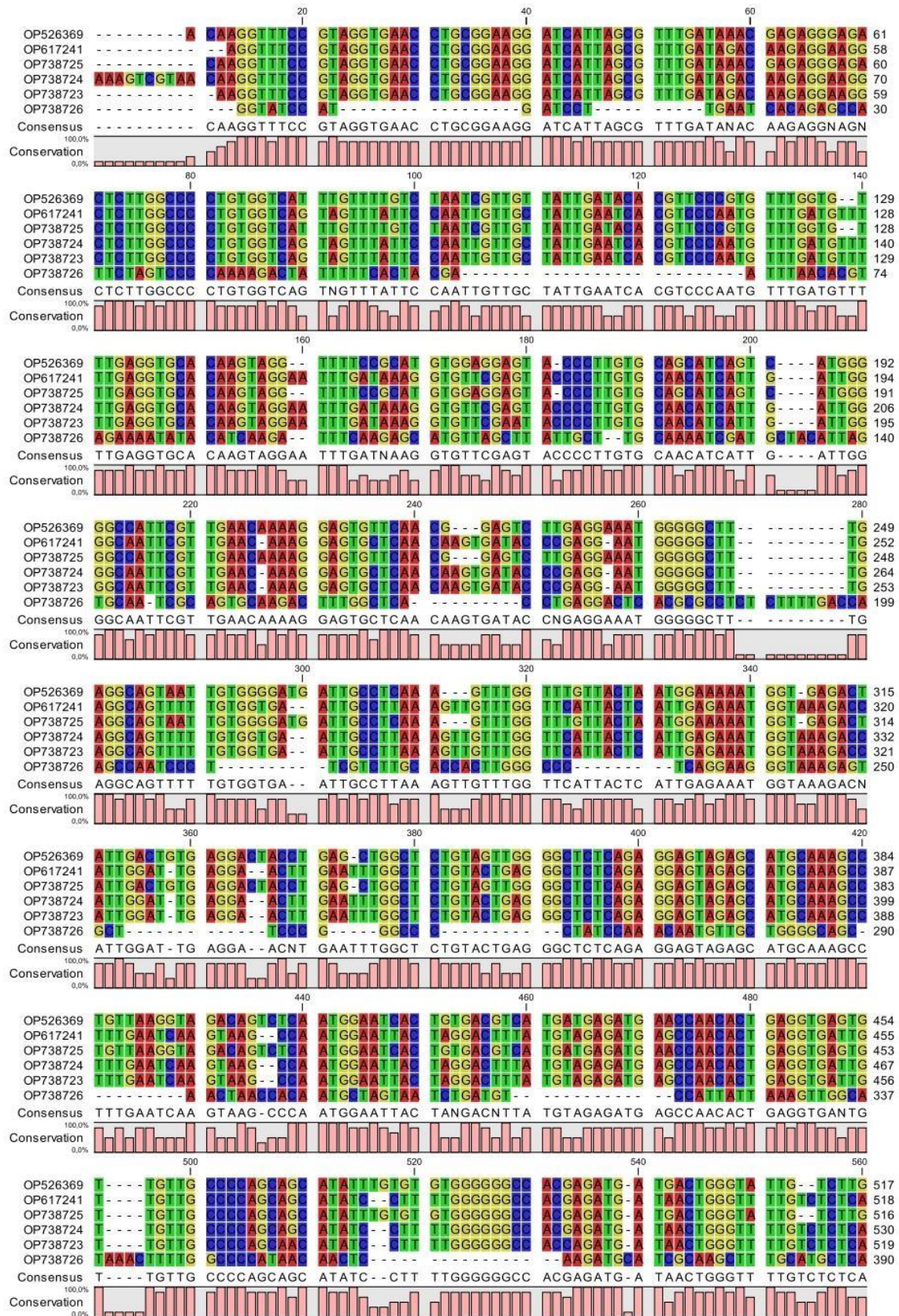
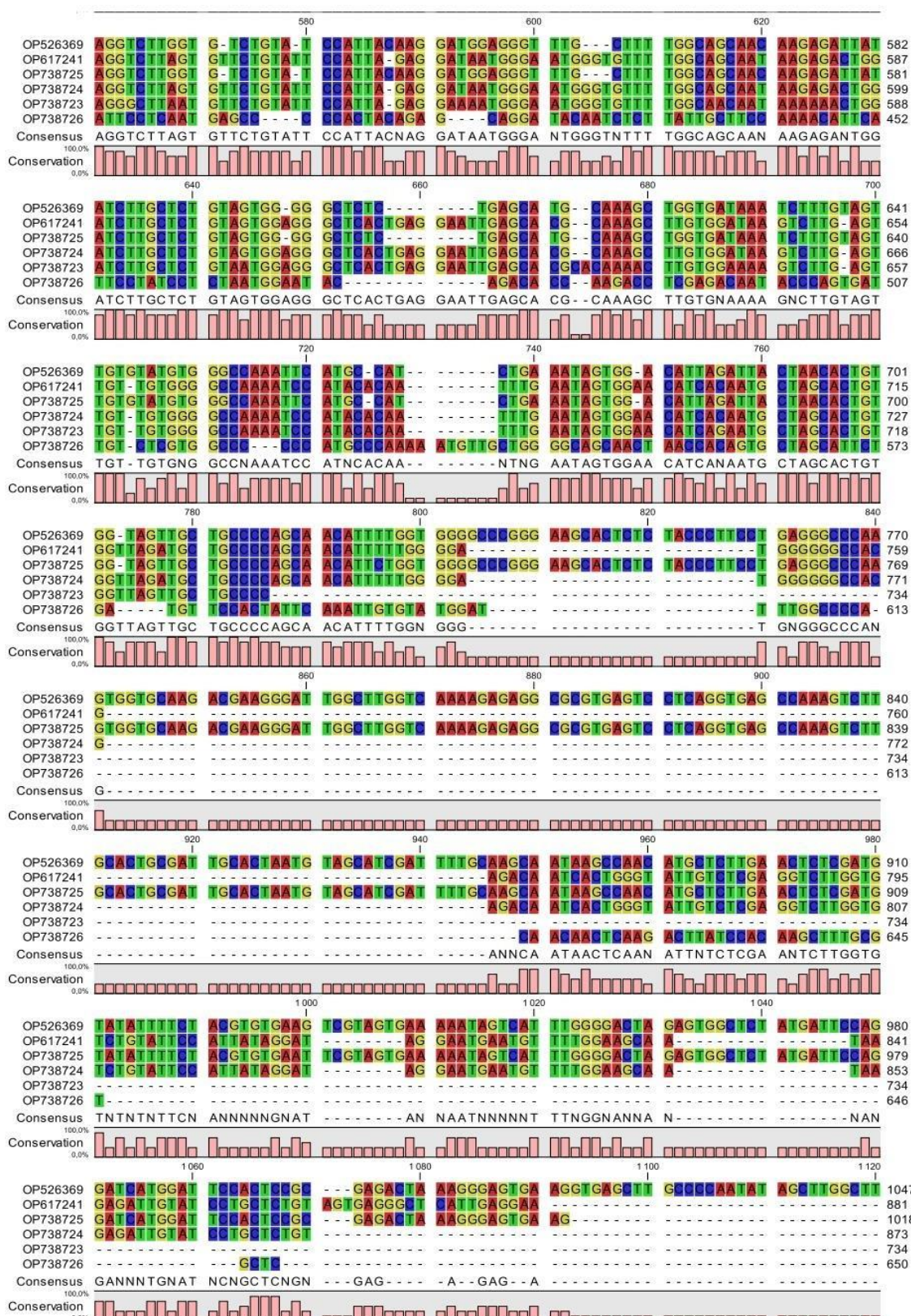
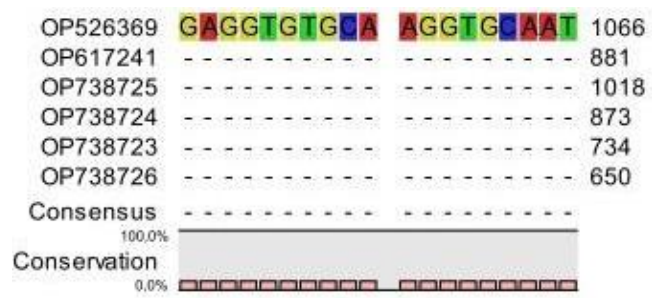


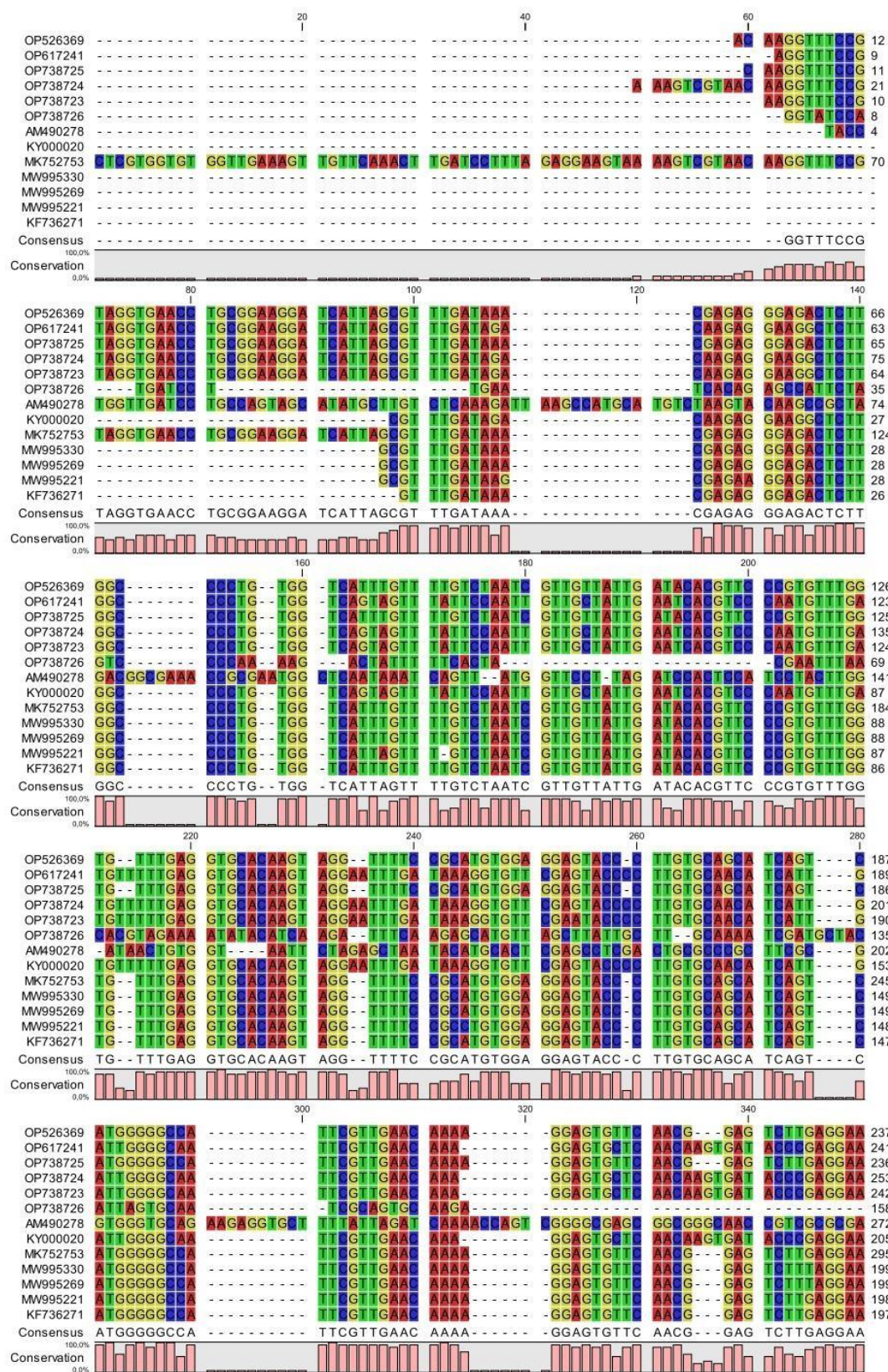
Figure 28 : Alignement multiple des Séquences de l'ADN du gène 18S d'Artémia des échantillons, par l'algorithme MUSCLE



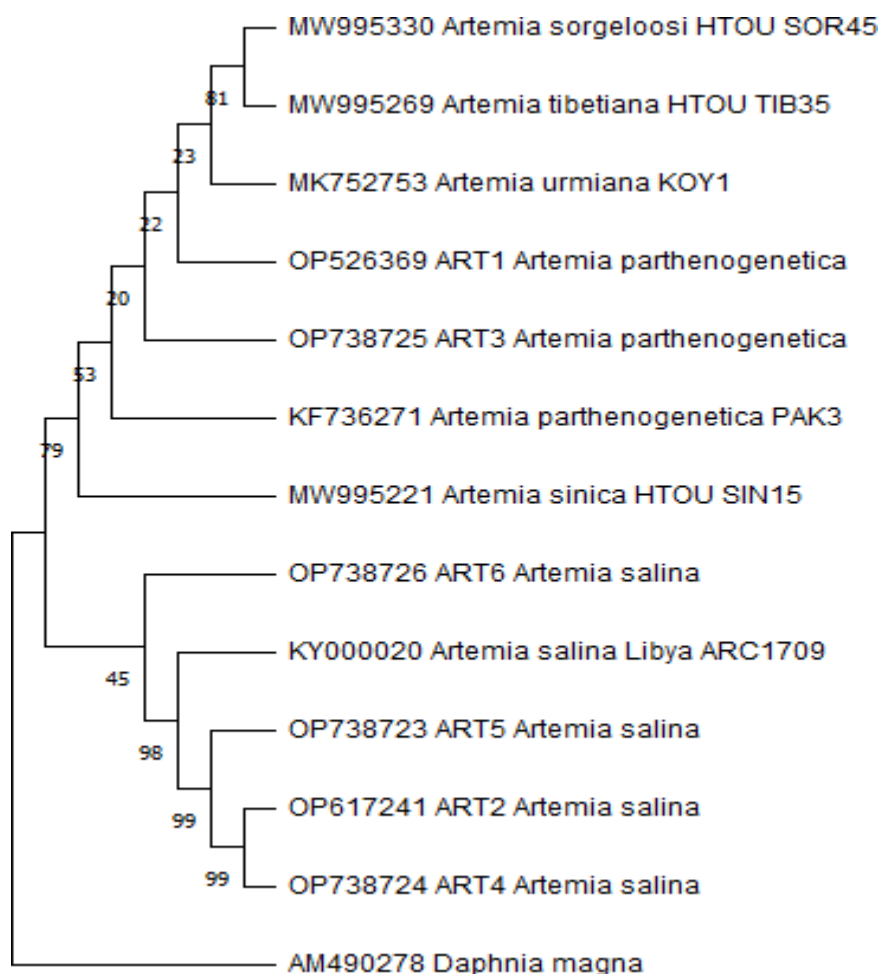
**Figure 28 (suite) :** Alignement multiple des Séquences de l'ADN du gène 18S d'Artémia des échantillons, par l'algorithme MUSCLE.



**Figure 28 (suite) :** Alignement multiple des Séquences de l'ADN du gène 18S d'Artémia des échantillons, par l'algorithme MUSCLE



**Figure 29 :** Alignement multiple des Séquences de l'ADN du gène 18S d'Artémia de l'étude et celle références trouvées sur Genbank, par l'algorithme MUSCLE pour la construction de l'arbre phylogénique.



**Figure 30 :** Arbre phylogénétique de différentes espèces du genre Artémia, basé sur les données des séquences de gène S18 ainsi que celle trouvée sur NCBI.

(L'arbre a été construit à l'aide de la méthode du Neighbour Joining (NJ) avec un boots trap de 1000 répliques (outergroupe : *Daphnia magna*) sur MEGA11)

Nos échantillons sont répartis en deux groupes : *Artemia salina* et *Artemia parthenogenetica* sauf pour ART1 qui semble être dans un groupe plus proche de celui d'*Artemia urmiana* selon les alignements obtenus avec le Blast.

On remarque aussi qu'ART6 fait partie du groupe incluant *Artemia salina* de Lybie (figure30), et dans l'arbre illustré dans la figure 31 elle s'éloigne par rapport à l'ensemble des échantillons. En effet la construction phylogénique démontre la relation entre les différents échantillons selon la méthode du Neighbour Joining (Sainz-Escudero *et al.*, 2022) avec un alignement multiple par l'algorithme MUSCLE par contre ART6 selon l'algorithme BLAST (alignement local) se trouve plus proche du taxon *Artemia salina*.



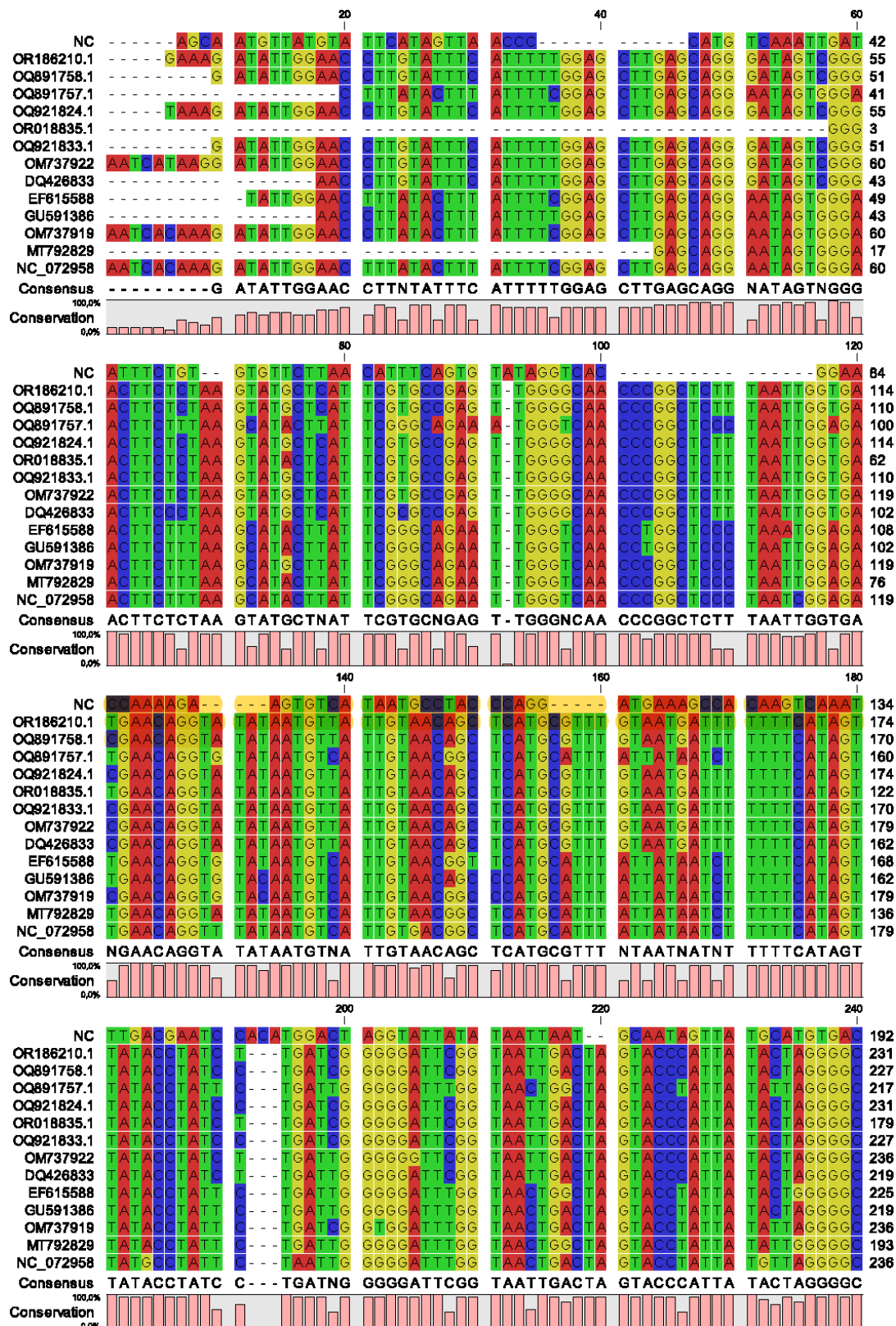


Figure 32 : Alignement multiple des Séquences de l'ADN du gène COI d'Artémia de l'étude et celle trouvée sur Genbank, par l'algorithme MUSCLE pour la construction de l'arbre phylogénétique

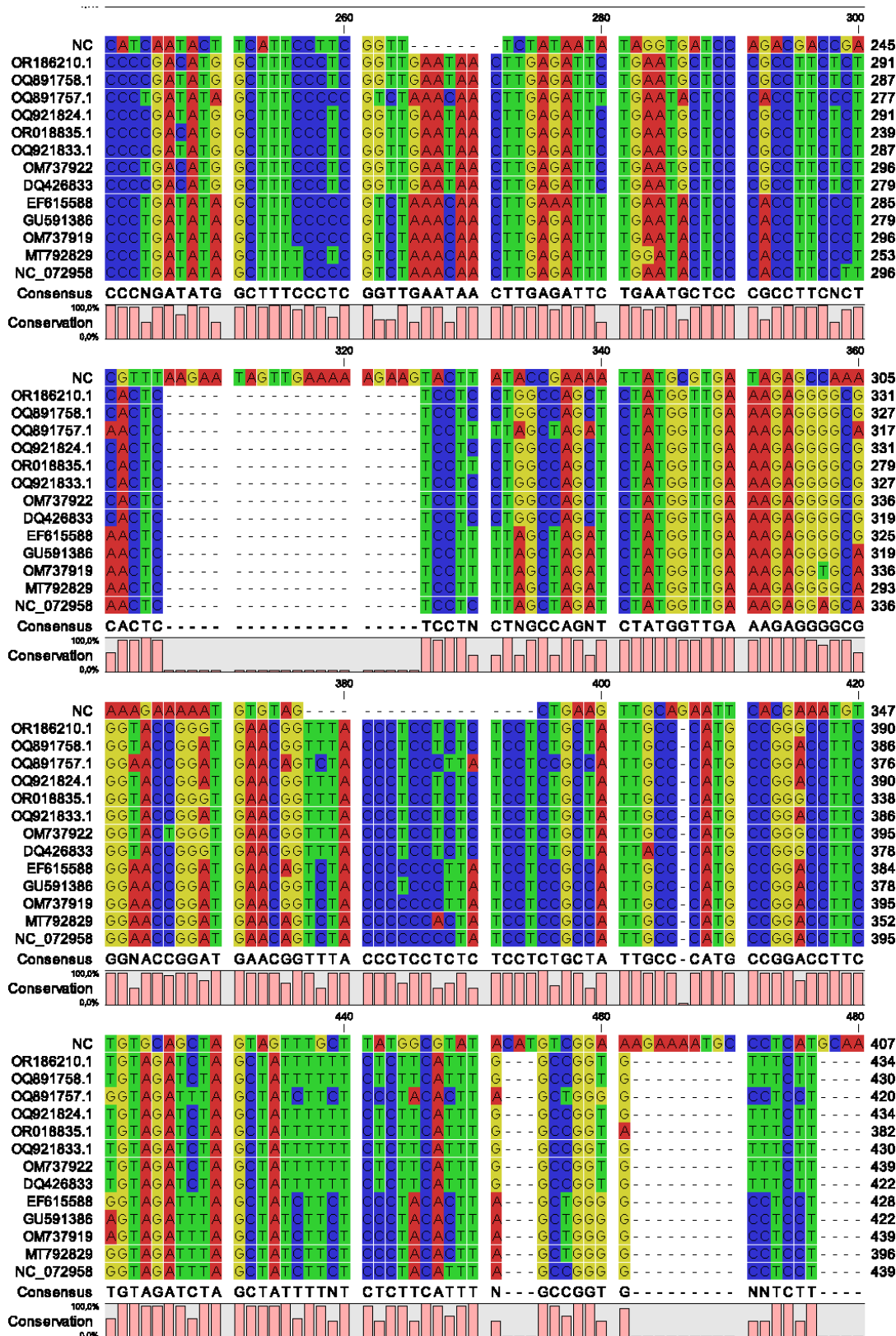


Figure 32 (suite) : Alignement multiple des Séquences de l'ADN du gène COI d'Artémia de l'étude et celle trouvée sur Genbank, par l'algorithme MUSCLE pour la construction de l'arbre phylogénique

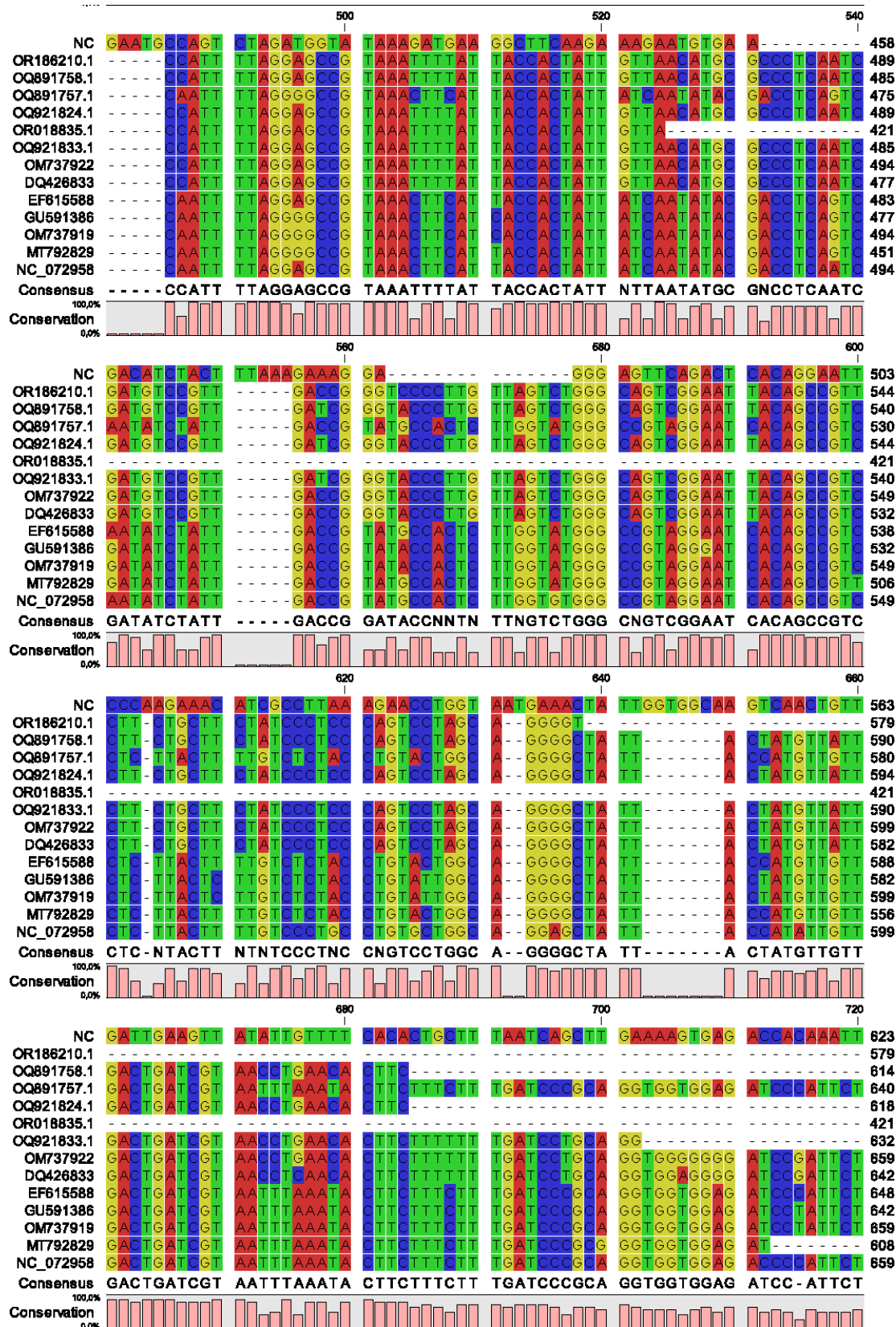
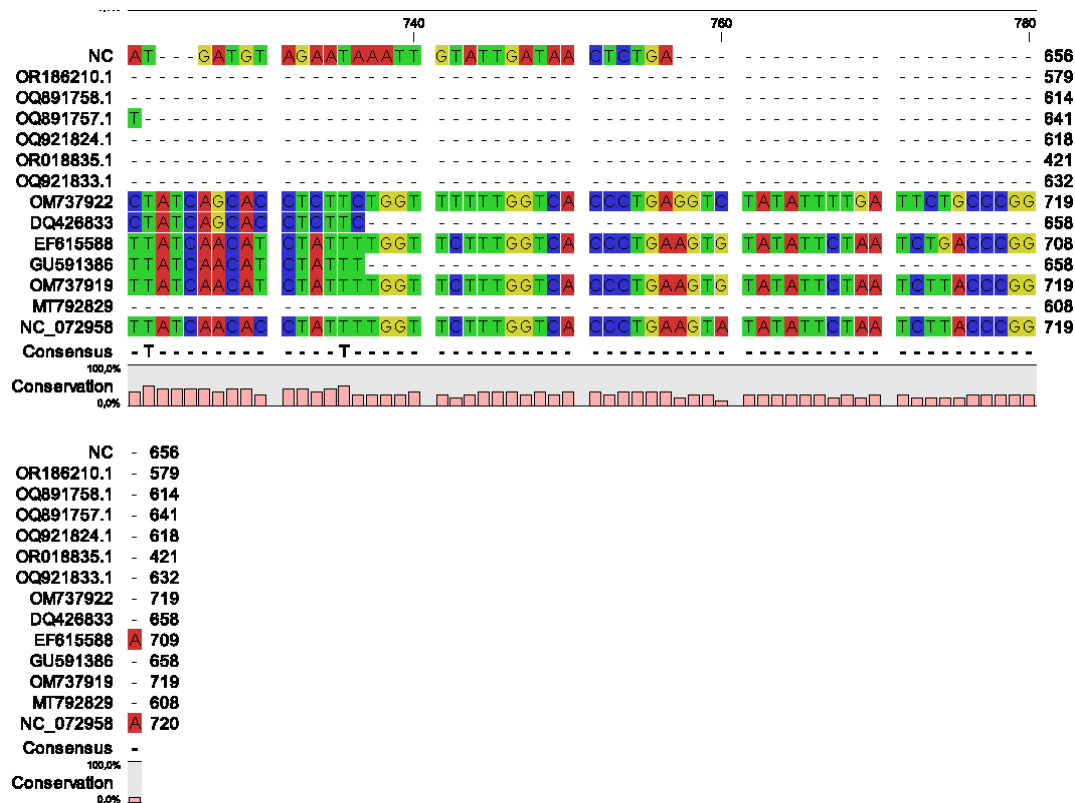
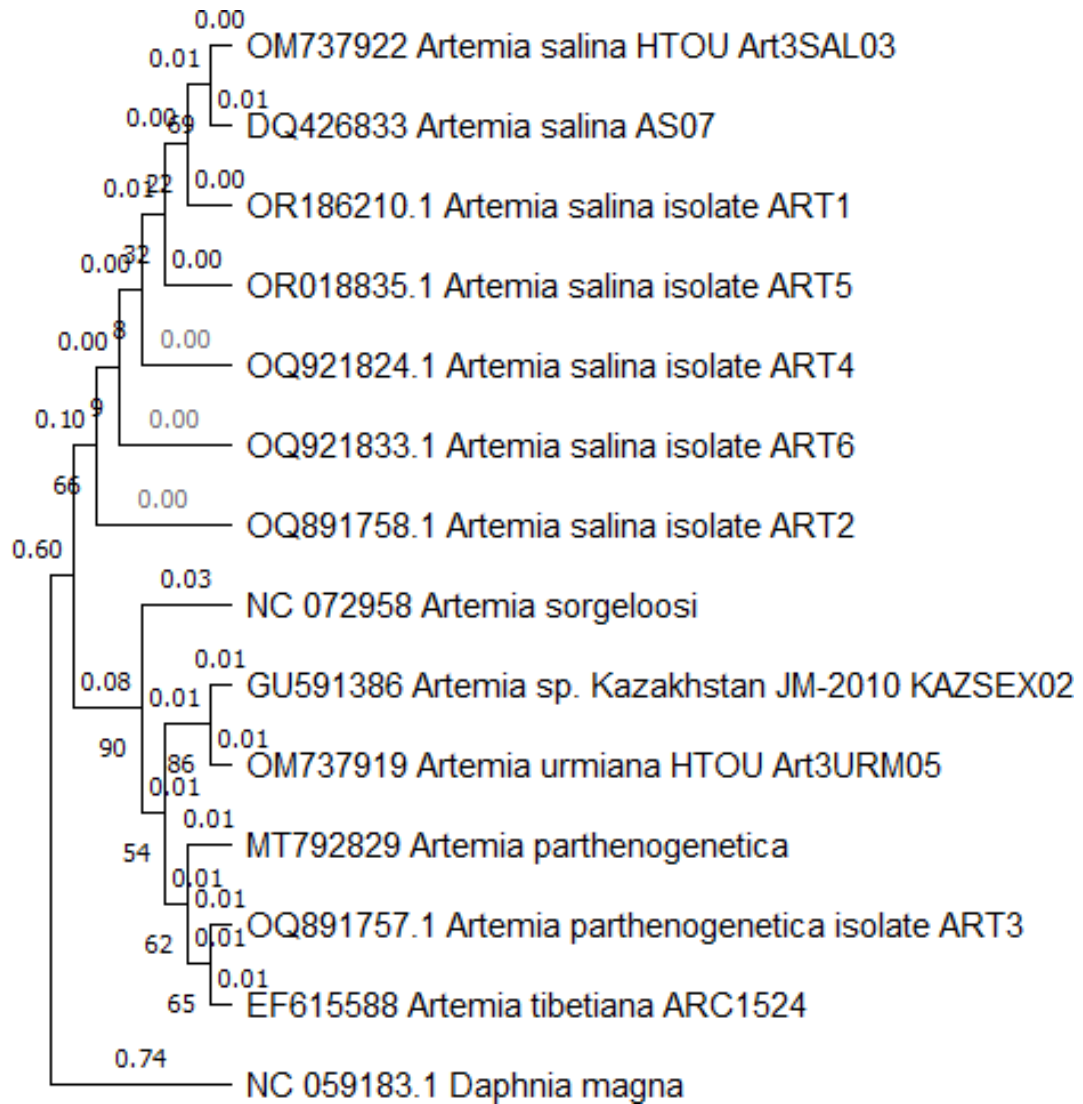


Figure 32 (suite) : Alignement multiple des Séquences de l'ADN du gène COI d'Artémia de l'étude et celle trouvée sur Genbank, par l'algorithme MUSCLE pour la construction de l'arbre phylogénique



**Figure 32 (suite) :** Alignement multiple des Séquences de l'ADN du gène COI d'Artémia de l'étude et celle trouvée sur Genbank, par l'algorithme MUSCLE pour la construction de l'arbre phylogénique

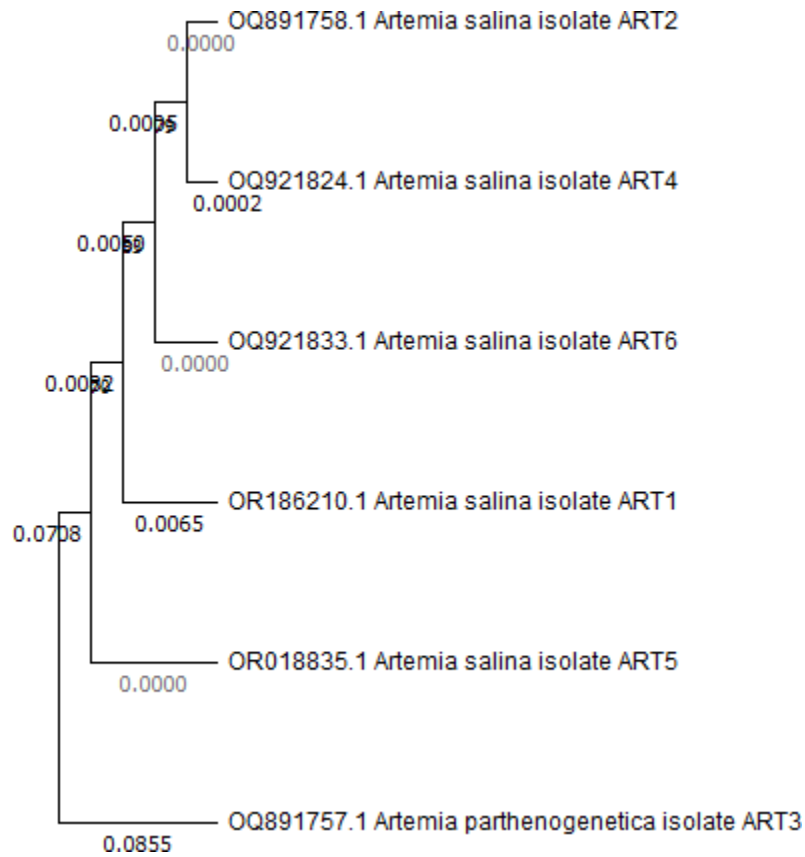


**Figure 33 :** Arbre phylogénétique de différentes espèces du genre *Artemia*, basé sur les données des séquences de gène COI ainsi que celle trouvée sur NCBI.

(L'arbre a été construit à l'aide de la méthode du Neighbour Joining (NJ) avec un bootstrap de 1000 répliques (outer groupe : *Daphnia magna*) sur MEGA11.)

La topologie de l'arbre phylogénétique (figure 33 et 34) suggère qu'il y a une répartition comparable des échantillons entre les deux groupes d'*Artemia salina* et *Artemia parthenogenetica* à l'exception de ART1 se retrouvant plutôt dans le groupe d'*A. salina* selon les résultats obtenus par l'Algorithme BLAST.

L'analyse phylogénétique basée sur le marqueur mitochondrial COI admet qu'ART3 et *Artemia tibetiana* sont considérés comme étant clades sœurs.



**Figure 34 :** Arbre phylogénétique de différentes espèces du genre *Artemia* isolé, basé sur les données des séquences de gène COI.

(L'arbre a été construit à l'aide de la méthode du Neighbour Joining (NJ) sur MEGA11.).

#### 4. Discussion

L'Artémia, crevette d'eau salée bien connue, compte plus de 600 espèces et se trouve dans des endroits géographiquement isolés tels que des lacs salés naturels, des lagunes côtières et des salines artificielles (Van Stappen 2002). C'est un taxon difficile à décrire en raison du manque de caractéristiques évidentes, mise à part certains traits phénotypiques considérés comme étant intéressants pour l'identification des espèces d'*Artemia* en général (Biju *et al.*, 2023).

En raison de l'absence de caractères morphologiques fiables, il n'existe pas de clé d'identification classique pour les espèces d'*Artemia* (Asem *et al.*, 2010-2020), du moins les rares études qui révèlent la variation génétique chez les invertébrés inférieurs (Gong *et al.*, 2006 ; Fatsi *et al.*, 2020).

Par conséquent, des méthodes phylogénétiques moléculaires ont été employées pour délimiter le statut taxonomique des populations d'Artémia (Munoz *et al.*, 2008 ; Maccari *et al.*, 2013; Eimanifar *et al.*, 2014, 2020 ; Asem *et al.*, 2016b, 2019, 2021b, 2022. Saji *et al.*, 2019 ; Shen *et al.*, 2021). Pour ce faire, il est nécessaire de fournir un ensemble de données comprenant un grand nombre de séquences provenant de chaque population, afin d'analyser de manière fiable les relations génétiques et phylogénétiques entre les populations (Maccari *et al.*, 2013).

La métabarcoding de l'ADN est une approche prometteuse pour surveiller rapidement la biodiversité et devrait devenir un outil important pour mesurer les réponses des écosystèmes aux changements environnementaux. Les marqueurs de métabarcoding nécessitent une couverture taxonomique suffisante pour détecter les groupes d'intérêt, une divergence de séquence suffisante pour résoudre les espèces, et idéalement, ils indiqueront l'abondance relative des taxons présents (Clarke *et al.*, 2017).

*Artemia salina* est représentée par deux clades réciproquement monophylétiques : une lignée méditerranéenne et une lignée sud-africaine (Muñoz *et al.*, 2008).

Les populations *Artemia salina* se caractérisent par une diversité haplotypique considérable, leur structure génétique révèle une composante significative d'endémisme à l'échelle régionale et locale, ce qui a été mis en évidence par Muñoz *et al.*, (2008), en effet dans leur étude portant sur *A. salina* à l'échelle mondiale, les auteurs ont employé des séquences partielles du gène du cytochrome c oxydase mitochondriale afin d'explorer la diversité génétique ainsi que la phylogéographie de cette espèce. Leur analyse visait à évaluer le degré de structuration des populations, à examiner les effets de l'endémisme local et à analyser l'influence potentielle des pratiques de gestion traditionnelle des marais salants par les communautés humaines. Les résultats de leur étude indiquent que les populations d'*Artemia salina* présentent une diversité

génétique considérable, de plus, elles révèlent une forte structuration phylogéographique et une prévalence élevée de l'endémisme régional, principalement dans les régions du bassin méditerranéen, de la péninsule ibérique, d'Afrique du Nord et des îles italiennes (Sardaigne et Sicile). Kara *et al.*, (2012) indiquent que la population d'*Artemia salina* d'Afrique du Sud est très différenciée génétiquement des populations méditerranéennes et pourrait mériter un statut spécifique.

Concernant l'alignement des séquences S18 présenté dans les figures 03 et 04, les taux de couverture des séquences requêtes par les alignements avec BLAST sont compris entre 95 et 100 %, les taux de similarité entre nos échantillons et celles des banques de données biologiques sont compris entre 96 % et 100 %. Les échantillons ayant des taux de similarité inférieurs à 98,7 % pourraient représenter selon Yarza *et al.*, (2014) de nouvelles espèces. Cependant, il est aussi possible que le fragment d'ADN amplifié n'ait pas une taille suffisante pour une identification précise (voir figure 27), Il serait donc nécessaire d'effectuer une étude d'homologie ADN-ADN afin de confirmer l'identification de ces échantillons.

Le gène de la cytochrome oxydase mitochondriale (COI) est un marqueur génétique adapté à l'identification et à la classification des différentes espèces d'*Artemia*, comme indiqué dans les travaux de (Sheir *et al.*, 2018 ; Eimanifar *et al.*, 2015 ; Asem *et al.*, 2022). En général, la région du gène de la sous-unité I du COI est largement reconnue comme la plus fréquemment utilisée pour une identification précise des espèces (Hebert *et al.*, 2003). Cette région est privilégiée en raison de la variabilité significativement différente entre les espèces et à l'intérieur des espèces, permettant de distinguer entre des espèces étroitement apparentées. Toutefois, le zooplancton marin présente un défi unique en raison de la diversité des animaux qu'il englobe, couvrant presque tous les embranchements. Pour relever ce défi, diverses régions génétiques ont été explorées afin de décrire la diversité des assemblages de zooplancton par métabarcoding. Les quatre régions génétiques couramment utilisées pour étudier les différents niveaux taxonomiques comprennent le gène mitochondrial 16S rRNA (Clarke *et al.*, 2017 ; Lindeque *et al.*, 2006), les gènes nucléaires 28S rRNA (Harvey *et al.*, 2017 ; Hirai *et al.*, 2013, 2020) et 18S rRNA, rRNA (Blanco-Bercial, 2020 ; Chain *et al.*, 2016 ; Lindeque *et al.*, 2013 ; Sommer *et al.*, 2017) ainsi que le gène mitochondrial COI (Carroll *et al.*, 2019 ; Schroeder *et al.*, 2020 ; Stefanni *et al.*, 2018 ; Zaiko *et al.*, 2015).

Bien que ces régions aient toutes été employées dans des études de métabarcoding, le COI se démarque par sa haute résolution taxonomique (Schroeder *et al.*, 2021).

Il permet d'identifier les espèces avec trois fois plus de précision que le 18S, comme l'ont démontré Clarke *et al.*, (2017). D'autre part, Lindeque *et al.*, (2013) ont signalé que les

marqueurs conservés, tels que ceux ciblant l'ADN ribosomal nucléaire 18S (ARNr), fournissent une large couverture taxonomique à travers le domaine eucaryote de la vie, mais offrent une résolution taxonomique limitée par rapport aux marqueurs ciblant la sous-unité I de la cytochrome oxydase c mitochondriale (COI) (Tang *et al.*, 2012). De plus, le COI bénéficie d'une base de données de séquences conséquente dans GenBank, renforçant ainsi son utilité en tant que marqueur génétique fiable. Ces constatations affermissent l'idée que le COI est particulièrement bien adapté à l'étude de la diversité des espèces d'*Artemia*, ce qui est conforte les résultats de notre propre recherche.

Sainz-Escudero *et al.*, (2021) ont émis l'hypothèse que *A. franciscana* et *A. monica* pourraient être considérées comme synonymes. Cependant, cette suggestion entre en contradiction avec l'observation qu'ils ne partagent pas les haplotypes indiqués par Muñoz *et al.*, (2013) ainsi il serait très probable que nos observations concernant ART1 identifiées en tant qu'*Artemia parthenogenitica* par le séquençage 18S (figure 30) et qui semble être dans un groupe plus proche de celui d'*Artemia urimiana*, soit en réalité synonyme.

En effet, de nombreuses populations asiatiques d'Artémia ont été initialement identifiées comme *Artemia salina* dans des publications antérieures (Padhye et Lazo-Wasem (2018) ; Alas *et al.*, (2017)), mais la plupart de ces enregistrements se sont révélés plus tard être des *Artemia parthénogénétiques*, *A. tibetiana*, *A. sinica* ou des populations bisexuelles non identifiées (Zheng et Sun, 2013 ; Eimanifar *et al.*, 2014 ; Litvinenko *et al.*, 2016).

D'après Asem *et al.*, (2021) l'*Artemia urmiana* est une espèce qui n'avait pas encore eu son statut taxonomique clairement défini. Des séquences précédemment publiées n'avaient pas permis d'attribuer de manière fiable ces informations à *Artemia urmiana* ou à une population parthénogénétique et grâce à des méthodes de séquençage de nouvelle génération, un génome mitochondrial complet a été assemblé, clarifiant le statut taxonomique d'*Artemia urmiana*. Ils ont été également identifiés des anomalies dans les séquences précédentes, notamment des erreurs d'attribution d'un gène à un brin incorrect et des duplications erronées de séquences nucléotidiques. De plus, des différences significatives ont été relevées dans la composition nucléotidique de certains gènes entre les espèces d'*Artemia*, suggérant l'inclusion de ces marqueurs dans les futures études phylogénétiques.

L'introduction intentionnelle et la colonisation de l'*Artemia parthenogenetica* de l'Asie vers la région méditerranéenne à des fins commerciales, comme suggérée par Sainz-Escudero *et al.*, (2022), semblent très peu probable. Ces événements pourraient plutôt être attribués à des mécanismes naturels, tels que la dispersion par des oiseaux aquatiques ou le vent (Green *et al.*, 2023). D'après Escudero *et al.*, (2022) les populations parthénogénétiques des espèces asiatiques *A. urmiana* et *A. sinica* sont répandues le long de la Méditerranée et dans d'autres

régions du monde, comme le démontre l'analyse phylogénétique approfondie utilisant des ensembles de données COI et mitogénomiques. Cette étude, qui inclut des inférences phytogéographiques et un arbre calibré dans le temps, confirme l'origine asiatique des populations parthénogénétiques actuelles d'Artémia dans l'ouest de la Méditerranée. De plus, le remplacement des populations ibériques d'*A.salina* par des populations asiatiques parthénogénétiques conduites à la reconnaissance des parthénogenèses comme envahissantes (Escudero *et al.*, 2022).

D'autre part Les résultats d'Asem *et al.*, (2019) ont signalé qu'il y a une colonisation récente d'*A. franciscana* dans les régions méditerranéennes et en Asie.

### **Conclusion**

Cette étude a permis de procéder à une évaluation comparative de divers marqueurs moléculaires ciblant le zooplancton, afin de déterminer l'approche méthodologique la plus pertinente. Les résultats soulignent l'importance de la phylogénie et de la génétique des populations pour comprendre les échanges génétiques actuels entre les populations. L'analyse de deux gènes (COI et 18S) a révélé une divergence de variabilité entre les niveaux intra- et interspécifiques.

### Discussion générale

L'aquaculture représente aujourd'hui une solution majeure pour répondre à la demande croissante de protéines animales dans le monde (FAO, 2020). Parmi les principaux organismes utilisés dans ce secteur, *Artémia* occupe une place essentielle en tant qu'aliment vivant pour les larves de poissons et de crustacés, contribuant ainsi de manière significative à la croissance et à la survie des espèces élevées (Sorgeloos *et al.*, 2021). Son utilisation remonte à plusieurs décennies, et son importance ne cesse d'augmenter, en raison de sa forte teneur en nutriments et de sa facilité d'utilisation.

Les espèces d'*Artemia* se distinguent par leur capacité à survivre dans des environnements hypersalins, ce qui les rend moins susceptibles d'être affectées par les prédateurs et les compétiteurs (Van Stappen, 2002). De plus, la production de cystes résistants, qui peuvent être stockés pendant de longues périodes, permet un approvisionnement régulier pour l'industrie aquacole. Plusieurs études, telles que celles de Sellami *et al.*, (2020) en Tunisie, ont démontré que les populations d'*Artémia* présentent des caractéristiques biométriques et des taux d'éclosion variables en fonction de leur environnement. Cela souligne l'importance d'étudier ces populations à l'échelle régionale pour mieux comprendre leur potentiel et leur application en aquaculture.

En Algérie, des recherches préliminaires ont mis en évidence la présence d'*Artémia* dans plusieurs lacs hypersalins, mais les données sur leurs caractéristiques biométriques, biochimiques et génétiques restent limitées (Ghomari *et al.*, 2014). Notre étude vise donc à combler ce manque de connaissances en explorant en détail les populations d'*Artémia* d'Algérie. Nous avons mis l'accent sur l'analyse de la biométrie, de la composition en acides gras, ainsi que sur la diversité génétique des cystes collectés.

La composition en acides gras des cystes d'*Artémia* est un facteur clé qui détermine leur valeur nutritionnelle pour l'aquaculture (Vikas, 2023). Les acides gras polyinsaturés à longue chaîne, tels que l'EPA (C20:5 n-3) et le DHA (C 22:6 n-3), sont essentiels pour le développement des larves de poissons et de crustacés. Des études, comme celle de Amina *et al.*, (2022), ont déjà montré que les populations d'*Artémia* en Algérie présentent des concentrations élevées en acides gras essentiels, ce qui les rend particulièrement intéressantes pour l'aquaculture.

Par ailleurs, la diversité génétique des populations d'Artémia revêt une importance particulière. Selon Lantushenko *et al.*, (2022), la variabilité génétique des Artémia en Crimée démontre la capacité d'adaptation de ces crustacés à différents environnements salins, ce qui pourrait également être le cas pour les populations algériennes. En effet, une meilleure compréhension de la diversité génétique est essentielle pour sélectionner les souches les plus résistantes et les plus nutritives pour l'aquaculture.

L'étude des populations d'Artémia en Algérie est non seulement pertinente, mais également nécessaire pour optimiser leur utilisation dans l'aquaculture et pour garantir un approvisionnement de haute qualité en aliments vivants. Votre travail vient enrichir les connaissances existantes et ouvre des perspectives prometteuses pour l'exploitation durable de cette ressource.

Nous avons procédé à une analyse biométrique détaillée des cystes d'Artémia collectés de différents sites salins en Algérie. Nos résultats indiquent une variabilité significative dans les diamètres hydratés et décapsulés des cystes entre les différentes populations. Ces différences biométriques peuvent être liées aux variations des conditions environnementales propres à chaque site, telles que la salinité, la température, et la disponibilité en nutriments.

Les travaux de Sellami *et al.*, (2020) ont mis en lumière l'impact des facteurs environnementaux sur la biométrie des cystes d'*Artemia salina* en Tunisie, confirmant que les populations d'Artémia s'adaptent en fonction des conditions locales. De manière similaire, nos résultats montrent que les cystes collectés dans des milieux à haute salinité présentent généralement un diamètre plus important, suggérant une adaptation physiologique à des conditions plus extrêmes.

Les taux d'éclosion des cystes ont également été étudiés en détail. Nos résultats montrent que certaines populations, notamment celles provenant de la saline de Sidi Bouziane, affichent des taux d'éclosion particulièrement élevés, atteignant plus de 80%. Ces résultats sont comparables à ceux rapportés par Chalabia *et al.*, (2021) pour d'autres populations d'Artémia en Algérie. Toutefois, l'efficacité d'éclosion varie considérablement d'un site à l'autre, ce qui pourrait s'expliquer par les différences dans la qualité de l'eau, la salinité, et la température des sites d'échantillonnage.

La vitesse d'éclosion est un autre paramètre important étudié dans ce chapitre. Nos observations révèlent que les populations de Sebkhia Ez-Zemoule ont un temps d'éclosion plus court par rapport aux autres sites, ce qui peut être avantageux pour les applications aquacoles. Selon les travaux de Turcihan *et al.*, (2021), la vitesse d'éclosion des cystes d'*Artemia franciscana* est influencée par le type de microalgues utilisées comme alimentation. Bien que notre étude ne se soit pas concentrée sur l'alimentation des populations, il est plausible que les différences dans la qualité de l'eau et les micro-organismes présents sur chaque site aient contribué à ces variations.

Les résultats démontrent que les populations d'Artémia en Algérie présentent des caractéristiques biométriques et des paramètres d'éclosion qui les rendent potentiellement compétitives sur le marché de l'aquaculture. Les résultats obtenus ouvrent des perspectives pour l'identification des sites les plus appropriés pour la récolte de cystes de haute qualité et suggèrent que certaines populations pourraient être plus adaptées à des conditions d'élevage spécifiques.

La composition en acides gras des cystes d'Artémia est un élément clé qui détermine leur valeur nutritionnelle pour les larves de poissons et crustacés. Ce chapitre se concentre sur l'analyse détaillée des profils en acides gras des cystes provenant de différents sites en Algérie. Les résultats révèlent une richesse en acides gras polyinsaturés, avec des concentrations élevées d'EPA et de DHA dans plusieurs populations, notamment celles de la saline de Bethioua.

Comparativement aux travaux de Vikas, (2023), qui a étudié le profil lipidique d'*Artemia franciscana*, nos résultats montrent que les populations d'Artémia algériennes possèdent des niveaux d'EPA supérieurs, suggérant une valeur nutritionnelle plus élevée. Cette richesse en acides gras essentiels est un atout majeur pour l'utilisation de ces cystes dans l'alimentation des larves de poissons, car ces acides gras jouent un rôle crucial dans le développement et la survie des espèces aquacoles.

L'étude d'Amina *et al.*, (2022) avait également souligné l'importance des acides gras polyinsaturés dans les populations d'Artémia algériennes, ce qui corrobore nos résultats. De plus, nous avons observé que les populations provenant de sites avec une salinité plus élevée ont tendance à présenter des niveaux d'EPA et de DHA plus importants. Cela s'explique par le fait que les Artémia vivant dans des environnements extrêmes doivent maintenir une fluidité membranaire optimale, d'où une plus grande concentration en acides gras polyinsaturés.

Les acides gras saturés et monoinsaturés ont également été analysés, et nos résultats

indiquent des variations significatives entre les populations. Par exemple, les cystes de la Sebkhah de Timimoune présentent une teneur en acide palmitique (C16 :0) plus élevée, ce qui est en accord avec les travaux de Turcihan *et al.*, (2021). Ces différences de composition pourraient avoir un impact sur la qualité nutritionnelle des cystes en fonction des besoins spécifiques des espèces aquacoles.

Les résultats mettent en évidence que les populations d'Artémia d'Algérie ont un profil lipidique de haute qualité, ce qui les rend adaptées à une utilisation en aquaculture. L'analyse approfondie de la composition en acides gras démontre que ces populations peuvent fournir un apport nutritionnel équilibré et contribuer à l'amélioration de la croissance et de la survie des larves de poissons et crustacés.

L'analyse de la diversité génétique des populations d'Artémia en Algérie, en utilisant des marqueurs moléculaires pour évaluer la variabilité entre les populations. Nos résultats révèlent une diversité génétique importante, ce qui suggère que les populations d'Artémia en Algérie sont bien adaptées à leurs environnements hypersalins respectifs.

En comparant nos résultats avec ceux de Lantushenko *et al.*, (2022), qui ont étudié la diversité génétique des Artémia en Crimée, il est évident que les populations algériennes présentent un niveau de variabilité génétique comparable, voire supérieur dans certains cas. Cette diversité génétique est essentielle pour l'adaptation des populations à des environnements changeants et offre un potentiel pour l'amélioration de l'aquaculture.

L'analyse phylogénétique de nos échantillons montre que certaines populations d'Artémia en Algérie sont génétiquement proches des souches commerciales d'*Artemia franciscana*, ce qui ouvre des perspectives pour leur exploitation à l'échelle industrielle. Les études de Parraguez, (2022) sur l'expression génétique des cystes confirment que la variabilité génétique est un facteur déterminant de la qualité des cystes produits.

De plus, la diversité génétique des populations étudiées suggère que les Artémia algériens possèdent des caractéristiques uniques qui pourraient être exploitées pour des programmes de sélection et d'amélioration. Cela pourrait conduire à l'identification de souches plus résistantes aux conditions de culture ou présentant des qualités nutritionnelles optimales.

Les résultats soulignent l'importance de la variabilité génétique des populations d'Artémia d'Algérie pour leur utilisation en aquaculture. Les résultats de cette étude fournissent une base solide pour la conservation et l'exploitation durable de cette ressource, en mettant en évidence le potentiel des populations locales à répondre aux besoins croissants de l'industrie aquacole.

## Conclusion générale

L'étude approfondie des populations d'Artémia en Algérie a permis de mettre en évidence une diversité intraspécifique significative, tant sur le plan biométrique, biochimique que génétique. La recherche a notamment montré que les populations d'Artémia présentent des caractéristiques variées en fonction de leur région de prélèvement, influencées par les conditions environnementales spécifiques de chaque site de salinité, de température, et de disponibilité en nutriments. Cette diversité est essentielle pour mieux comprendre l'adaptation de l'Artémia aux différents milieux hypersalins d'Algérie.

Sur le plan biométrique, les cystes d'Artémia collectés à partir des différents sites d'étude présentaient des variations importantes en termes de dimensions, d'épaisseur du chorion, et de taux d'éclosion. Ces variations suggèrent une grande adaptation locale des populations d'Artémia aux conditions environnementales spécifiques de chaque zone. Les plus gros cystes ont été observés dans les zones à plus faible salinité, tandis que les plus petits cystes provenaient des zones à forte salinité, indiquant que la taille des cystes est influencée par les niveaux de salinité ambiante. Ces données biométriques sont cruciales pour l'aquaculture car elles déterminent la viabilité des cystes comme source d'alimentation pour les larves de poissons et de crustacés.

L'étude des paramètres d'éclosion a également révélé des différences notables entre les différentes populations d'Artémia. Certaines populations présentaient un taux d'éclosion élevé, tandis que d'autres avaient une efficacité d'éclosion plus faible, ce qui pourrait être lié aux conditions de salinité et de température de chaque milieu de prélèvement. Ces résultats confirment que l'environnement joue un rôle clé dans le développement embryonnaire des cystes d'Artémia et que les conditions optimales d'éclosion doivent être soigneusement ajustées en fonction de l'origine des cystes. La vitesse d'éclosion était également variable, suggérant des adaptations spécifiques des différentes populations d'Artémia aux contraintes environnementales locales.

Sur le plan biochimique, l'analyse de la composition en acides gras des cystes d'Artémia a mis en lumière une dominance des acides gras saturés, suivis des acides gras mono-insaturés et polyinsaturés. La présence notable d'acides gras polyinsaturés à longue chaîne, tels que l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA), souligne le potentiel nutritionnel des cystes d'Artémia pour l'aquaculture. Ces acides gras sont essentiels pour le développement des larves de poissons et de crustacés, contribuant à leur croissance, leur survie,

et leur résistance aux maladies. De plus, la variabilité de la composition en acides gras entre les différentes populations d'Artémia indique que les facteurs environnementaux tels que la température, la salinité, et la disponibilité des nutriments influencent la qualité nutritionnelle de l'Artémia.

L'étude génétique a permis de caractériser la diversité des populations d'Artémia en Algérie à travers l'utilisation de marqueurs moléculaires, tels que l'ADN mitochondrial et nucléaire. L'analyse des séquences génétiques a révélé des niveaux de diversité génétique élevés entre les populations, ce qui suggère une différenciation génétique en raison des barrières géographiques et des conditions environnementales spécifiques. La phylogénie des populations d'Artémia en Algérie a montré des liens avec d'autres populations méditerranéennes, mais aussi des spécificités locales, indiquant un potentiel d'adaptation et de résilience de ces populations face aux changements climatiques et aux variations des conditions environnementales.

Ces données génétiques sont essentielles pour comprendre la dynamique évolutive des populations d'Artémia en Algérie, ainsi que leur capacité à s'adapter aux changements environnementaux. De plus, la variabilité génétique suggère que les populations locales d'Artémia pourraient représenter une ressource génétique précieuse pour l'amélioration des souches utilisées en aquaculture. En effet, l'introduction de souches d'Artémia adaptées aux conditions hypersalines d'Algérie pourrait renforcer la production aquacole, en particulier pour les espèces de poissons et de crustacés qui nécessitent des aliments vivants de haute qualité.

En termes d'applications aquacoles, les résultats de cette étude indiquent que les cystes d'Artémia algériens présentent un potentiel élevé en tant que source d'alimentation pour les larves de poissons et de crustacés. La qualité biométrique et biochimique des cystes d'Artémia d'Algérie est comparable, voire supérieure, à celle des cystes importés, ce qui pourrait contribuer à réduire la dépendance de l'industrie aquacole algérienne vis-à-vis des importations et à promouvoir le développement d'une production d'Artémia locale. Cette production locale serait non seulement économiquement avantageuse, mais contribuerait également à la durabilité de l'aquaculture en Algérie en assurant un approvisionnement continu et fiable en cystes de haute qualité.

L'un des aspects les plus innovants de cette étude réside dans l'évaluation de l'impact des conditions environnementales sur la qualité des cystes d'Artémia. La compréhension des relations entre les facteurs abiotiques (salinité, température, disponibilité en nutriments) et la qualité des cystes permettra d'optimiser les conditions de récolte et de production des cystes d'Artémia, améliorant ainsi leur valeur commerciale et leur utilisation dans l'aquaculture.

L'étude des populations d'Artémia en Algérie a fourni des informations précieuses sur leur variabilité biométrique, biochimique, et génétique, démontrant leur potentiel en tant que ressource pour l'aquaculture. Les résultats mettent en évidence la nécessité d'adopter une approche de gestion durable des ressources d'Artémia en Algérie, en tenant compte de la variabilité génétique et des facteurs environnementaux qui influencent la qualité des cystes. Cette approche permettra de garantir la conservation des populations d'Artémia et de maximiser leur utilisation pour répondre aux besoins croissants de l'industrie aquacole.

Ainsi, l'exploitation des populations locales d'Artémia pourrait contribuer à l'essor de l'aquaculture en Algérie, offrant des avantages économiques, environnementaux, et sociaux. En investissant dans la recherche, la production et la valorisation de l'Artémia algérienne, il est possible de renforcer la compétitivité de l'aquaculture nationale et de contribuer à la sécurité alimentaire, tout en préservant les écosystèmes hypersalins uniques du pays. Cette étude ouvre donc la voie à de futures recherches visant à optimiser la production et l'utilisation de l'Artémia dans l'aquaculture, tout en soulignant l'importance de la conservation de cette ressource naturelle précieuse pour les générations futures.

# *Références bibliographiques*

- Abatzopoulo T.J., Zhang B. and Sorgeloos P. (1998). *Artemia tibetiana*: Preliminary characterization of a new Artemia species found in Tibet (People's Republic of China). International Study on Artemia. LIX. *International Journal of Salt Lake Research*, 7(1): 41-44. <https://doi.org/10.1007/BF02449923>.
- Abatzopoulos T.J, El Bermawi N., Vasdekis C., Baxevanis A.D. and Sorgeloos P. (2003). *Artemia*. *Hydrobiologia* 492(1 -3):191-199.
- Abatzopoulos T.J, Kappas I., Bossier P., Sorgeloos P. and Beardmor J.A. (2002b). *Artemia tibetiana* (Crustacea: Anostraca) *Biological Journal of the Linnean Society* 75(3):333-344.
- Abatzopoulos T.J., Agh N., Van Stappen G., Razavi Rouhani S.M. and Sorgeloos P. (2006a). Artemia sites in Iran. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom* 86: 299-307.
- Abatzopoulos T.J., Amat F., Baxevanis A.D. Belmonte G., Hontoria F., Maniatsi S., Moscatello S., Mura G. and Shadrin N.V. (2009). Updating Geographiqic Distribution of *Artemia aurmiana* GUENTHER, 1890 (Branchiopoda: Anostraca) in Europe : An Intgrate and Interdicplinary Approach. *IntRev Hydrobio* 194(5): (560-579.
- Abatzopoulos T.J., Baxevanis A.D. and Triantaphyllidis G.V. (2006). International Study on *Artemia* LXIX. Quality evaluation of *Artemia urmiana* Günther (Urmia Lake, Iran) with special emphasis on its particular cyst characteristics, *Aquaculture*, 254: 442.
- Abatzopoulos T.J., Beardmore J., Clegg J. and Sorgeloos P. (2010). *Artemia* Basic and appliedbiology. *Kluw. Acad. Publ.*,1: 286.
- Abatzopoulos T.J., Beardmore J., Clegg J. and Sorgeloos P. (2013). *Artemia: Basic and AppliedBiology*. Springer Science & Business Media
- Abatzopoulos T.J., Zhang B. and Sorgeloos P. (1998). *Artemia tibetiana*: preliminary characterization of a new Artemia species found in Tibet (People's Republic of China). International study on Artemia, LIX. *International Journal of Salt Lake Research* 7(1):41-44. <https://doi.org/10.1007/BF02449923>.
- Abreu-Grobois F.A. and Beardmore J.A. (2002). Genetic differentiation and speciation in the brine shrimp *Artemia* Progress in clinical and biological research 96 : 345-376.
- Adamowicz S.J., Menu-Marque S., Halse S.A., Topan JC., Zemplak T.S., Hebert P.D.N. and Witt J.D.S. (2010). The evolutionary diversification of the Centropagidae

(*Crustacea Calanoida*): A history of habitat shifts. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55 :418-430.

- Ahmed H.O., Fatma A., Razek A., Khafage A.R., Sarhan M., Soliman T., Aly H., El-Deeb R.S. and Al-Aziz E.S.A. (2021). A new record of the Jinga shrimp *Metapenaeus affinis* (H. Milne Edwards, 1837) (Decapoda, Penaeidae), on the Egyptian coasts, the Mediterranean Sea. *Egypt. J. Aquat. Res.* 47 : 143 -150.
- Al Dhaheri S. and Saji A. (2013). Water quality and brine shrimp (*Artemia* sp.) population in Al Wathba Lake, Al Wathba wetland reserve, Abu Dhabi emirate, UAE. *Int. J. Biodivers. Conserv.* 5: 281 -288.
- Alas A., Kaya M. and Ökten A. (2017). Distribution and abundance of *Artemia salina* in the Salt Lake Basin (Central Anatolia, Turkey). *Transylvanian Review of Systematical and Ecological Research* 19: 37 -44. <https://doi.org/10.1515/trser-2017-0011>.
- Alonso M. (1996). Crustacea, Branchiopoda. In: Ramos MA, ed. *Fauna Ibérica*. Madrid: Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC. 7:486
- Aluma M.O. (2020). Degradation of Highly Unsaturated Fatty Acids in *Artemia* sp. thesis of Master's Dissertation submitted to Ghent University in partial fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science in Aquaculture.
- Alvarez Z. and Sanchez R. (1994). Evaluacion de la calidad de la cepa de *Artemia* las Cumaraguas, Paraguana, Venezuela. *Cienc Mar* 20(3):287-299.
- Amarouyache M. (2009). L'*Artemia* dans les Chotts et les Sebkhass du Nord-est de l'Algérie : recherches sur les populations du Chott Marouane et de la Sebkhass Ez-Zemoule: Thèse de doctorat université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie, 120.
- Amarouyache M. and Kara M.H. (2010). Qualité et biomasse exploitable d'*Artemia Salina* (Crustacé, Anostracé) du Chott Marouane (Nord-Est, Algérie).
- Amarouyache M. and Kara M.H. (2015). Quality evaluation of a new strain of *Artemia* from Sebkhass Ez-Zemoule, Algeria: biometry, hatching and fatty acid composition. *Vie et Milieu - Life and Environment* 65(4):1 -7
- Amarouyache M., Derbal F. and Kara M.H. (2009). Biological data on *Artemia salina* (Branchiopoda, Anostraca) from Chott Marouane (northeast Algeria). *Crustaceana* 82: 997 -1005. <https://doi.org/10.1163/156854009X452768>.
- Amarouyache M., Derbal F. and Kara M.H. (2009b). The parasitism of *Flamingolepis liguloides* (Gervais, 1847) (Cestoda, Hymenolepididae) in *Artemia*

*salina* (Crustacea, Branchiopoda) in two saline lakes in Algeria. *Act. Paras.* 54: 330-334.

- Amarouayache M., Derbal F. and Kara M.H. (2010). Caractéristiques écologiques et biologiques d'*Artemia salina* (Crustacé, Anostracé) de la Sebkha Ez-Zemoule, Algérie nord-est (anostracé). *Rev. Ecol. (Terre Vie)*, 65: 13-22.
- Amarouayache M., Derbal F. and Kara M.H. (2010). Qualité et biomasse exploitable d'*Artemia Salina* (Crustacé, Anostracé) du Chott Marouane (Nord-Est, Algérie), *Synthèse* 21:39-48.
- Amarouayache M., Derbal F. and Kara M.H. (2012). Note on the carcinological fauna associated with *Artemia salina* (Branchiopoda: Anostraca) from SebkhaEz-Zmoule (northeast Algeria). *Crustaceana* 85: 129-137. [Doi.org/10.1163/156854012X623728](https://doi.org/10.1163/156854012X623728).
- Amarouayache M., Yavuz S.C., Meltem A-O. and Abdelkader A. (2017). Fatty acid composition of five Algerian bisexual and parthenogenetic strains of *Artemia* (Anostraca, Crustacea) and their antimicrobial activity, [DOI10.1007/s10499-017-0136-z](https://doi.org/10.1007/s10499-017-0136-z).
- Amat F. (1979). Differentiation y distribution de las poblaciones *Artemia* (CrustaeoBranquípodo) de Espana. *Ph.D. Thesis*. Univ. Barcelona. Spain. 251.
- Amat F., Gozallo A., Navarro J.C., Hontoria F. and Varo I. (1991). Some aspects of *Artemia* biology affected by cestode parasitism. *Hydrobiologia*, 212: 39-44.
- Amat F., Hontoria F., Ruiz O., Green A., Sánchez M.I., Figuerola J. and Hortas F. (2005). The American brine shrimp as an exotic invasive species in the western Mediterranean. *Biological Invasions* 7(1):37-47.
- Amin M., Erwinda M., NindarwiMaschlahatun D.D., Setyantini W.H., Mubarak A.S., Patmawati., Pujiastuti D.Y., Sulmartiwi L., Andriyono S. and Alamsjah M.A. (2022). Fatty Acids Profiles and Growth Performances of *Artemia franciscana* Fed with Different Types of Microalga. *Sains Malaysiana* 51(8): 2449-2459. <http://doi.org/10.17576/jsm-2022-5108-09>.
- Andruszkiewicz E.A., Starks H.A., Chavez F.P., Sassoubre L.M., Block B.A. and Boehm A.B. (2017). Biomonitoring of marine vertebrates in Monterey Bay using Edna metabarcoding. *PLOS ONE* (12): 1-20.
- Anh N.T.N., Ut V.N., Wille M., Hoa N.V. and Sorgeloos P. (2011). Effect of different forms of *Artemia* biomass as a food source on survival, molting and growth rate of mud crab (*Scylla paramamosain*). *Aquacult. Nutr.* 17: 549-558.

- Arnaud H. and Georges P. (2000). Ressources génétiques et phylogéographie des huîtres creuses *Crassostrea gigas* et *Crassostrea angulata*: variabilité, différenciation et adaptation des populations naturelles et introduites = Genetic resources and phylogeography of two cupped oysters *Crassostrea gigas* and *Crassostrea angulata*: variability, differentiation and adaptation of wild and introduced populations. INIST-CNRS Cote INIST: T 136636.
- Artom C. (1906a). Ricerche sperimentale sul modo di riprodursi dell'*Artemia salina* Linn. di Cagliari. *Biologisches Zentralblatt* 26(1):26-32.
- Artom C. (1906b). Osservazioni e raffronto tra l'*Artemie* sessuate e l'*Artemie* partenogenetiche. *Biologica*. 1(1):1-4
- Artom C. (1906c). *Artemia* partenogenetica di Capodistria e dell'*Artemia* sessuata di Cagliari. *Biologica*. 1(2):5-10
- Artom C. (1907a). La variazione dell'*Artemia salina* di Cagliari sotto l'infusso della salsedine. *Memorie dell'Accademia delle Scienze di Torino, Serie (2)* 57:221-254
- Artom C. (1907b). Ricerche sperimentali sulla variazione dell'*Artemia salina* Lin. di Cagliari. *Biologica* 1(14):247-264
- Artom C. (1908). La maturazione, la fecondazione e i primi stadii di sviluppo dell'uovo dell'*Artemia salina* Lin. di Cagliari. *Biologica* 1(24):495-515.
- Artom C. (1913). Le basi citologiche di una nuova sistematica del genere *Artemia*. Sulla dipendenza tra il numero dei cromosomi delle cellule germinative, e la grandezza dei nuclei delle cellule somatiche dell'*Artemia salina* univalens di Cagliari, e dell'*Artemia salina* bivalens di Capodistria. *Archiv für Zellforschung* 9(1):87-113
- Artom C. (1921b). Dati citologici sul tetraploidismo dell'*Artemia salina* di Margherita di Savoia (Puglia) *Atti della Reale Accademia Nazionale dei Lincei, Serie 5* 30(2):66-69.
- Asem A. and Rastegar-Pouyani N. (2010). Different salinities effect on biometry of nauplii and meta-nauplii of two *Artemia* (Crustacea; Anostraca) populations from Urmia Lake basin. *International Journal of Aquatic Science* 1(1):10-13
- Asem A., Eimanifar A. and Sun S-C. (2016). Genetic variation and evolutionary origins of parthenogenetic *Artemia* (Crustacea: Anostraca) with different ploidies. *Zoologica Scripta* 45: 421 -436. <https://doi.org/10.1111/zsc.12162>.
- Asem A., Eimanifar A., Li W., Shen C-Y., Shikhsarmast F.M., Dan Y.T., Lu H., Zhou Y., Chen Y. and Wang P.-Z. (2021). Reanalysis and Revision of the Complete

Mitochondrial Genome of *Artemia urmiana* Günther, 1899 (Crustacea: Anostraca). *Diversity*, 13, 14. <https://doi.org/10.3390/d13010014>.

- Asem A., Eimanifar A., Rastegar-Pouyani N., Hontoria F., De Vos S., Van Stappen G. and Sun S.C. (2020). An overview on the nomenclatural and phylogenetic problems of native Asian brine shrimps of the genus *Artemia* Leach, 1819 (Crustacea, Anostraca) *ZooKeys* 902(2):1-15. DOI: 10.3897/zookeys.902.34593.
- Asem A., Fu C-Zh., Yang N., Eimanifar A., Ca Y., Wang P-Zh and Shen Ch-Y. (2022). Validation of Two Novel Primers for The Promising Amplification Of The Mitogenomic Cytochrome C Oxidase Subunit I (*Coi*) Barcoding Region In *Artemia* Aff. *Sinica* (Branchiopoda, Anostraca). *Crustaceana* 95 (5-6) 585-592.
- Asem A., Li W., Wang P., Eimanifar A., Shen Ch.-Y., De Vos S. and Van Stappen G. (2019). The complete mitochondrial genome of *Artemia sinica* Cai, 1989 (Crustacea: Anostraca) using next-generation sequencing. *Mitochondrial DNA Part B: Resources*, 4: 746 -747 DOI: 10.1080/23802359.2019.1565933.
- Asem A., Rastegar-Pouyani N. and De los Rios P. (2010). The genus *Artemia* Leach, 1819 (Crustacea: Branchiopoda): true and false taxonomical descriptions. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 38 (3): 501 -506 DOI: 10.3856/vol38-issue3-fulltext-14.
- Asem A., Rastegar-pouyani N., De los rios P., Manaffar R. and Mohebbi F. (2010). Biometrical comparison of *Artemia urmiana* Günther, 1899 (Crustacea: Anostraca) cysts between rainy and drought years (1994-2003/4) from Urmia Lake, Iran. *International Journal of Biological and Life Sciences*, 6(2): 100 -106.
- Asem A., Schuster R., Eimanifar A., Lu H., Liu Ch., Wu X., Yao L., Meng X., Li W. and Wang P. (2021b). Impact of Colonization of an Invasive Species on Genetic Differentiation in New Environments: A Study on American *Artemia franciscana* (Crustacea: Anostraca) in the United Arab Emirates. *Journal of Ocean University of China*, 20 (4): 911 -920. DOI: 10.1007/s11802-021-4675-6.
- Asem A., Yang C., Eimanifar A., Hontoria F., Varo I., Mahmoudi F., Fu C-Z., Shen C-Y., Rastegar-Pouyani N., Wang P-Z., Li W., Yao L., Meng X., Dan Y-T., Rogers D.C. and Gajardo G. (2023). Phylogenetic analysis of problematic Asian species of *Artemia* Leach, 1819 (Crustacea, Anostraca), with the descriptions of two new species *Journal J Crustac Biol* 43 (1), ruad002 (2023). DOI: [10.1093/jcbiol/ruad002](https://doi.org/10.1093/jcbiol/ruad002).

- Avise J.C. (2000). Phylogeography, the history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts & London, UK.
- Avise J.C., Arnold J., Ball R.M., Bermingham E., Lamb T., Neigel J.E., Reeb CA. and Saunders N.C. (1987). Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA Bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 18: 489-522.
- Ayadi H., Abid O., Elloumi J., Bouain A. and Sime-Ngando T. (2004). Structure of the phytoplankton communities in two lagoons of different salinity in the Sfax Saltern (Tunisia). *Journal of Plankton Research* 26: 669-679.
- Barigozzi C. (1934). Diploidismo, tetraploidismo e octoploidismo nell' *Artemia salina* partenogenetica di Margherita di Savoia. *Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale* 9:906-908
- Barigozzi C. (1980). Genus *Artemia*: problems of systematics. In: Persoone G, Sorgeloos P, Roels O, Jaspers E, eds. The brine shrimp, *Artemia*. Proceedings of the International Symposium on the brine shrimp, *Artemia salina*. Corpus Christi, Texas, U.S.A., August 20 -23, 1979, Vol.1-Morphology, Genetics, Radiobiology, Toxicology. Wetteren: Universa Press. P. 147-153.
- Barigozzi C. and Tosi M. (1959). New data on tetraploidy of amphigonic *A. salina* Leach and on triploids resulting from crosses between tetraploids and diploids. *Convegno di Genetica* 29:3-6.
- Barnes, M.A. and Turner C.R. (2016). The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics. *Conserv. Genet.* 17, 1 -17
- Baxevanis A.D., Kappas I. and Abatzopoulos T.J. (2006). Molecular phylogenetics and asexuality in the brine shrimp *Artemia*. *Mol. Phylogenet. Evol.* 40: 724-738.
- Belk D. and Brtek J. (1995). Checklist of the Anostraca. *Hydrobiologia* 298 (1-3):315-353.
- Ben Naceur H., Ben RejebJenhani A. and Romdhane M. S. (2012b). Biometrical study of *Artemia spp.* (Anostraca: Artémiidae) cysts harvested from different salt lakes in Tunisia. *North-western journal of zoology* 8 (2): 308-314.
- Ben Naceur H., Ben RejebJenhani A. and Romdhane M.S. (2011). Taxonomical study of the brine shrimp *Artemia* populations (Crustacea: Branchiopoda) from Tunisia based on morphological characterization, *Mar. Life*, vol. 17, p. 55.

- Ben Naceur H., Ben RejebJenhani A. and Romdhane M.S. (2013). Study of the fatty acid composition of *Artemia Salina* cysts from Tunisia, J. Mar. Biol. Assoc. U.K., vol. 93, p. 1795.
- Ben Naceur H., Ben Rejebjenhani A. and Romdhane M.S. (2017). Valorisation de l'Artemia (crustacea ; branchiopoda) de la saline de sahline (sahel tunisien), bulletin de la société zoologique de France 133(1):185-192.
- Ben Naceur H., Ben RejebJenhani A., El Cafsi M-h. and Romdhane M.S. (2008). Determination of biological characteristics of *Artemia salina* (Crustacea: Anostraca) population from SabkhetSijoumi (NE Tunisia) Transitional Waters Bulletin TWB, Transit. Waters Bull. 3(2008), 65-74, Doi: 10.1285/i1825229Xv2n3.
- Ben Naceur H., Romdhan M.S. and Van Stappen G. (2020). Potential Use of Fatty Acid Profile for *Artemia* spp. Discrimination. Inland Water Biology, Vol. 13, No. 3, pp. 434 -444. .ISSN 1995-0829.
- Bengtson D.A., Leger P. and Sorgeloos P. (1991). Use of *Artemia* as a food source for aquaculture. In: Browne RA, Sorgeloos P, Trotman CAN (Eds), *Artemia biology*. Boca Raton: CRC Press. pp 255 -285.
- Bengtson D.A., Léger P. and Sorgeloos P. (2018). Use of Artemia As a Food Source for Aquaculture. Robert A. Browne P. Sorgeloos, & C.N.A. Trotman (Eds.), *Artemia Biology* (1st ed., pp. 255 -286). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781351069892-11>.
- Bennabi F., Meddah M., Toumi F., Hamel L., Megharbi A., Koudache F. and Ghomari S. (2015). Étude éco-biologique d'Artemia salina des zones humides de l'Ouest Algérien. Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie, 11(2), 97-106.
- Betancor M.B., Atalah E. and Caballero M.J. (2011). “  $\alpha$ -Tocopherol in weaning diets for European sea bass (*Dicentrarchuslabrax*) improves survival and tissue damage caused by excess dietary DHA contents ” Aquaculture Nutrition, 17(2):112-122.
- Biju Y., Krishnakumar S. and Krishnaveni M. (2023). Morphometric and molecular sequencing evidence for the identification of *Artemia franciscana* (Kellogg, 1906) in Southern India. Environmental and ExperimentalBiology21:21-26. <http://doi.org/10.22364/eeb.21.03>
- Blanchard R. and Richard P. (1890). Sur les crustacés des Sebkhass et des chotts d'Algérie. Bull. Soc. Zool. France, 45: 136-138.

- Blanco B.L. (2020). Metabarcoding analyses and seasonality of the zooplankton community at BATS. *Front. Mar. Sci.* 7: 1-16. doi.org/10.3389/fmars.2020.00173.
- Blanco B.L., Bradford-Grieve J. and Bucklin A. (2011). Molecular phylogeny of the Calanoida (Crustacea: Copepoda). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 59: 103- 113.
- Bligh E.G. and Dyer W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37: 911-917.
- Menu B. (1988). Consultoria en Artemia salina. Informe técnico de la serie n85-Contrato n8 dp/cub/86/004-2/f10. France Aquaculture. Habana, Cuba. 85.
- Botnariuc N. and Orghidan T. (1953). Phyllopoda. Fauna Republici Populare Romane, Crustacea. Bucharest: Editura Academiei Republicii Populare Romane. 4:1-99.
- Bowen S.T. and Sterling G. (1978). Esterase and malate dehydrogenase isozyme polymorphisms in 15 *Artemia* populations. *Comparative Biochemistry and Physiology*, B 61(4):593-595.
- Brett M.T., Müller-Navarra D.C., Ballantyne A.P., Ravet J.L. and Goldman C.R. (2006). Daphnia fatty acid composition reflects that of their diet. *Limnology and Oceanography* 51: 2428-2437.
- Browne R.A. (2018). *Artemia Biology*. CRC Press.
- Browne R.A. and Bowen S.T. (1991). Taxonomy and population genetics of Artemia. In: Browne RA, Sorgeloos P, Trotman CNA, eds. *Artemia Biology*. Boca Raton: CRC Press. P. 221-236.
- Browne R.A., Davis L.E. and Sallee S.E. (1988). Effects of temperature and relative fitness of sexual and asexual brine shrimp *Artemia*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 124: 1-20.
- Bruggeman E., Sorgeloos P. and Vanhaecke Y.P. (1980). Improvements in the decapsulation technique of *Artemia* cysts: 261-269. En: *The Brine Shrimp Artemia*. Vol. 3. G.Persoone, P. Sorgeloos, O. RoelsyE. Jaspers (Eds.). Univers a Press. Wetteren (Belgium). 456.
- Bucklin A., Steinke D. and Blanco-Bercial L. (2011). DNA barcoding of marine metazoan *Annual Review of Marine Science* 3: 471-508.
- Bucklin A., Yeh H.D., Questel J.M., Richardson D.E., Reese B., Copley N.J. and Wiebe P.H. (2019). Time-series metabarcoding analysis of zooplankton diversity of the NW Atlantic continental shelf. *ICES J. Mar.Sci.* 76:1162-1176. doi.org/10.1093/icesjms/fsz021.

- Burdge G.C. (2018). Polyunsaturated Fatty Acid Metabolism. Elsevier. Cai Yaneng. (1989). A redescription of the brine shrimp (*Artemia sinica*). A Redescription of the Brine Shrimp (*Artemia Sinica*), 47 (1 -2): 105 -110.
- Cai Y. (1989a). New Artemia sibling species from PR China. *Artemia Newsletter* 11 (1998): 40-41
- Cai Y. (1989b). A redescription of the brine shrimp (*Artemia sinica*) *Wasmann Journal of Biology* 47:105-110
- Camara M.R. (2020). After the gold rush: A review of Artemia cyst production in northeastern Brazil. *Aquaculture Reports*, 17:100359. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100359>.
- Camara M.R., Monteiro P.A., Reis L.G. and Costa M.F. (2004). Farming *Artemia* in a multi-cycle culture system in Northeastern Brazil. *World Aquaculture*. 35(2): 40-42.
- Camargo W.N., Ely J.S. and Sorgeloos P. (2003). Morphometric characterization of thalassohaline Artemia populations from the Colombian Caribbean. *J. Biogeogr.* 30 (5): 697-702. Doi: 10.1046/j.1365-2699.2003.00831.x.
- Camargo W.N., Ely J.S., Duran-Cobo G.M. and Sorgeloos P. (2004). Influence of Some Physicochemical Parameters on *Artemia* Biomass and Cyst Production in Some Thalassohaline Aquatic Environments in the Colombian Caribbean. *Journal of the World Aquaculture Society*, 35(2): 274 -283.
- Campbell R., Adams A., Tatner M., Chair M. and Sorgeloos P. (1993). Uptake of *Vibrio anguillarum* vaccine by *Artemia salina* as a potential oral delivery system to fish fry. *Fish Shellfish Immunol.* 3: 451-459.
- Cantarella M., Gorrasi G., Di Mauro A., Scuderi M., Nicotra G., Fiorenza R. and Impellizzeri G. (2019). Mechanical milling: A sustainable route to induce structural transformations in MoS<sub>2</sub> for applications in the treatment of contaminated water. *Scientific Reports*, 9(1):1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37798-8>.
- Cardoso C., Afonso C. and Bandarra N.M. (2016). Dietary DHA and health: cognitive function aging. *Nutr. Res. Rev.* 29: 281 -294.
- Carroll E.L., Gallego R., Sewell M.A., Zeldis J., Ranjard L., Ross H.A., Tooman L.K., O'Rourke R., Newcomb R.D. and Constantine R. (2019). Multi-locus DNA metabarcoding of zooplankton communities and scat reveal trophic interactions of a generalist predator. *Sci. Rep.* 9: 1 -14. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36478-x>.

- Castel J.D., Bell J.G., Tocher D.R. and Sargent J.R. (1994). Effects of Purified diets containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot, *Scophthalmus maximus*. *Aquaculture*.128:315-333.
- Castro T.B., Gajardo G., Castro J.M. and Castro G.M. (2006). A biometric and ecologic comparison between *Artemia* from Mexico and Chile, *Saline Systems*. 2: 13. DOI: 10.1186/1746-1448-2-13.
- Chain F.J.J., Brown E.A., Macisaac H.J. and Cristescu M.E. (2016). Metabarcoding reveals strong spatial structure and temporal turnover of zooplankton communities among marine and freshwater ports. *Divers. Distrib.* 22:493-504. <https://doi.org/10.1111/ddi.12427>.
- Chalabia C.D., Refes W., Varó I., Hontoria F., Amat F. and Navarro J.C. (2021). Quality evaluation of *Artemia* cysts from three Algerian populations, *African Journal of Aquatic Science* : 1-9. <https://doi.org/10.2989/16085914.2021.1895052>.
- Chaorungrit L., Plodsomboon S., Rogers D.C. and Sanoamuang L.O. (2017). Morphology of mandibles and food size in two fairy shrimps (Branchiopoda: Anostraca) from Thailand. *J. Crust. Biol.*, 37: 579-587.
- Chen C.A., Chen C.P., Fan T.Y., Yu J.K. and Hsieh H.L. (2002). Nucleotide Sequences of Ribosomal Internal Transcribed Spacers and Their Utility in Distinguishing Closely Related *Perinereis* Polychaets (Annelida; Polychaeta; Nereididae). *Marine Biotechnology*4: 17-29.
- Chen G. and Hare M.P. (2011). Cryptic diversity and comparative phylogeography of the estuarine copepod *Acartia tonsa* on the US Atlantic coast. *Molecular Ecology* 20 : 2425-244.
- Chen S.H. and Chuang Y.J. (2002). Analysis of fatty acids by column liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta*; 465: 145-155.pp. 251-277.
- Chiraz L. (2014). Étude de la dynamique, de la composition biochimique et de la variabilité génétique des copépodes et des *Artemia* d'un écosystème extrême : la saline de Sfax (Tunisie). université Nantes Angers le Mans France.
- Clarke L.J., Beard J.M., Swadling K.M. and Deagle B.E. (2017). Effect of marker choice and thermal cycling protocol on zooplankton DNA metabarcoding studies Bruce E. *Ecology and Evolution* 2017; 7: 873-883. DOI: 10.1002/ece3.2667

- Clegg J.S. (1964). The control of emergence and metabolism by external osmotic pressure and the role of free glycerol in developing cysts of *Artemia salina*. *J. Exp. Biol.* 41: 879-892.
- Clegg J.S. (1965). The origin of trehalose and its significance during the formation of encysted dormant embryos of *Artemia salina*. *Comp. Biochem. Physiol.* 14: 135-143.
- Clegg J.S. and Conte F.P. (1980). A review of the cellular and developmental biology of Artemia: 11-54. In: *The brine shrimp Artemia*. Vol. 2. Physiology, Biochemistry, Molecular Biology. Persoone, G., Roels O. and Jaspers, E. (Eds). Universa Press, Wetteren, Belgium.
- Clegg J.S. and Trotman C.N.A. (2002). Physiological and Biochemical Aspects of Artemia Ecology. In Th. J. Abatzopoulos J.A. Beardmore J.S. Clegg and Sorgeloos P. (Eds.), *Artemia: Basic and Applied Biology* Springer Netherlands, 129-170. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-0791-63>.
- Cohen R.G., Amat F., Hontoria F. and Navarro J.C. (2000). Preliminary characterization of some Argentinean Artemia populations from La Pampa and Buenos Aires provinces *Int. Journal of Salt Lake Res*, 8 :329-340.
- Copeman L.A., Parrish C.C., Brown J.A. and Harel M. (2002). Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): A live food enrichment experiment. *Aquaculture* 210 (1-4) 285-304.
- Creer S. (2016). The ecologist's field guide to sequence-based identification of biodiversity. *Methods Ecol. Evol.* 7:1008-1018.
- Crowe J.H., Crowe L.M., Carpenter J.F. and Aurel W.C. (1987). Stabilization of dry phospholipid bilayers and proteins by sugars. *J. Biochem.* 242: 1-10.
- Daday de Deés E. (1910). Monographie systématique des Phyllopo des Anostracés. *Annales des Sciences Naturalles, 9ème série, Zoologie* 11:91-489.
- Dahloun L., Hadj Amara K., Belayachi D.A. and Arabi A. (2014). Contribution à l'étude de la qualité des cystes d'*Artemia* (Crustacea ; Branchiopoda).
- Dana G. and Lenz P. (1986). Effects of increasing salinity on an *Artemia* population from Mono Lake, California. *Ecologia (Berlin)* 68 (3): 428-436.
- Darwin C. (1859). L'origine des espèces au moyen de la sélection naturelle ou la lutte pour l'existence dans la nature. in Alfred Costes, Éditeur, Paris, France, 72.

- Dawood M.A.O. (2021). Nutritional immunity of fish intestines: important insights for sustainable aquaculture. *Rev. Aquac.*, 13: 642-663.
- De Carvalho M.R., Bockmann F.A., Amorim D.S., De Vivo M., De Toledo-Piza M., Menezes N.A., De Figueiredo J.L., Castro R.M.C., Gill A.C., McEachran J.D., +6 more. (2005). Revisiting the taxonomic impediment. *Science* 307(5708):353b
- De Clercq P., Arijs Y., Van Meir T., Van Stappen G., Sorgeloos P., Dewettinck K., Rey M., Grenier S. and Febvay G. (2005). Nutritional value of brine shrimp cysts as a factitious food for *Orius laevigatus* (Heteroptera: Anthocoridae). *Biocont. Sci. Technol.* 15(5): 467-479.
- De Los Santos C., Sorgeloos P., Lavina E. and Bernardino A. (1980). Successful inoculation of *Artemia* and production of cysts in manmade salterns in the philippines : 159-163. In: *The brine shrimp Artemia*. Vol.3. Ecology, culturing, Use in aquaculture. Persoone G., Sorgeloos P., Roels O., Jaspers E. (Eds). Universa Press, Wetteren, Belgium, 456 p.
- De Vos S., Rombauts S., Coussement L., Dermauw W., Vuylsteke M., Sorgeloos P., Clegg J.S., Nambu Z., Van Nieuwerburgh F. and Norouzitallab P. (2021). The genome of the extremophile *Artemia* provides insight into strategies to cope with extreme environments. *BMC Genom.* 22, 635.
- Demnati F., Samraoui B., Allache F., Sandoz A. and Ernoul L. (2017). A literature review of Algerian salt lakes: values, threats and implications. *Environmental Earth Sciences*, 76(3), 127. <https://doi.org/10.1007/s12665-017-6443-x>.
- Dendrinou P. and Thorpe J.P. (1987). Experiments on the artificial regulation of the amino acid and fatty acid contents of food organisms to meet the assessed nutritional requirements of larval, post-larval and juvenile Dover sole (*Solea solea* L.) *Aquaculture* 61 :121-154.
- Derbal F., Amarouayache M. and Kara M.H. (2010). Preliminary data on a new *Artemia* strain from ElBahira lake (Northeast of Algeria), *Rapp. Com. Int. Mer Méditer*, 39.
- Dhont J., Dierckens K., Støttrup J., Van Stappen G., Wille M. and Sorgeloos P. (2013). 5-Rotifers, *Artemia* and copepods as live feeds for fish larvae in aquaculture. In G. Allan & G. Burnell (Eds.), *Advances in Aquaculture Hatchery Technology*. Woodhead Publishing, 157-202. <https://doi.org/10.1533/9780857097460.1.157>.

- Dhont J. and Van Stappen G. (2003). Biology, Tank production and Nutritional Value of *Artemia*. *Liv. Fed. Mar. Aquacult.* In: Støttrup, J.G and L. A. Mc Evoy (eds). Blackwell. Sci.Ltd. Oxford. UK. 65-121.
- Dineshbabu G., Goswami G., Kumar R., Sinha A. and Das D. (2019). Microalgae–nutritious, sustainable aqua-and animal feed source. *Journal of Functional Foods* 62: 103545.
- Dixon B., Van Poucke S., Chair M., Demasque M., Nelis H., Sorgeloos P. and De Leenheer A. (1995). Bioencapsulation of the antibacterial drug sarafloxacin in nauplii of the brine shrimp *Artemia franciscana*. *J. Aquat. Anim. Health*7: 42-45.
- Djamali M., Ponel P., Delille T., Thiéry A., Asem A., Andrieu-Ponel V., de Beaulieu J-L., Lahijani H., Shah-Hosseini M., Amini A. and Stevens L. (2010). A 200,000-year record of the brine shrimp *Artemia* (Crustacea: Anostraca) remains in Lake Urmia, NW Iran. *Int. J. Aquat. Sci.* 1: 14-18.
- Dobbeleir J., Adam N., Bossuyt E., Bruggeman E. and Sorgeloos P. (1980). New aspects of the use of inert diets for high density culturing of brine shrimp: 165-174. In: The brine shrimp *Artemia*. Vol.3. Ecology, Culturing, Use in aquaculture. Persoone G. Sorgeloos P., Roels O., Jaspers E.(Eds). Universa Press, Wetteren, Belgium, 456p.
- Drinkwater L.E. and Crowe J.H. (1987). Regulation of embryonic diapause in *Artemia*: Environmental and physiological signals. *J. Exp. Zool.* 241: 297-307.
- Dubois A. (2003). The relationships between taxonomy and conservation biology in the century of extinctions. *Comptes Rendus Biologie* 326(4):9-21.
- Ebach M.C., Valdecasas A.G. and Wheeler Q.D. (2011). Impediments to taxonomy and users of taxonomy: accessibility and impact evaluation. *Cladistics* 27(5):550-557.
- Edgar R.C. (2021). MUSCLE v5 enables improved estimates of phylogenetic tree confidence by ensemble bootstrapping. *BioRxiv*, 2021-06.
- Eimanifar A., Asem A., Wang P-Zh., Li W. and Wink M. (2020). Using ISSR Genomic Fingerprinting to Study the Genetic Differentiation of *Artemia* Leach, 1819 (*Crustacea Anostraca*) from Iran and Neighbor Regions with the Focus on the Invasive American *Artemia franciscana*. *Diversity*, 12: 132 DOI: 10.3390/d12040132.
- Eimanifar A., Van Stappen G. and Wink M. (2015). Geographical distribution and evolutionary 4 divergence times of Asian populations of the brine shrimp *Artemia* (Crustacea, Anostraca). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 147: 447-458.

- Eimanifar A., Van Stappen G., Marden B. and Wink M. (2014). *Artemia* biodiversity in Asia with the focus on the phylogeography of the introduced American species *Artemia franciscana* Kellogg, 1906. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 79: 392-403. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.06.027>.
- El-Magsodi M O., Bossier P., Sorgeloos P. and Van Stappen G. (2016). Effect of light colour, timing, and duration of light exposure on the hatchability of *Artemia* spp. (Branchiopoda: Anostraca) eggs. *Journal of Crustacean Biology*, 36(4): 515-524. DOI: 10.1163/1937240X-00002454.
- El-Magsodi M.O. (2018). Effects of environmental factors on cyst hatching and on larval quality of the brine shrimp *Artemia* sp. (*Anostraca: Branchiopoda*) PhD thesis, Ghent University, Belgium.
- El-Sharawy R.T., Elkhateeb A., Marzouk M.M., El-Latif R.A.A., Abdelrazig S.E. and El-Ansari M.A. (2017). Antiviral and antiparasitic activities of clovamide: the major constituent of *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight et Arn. *J. Appl. Pharmac. Sci.* 7: 219-223.
- Entz G, (1886). Az erdélyi sós vizekben élő Artémiákról. *Orv. Term. Tud. Ért. Term. Szak* 8:101-113.
- Eskandari A. and Sayg Y. (2019). Ecological surveys on the parthenogenetic *Artemia* populations in the hypersaline lakes of Anatolia, Turkey, *Turk J Zool* 43: 367-378. Doi:10.3906/zoo-1902-24.
- Estevez A., Izhikawa M. and Kanzawa A. (1997). Effects of arachidonic acid on pigmentation and fatty acid composition of japanese flounder, *paralichthysolivaceus* (temmink and schlegel). *Aquaculture research*, 28, 279-289.
- FAO (2020). National Aquaculture Sector Overview. Egypt. National Aquaculture Sector Overview Fact Sheets. Text by Salem A.M., Saleh M.A. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. Updated 16 November 2010. [Cited 11 May 2020]. Retrieved from [http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso\\_egypt/en](http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_egypt/en).
- FAO (2022). *Artemia* spp. Cultured Aquatic Species Information Programme. Text by Van Stappen, G. Fisheries and Aquaculture Division [Online]. Rome. Available online: [https://www.fao.org/fishery/en/culturedspecies/Artemia\\_spp/en](https://www.fao.org/fishery/en/culturedspecies/Artemia_spp/en) (accessed on 24 June 2022)
- FAO. (2017). Cultured Aquatic Species Information Programme. *Artemia* spp. Cultured Aquatic Species Information Programme. In: FAO Fisheries and Aquaculture

Department [online]. Text by Van Stappen, G. Rome. Updated 11 October 2011. [Cited 1 October 2017]. [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Artemia\\_spp/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Artemia_spp/en).

- Farhadian O., Kolivand S., Khoshdarehgy M.M., Dorch E.E. and Soofiani N. (2013). Nutritional value of freshwater mesozooplankton assemblages from Hanna Dam Lake, Iran, during a one-year study. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 12: 301-319.
- Fatsi P.S.K., Hashe S., Kodam A., Appia E.K. and Sait H. (2020). Population genetics and taxonomic signatures of wild tilapia in Japan based on mitochondrial DNA control region analysis. *Hydrobiologia* 847(6):1491-1504. <https://doi.org/10.1007/s10750-020-04203-3>.
- Feh'er M., Baranyai E., Simon E., Barsony P., Szucs I., Posta J. and Stündl L. (2013). The interactive effect of cobalt enrichment in *Artemia* on the survival and larval growth of barramundi, *Lates Calcarifer*. *Aquaculture* 414-415, 92-99.
- Fischer de Waldheim G. (1834). Notice sur une nouvelle espèce de *Branchipus* de Latreille. *Bulletin de la Société Impériale des Naturalistes de Moscou* 7:452-461
- Fischer S. (1851). Branchiopoden und Entomostracen. In: Von Middendorff AT, ed. *Reise in den Äussersten Norden und Osten Sibiriens. II. Zoologie. I. WirbelloseThiere*. St. Petersburg: Wissenschaften.
- Folch J., Lees M. and Sloane Stanley G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J BiolChem* 226:497-509.
- Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R. and Vrijenhoek R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3: 294-299.
- Foote A.D. (2012). Investigating the potential use of environmental DNA (eDNA) for genetic monitoring of marine mammals. *PLoS One* 7, e41781.
- Francis D.S., Cleveland B.J., Jones P.L., Turchini G.M. and Conlan J.A. (2019). Effects of PUFA-enriched *Artemia* on the early growth and fatty acid composition of Murray cod larvae. *Aquaculture*, 513: 734362.
- Freire R., Insua A. and Méndez J. (2005). *Cerastoderma glaucum* 5S ribosomal DNA: characterization of the repeat unit, divergence with respect to *Cerastodermaedule*, and PCR-RFLPs for the identification of both cockles. *Genome* 48: 427-442.
- Gajardo G.M. and Beardmore J.A. (2012). The Brine Shrimp *Artemia*: Adapted to Critical Life Conditions. *Frontiers in Physiology*, 3. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00185>.

- Galal-Khallaf A., Ardura A., Mohammed-Geba K., Borrell Y.J. and Garcia-Vazquez E. (2014). DNA barcoding reveals a high level of mislabelling in Egyptian fish fillets. *Food Contr.* 46: 441-445.
- Garcia-Ortega A., Verreth J. and Coutteau P. (1998). Biochemical and enzymatic characterization of decapsulated cysts and nauplii of the brine shrimp *Artemia* at different developmental stages. *Aquaculture* 161 :501-514
- Garnett S.T. and Christidis L. (2007). Implications of changing species definitions for conservation purposes. *Bird Conservation International* 17(3):187-195
- Gatesoupe F. (1994). Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae (*Scophthalmus maximus*) against pathogenic *Vibrio*. *Aquatic Living Resources* 7: 277-282.
- Gauthier H. (1928). Nouvelles recherches sur la faune des eaux continentales de l'Algérie et de la Tunisie. Thèse de doctorat. Minerva, Alger, Algérie.
- Georgiev B.B., Sanchez M.I., Green A.J., Nikolov P.N., Vasileva G.P. and Mavrodieva R.S. (2005). Cestodes from *Artemia parthenogenetica* (Crustacea, Branchiopoda) in the Odiel Marshes, Spain: A systematic survey of cysticercoids. *Act. Paras.*, 50: 105-117.
- Georgiev B.B., Sanchez M.I., Vasileva G.P., Nikolov P.N. and Green A.J. (2007). Cestode parasitism in invasive and native brine shrimps (*Artemia* spp.) as a possible factor promoting the rapid invasion of *A. franciscanain* the Mediterranean region. *Parasitol. Res.*, 101:1647-1655.
- Ghannudi S.A. and Tufail M. (1978). A report on a two-day visit to eight salt-water lakes of Ramla Azallaf, Fezan, Libya. *Libyan J. Scien.* 8 (A): 69-74.
- Ghomari S.M. (2013). Localisation et caractérisation de la ressource naturelle *Artemia* dans les milieux salins algériens. (Zones Humides de l'Ouest, de l'Est et Sahariennes), PhD thesis, Mostaganem University, Algeria.
- Ghomari S.M., Selselet G.S., Hontoria F. and Amat F. (2011). *Artemia* Biodiversity in Algerian Sebkhass. *Crustaceana*, 84: 1025-1039.
- Glencross B.D. (2009). Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *RevAquacult* 1:71-124.
- Gonçalves A.M.M. Marques J.C. and Gonçalves F. (2017). Fatty Acids' Profiles of Aquatic Organisms: Revealing the Impacts of Environmental and Anthropogenic Stressors. 10.5772/intechopen.68544.

- Gong J.B., Su T.F., Xia J.H., Gong S.Y. and Jiang S.G. (2006). Polymorphism study of the mitochondrial DNA D-loop control region sequences from black porgy *Acanthopagrus schlegelii*, in the coastal waters of China. *J. South China Fish. Res.* 2 (4), 24-30.
- Green A.J., Lovas-Kiss A. and Reynolds C. (2023). Dispersal of aquatic and terrestrial organisms by waterbirds: A review of current knowledge and future priorities. *Freshwater Biology*; 68:173-90. <https://doi.org/10.1111/fwb.14038>.
- Grochowski M. (1896). Uebereineue, im Süßwasserlebende Species von *Artemia*. Verhandlungen der Kaiserlich-Königlichen Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien 45:95-101.
- Gross F. (1932). Untersuchungen über die Polyploidie und die Variabilität bei *Artemia salina*. *Naturwissenschaften* 20(51):962-967.
- Grube A.E. (1874). Über die Fortschritte in der Kenntniss der Phyllopoden (i. e. S.) in den letzten 2 Decennien. *Jahres-Bericht der Schlesischen Gesellschaft für Vaterländische Cultur* 52:54-57.
- Guermazi W., Elloumi J., Ayadi H., Bouaïn A. and Aleya L. (2008). Coupling changes in fatty acid and protein composition of *Artemia salina* with environmental factors in the Sfax solar saltern (Tunisia). *Aquatic Living Resources* 21: 63-73.
- Guinot P.D., Monroig Ó., Hontoria F., Amat F., Varó I. and Navarro J.C. (2013). Enriched on-grown *Artemia metanauplii* actively metabolise highly unsaturated fatty acid-rich phospholipids. *Elsevier aquaculture*, p 173-178.
- Günther R.T. (1899). Contributions to the Natural History of Lake Urmí, N.W. Persia, and its Neighbourhood. *Journal of the Linnean Society, Zoology* 27(177):345-453. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1899.tb00414.x>.
- Gwangseok R.Y., Amjad H., Weinrauch A.M. and Anderson G. (2022). Long-term effects of EPA and DHA enriched diets on digestive enzyme activity, aerobic scope, growth and survival in age-0 Lake Sturgeon (*Acipenser fulvescens*) DOI: [10.1016/j.aquaculture.2022.737972](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.737972)
- Haddag M. (1991). Contribution à l'étude d'une souche d'*Artemia (Artemia tunisiana)* endémique aux eaux de la saline d'Arzew, Algérie. *Th. Magis. Sci Biol. Aquacult.* Inst Scie Mer. Aménag. Litto. Alger. Algérie. 61-68p.

- Harris D.J. and Crandall K.A. (2000). Intragenomic variation within ITS1 and ITS2 of freshwater crayfishes (Decapoda: Cambaridae): implications for phylogenetic and microsatellite studies. *Molecular Biology and Evolution* (17): 284-291.
- Harrison J.S. (2004). Evolution, biogeography, and the utility of mitochondrial 16S and COI genes in phylogenetic analysis of the crab genus *Austynixia* (Decapoda: Pinnotheridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* (30): 743-754.
- Harvey J.B.J., Johnson S.B., Fisher J.L., Peterson W.T. and Vrijenhoek R.C. (2017). Comparison of morphological and next generation DNA sequencing methods for assessing zooplankton assemblages. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 487:113-126. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2016.12.002>.
- Harzevili A.R.S., Van Duffel H., Defoirdt T., Dhert P., Sorgeloos P. and Swings J. (1998). The influence of a selected bacterial strain *Vibrio anguillarum* TR27 on the growth rate of rotifers in different culture conditions. *Aquacult. Inter.* 5: 183-188.
- Hasan M.R. (2016). FAO Expert workshop on sustainable use and management of Artémis Resources in Asia. Retrieved from: [https://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/affris/docs/PowerPoint\\_Presentations.pdf](https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/affris/docs/PowerPoint_Presentations.pdf).
- Hawkyard M., Stuart K., Langdon C. and Drawbridge M. (2016). The enrichment of rotifers (*Brachionus plicatilis*) and *Artemia franciscana* with taurine liposomes and their subsequent effects on the larval development of California yellowtail (*Seriolalalandi*). *Aquacul. Nutr.* 22 : 911-922.
- Hazael R., Matsuda Sh., Mori Y., Fitzmaurice B.C., Appleby-Thomas G., Painter J.D., Meersman F., Richaud M., Galas S., Saini N.L., Ono F. and McMillan P.F., (2019). Pressure tolerance of *Artemia* cysts compressed in water medium. *High pressure research*. <https://doi.org/10.1080/08957959.2019.1575378>.
- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L. and De Waard J.R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 270:313-321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>.
- Hebert P.D.N., Ratnasingham S. and Dewaard J.R. (2003). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society, London B* 270 (Suppl.), 96-99.
- Hirai J., Shimode S. and Tsuda A. (2013). Evaluation of ITS2-28S as a molecular marker for identification of calanoid copepods in the subtropical western North Pacific. *J. Plankton Res.* 35, 644-656. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbt016>.

- Hirai J., Tachibana A. and Tsuda A., (2020). Large-scale metabarcoding analysis of epipelagic and mesopelagic copepods in the Pacific. *PloS One*, 15:1-24. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233189>.
- Iryani M.T.M., Sorgeloos P., Danish-daniel M., Tan M.P., Wong L.L., Mok W.J., Satyantini W.H., Mahasri G. and Sung Y.Y. (2020). Cyst viability and stress tolerance upon heat shock protein 70 knockdowns in the brine shrimp *Artemia franciscana*. *Cell Stress and Chaperones*, Clegg 2011, 1-5.
- Islam S.U., Ahmed M.B., Shehzad A. and Lee Y.S. (2019). Methanolic extract of *Artemia salina* eggs and various fractions in different solvents contain potent compounds that decrease cell viability of colon and skin cancer cell lines and show antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 2019: 9528256
- Izquierdo M.S. and Koven W.M. (2011). "Lipids," in *Larval Fish Nutrition*, J. Holt, Ed., 47-82, Wiley-Blackwell, John Wiley and Sons, Oxford, UK.
- Jalali M.A., Hosseini S.A. and Imanpour M.R. (2008). Effet de la vitamine E et de l'*Artemia rumiana* enrichi en acides gras hautement insaturés sur les performances de croissance, la survie et la résistance au stress des larves de béluga (*Husohuso*). *Aquac. Rés.* 39, 1286-1291.
- Jeffery N.W., Elias-Gutierrez M. and Adamowicz S.J. (2011). Species Diversity and Phylogeographical Affinities of the Branchiopoda (Crustacea) of Churchill, Manitoba, Canada. *PLoS One* 6, DOI: 10.1371/journal.pone.0018364.
- Jensen A.C. (1918). Some observations on *Artemia gracilis*, the brine shrimp of Great Salt Lake. *Biol. Bull.* 34 (1): 18-28.
- Jeyavani J., Sibiya A., Bhavaniramy S., Mahboob S., Al-Ghanim K.A., Nisa Z., Riaz M.N., Nicoletti M., Govindarajan M. and Vaseeharan B. (2022). Toxicity evaluation of polypropylene microplastic on marine microcrustacean *Artemia salina*: An analysis of implications and vulnerability. *Chemosphere* 296, 133990. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133990>
- Ji Y. (2013). Reliable, verifiable and efficient monitoring of biodiversity via metabarcoding. *Ecol. Lett.* 16:1245-1257.
- Joshua W.J., Kamarudin M.S., Ikhsan N., Yusoff F. and Zulperi Z. (2022). Development of enriched *Artemia* and *Moinain* larviculture of fish and crustaceans: A review. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 50:144-157.

- Kaparapu J. (2018). Application of microalgae in aquaculture. *Phykos*48(1): 21-26.
- Kappas I., Baxevanis A.D. and Abatzopoulos T.J. (2011). Phylogeographic patterns in *Artemia* : a model organism for hypersaline crustaceans. *Phylogeography and Population Genetics in Crustacea*19:231-253.
- Kappas I., Baxevanis A.D., Maniatsi S. and Abatzopoulos T.J. (2009). Porous genomes and species integrity in the branchiopod *Artemia*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 52(1):192-204.
- Kara M.H. (1998). Bases biologiques et écologiques de l'élevage du loup *Dicentrarchus labrax* dans la région d'Annaba. Thèse de Doctorat d'Etat, Alger, Algérie 172 p.
- Kara M.H., Bengraine K.A. and Derbal F. (2004). Quality evaluation of a new strain of *Artemia* from Chott Marouane (Northeast Algeria). *Aquaculture*, 235(1-4), 361-369. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.02.016>.
- Kara M.H., Bengraine K.A., Derbal F., Chaoui L. and Amarouayache M. (2004). Quality evaluation of a new strain of *Artemia* from Chott Merouane. *Aquaculture*, 235: 361-369.
- Kellogg V.L. (1906). A new *Artemia* and its life conditions. *Science*.24(619):594-596. JSTOR.
- Kharroub K. (2007). Identification et étude moléculaire des bactéries et des archéobactéries aérobies halophiles de la sebkha Ezzemoule (Ain M'Lila). Thèse de doctorat Université Mentouri. Constantine.
- Khemakhem M. (1988). *Artemia* dans les salines de Sfax:Étude biologique et écologique, possibilité d'exploitation à des fins aquacoles. *Mem. Cyc. Ing. Sec. Hali. Spec. Aquacult.* INAT. 114.
- Kherraz-Chemlal D., Boukhatem T., Khelil F., F. Sahnouni A., Maatalah Z. and Boutiba (2017). Determination of biological characteristics of *Artemia salina* (Crustacea: Anostraca) population from saline Bethioua (Oran, Algeria) <http://dx.doi.org/10.12692/ijb/10.1.117-125>.
- Kijewski T., Wijsman J.W.M., Hummel H. and Wenne R. (2009). Genetic composition of cultured and wild mussels *Mytilus* from The Netherlands and transfers from Ireland and Great Britain. *Aquaculture* 287: 292-296.

- King R.L. (1855). On Australian Entomostracans. *Proceedings of the Royal Society of Van Diemen's Land* 3(1):56-75.
- Knebelsberger T., Landi M, Neumann H., Kloppmann M., Sell A.F., Campbell P.D., Laakmann S., Raupach M.J., Carvalho G.R. and Costa F.O. (2014). A reliable DNA barcode reference library for the identification of the North European shelf fish fauna. *Mol. Ecol. Resour.* 14:1060-1071
- Kolkovski S., Curnow J. and King J. (2004). Intensive rearing system for fish larvae research II. Artemia hatching and enriching system. *Aquacult. Engine.* 31: 309-317.
- Kolman R., O. Khudiyi O., Kushniryk O., Khuda L., Prusińska M. and Wiszniewski G. (2018). Influence de la température et de l'Artemia enrichi en AGPI  $\omega$ -3 sur l'ontogénèse précoce de l'esturgeon noir, *Acipenser oxyrinchus* Mitchill, 1815, *Aquac. Rés.* 49(5):1740-1751.
- Krishnakumar V. and Munuswamy N. (2014). Occurrence of morphotypes in the invader species, *Artemia franciscana* Kellogg, 1906 (Crustacea: Anostraca) from Covelong saltworks, South India. *Int. J. Adv. Res.* 2: 1157 -1167.
- Kuda O. (2017). Bioactive metabolites of docosahexaenoic acid. *Biochimie* 136: 12-20. Lewis, T., Nichols, P.D., Hart, P.R., 1998. Enrichment of rotifers *Brachionus plicatilis* with eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid produced by bacteria. *J. World Aquacult. Soc.* 29 (3):313-318.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C. and Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35: 1547-1549.
- Łączyńska B., Palińska-Żarska K., Nowosad J., Biłas M., Krejszef S., Müller T., Kucharczyk D. and Żarski D. (2016). Effect of age, size and digestive tract development on weaning effectiveness in crucian carp, *Carassius carassius* (Linnaeus, 1758). *J. Appl. Ichthyol.*, 32: 866-872.
- Lantushenko A.O., Meger Y., Gadzhi A., Anufriieva E.V. and Shadrin, N.V. (2023). Unique Haplotypes of *Artemia salina* (Crustacea, Branchiopoda, Anostraca) in Hypersaline Lake Sasyk-Sivash (Crimea). *Inland Water Biology*, 16 : 884 - 891. <https://doi.org/10.1134/S1995082923050085>
- Lanzotti V., Grauso L., Mangoni A., Termolino P., Palomba E. and Anzano A. (2022). Metabolomics and molecular networking analyses in *Arabidopsis thaliana* show that

extracellular self-DNA affects nucleoside/nucleotide cycles with accumulation of cAMP, cGMP and N6- methyl-AMP. *Phytochemistry*. 204: 113453.

- Lavens P. and Sorgeloos P. (1987). The cryptobiotic state of *Artemia* cysts and its diapause deactivation and hatching: 27-63. A review. In: *Artemia* research and its applications Vol. 3. Ecology, culturing, use in aquaculture. Sorgeloos P., Bengtson D.A., Declair, W. and Jaspers, E. (Eds.). UniversaPress, Wetteren, Belgium.
- Lavens P. and Sorgeloos P. (1996). Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper N°. 361, Rome, Italy.
- Lavens P. and Sorgeloos P. (2000). The history, present status and prospects of the availability of *Artemia* cysts for aquaculture. *Aquaculture*, 181 : 397-403.
- Lavens P., Leger P. and Sorgeloos P. (1986) Production, utilization and manipulation of *Artemia* as food source for shrimp and fish larvae. *Océanis*, 4: 229- 247.
- Lavens P., Léger P. and Sorgeloos P. (1989). Manipulation du profil en acides gras chez la progéniture d'*Artemia* produite dans des systèmes de culture intensive. *L'aquaculture, une biotechnologie en cours*, pp 731-739.
- Lavens P., Tackaert W. and Sorgeloos P. (1986a). International study on *Artemia* XLI. Influence of culture conditions and specific diapause deactivation methods on the hatchability of *Artemia* cysts produced in a standard culture system. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 31: 197-203.
- Le T., Nguyen Van H., Sorgeloos P. and Stappen G. (2018). *Artemia* feeds: A review of brine shrimp production in the Mekong Delta, Vietnam. *Reviews in Aquaculture*. <https://doi.org/10.1111/raq.12285>.
- Lecerf J-M. (2004). *Cahiers de Nutrition et de Dietetique* 39 (2), 143-150.
- Léger P., Bengtson D.A., Simpson K.L. and Sorgeloos P. (1986). The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 24: 521-623.
- Lenormand T., Nougé O., Jabbour-Zahab R., Arnaud F., Dezileau L., Chevin L.M. and Sánchez M.I. (2018). Resurrectionecology in *Artemia*. *Evol. Appl.* 11 : 76-87.
- Lenz P.H. (1984). Life-history analysis of an *Artemia* population in a changing environment. *Journal of Plankton Research* 6(6) :967-983
- Li K., Wang Y., Du G., Yao X., Bao H., Han X. and Sui L. (2023). Multi-effects of temperature and particle size on the filter-feeding rate of brine shrimp *Artemia* at different growth stages and densities. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3275823/v1>.

- Liévin (1856). *Branchipus oudneyi*, der Fezzan-WurmoderDud, Baird's *Artemia oudneyi*. *Neueste Schriften der Naturforschenden Gesellschaft in Danzig* 5-6(1856–1862):1-10
- Lindeque P.K., Hay, S.J., Heath M.R., Ingvarsdottir A., Rasmussen J., Smerdon G.R. and Waniek J.J., (2006). Integrating conventional microscopy and molecular analysis to analyse the abundance and distribution of four *Calanus* congeners in the North Atlantic. *J. Plankton Res.* 28 : 221-238. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbi115>.
- Lindeque P.K., Parry H.E., Harmer R.A., Somerfield P.J. and Atkinson A., (2013). Next generation sequencing reveals the hidden diversity of zooplankton assemblages. *PLoS One*(8): 1-14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081327>.
- Linder F. (1941). Contributions to the morphology and the taxonomy of the Branchiopoda Anostraca. *Zoologiska Bidrag från Uppsala* 20:101-303.
- Linnaeus C. (1758). *Systema Naturae per Regna tria Naturae, secundum Classes, Ordines, Genera, Species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis*. Ed. X. London: Natural History Museum. 1:824.
- Lipscomb D., Platnick N. and Wheeler Q. (2003). The intellectual content of taxonomy: a comment on DNA taxonomy. *Trends in Ecology & Evolution* 18(2):65-66
- Litvinenko L., Litvinenko A., Boyko E., Korentovich M. and Zenkovich P. (2021). Experimental studies to increase the natural resources of brine shrimp *Artemia* in hyperhaline reservoirs. *Earth and Environmental Science* 937 (2021) 022073.
- Litvinenko L.I., Kozlov A.V., Kovalenko A. I. and Bauer D.S. (2007). Salinity of water as a factor to determine the development of the brine shrimp *Artemia* populations in Siberian lakes. *Hydrobiologia*, 576(1):95-101. <https://doi.org/10.1007/s10750-006-0296-8>.
- Litvinenko L.I., Litvinenko A.I. and Boyko E.G. (2016). Brine Shrimp *Artemia* in Western Siberia Lakes. Siberian Publishing Company “Nauka”, Novosibirsk, 295 pp.
- Litvinenko L.I., Litvinenko A.I., Boiko E.G. and Kutsanov K. (2015). *Artemia* cyst production in Russia. *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, 33: 1436-1450.
- Lund I., El Kertaoui N., Izquierdo M.S., Dominguez D., Hansen B.W. and Kestemont P. (2018). The importance of phospholipids combined with long-chain PUFA in formulated diets for pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *British Journal of Nutrition* 120(6): 628-644.

- Ma L and Wang W. (2003). Mitochondrial genome sequences of *Artemia tibetiana* and *Artemia urmiana*: assessing molecular changes for high plateau adaptation *Marine Sciences-Qingdao-Chinese Edition* 27(11) 34-37.
- Maccari M., Amat F. and Gomez A. (2013). Origine et diversité génétique des artémies parthénogénétiques diploïdes en Eurasie. *PLoS ONE*, 8(12):e83348. DOI: 10.1371/journal.pone.0083348.
- Maccari M., Amat F., Hontoria F. And Gómez A. (2014). Laboratory generation of new *Artemia* parthenogenetic lineages through contagious parthenogenesis. *PeerJ* 2:e3333v1
- Maccari M., Gómez A., Hontoria F. And Amat F. (2013). Functional rare males in diploid parthenogenetic *Artemia*. *Journal of Evolutionary Biology* 26(9):1934-1948
- Mace G.M. (2004). The role of taxonomy in species conservation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 359(1444): 711-719.
- Machida R.J., Hashiguchi Y., Nishida M. and Nishida S. (2009). Zooplankton diversity analysis through single-gene sequencing of a community sample. *BMC Genomics*, (10): 438 doi: 10.1186/1471-2164-10-438.
- MacRae T.H. (2016). Stress tolerance during diapause and quiescence of the brine shrimp, *Artemia*. *Cell Stress & Chaperones*, 21(1):9-18. <https://doi.org/10.1007/s12192-015-0635-7>.
- MacRae T.H., Bagshaw J.C. and Warner A.H. (1988). "Biochemistry and Cell Biology of *Artemia*," CRC Press, Boca Raton.
- Magalhaes R., Guerreiro I., Coutinho F., Moutinho S., Sousa S., Delerue-Matos C., Domingues V.F., Olsen R.E, Peres H. and Oliva-Teles A. (2020). Effet de l'ARA diététique/Ratios EPA/DHA sur les performances de croissance et le métabolisme intermédiaire de la daurade (*Sparus aurata*) juvéniles. *Aquaculture* 516, 734644.
- Mahdhi A., Messina C., Kamoun F., Santulli A. and Bakhrouf A. (2012). Determination of biological characteristics of Tunisian *Artemia salina* populations. *Biologia* 67/1: 143-150. Section Zoology .DOI: 10.2478/s11756-011-0149-4.
- Manaffar R., Zare S., Agh N., Siyabgods A., Soltanian S., Mees F. and Van Stappen G. (2011). Sediment cores from Lake Urmia (Iran) suggest the inhabitation by parthenogenetic *Artemia* around 5,000 years ago. *Hydrobiologia* 671: 65-74.

- Maniatsi S., Baxevanis A.D., Kappas I., Deligiannidis P., Triantafyllidis A., Papakostas S., Bougiouklis D. And Abatzopoulos T.J. (2011). Is polyploidy a persevering accident or an adaptive evolutionary pattern? The case of the brine shrimp *Artemia*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 58(2):353-364
- Martin J.W. and Davis G.E. (2001). An updated classification of the recent Crustacea. Natural history Museum of Los Angeles country. Sci. Ser. 39: 1-124.
- Merritt T.J.C., Shi L., Chase M.C., Rex M.A., Etter R.J. and Quattro J.M. (1998). Universal cytochrome b primers facilitate intraspecific studies in molluscan taxa. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 7: 7-11.
- Mesa-Rodriguez A., Hernández-Cruz C.M., Betancor M.B., Fernández-Palacios H., Izquierdo M.S. and Roo J. (2018). “Effect of increasing docosahexaenoic acid content in weaning diets on survival, growth and skeletal anomalies of longfin yellowtail (*Seriola rivoliana*, Valenciennes 1833),” *Aquaculture Research*, 49(3): 1200-1209.
- Minelli A. (2003). The status of taxonomic literature. *Trends in Ecology & Evolution* 18(2):75-76
- Minxiao W., Song S., Chaolun L. and Xin S. (2011). Distinctive mitochondrial genome of Calanoid copepod *Calanus sinicus* with multiple large non-coding regions and reshuffled gene order: Useful molecular markers for phylogenetic and population studies. *BMC Genomics* 12:73 <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/12/73>.
- Mirabdullaev I.M., Musaev A.K., Mustafaeva Z.A., Joldasova I.M., Abdullaeva L.N., Temirbekov R.O., Marden B. and Van Stappen G. (2010). Dimensions of *Artemia* cysts in the aral sea population, uzbekistan *Uzbek biological journal*, P. 66-69.
- Morgan N.C. (1982). An ecological survey of standing waters in North West Africa. 11. Site description for Tunisia and Algeria. *Biolo. Conserv*, 24: 83-113.
- Mugwanya M., Dawood M.A., Kimera F. and Sewilam H. (2021). Biofloc systems for sustainable production of economically important aquatic species: A review. *Sustainability*, 13: 7255.
- Muñoz J. and Pacios F. (2010). Global biodiversity and geographical distribution of diapausing aquatic invertebrates: the case of cosmopolitan brine shrimp *Artemia* (Branchiopoda, Anostraca). *Crustaceana*, 83: 465-480.
- Muñoz J., Amat F., Green A.J., Figuerola J. and Gómez A. (2013). Bird migratory flyways influence the phylogeography of the invasive brine shrimp *Artemia*

*franciscanain* its Native American range. PeerJ, (1) : 200.  
<https://doi.org/10.7717/peerj.200>.

- Muñoz J., Gomez A, Green A.J., Figuerola J., Amat F. and Rico C. (2008). Phylogeography and local endemism of the native Mediterranean brine shrimp *Artemia salina* (Branchiopoda: Anostraca). *Molecular Ecology*. 17(13):3160-3177.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03818.x>
- Munoz J., Gomez A., Green A.J., Figuerola J., Amat F. and Rico C. (2010). Evolutionary origin and phylogeography of the diploid obligate parthenogen *Artemia parthenogenetica* (Branchiopoda: Anostraca), *PlosONE*,5(8), E11932.
- Muñoz1 J. and Pacios F. (2010). Global biodiversity and geographical distribution of diapausing aquatic invertebrates: the case of the cosmopolitan brine shrimp, *Artemia* (branchiopoda, anostraca) *crustaceana* 83 (4): 465-480. Doi :10.1163/001121610x489449.
- Mura G. and Fanello G. (2005). Nutritional evaluation of decapsulated cyst of five species of fairy shrimps (Branchiopoda, Anostraca) from Italy for use in larval fish rearing. *Crustaceana*. 78(6): 727-737.
- Mura G. (1995). Cestodes parasitism (*Flamingolepislignuloides* Gervais, 1847 Spassky and Spasskaja 1954) in an *Artemia* population from south-western Sardinia. *Int. J. Salt Lake Res.*, 3: 191-200.
- Muths D., Tessier E. and Bourjea J. (2008). Contribution de la génétique des populations à l'étude de la connectivité régionale de certaines espèces de poissons commerciaux présents dans la Réserve Naturelle Marine de La Réunion: étude de faisabilité Synthèse finale Ifremer-Parc Marin Réunion, 23p.
- Myers A.A. and Giller P.S. (1988). *Analytical biogeography: an integrated approach to the study of animal and plant distributions*, Chapman & Hall, London.
- Naganawa H. and Mura G. (2017). Two new cryptic species of *Artemia* (Branchiopoda, Anostraca) from Mongolia and the possibility of invasion and disturbance by the aquaculture industry in East Asia. *Crustaceana*.90 (14):1679-1698.
- Nambu Z., Tanaka S. and Nambu F. (2004). Influence of photoperiod and temperature on reproductive mode in the brine shrimp, *Artemia franciscana*. *J. Exp. Zool.* 301 (A): 542-546.

- Nambu Z., Tanaka S., Nambu F. and Nakano M. (2008). Influence of temperature and darkness on embryonic diapause termination in dormant *Artemia* cysts that have never been desiccated. *J. Exp. Zool.* 309: 17-24.
- Nambu Z., Tanaka S., Nambu F. and Nakano M. (2009). Influence of darkness on embryonic diapause termination in dormant *Artemia* cysts with no experience of desiccation. *J. Exp. Zool.* 311 (A): 182- 188.
- Navarro J.C. and Amat F. (1992). Effect of algal diets on the fatty acid composition of brine shrimp *Artemia* sp. cyst. *Aquaculture* 101: 223-227.
- Navarro J.C., Amat F. and Sargent J.R. (1992). Lipid composition of cysts of brine shrimp *Artemia* sp from Spanish population. *J Exp Mar BiolEcol*155:123-131
- Navarro J.C., Amat F. and Sargent J.R. (1993). The lipids of the cysts of freshwater- and marine-type *Artemia*, *Aquaculture*, vol. 109, p. 327.
- Nevejan N., De Schryver P., Wille M., Dierckens K., Baruah K. and Van Stappen G. (2018). Bacteria as food in aquaculture : do they make a difference? *Rev. Aquac.*, 10: 180-212.
- Nieves-Soto M., Lozano-Huerta R., López-Peraza D.J., Medina-Jasso M.A., Hurtado-Oliva M.A. and BermudesLizárraga J.F. (2021). Effect of the enrichment time with the tuna orbital oil emulsion on the fatty acids profile of juveniles of *Artemia franciscana*. *Aquaculture and Fisheries* 6(1): 69-74.
- Nor Azra M., Mohd Noor M.I., Burlakovs J., Fuad Abdullah M., Abd Latif Z and Sung Y.Y. (2022). Trends and New Developments in *Artemia* Research. *Animals*, 12, 2321. <https://doi.org/10.3390/ani1218232>.
- Nougué O. (2015). Écologie évolutive des limites de niche : cas de l’adaptation à la salinité de l’artémie, PhD thesis, Montpellier University, France.
- O’Donnell J.L. (2017). Spatial distribution of environmental DNA in a near shore marine habitat. *PeerJ*5, e3044.
- Ogburn N.J., Duan L., Subashchandrabose S.R., Sorgeloos P., O’Connor W., Megharaj M. and Naidu R. (2023). Agricultural wastes for brine shrimp *Artemia* production: A review. *Rev. Aquac. raq.12784*. <https://doi.org/10.1111/raq.12784>.
- Ogram A., Sayler S. and Barkay T. (1987). The extraction and purification of microbial D N A from sediments, 7: 57-66.
- Padhye S.M. and Lazo-Wasem E.A. (2018). An updated and detailed taxonomical account of the large Branchiopoda (Crustacea: Branchiopoda: Anostraca, Notostraca,

Spinicaudata) from the Yale North India Expedition deposited in the Yale Peabody Natural History Museum. *Zootaxa* 4394 (2):207-218. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4394.2.3>

- Padial J.M., Miralles A., De la Riva I. and Vences M. (2010). The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology* 7(1):1-14.
- Paulo M.C., Cardoso C., Coutinho J., Castanho S. and Bandarra N.M. (2020). Microalgal solutions in the cultivation of rotifers and *Artemia* : scope for the modulation of the fatty acid profile. *Heliyon* 6 e05415. <https://doi.org/10.1016/j>.
- Perumal S., Thirunavukkarasu A.R. and Pachiappan P. (2015). *Advances in Marine and Brackishwater Aquaculture*. Springer.
- Pfeiler E., Hurtado L.A., Knowles L.L., Torre-Cosao J., Bourillan-Moreno L., Marquez-Farias J.F. and Montemayor-Lopez G. (2005). Population genetics of the swimming crab *Callinectes bellicosus* (Brachyura: Portunidae) from the eastern Pacific Ocean. *Marine Biology* 146: 559-569.
- Piccinelli M. and Prosdocimi T. (1968). Descrizione tassonomica delle due specie *Artemia salina* L. e *Artemia persimilis* n. sp. Istituto Lombardo. Accademia di Scienze Lettere. *Rendiconti Scienze Biologiche Mediche*, B102:113-118
- Piggott G.M. and Tucker B.W. (1990). *Seafood: effects of technology on nutrition*. Marcel Dekker, Inc., New York, 221-228.
- Pilla E.J.S. and Beardmore J.A. (1994). Genetic and morph metric shrimp *Artemia*. *Heredity* 72:47-56.
- Pinceel T., Vanschoenwinkel B., Uten J. and Brendonck L. (2013). Mechanistic and evolutionary aspects of light-induced dormancy termination in a temporary pond crustacean. *Freshwater Science* 32(2): 517-524.
- Pratama R.W., Sulmartiwi L. and Mubarak A.S. (2023). Different omega-3 concentrations in bran suspension toward the first reproduction time of *Artemia* sp. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 1273 (2023) 012037. doi:10.1088/1755-1315/1273/1/012037.
- Prusińska M., Nowosad J., Jarmołowicz S., Mikiewicz M., Duda A., Wiszniewski G., Sikora M., Biegaj M., Samselska A., Arciuch-Rutkowska M., Targońska K., Otrocka-Domagala I. and Kucharczyk D. (2020). Effect of feeding barbel larvae (*Barbus barbus* (L., 1758)) *Artemia* sp. nauplii enriched with PUFAs on their growth and

survival rate, blood composition, alimentary tract histological structure and body chemical composition. *Aquac. Rep.*, 18: 100492.

- Questel J.M., Hopcroft R.R., DeHart H.M., Smoot C.A., Kosobokova K.N. and Bucklin A. (2021). Metabarcoding of zooplankton diversity within the Chukchi Borderland Arctic Ocean: improved resolution from multi-gene markers and region-specific DNA databases. *Mar. Biodivers.* 51. <https://doi.org/10.1007/s12526-020-01136-x>.
- Rahman M.M., Van Hoa N. and Sorgeloos P. (2022). Handbook for *Artemia* pond culture In Bangladesh.
- Rasdi N.W. and Qin J.G. (2016). Improvement of copepod nutritional quality as live food for aquaculture : a review. *Aquac. Res.*, 47: 1-20.
- Reis D.B., Acosta N.G., Almansa E., Navarro J.C., Tocher D.R. and Andrade J.P (2017). Comparative study on fatty acid metabolism of early stages of two crustacean species: *Artemia* sp. metanauplii and *Grapsus adscensionis* zoeae, as live prey for marine animals. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 204: 53-60. doi:10.1016/j.cbpb.2016.11.002
- Ringo E. and Birkbeck T.H. (1999). Intestinal microflora of fish larvae and fry. *Aquacult. Res.* 30: 73- 93.
- Robbins H.M., Van Stappen G., Sorgeloos P., Sung Y.Y., Mac Rae T.H. and Bossier P. (2010). Diapause termination and development of encysted *Artemia* embryos: roles for nitric oxide and hydrogen peroxide. *J. Exp. Biol.* 213: 1464-1470.
- Robert F. and Gabrion C. (1991). Cestodoses de l'avifaune Camarguaise. Rôle d'*Artemia* (Crustacea, Anostraca) et stratégies de rencontre hôte-parasite. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 66 : 226-235.
- Rode N.O., Rima J-Z., Laurent B., Émilie F., Francisco H., Gilbert V.S., France D., Christoph H. and Lenormand Th. (2022). "The Origin of Asexual Brine Shrimps." *The American Naturalist* 200 (2): 52–76. <https://doi.org/10.1086/720268>
- Rogers D.C. (2013). Anostraca catalogus (Crustacea: Branchiopoda) *Raffles Bulletin of Zoology* 61(2):525-546
- Romanova E., Shlenkina T., Romanov V., Lyubomirova V. and Fazilov E. (2023). Evaluation of the content of polyunsaturated fatty acids in *Artemia* at different stages of ontogenesis. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202337602025>.

- Roo J., Hernández-Cruz C.M., Mesa-Rodriguez A., Fernández-Palacios H. and Izquierdo M.S. (2019). Effect of increasing n-3 HUFA content in enriched *Artemia* on growth, survival and skeleton anomalies occurrence of greater amber jack *Seriola dumerili* larvae. *Aquaculture*, 500 :651-659. [doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.09.065](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.09.065).
- Rosen D. (1986). The role of taxonomy in effective biological control programs. *Agriculture Ecosystems & Environment* 15(2-3):121-129
- Ruebhart D.R., Cock I.E. and Shaw G.R. (2008). Brine shrimp bioassay: importance of correct taxonomic identification of *Artemia* (Anostraca) species. *Environmental Toxicology* 23(4):1-6
- Ruiz O., Amat F. and Navarro J.C. (2008). A comparative study of the fatty acid profile of *Artemia franciscana* and *A. persimilis* cultured at mesocosm scale. *J Exp Mar Biol Ecol* 354:9-16. doi:10.1016/j.jembe.2007.09.015
- Ruiz O., Medina G.R. and Cohen G. (2007). Diversity of the fatty acid composition of *Artemia* sp. cysts from Argentinean populations, *Mar. Ecol.: Prog. Ser.*, vol. (335): 155.
- Sainz-Escudero L., López-Estrada E.K., Rodríguez-Flores P.C. and Mario García-París. (2022). Brine shrimps adrift: historical species turnover in Western Mediterranean *Artemia* (Anostraca). *Biol Invasions* 24: 2477-2498. <https://doi.org/10.1007/s10530-022-02779-6>.
- Sainz-Escudero L., López-Estrada E.K., Rodríguez-Flores P.C. and García-París M. (2021). Settling taxonomic and nomenclatural problems in brine shrimps, *Artemia* (Crustacea: Branchiopoda: Anostraca), by integrating mitogenomics, marker discordances and nomenclature rules. *PeerJ*, 9: e10865. <https://doi.org/10.7717/peerj.10865>.
- Sainz-Escudero L.E., López-Estrada K., Rodríguez-Flores P.C. and García-París M. (2022). Brine shrimps adrift: historical species turnover in Western Mediterranean *Artemia* (Anostraca) *springer Biol Invasions* 24 :2477-2498. <https://doi.org/10.1007/s10530-022-02779-6>.
- Saji A., Eimanifar A., Soorae P.S., Al Dhaheri Sh. and Asem A. (2019). Phylogenetic analysis of exotic invasive species of brine shrimp *Artemia* Leach, 1819 (Branchiopoda, Anostraca) in Al Wathba Wetland Reserve (UAE; Abu Dhabi). *Crustaceana*, 92: 495-503 DOI: 10.1163/15685403-00003884

- Salma U., Uddowla M.D. H., Lee G., Yeo Y. and Kim H.W. (2012). Effects of pH Change by CO<sub>2</sub> Induction and Salinity on the Hatching Rate of *Artemia franciscana*. *Fisheries and Aquatic Scientists*, 15(2): 177-181.
- Samraoui B., Chakri K. and Samraoui F. (2006) Large branchiopods (Branchiopoda: Anostraca), Notostraca and Spinicaudata) from the saltlakes of Algeria. *J. Limnol.*, 65: 83-88.
- Sorgeloos P., Maeza-Mesa M., Benijts F. and Persoone G. (1976). Current research on the culturing of the brine shrimp *Artemia salina*. L. at the State University of Ghent, Belgium, 473-495. In: Persoone G. & Jaspers E. (eds), Proc. 10th Europe Symp. Mar. Biol. Vol. 1, Research in Mariculture, Universa Press, Wetteren, Belgium.
- Sanger F., Nicklen S. and Coulson A.R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(12), 5463-5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>.
- Sargent J.R, Bell J.G., Bell M.V., Henderson R.J. and Tocher D.R. (1995). Requirement criteria for essential fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture* 155:117-127.
- Sars G.O. (1904). Pacifische Plankton-Crustaceen, *Zoologische Jahrbücher. Abtheilung für Systematik, Geographie und Biologie der Thiere* 19 :629-646
- Sayce O.A. (1903). The Phyllopoda of Australia, including descriptions of some new genera and species. *Proceedings of the Royal Society of Victoria* 15:224-261
- Sayg Y. (2004). Characterization of parthenogenetic *Artemia* populations from Camalti (Izmir, Turkey) and Kalloni (Lesbos, Greece): survival, growth, maturation, biometrics, fatty acid profiles and hatching characteristics. *Hydrobiologia*, 527: 227- 239.
- Scalone R. and Rabet N. (2013). Presence of *Artemia franciscana* (Branchiopoda, Anostraca) in France: morphological, genetic, and biometric evidence. *Aquatic Invas.* 8: 67-76.
- Schmanke W. (1875). Über das Verhältniss der *Artemia salina* Miln. Edw. zur *Artemia Mühlhauseni* Miln. Edw. und dem Genus *Branchipus* Schaeff. *Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie* 25(1):103-116 [Translation published in 1883: On the relation of *Artemia salina* Milne-Edwards to *Artemia muehlhauseni* Milne-Edwards and to the genus *Branchipus* Schaeffer. Twelfth Annual Report of the United States Geological and Geographical Survey of the Territories: A Report of Progress of the

Exploration in Wyoming and Idaho for the Year 1878, 12(1, Appendix A): 466-473, 592, pl. 39]

- SchmankeWitsch W. (1876). On the relations of *Artemia salina* and *Artemia Mühlhausenii*, and on the genus *Branchipus*. *Annals and Magazine of Natural History* 17(99) : 256-258
- SchmankeWitsch W. (1877a). Ueber *Artemia milhausenii* M. Edw. ausdem Sakkischen Salzsee. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie* 28:402-403
- SchmankeWitsch W. (1877b). Zur Kenntnis des Einflusses der äusseren Lebensbedingungen auf die Organisation der Tiere, Translation published in 1883: contributions to knowledge of the influence of external conditions of life upon the organization of animals. Twelfth Annual Report of the United States Geological and Geographical Survey of the Territories: A Report of Progress of the Exploration in Wyoming and Idaho for the Year 1878-29 (1, Appendix A):429-494.
- Schroeder A., Pallavicini A., Edomi P., Pansera M. and Camatti E. (2021). Suitability of a dual COI marker for marine zooplankton DNA metabarcoding *Marine Environmental Research*, 170. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2021.105444>.
- Schroeder A., Stanković D., Pallavicini A., Gionechetti F., Pansera M. and Camatti E. (2020). DNA metabarcoding and morphological analysis - assessment of zooplankton biodiversity in transitional waters. *Mar. Environ. Res.*, 160. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2020.104946>.
- Sebesta R., Kucharczyk D., Nowosad J., Sikora M. and Stejskal V. (2018). Effect of temperature on growth and survival of maraena white fish *Coregonus maraena* (Bloch 1779) larvae in controlled conditions *Aquacult. Res.*, 49(9), pp.3151-3157.
- Sellami I., Ben Naceur H. and Kacem A. (2020). Study of Cysts Biometry and Hatching Percentage of the Brine Shrimp *Artemia salina* (Linnaeus, 1758) from the Sebkhah of Sidi, El Hani (Tunisia) According to Successive Generations, *International Journal of Aquaculture Studies*, 21(1), 41-46. [http://doi.org/10.4194/2618-6381-v21\\_1\\_05](http://doi.org/10.4194/2618-6381-v21_1_05).
- Sem A., Rastegar-Pouyani N. and Agh N. (2007). Biometrical study of *Artemia urmiana* (Anostraca: Artémiidae) cysts harvested from Lake Urmia (West Azerbaijan, Iran). *Turkish Journal of Zoology*, 31: 171-180.
- Seurat L.G. (1931). Considérations sur la faune de la région des chotts Algéro- tunisiens et sur celle du Sahara central. *Arch. Zool. Ital.*, 16: 1505-1508.

- Sharahi A.R. and Zarei S. (2016). Mutual effect of light and turbidity on hatching of *Artemia franciscana* cysts. *International Journal of Fauna and Biological Studies*, 3(2): 03-06.
- Sheir S.K., Galal-Khallaf A., Mohamed A.H. and Mohammed-Geba K. (2018). Morphological and molecular clues for recording the first appearance of *Artemia franciscana* (Kellogg, 1906) in Egypt. *Heliyon* 4, e01110.
- Shen Ch-Y., Liu Ch., Wu X., Yao L., Meng X., Xia L., Wang P-Zh., Li W., Eimanifar A. and Asem A. (2021). First record of the invasive American *Artemia franciscana* Kellogg, 1906 (Branchiopoda, Anostraca) at the South China Sea coast of China. *Crustaceana*, 94: 647-650 DOI: 10.1163/15685403-bja10113
- Shlenkina T., Romanova E., Romanov V., Lubomirova V., Fozilov E., Vasiliev A. and Sveshnikova E. (2023). Influence of luminance modeses on the metamorphosis of *Artemia* in aquaculture. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202338102020>.
- Silas E.G. (1984). Production and use of *Artemia* in aquaculture. CMFRI, Special Publication, Issue 15: 74p.
- Simopoulos A.P. (2002). Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: the epidemiological evidence. *Environ. Health Prev. Med.* 6: 203-209.
- Sommer S.A., Van Woudenberg L., Lenz P.H., Cepeda G. and Goetze E. (2017). Vertical gradients in species richness and community composition across the twilight zone in the North Pacific Subtropical Gyre. *Mol. Ecol.* 26: 6136-6156. <https://doi.org/10.1111/mec.14286>.
- Sorgeloos P. (1973). First report on the triggering effect of light on the hatching mechanism of *Artemia salina* dry cysts. *J. Mar. Biol.* 22: 75-76.
- Sorgeloos P. (1980). Life history of the brine shrimp *Artemia*. In: Persoone G., Sorgeloos P., Roels O. and Jaspers, E. (Eds.), *The brine shrimp Artemia, Vol.1 Morphology, genetics, Radiobiology, toxicology*. UniversaPress, Wetteren, Belgium, 19-22.
- Sorgeloos P. (1980). The use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture. *Brine. Shrimp Artemia: Ecol, Cult, Use Aquacult*. In: Persoone, G., P. Sorgeloos., O.A. Roels., E. Jaspers (eds). Univ.Press.Wett. Belgium., 3: 1-456.
- Sorgeloos P. and Kulasekarapandian S. (1984). Production and use of *Artemia* in aquaculture. *CMFRI special publication*, 15: 1-73.
- Sorgeloos P. and Roubach R. (2021). *FAO Aquaculture Newsletter*, 63: 55-56.

- Sorgeloos P., Bengtson D.A., Declerck W. and Jaspers E. (1987). "Artemia Research and its Applications," Vols 1, 2 and 3, Universa Press, Wetteren.
- Sorgeloos P., Dhert P. and Candreva P. (2001). Use of brine shrimp, *Artemia* sp., in marine fish larviculture. *Aquaculture* 200: 147-159.
- Sorgeloos P., Lavens P. and Leger P. (1986). Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture. Artemia Reference Center, State of Univ. Ghent, Belgium, 319: 91-95.
- Sorgeloos P., Lavens P., Léger P., Tackaert W.s and Versichele D. (1986). Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in Aquaculture. *Artemia. Ref. Center. Fac. Agri.Sta. Univ. Ghent. Belgium.* 91-95.
- Sorgeloos P., Persoone G., Baeza-Mesa M., Bossuyt E. and Bruggeman E. (1978). The use of *Artemia* cysts in aquaculture: the concept of "hatching efficiency" and description of a new method for cyst processing. In: Proceedings of the 9th annual meeting. World Mariculture Society, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana, p. 715-721.
- Stael M., Sanggontanagit T., Van Ballaer E., Puwapanich N., Tunsutapanich A. and Lavens P. (1995). Decapsulated cysts and Artemiaflakes as alternative food sources for the culture of *Penaeus monodon* postlarvae. 342-345. In: Lavens, E., Jaspers, E., Roelants, I. (eds.), Larvi'95-Book of Abstracts. European Aquaculture Society, Special Publication n° 24.
- Stefanni S., Stankovi'c D., Borme D., de Olazabal A., Jureti'c T., Pallavicini A. and Tirelli V. (2018). Multi-marker metabarcoding approach to study mesozooplankton at basin scale. *Sci. Rep.* 8: 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30157-7>.
- Stoeckle M.Y. and Hebert P.D.N. (2008). Barcode of life: DNA tags help classify life. *Scientific American* 299: 82-88.
- Stottrup J. and McEvoy L. (2008). *Live Feeds in Marine Aquaculture*. John Wiley & Sons.
- Sugumar V. (2010). Reproduction in the brine shrimp *Artemia* Leach, 1819 (Branchiopoda, Anostraca) from South India: Laboratory cross fertility tests and mating behaviour. p10.
- Sukrutha S.K. and Janakiraman S. (2014). *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 25(1), 171-177.

- Sun Y., Song W.Q., Zhong Y.C., Zhang R.S., Abatzopoulos T.J. and Chen R.Y. (1999). Diversity and genetic differentiation in *Artemia* species and populations detected by AFLP markers. *International Journal of Salt Lake Research* 8:341-350.
- Sunnucks P. (2000). Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 199-203.
- Swart E., de Boer T.E., Chen G., Vooijs R., van Gestel C.A.M., van Straalen N.M. and Roelofs D. (2019). "Species-specific transcriptomic responses in *Daphnia magna* exposed to a bio-plastic production intermediate.", *Environ Pollut, Sep*;252(Pt A):399-408
- Taberlet P., Coissac E., Pompanon F., Brochmann C. and Willerslev E. (2012). Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Mol. Ecol.* 21: 2045-2050. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05470.x>.
- Taberlet P., Prud'Homme S.M., Campione E., Roy J., Miquel C., Shehzad W., Gielly L., Rioux D., Choler P., Clément J.C., Melodelima C., Pompanon F. and Coissac E. (2012). Soil sampling and isolation of extracellular DNA from large amount of starting material suitable for metabarcoding studies. *Mol. Ecol.* 21: 1816-20.
- Tamura K., Stecher G. and Kumar S. (2021). MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular biology and evolution*, 38(7): 3022-3027.
- Tan J. and Macrae T. H. (2018). Stress tolerance in diapausing embryos of *Artemia franciscana* dependent on heat shock factor 1 (Hsf1). *PLoS ONE*, 13(7), e0200153. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200153>.
- Tanaka N., Ishida T., Nagao M., Mori T., Monguchi T., Sasaki M., Mori K., Kondo K., Nakajima H., Honjo T., Irino Y., Toh R., Shinohara M. and Hirata K. (2014). Administration of high dose eicosapentaenoic acid enhances anti-inflammatory properties of high-density lipoprotein in Japanese patients with dyslipidemia. *Atherosclerosis* 237 (2): 577-583.
- Tatyana Sh., Elena R., Vasily R., Vasilina L., Elyor F., Alexander V. and Elena S. (2023). Influence of luminance modeses on the metamorphosis of *Artemia* in aquaculture. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202338102020>.
- Tang B., Zhou K., Song D., Yang G. and Dai A. (2003). Molecular systematics of the Asian mitten crabs, genus *Eriocheir* (Crustacea: Brachyura). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 29: 309-316.

- Tang C.Q., Leasi F., Obertegger U., Kieneke A., Barraclough T.G. and Fontaneto D. (2012). The widely used small subunit 18S rDNA molecule greatly underestimates true diversity in biodiversity surveys of the meiofauna. *Proceedings of the National Academy of Sciences United States of America*, 109: 16208-16212.
- Tanguay J.A., Reyes R.C. and Clegg J.S. (2004). Habitat diversity and adaptation to environmental stress in encysted embryos of the crustacean *Artemia*. *J. Biosci.* 29: 489-501.
- Thiéry A., Robert F. and Gabrion C. (1990). Distribution des populations d'*Artemia* et de leur parasite *Flamingolepisliguloides* (Cestoda, Cyclophyllidea), dans les salins du littoral méditerranéen français. *Can. J. Zool.*, 68: 2199-2204
- Thomsen P.F. and Willerslev E. (2015). Environmental DNA – An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biol. Conserv.* 183: 4-18
- Tobias W.J., Sorgeloos P., Roels O. and Shrfstein B.A. (1980). International study on *Artemia* XIII. A comparaison of production data of 17 geographical strains of *Artemia* in the St. Croix Artificial Up-welling Mariculture System. *Brine Shrimp Artemia: Ecol, Cult, Use Aquacult.* In: Persoone, G., Sorgeloos P., Roels O.A., E. Jaspers (eds). Univ. Press. Wett. Belgium, 3: 383-392.
- Torrentera L. and Dodson S.I. (2004). Ecology of the brine shrimp *Artemia* in the Yucatan, Mexico, salterns. *Journal of Plankton Research* 26: 617-624.
- Trang B.Q. (2006). Analyse de l'évolution phylétique de crustacés décapodes et de l'évolution moléculaire des éléments mobiles de la famille mariner présents chez ces organismes. Thèse de doctorat de l'université du Maine, France. 198.
- Triantaphyllidis G.V., Criel G.R.J., Abatzopoulos T.J., Thomas K.M., Peleman J., Beardmore J.A. and Sorgeloos P. (1997). International Study on *Artemia*. LVII. Morphological and molecular characters suggest conspecificity of all bisexual European and North African *Artemia* populations. *Marine Biology*, 129(3): 477-487. <https://doi.org/10.1007/s002270050188>.
- Trigui K. (2017). Recherches sur l'éco-biologie de l'*Artemia (Artemia salina)* de la saline de Sahline et effet des principaux facteurs externes sur sa survie en vue de maîtriser son élevage, PhD thesis, Carthage University, Faculté des Sciences de Bizerte, Tunisie.
- Turcihan G., Turgay E., Yardimci R.E. and Eryalcin K.M. (2021). The effect of feeding with different microalgae on survival, growth, and fatty acid composition of

*Artemia franciscana* matanauplii and on predominant bacterial species of the rearing water. *Aquaculture International*, 29(5): 2223-2241. <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00745-y>.

- Turner C.R., Uy K.L. and Everhart R.C. (2015). Fish environmental DNA is more concentrated in aquatic sediments than surface water. *Biol. Conserv.* 183: 93-102.
- Utemuratova F.J, Kim S.I, Kamilov B.G, Yuldashov M.A. and Mustafaeva Z.A. (2022). Biometrical study of *Artemia* cysts harvested from the Aral Sea in Uzbekistan. *Earth and Environmental Science* 1068. doi:10.1088/1755-1315/1068/1/012030.
- Vahdat S. and Oroujlou M. (2021). Use of agriculture by-products (brans and meal) as food for *Artemia franciscana* and effects on performance and biochemical compositions. *Journal of Survey in Fisheries Sciences* 7(3): 23-40.
- Van Ballaer E., Versichele D. and Vanhaecke P. (1987). Characterization of *Artemia* from different localities in Tunisia with regard to their use in local aquaculture, in *Artemia Research and Its Applications, Morphology, Genetics, Strain Characterisation, Toxicology*, Wetteren: Universa Press, 1:199.
- Van Damme K., Shiel R.J. and Dumont H.J. (2007). *Notothrix halsei* gen. n., sp. n., representative of a new family of freshwater cladocerans (Branchiopoda, Anomopoda) from SW Australia, with a discussion of ancestral traits and a preliminary molecular phylogeny of the order. *Zoologica Scripta*. 36: 465 - 487. Doi:10.1111/j.1463-6409.2007.00292.x.
- Van Der Linden A., Blust R. and De Cleir W. (1985). The influence of light on the hatching of *Artemia* cysts (Anostraca: Branchiopoda: Crustacea). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 92: 207-214.
- Van Der Linden A., Blust, R., Van Laere A.J. and De Cleir W. (1988). Light-induced release of *Artemia* dried embryos from diapause: analysis of metabolic status. *J. Exp. Zool.* 247: 131-138.
- Van Der Linden A., Gadeyne J., Van Onckelen H., Van Laere A.J. and De Cleir W. (1991). Involvement of cyclic nucleotides in light-induced resumption of development of *Artemia* embryos. *J. Exp. Zool.* 258: 312-321.

- Van Der Linden A., Vankerckhoven I., Caubergs R. and De Cleir W. (1986). Action spectroscopy of light-induced hatching of *Artemia* cysts (Branchiopoda: Crustacea). *Mar. Biol. (Berlin)* 91: 239- 243.
- Van Stappen G. (1996). *Artemia* : Use of cysts: 107-136. In: Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. Lavens, P. and Sorgeloos, P. (Eds). FAO Fisheries Technical Paper N. 361, Food and Agriculture Organization. Rome, Italy.
- Van Stappen G. (1996). Introduction, biology and ecology of *Artemia*. Manual on the production and use of live food for aquaculture (Lavens P, Sorgeloos P, eds), 1-295. FAO Fisheries Technical Paper, 361.
- Van Stappen G. (2002). Zoogeography. In: Abatzopoulos T.J, Beardmore J, Clegg JS, Sorgeloos P (eds) *Artemia: basic and applied biology*. Springer Science, Dordrecht, 171-224. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-0791-6\\_4](https://doi.org/10.1007/978-94-017-0791-6_4).
- Van Stappen G., Sui L., Hoa V.N., Tamtin M., Nyonje B., de Medeiros Rocha R., Sorgeloos P. and Gajardo G. (2020). Review on integrated production of the brine shrimp *Artemia* in solar salt ponds. *Rev. Aquac.*, 12: 1054-1071.
- Vandekerckhove B., Parmentier L., Van Stappen G., Grenier S., Febvay G., Rey M. and De Clercq P. (2009). *Artemia* cysts as an alternative food for the predatory bug *Macrolophus pygmaeus*. *J. Appl. Entomol.* 133: 133-142.
- Vandekerckhove J., Declerck S., Brendonck L., Conde-Porcuna J.M., Jeppesen E. and De Meester L. (2005). Hatching of Cladoceran resting eggs: temperature and photoperiod. *Freshwater Biol.* 50: 96-104.
- Vanhaecke P. and Sorgeloos P. (1980). International Study on *Artemia*. IV. The biometrics of *Artemia* strains from different geographical origin: 393-405. In: The brine shrimp *Artemia*. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture, Persoone, G., Sorgeloos, P., Roels, O. and Jaspers, E. (Eds). UniversaPress, Wetteren, Belgium.
- Vanhaecke P. and Sorgeloos P. (1983). International study on *Artemia*. XIX. Hatching data for ten commercial sources of shrimp cyst and reevaluation of the "Hatching efficiency" concept. *Aquaculture*, Vol. 30 Issue 1/4, p.43-52.
- Vanhaecke P. and Sorgeloos P. (1989). International Study on *Artemia*. XLVII. The effect of temperature on cyst hatching, larval survival and biomass production for different geographical strains of brine shrimp *Artemia spp.* *Annales de la Société royale zoologique de Belgique* 119 (1):7-23.

- Vanhaecke P., Cooreman A. and Sorgeloos P. (1981). International study on *Artemia*. XV. Effect of light intensity on hatching rate of *Artemia* cysts from different geographical origin. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 5: 111-114.
- Vanhaecke P., Siddal S.E. and Sorgeloos P. (1984). ISA. XXXII. Combined Effects of temperature and salinity on the survival of *Artemia* of various Geographical origin. *J. Exp.Mar. Biol. Ecol.*, 80(3): 259-275.
- Vanhaecke P., Tackaert W. and Sorgeloos P. (1987). The biogeography of *Artemia*: 129-155. An updated review. In: *Artemia* research and its applications. Vol. 1. Sorgeloos, P., Bengtson, D.A., Declair, W. and Jaspers, E. (Eds). UniversaPress, Wetteren, Belgium.
- Vasileva G.P., Redon S., Amat F., Nicolov P.N., Sanchez M.I., Lenormand T. and Georgiev B.B. (2009). Records of cysticercoids of *Fimbriarioidestadornae* Maksimova, 1976 and *Branchiopodataeniagvozdevi* (Maksimova, 1988) (Cyclophyllidea, Hymenolepididae) from brine shrimps on the Mediterranean coasts of Spain and France, with a key to cestodes from *Artemia* spp. From the Western Mediterranean. *Acta Parasitol*, 54: 143-150.
- Verreth J., Segner H. and Storch V. (1987). A comparative study on the nutritional quality of decapsulated *Artemia* cysts, microencapsulated egg diets and enriched dry feeds for *Clarias gariepinus* (Burchell) larvae. *Aquaculture* 63: 269-282.
- Verrill A.E. (1869). Descriptions of some new American Phyllopod Crustacea. *American Journal of Science and Arts* 48(143):244-254 [Contributions to Zoology from the Museum of Yale College, 3]. Published again as: Verrill, A.E. 1869. Descriptions of some new American Phyllopod Crustacea. *The Annals and Magazine of Natural History*, 4: 331-341.
- Versichele D. and Sorgeloos P. (1980). Controlled production of *Artemia* cysts in batch cultures: 231- 246. A review. In: *The brine shrimp Artemia*. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Persoone, G., Sorgeloos, P., Roels, O. and Jaspers, E. (Eds). UniversaPress, Wetteren, Belgium.
- Vetrivelvan M. and Munuswamy N. (2011). Morphological and molecular characterization of various *Artemia* strains from tropical salt pans in South East Coast of India. *J. Amer. Sci.* 7: 689-695.

- Vieira N. and Bio A. (2011). Spatial and temporal variability of water quality and zooplankton in an artisanal salina. *Journal of Sea Research* 65: 293-303.
- Villeneuve L.A.N., Gisbert E., Moriceau J., Cahu C.L. and Infante J.L.Z. (2006). “Intake of high levels of vitamin A and polyunsaturated fatty acids during different developmental periods modifies the expression of morphogenesis genes in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) ” *British Journal of Nutrition*, vol. 95, no. 4, pp. 677-687.
- Walter A. (1887). Vorläufige Diagnose und Beschreibung zweier neuer Branchiopoden aus Transkaspien. *Bulletin de la Société Impériale des Naturalistes de Moscou, Nouvelle série* 1:926.
- Wang W., Luo Q., Guo H., Bossier P., Van Stappen G., Sorgeloos P., Xin N., Sun Q., Hu S. and Yu J. (2008). Phylogenetic analysis of brine shrimp (*Artemia*) in China using DNA barcoding. *Genomics, proteomics & bioinformatics*, 6(3-4): 155-162. [https://doi.org/10.1016/S1672-0229\(09\)60003-6](https://doi.org/10.1016/S1672-0229(09)60003-6)
- Wang Zh., Wu J. and Asem A. (2018). Combined Effect of Salinity and Ferric Citrate on the Biometric Characterization of *Artemia* Cysts under Laboratory Condition. *Turk. J. Fish. & Aquat. Sci.* 19(5), 447-450. [http://doi.org/10.4194/1303-2712-v19\\_5\\_09](http://doi.org/10.4194/1303-2712-v19_5_09).
- Watanabe T. (1987). Requerimientos de ácidos grasos y nutrición lipídica en los peces, in *Nutrición en Acuicultura, Plan de Formación de Técnicos Superiores en Acuicultura*, Madrid: Feuga, p. 99.
- Watanabe T., Foowa C. Kitajima and Fujita S. (1978). Nutritional quality of Brine Shrimp, *Artemia salina*, as a living feed from the viewpoint of essential fatty acids for fish. *Bull. Jap. Soc.* 44: 1115-1121
- Watson J.D. and Crick F.H.C. (1953). Molecular structure of nucleic acids. *Nature* 171: 737-738.
- Wheeler Q.D. and Valdecasas A.G. (2005). Ten challenges to transform taxonomy. *Graellsia* 61(2):151-160.
- Wiley E.O. (1981). *Phylogenetics: the theory and practice of phylogenetic systematics*. New York: John Wiley and Sons.
- Williams S.T., Donald K.M., Spencer H.G. and Nakano T. (2010). Molecular systematics of the marine gastropod families Trochidae and Calliostomatidae (Mollusca: Superfamily Trochoidea). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 54: 783-809.

- Wilson A.C., Cann R.L., Carr S.M., George M., Gyllensten U.B., Helm-Bychowski K.M., Higuchi R.G., Palumbi S.R., Prager E.M., Sage R.D. and Stoneling M. (1985). Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of the Linnean Society* 26: 375-400.
- Wu X-F., Shen Ch-Y., Fu Ch-Zh., Yang N., Wang P-Zh, Eimanifar A. and Asem A. (2022). Cyst size variability in invasive American *Artemia franciscana* Kellogg, 1906 (Branchiopoda : Anostraca) in Asia: a commercial approach. doi.org/10.1101/2022.05.07.49100
- Wurtsbaugh W.A., Miller C., Null S.E., Justin De Rose R., Wilcock P., Hahnenberger M., Howe F. and Moore J. (2017). Decline of the world's saline lakes. *Nature Geoscience*, 10(11): 816-821. <https://doi.org/10.1038/NGEO3052>.
- Yamamoto S. (2017). Environmental DNA metabarcoding reveals local fish communities in a species-rich coastal sea. *Sci. Rep.* 7, 40368.
- Yarza P., Yilmaz P. Pruesse E., Glöckner F.O., Ludwig W., Schleifer K.H., Whitman W.B, Euzéby J., Amann R. and Rosselló-Móra R. (2014). Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences. *Nature Reviews Microbiology*, 12(9): 635-645. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3330>.
- Zaiko A., Samuiloviene A., Ardura A. and Garcia-Vazquez E. (2015). Metabarcoding approach for nonindigenous species surveillance in marine coastal waters. *Mar.Pollut. Bull.* 100: 53-59. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.09.030>.
- Zemmouri A. (1991) A note on the genus *Artemia* in Algeria. *Hydrobiologia*, 212: 231-2.
- ZhangL. and KingC.E. (1993).Life history divergence of sympatric diploid and polyploid populations of brine shrimp *Artemia parthenogenetica*.*Oecologia* 93(2):177-183
- ZhangL. and LefcortH. (1991).The effects of ploidy level on the thermal distributions of brine shrimp *Artemia parthenogenetica* and its ecological implications.*Heredity* 66(3):445- 452
- Zheng B. and Sun S-C. (2013). Review of the biogeography of *Artemia* Leach, 1819 (Crustacea: Anostraca) in China. *International Journal of Artemia Biology* 3(1): 20-50.
- Zhou X., Gao H., Zhang X., Rahman K.M., Mazzoleni S., Du M. and Wu F. (2023). Plant extracellular self-DNA inhibits growth and induces immunity via the jasmonate signaling pathway. *Plant Physiol*: kiad195.