

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIC ALGERIENNE DEMOCRATIQUE POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل  
École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



Mémoire De Fin D'études En Vue De L'obtention Du Diplôme d'Ingénieur  
En Sciences De La Mer

Option : **Biotechnologie marine**

**Thème :**

**Diagnostic sur la contamination des mollusques par  
le phytoplancton toxique ou/et nuisible d'une ferme  
conchylicole « CULTMARE »**

Réalisé par :

Mlles : - **BAKHTI Selma**  
- **BELBELHOUT Amel**

**Soutenu publiquement le : 01 / 10 / 2023.**

Devant le Jury composé de :

Présidente :	<b>Mme. Mehdid, S.</b>	Maître- Assistant(A)	ENSSMAL
Examinatrice :	<b>Mme. Sengouga, A.</b>	Maître- Assistant (A)	ENSSMAL
Promotrice :	<b>Mme Kaidi, N.</b>	Maître- Assistant(A)	ENSSMAL
Examinatrice BMC :	<b>Mme. Maouel</b>	Maître- Assistant (B)	ENSSMAL
Co-promotrice :	<b>Mme. Akli, S.</b>	Chargée du service phytoplancton	LNCAAPPASM

**Année universitaire : 2023 – 2024**

## **Remerciements**

*Avant tout, nous remercions, Dieu tout puissant de nous avoir guidé durant toutes ces années et nous avoir permis de réaliser notre rêve et celui de nos parents. On tient à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à la promotrice de ce travail, Mme. KAIDI Nawel pour sa gentillesse, son aide et surtout pour son assistance malgré ses nombreuses charges et ses précieux conseils pour assurer le succès de ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements et notre sincère reconnaissance à notre copromotrice Madame AKLI Sihem d'avoir accepté de nous encadrer et initier à la recherche. Nous la remercions vivement pour ces précieux conseils qui nous ont permis de réaliser et de mener à bien ce travail.*

*Nous remercions Madame AMALOU Saida, Directrice du Laboratoire National de Contrôle et de l'Analyse des Produits de la Pêche et de l'Aquaculture et de la Salubrité des Milieux (LNCAPPASM) de nous avoir accueilli au laboratoire et autorisé à effectuer notre projet de fin d'étude.*

*Nous tenons à remercier vivement Monsieur BOUDJELAL Benyahia, ainsi que tout le Staff de la station de recherche de Sidi-Fredj pour leur accueil si généreux, leur précieuse aide et leurs convenables conseils et encouragements.*

*Nous tenons aussi à exprimer nos chaleureux remerciements et notre sincère reconnaissance à Dr. SEMRI Mohamed et Dr. HOCINE Amina pour tous les efforts déployés.*

*Nous sommes particulièrement honorées de la présidence du Jury.....*

*Nos vifs remerciements tous les chercheurs du l'école en particulier les ingénieurs du laboratoire madame Houda et Monsieur Nouredine, et du laboratoire « LNCAPPASM » en particulier Mlle GUECHTOULI Battoul qui a suivi ce travail avec beaucoup d'intérêts, son aide et ces précieux conseils.*

*A tous ceux qui nous ont aidés à accomplir ce travail qu'ils trouvent ici l'expression de nos profondes gratitude.*

## *Dédicaces*

*A l'aide de dieu le tout puissant, je dédie ce travail*

*A la mémoire de mon très cher Père Mourad*

*Qui a tant attendu ce jour.*

*Je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir.*

*A ma chère mère Leila, qui m'a toujours soutenu puisse Dieu te protéger.*

*A mes adorables sœurs*

*Imene & Roza*

*A mon cher frère Abdelghani*

*En souvenir d'une enfance dont nous avons partagé les meilleurs et les plus agréables moments.*

*A ma chère et meilleure amie Ghada.*

*A ma chère binôme Amel.*

*A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.*

## *Dédicaces*

*Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail  
À ma chère mère et mon cher père qui m'ont soutenu et encouragé durant ces  
années d'études.*

*Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.*

*À mes sœurs et frères pour ses soutiens moral tout au long de mes études.*

*À titis ouardia ma grande mère Qui je souhaite une longue vie pleine de santé.*

*À ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la  
vivacité.*

*À Lyna ma meilleure amie à Soumia et Feriel qui ont partagé avec moi tous les  
moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. Ils m'ont  
Chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours. À tous  
mes amies À tous mes amis qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite  
plus de succès.*

*À ma chère binôme Selma Pour son entente et sa sympathie.*

*À tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.*

*Merci !*

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.1 :</b> Les différentes catégories des phytoplanctons selon leurs tailles d'après (Sieburth et al., 1978 in Reynolds, C.S., 2006). .....	5
<b>Tableau 1.2 :</b> Description des intoxications humaines après ingestion d'organismes contaminés : Phycotoxines classées en 5 principales catégories sur une base symptomatique (D'après Anderson et al., 2001 ; Hallegraeff, 2003). .....	17
<b>Tableau 2.1 :</b> Tableau synoptique des stations échantillonnées .....	35
<b>Tableau 2.2:</b> Calendrier des sorties de terrain .....	35

## Liste des Figures

<b>Figure 1.1:</b> Structure d'un dinoflagellé .....	7
<b>Figure 1.2:</b> Kystes au repos de <i>Scropsiella</i> sp. ....	8
<b>Figure 1.3:</b> Variété des frustules de diatomées (Mathieu et al., 2011). ....	9
<b>Figure 1.4:</b> Représentation schématique de l'organisation d'une cellule végétative de cyanobactéries.....	10
<b>Figure 1.5:</b> <i>Phacus longicauda</i> var. <i>Tortus</i> (Wołowsk. 2012).....	11
<b>Figure 1.6:</b> <i>Actinastrum hantzschii</i> (Chlorophycée) (Atanle et al. 2013).....	11
<b>Figure 1.7:</b> <i>Ostreopsis</i> lors d'un événement de floraison (photographie d'Hubert Grossel, IFREMER). ....	13
<b>Figure 1.8:</b> <i>N. scintillans</i> comme un bloom dans la mer d'Arabie. ....	13
<b>Figure 1.9:</b> Espèces et organismes phytoplanctoniques causant des proliférations d'algues nuisibles toxiques (HAB) (d'après Steve Morton et l'Administration Nationale des océans et de l'Atmosphère). ....	14
<b>Figure 1.10:</b> Répartition mondiale connue de l'intoxication paralysante aux mollusques (IPP) en 1970 et 2000.....	21
<b>Figure 1.11:</b> Répartition mondiale connue de l'intoxication diarrhéique aux mollusques (DSP) en 1990 et 2000. ....	21
<b>Figure 1.12:</b> Répartition mondiale connue de l'intoxication amnésique aux mollusques (ASP) en 1990 et 2000. ....	22
<b>Figure 1.13:</b> Exemples d'espèces toxiques de la mer Méditerranée. ....	26

<b>Figure 1.14:</b> Aire de répartition géographique des espèces potentiellement toxiques dans la mer Méditerranée. Répartition des espèces connues pour produire des toxines liées à : A) l'intoxication diarrhéique aux mollusques (PSD), <i>Dinophysis</i> spp. et les espèces benthiques <i>Prorocentrum lima</i> et <i>P. rhathymum</i> . B) Paralytic shellfish poisoning (PSP), <i>Alexandrium</i> spp. et <i>Gymnodinium catenatum</i> . C) Amnesic shellfish poisoning (ASP), <i>Pseudo-nitzschia</i> spp. et <i>Nitzschia bizertensis</i> . .....	27
<b>Figure 1.15:</b> Chair et coquilles de moules, au cours de cette étude (Photo prise avec un téléphone portable).....	28
<b>Figure 1.16:</b> Les huîtres de Kouali « <i>Ostrea giga</i> » ( <a href="http://cultmare.com/production-huitres-algerie/">http://cultmare.com/production-huitres-algerie/</a> ).....	29
<b>Figure 2.1:</b> Organigramme interne du laboratoire LNCAPPASM ( <a href="https://www.lncappasm.dz/organisation-interne/">https://www.lncappasm.dz/organisation-interne/</a> ).....	31
<b>Figure 2.2:</b> La ferme conchylicole « CULTMARE » (source : google earth ; CULTMARE, 2023). .....	32
<b>Figure 2.3:</b> La localisation de la baie de Bou-Ismaïl. ....	33
<b>Figure 2.4:</b> Aménagement de parc conchylicole en mer (d'après rapport technique CULTMARE, 2020). ....	34
<b>Figure 2.5:</b> Système du prélèvement intégré sur la totalité de la colonne d'eau (technique du tuyau) (NF EN 15972, 2011).....	36
<b>Figure 2.6:</b> L'autoanalyseur (SKALAR San plus). ....	39
<b>Figure 2.7:</b> Filtration de la chlorophylle a. (ENSSMAL, 2023).....	42
<b>Figure 2.8:</b> Extraction de la chlorophylle a. (a) les tubes contenant les filtres. (b) les tubes ont été posé dans un bac à ultrason. (ENSSMAL2023).....	43

<b>Figure 2.9:</b> Spectrofluorimètre à ultraviolet (SFUV) HITACHI, modèle 650-10S (ENSSMAL,2023) .....	43
<b>Figure 2.10:</b> Observation sous microscope inversé de type MOTIC. (LNCAPPASM,2023) .....	46
<b>Figure</b> Microscope inverse de type MOTIC modèle AE2000 (LNCAPPASM,2023). .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>Figure 2.12:</b> Stratégie de dénombrement dans le champ oculaire.....	47
<b>Figure 3.1:</b> Evolution temporelle de la température des eaux des stations échantillonnées. .....	52
<b>Figure 3.2:</b> Evolution temporelle de la salinité des eaux des stations échantillonnées. ....	53
<b>Figure 3.3:</b> Evolution temporelle des teneurs en oxygène dissous des eaux des stations échantillonnées. ....	53
<b>Figure 3.4:</b> Evolution temporelle des teneurs en nitrites au niveau des stations échantillonnées. ....	54
<b>Figure 3.5:</b> Evolution temporelle des teneurs en nitrates au niveau des stations échantillonnées. ....	55
<b>Figure 3.6:</b> Evolution temporelle des teneurs en phosphates au niveau des stations échantillonnées. ....	55
<b>Figure 3.7:</b> Evolution temporelle des teneurs en ammonium au niveau des stations échantillonnées. ....	56
<b>Figure 3.8:</b> Evolution temporelle des teneurs en silicates au niveau des stations échantillonnées. ....	57

<b>Figure 3.9:</b> Evolution temporelle des teneurs en chlorophylle a au niveau des stations échantillonnées. ....	57
<b>Figure 3.10:</b> Proportion des classes phytoplanctonique observées au niveau stations ST 1, ST2, et ST3.....	59
<b>Figure 3.11:</b> Abondance moyenne des groupes phytoplanctoniques observés au niveau des stations échantillonnées.....	60
<b>Figure 3.12:</b> Distributions spatio-temporelles des densités phytoplanctoniques.....	60
<b>Figure 3.13:</b> Distribution des densités moyennes cellulaires (Cellules /l) des populations phytoplanctoniques au niveau des stations échantillonnées.....	61
<b>Figure 3.14:</b> Evolution de la richesse spécifique au niveau des stations échantillonnées. .	62
<b>Figure 3.15:</b> Toxines paralysantes (PSP) sur les souris du premier et deuxième essai, (Photo prise avec un téléphone portable). ....	75
<b>Figure 3.16:</b> Toxines diarrhéique (DSP) sur les souris du premier et deuxième essai, au cours de cette étude (Photo prise avec un téléphone portable).....	75
<b>Figure 3.17:</b> Souris morte sous l'effet de toxine paralysant (PSP). (Photo prise avec un téléphone portable).....	76

# Sommaire

INTRODUCTION .....	2
<b>I. CHAPITRE I : GENERALITES</b> .....	5
<b>I.1. Le monde phytoplanctonique</b> .....	5
<b>I.1.1. Généralités</b> .....	5
<b>I.1.2. Phylogénie et diversité du phytoplancton</b> .....	6
<b>I.1.3. Les efflorescences algales</b> .....	12
<b>I.1.4. Impact des efflorescences algales</b> .....	14
<b>I.2.1. Moule méditerranéenne « <i>Mytilus galloprovincialis</i> »</b> .....	27
<b>I.2.2. Les huîtres creuse « <i>Magallana gigas</i> »</b> .....	28
<b>II. CHAPITRE II : MATERIELS &amp; METHODES</b> .....	31
<b>II.1. Présentation de l'organisme d'accueil</b> .....	31
<b>II.1.1. Présentation de la zone d'étude</b> .....	32
<b>II.1.2. Météorologie</b> .....	33
<b>II.1.3. Les facteurs hydrodynamiques</b> .....	33
<b>II.1.4. Stratégie d'échantillonnage</b> .....	34
<b>II.2. Prélèvements des échantillons</b> .....	35
<b>II.3. Mesure des paramètres physiques in-situ</b> .....	37
<b>II.3.1. La température</b> .....	37
<b>II.3.2. La salinité</b> .....	37
<b>II.3.3. Oxygène dissous</b> .....	37
<b>II.3.4. Les sels nutritifs</b> .....	37
a) <b>Azote nitreux (<math>\text{NO}_2^-</math>)</b> .....	38
b) <b>Azote nitrique (<math>\text{NO}_3^-</math>)</b> .....	38
c) <b>Les Phosphates (<math>\text{PO}_4^{3-}</math>)</b> .....	38
d) <b>Les silicates (<math>\text{SiO}_2</math>)</b> .....	38
<b>II.4. Conservation des échantillons</b> .....	39
<b>II.5. Etude des paramètres chimiques</b> .....	39
<b>II.5.1. Sels nutritifs</b> .....	39
<b>II.5.2. Principe des dosages des sels nutritifs dans l'eau</b> .....	40
<b>II.6. Etude des paramètres biologiques</b> .....	41
<b>II.6.1. La chlorophylle a</b> .....	41
<b>II.6.2. Dosage de la chlorophylle a</b> .....	41
<b>II.7. Analyse du phytoplancton</b> .....	44

II.7.1. Principe d'analyse : (par la méthode d'Utermohl (Utermöhl 1931, 1958)).....	44
.....	47
II.7.3. Indices écologiques mesurés .....	47
II.8.1. Dosage des toxines diarrhéique (DSP) .....	48
II.8.2. Dosage des toxines paralysantes (PSP).....	49
<b>III. CHAPITRE III : RESULTATS &amp; DISCUSSIONS.....</b>	<b>52</b>
<b>III.1. Le milieu.....</b>	<b>52</b>
III.1.1. La température.....	52
III.1.2. La salinité .....	52
III.1.3. Oxygène dissous .....	53
III.1.4. Les sels nutritifs.....	54
<b>III.2. Analyse des paramètres biologiques.....</b>	<b>57</b>
III.2.1. Chlorophylle a .....	57
<b>III.3. Le phytoplancton .....</b>	<b>58</b>
III.3.1. Densité totale Dt .....	60
III.3.2. Variations des différentes classes dans la densité totale.....	61
III.3.3. Richesse spécifique des groupes phyoplanctoniques .....	62
III.3.4. Les espèces potentiellement nocives .....	63
<b>III.4. Tests biologiques sur souris .....</b>	<b>70</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>78</b>

# *Introduction*

---

## INTRODUCTION

Il existe de nombreuses créatures qui vivent sur notre planète et qui passent complètement inaperçues.

C'est le cas des microalgues, également appelées "phytoplancton". La communauté phytoplanctonique, vivant libres en suspension dans la colonne d'eau est ainsi à la base de la chaîne alimentaire aquatique. Les phytoplanctons ne sont pas appréciés exclusivement par le zooplancton, elles sont un aliment de choix pour des espèces filtreuses de plus grande taille comme les huîtres, les moules, à leur stade larvaire et durant toute leur vie d'adulte (Mollo, P. et Noury, A., 2013).

Les effleurences microalgales, Les efflorescences phytoplanctonique, les marées rouges ou les red tides (terme anglo-saxons), les algues toxiques ou les algues nuisibles sont tous des termes qui renferme à ce phénomène naturel. En termes d'effets nocifs, on peut considérer deux types d'organismes responsables des effleurences : les producteurs de toxines et les producteurs à forte biomasse. Sur les 4 000 microalgues marines, environ 200 peuvent être nocives. Parmi celles-ci, seulement 80 environ (principalement des dinoflagellés) peuvent être nuisibles. (Principalement des dinoflagellés) ont le potentiel de produire des toxines. Certaines espèces de HABs sont liées à ces deux (Maso, M. and Garcés, E., 2006).

La prolifération microalgales, est bénéfique pour l'aquaculture et la pêche. Néanmoins, dans certains cas, la prolifération des microalgues produisent des effets négatifs, entraînant des pertes économiques pour l'aquaculture, la pêche et le tourisme, avec des problèmes environnementaux et sanitaires majeurs (Lagos, N., 1998).

En Algérie, les fruits de mer sont peu consommés et la production conchylicole reste encore un peu limitée. Ceci peut expliquer le fait que nos populations aient été préservés des intoxications par les HABs, malgré la présence de nombreuses espèces toxiques sur nos côtes (Ferhi et *al.*, 2007). Avec la création de plusieurs site aquacoles et l'aménagement des zones littorales protégées, les risques des HABs sont susceptibles de générer au futur.

En tant que mesure de sécurité environnementale ainsi que sanitaire la mise en place d'un programme de surveillance continue de détecter la présence des phycotoxines dans les eaux littorales algérienne et une surveillance plus intensive pour les espèces phytoplanctoniques toxiques et/ou nuisible afin de connaître la biomasse de phytoplancton, sa composition détaillée et son évolution.

Dans notre étude nous avons choisi la ferme CULTMARE l'une des projets de conchyliculture qui situe au centre de l'Algérie, c'est une entreprise algérienne spécialisée dans l'élevage des moules et des huîtres implantées en bord de mer, à l'Est de Tipaza.

L'objectif assigné par ce travail est la Recherche et l'identification des espèces phytoplanctoniques toxiques et/ou nuisibles et à suivre leur développement et leur

dynamique ainsi qu'évaluer la présence et l'abondance de phytoplancton dans le cadre de la surveillance de la qualité des eaux d'une ferme conchylicole « CULTMARE » ; déterminer si les moules de la ferme conchylicole sont contaminées par la présence des phytoplanctons toxiques en détectant la présence des phycotoxines dans la chair de ces derniers ; Ainsi, pour répondre à ces objectifs, les chapitres suivants ont été accomplis :

Le premier chapitre sert à donner des notions générales sur le phytoplancton et sa diversité, ses principales classes selon des critères morphologiques, cytologiques, biochimiques et reproductifs. Puis, les efflorescences algales en touchant le phénomène de bloom.

Dans le second chapitre on verra quelques indications sur la zone d'étude portant une démonstration de sa position géographique, stratégie d'échantillonnage, puis l'étude des paramètres chimiques et biologiques et faire la détermination du phytoplancton par la méthode d'Utermohl. Puis, finissant par les tests biologiques sur souris pour l'analyse des phycotoxines diarrhéiques et paralysantes chez les moules et les huîtres d'élevage, du ferme « CULTMARE » à Tipaza.

Le troisième chapitre constitue le traitement et l'analyse des résultats de manipulations. Dans cette partie on verra une discussion des résultats des paramètres analysés, des corrélations entre ces paramètres ainsi que la composition taxonomique du phytoplancton en spécifiant les distributions des densités phytoplanctoniques, la richesse spécifique, et la dominance relative faisant une étude comparative et évolutive.

*CHAPITRE I :*  
*GENERALITES*

---

---

# I. CHAPITRE I : GENERALITES

## I.1. Le monde phytoplanctonique

### I.1.1. Généralités

Le phytoplancton (du grec *Phyton* ou plante et *Planktos* ou errant) est constitué par l'ensemble du plancton végétal ; ce sont des microorganismes unicellulaires photosynthétiques et vivants libres en suspension dans la colonne d'eau (Rolland, 2009). Le phytoplancton se concentre dans les couches de surface bien éclairées des milieux aquatiques, et peut vivre dans des profondeurs allant jusqu'à 200 m dans les eaux les plus claires.

La plupart des espèces phytoplanctoniques possèdent des tailles comprises entre 0,4 et 200  $\mu\text{m}$  (Simon et al, 2009). Il s'agit de cellules, colonies ou filaments dont les mouvements dépendent de ceux de l'environnement aquatique ; certains groupes sont motiles (flagellés ou ciliés) dont les déplacements sont restreints (mouvement passif).

Bien que les organismes phytoplanctoniques représentent seulement 1% de la biomasse des organismes photosynthétiques sur Terre, ils assurent 45 % de la production primaire (Chisholm, 1995 ; Behrenfeld et al., 2001). Ils sont ainsi à la base de la chaîne trophique pélagique (Azam et Malfatti, 2007) et sont donc responsables d'une part essentielle de la production primaire dans les milieux aquatiques.

Dans le milieu aquatique, on distingue les phytoplanctons marins et d'eau douce, il peut vivre libre dans la colonne d'eau où résider sur le fond, développant ainsi une fine couche appelée Biofilm. Les micro-algues marines situées dans la colonne d'eau sont qualifiées de phytoplancton et celles localisées sur le fond constituent le Microphytobenthos (Fleurence, J.,2021). Certaines espèces vivent en association avec des animaux comme les protozoaires, les éponges et les ascidies (endozoïques), ou avec des végétaux comme les fougères aquatiques ou les angiospermes (endophytiques) (Couté et Bernard 2001).

**Tableau 1.1** : Les différentes catégories des phytoplanctons selon leurs tailles d'après (Sieburth et al, 1978 in Reynolds, C.S, 2006).

Les dimensions	Catégories
0.2–2 $\mu\text{m}$	Picophytoplancton
2–20 $\mu\text{m}$	nanophytoplancton
20–200 $\mu\text{m}$	Microphytoplancton
200 $\mu\text{m}$ –2 mm	Mésophytoplancton
>2 mm	Macrophytoplancton

---

## I.1.2. Phylogénie et diversité du phytoplancton

Le phytoplancton regroupe deux types d'organismes qui diffèrent au niveau cytologique essentiellement par la présence (eucaryotes) ou non (procaryotes) d'un noyau cellulaire (ADN confiné dans une enveloppe nucléaire) (Prescott *et al.*, 2003). Au sein de ce groupe diversifié d'organismes, on peut distinguer trois lignées évolutives de base discernables :

La première contient tous les phytoplanctons procaryotes, qui appartiennent tous à une classe de bactéries, à savoir les cyanobactéries. Ces organismes dominent numériquement les écosystèmes marins ;

Au sein des eucaryotes, on peut distinguer deux groupes principaux :

- La lignée verte où la chlorophylle b synthétisée en tant que pigment secondaire ;
- La lignée rouge se compose de plusieurs grandes divisions et classes de phytoplancton, dont les diatomées, les dinoflagellés, les haptophytes (notamment les coccolithophoridés) et les chrysophytes (Falkowski *et al.*, 2003).

Actuellement, la phylogénie est en pleine évolution, grâce notamment aux avancées technologiques en biologie moléculaire (Iglesias-Rodriguez *et al.* 2006 ; Not *et al.* 2007 ; Saez *et al.*, 2008).

Le phytoplancton est réparti en huit principales classes différenciées selon des critères morphologiques, cytologiques, biochimiques et reproductifs (Saez *et al.*, 2008).

### - Les Dinophycées (Dinoflagellés)

Les dinoflagellés sont un groupe remarquablement diversifié et complexe de flagellés unicellulaires avec au moins 130 genres et 1200 espèces vivantes (Roy *et al.* 2011). Le mot dinoflagellé a des racines grecques : « *Dino* » (tournoyer), « *Péridino-* » (tournoyer autour) ou « *Pyrrho-* » (rouge flamboyant). Ils sont des protistes eucaryotes unicellulaires leur taille varie de quelques micromètres à quelques millimètres dont certaines espèces sont coloniales et la formation de chaînes est courante (Moestrup, Ø., 1988) (Taylor *et al.*, 2008).

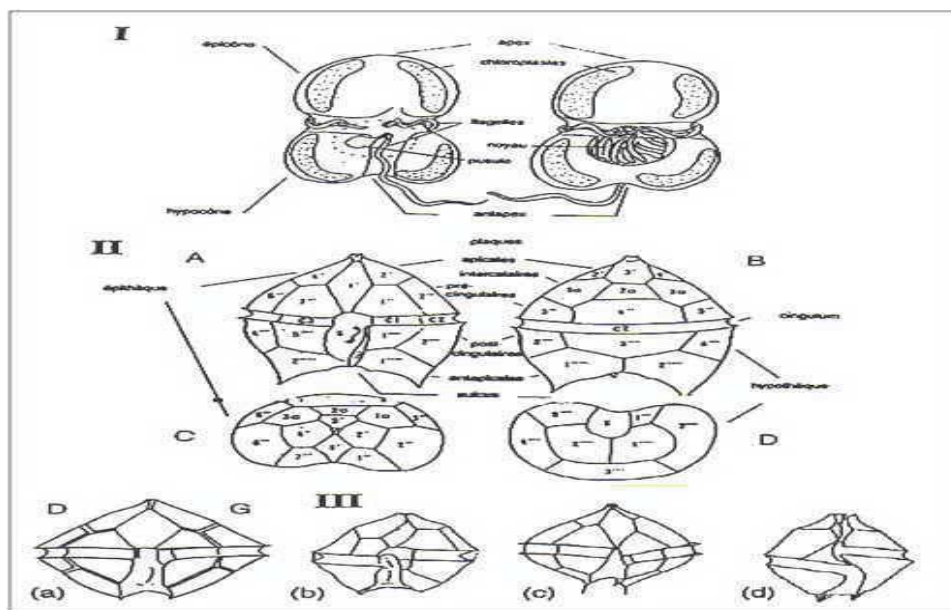
Ils sont largement répandus dans les océans tropicaux, subtropicaux, tempérés et polaires ; et sont également connus dans les eaux douces ; les dinoflagellés prolifèrent surtout dans les régions côtières.

Des kystes non mobiles sont formés dans le cadre du cycle de vie, favorisant la survie et la dispersion. Les modes nutritionnels des dinoflagellés peuvent varier d'autotrophes à mixotrophes, les cellules photosynthétiques pouvant être phagotrophiques même sur d'autres dinoflagellés (Kimor, 1981 ; Gaines et Elbrachter, 1987 *in* Tomas, C.R. ed, 1997).

Les dinoflagellés ont été classés essentiellement selon : d'une part, la forme de la cellule et des ces appendices éventuels, d'autre part, le nombre et la disposition des plaques cellulosesiques (Moestrup, Ø, 1988).

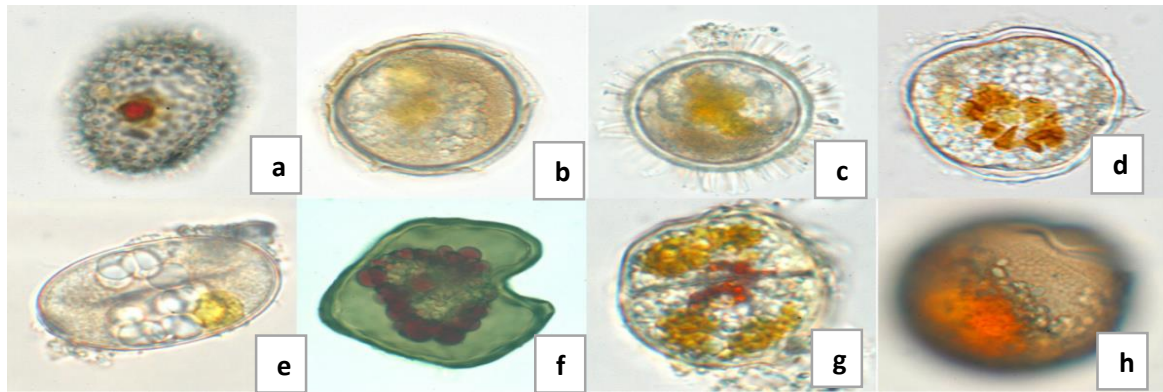
On distingue deux ordres de dinoflagellés :

- Cuirassés (Dinophysiales, Gonyaulacales, Peridinales, Prorocentrales et Suessiales) ils ont des vésicules amphiesmales relativement moins nombreuses, larges et avec du matériel cellulósique dedans ;
- L'ordre des dinoflagellés nus (sans armure) (Gymnodinales, Noctilucales et Syndinales) contiennent souvent des centaines d'alvéoles dépourvues de matériels cellulósiques (Orr, R. et *al*, 2012).



**Figure 1.1:** Structure d'un dinoflagellé ; I : morphologie d'un dinoflagellé nu ; II : Morphologie d'un dinoflagellé Cuirassé, A vue ventrale, B vue dorsale, C vue apicale, D vue antapicale ; III : orientation de la cellule d'un dinoflagellé (Dodge, 1982).

Plus de 10 % des quelques 2 000 espèces de dinoflagellés marins connues produisent des kystes dans le cadre de leur cycle de vie. Ces phases benthiques jouent un rôle important dans l'écologie de l'espèce, car elles font partie d'un lien planctonique-benthique dans lequel les kystes restent dans la couche de sédiments lorsque les conditions sont défavorables à la croissance végétative et, à partir de là, réinoculent la colonne d'eau lorsque les conditions favorables sont rétablies (Bravo, I. et Figueroa, R.I, 2014).



**Figure 1.2:** Kystes au repos de *Scripsiella* sp. (a), *Alexandrium pseudogoniaulax* (b), *Protoceratium reticulatum* (c), *A. taylori* (d), *A. tamarense* (e), *Protoperidinium oblongum* (f), *Kryptoperidinium foliaceum* (g), *Gymnodinium catenatum* (h). Barre d'échelle: 10  $\mu$ m (Bravo, I. et Figueroa, R.I., 2014).

### - Les Bacillariophycées (Diatomées)

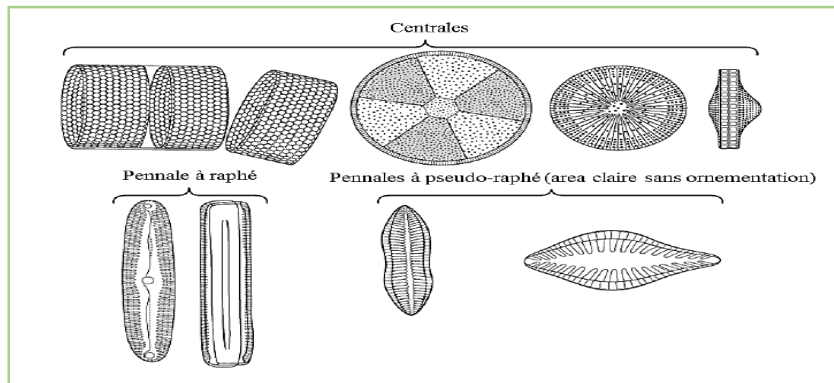
Les diatomées constituent l'une des classes dominantes du phytoplancton marin. Ce sont des algues unicellulaires caractérisées par la présence d'une capsule protectrice siliceuse « le frustule », constituée de deux parties emboîtées l'une dans l'autre.

Les diatomées sont essentiellement solitaires, les cellules peuvent rester unies entre elles après la multiplication végétative pour constituer des colonies de formes diverses. L'excellente morphologie siliceuse du frustule sur lequel repose la taxonomie des diatomées a permis de définir plus de 10 000 taxons vivants (Hostetter et Stoermer, 1971 ; Round et coll., 1990 in Johansen, J.R, 1988).

La classification des diatomées est essentiellement basée sur la morphologie et la structure du frustule ; la forme et le mode d'accrochage des colonies, les chloroplastes et le contenu cellulaire en général, fournissent des informations utilisées secondairement dans l'élaboration de la systématique. Les diatomées sont habituellement divisées en deux sous ordres :

Centrales : Valve circulaire, elliptique ou polygonale. La structure de la valve rayonne à partir d'un centre qui n'est pas toujours identique au centre morphologique (par exemple, *Rhizosolenia*). Reproduction sexuée par oogamie. (Figure 1.3). De nombreuses espèces sont capables de produire des spores au repos. Taxons principalement marins et planctoniques (Hoppenrath, M., Elbrächter, M. and Drebes, G, 2009).

Pénales : Valve linéaire à lancéolée, rarement elliptique et ronde. Les ornements des valves sont généralement disposés plus ou moins transversalement par rapport à l'axe apical. Avec ou sans raphé. Reproduction sexuelle par isogamie, rarement d'une autre manière. Gamètes sans flagelles. Certaines espèces marines sont capables de produire des spores au repos (*Fragilaria oceanica*, *Achanthes taeniata*) (Hoppenrath, M., Elbrächter, M. and Drebes, G., 2009). Cette distribution date de 1878 (Kirchner, 1878 in Johansen, J.R, 1988 ).



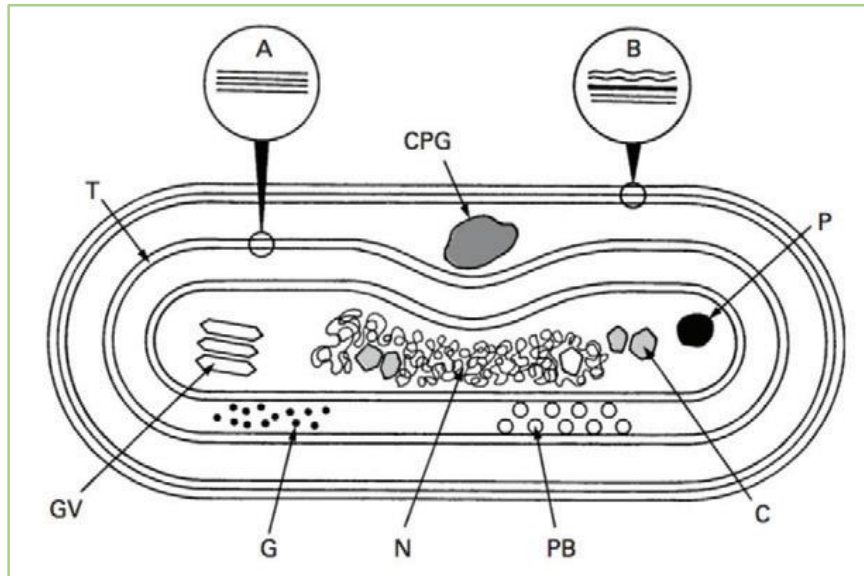
**Figure 1.3:** Variété des frustules de diatomées (Mathieu et *al*, 2011).

### - Les Coccolithophoridés

Les coccolithophoridés sont des flagellés qui se caractérisent essentiellement par une cellule revêtue de petites pièces calcaires massues agencées lâchement ou serrées en une plaque protectrice (coccolithes). Ils possèdent deux flagelles, deux grands chromatophores, des inclusions lipidiques et de leucosine (substance très proche de l'amidon). La reproduction se fait par simple division longitudinale, la coque se partageant entre cellules-filles et se complétant ensuite. En plus des flagelles, il existe chez quelques espèces de Coccolithophoridés et des anciennes Chrysophycées un filament susceptible de se fixer au substrat, appelé haptonème ; ces espèces sont groupées dans la classe Haptophycées (Lakkis, S, 2011).

### - Les Cyanophycées

Les cyanophycées ont une cytologie de bactéries et une physiologie d'algue. Elles sont unicellulaires, coloniales ou filamenteuse. La taille de la « cellule » est généralement petite par rapport à celle des eucaryotes et peut descendre jusqu'à dimension bactérienne (Moestrup, Ø,1988). Les cyanobactéries sont très diverses allant des petites formes unicellulaires (formant le picoplancton) jusqu'aux formes de plus grandes tailles, coloniales, filamenteuses ou ramifiées. (**Figure 1.4**). La multiplication cellulaire de ces individus se fait par fission binaire (Bernard, C, 2014).



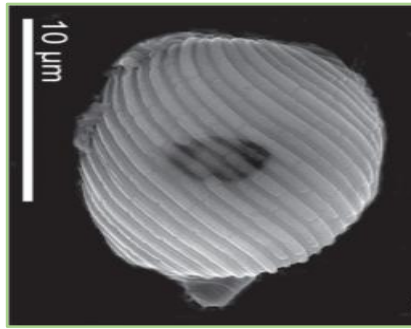
**Figure 1.4:** Représentation schématique de l'organisation d'une cellule végétative de cyanobactéries. **A:** membrane de thylacoïdes **B:** enveloppe cellulaire **C:** carboxysome **CPG:** granule de cyanophycine **T :** thylacoïdes **P :**granules de polyphosphate **N :** nucléoplasme **G :** granules de glycogène **PB :** phycobilisome **GV :** vésicules à gaz (Adapté de Stanier et Cohen-Bazire, 1977 in Bernard, C, 2014).

#### - Les Euglénophycées :

Les représentants de ce groupe possèdent un ou deux flagelles insérés à la partie antérieure de la cellule dans une invagination formée d'un canal étroit et d'une portion élargie appelée le réservoir (**figure 1.5**). Ces espèces sont métaboliques, c'est-à-dire qu'elles sont aptes à se déformer, leur membrane souple ou cuticule leur permettant des modifications plus ou moins fortes de la forme du corps.

Les principaux critères utiles à leur identification sont : la forme et la rigidité de la cellule, le nombre et la longueur des flagelles, le nombre et la forme des chloroplastes, la présence et le nombre de stries sur la cuticule, la présence ou l'absence de stigma, de photorécepteur et de vacuole contractile, ainsi que la forme et la position des grains de paramylon (Bérard-Therriault, L., Poulin, M. and Bossé, L, 1999).

Ils sont particulièrement abondants dans les eaux stagnantes (milieux lenticques) très riches en nutriments et en matières organiques. Elles sont souvent associées à la présence de sédiments, de macrophytes ou de débris de feuilles. Quelques espèces sont dominantes en milieu acide (Dussard, 1966).



**Figure 1.5:** *Phacus longicauda* var. *Tortus* (Wołowski, 2012).

- **Les Xanthophycées (algues jaune-vert)**

Algues unicellulaires, coloniales, filamenteuses et coenocytiques. Espèces généralement mobiles bifurquées de façon subaiguë et inégale ; deux ou plusieurs plastides discoïdes par cellule contenant de la chlorophylle a. Cellules principalement jaune-vert en raison de prédominance du pigment accessoire « diatoxanthine » ; produit d'assimilation lipidique (Reynolds, C.S, 2006).

- **Les Chrysophycées**

Les représentants de cette classe se caractérisent principalement par la présence d'un flagelle unique ou de deux flagelles inégaux. Les chrysophycées sont souvent présentes dans le phytoplancton marin mais elles sont rarement dominantes. Les cellules montrent une très grande variété de formes, et sont soit nues, recouvertes d'écailles organiques ou siliceuses, ou encore enfermées dans une lorica. Elles forment également des kystes appelés stomatocystes (Duff et *al.*,1995) (Bérard-Therriault et *al.*, 1999).

- **Les Chlorophycées**

Ces algues sont unicellulaires, à thalle massif pluricellulaires ou coenocytiques. Elles possèdent des plastes d'un vert franc, contenant de la chlorophylle a et b associée à l' $\alpha$  et  $\beta$ -carotène et des xanthophylles (Gorenflot et Guern,1989). Les principaux caractères utilisés pour distinguer ces genres sont la forme des chloroplastes, le nombre de flagelles, la présence ou l'absence d'une paroi cellulosique, d'un stigma et d'un pyrénioïde (Bérard-Therriault et *al.*, 1999).



**Figure 1.6:** *Actinastrum hantzschii* (Chlorophycée) (Atanle et al. 2013).

---

## - Les Cryptophycées

Les Cryptophytes sont parmi les organismes photosynthétiques les plus communs des eaux côtières marines et saumâtres. Elles sont très abondantes, mais leurs mouvements très rapides limitent cependant une bonne observation des cellules vivantes. La classification repose surtout sur la morphologie externe soit : la couleur et la forme de la cellule, la longueur des deux flagelles, la présence et la longueur d'un sillon ventral, d'un cytopharynx ainsi que la présence de trichocystes, la forme des chloroplastes, la position du stigma, du pyrénéoïde et du nucléomorphe, ainsi que l'ornementation de la paroi cellulaire ou périplaste (Bérard-Therriault, L., Poulin, M. and Bossé, L., 1999).

### I.1.3. Les efflorescences algales

Le phénomène de bloom (ou floraison) algal consiste en une augmentation rapide de la concentration d'algues planctoniques au sein d'un système aquatique. Il se manifeste notamment par une coloration de l'eau liée à la présence de fortes biomasses algales, ainsi que par une modification des conditions chimiques de l'eau, notamment une augmentation du pH et des fluctuations importantes de la concentration en oxygène dissous.

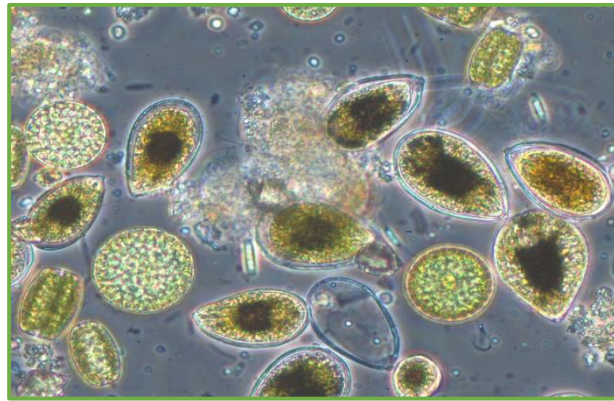
Ce phénomène est dû à la conjonction de conditions hydrologiques favorables au développement des algues et à l'absence de limitation par les nutriments assimilables par le phytoplancton.

Les principaux nutriments concernés sont le phosphore (sous forme d'ortho-phosphate), l'azote (sous forme d'ammonium, nitrite et nitrate) et la silice dissoute (utilisée par les algues siliceuses) (Garnier et *al* , 1995).

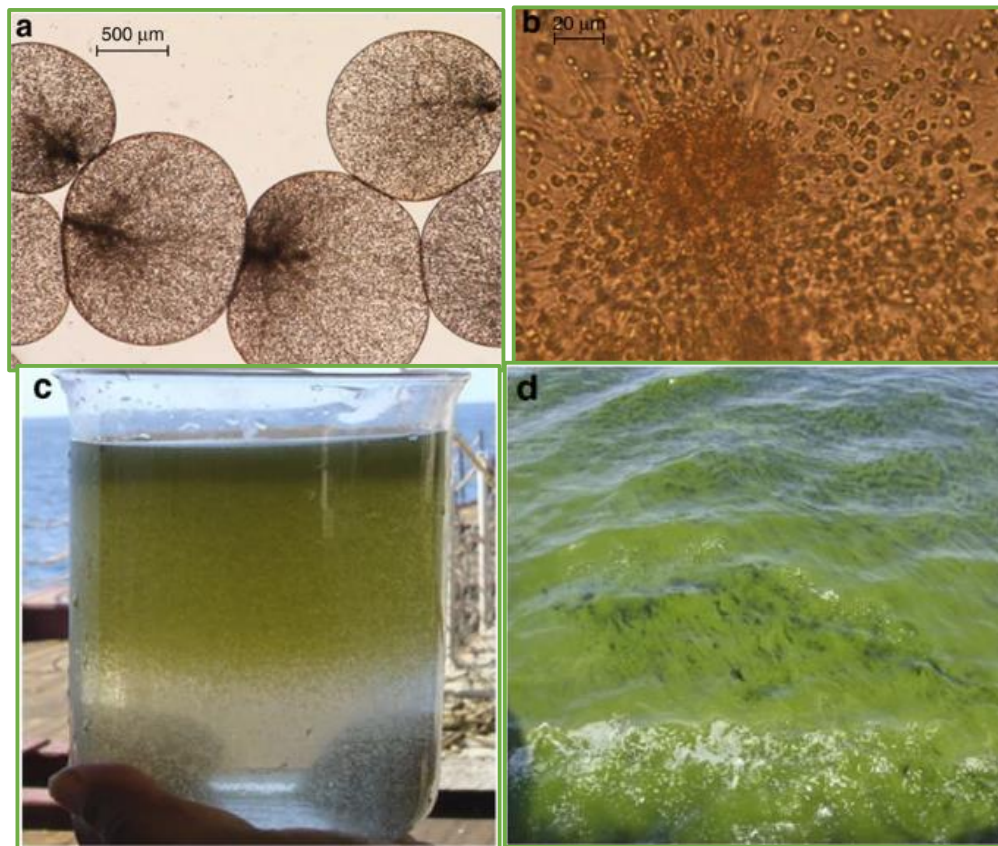
Les paramètres les plus influents pour le développement de blooms algaux et de cyanobactéries sont : la température de l'eau ; la lumière ; la quantité et la biodisponibilité des nutriments ; la dynamique des masses d'eau ; le pH et la pression exercée par les organismes prédateurs (Berghida, I., et Mechtri, A, 2017).

De plus, l'influence d'un paramètre unique ne permet pas à lui seul d'expliquer l'apparition des blooms, car ceux-ci résultent de la combinaison de plusieurs des facteurs précédemment cités (Berghida, I., et Mechtri, A, 2017).

a) **Espèces non toxique génératrices de blooms**



**Figure 1.7:** *Ostreopsis* (longueur approximative des cellules : 55  $\mu\text{m}$ , en association avec des diatomées centriques) lors d'un événement de floraison (photographie d'Hubert)

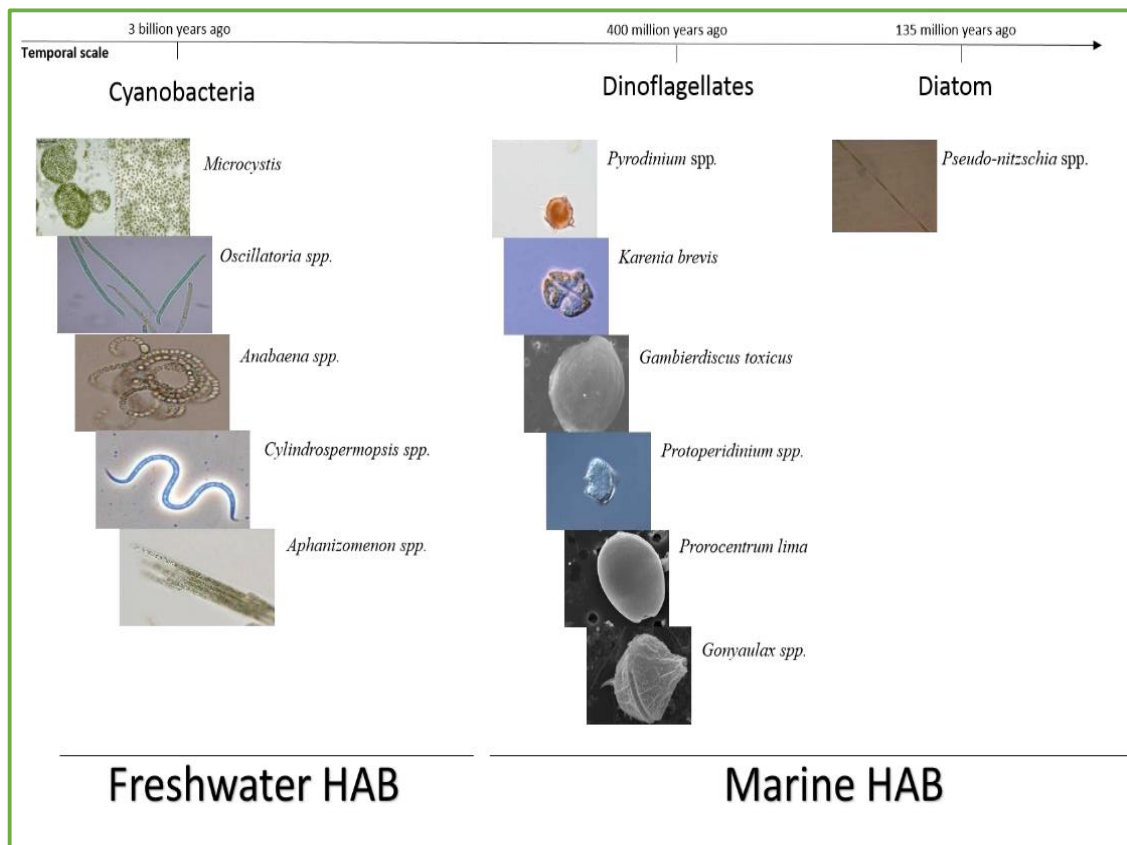


**Figure 1.8:** *N. scintillans* comme un bloom dans la mer d'Arabie. (a) Cellules uniques de *N. scintillans* avec l'endosymbiote *P. noctiluca*. (b) Gros plan de *N. scintillans* avec l'endosymbiote *P. noctiluca* et les diatomées ingérées. (c) *N. scintillans* dans un bécher montrant la densité de la floraison. (d) Floraison superficielle épaisse de *N. scintillans* dans la mer d'Arabie (d'après Vidéo montrant les endosymbiontes *P. noctiluca* et leur mouvement dans les cellules de *N. scintillans* (MOV 5340 kb).

## Efflorescences algales toxiques (HAB)

Parmi les nombreuses espèces constituant le phytoplancton, quelques-unes produisent des toxines que l'on appelle phycotoxines. Le nombre d'espèces toxiques existant au niveau mondial a été estimé à environ 70, c'est à dire 2% du nombre total. Elles appartiennent majoritairement à la classe des Dinophycées (Sournia, 1995 in Belin, C., et Raffin, B., 1998). On peut distinguer deux types de phycotoxines, selon leur cible :

- Certaines phycotoxines sont libérées dans l'eau et sont donc directement toxiques pour les espèces marines, végétales ou animales (Sournia, 1995 in Belin, C., et Raffin, B., 1998).
- D'autres phycotoxines s'accumulent dans les organismes qui se nourrissent du phytoplancton (ex. : coquillages, certains poissons, ...etc.). Ces derniers n'en sont pas affectés, mais deviennent toxiques et ne doivent plus être consommés (Sournia, 1995 in Belin, C., et Raffin, B., 1998).



**Figure 1.9:** Espèces et organismes phytoplanctoniques causant des proliférations d'algues nuisibles toxiques (HAB) (d'après Steve Morton et l'Administration Nationale des océans et de l'Atmosphère).

### I.1.4. Impact des efflorescences algales

Durant ces dernières années, la multiplication des efflorescences d'algues potentiellement toxiques est à l'origine d'un problème de sécurité en ce qui concerne les eaux de boisson et les produits de la pêche et l'aquaculture, en particulier les coquillages.

---

## a) Impacts sanitaires

Certaines espèces microalgales produisent des toxines (phycotoxines) qui sont accumulées par les organismes mollusques bivalves principalement, mais également gastéropodes, crustacés, ainsi que certains poissons. Ces organismes jouent le rôle de vecteurs sains : ils ne sont pas affectés par ces toxines, mais sont toxiques pour les consommateurs secondaires dont l'Homme.

Les différents types d'intoxications associées à des efflorescences algales toxigènes sont les suivants :

### ► Intoxications amnésiantes par les fruits de mer (Amnesic Shellfish Poisoning ou ASP)

Les toxines amnésiantes ont été identifiées en 1987, suite à une intoxication alimentaire massive (145 intoxications recensées, dont quatre mortelles) liée à la consommation de moules (Baie de Cardigan, Canada) (Bates et al., 1989 in Gailhard, I., 2003).

Les symptômes sont de type gastro-intestinal, mais également neurologiques (avec notamment des pertes de mémoire), ces toxines pouvant, dans les cas les plus graves, entraîner la mort (Teitelbaum et al., 1990 in Gailhard, I., 2003). La toxine responsable de ces intoxications est une neurotoxine, l'acide domoïque (Wright et al., 1989 in Gailhard, I., 2003), synthétisée principalement par des Diatomées Pennales du genre *Pseudo-nitzschia*.

### ► Intoxications paralysantes par les fruits de mer (Paralytic Shellfish Poisoning ou PSP)

L'identification d'intoxications paralysantes est ancienne (Dale et Yentsch 1978 in Gailhard, I., 2003) ; ces intoxications entraînent une paralysie musculaire et, dans les cas les plus graves, peuvent être mortelles lorsque le système respiratoire est atteint. Elles sont provoquées par la saxitoxine et ses dérivées (dont la néosaxitoxine et les gonyautoxines), toxines produites entre autres par des Dinoflagellés du genre *Alexandrium* (Lassus et al., 1994, Amzil & Motteau 2000 in Gailhard, I., 2003).

### ► Intoxications diarrhéiques par les fruits de mer (Diarrhetic Shellfish Poisoning ou DSP)

Les intoxications diarrhéiques ont été d'abord observées aux Pays-Bas dès 1961 (Korringa et Roskam 1961) puis identifiées pour la première fois au Japon, en 1976 (Yasumoto et al., 1978 in Richardson 1997). Des symptômes gastro-intestinaux (douleurs abdominales, diarrhées, nausées et vomissements) sont associés à ces intoxications (WHO, 1984 in Richardson 1997). Les toxines responsables sont l'acide okadaïque et ses dérivés (dinophysistoxines, DTXs) produits par des Dinoflagellés appartenant aux genres

---

Dinophysis et Prorocentrum principalement (Lassus et al., 1988 ; Sournia et al., 1991b in Amzil 1993 in Gailhard, I., 2003).

► **Intoxications neurologiques par les fruits de mer (Neurotoxic Shellfish Poisoning ou NSP)**

Les intoxications neurologiques sont principalement associées à l'espèce de Dinoflagellé *Karenia brevis*. Elles sont caractérisées par des symptômes neurologiques et provoquées par un groupe de toxines rassemblées sous l'appellation brevetoxines (Richardson 1997). Ces toxines sont également responsables de mortalités de mammifères marins (Anderson & White 1992 in Gailhard, I., 2003).

► **Intoxications de type "ciguatériques" (Ciguatera Fish Poisoning ou CFP)**

Des espèces de Dinoflagellés benthiques, comme, *Gambierdiscus toxicus*, sont à l'origine de ces intoxications connues depuis longtemps dans les zones tropicales.

Les toxines responsables, la maïtotoxine et les ciguatoxines, sont transmises à l'homme à travers la chaîne alimentaire, en général par des poissons (Richardson 1997 in Gailhard, I., 2003).

► **Intoxications par les azaspiracides (Azaspiracid Poisoning ou AZP)**

Un événement d'intoxication alimentaire associé à la consommation de moules en provenance d'Irlande (*Mytilus edulis*), d'étiologie inconnue, a été observé en 1995 aux Pays Bas (Satake et al., 1998 in Gailhard, I., 2003).

Les symptômes induits, i.e. nausées, vomissements, diarrhées et douleurs abdominales, sont proches de ceux associés aux intoxications diarrhéiques (DSP). D'autres intoxications présentant les mêmes symptômes ont été recensées (Irlande, 1997 ; McMahan et al., 1999 in Gailhard, I., 2003). Une nouvelle toxine, l'azaspiracide, a été identifiée comme responsable de ces intoxications et l'organisme producteur non identifié avec certitude à l'heure actuelle, serait d'origine phytoplanctonique.

► **Toxines cyanobactériennes**

Les blooms de cyanobactéries sont plus fréquents en eau douce, mais quelques espèces peuvent proliférer en milieu marin (principalement à des faibles salinités), comme *Trichodesmium thiebautii* et *T. erythraeum* (Hawser et al., 1992) ou *Oscillatoria* sp. (Smith 1996). Certaines espèces d'eau douce et saumâtre produisent des neurotoxines et des hépatotoxines qui peuvent entraîner des effets sévères sur les animaux vivants dans le milieu et éventuellement sur la santé humaine (Codd 2000 in Gailhard, I., 2003). Ci-joint le **tableau 1.2** qui décrit les différentes intoxications humaines.

**Tableau 1.2** : Description des intoxications humaines après ingestion d'organismes contaminés : Phycotoxines classées en 5 principales catégories sur une base symptomatique (D'après Anderson et al., 2001 ; Hallegraeff, 2003).

Type d'intoxication	Toxines	Organismes incriminés	Principaux vecteurs	Symptômes et manifestations cliniques
Paralytique (PSP : Paralytic Shellfish Poisoning)	Saxitoxine Néosaxitoxine Gonyautoxine	Dinoflagellés : <i>Alexandrium spp.</i> ( <i>A. catenella</i> ) <i>Pyrodinium spp.</i> <i>Gymnodinium spp.</i>	Mollusques bivalves : moules, huîtres, palourdes, coquilles Saint Jacques	Au bout de 30 mn : maux de têtes, nausées, diarrhées. Au bout de 24h : paralysie musculaire, et difficultés respiratoires.
Diarrhéique (DSP : Diarrhetic Shellfish Poisoning)	Acide okadaïque Dinophysistoxine	Dinoflagellés : <i>Dinophysis spp.</i> <i>Prorocentrum spp.</i> ( <i>P. lima</i> )	Mollusques bivalves : moules, palourdes, coques, Coquilles Saint Jacques	Au bout de 30 min à quelques heures : diarrhée ; nausées ; vomissements et douleurs abdominales. Cas extrême : L'exposition chronique peut favoriser la formation de tumeurs au niveau du système digestif.
Amnésique (ASP : Amnesic Shellfish Poisoning)	Acide domoïque	Diatomées : <i>Pseudo-Nitzschia spp.</i> <i>Nitzschia spp.</i>	Mollusques bivalves : moules, coquilles Saint-Jacques	Au bout de 3 à 5 h : nausées ; vomissements ; diarrhée et crampes abdominales. Cas extrême : Réduction de la réaction à la douleur ; vertiges ; hallucinations ; confusion ; amnésie/perde de la mémoire à court terme et convulsions.

Neurotoxique (NSP : Neurotoxic Shellfish Poisoning)	Brevetoxines	Dinoflagellés <i>Karenia</i> spp. ( <i>K. brevis</i> )	Mollusques bivalves huîtres, palourdes	Au bout 3–6 h : maux de têtes, nausées, diarrhées, faiblesse musculaire, altération des perceptions, difficultés respiratoires, double vision, ... etc.
Ciguatérique (CFP : Ciguatera Fish Poisoning)	Ciguatoxines Maïtotoxines Scaritoxines Gambierol	Dinoflagellés benthiques du genre <i>Gambierdisc us</i> ( <i>G. toxicus</i> )	Poissons herbivores et carnivores	Symptômes développés entre 12-24 h : après la consommation de poissons : maux de têtes, nausées, diarrhées, douleurs abdominales.

## - Impacts des efflorescences micro-algales

### a) Impact sur les organismes marins

Certaines espèces responsables de HABs peuvent avoir un impact direct sur les populations marines (poissons ou invertébrés). Parmi les espèces productrices d'ichtyotoxines, on peut citer les Raphidophycées *Heterosigma akashiwo* et *Chattonella marina*, mais de nombreuses espèces de Dinoflagellés (e.g. *Karenia mikimotoi*), et de Prymnésiophycées (e.g. *Chrysochromulina polylepis*, espèce responsable de mortalités massives de poissons sur les côtes scandinaves en 1988 ; (Zingone et Enevoldsen 2000 in Gailhard, I., 2003) sont également impliquées.

Les mortalités de poissons ou d'invertébrés marins sont généralement consécutives aux productions de toxines extracellulaires (i.e. directement libérées dans le milieu), mais des lésions mécaniques peuvent également être engendrées comme le colmatage des branchies par la production de mucus (e.g. *Chaetoceros convolutus*), ou l'altération des branchies par les excroissances de certaines espèces phytoplanctoniques (épines, soies). La réduction de la teneur en oxygène associée à l'extinction d'un bloom peut également entraîner des mortalités importantes d'organismes marins.

### b) Impact sur le fonctionnement de l'écosystème marin

La dégradation de la biomasse associée à l'extinction des efflorescences algales massives entraîne une diminution de la teneur en oxygène, qui peut engendrer des phénomènes de mortalités d'organismes marins comme évoqué précédemment, mais également un dysfonctionnement de l'écosystème marin en général (anoxie).

---

Les blooms peuvent également avoir des conséquences sur la croissance de certains organismes tels que la coquille Saint Jacques « *Pecten maximus* » (Chauvaud et al., 2000 in Gailhard, I., 2003), ainsi que sur le broutage du phytoplancton par le zooplancton, affectant ainsi l'ensemble du réseau trophique.

### c) Impacts économiques

Les impacts économiques des HABs ne peuvent être attribués à des facteurs anthropiques que si un lien de causalité peut être établi entre eux. On peut soutenir que les économistes ont accordé relativement plus d'attention aux proliférations de biomasse élevée (Soderqvist, 1998 ; Taylor et Luongo, 2009), et la documentation sur la gestion économique et côtière offre peu d'exemples de dommages économiques découlant des éléments nutritifs anthropiques.

Par exemple, Anderson (2000) a présenté un rapport sur l'impact économique des HABs dans les eaux côtières des États-Unis et a donné des exemples de la perte économique attribuable aux grandes proliférations d'*Alexandrium fundyense* en Nouvelle-Angleterre. Toutefois, de telles proliférations sont naturelles et il n'existe aucune preuve d'une augmentation anthropique de leur fréquence due aux éléments nutritifs.

Une estimation approximative des effets économiques des HABs aux États-Unis est de 100 millions de dollars par année (à la valeur du dollar en 2012). Anderson et al., (2000) ont estimé que la ventilation proportionnelle des coûts liés aux répercussions sur les HABs serait de 45 % pour les coûts de santé publique, de 37 % pour ce qui est des coûts des fermetures et des pertes subies par les pêches commerciales, de 13 % pour ce qui est des répercussions sur les loisirs et le tourisme perdus, et 4% aux frais de suivi et de gestion. Une estimation comparable pour l'Union européenne (UE) est d'un ordre de grandeur supérieur à 1 milliard de dollars par année ; bien qu'environ les deux tiers de cette somme soient associés aux effets nocifs, mais non toxiques, des macroalgues (et de certaines microalgues, comme *Phaeocystis*) les proliférations affectant les utilisations humaines de la côte (Hoagland et Scatista, 2006).

Les effets économiques des HABs découlent des coûts de santé publique, y compris les morbidités et les mortalités, les fermetures de pêches commerciales et les mortalités de poissons, les déclin des activités récréatives et touristiques côtières et marines, ainsi que les coûts de surveillance et de gestion. L'agrégation des effets économiques à l'intérieur et entre ces catégories peut être problématique, car les mesures des effets sont rarement les changements des excédents économiques recherchés par les économistes (Hoagland et coll., 2002).

Les estimations de ces effets devraient (mais souvent ne le font pas) tenter de tenir compte de la façon dont les humains ont tendance à réagir face à une floraison : Les amateurs de plage choisissent une autre plage, les pêcheurs commerciaux de coquillages une autre pêche et les consommateurs de fruits de mer une autre protéine (Morgan et coll., 2010). Les mesures visant à prévenir ou à atténuer les effets des HABs, qu'ils soient liés ou

---

non aux éléments nutritifs d'origine anthropique, sont de plus en plus d'actualité (Anderson, 2009, 2004).

De nombreuses méthodes de lutte contre la prolifération ont été proposées, notamment des méthodes mécaniques, biologiques, chimiques, génétiques et environnementales. Bien qu'il existe des exemples de mesures de contrôle locales efficaces, par exemple l'utilisation de la dispersion de l'argile pour contrôler les proliférations de *Cochlodinium ptykrikoides* dans les eaux coréennes (Kim, 2010) ; ces mesures sont souvent trop rudimentaires, localisées ou problématiques pour une mise en œuvre généralisée (Anderson, 2009). Par conséquent, la surveillance plutôt que le contrôle demeurera probablement la stratégie de gestion des HABs la plus utile. La surveillance n'est toutefois pas une option bon marché, les coûts importants devant être assumés par les gouvernements et/ou l'industrie (Anderson et coll., 2001).

Par conséquent, compte tenu de l'incertitude dans la relation entre les éléments nutritifs d'origine anthropique et les HABs et de la difficulté d'attribuer une valeur aux « dommages » liés aux HABs, il est essentiel d'accorder une attention accrue aux évaluations économiques de leurs effets et aux choix des mesures de gestion.

### **I.1.5. Expansion des HABs**

#### **a) Expansion mondiale**

Jusqu'en 1970, les proliférations toxiques de dinoflagellés d'*Alexandrium* (*Gonyaulax*) tamarensis et d'*Alexandrium* (*Gonyaulax*) catenella n'étaient connues que dans les eaux tempérées d'Europe, d'Amérique du Nord et du Japon (Dale et Yentsch, 1978 in Hallegraeff et al., 2004). En 1990, ce phénomène était bien documenté dans tout l'hémisphère sud, en Afrique du Sud, en Australie, en Nouvelle-Zélande, en Inde, en Thaïlande, au Brunei, à Sabah, aux Philippines et en Papouasie-Nouvelle-Guinée. D'autres espèces de dinoflagellés du genre *Alexandrium*, comme *A. cohorticula* et *A. minutum*, ainsi que les dinoflagellés non apparentés *Gymnodinium catenatum* et *Pyrodinium bahamense* var. *compressum* ont également été mis en cause. Malheureusement, il y a très peu de traces à long terme de prolifération d'algues à une seule localité.

Le meilleur ensemble de données se rapporte probablement à la concentration de toxines PSP ( $\mu\text{g}$  d'équivalent saxitoxine/100 g de viande de mollusques) chez les palourdes de la baie de Fundy, qui fait l'objet d'essais biologiques sur des souris depuis 1944 (White, 1987 in Hallegraeff et al., 2004).

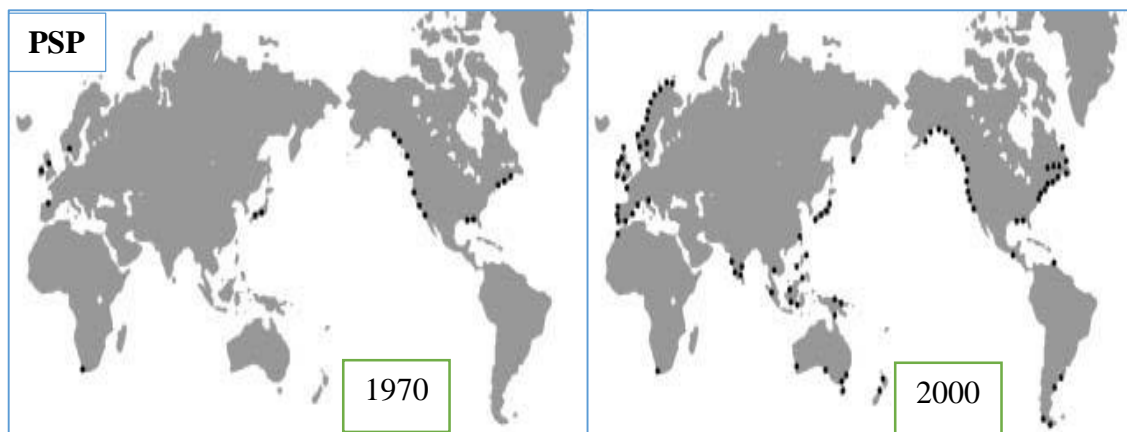
Les mollusques contenant plus de 80  $\mu\text{g}$  PSP/100 g de viande de mollusques sont considérés comme impropres à la consommation humaine.

La question d'une augmentation mondiale des proliférations d'algues nuisibles a été un sujet de discussion récurrent à toutes les grandes conférences traitant des proliférations d'algues nuisibles (Anderson, 1989 ; Hallegraeff, 1993 ; Smayda, 1990 in Hallegraeff et al., 2004).

Quatre explications ont été proposées pour expliquer cette augmentation apparente des proliférations d'algues :

- Une meilleure connaissance scientifique des espèces toxiques ;
- Une utilisation accrue des eaux côtières pour l'aquaculture ;
- La stimulation des efflorescences planctoniques par l'eutrophisation culturelle et/ou des conditions climatologiques inhabituelles ;
- Le transport de kystes au repos de dinoflagellés dans l'eau de ballast des navires ou associés à la translocation des stocks de mollusques d'une zone à l'autre.

La figure 1.10 illustre la répartition mondiale accrue de l'intoxication paralysante aux mollusques.



**Figure 1.10:** Répartition mondiale connue de l'intoxication paralysante aux mollusques (IPP) en 1970 et 2000.

\*Ce phénomène a été documenté pour la première fois en 1976 au Japon, où il a causé d'importants problèmes pour la pêche du pétoncle (Yasumoto et coll., 1978 in Hallegraeff et al., 2004). Le premier dinoflagellé impliqué a été *Dinophysis fortii* (au Japon), bientôt suivi par *D. acuminata* (en Europe), *D. acuta*, *D. norvegica* (en Scandinavie), *D. mitra*, *D. rotundata* et le dinoflagellé benthique *Prorocentrum lima*. Entre 1976 et 1982, quelque 1300 cas de PSD ont été signalés au Japon, plus de 5000 en Espagne en 1981 et 3300 en France en 1983. En 1984, en Suède, les problèmes de PSD ont entraîné la fermeture de l'industrie de la moule pendant près d'un an. Les symptômes cliniques du PSD peuvent souvent avoir été confondus avec ceux des infections gastriques bactériennes et le problème peut être beaucoup plus répandu et grave qu'on ne le pensait. Contrairement à la PSP, aucun décès humain n'a jamais été signalé et les patients se rétablissent habituellement dans les trois jours. La répartition mondiale connue du DSP (fig. 1.11) comprend le Japon, l'Europe, le Chili, la Thaïlande, le Canada (Nouvelle-Écosse), l'Australie et la Nouvelle-Zélande.



\*Ce phénomène a été reconnu pour la première fois en 1987 à l'Île-du-Prince-Édouard, au Canada, où il a causé trois décès et 105 cas d'intoxication humaine aiguë après la consommation de moules bleues. Les symptômes comprennent les crampes abdominales, les vomissements, la désorientation et la perte de mémoire (amnésie). De façon inattendue, la toxine causale (acide aminé domoïque excitateur) est produite par une diatomée et non par un dinoflagellé. Les mollusques contenant plus de 20 µg d'acide domoïque par gramme de viande de mollusque sont jugés impropres à la consommation humaine. Les espèces de diatomées *Pseudo-nitzschia australis* (= *N. pseudoseriata*), *P. delicatissima*, *P. multi series*, *P. multistriata*, *P. pseudodelicatissima*, *P. seriata* et occasionnellement *P. fraudulenta*, *P. pungens* et *P. turgidula* ont été impliquées (Bates et coll., 1989 ; Garrison et coll., 1993 ; Martin et coll., 1990 ; Rhodes et coll., 1998). À ce jour, les déclarations de présence d'acide domoïque dans les produits de la mer se limitent principalement à l'Amérique du Nord (baie de Fundy, Californie, Oregon, Washington, Alaska) et au Canada (Île-du-Prince-Édouard, Colombie-Britannique), alors que seules des concentrations négligeables ont été détectées dans d'autres parties du monde, comme l'Europe, l'Australie, le Japon et la Nouvelle-Zélande (fig. 1.12). La démonstration de la production d'acide domoïque par *Nitzschia navis varingica* à partir d'un étang d'aquaculture de crevettes tropicales est également préoccupante (Lundholm et Moestrup, 2000 in Hallegraeff et al., 2004).



**Figure 1.12:** Répartition mondiale connue de l'intoxication amnésique aux mollusques (ASP) en 1990 et 2000.

## b) Expansion en Méditerranée

### - Intoxication diarrhéique aux mollusques (DSP)

Les toxines du DSP chez les mollusques représentent les cas de contamination des fruits de mer les plus fréquemment signalés dans la mer Méditerranée. Huit espèces toxiques du genre *Dinophysis* et deux du genre *Phalacrocoma* ont été observées le long des côtes méditerranéennes (**Fig. 1.14A**). *Dinophysis caudata* et *D. sacculus* (**fig. 1.13C**), sont les espèces les plus fréquemment signalées (Kent, 1881 ; Stein, 1883), mais les risques pour la santé humaine n'ont été reconnus pour la première fois que dans les années 1980 dans le golfe du Lion (Belin et al., 1995 in Zingone et al., 2021). Dans le nord de la mer Adriatique, des événements de toxicité du DSP se sont produits à l'ouest et à l'est, causant souvent la fermeture des fermes conchylicoles (Bernardi Aubry et al., 2000 in Zingone et al., 2021). Au cours de la période 1989-2018, de telles fermetures ont eu lieu régulièrement le long de la côte slovène (nord de l'Adriatique), avec une période exceptionnellement longue de mai 2010 à mars 2011 au cours de laquelle des abondances relativement élevées de *Dinophysis fortii* ont été enregistrées (environ 2000 cellules/l) (Francé et al., 2018 in Zingone et al., 2021). Ces abondances élevées, jamais enregistrées à nouveau, ont été liées à long terme à une faible salinité et des températures extrêmement élevées en juin-juillet dans les eaux de surface (< 30 °C) entraînant une stratification marquée de la colonne d'eau (Francé et al., 2018 in Zingone et al., 2021).

Des concentrations élevées d'acide okadaïque (OA) et/ou de dinophysistoxine (DTX) dans plusieurs cas ont également entraîné l'arrêt de la cueillette de mollusques le long des côtes françaises (Belin et coll., 2020 in Zingone et al., 2021) et espagnoles de la mer méditerranée (Fernández et coll., 2019; García-Altare et coll., 2016 in Zingone et al., 2021). Des proliférations récurrentes de *Dinophysis* toxiques ont été enregistrées dans le golfe de Thermaïkos (Grèce, mer Égée du Nord) (Koukaras et Nikolaidis, 2004 in Zingone et al., 2021). Plus rarement, des niveaux élevés de toxines DSP ont été signalés en Méditerranée orientale (Bazzoni et al., 2018 ; Orhanović et al., 1996 in Zingone et al., 2021) et tunisienne (Armi et al., 2012 in Zingone et al., 2021).

### - Intoxication paralytique aux mollusques (PSP)

Les événements de PSP en méditerranée sont liés aux toxines produites par les espèces du genre *Alexandrium* et par *Gymnodinium catenatum*. Parmi les six espèces d'*Alexandrium* connues pour produire des toxines PSP trouvées dans la mer Méditerranée, *A. minutum*, l'espèce type du genre (**fig.1.13A**) et *A. pacificum* (comme *A. catenella* dans les mentions avant 2014) sont les plus fréquemment signalées (**fig. 1.14B**). Dans certains cas, ces espèces ont atteint des densités élevées (jusqu'à 107 cellules/L) causant des changements de couleur de l'eau de mer. *Alexandrium taylorii* a également causé des changements de couleur dans plusieurs lieux touristiques espagnols et italiens, mais aucune toxicité n'a jamais été trouvée dans les populations de la mer Méditerranée de cette espèce.

Les rapports d'événements PSP initialement associés à l'*A. tamarense* (Abadie et al., 1999 ; Boni et al., 1983 ; Honsell et al., 1992 in Zingone et al., 2021), une espèce qui ne devrait pas

---

produire de saxitoxines (John et al., 2014 in Zingone et al., 2021), ont par la suite été interprétés de nouveau et attribués à l'*A. minutum* (Pistocchi et al., 2012 in Zingone et al., 2021). Ou *A. pacificum* (Lilly et coll., 2002 in Zingone et al., 2021). Toutefois, une souche d'*A. tamarense* des côtes sardes a récemment été jugée toxique (Lugliè et al., 2017 in Zingone et al., 2021). Depuis les premières observations de mortalités naturelles massives de poissons en Égypte (Labib et Halim, 1995 ; Zaghoul et Halim, 1992 in Zingone et al., 2021), l'*A. minutum* a produit des proliférations toxiques, ce qui a entraîné l'interdiction de la pêche et de la pêche de coquillages au Maroc (Tahri Joutei et al., 2003 in Zingone et al., 2021), en Espagne. (Delgado et al., 1990 ; Forteza et al., 1998 in Zingone et al., 2021), en France (Belin et al., 2020 in Zingone et al., 2021) et en Italie (Honsell et al., 1996 in Zingone et al., 2021). Après 2000, seuls quelques cas de fermeture de fermes conchylicoles attribués à *A. minutum* ont été signalés dans le nord de Sardaigne (Italie ; Lugliè et coll., 2011 in Zingone et al., 2021), en Catalogne (Espagne ; Bravo et coll., 2008 ; Sampedro, 2018 ; Vila et coll., 2005 in Zingone et al., 2021) et sur les côtes du sud de la France (Belin et coll., 2020 in Zingone et al., 2021). En raison d'une espèce non toxique très semblable découverte dans la mer Méditerranée, *A. tamutum*, l'identification d'*A. minutum* peut être problématique et devrait être confirmée par des analyses moléculaires ou de toxines. *Alexandrium pacificum* était responsable des proliférations toxiques le long de la côte catalane (Bravo et al., 2008 in Zingone et al., 2021), dans la lagune du Thau (Abadie et al., 1999 in Zingone et al., 2021), en Sardaigne (Lugliè et al., 2011 in Zingone et al., 2021) et en Sicile (Dell'Aversano et al., 2019 in Zingone et al., 2021), causant parfois des fermetures de la récolte de mollusques et de crustacés (Bravo et coll., 2008 ; Vila et coll., 2001 in Zingone et al., 2021). *Alexandrium andersonii* et *A. ostenfeldii* sont beaucoup moins fréquemment enregistrés et peuvent être négligés ou mal identifiés dans les études sur le plancton. Parfois, leur présence a été retracée comme étape de repos (Bravo et coll., 2006 ; Montresor et coll., 1998 ; Satta et coll., 2013 in Zingone et al., 2021). Deux autres espèces d'*Alexandrium* recensées dans la mer Méditerranée, *A. balechii* et *A. pseudogonyaulax*, ne produisent pas de toxines PSP mais sont considérées comme potentiellement ichtyotoxiques. *Gymnodinium catenatum* a été signalé pour la première fois dans le sud de l'Espagne en 1987 (Bravo et coll., 1989 in Zingone et al., 2021). Le pire cas, apparemment unique, d'intoxication humaine dans toute la Méditerranée était dû à une prolifération de cette espèce qui a causé 4 décès et l'hospitalisation de 23 personnes au Maroc en 1994 (Tagmouti-Talha et al., 1996 in Zingone et al., 2021). L'interdiction de cueillette de mollusques en raison de fortes concentrations de *G. catenatum* a été fréquente en Andalousie (Espagne) au cours des trois dernières décennies (HAEDAT). Plusieurs mentions de cette espèce dans la mer Méditerranée du centre et de l'est devraient être considérées avec prudence en raison d'une possible mauvaise identification de *G. impudicum* (Gómez, 2003 in Zingone et al., 2021).

#### - **Intoxication amnésique aux mollusques (ASP)**

Quinze des 26 espèces de *pseudo-nitzschia* connues pour produire de l'acide domoïque (DA) ont été trouvées jusqu'à présent dans la mer Méditerranée.

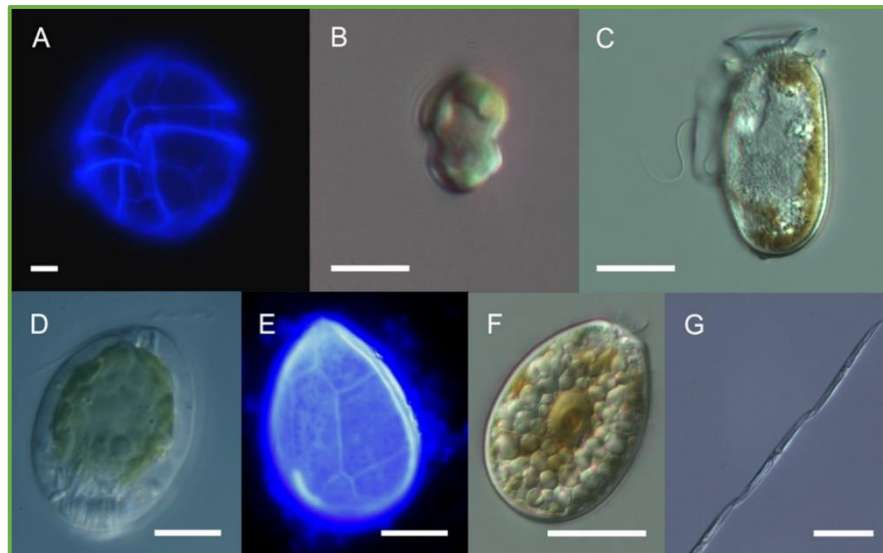
Il s'ensuit que dans la plupart des publications, seul le genre est signalé, ou les taxons sont regroupés en deux « groupes », ne distinguant que le groupe mince (*P. delicatissima*) et le

groupe plus épais (*P. seriata*). Les espèces de nitzschia ont été correctement identifiées à plusieurs endroits de la mer Méditerranée (**fig. 1.14C**) où la présence de l'espèce d'eau froide *Pseudo-nitzschia seriata*, souvent signalée dans de vieilles études, n'a jamais été confirmée. Floraison saisonnière de *Pseudo-nitzschia* spp., parfois toxiques, le long des côtes méditerranéennes, avec des abondances pouvant atteindre plusieurs millions de cellules/L (Cabrini et al., 2012 ; Caroppo et al., 2005 ; Cerino et al., 2005 ; Ljubešić et al., 2011 ; Marić et al., 2011 ; Quijano-Scheggia et al., 2008 ; Quiroga et al., 2006 ; Ruggiero et al., 2015 ; Taş et Lundholm, 2017 ; Totti et al., 2019 in Zingone et al., 2021). Néanmoins, la détection de DA n'a entraîné la fermeture d'installations aquacoles que dans un nombre limité de cas (4 % des événements de toxicité dans HAEDAT) dans le sud de l'Espagne (HAEDAT) et en France (Amzil et al., 2001 in Zingone et al., 2021), alors que des valeurs d'acide domoïque (AD) inférieures à la limite réglementaire ont été occasionnellement trouvées dans les mollusques et crustacés de la mer Adriatique (Arapov et coll., 2016 in Zingone et al., 2021), en Grèce (Kaniou Grigoriadou et coll., 2005), et dans 65 % des 180 échantillons de moules des eaux du centre de la Tyrrhénie (Rossi et coll., 2016 in Zingone et al., 2021). Dans quelques cas, la présence d'AD dans les bivalves était liée à un taxon spécifique, à savoir *P. calliantha* le long de la côte croate (Marić et al., 2011 in Zingone et al., 2021) et dans le golfe de Trieste (Honsell et al., 2008 in Zingone et al., 2021) et *P. brasiliensis* dans la lagune de Bizerte en Tunisie (Sahraoui et coll., 2011 in Zingone et al., 2021). *Nitzschia bizertensis*, décrite dans la lagune de Bizerte (Tunisie), est l'une des deux espèces de *Nitzschia* connues pour produire de l'acide domoïque. Dans au moins un cas, la présence de cette espèce était liée à la détection de l'acide domoïque chez les moules (Bouchouicha-Smida et al., 2014 in Zingone et al., 2021). La toxicité et la distribution de l'autre diatomée benthique *Halamphora coffeaeformis* sont moins claires.

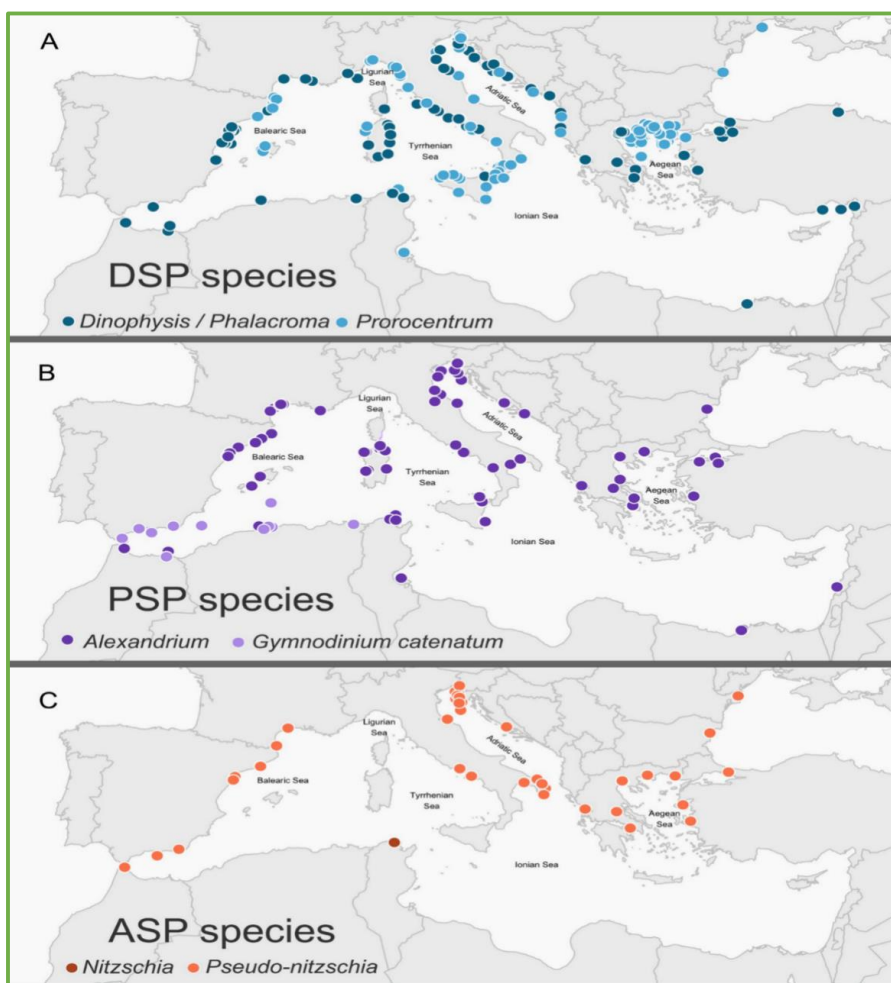
#### - **Intoxication ciguaterique aux mollusques (CFP)**

Le dinoflagellé benthique *Ostreopsis ovata* produit des ovatoxines, qui sont des molécules palytoxiques qui peuvent intoxiquer les humains par halation ou ingestion de fruits de mer contaminés. L'espèce a été détectée pour la première fois dans la mer Méditerranée dans le plancton de Villefranche-sur-Mer (France) après un fort phénomène de mistral en 1972 (Max Taylor, pers. comm.), lorsqu'elle a été identifiée avec le nom de la seule espèce connue à l'époque, *O. siamensis*. La présence de l'espèce a ensuite été documentée sur les côtes du Liban en 1980 (Abboud-Abi Saab, 1989 in Zingone et al., 2021) et au centre de l'Italie en 1986 (Zingone à Tognetto et al., 1995 in Zingone et al., 2021). Vers les années 2000, les programmes de surveillance mis en œuvre à la suite d'une série d'événements nuisibles ont mis en évidence la croissance d'espèces d'*Ostreopsis* le long des rives rocheuses de la mer Méditerranée du nord en été/automne, se développant comme épiphyte sur macroalgues ou épibionthique sur un certain nombre de substrats benthiques, avec des concentrations allant jusqu'à  $10^7$  cellules/g du poids frais de thalles macroalgues (Mangialajo et al., 2011 in Zingone et al., 2021). À des concentrations plus faibles, *Ostreopsis* spp. A également été observé le long des côtes nord-africaines, l'Algérie fait partie des pays méditerranéens affectés par ce type d'intoxication dû aux blooms d'*Ostreopsis* sp dans les eaux de la côte algérienne (Ben Gharbia et coll., 2019 ; Illoul et coll., 2012 in Zingone et al., 2021). Parmi

les trois espèces identifiées jusqu'à présent dans la mer Méditerranée, la plus commune et la plus répandue est *O. ovata*, tandis que *O. cf. siamensis* et *O. fattorussoi* ont une distribution beaucoup plus restreinte (**Fig. 1.13E**). Un aspect intéressant de la dynamique annuelle des espèces d'*Ostreopsis* réside dans les modèles plutôt répétitifs des pics d'été et/ou d'automne, avec des périodes qui varient d'un endroit à l'autre et qui sont peu liées à la température ou à d'autres paramètres environnementaux évidents (Accoroni et Totti, 2016 ; Aligizaki et Nikolaidis, 2006 ; Zingone, 2010 in Zingone et al, 2021).



**Figure 1.13:** Exemples d'espèces toxiques de la mer Méditerranée. **A)** *Alexandrium minutum* taché de calcofluor. **B)** *Azadinium dexter oporum*. **C)** *Dinophysis sacculus*. **D)** *Fibrocapsa japonica*. **E)** *Ostreopsis fattorussoi* taché de calcofluor (avec l'aimable autorisation de S. Accoroni). **F)** *Prorocentrum lima*. **G)** *Pseudo-nitzschia multistriata*. Barres d'échelle en A et B : 5  $\mu\text{m}$  ; en C, D, E, F et G : 20  $\mu\text{m}$ . (Zingone et al, 2021).



**Figure 1.14:** Aire de répartition géographique des espèces potentiellement toxiques dans la mer Méditerranée. Répartition des espèces connues pour produire des toxines liées à : **A)** l’intoxication diarrhéique aux mollusques (DSP). **B)** Paralytic shellfish poisoning (PSP). **C)** Amnesic shellfish poisoning (ASP), les cartes ne représentent que des espèces toxiques et, dans le cas d’espèces cryptiques ou problématiques, seules les mentions validées par microscopie électronique, méthodes moléculaires et/ou production de toxines. (Zingone et al, 2021).

## I.2. Les espèces cibles à diagnostiquer

### I.2.1. Moule méditerranéenne « *Mytilus galloprovincialis* »

Notre étude a été menée sur une espèce de mollusques bivalves *Mytilus galloprovincialis*, dite la moule méditerranéenne. Cette espèce marine, fait partie des animaux invertébrés, avec un corps mou, visqueux, non segmenté à symétrie bilatérale caractérisés par une coquille composée de deux valves calcifiées de forme convexes.



**Figure 1.15:** Chair et coquilles de moules, au cours de cette étude.

Reliées par une charnière, celles-ci présentent des stries concentriques, témoins de leur croissance (**Fig. 1.15**). Le corps mou de la moule est enveloppé par le manteau dont les deux lobes sont soudés dorsalement près de la bouche, constituant de la cavité palléale (Ruppert et *al*, 2004).

Le système digestif est composé de la bouche, l'œsophage, l'estomac, la gland digestive, l'intestin, le rectum et l'anus et de l'estomac qui est pourvu d'un caecum postérieur long. La moule possède deux paires de branchies assurât double fonctions la respiration par la filtration d'eau de mer qui contient O<sub>2</sub> dissous et de la nutrition. Les branchies sont lamellaires et constituées des filaments ciliés, elles sécrètent aussi un mucus piégeant les particules alimentaires qui seront dirigées vers la bouche par des cils vibratiles et par l'intermédiaires des palpes labiaux.

La moule filtre jusqu'à 100 litres d'eau par jour à travers ses branchies et récupère les particules alimentaires qui y sont retenues. Ce sont les algues microscopiques, le phytoplancton, bactérie et débris organiques qui constituent l'essentielle de sa nourriture.

### **I.2.2. Les huîtres creuse « *Magallana gigas* »**

Comme tous les mollusques, l'huître comprend une coquille et un corps doté de divers organes qui seront décrits succinctement.

Le corps de l'huître est relié à la coquille par le manteau qui la sécrète et par le muscle adducteur qui l'attache aux deux valves. Il comprend différents organes correspondant aux fonctions physiologiques de la respiration, de la digestion, etc.

L'ensemble du corps mou de l'huître est revêtu d'un tégument appelé manteau. C'est une feuille de tissu conjonctif contenant des muscles, des vaisseaux sanguins, des nerfs et recouverte d'un épithélium unicellulaire.

Les deux valves de l'huître sont reliées l'une à l'autre par un muscle dit adducteur dont les contractions tendent à les rapprocher l'une de l'autre, s'opposant ainsi à l'action du ligament de la charnière qui, lui, tend à les écarter. Il est composé de deux parties juxtaposées, l'une d'apparence translucide (partie vitreuse), l'autre plus opaque (partie nacrée). La première permet à l'animal de fermer rapidement ses valves pour une brève durée, la seconde assure une fermeture prolongée (Marteil, L, 1976). La conchyliculture française : Biologie de l'huître et de la moule).



**Figure 1.16:** Les huîtres creuse « *Magallana gigas* » ( disponible sur le web : <http://cultmare.com/production-huitres-algerie/> ).

L'appareil digestif de l'huître comprend une bouche s'ouvrant entre deux paires de palpes labiaux, un court œsophage conduisant les aliments jusqu'à l'estomac entouré d'une masse tissulaire généralement brunâtre à laquelle on donne communément le nom de foie.

Pour s'alimenter, l'huître a développé un système de filtration de l'eau de mer par l'intermédiaire de branchies qui lui permettent de trier les particules mais aussi de respirer. L'huître est herbivore. Elle se développe dans des eaux riches en phytoplancton, utiles à sa croissance et à sa reproduction. Une fois le phytoplancton capturé par les branchies, celui-ci est amené à la bouche. Pour faciliter la digestion, l'huître a développé un pilon pour broyer l'enveloppe en silice des algues.

---

*CHAPITRE II :*  
*Matériel & Méthodes*

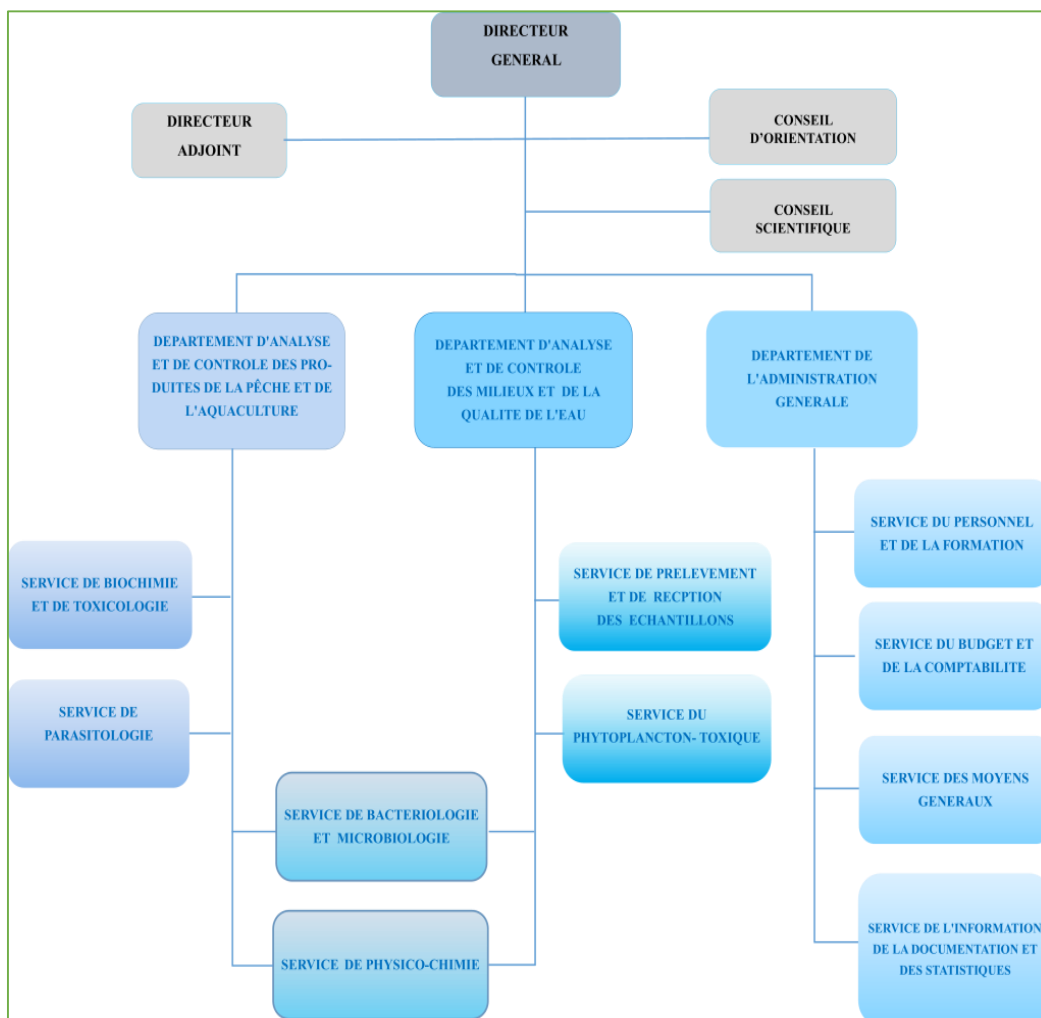
---

## II. CHAPITRE II : MATERIELS & METHODES

### II.1. Présentation de l'organisme d'accueil

Le présent travail a été réalisé au niveau du laboratoire National de Contrôle et de l'Analyse des Produits de la Pêche et de l'Aquaculture et de la Salubrité des Milieux (LNCAPPASM) qui relève du ministère de la Pêche et des Productions Halieutiques. Ce laboratoire a été créé dans le but de l'analyse et le contrôle de la qualité sanitaire des produits de la pêche et de l'aquaculture et la salubrité des zones de pêche et d'aquaculture où Il a un rôle hautement stratégique pour le secteur de la pêche en Algérie.

Notre stage a été effectué au niveau du service du phytoplancton toxique qui fait partie du département d'analyse et de contrôle des milieux et de la qualité de l'eau (figure2.1). Parmi les missions du service, l'identification du phytoplancton toxique et nuisible et le suivi des blooms phytoplanctoniques, et ce dans le cadre du programme de la surveillance de la qualité des eaux des fermes conchylicoles qui possède un double rôle, à la fois environnemental et sanitaire.



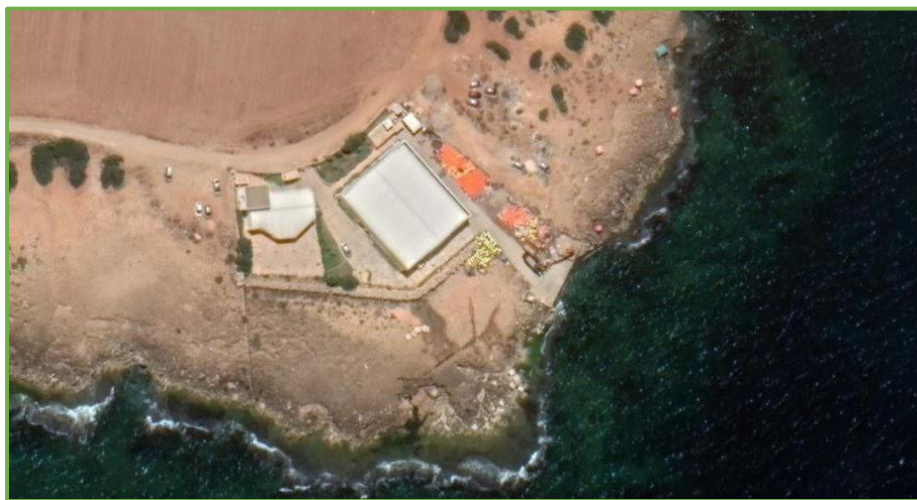
**Figure 2.1:** Organigramme interne du laboratoire LNCAPPASM (disponible sur le web : [www.lncappasm.dz](http://www.lncappasm.dz) )

---

- **Présentation du site d'étude : Ferme d'élevage conchylicole  
« CULTMARE »**

**Situation géographique :**

La ferme conchylicole « CULTURE MARINE » (ou CULTMARE par abréviation) est une entreprise algérienne spécialisée dans l'élevage des moules *Mytilus galloprovincialis* et des huîtres creuse *Crassostrea gigas*. Elle est implantée en bord de mer, située à Kouali à 4 Km à l'est de Tipaza. Pour l'implantation de la ferme d'élevage, Cultmare dispose d'un terrain plein de 2000 m<sup>2</sup> et d'une concession maritime de 36 hectares dans laquelle sont installées, en sub-surface, 20 filières conchylicoles de 300 mètres chacune.



**Figure 2.2:** La ferme conchylicole « CULTMARE » (source : google earth ; CULTMARE, 2023).

- Les limites géographiques du site sont :
  - Latitude : Entre 36° 35' 29.32'' et 36° 35' 58.01'' Nord ;
  - Longitude : Entre 2° 30' 40.20'' et 2° 30' 40.15'' Est.

### **II.1.1. Présentation de la zone d'étude**

#### ***Présentation de la baie de Bou Ismail***

La baie de Bou Ismail (ex-Castiglione) se situe à l'Ouest d'Alger dans la wilaya de Tipaza entre 2° 20' E et 2°55'E. Elle est délimitée à l'Ouest par le cap du mont Chenoua et Ras Acrata à l'Est (dans la baie d'El Djamila). Elle s'étend du mont Chenoua à l'Ouest à Ras Cabine à l'Est, couvrant une superficie de 350 Km<sup>2</sup>. L'ouverture de la baie est de l'ordre de 40 Km, elle est orientée du sud Est au nord-ouest.



**Figure 2.3:** La localisation de la baie de Bou-Ismaïl (YAHOO. Maps *in* Djerad Chahinez. 2010)

### II.1.2. Météorologie

La baie de Bou Ismaïl est caractérisée par un climat subhumide ; un hiver humide et un été chaud et sec (CNRDPA, 2005).

Les précipitations sur l'ensemble du territoire se présentent d'une manière assez diverse, d'une part par leurs causes et d'autre part par les quantités recueillies. Elles diminuent d'Est en Ouest et du Nord au Sud (ONM, 2010).

### II.1.3. Les facteurs hydrodynamiques

#### a) Les vents

Les observations fournies par la station météorologique de Bou-Ismaïl, désigne deux directions distinctes des vents au large de la baie aux quelles est exposé :

- Vents Nord-st en été (Braik; 1989 et Aouidad.Z., 1997 *in* Djerad. Chahinez., 2010);
- Nord-Nord-Ouest en hiver (Chahinez, 2010)

#### b) Les houles

Les houles hivernales sont de secteur Ouest et Nord-Ouest. Elles provoquent des courants de retour dès leurs arrivées perpendiculairement à la côte, et prennent avec elles des sédiments côtiers au large et donc contribuent activement à l'érosion côtière. Alors que les houles estivales sont de secteur Nord-Est, entraînant une dérive littorale de l'Est vers le Sud-

Ouest, dès leurs arrivées tangentiellement à la côte et participent ainsi à la sédimentation de la Baie (Ahmed.I , 2011).

### c) Les courants

Les courants sont d'origine Atlantique, qui entrent par le détroit de Gibraltar. Ils se dirigent vers l'Est au large des côtes algériennes avec une vitesse variant entre 0,5 et 2,5 nœuds.

#### II.1.4. Stratégie d'échantillonnage

La sélection des stations d'échantillonnage a été faite d'une façon à répondre à l'objectif de notre étude qui est le suivi des espèces phytoplanctoniques productrices de toxines (volet sanitaire) et nuisible et faire un diagnostiquer de leur effet sur des moules. Parmi les 20 stations de la ferme, trois (03) stations ont été choisie dans la présente étude à savoir : celles situées à l'isobathe 15 m ; les stations 01 (F1) et 03 (F16) qui sont situées aux deux extrémités de la ferme et la station 02 (F8) qui est intermédiaire pour analyser la distribution phytoplanctonique toxiques et/ou nuisible dans la totalité de la ferme.



**Figure 2.4:** Aménagement de parc conchylicole en mer (d'après rapport technique CULTMARE, 2020).

o Les coordonnées géographiques de positionnement des stations sont illustrés dans -le **tableau 2.1**- ci-dessous :

**Tableau 2.1** : Tableau synoptique des stations échantillonnées

Code de la station		Station 1 (F1)	Station 2 (F8)	Station 3 (F16)
Localisation	Longitude	2° 30' 46,30'' E	2° 30' 32,64'' E	2° 30' 16,61'' E
	Latitude	36° 35' 49,43'' N	36° 35' 47,66'' N	36° 35' 47,75'' N

## II.2. Prélèvements des échantillons

Le travail sur terrain consiste à faire un échantillonnage d'eau de mer, de biotes ainsi que des mesures in situ tout en respectant les protocoles préconisés pour le milieu marin. Les sorties de prélèvements sur site ont été effectuées pendant la période s'étalant de Février à Juin 2023 suivant une fréquence mensuelle (**Tableau2.2**) au bord de l'embarcation PEHD, propriété de la ferme.

**Tableau II.2:** Calendrier des sorties de terrain

	Sortie 1	Sortie 2	Sortie 3	Sortie 4
La date	14 Février 2023	13 Mars 2023	10 Avril 2023	10 Juin 2023
L'heure	10: 30	11: 10	10: 19	9: 30

Note : en raison des mauvaises conditions météorologiques, la sortie programmée pour le mois de mai n'a pas pu être effectuée.

Durant les sorties des prélèvements les travaux suivants ont été effectué :

- Des mesures des paramètres in-situ (température, conductivité, salinité, oxygène dissous)
- Des prélèvements d'eau destinés à l'analyse des sels nutritifs (nitrates, nitrites, ammonium, orthophosphates, silicates)
- Dosage de la chlorophylle a.
- Prélèvement de phytoplancton.
- Des prélèvements de biote (moules et huîtres) pour l'analyse biologiques des phycotoxines.

### a) Les prélèvements d'eau destinés à l'analyse des paramètres des sels nutritifs

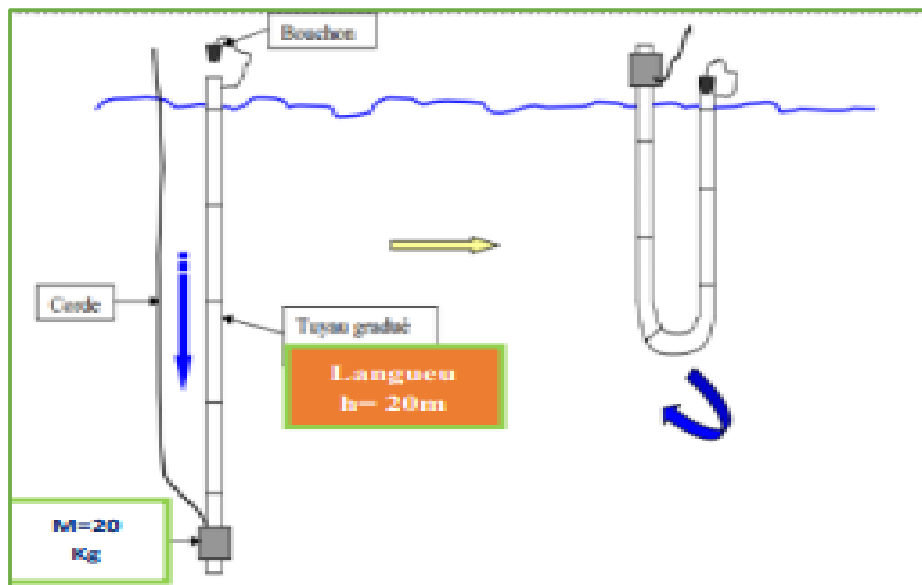
Afin de déterminer les concentrations en éléments nutritifs ( $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^-$  et  $\text{Si}(\text{OH})_4$ ), des flacons en polyéthylène (PVC) d'un volume de 250 ml a été rempli-à l'aide d'un seau. Des précautions particulières sont prises lors des prélèvements pour éviter toute contamination et respecter la chaine de froid avant l'analyse au laboratoire.

## b) Les prélèvements d'eau destinés au dosage de chlorophylle a

Pour réaliser les prélèvements des pigments chlorophylliens des flacons de 1L en chlorure de polyvinyle (PVC) recouvert de papier aluminium sont utilisés, le remplissage des flacons a été fait à l'aide d'un sceau. Les échantillons destinés à l'analyse de la chlorophylle ont concerné le niveau de surface et sont conservés dans une glacière ; la filtration étant effectuée le jour même pour éviter toute dégradation de la chlorophylle.

## c) Les prélèvements d'eau destinés à l'analyse de phytoplancton

Au niveau de chaque station, un volume d'un litre est prélevé dans une bouteille en chlorure de polyvinyle (PVC), destiné au dénombrement, et à l'étude de la composition spécifique (Genre et espèce) du phytoplancton. Plusieurs méthodes existent, afin de prélever des échantillons quantitatifs de phytoplancton, tirés d'un volume d'eau connu. Durant notre étude, pour l'analyse du phytoplancton, un prélèvement d'un échantillon intégré représentant la totalité de la colonne d'eau a été mené grâce à un système muni d'un tuyau (**Figure 2.5**). Ce tube de longueur (10 m, diamètre =2cm) a été préalablement marqué à intervalles de 1m ; de sorte que la profondeur sur laquelle l'échantillon est prélevé a été estimée et ceci afin de parcourir toute la longueur des pochons des bivalves. Ce type de prélèvement appelé technique du tuyau conformément à la norme NF EN 15.204 de 2006. Elle présente l'avantage de donner un échantillon homogène représentatif de l'ensemble de la colonne d'eau. Dans le but de fixer les échantillons de phytoplancton l'ajout immédiat du Lugol est indispensable (0.2-0.5 ml par 100 ml d'échantillon d'eau).



**Figure 2.5:** Système du prélèvement intégré sur la totalité de la colonne d'eau (technique du tuyau). ( NF EN 15972, 2011)

---

#### **d) Les prélèvements de biote (moules et huîtres) pour l'analyse biologiques des phycotoxines**

Afin de réaliser les tests biologiques sur les souris une quantité de 1kg des huîtres creuse et 2 kg des-moules ont été prélevés (station 1) par les plongeurs de la ferme.

### **II.3. Mesure des paramètres physiques in-situ**

L'étude des paramètres physiques : la température, la salinité, l'oxygène dissous, et la conductivité sont mesurés in situ à l'aide d'un multi-paramètres de type **HORRIBA**.

Avant la mesure des paramètres, on a procédé à la calibration de l'appareil.

#### **II.3.1. La température**

La température est largement reconnue comme un paramètre important qui gouverne la répartition des espèces (terrestres et aquatiques) à la surface de la terre. De nombreuses fonctions métaboliques utilisent des voies enzymatiques telles que la photosynthèse, la respiration, la croissance, les déplacements et sont fortement dépendantes de la température (Eppley, 1972 *in* Cadier, M., 2016).

#### **II.3.2. La salinité**

La salinité est une propriété de l'eau de mer qui est fondamentale à l'étude du milieu marin, elle forme avec la température deux descripteurs de base des masses d'eaux (bon traceur du mélange des eaux) (Aminot et Chausse-Pied, 1983).

#### **II.3.3. Oxygène dissous**

L'oxygène dissous donne une mesure indirecte du degré de pollution d'une eau. Parmi les gaz dissous, l'oxygène est celui qui joue le rôle le plus important pour la qualité biotique des eaux d'élevage ; indispensable à la respiration des organismes, il facilite la dégradation des matières organiques détritiques et l'accomplissement des cycles biochimiques. L'oxygène présent dans les eaux est le résultat des échanges entre l'atmosphère et la surface de l'eau ainsi que de l'activité photosynthétique du phytoplancton (Millet. B,1989).

#### **II.3.4. Les sels nutritifs**

Les sels nutritifs nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ), nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ), phosphore ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) et silicium ( $\text{SiO}_2$ ) sont des constituants minéraux dissous dans l'eau de mer et impliqués dans le métabolisme des êtres vivants ils sont ainsi. Ils sont nécessaires pour le développement des communautés phytoplanctoniques. Ils se situent donc à l'interface physique biologie, ce qui rend leur étude doublement intéressante puisqu'ils peuvent être utilisés à la fois comme traceurs de masse d'eau ou comme indicateurs de richesse potentielle.

---

En réalité, dans les conditions naturelles, les sels nutritifs ne sont pas des polluants car ils n'ont aucun effet néfaste sur la vie aquatique, ce n'est qu'en cas d'excès important que certains composés azotés particuliers (nitrite, ammoniac) peuvent présenter une toxicité pour les formes supérieures de vie aquatique telles que les poissons.

**a) Azote nitreux ( $\text{NO}_2^-$ )**

Dans le cycle de l'azote, les nitrites sont considérés comme étant des ions intermédiaires entre les nitrates et l'azote ammoniacal, ce qui explique les faibles concentrations rencontrées en milieu aquatique qui sont de l'ordre de quelques micromoles par litre d'azote nitreux (Aminot et Chaussepied, 1983).

**b) Azote nitrique ( $\text{NO}_3^-$ )**

L'ion nitrate est la forme oxydée stable de l'azote en solution aqueuse, il entre dans le cycle de l'azote comme support principal de la croissance phytoplanctonique, il est ensuite régénéré à partir des formes organiques par les bactéries. L'ion nitrate est issu de l'oxydation des nitrites par les bactéries appelées nitrobacters (Aminot et Chaussepied, 1983).

**c) Les Phosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ )**

Les apports les plus importants proviennent des déjections humaines et animales, et surtout des produits de lavage. C'est un agent d'eutrophisation gênant dans le milieu naturel (El Halouani, H et al 1993).

**d) Les silicates ( $\text{SiO}_2$ )**

L'élément nutritif silicium entre dans la composition des squelettes de certaines espèces phytoplanctoniques (Diatomées, Radiolaires...) (Aminot et Chausse-Pied., 1983). A pH moyen de l'eau de mer (8.2), les formes majoritaires dissoutes dans l'eau de mer étant à 95 % sous les formes d'acide orthosilicique,  $\text{Si}(\text{OH})_4$ , 5 %  $\text{Si}(\text{OH})_3^-$  (Aminot et Kérouel, 2004).

## II.4. Conservation des échantillons

Après le prélèvement, les flacons des sels nutritifs et de la chlorophylle a sont rangés dans une glacière et une fois au laboratoire, les flacons des sels nutritifs sont stockés au congélateur jusqu'au moment du dosage. Une solution de Lugol alcalin est ajoutée aux échantillons d'eau destinée à l'analyse du phytoplancton (L'ajout de 8 gouttes dans 100 ml ou bien jusqu'on obtient une couleur brun clair, orangée (miel)). Pour la chlorophylle a, les échantillons sont de suite filtrés et les filtres sont congelés jusqu'à l'étape d'extraction et d'analyse.

Concernant les Flacons de phytoplancton, ils sont rangés à l'abri de la lumière à une température ambiante. Les analyses réalisées dans le cadre de la détection et du suivi des espèces phytoplanctoniques productrices de toxines (volet sanitaire) sont réalisées le plus rapidement possible durant la semaine suivant le prélèvement.

Le biote est rangé dans une glacière pour éviter toute altération de la chaire, une fois au laboratoire la chaire est conservée dans le réfrigérateur jusqu'au moment de réalisation de l'extraction.

## II.5. Etude des paramètres chimiques

### II.5.1. Sels nutritifs

Les éléments nutritifs se présentent en plusieurs formes de composés minéraux qui sont, pour l'azote : les ions nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ), nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ), ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), pour le phosphore ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), l'ion orthophosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) pour le silicium ( $\text{Si(OH)}_4$ ) l'ion silicate.

Les sels nutritifs ont été dosés par la méthode automatisée à l'aide d'un autoanalyseur de type SKALAR ( $\text{SAN}^+$ ) de l'ENSSMAL (**figure 2.6**) qui est conçu pour l'automatisation de déterminations colorimétriques, il a été développé pour traiter une grande variété d'échantillons.



**Figure II.6:** L'autoanalyseur (SKALAR San plus).

## II.5.2. Principe des dosages des sels nutritifs dans l'eau

Le principe de dosage des sels nutritifs est basé sur une réaction de coloration. En effet, ces sels réagissent dans certaines conditions ( $T^\circ$ , pH...) avec des réactifs spécifiques pour donner naissance à une coloration absorbant la lumière à une certaine longueur d'ondes ( $\lambda$ ).

L'absorption de l'énergie lumineuse dépend de l'intensité de la coloration qui est proportionnelle à la concentration de la solution en sel dosé. La colorimétrie est basée sur la loi de Beer-Lambert qui est définie comme suit :

$$A = D.O. = \text{Log} (I_0/I) = \epsilon.L.C$$

**$I_0$  et  $I$**  : Sont respectivement les intensités lumineuses incidente et émergente du milieu absorbant ;

**$\epsilon$**  : Le coefficient d'extinction molaire variant en fonction de la température et la longueur d'onde;

**L** : La longueur du milieu traversé exprimé en cm ;

**C** : concentration de la solution absorbante exprimée en mol/l ;

**A** : absorbance de la solution ;

**D.O** : Densité optique de la solution.

### a) Dosage de l'ammonium

La procédure automatisée de détermination de l'ammoniac est basée sur la réaction de Berthelot modifiée ; l'ammoniac est chloré en monochloramine qui réagit avec le phénol. Après oxydation et couplage oxydatif, un complexe de couleur verte se forme. La réaction est catalysée par le nitroprussiate, l'hypochlorite de sodium est utilisé pour le don de chlore. L'absorption du complexe formé est mesurée à 630 nm.

### b) Dosage des nitrates + nitrites

La détermination automatisée pour la détermination du nitrate et du nitrite est basée sur la méthode de réduction du cadmium ; l'échantillon est passé à travers une colonne contenant du cuivre-cadmium granulé pour réduire le nitrate en nitrite. Le nitrite (présent à l'origine plus nitrate réduit) est déterminé par diazotisation avec du sulfanilamide et couplage avec déterminé par diazotisation avec du sulfanilamide et couplage avec du dichlorhydrate d' $\alpha$ -naphthylènediamine pour former un colorant azoïque hautement coloré qui est mesuré à 540 nm.

### c) Dosage des orthophosphates

La procédure automatisée pour la détermination du phosphate est basée sur la réaction suivante ; le molybdate d'ammonium et le tartrate d'antimoine de potassium réagissent en milieu acide avec des solutions diluées de phosphate pour former un complexe antimoine-

---

phospho-molybdate. Ce complexe est réduit en un complexe intensément coloré en bleu par l'acide ascorbique. Le complexe est mesuré à 880 nm.

#### **d) Dosage de la silice**

La procédure automatisée pour la détermination du silicate est basée sur la réaction suivante ; l'échantillon est acidifié et mélangé avec une solution de molybdate d'ammonium formant de l'acide molybdosilicique. Cet acide est réduit avec de l'acide ascorbique en un colorant bleu, qui est mesuré à 810 nm. De l'acide oxalique est ajouté pour éviter l'interférence du phosphate.

## **II.6. Etude des paramètres biologiques**

### **II.6.1. La chlorophylle a**

La chlorophylle a est le pigment photosynthétique principal du phytoplancton qui est considéré comme étant un bon indicateur de la santé de l'océan et de son niveau de productivité et de la biomasse phytoplanctonique (Aminot et Chaussepied, 1983). La concentration de chlorophylle est utilisée pour l'estimation de la production primaire (Eppley et Peterson, 1979). Donc La chlorophylle a représenté un très bon critère pour l'estimation de la biomasse phytoplanctonique. Sa présence dans l'eau est caractéristique de la couche euphotique productive. Ses concentrations varient remarquablement suivant les lieux et les saisons et sont réparties suivant la répartition des sels nutritifs.

### **II.6.2. Dosage de la chlorophylle a**

La concentration en chlorophylle a été déterminée selon la méthode fluorimétrique de Yench et Menzel (1963) adaptée par Holm-Hansen et Rieman (1978) pour l'extraction des pigments à l'aide du méthanol. Le protocole utilisé au cours de la campagne a été décrit par Herbland et al. (1985).

#### **- Principe et méthode du dosage de la chlorophylle a**

La technique d'acidification permettant de déterminer la part des phaeopigments utilisée. Mais en présence de chlorophylle b dans l'échantillon cette technique entraîne une sous-estimation des teneurs en chlorophylle a. Les résultats fournis ne concernent donc que la chlorophylle a calculée d'après la formule suivante qui néglige la présence des phaeopigments :

$$\text{Chl} = F_0/K_0 \times v/V$$

**F<sub>0</sub>** : valeur de fluorescence ;

**K<sub>0</sub>** : le coefficient d'étalonnage établie avec de la chlorophylle a pure (Sigma C5753) ;

**v** : le volume d'extraction (7 ml) ;

**V** : le volume filtré (1 litre).

\* La concentration de la chlorophylle est exprimée en µg/l ou mg/m<sup>3</sup>.

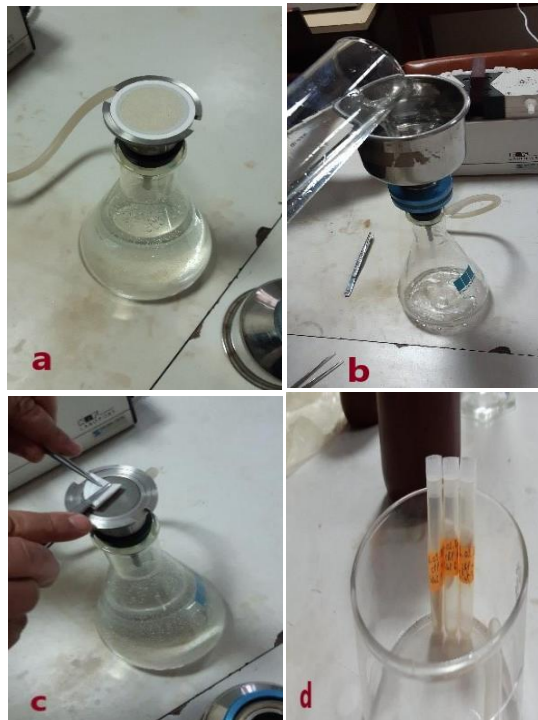
---

## - Mode opératoire du dosage de la chlorophylle a

### a) Filtration

La chlorophylle a été déterminée par filtration (1 litre) sur des filtres whattman GF/F de porosité  $0.47\ \mu\text{m}$  et préalablement calcinés à  $450^\circ\text{C}$  pendant 08 heures. Les filtres sont congelés après chaque filtration.

Le même processus a été répété à chaque sortie pour toutes les stations échantillonnées.

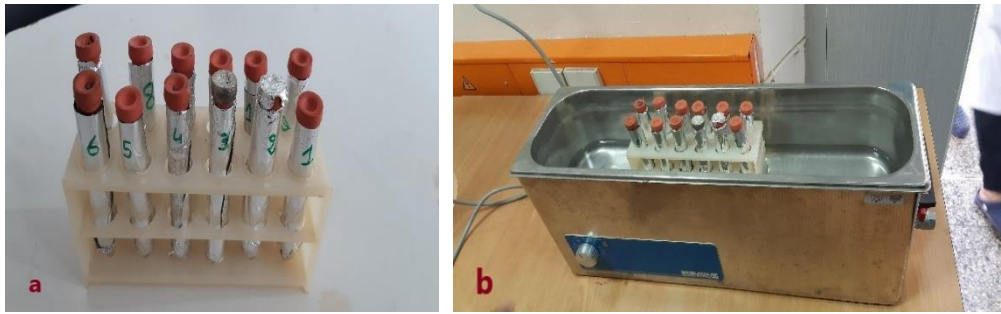


**Figure 2.7:** Filtration de la chlorophylle a. (a) un papier whattman est placé pour filtrer (b) l'échantillon est versé sur les filtres. (c) le papier a été plié. (d) les filtres ont été congelés. (ENSSMAL, 2023)

### b) Extraction

Au laboratoire de l'ENSSMAL, l'extraction a été effectuée à la fin des sorties, et s'effectue dans du méthanol à 97%.

- Le filtre est placé dans un tube contenant 6.8 ml de méthanol pur.
- La teneur en eau résiduelle du filtre étant de 0.19 ml, l'extraction s'effectue dans 7 ml de méthanol à 97%.
- Le tube est ensuite bouché et couvert avec du papier aluminium, après mis dans un bac à ultrason pendant 2 minutes, puis placé dans un réfrigérateur ( $5^\circ\text{C}$ ) pour une période d'extraction de 30 minutes.



**Figure 2.8:** Extraction de la chlorophylle a. (a) les tubes contenant les filtres. (b) les tubes ont été posé dans un bac à ultrason. (ENSSMAL2023).

### c) Mesure de l'intensité de fluorescence (UV)

La fluorescence de l'échantillon est mesurée par spectrofluorimétrie à ultraviolet (SFUV) HITACHI, modèle 650-10S, doté d'une lampe à xénon ; cette technique d'analyse de la chlorophylle est décrite par Raimbault et *al*, 1993 et Raimbault et Boudjellal, 1997.



**Figure 2.9:** Spectrofluorimètre à ultraviolet (SFUV) HITACHI, modèle 650-10S (ENSSMAL,2023)

---

## **II.7. Analyse du phytoplancton**

### **II.7.1. Principe d'analyse : (par la méthode d'Utermohl (Utermöhl 1931, 1958))**

La méthode est basée sur la sédimentation d'une aliquote d'un échantillon d'eau dans une chambre. La gravité fait que les cellules de phytoplancton se déposent au fond de la chambre. Les cellules de phytoplancton déposées peuvent ensuite être identifiées et dénombrées à l'aide d'un microscope inversé. Pour quantifier le résultat en cellules par litre, un facteur de conversion doit être déterminé.

#### **– Nettoyage du matériel**

Les chambres de sédimentation sont nettoyées à l'éthanol (90%) à l'aide d'un petit écouvillon, puis les chambres et les lames de verre sont rincées à l'eau distillée. Elles sont ensuite laissées à sécher.

#### **– Atteinte de l'équilibre thermique**

Le réchauffement de l'échantillon induit à la formation de bulles par dégagement gazeux et empêche une distribution aléatoire du phytoplancton donc il est nécessaire que l'échantillon atteigne l'équilibre thermique, sachant que pour un échantillon d'1 litre la période d'atteinte de l'équilibre thermique peut aller jusqu'à 12 heures, d'où l'utilité de stocker à température ambiante l'échantillon en attente d'analyse.

Mode opératoire	La manipulation
<p><b>Homogénéisation</b> 30 retournements doux du flacon, remplir à hauteur d'environ 80%.</p>	
<p><b>Le remplissage de la chambre de sédimentation</b> Il doit se faire rapidement en une seule fois jusqu'à l'obtention d'un léger excès d'eau provoquant un ménisque convexe à la surface de la chambre.</p>	
<p><b>La sédimentation</b> La sédimentation doit se dérouler sur une surface plane (la paillasse du laboratoire), sans vibration, à l'abri de la lumière directe, et à une température ambiante constante, le temps de sédimentation dépend du volume de la cuve. Exemple : 12h pour une cuve de 25 ml.</p>	
<p><b>Identification :</b> L'identification des cellules repose sur l'observation visuelle des caractères généraux et des attributs morphologiques remarquables des cellules, soit par comparaison aux documents de référence en s'appuyant aussi sur les textes d'accompagnement des illustrations, soit à l'aide de clés d'identification.</p>	

Les identifications et les descriptions des espèces sont basées sur les caractères définis par différents auteurs : (Jørgensen (1911 et 1920), Sournia (1966, 1967 et 1986), Taylor (1976), Abé (1967,1981), Dodge (1982), Balech, (1988), Steidinger et al. (1997), Schiller (1937), Paulsen (1925), Trégouboff et Rose (1978), Straub (1984), Nezan et al. (1997), (Bourrelly, 1966, 1968, 1970 et 1985) in Djemaoun, L. 2018).



**Figure 2.10:** Observation sous microscope inversé de type MOTIC modèle AE2000 (LNCAPPASM,2023)

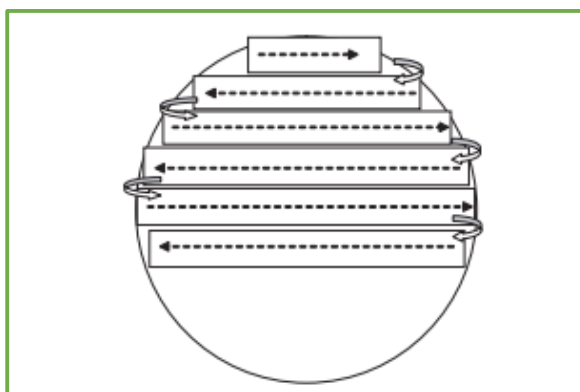
## II.7.2. Stratégie de dénombrement

Le comptage consiste à enregistrer les taxons observés et le nombre d'unités d'algues (cellule) de chaque taxon dans une zone de surface connue de la chambre de sédimentation ou dans la chambre entière.

La lecture d'une cuve complète se fait par déroulement (horizontal ou vertical) du champ oculaire. Le basculement d'un niveau à l'autre se fait grâce à des repères identifiés (objet caractéristique sur le fond de la cuve).

On démarre le balayage de la cuve en haut ou en bas si on avance horizontalement, à droite ou à gauche si on avance verticalement selon la préférence.

Le diamètre est balayé successivement avec les objectifs x 40, x 20 ou x 10. L'objectif x 40 permet d'observer et de détecter les taxons de petite taille, et de dénombrer ceux dont l'occurrence est supérieure à 100 sur le diamètre.



**Figure II.11:** Stratégie de dénombrement dans le champ oculaire.

### II.7.3. Indices écologiques mesurés

#### a) Densité totale des cellules du phytoplancton (Dt)

C'est un paramètre quantitatif important pour décrire la structure des populations de phytoplancton, il correspond à la concentration totale de tous les groupes de classification détectés dans la masse d'eau. Cela permet de quantifier les populations phytoplanctoniques à un niveau moyen basé sur le nombre de cellules. Il est calculé selon la méthode de calcul UTERMÖL et s'exprime en nombre de cellules par litre, elle est exprimée selon la formule suivante :

Avec : **n** : Nombre des cellules comptées

**Ve** : Volume de l'échantillon (1000 ml)

**V** : Volume de la chambre à plancton (25 ml)

$$Dt = n * Ve / v$$

#### b) Richesse spécifique (S)

C'est le nombre total des diverses catégories taxonomiques auxquelles appartiennent les organismes prélevés à une station d'échantillonnage. Elle mesure la diversité la plus élémentaire, fondée directement sur le nombre total d'espèces dans un site. Un grand nombre d'espèces fait augmenter la diversité spécifique. Toutefois, cette méthode dépend de la taille des échantillons et ne considère pas l'abondance relative des différentes espèces. Sa valeur écologique est donc limitée.

#### c) Abondance

En tant que concept écologique, l'abondance est une composante importante de la diversité. Suivant le type d'organismes, l'unité de comptage a été soit une cellule, une colonie ou un filament. Dans chaque champ, le nombre d'individus (ou unité de comptage) a été déterminé. Le comptage s'effectue à l'aide d'un objectif  $\times 100$  avec des balayages de toute la surface de la lamelle.

---

La dominance relative d'une espèce est le rapport entre sa densité cellulaire (Da), en nombre de cellules par unité de volume, divisé par la densité phytoplanctonique totale de l'échantillon (Dt).

Elle est exprimée en pourcentage, selon la formule suivante :

$$Dr (\%) = (Da / Dt) * 100$$

## II.8. Tests biologiques sur souris

On a effectué des bioessais sur souris pour l'analyse des phycotoxines diarrhéiques et paralysantes chez les moules et les huîtres d'élevage de la ferme « CULTMARE » à Tipaza ramené le 02/05/2023.

Les souris sont de race SWISS acheté à l'annexe de l'institut Pasteur d'Algérie (Kouba) de poids  $20 \pm 2$  g. Les souris étaient au nombre de 28 et de sexe male.

### II.8.1. Dosage des toxines diarrhéique (DSP)

Il s'agit d'une méthode développée à l'Ifremer, adaptée de Yasumoto et *al*, (1978) par Marcaillou-le Baut et *al*, (1985) modifiée par Amzil et *al*, (1992) et par Amzil, (1993) in Belin.C et *al*, (1996).

#### - **Domaine d'application**

Cette méthode permet de déterminer la teneur globale en phycotoxines diarrhéiques d'un extrait de glandes digestives de coquillages. Elle ne permet pas de quantifier individuellement chaque toxine.

C'est un test de toxicité aigüe (24h maximum) qui permet d'estimer une toxicité *in vivo*, cette toxicité est exprimée d'une façon indirecte par la moyenne des temps de survie de trois souris.

#### - **Principe de la méthode**

Le test biologique sur souris consiste en l'injection intrapéritonéale, à des souris de 20 grammes, d'un extrait de l'échantillon par le dichlorométhane, repris dans le Tween. Le temps écoulé entre la fin de l'injection et la mort de la souris est mesuré.

---

## - Protocole d'extraction

Les figures illustrant la manipulation sont répertoriées en **annexe I**

Nettoyage des coquillages et récupération des glandes, L'extraction s'effectue sur 20 g de glande digestive.

Après Broyage et homogénéisation On effectue deux extractions successives avec une solution de 60ml de méthanol/eau 80/20 après filtration on continue l'extraction sur le surnageant

On effectue deux extractions successives liquide/liquide avec une solution hexane avec la phase méthanol

Ajouter à la phase aqueuse 20 ml d'eau distillée et on effectue deux extractions liquide/liquide avec du dichlorométhane

Evaporer le dichlorométhane, entre 30 et 40°C, avec le rotavapeur équipé d'une pompe à vide

Reprendre le résidu obtenu dans le Tween 20 à 1%.

### II.8.2. Dosage des toxines paralysantes (PSP)

La méthode décrite est adaptée de AOAC (Official Methods of Analysis), 1990, par Ledoux M. et Murail I in Belin.C et *al*, (1996).

C'est la méthode biologique de référence de détection des toxines PSP. C'est en effet une méthode fiable, et donnant des résultats comparables, car elle comprend le calcul d'un coefficient de correction.

#### - Domaine d'application

Cette méthode permet de déterminer la teneur globale en phycotoxines paralysantes d'un extrait de chair totale de coquillages. Elle ne permet pas de quantifier individuellement chaque toxine. La toxicité est exprimée en µg d'équivalent saxitoxine (µg équiv. - STX) pour 100 g de chair.

---

### - Principe de la méthode

Le test biologique sur souris consiste en l'injection intrapéritonéale, à des souris de 20 grammes, d'un extrait acide de l'échantillon. Le temps écoulé entre la fin de l'injection et la mort de la souris est mesuré précisément : c'est le « temps de survie ».

Le temps de survie est ensuite exprimé en Unités-Souris à l'aide de la table de Sommer **annexe II**. Une Unité-Souris est définie comme la quantité de toxine qui, injectée par voie intrapéritonéale, tue une souris de 20 g en 15 minutes. Les Unités-Souris sont converties en µg équiv. - STX à l'aide d'un Facteur de Conversion (FC) mesuré lors de l'étape préliminaire de standardisation du test **annexe III**.

### - Protocole d'extraction

Nettoyage et récupération de la chair des coquillages, L'extraction s'effectue sur 100g de broyat.

Ajout d'HCl 0.1 N, vérifier le ph qui doit être aux alentours de 3 et l'ajuster si nécessaire.

Porter le broyat à ébullition douce sous agitation permanente Refroidir et vérifier le pH qui doit être aux alentours de 3, ajuster si nécessaire.

Transvaser l'extrait dans une éprouvette et Compléter à 200 ml avec de l'eau distillée.

Centrifuger le mélange pendant 15 minutes à 3000 tours / min.

Récupérer le surnageant et le conserver dans des pots résistants à la congélation.

---

*CHAPITRE III :*  
*Résultats & Discussion*

---

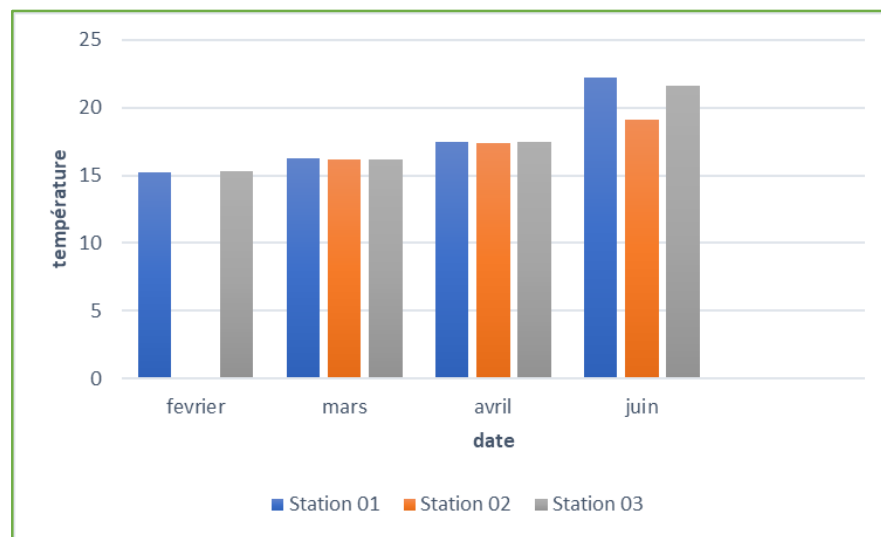
### III. CHAPITRE III : RESULTATS & DISCUSSIONS

#### III.1. Le milieu

##### III.1.1. La température

Durant notre étude, le régime thermique des eaux superficielles des 3 stations de la ferme se caractérise par l'existence d'un cycle saisonnier., la température est incluse dans l'intervalle de [15,2-22,2°C], avec une moyenne de 18,7°C.

Les plus basses températures sont enregistrées durant le mois de Février, tandis que les plus élevées sont enregistrées durant le mois de Juin (**Figure 3.1**) cela peut être justifier par le changement saisonnier.

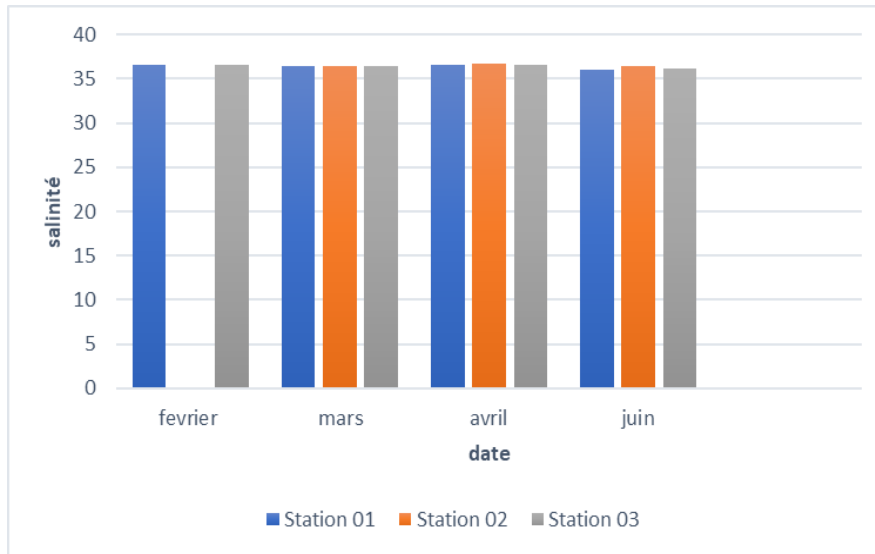


**Figure 3.1:** Evolution temporelle de la température des eaux des stations échantillonnées.

##### III.1.2. La salinité

Durant la période de notre étude allant de Février à Juin, la salinité varie entre 36,1PSU Et 36,7 PSU avec une moyenne de 36,5 PSU,

Les valeurs les plus élevées sont enregistrées au mois d'avril au niveau de station 2 tandis que les plus basses sont au mois de juin au niveau de station 1.

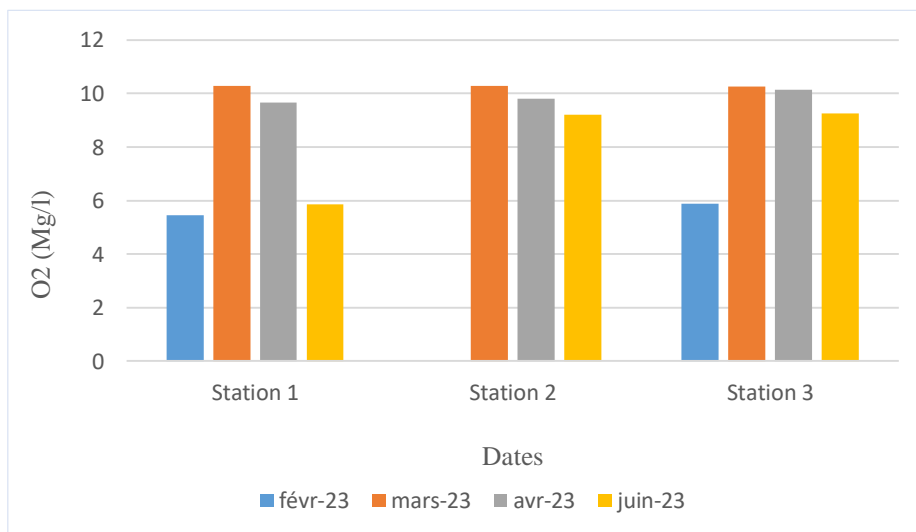


**Figure 3.2:** Evolution temporelle de la salinité des eaux des stations échantillonnées.

### III.1.3. Oxygène dissous

Les valeurs de l'oxygène dissous fluctuent entre 10,29 Mg/l a 10 mètres de profondeur et 5,45 Mg/l.

Avec une moyenne de 7,9 Mg/l durant les mois de notre étude, les valeurs les plus bas sont au mois de juin tandis que les valeurs les plus élevées sont au mois de Mars. La bonne oxygénation de l'eau en période hivernal et printanier résultat de la baisse de température et de salinité de l'eau, ainsi que les facteurs mécanique (agitation par le vent) qui représentent le principal facteur de brassage des eaux (Millet, 1989). Par contre, une faible oxygénation enregistrée en période estival serait liée, à la forte élévation de la température et la salinité qui limite la solubilité de l'oxygène aussi au respiration des organismes aquatique vivant (faune, flore immergée) et au calme hydrodynamique (Abouda, O. et Bougrinet, K, 2018).

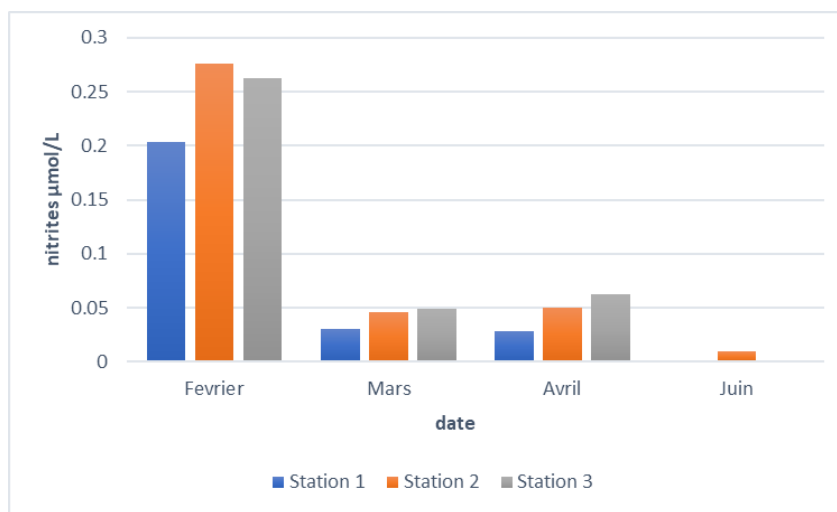


**Figure 3.3:** Evolution temporelle des teneurs en oxygène dissous des eaux des stations échantillonnées.

### III.1.4. Les sels nutritifs

- **Azote nitreux ( $\text{NO}_2^-$ )**

Les valeurs de la concentration enregistrées au cours de notre étude sont illustrées sur la **figure (3.4)** qui montre des variations entre  $0,0002 \mu\text{mol/l}$  et  $0,277 \mu\text{mol/l}$  avec une moyenne de  $0,084 \mu\text{mol/l}$ . Les valeurs les plus élevées sont observées au mois de février dû aux déversements des oueds ; et la valeur maximale est enregistrée au niveau de station 2 ; les valeurs les plus basses sont enregistrées au mois de juin tandis que la valeur minimale a été observée au niveau de station 2. Les fortes teneurs sont alors les conséquences de l'oxydation de la matière organique au sein de l'écosystème pendant les périodes de poussées phytoplanktoniques.

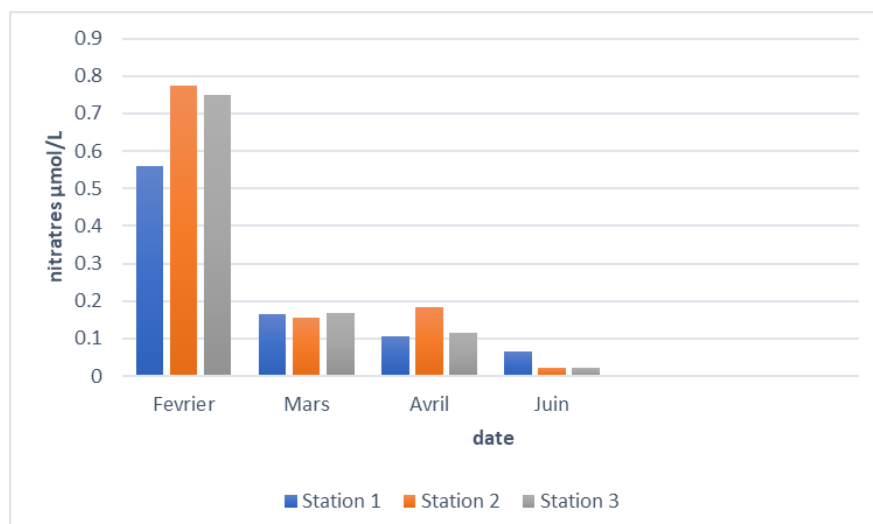


**Figure 3.4:** Evolution temporelle des teneurs en nitrites au niveau des stations échantillonnées.

- **Azote nitrique ( $\text{NO}_3^-$ )**

Les valeurs de l'azote nitrique oscillent entre  $0,7745 \mu\text{mol/l}$  et  $0,023 \mu\text{mol/l}$  avec une moyenne de  $0,257 \mu\text{mol/l}$  pendant la période d'étude sont illustrées sur **la figure (3.5)**, les valeurs les plus élevées étaient enregistrées au mois de février au niveau de station 2, ceci peut être expliqué par la dégradation de la matière organique et de celle drainée par les eaux usées domestiques.

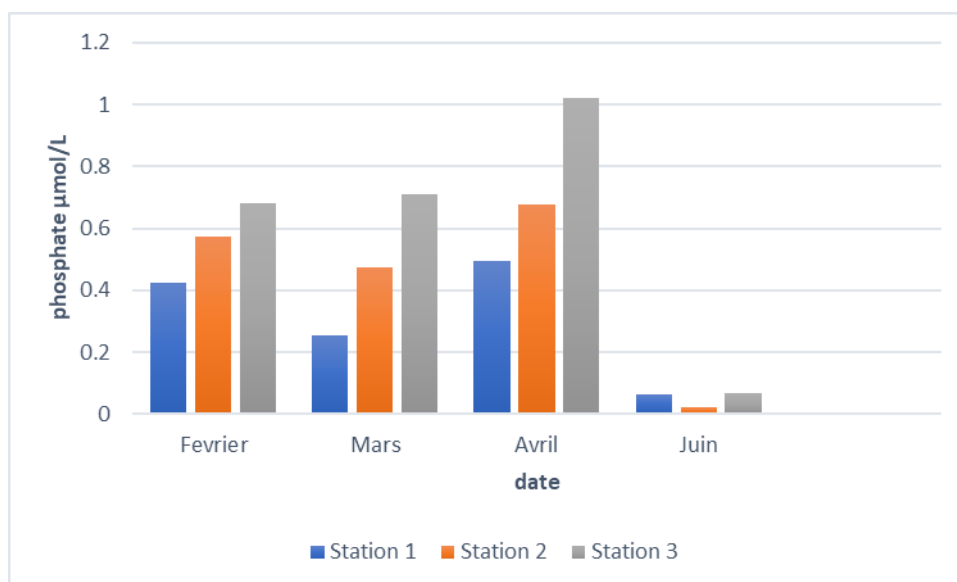
Les valeurs les plus basses étaient enregistrées au mois de juin c'est au fait les nitrates étant consommés par le phytoplancton pour la production de matière organique via le processus de photosynthèse.



**Figure 3.5:** Evolution temporelle des teneurs en nitrates au niveau des stations échantillonnées.

- **Les Phosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ )**

Les relevés de concentration de phosphate indiquent que la concentration de phosphate est comprise entre 1,020  $\mu\text{mol/l}$  et 0,0211  $\mu\text{mol/l}$  avec une moyenne de 0,453  $\mu\text{mol/l}$  durant la période d'étude qui sont illustrées sur **la figure (3.6)**. Les valeurs les plus élevées ont été enregistrées au mois d'avril au niveau de station 3 dû aux rejets d'oueds probablement, Tandis que Les valeurs les plus basses était au mois de juin, pourrait être due à leur consommation par les organismes autotrophes durant l'activité photosynthétique (Bouchena et al, 2006).



**Figure 3.6:** Evolution temporelle des teneurs en phosphates au niveau des stations échantillonnées.

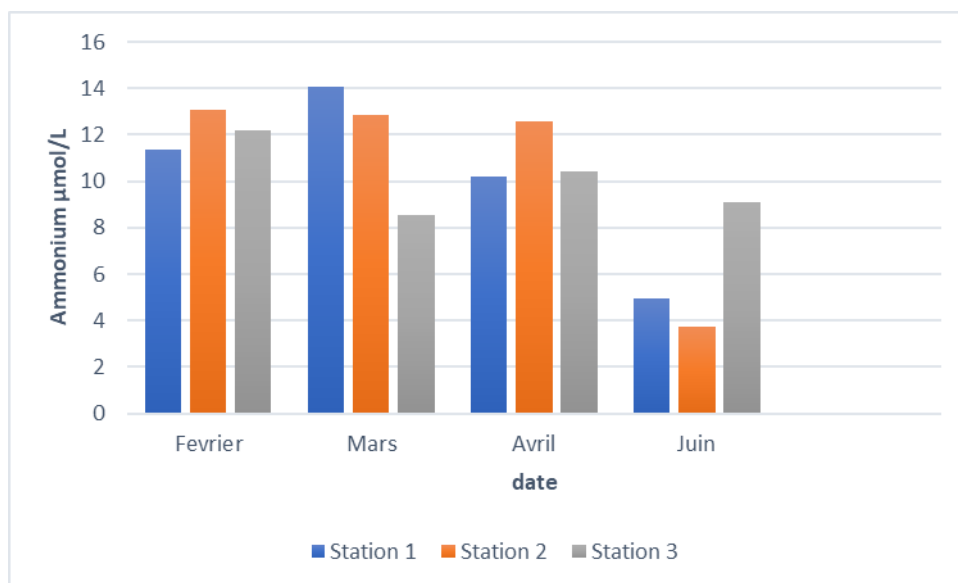
- **L'Ammonium ( $\text{NH}_4^+$ )**

Durant notre période d'études les valeurs de l'ammonium dissous s'étalent entre 3,57  $\mu\text{mol/l}$  et 14,05  $\mu\text{mol/l}$  avec une moyenne de 10,25  $\mu\text{mol/l}$ .

Les valeurs les plus élevées ont été enregistrées au mois de Mars au niveau de station 1, tandis que les valeurs les plus basses ont été enregistrées au mois de juin au niveau de station 2, **figure (3.7)**.

L'ammonium est considéré comme un indicateur de la pollution de l'eau par des rejets organiques d'origine agricole, domestique ou industriel.

Cela peut être expliqué par la présence des rejets domestiques au niveau de la ferme.

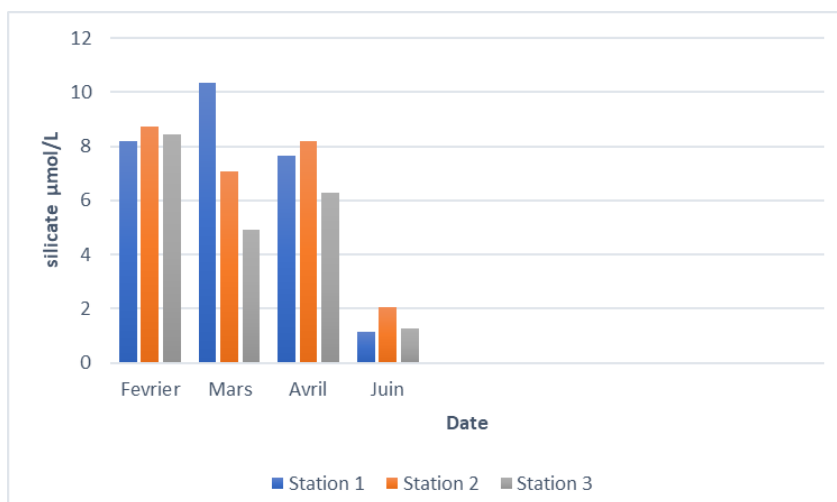


**Figure 3.7:** Evolution temporelle des teneurs en ammonium au niveau des stations échantillonnées.

- **Les silicates ( $\text{SiO}_2$ )**

D'après la **figure (3.8)**, on constate que les concentrations les plus importantes sont observées durant le mois de Février, en outre, les faibles concentrations enregistrées durant le mois de Juin.

La concentration de silice était comprise entre 10,3546  $\mu\text{mol/l}$  et 1,119  $\mu\text{mol/l}$  avec une moyenne 6,18  $\mu\text{mol/l}$  de durant la période d'étude. Les valeurs les plus élevées étaient au mois de mars au niveau de station 1, tandis que Les valeurs les plus basses ont été signalées au mois de juin au niveau de station 1.



**Figure III.8:** Evolution temporelle des teneurs en silicates au niveau des stations échantillonnées.

## III.2. Analyse des paramètres biologiques

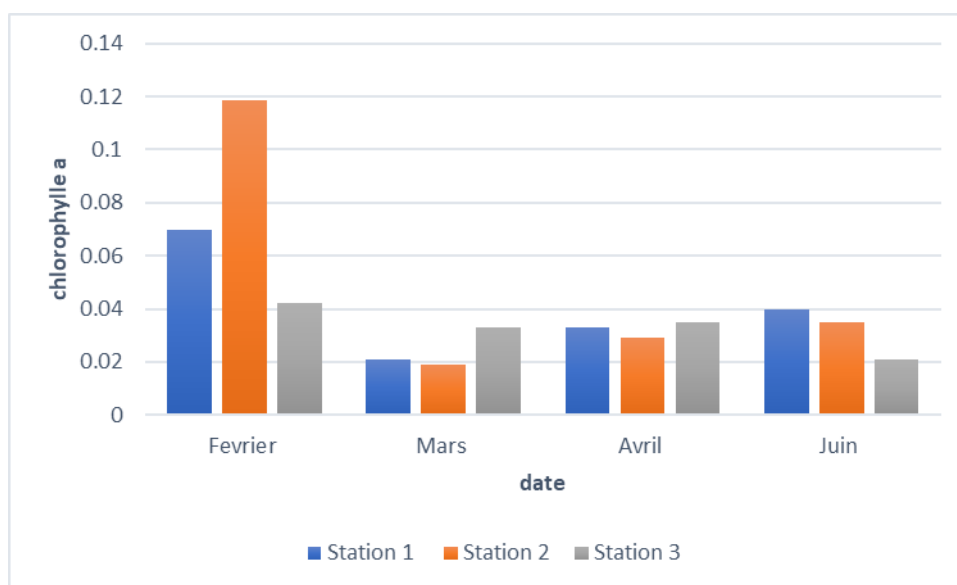
### III.2.1. Chlorophylle a

La chlorophylle a est un pigment indispensable à la photosynthèse des algues, son dosage sert à estimer la biomasse phytoplancton.

Durant la période de la présente étude, les teneurs en Chlorophylle ont dosé au niveau des stations échantillonnées fluctuent entre une valeur minimale de 0,019 µg/l, et une valeur maximale de 0,118 µg/l, avec une moyenne de 0,045 µg/l (**Figure 3.9**).

Ces concentrations restent dans la norme sachant que les prélèvements ont été fait en surface et en milieu côtier.

Le site étudié peut être considérée d'une faible eutrophisation.



**Figure 3.9:** Evolution temporelle des teneurs en chlorophylle a au niveau des stations échantillonnées.

---

### III.3. Le phytoplancton

La connaissance de la composition des populations phytoplanctoniques et de leur organisation taxonomique est une information très importante et un véritable outil de diagnostic pour comprendre le fonctionnement des écosystèmes.

La composition du phytoplancton est différente selon la saison. Les phytoplanctons plus petits et flagellés qui coulent moins facilement sont davantage présents lors de la floraison. De plus, les diatomées dominent dans des eaux turbulentes et riches en nutriments tandis que les dinoflagellés sont davantage associés aux eaux stratifiées et moins riches en nutriments (Morales, J. S, 2014).

Dans le cadre de notre étude, une estimation quantitative et qualitative du phytoplancton au niveau de la ferme conchylicole a été effectués au niveau des stations échantillonnées.

L'observation des caractéristiques morphologiques du phytoplancton identifié dans les stations échantillonnées, nous a permis de recenser 44 genres, regroupant plusieurs espèces. Seules les Diatomées et Dinophycées ont été totalement identifiées. Les premières comprennent 29 espèces et les secondes 14 espèces.

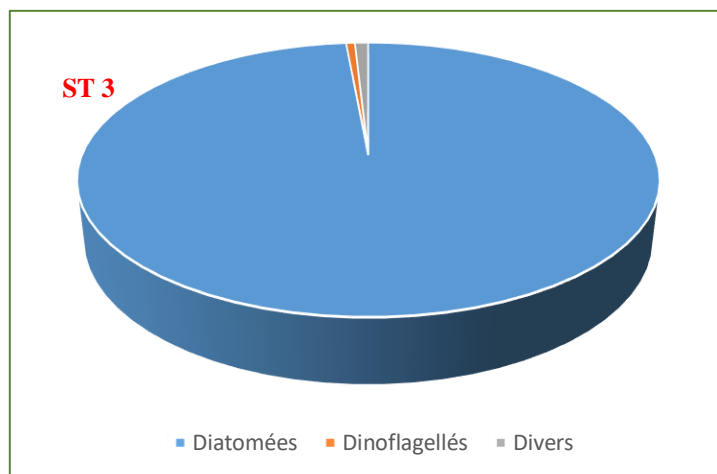
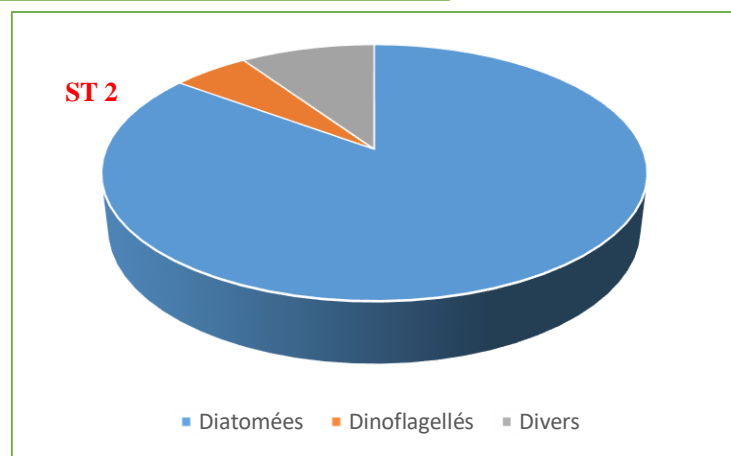
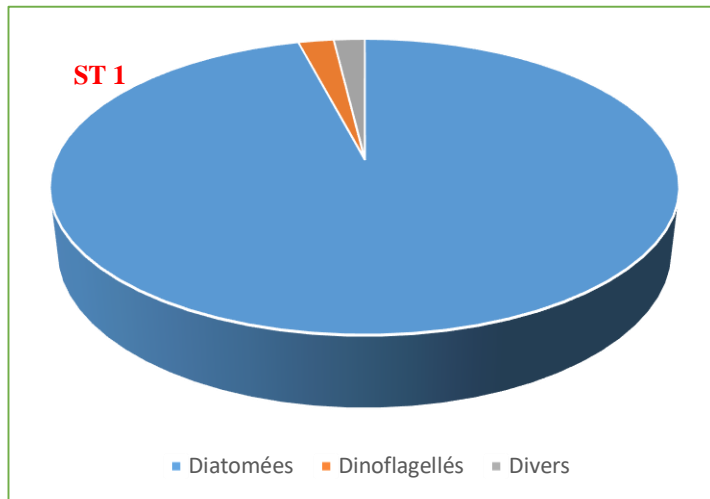
Et d'autres espèces que nous avons rencontrés appartenant au genres Silicofalegellés, Cryptophycées, Chlorophycées.

On note la prédominance nette des Diatomées dont les espèces sont près de trois fois plus nombreuses que celles des Dinophycées. Sauf en été où ces dernières supplantent parfois les Diatomées.

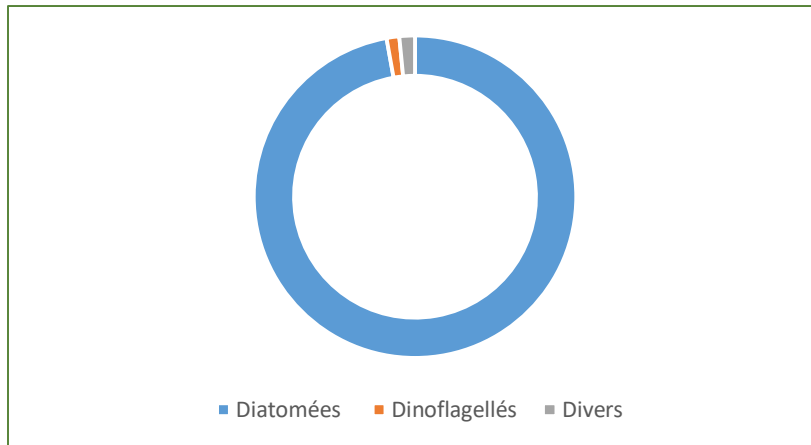
Mais le genre et le nombre des espèces varient plus ou moins fortement d'une station à l'autre. Sur le plan quantitatif, la différence est encore plus marquée : les Diatomées sont plus abondantes que les Dinophycées (nombre moyen de cellules par litre, par une seule station : 280 880 Diatomées et 1 040 Dinophycées).

On remarquera que plus de la moitié des espèces sont des Diatomées pennées.

Pour les eaux algériennes, cette richesse taxinomique, concorde avec celle les travaux quantitatifs de KRÜGER (1950). BERNARD et BERTOLDO (1958) et BUCALOSSI (1960), d'autre part l'étude d'ensemble du microplancton par TELLAI (1964), celle d'un cycle annuel du phytoplancton et de sa répartition verticale par LALAMITALEB (1971), celle des Dinoflagellés par PINCEMIN (1966), et un certain nombre de travaux de F. BERNARD dont nous retiendrons l'un des plus récents (BERNARD et TALEB, 1970 in Djemaoun, L. 2018) s'adressant aux Diatomés et Coccolithophorides, comme **les figures 3.9, 3.10** les démontrent ci-dessous.



**Figure 3.10:** Proportion des classes phytoplanctonique observées au niveau stations ST 1, ST2, et ST3.



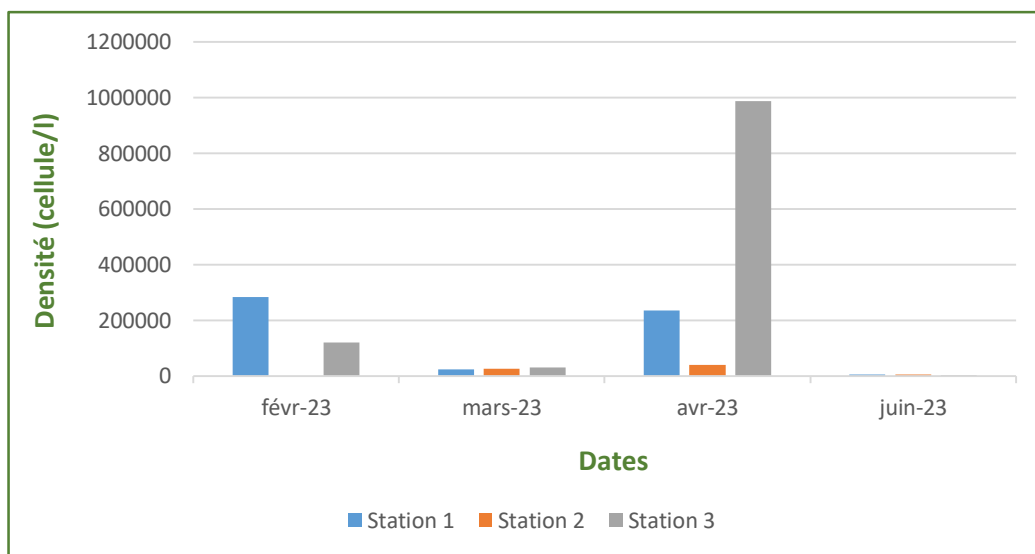
**Figure 3.11:** Abondance moyenne des groupes phytoplanctoniques observés au niveau des stations échantillonnées.

### III.3.1. Densité totale Dt

Pour suivre la dynamique globale du phytoplancton recensé, nous avons opté pour l'analyse de la variation des effectifs moyens des différentes classes dans le temps pour chaque prélèvement. Nos résultats analytiques montrent que le phytoplancton variait dans tous les prélèvements, avec la valeur moyenne la plus élevée de 986.041 cellules/litre enregistrée en avril (**figure 3.12**).

En revanche, c'est en mars que les effectifs moyens les plus faibles sont enregistrés, par 2972 cellules/litre.

La distribution des espèces de phytoplancton est généralement influencée par divers paramètres environnementaux (ou abiotiques) qui affectent directement ou indirectement leur prolifération.



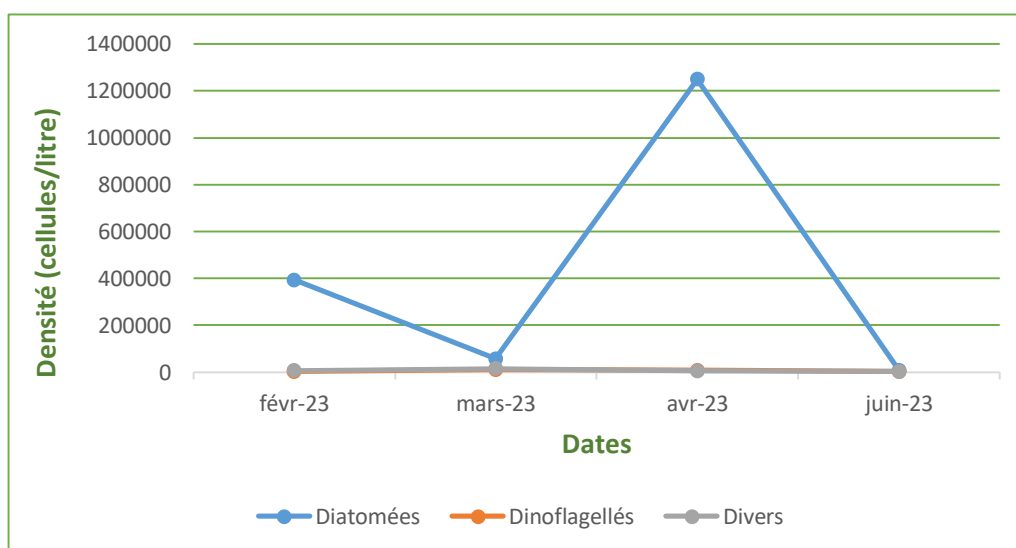
**Figure 3.12:** Distributions spatio-temporelles des densités phytoplanctoniques.

### III.3.2. Variations des différentes classes dans la densité totale

Pour la variation temporelle des effectifs moyens des classes phytoplanctoniques recensées, il apparaît que les diatomées en faible quantité en hiver pour le mois de Février et début de Mars avec une densité de 392.720 cellules/litre et 56.960 cellules/litre respectivement. Et leur épanouissement au début du printemps qui comptabilisent une densité moyenne proche de 1.249.344 cellules/litre pour le mois d'Avril.

Ces derniers sont suivis par les dinoflagellés qui atteint leur maximum de densité au mois de Mars 10680 cellules/litre puis, une diminution remarquable en mois d'Avril et Juin avec une densité de 7.604 cellules/litre et 2.350 cellules/litre respectivement.

La présence de diatomées est un indice d'une communauté phytoplanctonique en bon état alors que les dinoflagellés se développent préférentiellement dans les milieux eutrophes (Chrétiennot-Dinet 1998 in Djemaoun, L. 2018). **La figure 3.13** ci-dessous montre ces variations.



**Figure III.13:** Distribution des densités moyennes cellulaires (Cellules /litre) des populations phytoplanctoniques au niveau des stations échantillonnées.

Les diatomées sont présentes en abondance pendant toute la période d'étude avec des proportions variables d'un mois à l'autre et ne sont pas été affectés par le changement des paramètres physicochimiques de l'eau ce qui explique que ces derniers sont capables de développer des mécanismes de résistance (frustule siliceux). Aussi l'élévation de la température et l'intensité lumineuse suffisante pour le développement augmente la densité des populations phytoplanctoniques appartenant à cette classe.

L'évolution des dinoflagellés montre une légère progression durant le printemps est moins abondante durant les mois Février et Juin ceci reflète des conditions défavorables

Une petite poussée de dinoflagellés (notamment pour *Dinophysis acuminata*.) est enregistrée durant le mois d'Avril et Juin au niveau de station 3 et la station 2 respectivement. En effet, Wafar et al, 1983 ; Vegter et DeVisscher 1987 in Djemaoun, L. 2018) indiquent que les milieux côtiers tempérés peu profonds et mélangés sont caractérisés par un bloom

phytoplanctonique printanier qui a principalement lieu de mars à juillet et qui correspond au développement des diatomées, les dinoflagellés se développant préférentiellement en été.

Il est à noter que de nombreuses espèces de Diatomées présentent un cycle de développement saisonnier, qui peut coïncider avec les périodes hivernale et printanière durant lesquelles les eaux sont généralement plus riches en nutriments (Vila et Maso, 2005 in Djemaoun, L. 2018).

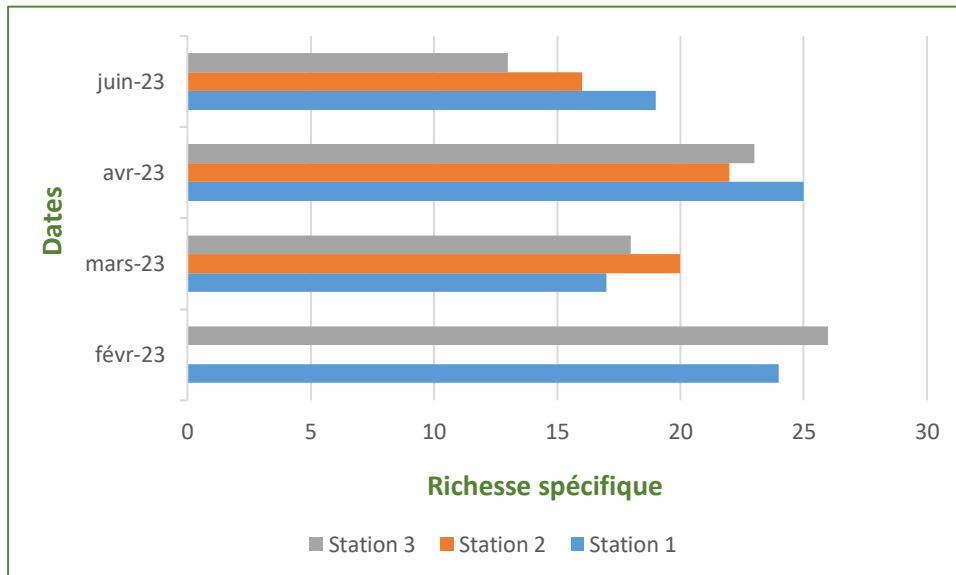
Par contre, les dinoflagellés peuvent utiliser les sels nutritifs dans la colonne d'eau même lorsque les concentrations sont faibles.

Si on fait une comparaison de nos résultats avec la répartition des principales espèces phytoplanctoniques des côtes Algériennes on peut remarquer qu'on retrouve les différents grands groupes de diatomées tels que : les *Thalassiosira*, les *Rhizosolenia*, les *pseudo-Nitzshia*, *Chaetoceros* et les *Coscinodiscus* et des dinoflagellés tel que les *Ceratium*, les *Gymnodinium* les *Protoperdinium* et les *Dinophysis* qui reste présentent dans des proportions faibles selon les conditions et les périodes (saisons).

### III.3.3. Richesse spécifique des groupes phytoplanctoniques

La composition taxinomique révélée par l'étude des phytoplanctons des trois stations prélevées, affirme l'existence d'une richesse taxinomique importante.

Parmi les taxons qui ont pu être identifiés, nous avons identifiés dans les trois stations (à l'exception de station 2 où le prélèvement n'a pas eu lieu) 43 taxons phytoplanctoniques, regroupant au totale 2 groupes.



**Figure III.14:** Evolution de la richesse spécifique au niveau des stations échantillonnées.

---

D'après **la figure (3.14)** la comparaison de la richesse spécifique des prélèvements des trois stations pendant les quatre mois, une richesse importante marquée durant la période d'hiver (par rapport au diatomées) et printanière en mois d'Avril.

En moyenne 20 genres et espèces différentes ont été recensées à chaque prélèvement, avec une richesse maximale de 26 espèces pour l'échantillon du mois Février et une richesse minimale de 13 espèces pour l'échantillon du mois de Juin.

L'analyse des résultats obtenus, révèle une dominance générale des diatomées par 29 genres. Ceci est le groupe le plus riches en espèces parmi les phytoplanctons.

### **III.3.4. Les espèces potentiellement nocives**

#### **- Les espèces génératrices de Blooms**

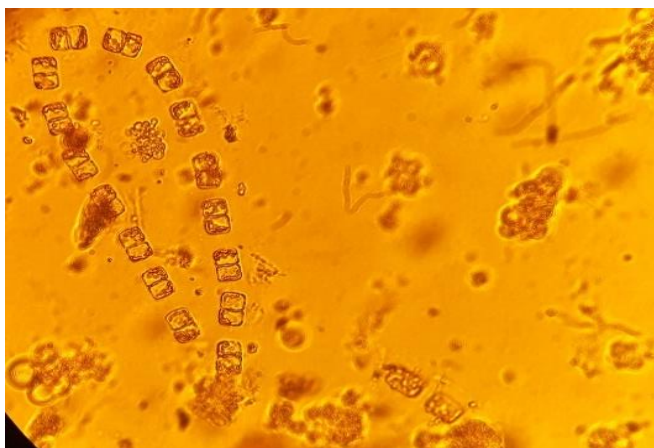
Les espèces non toxique génératrices de blooms rencontrées durant notre étude appartiennent aux deux groupes phytoplanctoniques ; les diatomées, et les dinoflagellés en plus des divers. Et qui restent tous en dessous du seuil d'alerte (IOC-UNESCO, 2002 in Djemaoun, L. 2018).

#### **a) Les diatomées**

##### **► Famille : Thalassiosiraceae Cleve, 1873**

#### **- *Thalassiosira* spp**

Plusieurs espèces du genre *Thalassiosira* ont été récoltées, le maximum a été enregistré en Février au niveau de la première station ST 1 de la ferme CULTMARE qui est de 107.920 cellules/litre.



*Thalassiosira* sp. observées au microscope inversé au grossissement X 40.

---

► **Famille Leptocylindraceae (Cleve, 1889)**

- *Lyptocylindrus spp.*

Espèce abondante durant nos périodes d'échantillonnage, un maximum a été enregistré en mois d'Avril au niveau de la première station avec une densité de 12.040 cellules/litre.

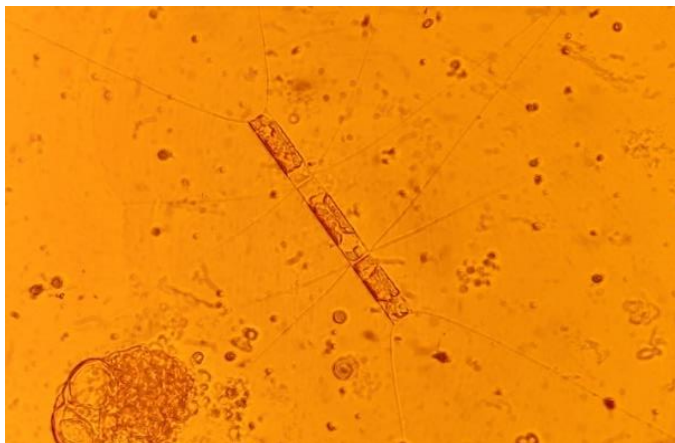


*Lyptocylindrus sp.* Observées au microscope inversé au grossissement X 40.

► **Famille Chaetocerotaceae (Ehrenberg, 1844)**

- *Chaetoceros spp*

Espèces pélagiques très abondantes en Février avec une densité maximale de 61.280 cellules/litre au niveau de la première station contrairement au mois de Juin où elle a été très peu recensée tandis qu'elle est totalement absente dans la troisième station.



*Chaetoceros sp.* observées au microscope inversé au grossissement X 40.

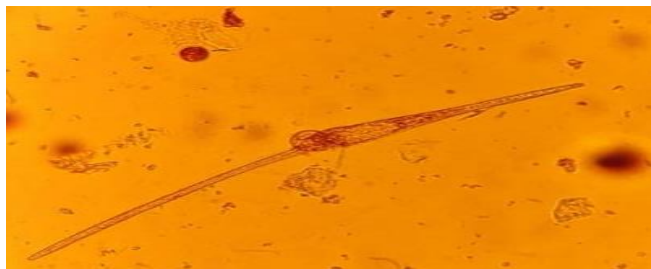
---

## b) Les dinoflagellés

### ► Famille Ceratiaceae (Kofoid, 1907)

#### - *Ceratium fusus*

Espèce très commune, nous avons enregistré une faible densité pendant notre échantillonnage, qui est de 200 cellules/litre avec une densité maximale en Mars au niveau de la première station.



*Ceratium fusus*. observées au microscope inversé au grossissement X 40.

### ► Famille Protoperidiniaceae (R.S.Bergh, 1881)

#### - *Protoperidinium spp*

On n'a pas enregistré de bloom, elle a été observée au niveau de la 1<sup>ère</sup> station au mois de Mars avec une densité maximale de 280 cellules/litre.



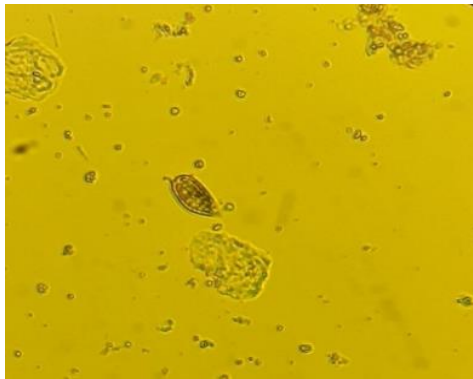
*Protoperidinium sp.* observées au microscope inversé au grossissement X 40.

---

► **Famille Prorocentraceae (C.G.Ehrenberg, 1834)**

- *Prorocentrum spp*

Espèce solitaire, dans notre région d'étude, elle était présente d'une manière régulière avec un maximum de 120 cellules/litre au niveau de la troisième station en Juin.

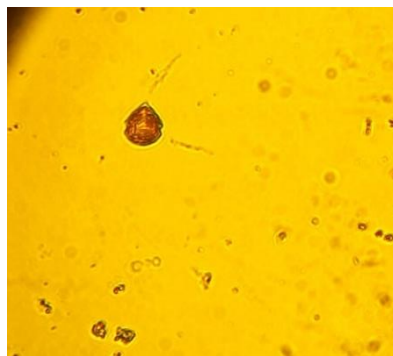


*Prorocentrum sp.* observées au microscope inversé au grossissement X 40.

► **Famille Thoracosphaeraceae (Schiller, 1930)**

- *Scrippsiella sp*

Espèce de petite taille, dans notre période d'échantillonnage elle était présente régulièrement avec une densité maximale de 840 cellules/litre au niveau de la troisième station au mois de Mars.



*Scrippsiella sp.* observées au microscope inversé au grossissement X 40.

Cet échantillonnage nous a permis de détecter la présence de diatomées nuisibles dans des proportions variables, mais leur présence dans les échantillons n'a pas été détectées en grande quantité ou de façon continue, à l'exception du genre *Chaetoceros spp*, *Thalassiosira spp*, *ylindrotheca spp*, et *Leptocylindrus spp*.

---

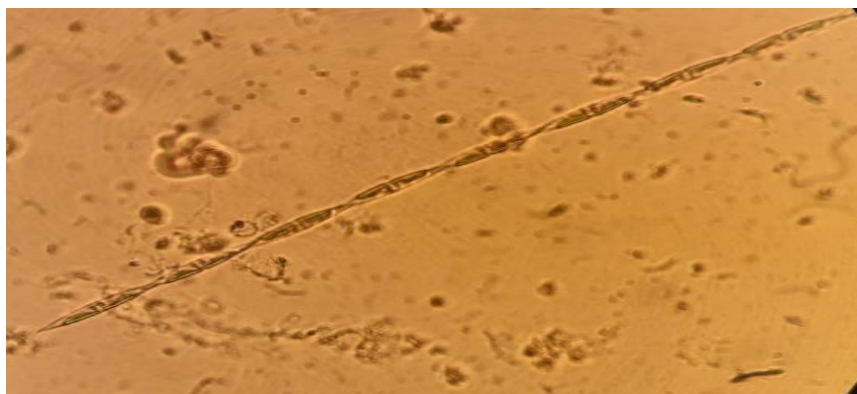
## Les espèces potentiellement toxiques

### a) Les diatomées

#### ► Famille Bacillariaceae (H.Pergallo, 1900)

##### - *Pseudo-Nitzschia spp*

Espèce fusiforme formant des colonies, associées à la production des toxines amnésiques ASP (Amnesic Shellfish Poisoning), elle était régulièrement rencontrée et abondante avec une densité maximale de 54320 cellules/litres au niveau de la première station ST 1 en mois d'Avril à l'exception du mois de Juin où elle était absente pour toutes les stations. La biomasse du genre *Pseudonitzschia* révélée au cours de la présente étude ne dépassent pas le seuil d'alerte qui est de l'ordre de 100.000 cellules par litre pour les espèces larges et de l'ordre de 300.000 cellules par litre pour les espèces fines (Manuel UNESCO, 2003 in Djemaoun, L. 2018).



*Pseudo-Nitzschia sp.* observées au microscope inversé au grossissement X 40.

---

## **b) Les dinoflagellés**

### **► Famille Gymnodiniaceae (F.Stein, 1878)**

#### *- Gymnodinium spp*

Espèce productrice d'efflorescences toxiques principalement responsable d'intoxication de type PSP (Lassus, 1988 in Djerioui, N. 2014).

Elle a été récoltée occasionnellement avec une densité maximale marquée au mois de mars de 960 cellules/litre au niveau de la troisième station (ST 3).

Une densité qui reste très en dessous de seuil d'alerte fixé par l'Ifremer qui est de l'ordre de 5.000 cellules/litre (Djemaoun, L. 2018).

#### *- Amphidinium spp*

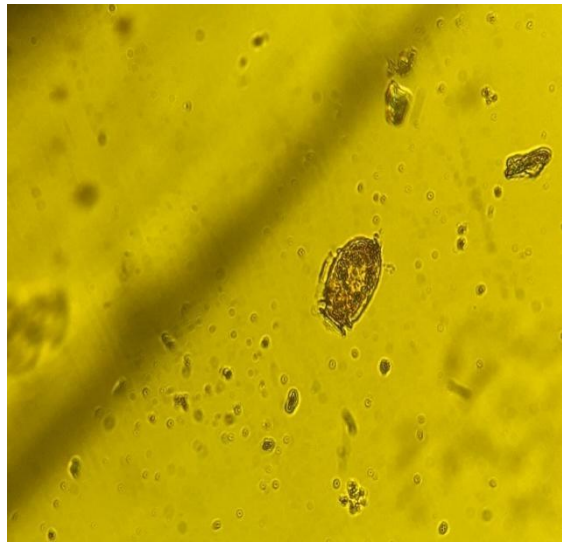
Une densité maximale de 800 cellules/litre a été observé en Mars, au niveau de la troisième station (ST 3).

---

► **Famille Dinophysaceae (Ehrenberg, 1839)**

- *Dinophysis sp*

Espèce solitaire, bordé par deux ailettes. Certaines espèces sont productrices de toxines. Durant notre étude, elle est très peu marquée avec une densité de 4 cellules/litre, elle était présente une fois en mois d'Avril au niveau de la troisième station et en Juin au niveau de la deuxième station, une densité qui restes en dessous du seuil d'Alerte estimé à 5.000 cellules/litre (Djemaoun, L. 2018).



*Dinophysis sp.* observées au microscope inversé au grossissement X 40.

---

### III.4. Tests biologiques sur souris



---

### III.4. Test des souris

#### a) Recherche des toxines diarrhéique (DSP) pour les moules

Pour déterminer la teneur globale en phycotoxines diarrhéiques d'un extrait de glandes digestives de coquillages, les résultats pour estimer la toxicité in vivo sont les suivants :

	L'heure de l'injection (am)	L'heure de mort (am)
Souris 1	10 : 13	/
Souris 2	10 : 19	/
Souris 3	10 : 27	/

► Observation : On constate La survie des souris, pas de mortalité avec une manifestation des symptômes d'intoxication.

#### b) Recherche des toxines diarrhéique (DSP) pour les huîtres

	L'heure de l'injection (am)	L'heure de mort (am)
Souris 1	9 : 43	/
Souris 2	9 : 57	/
Souris 3	10 : 05	/

► Conclusion : La survie des souris pas de mortalité avec une manifestation des symptômes d'intoxication.

### Conclusion

La survie des souris des deux expériences chez les moules et les huîtres sachant que toutes les souris injectées présentes des symptômes d'intoxication tels que fièvres et vertiges indiquent donc la présence de toxine DSP mais pas suffisamment pour tuer une souris. Ce qui nous mène à conclure qu'il y a donc présence des toxines en faible concentration.

### c) Recherche des toxines paralysantes (PSP) pour les moules

Pour déterminer la teneur globale en phycotoxines paralysantes d'un extrait de chair totale de coquillages, les résultats pour estimer la toxicité in vivo sont les suivants (Chaque test a été répété deux fois pour confirmer le résultat) :

#### Premier essai

	L'heure de l'injection (am)	L'heure de mort (am)
Souris 1	14 : 26	/
Souris 2	14 : 34	/
Souris 3	14 : 38	/

► Observation : On constate La survie des souris avec la présence des symptômes d'intoxication

Tels que fièvres et vertiges.

Symptômes	Oui	Non
Des paresthésies faciales	Souris 1 Souris 2 Souris 3	
Les souris se grattent le museau avec les pattes	Souris 1 Souris 2 Souris 3	
Soubresauts et autres mouvements brusques		Souris 1 Souris 2 Souris 3
La mort par asphyxie due au blocage respiratoire		Souris 1 souris 2 Souris 3

#### Deuxième essai

	L'heure de l'injection (am)	L'heure de mort (am)
Souris 1	10 : 47	/
Souris 2	10 : 53	/
Souris 3	10 : 57	/

► **Conclusion** : La survie des souris présence des symptômes d'intoxication tels que fièvres, vertiges.

Symptômes	Oui	Non
Des paresthésies faciales	Souris 1 Souris 2 Souris 3	
Les souris se grattent le museau avec les pattes	Souris 1 Souris 2 Souris 3	
Soubresauts et autres mouvements brusques		Souris 1 Souris 2 Souris 3
La mort par asphyxie due au blocage respiratoire		Souris 1 souris 2 Souris 3

#### **d) Recherche des toxines paralysantes (PSP) pour les huîtres**

##### Premier essai

	L'heure de l'injection (am)	L'heure de mort (am)
Souris 1	14 : 48	/
Souris 2	14 : 53	/
Souris 3	14 : 56	/

► Conclusion :

La survie des trois souris injectées présence des symptômes d'intoxication ; fièvres et vertiges.

Symptômes	Oui	Non
Des paresthésies faciales	Souris 1 Souris 2 Souris 3	
Les souris se grattent le museau avec les pattes	Souris 1 Souris 2 Souris 3	
Soubresauts et autres mouvements brusques		Souris 1 Souris 2 Souris 3
La mort par asphyxie due au blocage respiratoire		Souris 1 souris 2 Souris 3

Deuxième essai

	L'heure de l'injection (am)	L'heure de mort (am)
Souris 1	11 : 11	/
Souris 2	11 : 20	/
Souris 3	11 : 29	11 : 40

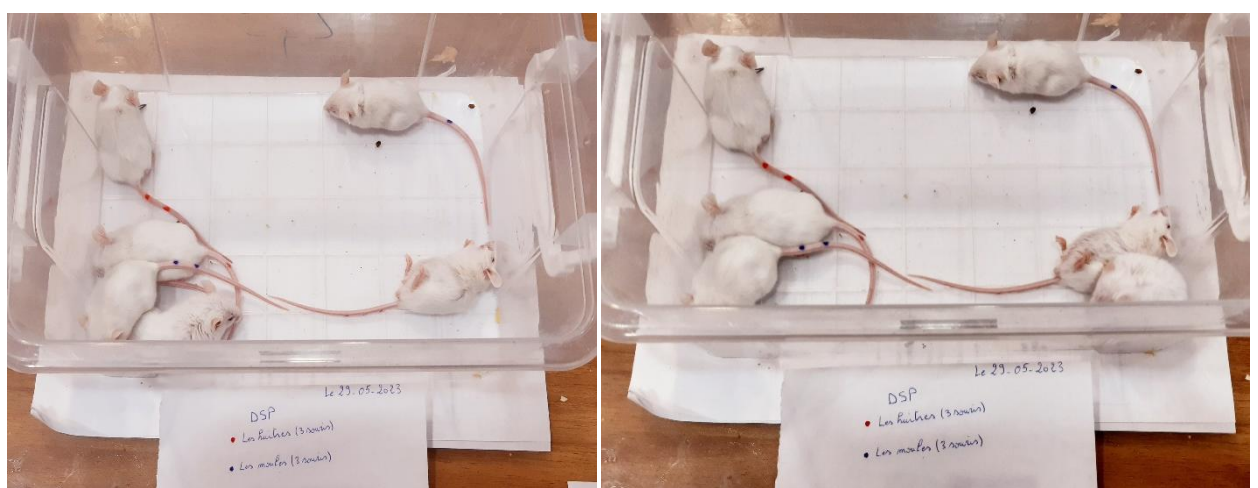
Symptômes	Oui	Non
Des paresthésies faciales	Souris 1 Souris 2 Souris 3	
Les souris se grattent le museau avec les pattes	Souris 1 Souris 2 Souris 3	
Soubresauts et autres mouvements brusques	Souris 3	Souris 1 Souris 2
La mort par asphyxie due au blocage respiratoire	Souris 3	Souris 1 souris 2 Souris 3

► Observation

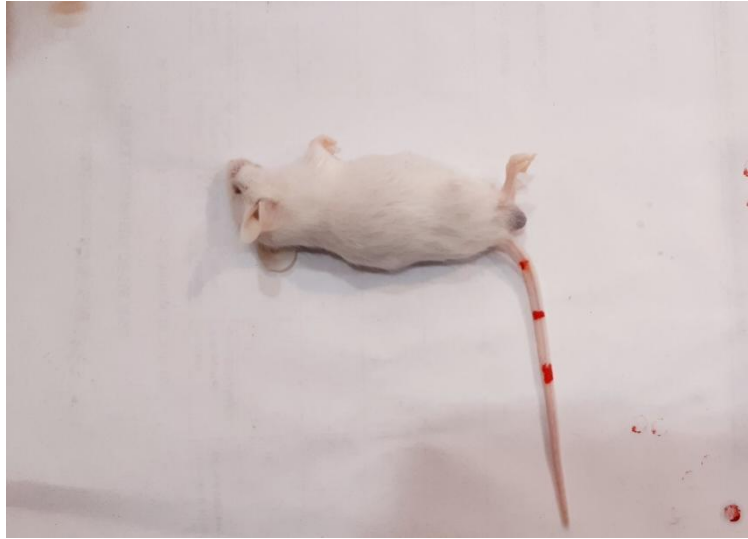
On constate La survie de deux sur trois souris injectées avec la présence des symptômes d'intoxication. Concernant la mort d'une souris sur les trois, il est à noter que : le temps de survie moyen est considéré comme supérieure à 1.440 minutes = 24 heures (la mort d'une seule souris est considérée comme un résultat négligeable) ; Pour un temps de survie proche de 24 heures, la dose injectée aux souris correspond à l'Unité- Souris, c'est à dire  $4 \mu\text{g}$  d'Acide Okadaïque (AO) (Yasumoto et *al*, 1978 in Belin, Marcaillou-le saut, Amzil et Ledoux, 1996 ) : l'échantillon testé contient donc approximativement  $0.8 \mu\text{g}$  d'AO par gramme de glande digestive (puisque 1 ml injecté correspond à 5 g de glande digestive).



**Figure 3.15:** Toxines paralysantes (PSP) sur les souris du premier et deuxième essai.



**Figure 3.16:** Toxines diarrhéiques (DSP) sur les souris du premier et deuxième essai, au cours de cette étude.



**Figure III.17:** Souris morte sous l'effet de toxine paralysant (PSP).

---

## *Conclusion*

---

---

## Conclusion

Ce mémoire avait pour objectif de diagnostiquer la contamination des mollusques par le phytoplancton toxique ou/et nuisible de la ferme conchylicole « CULTMARE ».

Il a fallu dans un premier temps définir la notion de phytoplancton, sa phylogénie et diversité, ainsi que la notion d'efflorescences algales avec la détermination des paramètres les plus influents pour le développement de blooms algaux avec quelques exemples des espèces non toxique génératrices de blooms, définir les efflorescences algales toxiques (HAB), ses impacts sanitaires concernant les différents types d'intoxications associées à des efflorescences algales toxigènes, puis leurs impact sur les organismes marins et sur le fonctionnement de l'écosystème marin, après leur impacts économique et l'expansion des HABs.

Ensuite, il convient de présenter les espèces cibles pour le diagnostic et de présenter également la zone d'étude et ses caractéristiques.

Après une étape de prélèvement des échantillons, issus des différentes stations choisies selon une stratégie d'échantillonnage bien définie.

Les résultats de l'étude des paramètres chimiques (sels nutritifs) et biologique (la chlorophylle a) montrent ; des nutriments qui montrent une variation faible durant toute la période d'étude avec une particularité ; ces faibles teneurs notamment en composés azotés toxiques, réduisent considérablement les risques d'eutrophisation.

L'étude de la qualité du phytoplancton nous a permis de mettre en évidence une bonne production phytoplanctonique. Cette production se traduit, aussi, par une richesse spécifique remarquable qui est probablement due au fait que l'étude a été faite durant la période printanière.

Le suivi des successions des populations phytoplanctoniques nous indique une présence importante des Diatomées, qui se prolonge jusqu'à la fin été avec l'apparition des dinoflagellés.

D'une manière générale, les densités moyennes des espèces potentiellement toxiques et/ou nuisibles inventoriées au cours de ce présent travail sont faibles, et se situent en dessous des seuils d'alerte.

En outre, la présence des espèces nuisibles et contribue à renforcer les arguments en faveur de l'installation de programmes de Monitoring, afin de surveiller les proliférations d'espèces toxiques, et afin de contrôler les produits d'élevage conchylicole, dans un souci de protection sanitaire des consommateurs de coquillages.

---

Pour une meilleure connaissance sur la contamination des produits d'élevage de la ferme « CULTMARE » des bioessais sur souris pour l'analyse des phycotoxines diarrhéiques et paralysantes chez les moules et les huîtres ont été effectués.

Les résultats pour estimer la toxicité in vivo montrent globalement la survie des souris malgré la présence des symptômes d'intoxication et donc il n'y a pas de risque de contamination au niveau de la ferme d'élevage conchylicole « CULTMARE » par rapport aux moules *Mytilus galloprovincialis* et les huîtres creuse *Crassostrea gigas* implanté en bord de mer.

---

*REFERENCES*  
*BIBLIOGRAPHIQUES*

---

- **Abouda, O. et Bougrinet, K., (2018).** Contribution à l'étude des Paramètres Physico-Chimiques et les Micro-Algues Peuplant le Lac Méggarine (Ouargla) (Doctoral dissertation, universite kasdi merbah-ouargla).
- **AFNOR, (2011).** NF EN 15972 : Qualité de l'eau – Guide pour l'étude quantitative et qualitative du phytoplancton marin.
- **Aminot A et Chaussepied M., (1983).** Manuel des analyses chimiques en milieu marin. Brest, France : CNEXO. P. 395
- **Aminot et Kérouel, (2004) :** Hydrologie des écosystèmes marins paramètres et analyses. France : Ifremer. P. 336
- **Atanle, K., Bawal, M., Djaneye-Boundjou et al., (2013).** Distribution saisonnière du phytoplancton en fonction des caractéristiques physico-chimiques du lac de Zowla (Lac Boko) dans le Sud-Est du Togo : cas de la petite saison sèche et de la grande saison sèche. Journal of Applied Biosciences, 64. P.P.4847-4857
- **Azam Fet Malfatti F, (2007).** Microbial Structuring of marine ecosystems. Nature Reviews Microbiology 5. P.P. 782-791
- **Behrenfeld M J, Randerson JT, et al., (2001).** Biospheric primary production during an ENSO transition. Science 291. P.P. 2594-2597
- **Belin, C., Baut, M. L., et al., (1996).** REPHY (Réseau de Surveillance du Phytoplancton et des Phycotoxines). Méthodes de détection des phycotoxines diarrhéiques (DSP) et paralysantes (PSP). Méthodes biologiques sur souris.
- **Belin, C., et Raffin, B. (1998).** Les espèces phytoplanctoniques toxiques et nuisibles sur le littoral français de 1984 à 1995, résultats du REPHY (réseau de surveillance du phytoplancton et des phycotoxines).
- **Bérard-Therriault, L., Poulin, M, et al., (1999).** Guide d'identification du phytoplancton marin de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent : incluant également certains protozoaires (No. 128). NRC Research Press.
- **Berghida, I., et Mechtri, A. (2017).** Cartographie des efflorescences algales dans le barrage d'El Agrem. (W. de Jijel) à partir d'images satellitaires. Mémoire de master. Monitoring des hydrosystèmes continentaux. Jijel : Université de jijel.
- **Bernard, C., (2014).** Les cyanobactéries et leurs toxines. Revue francophone des laboratoires, (460). P.P. 53-68
- **Blanchouin, A., Billen, G., Garnier, J., & Fauchon, N. (2013).** Anticipation du développement algal Dans la Seine, la Marne et l'Oise.
- **Bontoux J, (1993) :** Introduction à l'étude des eaux douces : eaux naturels, eaux usées, eaux de besoin. Paris : Lavoisier. P. 166
- **Bouchena, A et Kaidi, H., (2006).** Etude de faisabilité techno-économique d'une ferme conchylocole : (Cas d'étude : ferme SEAM). Mémoire d'ingénieur. Aquaculture. Dely Brahim : ENSSMAL. P. 49
- **Bravo, I. et Figueroa, R.I., (2014).** Towards an ecological understanding of dinoflagellate cyst functions. Microorganisms, 2(1), pp.11-32.

- **Cadier, M., (2016).** Diversité des communautés phytoplanctoniques en relation avec les facteurs environnementaux en mer d'Iroise : approche par la modélisation 3D. Thèse de doctorat. Sciences de l'environnement marin. France : Université de Bretagne occidentale-Brest.
- **Chisholm SW, (1995).** The iron hypothesis: Basic research meets environmental policy. MASO, Mercedes et GARCÉS, Esther. Harmful microalgae blooms (HAB) ; problematic and conditions that induce them. Marine pollution bulletin, 2006, vol. 53, no 10-12. P.P. 620-630.
- **CNRDPA., (2005).** Centre National de Recherche et de Développement de la Pêche et de l'Aquaculture.
- **Couté, A., Bernard, C., (2001).** Les cyanobactéries toxiques. In : Toxines d'algues dans l'alimentation, Frémy, J. M. & Lassus, P. Brest : Ifremer. P.P. 21-37
- **Davidson, K., Gowen, R., et al., (2014).** Anthropogenic nutrients and harmful algae in coastal waters. Journal of environmental management, 146. P.P. 206-216
- **Djemaoun, L. (2018).** Contribution à l'étude du phytoplancton toxique et/ou nuisible au niveau d'une ferme conchylicole « Orcamarine » (Ain-taya). Mémoire d'ingénieur. Environnement marin. Dely Brahim : ENSSMAL. P. 33
- **Djerad Chahinez. (2011).** Evaluation de l'état de la pollution par les sels nutritifs et les métaux lourds dans l'eau et le sédiment superficiel de la baie de Bou-Ismaïl. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieure en science de la mer. Option: Environnement. Alger: ENSSMAL. P.28
- **Djerioui, N. (2014).** Contribution à l'étude du phytoplankton nocif dans des zones confinées de la region d'Alger (Port et plage d'El-Djamila, port et plage de Sidi-Fredj). Mémoire d'ingénieur. Environnement marin. Dely Brahim. ENSSMAL. P. 63
- **Dussard B., (1966).** Limnologie : L'étude des eaux continentales. Paris: Gauthier-Villars.
- **El Halouani, H., Picoti, B. et al., (1993).** Elimination de l'azote et du phosphore dans un lagunage à haut rendement. Revue des Sciences de l'eau, volume 6(1). P.P. 47-61
- *Eppley, R. W., et Peterson, B. J. (1979).* Particulate organic matter flux and planktonic new production in the deep ocean. Nature, volume 282(5740). P.P. 677-680
- **Falkowski, P.G., Laws, E.A. et al., (2003).** Phytoplankton and their role in primary, new, and export production. Ocean biogeochemistry: The role of the ocean carbon cycle in global change. P.P. 99-121
- **Fleurence, J., (2021).** Les microalgues : De l'aliment du futur à l'usine cellulaire. ISTE Group. P.P. 19-20
- **Frehi, H., Coute, A. et al., (2007).** Dinoflagellés toxiques et/ou responsables de blooms dans la baie d'Annaba.
- **Gailhard, I. (2003).** Analyse de la variabilité spatio-temporelle des populations microalgales côtières observées par le REseau de surveillance du PHYtoplancton et

- 
- des phycotoxines (REPHY). Thèse de doctorat. Sciences de l'environnement marin. France : Université de la Méditerranée Aix-Marseille II.
- **Garnier, J., Billen, G., et Costa, M., (1995).** Succession saisonnière de diatomées et de chlorophycées dans le réseau de drainage de la Seine : Observations et modélisation. *Limnologie et océanographie*, 40. P.P. 750-765
  - **Gorenflot R., et Guern M., (1989).** Organisation et Biologie des Thallophytes. Doinédit.Paris. P. 196-201
  - **Hallegraeff, G. M., Anderson, D. et al., (2004).** Manual on harmful marine microalgae. Unesco.
  - **Hoppenrath, M., Elbrächter, M. and Drebes, G., (2009).** Marine phytoplankton.
  - **Iglesias-Rodriguez, M.D., Schofield, O. M et al., (2006).** Intraspecific genetic diversity in the marine coccolithophore *Emiliana huxleyi* (Prymnesiophyceae): The use of microsatellite analysis in marine phytoplankton population studies. *Journal of phycology*. 42. P.P. 526-536
  - **Inal A., (2011).** Les métaux traces dans les sédiments de la baie de Bou Ismail : surveillance de la pollution et étude des processus géochimiques. Mémoire de Magister. Gestion et surveillance de l'environnement marin et littoral. Delly Brahim : ENSSMAL. P.37
  - **Johansen, J.R., (1988).** Atlas du Phytoplankton Marin Volume II: Diatomophycees.
  - **Lagos, N., (1998).** Microalgal blooms A global issue with negative impact in Chile. *Biological research*, 31. P.P. 375-386
  - **Lakkis, S., (2011).** Le phytoplankton marin du Liban (Méditerranée orientale) biologie, biodiversité, biogéographie. Aracne. Roma.
  - **Lassus, P., Chaumérat, N., Hess, P., et Nézan, E., (2015).** Toxic and harmful microalgae of the World Ocean. International Society for the Study of Harmful Algae and the United Nations Educational, Scientific and Cultural Organisation.
  - **Leloup, M., (2013).** Evaluation de l'impact des blooms algaux et d'efflorescences bactériennes sur les caractéristiques de la matière organique des eaux naturelles. Thèse de doctorat. Eau, Sol, Environnement. France : université de Limoges.
  - **Lorenzen, C.J., (1967).** Vertical distribution of chlorophyll and phaeo-pigments: Baja California. In *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts* (Vol. 14, No. 6. P.P. 735-745)
  - **Marteil, L., (1976).** La conchyliculture française. 2ème partie. Biologie de l'huître et de la moule. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes*, 40(2). P.P. 149-346
  - **Maso, M. and Garcés, E., (2006).** Harmful microalgae blooms (HAB); problematic and conditions that induce them. *Marine pollution bulletin*, 53(10-12). P.P. 620-630
  - **Mathieu, R., bellier, J.P. et Granier, B., (2011).** Carnets de Géologie (2011 : Livre 2). P. 36

- **Millet, B. (1989).** Fonctionnement hydrodynamique du bassin de Thau. Validation écologique d'un modèle numérique de circulation (programme Ecothau). *Oceanologica Acta*, volume 12 (1). P.P. 37-46
- **Moestrup, Ø., (1988).** Atlas du Phytoplancton Marin, Vol. 1 : Cyanophycées, Dictyochophycées, Dinophycées, Raphidophycées.
- **Morales, J. S. (2014).** Liens entre la météorologie et l'abondance de phytoplancton dans l'océan à partir d'images satellites. Thèse de doctorat. Environnement. Canada : Université de Sherbrooke.
- **O. N. M., (2010).** Le climat en Algérie (mise à jour du 21 Avril 2010). Office National de la Météorologie, Alger, Algérie.
- **Orr, R.J., Murray, S.A. et al., (2012).** When naked became armored: an eight-gene phylogeny reveals monophyletic origin of theca in dinoflagellates.
- **Prescott, L.M., Harley, J.P. et Klein, D.A. (2003).** Microbiologie, 2ème édition. De Boeck Université, Bruxelles.
- **Reynolds, C.S., (2006).** The ecology of phytoplankton. Cambridge University Press.
- **Rolland A., (2009).** Dynamique et diversité du phytoplancton dans le réservoir Marne (Bassin versant de la Seine). Thèse de doctorat. France : Université de Savoie. P. 236
- **Saez, A.G., Zaldivar-Riveron, A. et Medlin, L.K., (2008).** Molecular systematics of the Pleurochrysidaceae, a family of coastal coccolithophores (Haptophyta). *Journal of Plankton Research*. 30. P.P. 559-566
- **Salhi, N., Zmerli-Triki, H. et al., (2018).** Seasonal variability of picophytoplankton under contrasting environments in northern Tunisian coasts, southwestern Mediterranean Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 129 (2). P.P. 866-874
- Sournia, A., (1986), Atlas du phytoplancton marin : Volume 1 - Cyanophycées, Dictyochophycées, Dinophycées, Raphidophycées. Paris : Ed. CNRS. P. 219
- **Stenton-Dozey, J., Probyn, T. et al., (2001).** Impact of mussel (*Mytilus galloprovincialis*) raft-culture on benthic macrofauna, in situ oxygen uptake, and nutrient fluxes in Saldanha Bay, South Africa. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58(5). P.P. 1021-1031
- **Tomas, C.R. ed., (1997).** Identifying marine phytoplankton. Elsevier.
- **Wołowski, K.O.N.R.A.D., (2012).** Euglenophytes from a fishpond in the Republic of Cameroon (West-Central Africa). *Current advances in algal taxonomy and its applications: phylogenetic, ecological, and applied perspective*. P.P. 175-183
- **Yentsch et Menzel., (1963).** Methode for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. Woodshole oceanographic institution. P. 82
- **Zingone, A., Escalera, L., et al., (2021).** Toxic marine microalgae and noxious blooms in the Mediterranean Sea: A contribution to the Global HAB Status Report. *Harmful Algae*, 102. P.P. 101-843

---

**- Site web consultés**

La page de LNCAPPASM consultée le 4/5/2023 à 13 heures disponible sur le web :

<https://www.lncappasm.dz/>

<https://repository.usthb.dz/bitstream/handle/123456789/5547/TH8690.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

<https://repository.usthb.dz/bitstream/handle/123456789/5547/TH8690.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

<http://repository.enp.edu.dz/jspui/bitstream/123456789/1920/1/BENDJEDDOU.Haroun.pdf>

La page de CULTMARE consulté le 9/4/2023 à 10 heures disponible sur le web :

<http://cultmare.com/>

---

# *Annexes*

---

---

## Annexe I : protocole d'extraction

### a) Dosage des toxines diarrhéique (DSP)

- L'extraction s'effectue sur 20 g (pesés précisément, au dg puis au cg près) de glandes digestives.
- Extraire avec une solution de méthanol/eau 80/20, 2 fois 60 ml :

Ajouter aux 20 g de glandes digestives 60 ml d'une solution de méthanol/eau 80/20. Mélanger jusqu'à obtention d'une solution homogène. Filtrer sur papier Watman le mélange obtenu ou centrifuger à 2000 tours 1 min. pendant 5 minutes.

Reprendre le résidu avec 60 ml de la solution méthanol / eau. Homogénéiser à l'ultraturax durant une à deux minutes. Filtrer sur papier le mélange obtenu ou centrifuger à 2000 tours/min. pendant 5 minutes. On recueille environ 120 ml de solution (filtrat).

Le résidu est éliminé. Continuer l'extraction sur le filtrat (surnageant).

- Faire une extraction liquide/liquide avec de l'hexane, 2 fois 60 ml :

Mettre le filtrat dans une ampoule à décanter. Ajouter 60 ml d'hexane. Retourner l'ampoule et agiter délicatement en ouvrant de temps en temps le robinet pour dégazer. Si l'agitation est trop brutale, il peut se former des émulsions conduisant à une décantation difficile. Laisser décanter jusqu'à obtention de deux phases nettes (environ 5 à 10 minutes). La phase hexane se trouve au-dessus de la phase méthanol/eau. Récupérer la phase méthanol dans une autre ampoule et éliminer la phase hexane.

Ajouter à nouveau 60 ml d'hexane et refaire la même opération.

Ajouter à la phase aqueuse (environ 120 ml de méthanol/eau) 20 ml d'eau

- Faire une extraction liquide/liquide avec du dichlorométhane, 2 fois 80 ml :

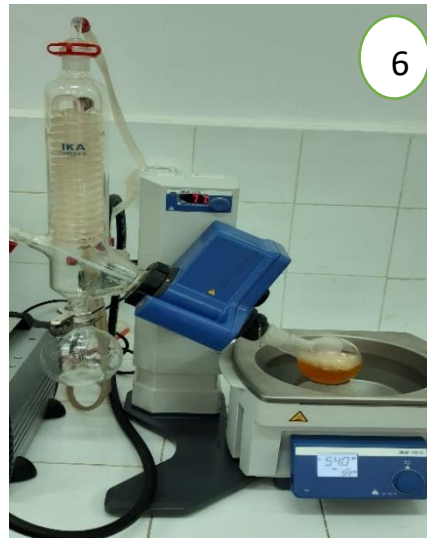
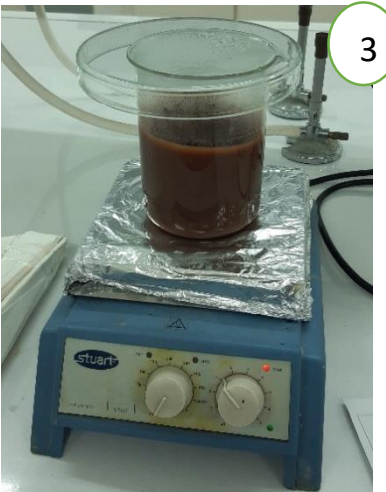
Ajouter 80 ml de dichlorométhane. Retourner l'ampoule et agiter délicatement en ouvrant de temps en temps le robinet pour dégazer. Si l'agitation est trop brutale, il peut se former des émulsions conduisant à une décantation difficile. Laisser décanter jusqu'à obtention de deux phases nettes (environ 5 à 10 minutes). La phase dichlorométhane se trouve au-dessous de la phase aqueuse (méthanol/eau). Récupérer la phase dichlorométhane dans une autre ampoule et garder la phase aqueuse dans un bécher.

- 
- Ajouter à nouveau 80 ml de dichlorométhane dans l'ampoule et refaire la même opération.
  - Garder la phase aqueuse au réfrigérateur jusqu'à la fin du test.
  - Continuer sur la phase dichlorométhane. Evaporer le dichlorométhane, entre 30 et 40°C, avec le rotovapor équipé d'une pompe à vide.

Il est également possible d'évaporer le solvant à la trompe à eau et de finir à la pompe à vide.

- Reprendre le résidu obtenu, dans 4 ml de Tween 60 à 1%. Bien dissoudre le résidu.

L'extrait est prêt pour l'injection.

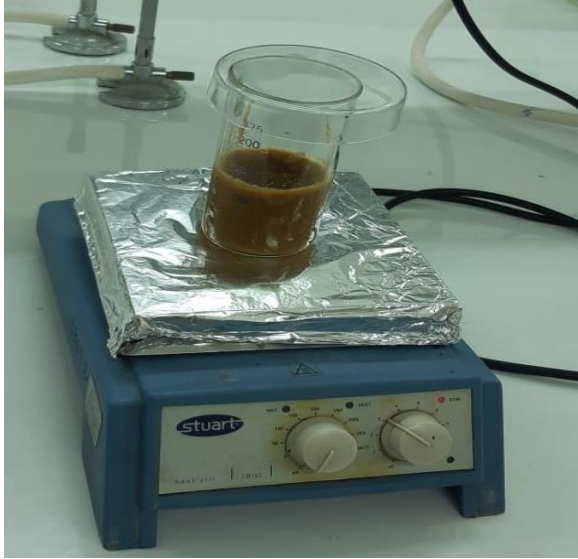


---

## b) Dosage des toxines paralysantes (PSP)

- Peser précisément 100 g de broyat dans un bécher et ajouter 100 ml d'acide chlorhydrique 0,1 N.
- Homogénéiser et vérifier le pH (papier), qui doit être aux alentours de 3, l'ajuster si nécessaire.
- Recouvrir le bécher d'une feuille d'aluminium pour éviter un éventuel débordement lors de l'ébullition. Porter à ébullition douce sous agitation permanente pendant 5 minutes, puis refroidir soit à température ambiante, soit dans un bain de glace. Vérifier le pH, qui doit être aux alentours de 3, l'ajuster si nécessaire. Transvaser l'extrait dans une éprouvette et compléter à 200 ml avec de l'eau distillée. Boucher l'éprouvette avec une feuille de paraffine et mélanger par retournements ou transférer l'extrait dans le bécher puis agiter. Laisser ensuite décanter jusqu'à obtention d'un surnageant clair, exempt de grosses particules. Ou centrifuger le mélange 15 minutes à 3000 tours / min.
- Récupérer le surnageant et le conserver dans des pots résistant à la congélation. L'extrait est prêt pour l'injection.





**Annexe II : Relation entre Temps de Survie et Unité-Souris (dosage des toxines paralysantes / PSP).**

**Table de SOMMER**

Temps de Survie	Unités-Souris	Temps de Survie	Unités-Souris	Temps de Survie	Unités-Souris
1'00	100	4'00	2.5	10'00	1.11
1'10	66.2	4'05	2.44	10'30	1.09
1'15	38.3	4'10	2.38	11'00	1.075
1'20	26.4	4'15	2.32	11'30	1.06
1'25	20.7	4'20	2.26	12'00	1.05
1'30	16.5	4'25	2.21	13'00	1.03
1'35	13.9	4'30	2.16	14'00	1.015
1'40	11.9	4'35	2.12	15'00	1
1'45	10.4	4'40	2.08	16'00	0.99
1'50	9.33	4'45	2.04	17'00	0.98
1'55	8.42	4'50	2	18'00	0.972
2'00	7.67	4'55	1.96	19'00	0.965
2'05	7.04	5'00	1.92	20'00	0.96
2'10	6.52	5'05	1.89	21'00	0.954
2'15	6.06	5'10	1.86	22'00	0.948
2'20	5.66	5'15	1.83	23'00	0.942
2'25	5.32	5'20	1.8	24'00	0.937
2'30	5	5'30	1.74	25'00	0.934
2'35	4.73	5'40	1.69	30'00	0.917
2'40	4.48	5'45	1.67	40'00	0.898
2'45	4.26	5'50	1.64	60'00	0.875
2'50	4.06	6'00	1.6		
2'55	3.38	6'15	1.54		
3'00	3.7	6'30	1.48		
3'05	3.57	6'45	1.43		
3'10	3.43	7'00	1.39		
3'15	3.31	7'15	1.35		
3'20	3.19	7'30	1.31		
3'25	3.08	7'45	1.28		
3'30	1.98	8'00	1.25		
3'35	2.88	8'15	1.22		
3'40	2.79	8'30	1.2		
3'45	2.71	8'45	1.18		
3'50	2.63	9'00	1.16		
3'55	2.56	9'30	1.13		

---

### **Annexe III : Détermination du facteur de conversion (FC) pour le dosage des toxines paralysantes (PSP).**

Le facteur de conversion (FC) permet de transformer les Unités-Souris en  $\mu\text{g}$  d'équivalent-saxitoxine. Il varie avec la souche de souris utilisée, les conditions opératoires et le manipulateur.

La détermination du FC se fait en deux étapes, suivies de vérifications périodiques :

- 1ère étape : estimation des concentrations de saxitoxine (STX) qui provoquent la mort en 5 à 7 minutes de souris de 20 g après injection de 1 ml ;
- 2ème étape : détermination du FC proprement dit sur plusieurs lots de 10 souris avec les dilutions précédemment estimées ; cette étape est répétée plusieurs fois à quelques jours d'intervalle. La moyenne des FC servira de FC permanent.

---

**Annexe IV**

**Business Model Canvas**

## Introduction

Dans le cadre de l'arrêté ministériel 1275, j'ai bénéficié d'une formation en entrepreneuriat au sein de l'incubateur de notre école afin d'être capables de créer une startup basée sur notre sujet fin d'étude. Ce mémoire de fin d'études porte sur le diagnostic de la contamination des moules par des phytoplancton toxiques et/ou nuisibles, un domaine essentiel pour comprendre la dynamique des population phytoplanctoniques et protéger l'écosystème et l'environnement marine ainsi que protéger la santé publique contre les intoxications résultant de la consommation de coquillages toxiques qui ont accumulé des toxines de phytoplanctons.

Mon ambition dépasse le cadre académique. Je souhaite concrétiser ces connaissances en créant une startup spécialisée.

Mon objectif est de développer une entreprise qui se concentre sur l'analyse précise et la modélisation de l'évolution des populations phytoplanctonique toxiques et/ou nuisibles résultant des HABs harmful algae blooms. Grâce aux conclusions et recommandations établies dans ce mémoire, nous avons identifié une demande claire sur le marché pour des solutions avancées pour lutter contre les effets négatifs de ce phénomène.

Fort de mon expertise dans ce domaine, je fournirai des informations cruciales aux gouvernements locaux, aux organisations environnementales, ainsi qu'à d'autres parties prenantes impliquées dans la protection de l'environnement marine et la santé publiques.

Partenaires clés :	Activités principales :	Valeurs ajoutées :	Relation client :	Clients :
- Universités et instituts de recherche pour la collaboration scientifique : USTHB, ENSSMAL. - Ministère de la pêche et l'aquaculture - L'Agence Nationale des Barrages et Transferts (ANBT) - L'EPIC HUPE Établissement Public d'Hygiène Urbaine et de la Protection de	- tests de toxicologie sur souris et détermination des concentration des toxines afin d'assurer la qualité des mollusques bivalves. - Collecte et visualisation de données sur la distribution des phytoplanctons toxiques et nuisibles	- Surveillance de l'évolution des populations phytoplanctoniques toxiques et nuisibles. - Évaluation des risques et des impacts potentiels des phytoplancton toxiques et leurs toxines	- Établir des relations de confiance avec les clients en fournissant des services de haute qualité.  - Collaborer étroitement avec les clients pour comprendre leurs besoins spécifiques	- Gouvernements locaux et nationaux et Organisations environnementales : ONEDD, APPL. - Les pêcheries au niveau d'Alger et les alentours de la wilaya. -Les fermes conchylicoles. L'Agence Nationale des Barrages et Transferts (ANBT).

<p>L'Environnement</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Institut Pasteur</li> <li>- L'Agence Nationale des Barrages et Transferts (ANBT)</li> </ul> <p>- Différentes banques</p>	<p>- Présentation des résultats aux clients</p>			
	<p>Ressources clés :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Équipe d'experts en science marine et hydrobiologie</li> <li>- Équipements relevé de laboratoire</li> <li>- présence d'animalerie donc accès a des tests de toxicologie</li> </ul>		<p>Canaux de distribution :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Présence en ligne (site web, médias sociaux)</li> <li>- Réseaux professionnels et conférences</li> </ul> <p>Partenariats avec des</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- agences gouvernementales et environnementales</li> <li>- des événements professionnels</li> </ul>	
<p>Coûts :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Salaires des employeurs</li> <li>- Coût de location du siège</li> <li>- Coût de construction de site web</li> <li>- Coûts d'équipement et de matériel laboratoires</li> <li>- Coûts de licences de logiciel ArcGIS : version Field Worker.</li> </ul> <p>Dépense annuelle = 6.300.000 DA</p> <p>Cout total = 7.750.0006 DA</p>			<p>Revenue :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Les études et les rapports</li> <li>- Contrats de surveillance avec des organisations gouvernementales</li> <li>- les analyses de toxicologie</li> </ul>	

---

➤ **Partenaires clés**

- Appl Agence de la Protection et de la Promotion du Littoral.
- Institut Pasteur.
- l'EPIC HUPE Etablissement public d'hygiène urbaine et de la protection de l'environnement
- Ministère de la pêche et l'aquaculture.
- Universités et instituts de recherche pour la collaboration scientifique (USTHB, ENSSMAL...).
- L'Agence Nationale des Barrages et Transferts (ANBT).
- Différentes banques.

➤ **Valeurs ajoutées**

La détection et le suivi des espèces phytoplanctoniques productrices de toxines susceptibles de s'accumuler dans les produits marins de consommation ou de contribuer à d'autres formes d'exposition dangereuse pour la santé humaine, et la recherche de ces toxines dans les mollusques bivalves présents dans les zones de production ou dans les gisements naturels. Une visualisation des données pour que le client mieux comprendre la dynamique de ces microorganismes.

Des prélèvements de coquillages sont effectués pour des analyses de toxines : quatre familles de toxines sont ainsi suivies régulièrement soit via des tests biologique soit par des appareils spécialisé High-performance liquid chromatography (HPLC).

Si la présence de phytoplanctons toxiques est détectée, des mesures de prévention et de gestion pourront être mises en place afin de réduire le risque de de l'intoxication

➤ **Clients**

- Les pêcheries au niveau d'Alger et les alentours
- Les fermes conchylicoles
- Les ports de l'Algérie
- L'Agence Nationale des Barrages et Transferts (ANBT)
- Gouvernements locaux et nationaux et Organisations environnementales : ONEDD, APPL.

Besoin	Les détails sur les besoins	Coût		
		Coût mensuel	Coût annuelle	Total
Local	Un F5 situé au niveau d'Alger	50000 Da/mois	600.000 DA	600.000 DA
La licence de version premiums de logiciel de cartographie	ArcGIS : version Field Worker	/	70.000 DA	70.000 DA
Matériel laboratoire	Appareil HPLC avec ces réactifs Microscope inversé Verreries Les réactifs laboratoires Animalerie les cages plus les souris	/	/	4.500.000 DA
Matériel bureautique	Une table de travail + 6 chaises + bureau professionnel+ Ordinateurs +autres	/	/	600.000 DA
Salaire des employeurs	Un ingénieur de laboratoire	60.000 DA	720.000 DA	1.980.000 DA
Coût du Projet total pour la première année				7.750.0006

---

## Chiffres d'affaires

❖ Les analyse toxicologie appareil HPLC plus les tests biologiques

- 1 ans  $55000 \times 24 = 1320000$
- 2 ans  $55000 \times 40 = 2200000$
- 3 ans  $55000 \times 50 = 2750000$

❖ Les cartes

- 1 ans  $10000 \times 24 = 240000$
- 2 ans  $10000 \times 36 = 360000$
- 3 ans  $15000 \times 48 = 480000$

Coût du Projet total	Dépense annuel	Charges annuel	Gain total	Gain nette par an
7.750.0006	6.714.000	1.036.000	22.300.000	5.639.760

---

## *Conclusion*

Notre Business Model Canvas met en évidence une opportunité prometteuse pour réaliser notre startup spécialisée dans l'analyse de l'évolution de la géomorphologie côtière.

Grâce à notre formation en entrepreneuriat et à notre expertise dans ce domaine, nous sommes convaincus de la valeur que notre entreprise peut apporter sur le marché. Notre marché cible comprend les gouvernements locaux, les organisations environnementales, les fermes conchylicole. En leur fournissant des rapports détaillés, nous les aidons à mieux comprendre et anticiper l'évolution des populations phytoplanctoniques toxiques et/ou nuisibles, ce qui est essentiel pour une prise de décision éclairée et une gestion efficace, de se protéger les consommateurs des mollusques bivalves contre le danger des phycotoxines.

Nous prévoyons d'établir des canaux de distribution directs en établissant des partenariats stratégiques, en participant à des événements professionnels et en exploitant les canaux en ligne.

En ce qui concerne notre structure de coûts, nous allouons des ressources à la recherche et au développement, à la collecte de données et à l'analyse, tout en cherchant à réaliser des économies d'échelle grâce à l'automatisation et à l'utilisation efficace des ressources.

Notre source de revenus proviendra principalement de contrats de consultation, des tests toxicologiques et de l'utilisation de notre appareil HPLC car on est la seule société qui offre ces services. Nous offrirons des tarifs compétitifs en fonction de la valeur que nous apportons à nos clients et des coûts associés à la prestation de nos services.

En conclusion, mon Business Model Canvas démontre la viabilité et le potentiel prometteur de notre startup spécialisée dans la détection le suivi et l'élimination des effets négatifs des phytoplancton toxiques. Je suis déterminée à rechercher des sources de financement afin de concrétiser notre projet et le mettre en œuvre dans la réalité.

---

## **Diagnostic sur la contamination des mollusques par le phytoplancton toxique ou/et nuisible d'une ferme conchylicole « CULTMARE »**

### **Résumé :**

Les phytoplanctons sont des microorganismes photosynthétiques vivant libres en suspension dans la colonne d'eau, elles sont à la base de la chaîne alimentaire et un aliment de choix pour les espèces filtreuses notamment les mollusques bivalves. Lorsque la concentration en nutriment augmente dans le milieu les phytoplanctons peuvent se proliférer et provoquer des blooms certaines espèces produisent des substances toxiques causant des HABs harmful algal bloom.

La consommation de coquillages toxiques qui ont accumulé des toxines de phytoplanctons filtrés de l'eau entraîne des intoxications.

L'étude vise à évaluer la présence et l'abondance des phytoplanctons toxiques ou nuisibles dans l'environnement de site d'étude la ferme CULTMARE, notamment dans l'eau où les moules se développent et de déterminer le taux de contamination des moules produites au niveau de la ferme, afin de répondre à l'objectif de notre étude des analyses de paramètres biologiques et une analyse des paramètres physico-chimiques au niveau de la ferme ainsi que des tests toxicologiques sur souris.

### **Summary:**

Phytoplankton are photosynthetic microorganisms living freely suspended in the water column, they are at the base of the food chain and a food of choice for filter-feeding species, in particular bivalve mollusks. When the nutrient concentration increases in the medium the phytoplankton can proliferate and cause blooms some species produce toxic substances causing HABs harmful algal bloom.

The consumption of toxic shells that have accumulated toxins of phytoplankton filtered from the water leads to poisoning.

The study aims to evaluate the presence and abundance of toxic or harmful phytoplankton in the environment of the CULTMARE farm study site, in particular in the water where the mussels develop and to determine the contamination rate the mussels produce at the farm

---

level, in order to meet the objective of our study of biological parameter analyses and an analysis of physico-chemical parameters at the farm level as well as toxicological test on mice.

### ملخص :

العوالق النباتية هي كائنات دقيقة ضوئية تعيش بحرية معلقة في عمود الماء، وهي في قاعدة السلسلة الغذائية وغذاء مفضل لأنواع التغذية بالترشيح، ولا سيما الرخويات ذات الصدفتين. عندما يزيد تركيز المغذيات في الوسط، يمكن أن تتكاثر العوالق النباتية وتسبب الإزهار، تنتج بعض الأنواع مواد سامة تسبب تكاثر الطحالب الضارة يؤدي استهلاك الأصداف السامة التي تراكمت سموم العوالق النباتية المفلترة من الماء إلى التسمم. تهدف الدراسة إلى تقييم وجود وفرة العوالق النباتية السامة أو الضارة في بيئة موقع دراسة مزرعة كولتمير، ولا سيما في المياه التي ينمو فيها بلح البحر وتحديد معدل التلوث الذي ينتجه بلح البحر على مستوى المزرعة، من أجل تحقيق هدف دراستنا لتحليلات البارامترات البيولوجية وتحليل البارامترات الفيزيائية والكيميائية على مستوى المزرعة وكذلك الحلمات السمية على الفئران.