



DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MER ET DE L'AQUACULTURE

N°/SNV/2017

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

AZZOUZ Imen El Batoul & BOUKHARI Mohammed EL Mokhtar

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER

En Hydrobiologie Marine et Continentale

**Spécialité : EXPLOITATION ET PROTECTION DES RESSOURCES
VIVANTES MARINES**

THÈME

**CONTRIBUTION A L'ETUDE TOXICOLOGIQUE
D'EXTRAITS D'ALGUES BRUNE *CYTOSEIRA STRICTA*
SUR L'*ARTEMIA SALINA* PAR TEST BRINE SHRIMP**

Soutenu publiquement le 02/07/2017

DEVANT LE JURY

Président	Bachir Bouiadjra Benabdelah	MCA	U. Mostaganem
Examineur	Belhakem Fadéla	MCA	U. Mostaganem
Encadreur	Borsali Sofia	MCB	U. Mostaganem
Co-encadreur	Billami Malika	MAA	U. Mostaganem
Invité	BoukhatemToufik	Dr	U. Mostaganem

ANNEE 2016 / 2017

REMERCIEMENTS

Au Bon Dieu, le tout puissant, pour nous avoir assuré la vie jusqu'à ce jour et permis de poursuivre nos études et réaliser ce modeste travail.

Qu'Allah, le clément et le miséricordieux, puisse continuer à nous aider jusqu'à la fin de nos jours, tout en nous assurant une bonne santé physique et morale, car : **« nul n'est infailible et saint d'esprit sauf le tout puissant et nul n'échappera à sa destinée ».**

Nous tenons à remercier tout particulièrement :

- Madame BORSALI Sofia, Docteur à l'Université de Mostaganem et directeur de ce mémoire, pour son encadrement scientifique, son soutien, sa disponibilité et notamment la confiance qu'elle nous a accordée au cours de la réalisation de cette étude.
- Monsieur BACHIR Bouiadjra Benabdelah Docteur à l'Université de Mostaganem, pour nous avoir fait honneur en acceptant de présider le jury.
- Madame BELHAKEM Fadéla, Maitre de conférence (sa) à l'Université de Mostaganem, pour nous voir fait honneur et plaisir en acceptant d'examiner ce travail.
- Madame BILLAMI Malika pour son assistance.

Nous exprimons également nos remerciements aux membres du département des sciences de la mer et de l'aquaculture, ainsi qu'à tous les enseignants qui ont contribué à nous donner une formation solide tout au long de nos années d'études.

Et enfin, nous disons « M E R C I » à tous ceux qui nous ont apporté de près ou de loin leur aide.

==-----==

Dédicace

Je dédie ce modeste travail, fruit de longues années d'étude à *Mes chers parents* qui ont consacré toute leur vie pour la réussite de leur fils.

A mon frère: *izzou*

A mes sœurs : *Khaoula, Houyem, Meriem*

A tous mes amis et particulièrement: *Mustapha, Amine, Djalil, Sara, Amina, Fatiha*

Sans oublier : *Hamidou et Nadir*

Et surtout Mon binôme et ma co-équipière *Imèn*

Aussi mes dédicaces à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce travail.

DEDICACES

En témoignage de ma profonde et humble gratitude, je dédie ce modeste travail
aux personnes ci – après citées ; à savoir :

Mes très *chers parents* qui ont veillé attentivement à mon éducation.

Mon frère *CHAFIK* que j'aime tant.

Les familles *AZZOUZ* et *OUKALI*.

Mes amis (ies) : *Amina, Sarah, Fatiha et Djalil*.

Les étudiantes et étudiants de ma promotion. (2016 / 2017).

Mon binôme.

Mon directeur de mémoire.

Tous les enseignants et les travailleurs du département.

Tous les travailleurs du laboratoire.

Tous ceux qui m'ont encouragé et aidé à élaborer ce mémoire que j'espère
apportera ses fruits.

..... Et à toutes les personnes qui m'aiment

Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Introduction générale 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Partie I : Les Algues Marines

1. Définition	3
1.1. Utilisation des algues	4
1.2. Les grands groupes d'algues marines	4
1. 2. 1. Les chlorophytes	4
1.2. 2. Les chromophytes	6
1. 2. 3. Les Rhodophytes	6
1. 2. 4. Les cyanobactéries	6
1.3. Facteurs de répartition des algues	6
2. Biologie des algues brunes du genre <i>Cystoseira</i>	6
2.1. Présentation de la famille des Cystoseiracées	7
2.1.1. Position systématique de la famille des Cystoseiraceae	7
a- Le genre <i>cystoseira</i>	8
b- Le genre <i>Bifurcaria</i>	9
c- Biotope des algues du genre <i>Cystoseira stricta</i>	10
3. Etudes chimiques et potentialités pharmacologiques des organismes marins : Cas des algues brunes de la famille des Cystoseiracées	10
3.1. Intérêt pharmacologique des espèces marines	11
3.2. Résultats encourageant des substances marines	11
3.2. 1. Les produits actuellement sur le marché	11
3.2. 2. Les autres produits	13

Partie II : Généralités sur l'Artémia salina

1. Biologie et écologie de l'Artémia salina	13
1.2. Systématique	13
1.3. Morphologie et cycle de vie	14
1.4. Morphologie du Cyste	15

1.5. Reprise du métabolisme du cyste et son éclosion	17
1.6. Développement larvaire et morphologie de la larve	18
2. Reproduction	20
3. Alimentation et respiration	22
4. Ecologie de l'Artémia	22
5. Distribution géographique	24
5.1. L'Artémia en Afrique	24
6. Caractéristiques biochimiques	25
6.1. Taille et contenu énergétique	25
6.2. La Valeur nutritionnelle	26
6.3. L'Artémia en Algérie	27
7. Intérêt économique	28
8. Artémia en éco-toxicologie	29

Chapitre II : Matériels et méthodes

1. Présentation du site échantillonnage	31
1.1. Présentation de plage	31
1.2. Echantillonnage des algues	31
2. Extraction de l'extrait d'algue	32
3. Eclosions des larves	33
4. Le test de dose de létalité d' <i>Artémia salina</i> DL ₅₀	35

Chapitre III : Résultat et discussion

I- Résultats	36
1- Résultats et discussion de l'extraction dans différents types de solvants selon la polarité et le nombre de cycle	36
Conclusion	41
Bibliographie	42

Résumé

La toxicité des forets *Cystoseira stricta* a été estimée à la saumure des crevettes (*Artémia salina*), des essais de létalité DL_{50} sont largement utilisés dans la recherche et la toxicologie appliquée ; Cette étude examine l'évaluation éco-toxicologique de la contamination des algues brunes dans le littoral méditerranéen occidental algérien au niveau de la plage de Sidi Ladjal, a la commune de Khadra, Wilaya Mostaganem.

Les tests de cytotoxicités sont souvent fastidieux et coûteux et il y a un manque d'une procédure de dépistage simple et rapide. Pour cela, notre étude s'est penchée sur des tests d'extraction d'extraits algaux sur le comportement d'*Artémia salina*.

Les réponses aux tests de cyto-toxicité sur les extraits algaux par les solvants en utilisant une méthode standardisée de Brine Shrimp qui est basé sur différentes concentrations. Les valeurs de DL_{50} des différents extraits sont obtenues par différentes expressions linéaires. Dans ce cas, les techniques d'asepsie ne sont pas nécessaires, et donc l'*Artémia salina* pourrait remplacer le dosage éthique et difficile de MTT qui exige du sérum animal, en raison de la rapidité, la commodité et le faible coût des essais à base d'*Artémia*, nous avons décidé d'évaluer la qualité écologique du milieu marin.

Mots clés : *Artémia salina*, *Cystoseira stricta*, toxicité, plage Sidi Ladjal

Summary

The toxicity of *Cystoseira stricta* drills has been estimated to Brine Shrimp (*Artemia salina*), DL_{50} lethality tests are widely used in applied research and toxicology. This study examines the eco-toxicological evaluation of the contamination of brown algae in the western Algerian Mediterranean coastline at the Sidi Ladjal beach in the Khadra commune, Wilaya Mostaganem. Cytotoxicity tests are often tedious and costly and there is a lack of a simple and rapid screening procedure for this our study looked at tests of extraction of algal extracts on the behavior of *Artemia salina*.

Responses to cytotoxicity tests on crude algal extracts by solvents using a standardized method of Brine Shrimp, based on different concentrations. The DL_{50} values of the different extracts are obtained by different linear expressions. In this case, aseptic techniques are not necessary, and there for *Artemia salina* could replace the ethical and difficult MTT assay that requires animal serum, due to the speed, convenience and low cost of *Artemia*, we decided to assess the ecological quality of the marine environment.

Keywords: *Artemia salina*, *Cystoseira stricta*, toxicity, beach Sidi Ladjal

ملخص

قد تم تقدير سمية غابات سيستوسيرا ستريكتا مع محلول ملحي الروبيان (أرتيميا سالينا)، الفتكية على نطاق واسع في البحوث التطبيقية وعلم السموم. DL_{50} وتستخدم اختبارات تبحث هذه الدراسة التقييم السمية البيئية لتلوث الطحالب البنية في ساحل البحر الأبيض المتوسط الجزائري الغربي على شاطئ سيدي العجال في بلدية خضرة، ولاية مستغانم. اختبارات السمية الخلوية غالبا ما تكون مملة ومكلفة، وهناك عدم وجود إجراء فحص بسيط وسريع، لهذه الدراسة نظرنا في اختبارات استخراج مقتطفات الطحالب على سلوك أرتيميا سالينا.

ردود على اختبارات السمية الخلوية على مستخلصات الطحالب الخام بواسطة المذيبات باستخدام طريقة موحدة من الروبيان بري، على أساس تركيزات مختلفة. يتم الحصول من مقتطفات مختلفة من خلال تعبيرات خطية مختلفة. في هذه الحالة، DL_{50} على قيم تقنيات العقيم ليست ضرورية، وبالتالي أرتيميا سالينا يمكن أن تحل محل فحص مت الأخلاقية والصعبة التي تتطلب مصل الحيوان، وذلك بسبب السرعة والراحة وانخفاض تكلفة الأرتيميا، قررنا تقييم الجودة البيئية للبيئة البحرية.

الكلمات الرئيسية: أرتيميا سالينا، سيستوسيرا ستريكتا، سمية، الشاطئ سيدي العجال

Liste des Abréviations

% : pourcent

% M : pourcentage de mortalité

[C] : concentration

°C : Degré Celsius

Liste des Figures

Figure 1 : Taxonomie et position systématique de famille des Cystoseiraceae	05
Figure 2 : <i>Cystoseira amentacea</i> (C. Agardh)	08
Figure 3 : <i>Pneumatocyst (macrocystis pyrifera)</i>	09
Figure 4 : Phéophycées (algues brunes)	09
Figure 5 : <i>Artémia</i> adulte (Mioara Dumitrascu, 2011)	13
Figure 6 : Eclosion des cystes d' <i>Artémia</i>	15
Figure 7 : Photographie électronique à balayage d'un cyste déshydraté d' <i>Artémia</i>	16
Figure 8 : Schéma de l'ultra-structure d'un cyste d' <i>Artémia</i> (FAO; 1996).	16
Figure 9 : A : Cyste ouvert, B : Embryon dans l'étape de « parapluie »	17
Figure 10 : Etapes d'éclosion du cyste d' <i>Artémia</i> (Selon Martina Hayo et Gerhard Schwarz)	17
Figure 11 : Larve d'Instar V	19
Figure 12 : Tête et région thoracique antérieure de XII instar	19
Figure 13 : A : Mâle d'adulte. B : Femelle adulte.	20
Figure 14 : Cycle de vie d' <i>Artémia</i>	21
Figure 15 : Carte de prélèvement des algues (commune de khadra)	31
Figure 16 : Plage de Sidi Ladjel (milieu d'extraction des algues)	31
Figure 17 : Broyage et séchage des algues	32
Figure 18 : Extracteur de soxhlet	33
Figure 19 : Elevage de l' <i>Artémia salina</i>	34
Figure 20 : Teste de létalité DL_{50}	35
Figure 21 : Taux de rendement des différents extraits	36
Figure 22 : Graphe de la mortalité aux différentes valeurs de concentration d'extraits par différents solvants.	38
Figure 23 : Valeurs de la dose de létalité « DL_{50} » des différents extraits	39

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Pays hôte d'Artémia dans le monde	24
Tableau 2 : Taille, poids et le contenu énergétique individuelle sec des nauplii d'Artémia stade I des différentes sources de cystes éclos dans des conditions standard (35g.l ⁻¹ ,25 °C)	25
Tableau 3 : Liste des chotts et sebkhas en Algérie (Kara ,1990)	28
Tableau 4 : Les différentes caractéristiques de la méthode du soxhlet (rendement, température, nombres de cycles)	36
Tableau 5 : Résultat de l'activité de toxicité	37
Tableau 6 : Valeurs DL ₅₀ des extraits de <i>Cystoseira stricta sp</i>	39
Tableau 7 : DL ₅₀ des Produits de référence	40

Introduction

La toxicologie comprend l'étude des désordres induits dans la physiologie des êtres vivants par leur exposition à des concentrations excessives de composés minéraux ou organiques (Boucheseiche et *al.*, 2002); De ce fait un toxique est une substance susceptible de provoquer des perturbations, des altérations des fonctions d'un organisme vivant, entraînant des effets nocifs dont le plus grave est évidemment la mort.

Les enjeux environnementaux et sanitaires liés aux pollutions toxiques dans les milieux aquatiques sont au cœur de nombreux débats de société et la prise de conscience de la nécessité de réduire la pollution toxique est de plus en plus importante.

Les polluants toxiques ont des impacts non seulement sur l'environnement, mais aussi sur la santé humaine, avec des conséquences économiques non négligeables ; la pollution peut avoir alors des effets irréversibles sur les écosystèmes comme la disparition d'espèces, la contamination de la chaîne trophique (IFREMER, 2003 ; ONU, 2010) ; de plus, les coûts économiques de la dépollution sont importants (construction de stations d'épuration pour les industries, mise au point de nouveaux procédés, décontamination de sites et sols pollués. Etc). Depuis le début du XXème siècle, l'environnement (atmosphérique, terrestre et aquatique) a été soumis à la pression croissante des activités industrielles et humaines. Les contaminants rejetés dans l'environnement finissent par se retrouver plus ou moins rapidement dans les milieux aquatiques, en particulier estuariens et côtiers où ils peuvent avoir des effets à court et à long terme (Burton, 1992). Le milieu marin et plus particulièrement les zones côtières sont soumis à toutes sortes de pollutions d'origine terrigène et marine et les pollutions anthropiques dues aux apports de substances chimiques par le vecteur des voies fluviales, des vents, de l'air en basse altitude ou des rejets directs, sont les principales sources de dysfonctionnement des écosystèmes marins.

La méthode de dosage biologique utilisant l'*Artémia salina* qui est un micro-crustacé a été couramment utilisée dans les tests éco-toxicologiques, et plus récemment, il a été prouvé qu'elle est sensible, précise et fiable pour détecter des composés toxiques et bioactives dans des extraits de plantes (Parra et *al.*, 2001; Lachumy et *al.*, 2010; Verser; Sasidharan, 2011).

Les différentes méthodes d'essais biologiques ont l'avantage de pouvoir détecter la toxicité globale, à savoir tout composé toxique auquel le bio-indicateur serait sensible à toutes les toxines et non seulement à une cible spécifique. Ils permettent également l'identification de la toxine et quantification en utilisant les courbes dose - réponse à l'état pur de la toxine elle-même.

Les normes sont disponibles (Garcia-Rodriguez et al. 2004, 2009) et les Bio-essais sont une option alternative rapide et économique, tout à fait appropriée dans de petits laboratoires avec des ressources limitées.

Sur la base de ce qui a précédé, le but de la présente étude a été la détection des potentialités toxiques ou dangereuses de notre échantillon d'algue *Cystoseira stricta* par le test Brine-Shrimp.

Le principe de cette technique de ce test est un dosage de létalité du système pratique et de surveiller les activités biologiques des différentes espèces végétales et algales. Bien que cette méthode ne fournit aucune information adéquate en ce qui concerne le mécanisme d'action toxique, elle est toute au moins une méthode à avantage très utile pour l'évaluation du potentiel toxique de différents extraits de plantes (Gadir, 2012; Naidu et al., 2014).

Cette méthode fournit des données de criblage préliminaire qui peut être soutenu par des essais biologiques plus spécifiques une fois l'actif des composés été isolé (Pisutthanan et al., 2004).

Ce test présente plusieurs avantages qui peuvent être résumés comme suit:

- Rapidité (la surveillance pourrait être étendue à un maximum de 60 heures, mais dans la plupart des cas, plus pertinents. Les données pour les calculs de DL₅₀ sont obtenues après 24 heures d'exposition),
- Simplicité (pas de formation particulière nécessaire concernant l'équipement et le test),
- Exigences faibles (pas de techniques aseptiques, relativement de petites quantités d'essai)

L'échantillon nécessaire doit être en grand nombre d'organismes d'essai ayant exactement le même âge et la même physiologie.

Notre travail de mémoire est basé sur trois chapitres essentiels :

- Une partie bibliographique qui sera divisé en deux axes :
 - Généralités sur les algues marines
 - Généralité sur notre espèce d'*Artémia salina*
- Une seconde partie qui présentera le site d'échantillonnage, le différent matériel et les méthodes utilisés.
- La dernière partie sera réservée au traitement des résultats et à leurs discussions.
- et on finira par une conclusion générale.

Partie I : Généralités sur les Algues Marines :**1. Définition :**

Les algues regroupent un ensemble de végétaux photosynthétiques très divers et dont l'appareil végétatif relativement simple est appelé " thalle", elles ont des formes et des dimensions très variables. Certaines sont microscopiques et d'autres mesurent plusieurs mètres de longueur, mais elles ont toutes des caractères spécifiques, certaines peuvent vivre sur la neige ou la glace des régions polaires et des hautes montagnes. D'autres au contraire supportent la vie dans les eaux des sources thermales à des températures élevées (algues thermophiles). Elles comprennent 20000 à 30000 espèces dans le monde, soit 18% du règne végétal (J. L. Morère, R. Pujol, 2002).

1.1. Utilisation des algues :

Les algues ont été utilisées depuis longtemps : au début dans l'alimentation des populations des rivages asiatiques, ou comme engrais en Europe ou encore pour le bétail, depuis le XVIIIème siècle, l'iode a été extrait industriellement des algues au Japon et au XXème siècle la production industrielle de phycocolloïdes était en plein essor à l'égard de la diversification de leur utilisation, ainsi le besoin de récoltes qui est devenu de plus en plus important a développé la culture d'espèces plus productives.

A cause des propriétés de plusieurs de leurs éléments, les algues ont été et sont encore utilisées à de nombreuses fins :

- Agro-alimentaire : gélose et alginates utilisées comme agents émulsifiants, épaississants, stabilisants, gélifiants (additifs d'E400 à E408), excipients. (K. Hillier et M. Rakkar, 2008)
- Agriculture : utilisées comme engrais (goémon) ou amendement (maerl).
- Dentisterie : comme des pâtes pour les empreintes dentaires.
- Industries chimiques : les frustules (enveloppes externes des diatomées) siliceux sont utilisés comme abrasifs, ou isolants phoniques ou thermiques. Mais aussi les colles, peintures, résines, caoutchoucs et les différentes sortes de savons sont issues à base des produits d'algues (J. M. Kornprobst, 2005) ou de Substances naturelles d'origine marine :
- Médecine : en thalassothérapie, on utilise les bains d'algues (algotérapie) pour traiter les rhumatismes ou certaines affections de l'appareil locomoteur .En chirurgie ou en gynécologie, on utilise des stipes de laminaires

(pour leur propriétés à retenir l'eau tout en se dilatant) pour débrider une plaie ou dilater une voie naturelle (A.A. EAL Gamal, 2010)

- Pharmacie : on utilise les propriétés laxatives ou vermifuges (Hypnea Carrageen), anticoagulante (phyllophora) (A.A. EAL Gamal, 2010 ; R. Falshaw, R.H. Furneaux et E.D, 2005)

1. 2. Les grands groupes d'algues marines :

En général, les algues regroupent quatre groupes qui sont différencié par rapport à la couleur (B. De Reviers, 2002). Chaque groupe contient des classes qui elles-mêmes contiennent des centaines d'espèces.

1. 2. 1. Les chlorophytes :

Les chlorophytes sont des algues vertes dont le thalle est de couleur typiquement vert en raison des chlorophylles 'a' et 'b' dominant dans les chloroplastes. Toutefois, l'exposition prolongée aux fortes intensités lumineuses provoque la synthèse de pigments photo-protectants (caroténoïde), qui confèrent aux thalles des couleurs orangées à jaunâtres. Ce groupe d'algues peu diversifié dans les eaux tempérées est au contraire riche en espèces et en formes dans les eaux tropicales. Les algues vertes sont présentes dans tous les systèmes aquatiques depuis les milieux marins jusqu'aux eaux douces.

1. 2. 2. Les Chromophytes :

Au sein des Chromophytes, les algues brunes sont regroupées dans la classe des fucophycées appelées autrefois les Péophycées. Ce sont des algues presque exclusivement marines. Leur couleur est due à l'abondance des pigments bruns, la fuco-xanthine, qui masque les chlorophylles a et c.

Les Phéophycées montrent une grande diversité morphologique depuis les formes filamenteuses relativement simples aux grandes algues brunes dont l'organisation morphologique complexe évoque les tiges feuillées des végétaux supérieurs. Les algues brunes ne sont principalement diversifiées dans les mers froides et tempérées ou elles forment les grandes forêts sous-marines. Dans les eaux tropicales, elles sont moins nombreuses en espèces, mais représentent les plus grands thalles et forment les populations les plus denses.

1. 2. 3. Les Rhodophytes :

Les rhodophytes sont des algues rouges, elles montrent une originalité particulière avec leurs pigments surnuméraires rouges (Phycoérythrine) et bleus (Phycocyanine) qui viennent masquer la Chlorophylle. Les proportions relatives entre les différents pigments, conjuguées avec la forme du thalle, donnent à la lumière du jour toutes les couleurs imaginables depuis le brun noirâtre jusqu'au rose très clair en passant par les rouges pourpres et les orangés.

De plus, pour une même espèce, la couleur varie en fonction de l'exposition aux rayons lumineux : souvent les individus qui se développent aux forts éclaircissements montrent des couleurs délavées, où dominent les jaunes orangés en raison de la forte concentration en pigments caroténoïdes photo-protectants.

1. 2. 4. Les cyanobactéries :

Les cyanobactéries ou les algues bleues sont constituées de colonies de taille, de forme et de couleur très variables. Comme les algues rouges, elles possèdent des pigments surnuméraires bleus (phycocyanine) et rouges (phycoérythrine) qui masquent la chlorophylle 'a'.

En dépit de leur nom ancien d'algues bleues, elles sont rarement bleues mais plus souvent rouges, vertes avec des reflets bleutés, violets, bruns, jaunes ou orangés. La plupart d'entre elles ont une consistance gélatineuse voire gluante en raison des mucilages qu'elles sécrètent.

1. 3. Facteurs de répartition des algues :

Les algues sont liées à l'eau et peuvent dès lors s'installer dans les types d'habitats suffisamment humides et éclairés. Les algues étant photosynthétiques, sont dépendantes de la présence de la lumière. Aussi, elles nécessitent d'être fixées à un substrat, par conséquent, la texture, le degré de cohésion et la nature chimique du substrat ont une importance sur la répartition spatiale des espèces (F. Gévaert, 2001)

2. Biologie des algues brunes du genre Cystoceira:**2. 1. Présentation de la famille des Cystoceiracées :**

La famille des Cystoceiracées sont des algues brunes faisant partie de la classe des phéophycées. Elle a été établie par Kützing en 1843 et comprenait alors plusieurs genres : Cystoceira, Halericia, Halidryx, Hormophysa, Hhyllacantha, Pycnophycus (Bifurcaria) et Treptacantha.

Les trois genres *Halerica*, *Phyllacantha* et *Treptacantha* sont actuellement rattachés au genre *Cystoseira* (sauf pour des rares espèces). Les phycologues n'ont pas toujours admis l'existence de cette famille. Ainsi Do Toni la considérait comme une entité en 1891 mais la fusionnait aux Sargassacées en 1895. En 1962, Nizamuddin a regroupé le plus grand nombre de genres de la famille Cystoseiraceae, d'où il a déterminé 21 genres, chacun contient un nombre variable d'espèces.

A la fin du 20ème siècle R.Valls et V. Amico ont apporté de nouveaux éclaircissements grâce à leurs études sur les dosages, les variations et les chimio-taxonomies des Cystoseiracées. (R. Valls et *al.*, 1995). Ces travaux ont été complétés par plusieurs chercheurs : B. Banaigs et *al.*, 1983; C. Francisco et *al.*, 1985 ; M. Fadli et *al.*, 1991, 1999 ; A. abourriche et *al.*, 1999; G. Culioli et *al.*, 1999 ; M. Daoudi. *M.* et *al.*, 2002 ; J.P. Maréchal. et *al.*, 2004 ; A. Ortalo-Magné et *al.*, 2005.

Ainsi, une centaine de molécules bioactives ont été isolées. Malgré tous ces efforts, la famille des Cystoseiracées demeure imparfaitement connue, les algologues éprouvent encore des difficultés dans la sélection de critères sûrs pour l'identification de certaines espèces.

2.1. 1. Position systématique de la famille des Cystoseiraceae :

De nos jours, tous les systématiciens admettent l'individualité des Cystoseiracées, toutes ses macro-algues sont des Fucales possédant les particularités qui permettent de les distinguer sans ambiguïté. Les Cystoseiracées sont des algues brunes de l'embranchement de chromophytes, de la division des péophycées et de l'ordre des fucales. D'autre part, cette famille constitue plusieurs genres comme nous l'avons décrit précédemment, et parmi ces genres on trouve : *Bifurcaria* et *Cystoseira* (R. Valls, 1993).

a. Le genre *Cystoseira* :

Les *Cystoseira* sont des algues buissonnantes, arborescentes, très ramifiées, très touffues (Cf. Fig. 2), souvent de grande taille (30 cm à 1m ou 2m) d'un aspect particulier et facilement reconnaissable, mais l'attribution de l'espèce est particulièrement difficile (R. Valls, 1993).

Les thalles des *Cystoseira* se composent de 3 parties :

- Un disque basal : plus au moins trapu peut donner naissance soit à une seule tige lisse, soit à plusieurs (plante cespiteuse). Il est fixé sur les fonds stables généralement rocheux.

- Une tige : partie du thalle comprise entre le disque basal et les rameaux primaires, généralement elle est cylindrique, la tige persiste durant toute la vie des *Cystoseira*, elle est dite pérennante.
- Des rameaux primaires : ils croisent au sommet de la tige et se présentent comme de petites proliférations sur le bord ou un peu en dessus du sommet de la tige.

Certains *Cystoseira* sont remarquables par leur iridescente ; c'est-à-dire la belle coloration verdâtre ou bleuâtre qui teinte les rameaux immergés (R. Valls, 1993). Les *Cystoseira* sont vivaces ; mais la plus part présentent un temps de repos partiel et perdent leurs rameaux, généralement en hiver.



Figure2 : Le genre *Cystoseira*, *cystoseira amentacea* (C. Agardh)

b. Le genre *Bifurcaria* :

Le genre *Bifurcaria* est en particulier parmi les *Cystoseiracées*, car son rhizome de fixation est pérenne et adhère aux rochers par de petits disques. De ce rhizome basal partent des rameaux dressés, cylindriques et au mode de ramification caractéristique. Tous les autres genres à axe végétatif dressé ont perdu, au cours de leur évolution, leur rhizome (*Cystoseira*) et les genres rhizome (*Acystis*, *Platithalia*, *Stolonophora*) ont des ramifications fortement compressées.

Le genre *Bifurcaria* comprend trois espèces :

- *Bifurcaria bifurcata*, présente en Atlantique nord.
- *Bifurcaria brassicae* formis, qui est endémique d'Afrique du sud.
- *Bifurcaria galapagensis*, qui est endémique des îles Galapagos.

Ces espèces se distinguent par la forme de leurs ramifications (Cf. Fig. 3), mais toutes ont une organisation radiale. Elles se développent dans la zone littorale inférieure (R. Valls, 1993).

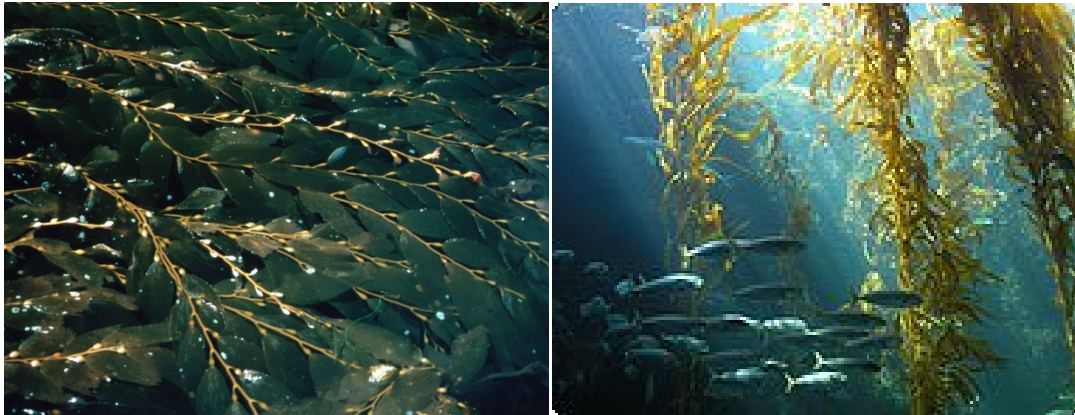


Figure 3 : Genre *Bifurcaria pneumatocyst* (*Macrocystis pyrifera*)

c. Biotope des algues du genre *Cystoseira stricta* :

Le genre *Cystoseira* vit dans l'étage littoral situé entre le niveau moyen des basses mers de vives eaux, il correspond à la zone de blanchement des marées. Cette zone est facile à exploiter lorsqu'il y a un platier qui est un plateau quasi-horizontal, à marée basse la zone découverte est très étendue; ce type de station est varié, car il comprend des cuvettes plates très peu profondes jusqu'aux grandes crevasses de plus d'un mètre de profondeur qui peuvent retenir un volume d'eau très important (Cf. Fig. 4). Elles sont l'habitat préféré des algues brunes des genres *Cystoseira* et *Bifurcaria*, car elles peuvent être ombragées et la température de l'eau reste stable (R. Valls, 1993).



Figure 4 : Genre Phéophycées (algues brunes)

3. Etudes chimiques et potentialités pharmacologiques des organismes marins : Cas des algues brunes de la famille des Cystoseiracées :

3.1. Intérêt pharmacologique des espèces marines :

Actuellement, du fait de l'évolution des populations et des pathologies, le besoin de nouveaux médicaments est devenu plus grand et d'un immense intérêt. Une des voies d'innovation repose sur la découverte de principes actifs originaux, qui peuvent provenir de la chimie de synthèse, de l'extraction à partir de sources biologiques, enfin, plus récemment, des biotechnologies fondées sur le génie génétique.

En ce qui concerne l'extraction, les végétaux ont été et sont encore largement exploités, mais la tendance actuelle est d'évaluer la pertinence d'autres groupes du vivant, tels les insectes, les micro-organismes ou les organismes marins, comme source de molécules actives, avec pour idée que de nouveaux groupes livreront des contenus chimiques différents, et donc une plus grande variété exploitable.

Les macro et micro-organismes marins occupent une place de choix dans ce domaine : très nombreux en termes d'espèces, ils sont aussi facilement accessibles qu'au début de ces recherches, dans les années 1950. L'attention de la communauté scientifique avait, en effet, été attirée par les produits marins en 1951, lors de la découverte de nucléosides dans un spongiaire, puis en 1969, quand la très forte teneur en prostaglandines d'une Gorgone des Caraïbes a été révélée : un organisme marin fabriquait en grande quantité des produits que la chimie de synthèse peinait alors à élaborer. Ce fut le point de départ d'une aventure qui a livré jusqu'à ce jour plus de 15000 produits originaux d'origine marine.

La place des molécules d'origine marine dans l'arsenal thérapeutique est encore modeste, un fait qui doit être relativisé du fait de la courte période des recherches correspondante, et des difficultés de la mise au point, actuellement, d'un nouveau médicament. Pour l'industriel, ces produits n'ont pas un statut différent de ceux obtenus à partir d'autres procédés, seuls comptent l'efficacité et le caractère novateur. C'est précisément sur ce point que les molécules d'origine marine, issues de métabolismes originaux et encore largement inexploitées, se singularisent et montrent tout leur intérêt (L. Ktari et *al.*, 2004).

3.2. Résultats encourageant des substances marines :

Une dizaine de produits sont actuellement soit en usage thérapeutique, soit suffisamment avancés, des essais cliniques pour espérer une commercialisation prochaine. Les sources biologiques de ces molécules sont majoritairement les algues, les spongiaires, les ascidies ou les mollusques (J. F. Biard, 2004).

3. 2.1. Les produits actuellement sur le marché :

Outre les polyholosides, utilisés depuis longtemps en gastro-entérologie, et les céphalosporines (découvertes à l'origine dans un microchampignon marin), nous disposons de plusieurs molécules marines :

Les nucléosides : ara-A (vidrachine) et ara-C (cytarabine) ont été synthétisés (1969 et 1963) sur le modèle de la spongo-thymidine isolée à partir du spongiaire *Cryptotethya crypta*. L'ara-A (vibra-A'r', jouveinal) et l'ara-C (Aracytine'r' Upjohn, et Cytarbel'r' Bellon) sont utilisés depuis cette date respectivement comme antiviral et antitumoral (J. Guezennec et al., 2005)

L'immuno-cyanine (Immucothel'r' Biosyn Arzneimittel) est préparée à partir de la glycoprotéine KLH (Keyhole L impet Hemocyanin) de l'hémolymphe de mollusque *Megathura crenulata* de Californie. Elle est utilisée depuis 1960 pour le diagnostic et le traitement de certains carcinomes vésicaux chez des patients réfractaires ou intolérants au BCG (J. Guezennec et al., 2005).

Le ziconotide (SNX-111) est un peptide (x-conotoxine) isolé en 1979 du venin d'un cone carnivore des mers tropicales. Il bloque les canaux calciques de type N, et a un effet antalgique 100 à 1000 fois supérieur de celui de la morphine. Le produit arrive actuellement sur le marché (Prialt'r' Pfizer Inc.) pour l'analgésie intra spinale des douleurs chroniques (J. Guezennec et al., 2005).

3.2. 2. Les autres produits :

De multiples molécules sont actuellement en développement préclinique ou clinique de phase I et II. Citons parmi celles-ci :

Un dérivé des pseudo-ptérosines issu d'une Gorgone, la methopterosin, employée dans une formulation cosmétologique (Résilience Estée lauder), et en phase II comme anti-inflammatoire (Sea Grant Lab.).

Le Kahalalide F : un autre peptide du mollusque *Elysiare fescens*, actuellement en phase I. Avec le Yondelis et l'Aplidin, c'est le troisième anti tumoral développé par la firme Pharma-Mar (M. Garcia-Rocha et *al.*, 1996).

Le KRN-7000 : un dérivé de synthèse des agélas-phines isolées des spongiaires *Agelas mauritanus*. En phase I, il se distingue par sa faible toxicité et par sa capacité à éradiquer les métastases hépatiques par exaltation des réactions immunitaires (Kirin Pharmaceuticals) (J. F. Biard, 2004).

Partie II : Présentation de l'Artémia :**1. Biologie et écologie de l'*Artémia salina* :**

L'*Artémia* (*Artémia salina*) est une espèce de crustacé vivant dans les lacs salés, les lagunes et les marais salants (Cf. Fig. 5). Lorsque les conditions de vie du milieu ne sont plus favorables, l'artémia est capable de produire des Cystes ; ces derniers ont la faculté de pouvoir après réhydratation donner naissance à une larve appelée nauplius, et ce parfois même des années après.



Figure 5: *Artémia salina* adulte (Mioara Dumitrascu, 2011)

1. 2. Systématique :

Règne	Animalia
Embranchement	Arthropoda
Sous-embr.	Crustacea
Classe	Branchiopoda
Sous-classe	Sarsostraca
Ordre	Anostraca
Sous-ordre	Artemiina
Famille	Artemiidae
Genre	Artemia, Leach, 1819

C'est en 1755 que le Docteur Schlosser, un anglais, décrit pour la première fois la crevette des marais salants collectée tout près de Limington (Angleterre) (Kunen et Baas-becking; 1938), ensuite en 1818, Leach l'a renommé *Artemia salina* (Artom, 1931). Dès lors l'appellation *A. salina* est valable pour les espèces bisexuelles rencontrées dans la région de la méditerranée (Mura, 1990; Triantaphylidis, 1997 b).

Des travaux de recherches furent réalisés, concernant principalement l'identification des populations d'*Artemia* distribuées sur les cinq continents (Browne et al., 1984; Piccenili et al., 1968 et Barigozzi en 1974) et avaient identifié les souches bisexuelles américaines. Abreu-Grobois en 1983 a identifié à son tour les souches bisexuelles d'Europe et d'Afrique, de même que les souches parthénogénétiques.

Les résultats de ces travaux ont démontré que ces populations se distinguent entre elles, en plus des caractéristiques morphologiques par des caractéristiques qui sont liées notamment à la génétique et aux mécanismes de reproduction (Barigozzi, 1974 ; Clark et Bowen, 1976 ; Bowen et Sterling, 1976; Bowen et al., 1978 ; Sorgeloos, 1978)

1. 3. Morphologie et cycle de vie :

Dans son environnement naturel et sous certaines conditions, l'Artémia produit des cystes qui flottent à la surface de l'eau et finissent sur les rivages sous l'action des vents et des vagues. Ces cystes sont métaboliquement inactifs et incapables de se développer tant qu'ils sont gardés au sec (Dhont, 2003).

Une fois les cystes immergés dans l'eau de mer, l'embryon reprend son métabolisme interrompu. Après environ 20 h la membrane externe du cyste éclate et l'embryon apparaît, entouré par une membrane d'éclosion. Tandis que l'embryon est accroché sous la coquille vide (étape de « parapluie ») le développement du nauplius s'accompli et au cours d'une période courte la membrane d'éclosion est rompue et le nauplius est délivré. Ce dernier atteint le stade adulte (Cf. Fig. 6) après plusieurs phases de développement caractérisées par une série de transformations morphologiques et physiologiques au cours desquelles le nauplius porte le nom de "méta-nauplius" (Drews, 2002).



Figure 6: Eclosion des cystes d'Atrémia

1. 4. Morphologie du Cyste :

Le cyste tel qu'il est dans son milieu naturel a une forme biconcave (Figure 7), après hydratation d'environ 20 heures il devient sphérique (Van stappen et Sorgeloos ; 1996) et mesure 200 à 300 micromètres.

Cette particule apparemment inerte, demeure dans un état assoupi dit en "diapause", et peut ainsi supporter des températures extrêmes de 0°C à plus de 100°C. Le cyste sec résiste également aux fortes radiations, et une variété de solvants organiques et peut être entreposé pendant des mois ou années sans toutefois perdre sa capacité d'éclosion (Granvill et Treece, 2000).

Cette résistance très élevée du cyste d'Artémia aux conditions environnementales défavorables ; surtout les rayons ultraviolets revient principalement à cette coquille appelée aussi « chorion », constituée d'un mélange de chitine et hématine. La concentration de l'hématine détermine la couleur de la coquille du pâle au marron sombre. Cette couche peut être complètement enlevée par la technique de décapsulation (Bruggman et *al.*, 1980).

Une membrane externe adhère directement au chorion, empêchant toute particule d'une taille supérieure à celle d'une molécule de CO₂ de pénétrer ; cette membrane à son tour adhère à une cuticule embryonnaire transparente et élastique qui entoure l'embryon ; il s'agit de la « membrane d'éclosion » (Dhont, 2003).

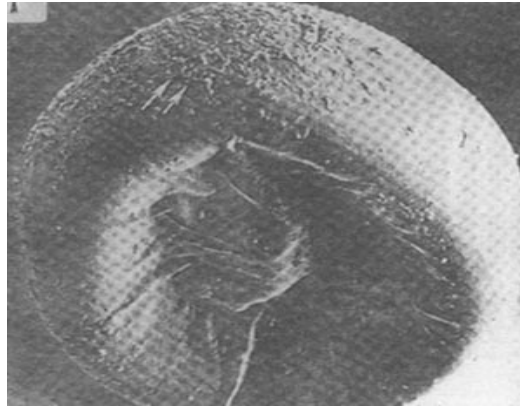


Figure 7: Photographie électronique à balayage d'un cyste déshydraté d'Artémia

La coquille du cyste ou le chorion se compose de trois couches (figure 8):

- a- Couche alvéolaire:** une couche dure lipoprotéine composée de lipoprotéines imprégnées de la chitine et de l'hématine. Sa fonction principale est d'assurer la protection de l'embryon contre la rupture mécanique et le rayonnement UV. Cette couche peut être complètement enlevée (dissoute) par traitement d'oxydation avec de l'hypochlorite (décapsulation).
- b- Membrane cuticuleuse externe:** elle protège l'embryon contre la pénétration des molécules plus grandes que la molécule de CO₂ (= membrane multicouche avec la fonction très spéciale de filtrer ; agir comme une barrière de perméabilité).
- c- Cuticule embryonnaire:** c'est une couche transparente fortement élastique séparée de l'embryon par la membrane cuticuleuse intérieure

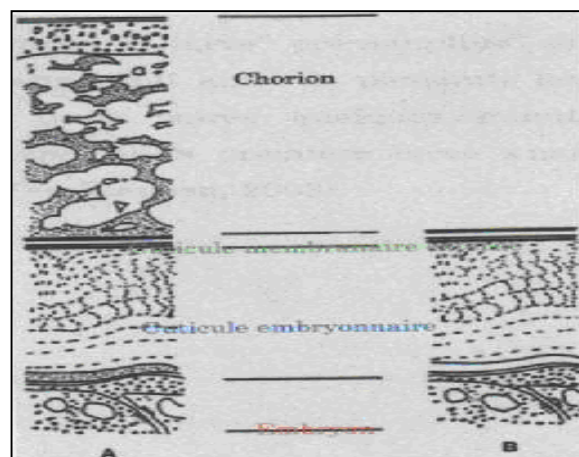
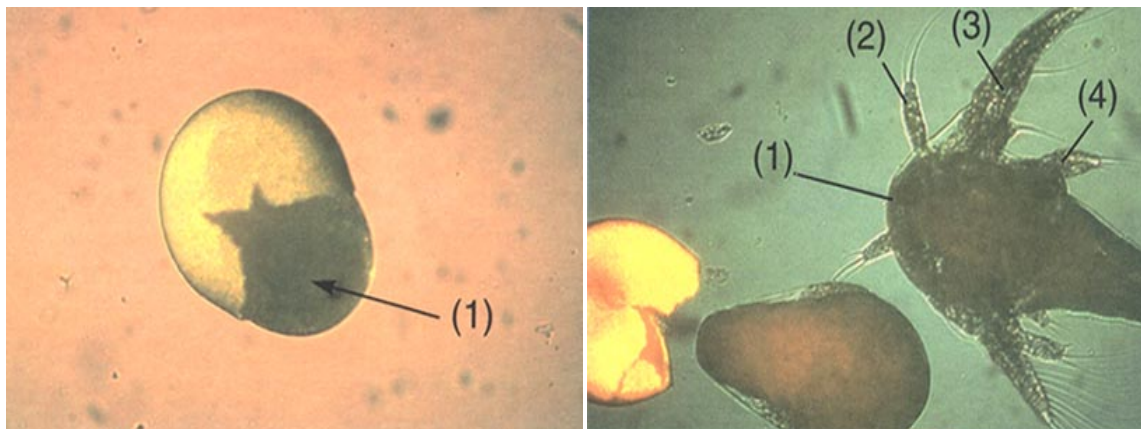


Figure 8: Schéma de l'ultra - structure d'un cyste d'Artémia (FAO, 1996).

1. 5. Reprise du métabolisme du cyste et son éclosion :

Après environ 15 à 20 heures (Granvill et treece, 2000) d'hydratation, la coquille se déchire et l'embryon apparaît partiellement, car il reste toujours entouré par la cuticule embryonnaire (Dhont, 2003). Un œil bien visible sous forme de point noir caractérise cette phase (Figure, 9 A).

Quelques heures après, la larve "pré-nauplius" se libère complètement de la cuticule membranaire; permettant ainsi de percevoir les mouvements des premiers appendices (Figure, 9 B). Finalement (juste après quelques minutes) l'embryon se détache totalement de la membrane, et la première larve « nauplius » commence à nager instantanément (Figure 10) Dhont et Vanstappen, 2003).



A

B

Figure 9 : A : Cyste ouvert : (1) œil de nauplius (Dhont, 2003).

B: Embryon dans l'étape de « parapluie » (gauche) et le nauplius instar I (droit). (1) œil de nauplius ; (2) antennule ; (3) antenne ; (4) mâchoire inférieure.

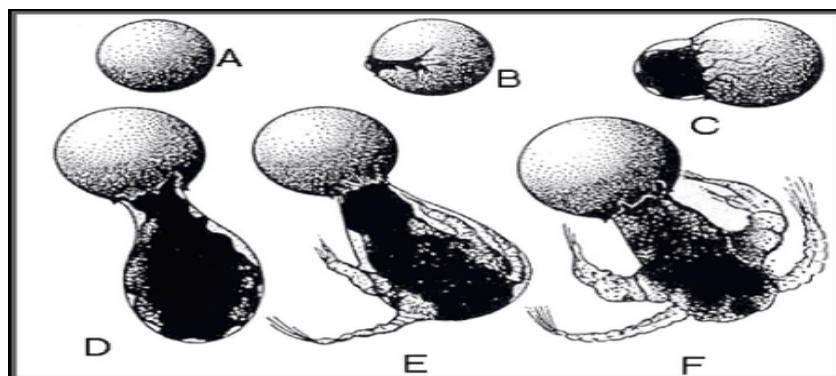


Figure 10: Etapes d'éclosion du cyste d'*Artémia* (Selon Martina Hayo et Gerhard Schwarz, 1996)

A + B : fracture, C + D + E : Evolution, F : Naissance

1. 6. Développement larvaire et morphologie de la larve :

Au premier stade larvaire, la larve mesurant environ 400 à 500 μm est caractérisée par une couleur orange brunâtre, un œil nauplien bien visible de couleur rouge dans la partie de la tête, et trois paires d'appendices qui comprennent :

- 1- *Les antennes* : fonction sensorielle.
- 2- *Les antennules* : double fonction, filtration de la nourriture et locomotion.
- 3- *Les mandibules* : servent pour attraper la nourriture.

Entre les antennules on distingue une paire d'ocelles, et du côté ventral un large labrum. Après 8 heures environ, le nauplius subit une première mue pour se transformer en larve "méta-nauplius", à ce moment-là, le tube digestif devient fonctionnel, la bouche et l'anus sont également ouverts. À l'aide de ces antennules, l'animal peut ainsi ingérer des petites particules alimentaires d'une taille ne dépassant pas 50 μm (Figure 11). Ensuite la larve se développe et se différencie suivant une série de mues, cependant, il y a eu un désaccord au sujet du nombre exact de mues (Henstschel, 1968; schrehardt, 1987).

A partir du dixième stade, d'importantes transformations morphologiques et fonctionnelles se mettent en place. On assiste à l'élancement et à une segmentation prononcée du corps de la larve, ainsi les huit premières paires de pattes thoraciques (thoracopodes) se forment entraînant une progression plus soutenue de celle-ci. A ce moment, les yeux complexes se pigmentent et la larve atteint environ une taille de 1.4 mm.

Par ailleurs, les antennes perdent leur fonction de locomotion et subissent une différenciation sexuelle. Chez le mâle, elles se développent en graspers, tandis que chez la femelle, elles se dégénèrent en appendices sensorielles. Le développement des thoracopodes se poursuit et d'autres paires de thoracopodes continuent à se développer, en même temps apparaissent les premiers segments abdominaux, On distingue :

Les Tele-podites et les endo-podites (locomotion et filtration de la nourriture), ainsi que les exo-podites (ouïes et respiration) (Figure 12).

À la quinzième et dernière mue la segmentation abdominale s'achève (Sorgeloos, 1978 ; 1980), les 11 paires de thoracopodes sont complètement formées, la larve est devenue adulte, et la maturité sexuelle est atteinte. Celle –ci se caractérise par la présence d'une sorte d'excroissance (une paire de protubérance) qui apparaît à la base des antennes chez le mâle, de même qu'une paire de pénis à la partie inférieure du corps. Chez la femelle, l'utérus se différencie en une poche utérine, pendant que le premier cycle ovarien se déclenche ; à ce stade de développement, on peut déjà remarquer le couple en position de pré accouplement.

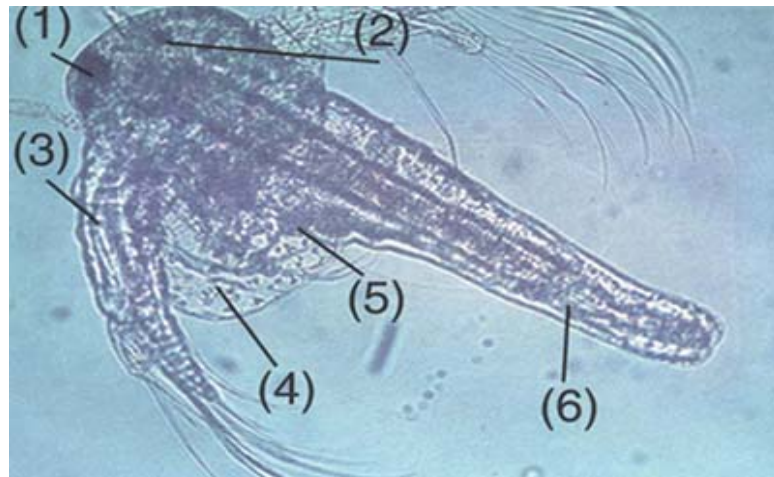


Figure 11: Larve d'Instar V. (1) œil de nauplius ; (2) œil complexe latéral ; (3) antenne ; (4) labrum ; (5) bourgeonnement des thoracopods ; (6) région digestive.

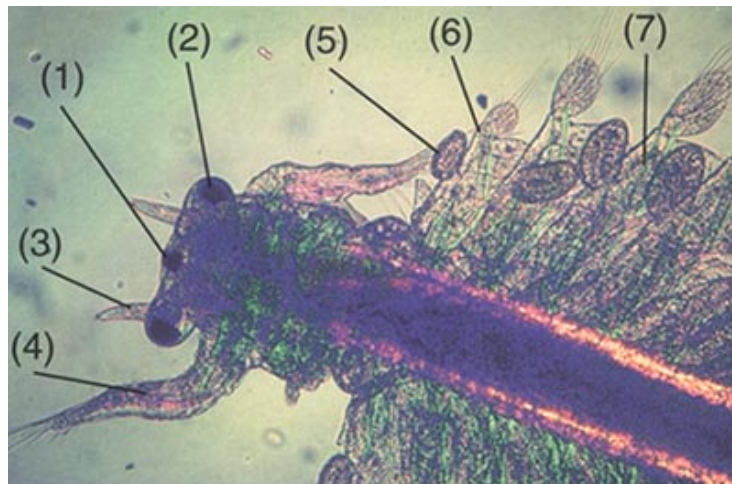


Figure 12: Tête et région thoracique antérieure de XII instar. (1) œil de nauplius ; (2) œil complexe latéral ; (3) antennules ; (4) antenne ; (5) exopodite ; (6) telopodite ; (7) endopodite.

a. Morphologie de l'adulte :

Les *Artémia* adultes sont des arthropodes primitifs typiques mesurant 8 à 12 mm de longueur (Dhont et Vanstappen, 2003). La taille du mâle (figure 11) est généralement inférieure à celle de la femelle (Figure13). La partie antérieure du corps est dépourvue de carapace (Drews, 2002).

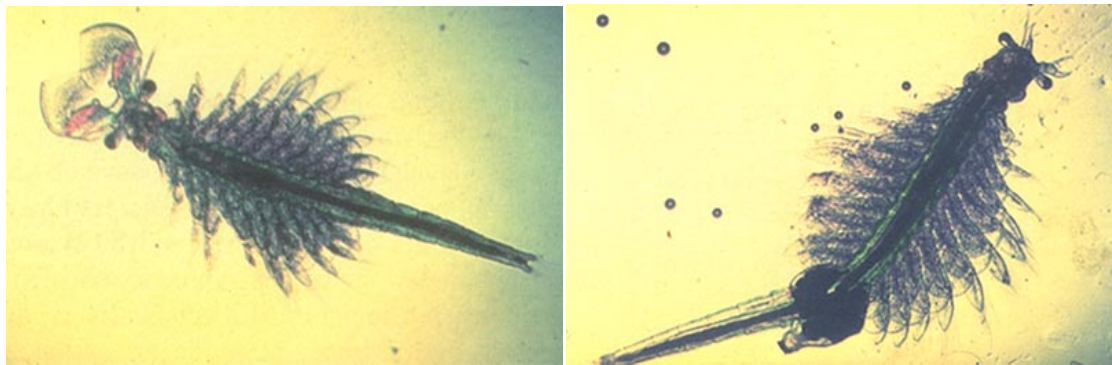
Le corps d'*Artémia* adulte comprends généralement trois parties bien distinctes : la tête ; le thorax, et l'abdomen.

a- La tête : la tête a une paire d'yeux complexes, l'œil nauplien, les antennes, les antennules et la cavité buccale. Cette dernière est représentée par un large labrum, une paire de

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

b- Le thorax : il comprend 11 segments, chacun portant une paire d'appendices natatoires foliacés qui ont une fonction motrice et respiratoire, permettant la filtration de la nourriture et son acheminement vers les deux mandibules. Le segment externe du thoracopode (exopodite) joue le rôle de branchies. L'endopodite situé à la partie médiane du thoracopode permet la propulsion et les mouvements du corps de l'animal. Le segment interne du thoracopode (télopodites) intervient lors de la filtration de l'eau par l'animal afin de retenir les particules alimentaires qui se trouvent suspendues dans l'eau (Haddag, 1991)

c- L'abdomen : il est composé de huit segments. Les deux premiers segments sont génitaux, deux pénis chez le mâle ou la poche incubatrice chez la femelle. Le huitième segment est différencié en telson et est constitué de deux lobes entre lesquels s'ouvre l'orifice anal.



A

B

Figure 13: A : Mâle d'adulte.

B: Femelle adulte.

2. Reproduction :

La maturité sexuelle après éclosion est de 10 jours environ, selon les conditions du milieu.

L'Artémia dispose de deux méthodes de reproduction :

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

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

Par ailleurs, on croit que toutes les populations d'*Artémia* empruntent les deux modes de reproduction (ovipare et ovovivipare) et sont capables de commuter d'un mode de reproduction à l'autre (figure 14) comme réponse rapide aux fluctuations des conditions de l'environnement (Van stappen, 1997).

Contrairement aux souches parthénogénétiques, les souches bisexuelles se reproduisent par accouplement. Pendant la phase de pré-copulation, le mâle à l'aide de ces graspers (sous forme de pince) accroche la femelle au niveau de l'utérus. Le couple peut ainsi rester à cette position pendant des heures. La copulation de l'*Artémia* est exécutée rapidement. Le mâle, en fléchissant son abdomen, introduit l'un de ces deux pénis dans l'appareil génital de la femelle et libère ainsi son sperme (Anand Tunsutapaniche, 1979). Chez les femelles bisexuelles et parthénogénétiques, la maturité sexuelle est caractérisée par une ovogenèse. Les œufs sont expulsés vers l'utérus sous forme d'œufs vierges. Pour passer des ovaires aux oviductes, les œufs vierges mettent environ deux heures, et là, ils peuvent résider pendant plus de 40 heures indépendamment du fait qu'ils soient fertilisés ou non (Haddag, 1991). Les œufs ainsi fertilisés donnent naissance à des naupliis (mode ovovivipare) en cas de conditions favorables, et à des cystes (mode ovipare) dans le cas contraire.

Sous des conditions optimales, la crevette de saumure peut vivre pendant plusieurs mois, se développer du nauplius à l'adulte dans seulement 8 jours et se reproduire à un taux de 300 nauplius ou cystes tous les 4 jours.

Cependant, lorsque les conditions du milieu deviennent critiques pour leur survie, des mâles apparaissent et une reproduction sexuée prend place et c'est seulement dans ce cas que des œufs de résistance peuvent être produits.

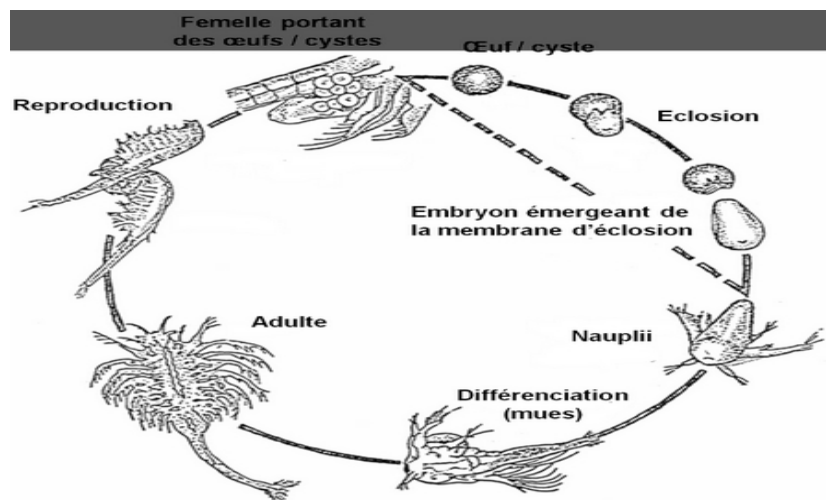


Figure 14 : Cycle de vie de l'*Artémia salina*

3. Alimentation et respiration :

Ces deux processus physiologiques furent étudiés par Provasoli et Shiraichien 1959. Pour vivre dans ces environnements hyper salins, les Artémia possèdent des adaptations physiologiques exceptionnelles.

L'Artémia est capable de synthétiser des pigments respiratoires très efficaces qui lui permettent de survivre à des niveaux d'oxygène très bas, rencontrés dans les hautes salinités (Van stappen, 1997).

Concernant l'alimentation, Sorgeloos (1979) rapporte que l'Artémia est un animal filtreur obligatoire non sélectif, qui à l'aide de ces antennes et thoracopodes capturent les particules alimentaires en suspension. Grâce aux battements des thoracopodes, des courants d'air se créent le long de la surface ventrale de l'animal. Les télépodites concentrent les particules alimentaires qui sont transférés ensuite vers le labrum, où une sécrétion visqueuse les entoure avant que les maxillaires et les mandibules les expédient dans l'œsophage. L'Artémia est en mesure d'ingérer toute particule dont la taille est inférieure à 60µm (Reeve, 1963 ; Dobbeileir et *al.*, 1980), d'autre part, le réglage ionique est maintenu à travers les branchies, et l'Artémia est capable d'excréter l'urine avec une forte pression osmotique (Rupert et Barnes, 1994).

4. Ecologie de l'Artémia :

Les populations d'Artémia se trouvent dans environ 500 lacs naturels de sel et les marais salants artificiels dispersés dans les zones climatiques tropicales, subtropicales et tempérées, le long des côtes, ainsi que l'intérieur des terres (Lavens et Sorgeloos, 2000). L'animal est rencontré abondamment dans les milieux thalasso-halins (riches en chlorure de sodium) et thalasso-halins (riches en sulfates, en carbonates et/ou potassium) (Haddag, 1991).

La diversité écologique de ces biotopes isolés et la flexibilité génétique de l'espèce ont mené à l'évolution de plus de 350 populations (Sorgeloos et Beardmor, 1995).

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

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

Bien que la crevette de saumure prospère très bien en eau de mer normale, elle ne peut migrer d'un biotope salin à un autre par l'intermédiaire des mers, car elle dépend de leurs adaptations physiologiques à la salinité.

Ses adaptations physiologiques à la salinité élevée fournissent une défense écologique très efficace contre la prédation et la concurrence avec d'autres organismes, car la crevette de saumure possède :

- Un système osmo-régulateur très efficace
- La capacité de synthétiser des pigments respiratoires très efficaces pour faire face aux niveaux d'O₂ bas aux salinités élevées
- La capacité de produire des cystes dormants quand les conditions environnementales mettent en danger la survie de l'espèce.

L'Artémia donc, est seulement trouvée aux salinités où ses prédateurs ne peuvent pas survivre (70 g/l). En raison du stress physiologique extrême et la toxicité de l'eau, l'Artémia meurt à des salinités proches de la saturation du NaCl, c'est à dire 250 g/l et plus.

Concernant la température, la plupart des populations ne supportent pas des températures au-dessous de 5°C, tandis qu'elle peut varier entre 6°C à 40°C pour les larves. La tolérance des cystes secs est encore plus élevée ; les limites oscillent entre -273 °C à plus de 60°C. (Skoultchi et motowitz, 1964).

Par ailleurs l'Artémia parvient à survivre à des concentrations d'oxygène allant au-dessous de 1 ppm jusqu'à plus de 150% de saturation. Pour ce qui est du pH, l'Artémia préfère des milieux légèrement alcalins (Sato, 1967).

Puisque l'Artémia ne possède aucun moyen de dispersion active, les vents et les oiseaux aquatiques (surtout les Flamants roses) constituent les vecteurs les plus importants de la dispersion des cystes à travers la nature (Sorgeloos, 2004), de manière que ces derniers, lorsqu'ils flottent sur la surface de l'eau, adhèrent aux pieds et aux plumages des oiseaux aquatiques. Même quand ils sont ingérés, les cystes restent intacts pour au moins 2 jours dans leur système digestif. En conséquence, l'absence des oiseaux est probablement la raison pour laquelle certaines régions convenables pour la présence de l'Artémia (par exemple les salines de la côte nord-est du Brésil) ne sont pas naturellement habitées par ce petit crustacé (Sorgeloos, 2004).

5. Distribution géographique :

Les différents pays dans le monde qui hébergent cette ressource naturelle sont résumés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Pays hôte d'Artémia dans le monde (Sorgeloos et *al.*, 1986)

Continents	Pays
Afrique	Algérie, Egypte, Kenya, Libye, Madagascar, Maroc, Mozambique, Niger, Sénégal, Tunisie, Afrique du sud.
Amérique du Nord	Canada, USA (Arizona, Californie, Nevada, Hawaii, Nebraska, Nouveau Mexique, Texas, Dakota du Nord, Utah, Washington).
Amérique centrale	Bahamas, Mexique, Martinique, Antilles, Portorico, Santo Domingo, Saint-Martin.
Océanie	Australie Est et Sud, Nouvelle Zélande
Amérique du Sud	Bolivie, Brésil, Chili, Colombie, Equateur, Pérou, Venezuela
Asie	Chine, Inde, Irak, Iran, Palestine, Japon, Turquie

5.1. L'Artémia en Afrique

En Afrique, 37.7% de la superficie totale du continent, soit 11.3 millions de km² sont des régions arides ou semi arides dans lesquelles les lacs salés ont tendance à se retrouver (Williams, 1996).

Dans ce continent, l'Artémia est assez bien répandue, le nombre relativement faible des populations enregistrées en Afrique ne traduit pas la richesse de toutes les populations existantes dans le continent. La majorité de ces populations se trouvent dans les pays méditerranéens, car le climat de cette région convient idéalement pour le développement de l'Artémia (Vanhaecke et *al.*, 1987). Au Maghreb, on appelle les sites : chott, sebkha ou encore Mellah.

Les chotts et les sebkhas, sont de grandes dépressions fermées, alimentées par les eaux de pluies et de ruissellements, les plus petites d'entre elles n'excèdent généralement pas les 21 km² ; et forment des petits lacs pendant les périodes de pluies ; les plus grandes peuvent atteindre plus de 100 km² de long et s'appellent chotts. Quant aux mellahs, elles constituent un ensemble de mares, où l'eau de mer est évaporée sous l'effet du soleil jusqu'à la cristallisation du sel (Haddag, 1991).

En fait des pays africains assez grands (Mauritanie, Somalie, Ethiopie, Soudan, Afrique du sud) sont considérés comme des habitats potentiels d'Artémia (Vanhaecke et al, 1987).

Les études de Vanhaecke et al., en 1987, ont porté sur ces habitats et ont été basées surtout sur les conditions climatiques. Ils ont constaté que 97% des populations d'Artémia connues à cette époque furent trouvées dans les biotopes où l'évaporation annuelle dépasse la précipitation annuelle.

6. Caractéristiques biochimiques :

6. 1. Taille et contenu énergétique :

L'efficacité nutritionnelle d'un organisme alimentaire est principalement déterminée par sa digestibilité et, en conséquence, par sa taille et sa forme. Les données sur la biométrie des naupliis de diverses souches d'Artémia sont portées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Taille, poids et le contenu énergétique individuel sec des naupliis d'Artémia stade I de différentes sources de cystes éclos dans des conditions standard (35g.l⁻¹, 25 °C)

Source des cystes	longueur (μm)	Poids (μg)	sec	teneur en énergie (10 ⁻³ Joule)
La baie de San Francisco, CA-USA	428	1,63		366
Macao, Brésil	447	1,74		392
Great Salt Lake, UT-USA	486	2.42		541
Shark Bay, Australie	458	2.47		576
Chaplin Lake, Canada	475	2.04		448
Tanggu, la baie de Bohai, en Chine	515	3.09		681
AIBI Lake, République Populaire de Chine	515	4,55		-
Yuncheng, Chine	460	2.03		-
Lac Ourmiah, Iran	497	-		-

6. 2. La valeur nutritionnelle :

Plusieurs aspects de la composition biochimique d'Artémia ont été étudiés. Le poids sec et la valeur énergétique individuelle sont étroitement liés à la taille des cystes et des naupliis.

Nutritionnellement, l'Artémia est hautement digeste et il apparaît, qu'il remplit le plus de conditions macro et micro nutritionnelles pour les poissons marins, d'eau douce et les larves de crustacés. Depuis la disponibilité commerciale des différentes souches d'Artémia, une large variation dans la suffisance nutritionnelle a été expérimentée. En effet, selon les éclosiers biologiques et de nombreux articles, les succès de la culture peuvent varier considérablement en fonction des souches d'Artémia et des différentes espèces cultivées. Dans le but de vérifier et d'expliquer cette variation dans la qualité nutritionnelle entre les différentes souches d'Artémia, un bureau interdisciplinaire et international sur l'Artémia (ISA) a été initié en 1978 visant à caractériser les souches commerciales (Sorgeloos et al., 1986).

Jusqu'à présent, neuf souches (San Francisco Bay, USA ; Macan, Brazil; Shark Bay, Australie; Lavalduc, France; Tientsin, People's Republic of China; Chaplin Lake, Canada) et une souche référence (Sorgeloos, 1980) ont été évaluées comme source de nourriture pour de nombreux prédateurs (Crustacés: *Rhithpanopeus harrissi*, *Cancer irroratus*, *Mysidopsis bahia*; Poissons: *Menidia menidia*, *Pseudopleuronectes americanus*, *Cyprino donvarigatus*, *Cyprinus carpio*). Des différences considérables dans la valeur nutritionnelle entre les différentes souches et pour les différents prédateurs ont été confirmées (Sorgeloos et al., 1986).

Les analyses chimiques et biochimiques détaillées d'Artémia à partir des différentes sources (Olney et al., 1980; Schaijer et al., 1980; Seidel et al., 1980, 1982; Soejima et al., 1980; Leger et al., 1986) révèlent seulement un facteur, qui peut être lié à cette faible performance des cultures d'espèces de poissons et de crustacés, à savoir la présence d'acides gras hautement insaturés (HUEFA) chez l'Artémia (Leger et al., 1985b, 1986a, b). Cela confirme l'hypothèse de Watanabe et al., en 1978 qui affirme que la présence d'acides gras essentiels est le facteur principal de la valeur nutritionnelle de l'Artémia.

Les faibles niveaux de l'HUFA w3 (acide moroctique) chez l'Artémia est la cause de la mortalité et de la baisse du développement chez tous les poissons marins et les larves de crustacés testés.

La teneur de chez l'Artémia apparaît variable non seulement d'une souche à une autre ; mais aussi d'une récolte à une autre pour une même souche (Watanabe et *al.*, 1978, 1980; Leger et *al.*, 1986a).

Les travaux de Watanabe et *al.*, en (1978c), ont conduit à classer les différentes souches d'Artémia en deux catégories:

- Souches riches en 20:5 (n-3) et faibles en 18:3 (n-3). Celles-ci constituent une nourriture de qualité pour les poissons marins.
- Souches riches en 18:3 (n-3) et faibles en 20:5 (n-3). Celles-ci conviennent uniquement aux poissons d'eau douce.

La composition biochimique des naupliis varie considérablement et évolue entre 37 à 71% pour les protéines, 12 à 30% pour les lipides, 11 à 23% pour les glucides et 4 à 21% pour les cendres, par contre Chez les adultes ces valeurs varient entre 50 à 69% pour les protéines, 2 à 19% pour les lipides, 9 à 17% pour les glucides et 9 à 29% pour les cendres (Bengtson et *al.*, 1991).

6.3. L'Artémia en Algérie :

En Algérie, comme dans la plupart des pays africains, les travaux sur ce minuscule crustacé sont très limités et ne traitent que certains aspects de sa biologie.

En 1991, Haddag étudie la morphologie, la qualité d'éclosion et la reproduction d'une souche d'Artémia (*A. salina*) endémique aux eaux de la saline d'Arzew et récemment dans les régions du Nord-Est et du Sud-Est algériens. Kara et *al.* (1996 et 2000) communiquent les premières informations sur les caractéristiques morphologiques et la qualité d'éclosion des cystes ainsi que la composition des naupliis en acides gras. Ghomari et *al.*, en 2012, avec l'aide des espagnols (*Instituto de Acuicultura de Torre de la Salt. Espagne*) ont établi la biogéographie de la biodiversité du genre Artémia dans la région Ouest de l'Afrique du Nord (Algérie, Maroc et Tunisie). Les sites riches en Artémia recensés en Algérie sont rapportés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Liste des chotts et sebkhas en Algérie (Kara ,1990)

Localisation	Dénomination	Superficie en (ha)	Présence d'Artémia	Référence
Oran	Saline de Bethioua	5778	+	Heddag, 1990
	Sebkha d'Oran	56870	+	Kara, 1990
	Lac Télamine	2399		Kara, 1990
Relizane	Sidi Bouziane	1700	+	Sifi, 2005
Saïda	Chott Echergui	855500		
El Oued, Biskra, Khenchela	Chott Melghir	551000	+	Kara, 1990
El - Oued	Chott Merouane	337700	+	Kara, 1990
	Dendougha	Quelque ha		Kara, 1990
	N'Sigha	Quelque ha		Kara, 1990
	Gediaouene	Quelque ha		Kara, 1990
	Chott Oum El Raneb	7155		Kara, 1990
	Chott Aïn El Baïda	6853		Kara, 1990
Ghardaïa	Sebkhet El-Malah (Mnéa)	70	+	Dahloum, 2006 Boukhatem, 2008
Oum EL - Bouaghi	Garet Ank El Djemel et El Marshel	18140		Kara, 1990
	Chott Tinsilt	2154		Kara, 1990
	Garet El Taref	33460		Kara, 1990
	Garet Guellif	24000		Kara, 1990
Sétif	Sebkhet El Hamiet	2509	+	Kara, 1990
	Sebkhet Bazer	4379		Kara, 1990
M'Sila	Chott El Hodna	362000		Kara, 1990

7. Intérêt économique :

Du point de vue économique, les cystes d'Artémia peuvent jouer un rôle non négligeable en raison de la forte demande de cette proie vivante en aquaculture. L'Artémia est utilisée en routine dans les écloséries et son prix sur le marché dépend essentiellement de la qualité nutritionnelle des souches.

En Algérie, les milieux hyper-salins représentés par les sebkhas et les chotts, hébergent cette ressource ; mais l'importance de la biomasse naturelle exploitable et sa durabilité reste mal connue. C'est de cette manière que les chotts et les sebkhas seront valorisés et pourront contribuer à l'essor de l'aquaculture marine par l'approvisionnement en aliment naturel.

En effet, les perspectives de développement sont prometteuses vu les niveaux de maîtrise et les investigations qui sont menées à l'échelle nationale pour connaître et domestiquer les principales espèces et de les élever dans une perspective de diversification en accord avec les besoins actuels du marché mondial des produits de l'aquaculture.

Dans ce contexte, des résultats très intéressants concernant les performances exceptionnelles de développement du bar *Dicentrarchus labex* (Kara, 1992 ; Saadi et Amiri, 1994) et de la daurade *Sparus aurata* (Menasria et Kennouche, 1998) sont obtenus sur le littoral d'Annaba, ce qui constitue un atout considérable pour le grossissement de ces espèces.

La disponibilité et l'utilisation des souches locales d'*Artémia* pourraient donc encourager les promoteurs nationaux et étrangers pour un investissement aquacole.

Aujourd'hui, on estime que plus de 85% des animaux marins en élevage sont nourris principalement d'*Artémia*, utilisée seule ou combinée avec d'autres aliments (Barnabe, 1986), et que presque 2000 tonnes de cystes sont commercialisées chaque année dans le monde à des prix qui oscillent entre 30\$ et 100\$ le kilogramme, en fonction de la qualité des souches (Sorgeloos et Coutteau, 1994).

En plus de son intérêt capital dans l'industrie aquacole, l'*Artémia* est indirectement liée à l'amélioration de la qualité et de la quantité de sel alimentaire (Silas, 1984 ; Sorgeloos et *al.*, 1986). Récemment, l'emploi de ce branchiopode s'est élargi jusqu'au domaine de la médication (Chair et *al.*, 1991).

8. Artémia en éco-toxicologie :

Le choix du modèle animal en éco-toxicologie devrait prendre en compte les aspects de sa biologie, une large distribution géographique avec une haute adaptabilité aux conditions environnementales défavorables, une culture de laboratoire relativement simple et entretien facile, une résistance à la manipulation, un cycle de vie court avec une grande production de progéniture et surtout l'existence d'une base d'informations sur l'espèce cible.

De ce fait, l'utilisation d'Artémia en éco-toxicologie satisfait toutes ces exigences en rendant réalisable un développement durable des essais biologiques à base d'Artémia (Blaise, 1998),

Les caractéristiques intrinsèques de ce genre le transforment en un organisme approprié.

Pour une utilisation en éco-toxicologie, garantissant la fiabilité, la faisabilité et la rentabilité dans l'éco - toxicité de routine et / ou de recherche les pratiques, il présente alors :

- cycle de vie court,
- forte fécondité, bisexuel avec une stratégie de reproduction parthénogénétique (avec naupliis ou kystes Production),
- petite taille du corps et adaptabilité à un nutriment varié, car il s'agit d'un alimentateur de filtre non sélectif.

1. Présentation du site d'échantillonnage :

1.1. Présentation de la plage :

La plage de Sidi Ladjal (porte du minal) est éloignée de 5 Kms au nord de la commune de Khadra (Picard) et à 50 kms du chef lieu de la Wilaya de Mostaganem. Elle est bordée à l'ouest par la daïra de Sidi Lakhdar, à l'est par la commune d'Ouled-Boughalem et au sud par la commune de Nekmaria, et est située à une latitude de $36^{\circ}26'$, Nord et à une longitude de $00^{\circ}52'$, Ouest (Cf. Fig. 15).



Figure 15 : Vue satellitaire du site de prélèvement (commune de Khadra).

1.2. Echantillonnage des algues :

L'algue *Cystoseira stricta* a été collectée le 01/03/2017 au niveau de la plage de Khadra (Sidi Ladjal) au niveau de la Wilaya de Mostaganem (Cf. Fig. 16).

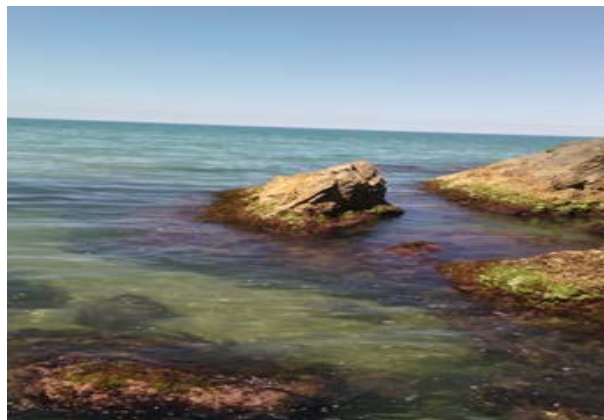


Figure 16 : Site du prélèvement des algues (plage de Sidi Ladjel).

L'identification botanique de notre algue a été réalisée afin d'avoir une certitude sur notre échantillon, puis ce dernier a été conservé dans un sac en plastique noir. Lors du transport au laboratoire, l'échantillon a été ensuite traité par isolement des épiphytes puis un séchage à l'ombre et en finalité on a procédé à un broyage de l'algue (Cf. Fig.17).



Figure 17 : Broyage et séchage des algues échantillonnées

2. Extraction de l'extrait d'algue:

L'extraction par solvants consiste à faire passer, par solubilisation, la substance à extraire dans un solvant. Celui-ci peut être de l'eau mais généralement il s'agira d'un solvant organique : éthanol, hexane chloroforme, éther de pétrole, toluène, etc. Les substances à extraire étant emprisonnés dans la cellule par la membrane cellulaire, il faudra un solvant qui puisse les traverser.

Le choix du solvant nécessite la connaissance de ces paramètres physiques :

- L'état physique du solvant : il doit être liquide à la température et à la pression où l'on réalise l'extraction
- La miscibilité du solvant : il doit être non miscible à la phase qui contient initialement le composé à extraire
- La solubilité : le composé à extraire doit être très soluble dans le solvant,
- La densité du solvant : il détermine si la phase organique contenant le composé à extraire se trouve au-dessus ou en dessous de la phase aqueuse dans l'ampoule à décanter.
- Facilement éliminés après extraction.
- Inerte chimiquement vis-à-vis de la solution à extraire
- Peu toxique que possible

En utilisant la méthode du Soxhlet (Cf. Fig. 18) et avec quatre types de solvant ; à savoir le chloroforme, le méthanol, l'éther de pétrole et l'hexane. On a résumé les différentes caractéristiques (nombre de cycles, température et le rendement) dans le tableau 4 traité dans le chapitre suivant.

On prend 500ml de chaque types de solvant (Cf. Fig. 18) avec 100 g de l'échantillon algale, l'ensemble des composants sont alors filtrés avec du Papier Wattman filtre n ° 1.

Les extraits ont été ensuite recueillis et concentrés en utilisant un évaporateur rotatif pour finalement calculer le rendement de chaque extraction, les extraits recueillis sont enfin gardés sous basse température jusqu'au moment du test.



Figure18 : Extracteur de Soxhlet

3. **Eclosions des larves:**

Les cystes sont importés par l'entreprise d'alimentation aquacole Advanced solutions for animal rearing, l'espèce d'*Artémia salina* est d'origine américaine provenant du lac salé d'Utha (USA) (Cf. Fig. 19A).

Afin d'assurer une éclosion optimale des cystes, certaines conditions strictes doivent être respectées (Lavens et Sorgeloos, 1996), à savoir : une température maintenue entre 25 et 28°C, une salinité de 15 à 35 g/l avec un pH aux environs de 8.0.

Pour ce fait, selon Granvil et Treece, 2000, il faut alimenter les cystes avec une quantité d'oxygène de 2 mg/l au minimum, de préférence 5 mg/l, et une densité maximale de cystes ne dépassant pas 2g/l afin d'assurer une illumination constante de 1000 à 2000 lux (Deux ampoules de 40 Watts sont suffisantes pour quatre récipients d'incubations) (Cf. Fig. 19B).

La procédure standard employée est celle de Sorgeloos et *al.* en 1986 ; Elle consiste à incuber 250 mg de cystes dans un récipient cylindro-conique en verre, contenant 100 ml de l'eau de mer naturelle filtrée (0.45 et 0.2µm). Les cystes doivent être maintenus en suspension en appliquant une aération par le fond du récipient (Cf. Fig. 19C).

La température est maintenue à 26°C, parfois à 28°C à l'aide d'un thermostat, les jeunes larves sont ainsi obtenues au bout de 24 heures et sont évidemment nourris avec de la levure de bière et de la poudre de lait (Wit et Pravit, 1972 ; Dobbler et *al.*, 1980).

La collecte de ces jeunes individus se fait à l'aide d'une pipette en matière plastique pour l'étude du test de toxicité.

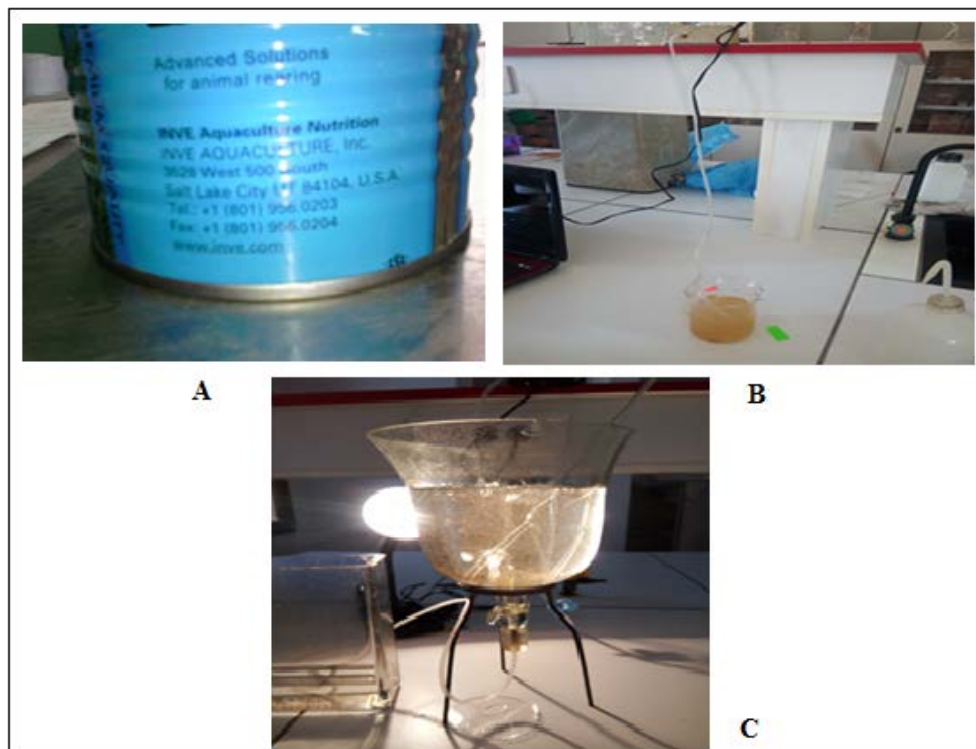


Figure 19 : Elevage de l'*Artémia salina*

4. Le test de dose de létalité d'*Artémia salina* DL₅₀:

Les tests ont été menés dans des boîtes de Pétrie (diamètre de 60 mm et 12 mm hauteur). Les extraits ont été dilués avec 0,8ml de sulfoxyde de diméthyle (DMSO) avec différentes concentrations (20 à 100 µg / ml⁻¹) de chaque extrait d'algue de chaque solvant et puis sont remplis avec 39.2 ml d'eau de mer, sans oublier une boîte témoin avec DMSO. On ajoute ensuite 10 naupliis dans chaque boîte de pétrie (Cf. Fig. 20).

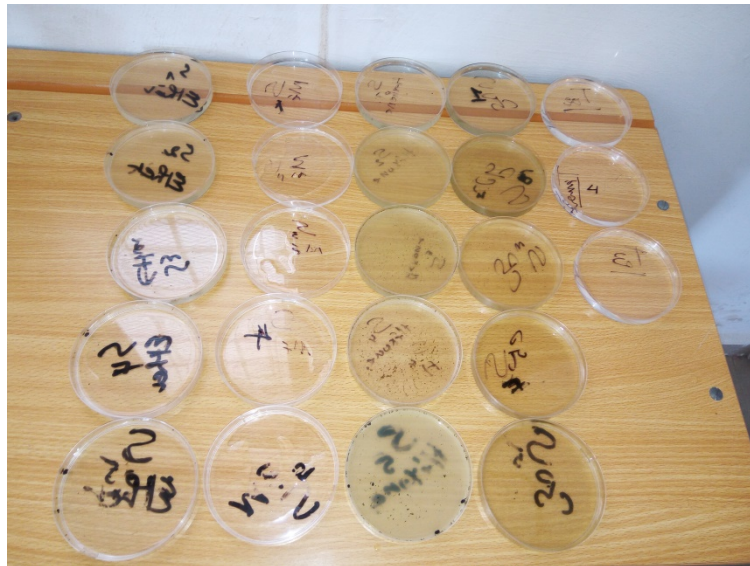


Figure 20 : Teste de létalité DL₅₀

Après 24 heures, on compte le nombre des individus morts dans les boîtes tests et le témoin; delà on peut définir la dose de létalité DL₅₀ de chaque solvant selon les déférentes contractions déterminées.

Dans le cas où le témoin contient des larves mortes, le pourcentage de mortalité est corrigé en utilisant la formule suivante :

$$\% M = (NLP - NLT)/10 * 100$$

Avec :

M : pourcentage de mortalité

NLP : nombre de larves mortes en présence du produit à tester

NLT : nombre de larves mortes en présence du témoin (solvant)

I. Résultats :

1- Résultats et discussion de l'extraction dans différents types de solvants selon la polarité et le nombre de cycle:

Nous avons résumé les différentes caractéristiques de la méthode du soxhlet ; à savoir : nombre de cycles, température et le rendement final des algues séchées sont résumé dans le tableau 4 et illustré par la figure 21.

Tableau 4 : Les différentes caractéristiques de la méthode du soxhlet

Types de solvants	Nbre de cycles	température	Rendements / couleur
Chloroforme	6	52	12,01% / Foncé
Ether de pétrole	7	60	0,36% / Claire
Méthanol	8	57	2,07% / Foncé
Hexane	3	56	12,01% / Claire

Le calcul du rendement se fait par l'équation suivante :

$$R = (\text{poids de l'extrait/poids de l'algue séchée}) * 100$$

On a illustré le résultat obtenu par la figure 21 d'où on peut relever que les taux de rendements les plus importants sont ceux du Chloroforme et de l'Hexane avec un taux de 12,01%, alors que le Méthanol et l'Ether de pétrole donne les taux les plus bas avec respectivement 2,07% et 0,36%.

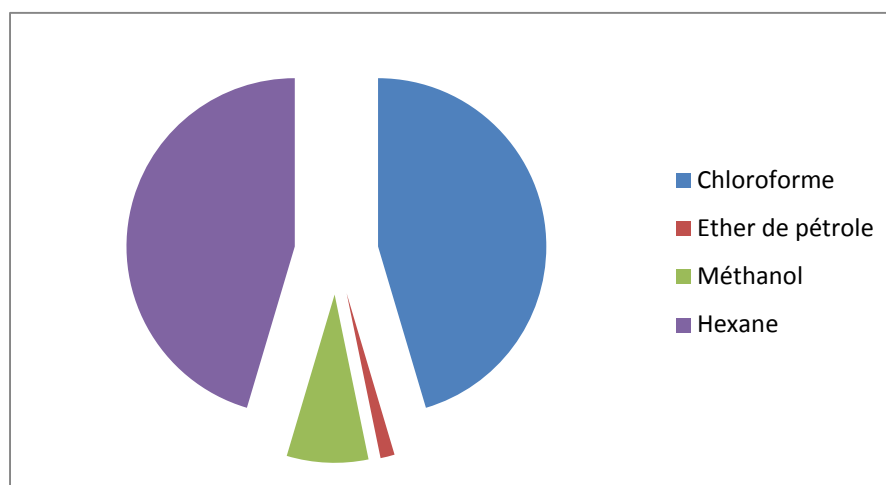


Figure 21 : Taux de rendement des différents extraits

Les produits ont été testés à des concentrations allant de 20, 40, 60, 80 et 100 µg/mL.

Les résultats obtenus lors de ces tests de toxicité des produits bruts chez les larves d'*Artémia salina* en fonction de la concentration et de leurs logarithmes sont résumés dans le tableau 5 et illustré par la figure 22.

Tableau 5 : Résultats de l'activité de toxicité

Extrait	Cystoseirastricta (ug.ml-1)	[c]	NL m	NLT	Nlc	%M	Ln[c]
Hexanique	20	05	10	01	40	2.99	
	40	8	10	01	70	3.68	
	60	8.5	10	01	75	4.09	
	80	9.5	10	01	85	4.38	
	100	10	10	01	90	4.60	
Ether de pétrole	20	5	10	01	40	2.99	
	40	9	10	01	70	3.68	
	60	8.5	10	01	75	4.09	
	80	9.5	10	01	85	4.38	
	100	9.75	10	01	87.5	4.60	
Chloroforme	20	6	10	01	50	2.99	
	40	6.5	10	01	55	3.68	
	60	8	10	01	70	4.09	
	80	9.2	10	01	82	4.38	
	100	10	10	01	90	4.60	
Méthanol	20	3.5	10	01	25	2.99	
	40	5	10	01	40	3.68	
	60	7.5	10	01	65	4.09	
	80	9	10	01	80	4.38	
	100	9.5	10	01	85	4.60	

Le pourcentage des larves d'*Artémia salina* exposées aux extraits d'algues brunes *Cystoseira stricta* est illustré par la figure 22.

Les résultats indiquent que les extraits bruts des échantillons d'algues brunes *Cystoseira stricta* de la plage de Sidi Ladjel sont toxiques pour l'*Artémia salina*, les plus toxiques sont ceux du chloroforme et l'éther de pétrole, suivi des extraits de méthanol et de hexane qui sont moyennement toxiques en dose-dépendante de 20% à 100%.

Les extraits ont donné des résultats différents pour chaque concentration soumise à la saumure et le pourcentage de mortalité des larves croit en fonction de la concentration ; ce qui est clairement illustré par les courbes représentées dans la figure 22.

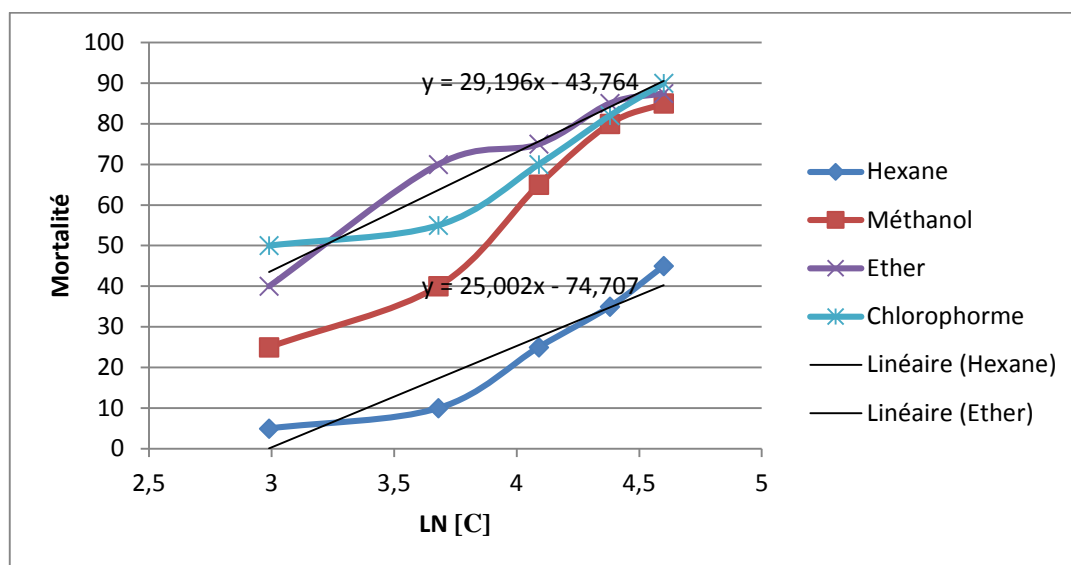


Figure 22: Graphe de la mortalité aux différentes valeurs de concentration d'extraits par différents types solvants.

Les concentrations ont présenté plus de 80 % de mortalité de l'*Artémia salina* après 24 heures par les extraits de l'éther, du chloroforme et du méthanol (figure 22).

Ces extraits de solvants ont donné des taux de mortalité 10% à 40% pour l'hexane, 25% à 85% pour méthanol, le chloroforme à donner une mortalité de 50% à 90% et enfin l'éther de pétrole affiche un taux de mortalité allant de 40% à 90%.

On peut relever de la figure 22 que le pourcentage de mortalité de l'*Artémia salina* augmente après 24 heures d'exposition aux différentes concentrations d'extraits d'algues brunes bruts, qui a été supérieur à 50% pour la plupart des composants indiquant que ces extraits de l'éther, le méthanol et le chloroforme son toxiques.

De ce fait, on peut relever que ces solvants ont un effet sélectif et des principes actifs extraits à partir de l'algue brune étudiée. Pour cela, la substance extraite de cette algue a différents effets sur les larves d'*Artémia salina*, selon les types de solvants utilisés lors de l'extraction. Cette variabilité des résultats de l'activité biologique des extraits d'algues brunes peut dépendre des contenus à composés chimiques.

La toxicité des extraits à base de cette algues exprimée en DL_{50} est généralement imposée à une comparaison valorisée de Clarkson et al, 2004 et/ou Meyer et al., 1982.

Les critères de toxicité pour l'évaluation de la toxicité de Clarkson d'extraits végétaux sont classifiés comme suit:

Les extraits avec une DL_{50} supérieure à 1000mg / ml ne sont pas toxiques, les DL_{50} comprises entre 500 - 1000 pg /ml sont faiblement toxiques et ceux présentant une DL_{50} de

100 -500 ug / ml sont alors moyennement toxiques, tandis que les extraits avec une DL_{50} de 0 -100 ug / ml sont hautement toxiques (Clarkson et *al.*, 2004).

Concernant nos résultats, Les valeurs de la dose de létalité « DL_{50} » des différents extraits de solvants obtenus par les différentes expressions linéaires sont affichées dans le tableau 6 et illustrées par la figure 23.

Tableau 6: Valeurs DL_{50} des extraits de *Cystoseira stricta*

Espèce	Extrait	DL_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
<i>Cystoseira stricta</i> Sp	Hexane	146.62
	Ethère	15.36
	Chloroforme	19.88
	Méthanol	39.64

Selon le graphe (Fig 23), l'extrait de l'hexane présente une valeur d'activité cyto-toxique DL_{50} supérieur à 146.62 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ce qui le classe selon Clarkson et *al.*, 2004 comme étant moyennement toxique.

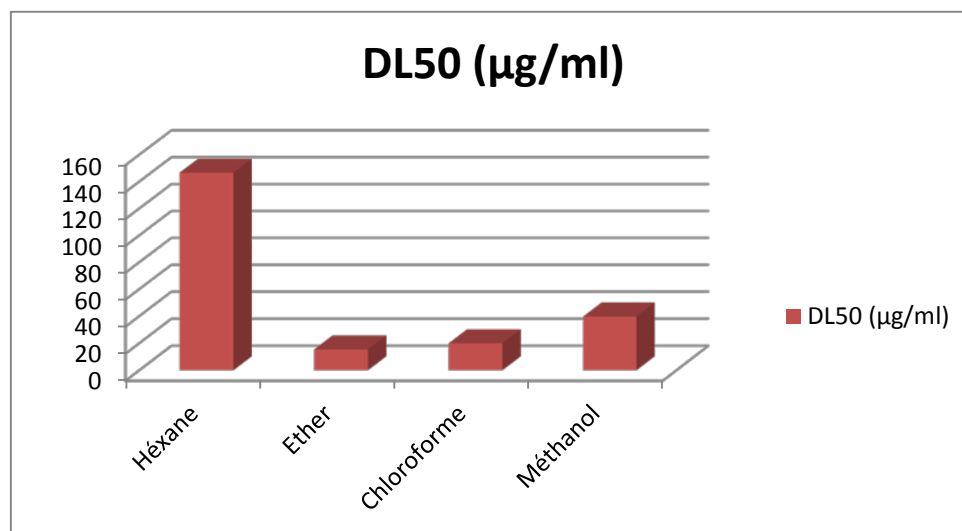


Figure 23 : Valeurs de la dose de létalité « DL_{50} » des différents extraits

Alors que les autres extraits de *Cystoseira stricta* sont hautement toxiques à l'égard des larves d'*Artémia salina* avec une DL_{50} de 15.36, 19.88 et 39.64 pour l'éther, le chloroforme et le méthanol respectivement.

Afin de comparer cette toxicité notée à d'autres produits déjà testés, on a utilisé les résultats d'autres tests soumis à l'*Artémia salina* qu'on a résumés dans le tableau 7

Tableau 7:Résultats des DL₅₀ des Produits de référence (M.H. Moshafi et *al.*,2009)

Produit	DL ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Podophyllotoxine (alimentaire)	2.4
Digitaline (pharmaceutique)	77.2
Sulfate de strychnine	515

Ces résultats montrent que nos extraits sont inférieurs au sulfate de strychnine (515 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ; mais se trouvant dans l'intervalle de la podophyllotoxine avec 2,4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et la digitaline avec 77,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Conclusion

Depuis les temps anciens, les Hommes ont utilisé les algues marines comme ressources de molécules bioactives dans différents domaines, autant que médicament, produit pharmaceutique, agricole ou encore pour l'alimentation (Jaramillo, 1989).

Cette utilisation a une grande importance, Cependant, de nombreuses algues sont connues pour être toxiques. Pour cette raison, cette contribution de recherche est effectuée en vue de déterminer l'action de l'utilisation et la toxicité de ces algues, à cet effet on a proposé l'utilisation de la réponse photo tactique des nauplii d'*Artémia* Comme une réponse appropriée aux composés stressants environnementaux ; D'autant plus que selon Varo et *al.* en 2002 (a, b) ont soumis que l'*Artémia* peut être utilisée dans des tests comme des bio marqueurs.

Cette étude a donné de faibles valeurs de DL_{50} pour les algues brunes *Cystoseira stricta* obtenues à partir des différents extraits testés, cette action toxique est attribuée à un cytogène et de composés toxiques présents dans cette algue, pour cela l'étude de la toxicité est indispensable pour situer les limites de tolérance.

Cette étude a montré en particulier une abondance de ce groupe de composés toxiques, dont l'activité principale est antifongique, antimycosique, anti-inflammatoire et antihelminthique revêt un intérêt particulier dans diverses pathologies

De ce fait, l'extrait le plus toxique présente une DL_{50} la plus basse et delà, par la comparaison des différentes concentrations létales pour les ténacés, il est tout à fait possible de déterminer si l'espèce est plus sensible et peut être touchée par la pollution de son biotope.

Références Bibliographiques

- **A. Abouriche, M. Charrouf, M.Berrada, A. Bennamara, N. Chaib, C.Francisco, 1999-** ‘‘Antimicrobial activities and cytotoxicity of the brown alga *Cystoseiratamariscifolia*’’, *Fitoterapia*, Vol 70, pp 611-614.
- **A. Bennamara, A. Abouriche, M. Berrada, M. Charrouf, N. Chaib, M. Boudouma, F.X. Garneau, 1999-** ‘‘Methoxybifurcarenone : an antifungal and antibacterial meroditerpenoid from the brown alga *Cystoseiratamariscifolia*’’, *Phytochemistry*, Vol 52, pp 37-40;
- **A. Ortalo-Magné, G. Culioli, R. Valls, B. Pucci, L. Piovetti, 2005 -** ‘‘Polar acyclic diterpenoids from *Bifurcaria bifurcate* (Fucales, Phaeophyta)’’, *Phytochemistry*, Vol 66, pp 2316-232.
- **A.A. El Gamal, 2010 -** ‘‘Biological importance of marine algae’’, *Saudi Pharmaceutical Journal*, Vol 18, pp 1-25.
- **B. Banaigs, C. Francisco and E. Gonzalez, W. Fenical, 1983 -** ‘‘Diterpenoid metabolites from the marine alga *Cystoseiraelegans*’’, *Tetrahedron*, Vol 39, pp-629-638.
- **B. De Revers, 2002-** ‘‘Biologie et phylogénie des algues, tome 1’’, Edition Bellin, pp 351.
- **Boucheseiche, C., Cremille, E., Pelte, T., Pojer, K., 2002-** Guide technique n°7– Pollution toxique et écotoxicologie : Notions de base. Ed. Agence de l’Eau Rhône Méditerranée et Corse, France,
- **C. Francisco, B. Banaigs, L. Codomier, A. Cave, 1985 -** ‘‘Cystoseirol A.A noval rearranged diterpene of mixed biosynthesis from the brown alga *Cystoseiramediterranea*’’, *Tetrahedron Letters*, Vol 26, pp 4919-4922.
- **F. Gévaert, (2001) -** ‘‘Importance des facteurs de l’environnement et du phénomène de photo-inhibition sur la production des grandes algues marines’’, Thèse de Doctorat, Université des sciences et technologies de Lille, France
- **G. Culioli, M. Daoudi, V. Mesguiche, R. Valls, L. Piovetti.1999-** ‘‘Geranylgeraniol-derived diterpenoids from the brown alga *Bifurcariabifurcata*’’, *Phytochemistry*, Vol 52, pp 1447-1454.

- **H.Riadi , 1998-** ‘‘Biodiversité des algues marines’’, Rapport étude nationale de biodiversité, Faculté des sciences Tetouan Maroc, Projet GEF/6105-92, pp 96.
- **J. F. Biard, 2004 -** ‘‘ Les médicaments de la mer : l’actualité ‘’, Pathologie Biologie, Vol 52, pp 1-3.
- **J. Guezennec, C. Debitus,2005 -**‘‘Les ressources marines de la Polynésiefrançaise: applications en matière de biotechnologie’’, Substances naturelles en Polynésiefrançaise, IRD éditions, pp 39.
- **J.F. Biard, 2004-**‘‘Les médicaments de la mer: l’actualité’’, Pathologie Biologie, Vol 52, pp 1-3
- **J.L. Morère, R. Pujol, 2002-**Dictionnaire raisonné de biologie’’, Edition Frison-Roche, pp 1222.
- **J.M. Kornprobst, 2005 -**‘‘Substances naturelles d’origine marine: chimio diversité, pharmaco diversité biotechnologie’’ Lavoisier Librairie, pp 1800.
- **J.P. Maréchal, G. Culioli, C. Hellio, H. Guyon, M.E. Callow, A.S.Clare, A.Ortalo-Magne, 2004-**‘‘ Seasonal variation in antifouling activity of crude extracts of the brown alga *Bifurcaria bifurcate* (Cystoseiraceae) against cyprids of *Balanus Amphitrite* and the marine bacteria *Cobetia marina* and *Pseudo alteromonas haloplanktis*’’, Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, Vol 313, pp 47-62.
- **k. Hillier, M. Rakkar, 2008 -**Alginic Acid’’, xPharm : The Comprehensive Pharmacology Reference, pp1-3.
- **L. Ktari, 2000 -**‘‘Recherche de composés actifs dans les algues marines: propriétés pharmacologiques simulation de cycle biologique de l’algue et de la biosynthèse d’un métabolite’’, Thèse Doctorat, Université de Paris VI, Paris, France.
- **M. Daoudi, S. Bakkas, G. Culioli, A. Ortalo-Magné, L. Piovetti, M.D. Guiry.2000-** ‘‘ Acyclic diterpenes and sterols from the genera *Bifurcaria* and *Bifurca riopsis* (Cystoseiraceae, Phaeophyceae)’’, Biochemical Systematics and Ecology, Vol 29, pp973-978.
- **M. Fadli, J.M. Aracil, G.Jeanty, B. Banaigs, C. Francisco, S. Moreau, 1991-** ‘‘Méditerranéol E : Proposition de structure pour un méro-diterpène Transposé de l’algue brune *Cystoseira mediterranea*’’, Tetrahedron Letters, Vol 32, pp 2477-2480.

- **M. Garcia- Rocha, P. Bonay, J. Avila, 1996** - "The antitumoral compound Kahalalide F acts on cell lysosomes", *Cancer letters*, Vol 99, pp 43-50.

-**M. Rakba, 1987** -"Défense chimique des algues brunes de la famille des Cystoseiraceae. Nouvelle classe des métabolites secondaires (meroditèrpenes) à bio-gène mixte isolés de *Cystoseira stricta*", Thèse de Doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse, France.

-**M.H. Moshafi et al., F. Sharififar, G. Dehghan, A. Ameri, 2009**- "Bioassay Screening of the Essential Oil and Various Extracts of Fruits of *Heracleum persicum* Desf. and Rhizomes of *Zingiber officinale* Rosc. using Brine Shrimp Cytotoxicity Assay", *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, Vol 8, pp 59-63.

-**ONU, 2010**- Organisation internationale des Nations Unies. ONU.

- **R. Falshaw, R.H. Furneaux, E.D. Stevenson, 2005** -"Structural analysis of carrageenans from the red alga, *Callophyllis hombroniana* Mont. Kütz (Kallymeniaceae, Rhodophyta)", *Carbohydrate Research*, Vol 34, pp 1149-1158.

- **R. Valls, 1993**-"Séparation, identification, étude spectroscopique de métabolites secondaires d'algues brunes (Cystoseiracées). Dosage- Variations-Chimio-taxonomie", Thèse d'Etat, Tome 1, Université d'Aix-Marseille 3, Aix-en-Provence, France.

- **R. Valls, L. Pioveti, 1995** - "The chemistry of the cystoseiraceae (Fucales :Pheophyceae) : Chemotaxonomic relationships", *Biochemical Systematics and Ecology*, Vol 23, pp 723-745

121 p.

-**V. AMICO, 1995** -"Marine brown algae of family Cystoseiraceae: Chemistry and chemotaxonomy", *Phytochemistry*, Vol 39, pp 1257-1279.