

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de RELIZANE
Faculté des Sciences de la Nature et de la vie
Département des Sciences Biologique



MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en :

Parasitologie

Intitulé

Potentiel de *Lemna minor* dans le traitement des eaux salines et
évaluation de son activité antiparasitaire

Présenté par :

Mlle : BELGHERBI Meriem

Mlle : BELHADADJI Safia

Devant les membres de jury :

Président : Mr ELMEZOUED Djamel Eddine

Maître de conférence (A) (U. Relizane)

Encadreur : Mr GADI Omar

Maître assistant (A) (U. Relizane)

Examineur : Mme HAMAD Hanane

Maître de conférence (A) (U. Relizane)

Année universitaire : 2025/2026

Remerciements

Au nom de Dieu, nous louons Dieu Tout-Puissant qui nous a permis de mener à bien ce travail et nous a accordé patience et détermination tout au long de sa réalisation.

Nous exprimons notre profonde gratitude au professeur **Mr. GADI Omar** pour son précieux encadrement et ses conseils constants, ainsi que pour tous les conseils scientifiques qu'il nous a prodigués et qui nous ont été d'une aide précieuse pour la réalisation de cette thèse. Nous lui devons notre plus grand respect et notre reconnaissance.

Nous remercions également sincèrement les membres du jury, et en particulier le professeur **ADDI Nesrine** d'avoir accepté la présidence du jury, et le professeur **HANIS Fouzia** pour sa participation active à l'examen et pour avoir enrichi la thèse de ses précieuses observations.

Nous exprimons également notre profonde gratitude à nos chères familles, qui nous ont soutenus et encouragés tout au long de notre parcours universitaire et qui ont été pour nous une source de force et de motivation.

Nous remercions également tous les professeurs du Département des sciences biologiques qui ont contribué à notre formation et à notre développement scientifique.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce modeste ouvrage, ainsi que tous nos collègues et amis de la promotion **2026**.

SAFIA ET MERIEM

DEDICACE

Tout d'abord, je remercie Dieu pour sa guidance et son aide dans la réalisation de ce travail.

Ensuite, j'adresse mes sincères remerciements et ma profonde gratitude à mes chers parents, qui ont été mon principal soutien dans la vie et qui n'ont jamais hésité à m'offrir leur soutien, leur amour et leurs sacrifices. Je leur dois tout mon amour et mon respect.

Je remercie également mes frères et sœurs, et plus particulièrement mon cher frère, pour leur soutien et leurs encouragements. Je remercie aussi ma collègue et mes autres amis pour leur présence et leur soutien indéfectibles.

Je tiens à exprimer ma plus profonde gratitude et ma reconnaissance à tous les professeurs estimés qui m'ont accompagné tout au long de mes études.

Tout particulièrement au directeur de thèse, qui n'a ménagé aucun effort pour me guider et m'aider. Il a joué un rôle déterminant dans la réussite de ce projet grâce à ses précieux conseils, ses orientations précises et son soutien constant. Je lui témoigne mon plus grand respect et ma plus profonde reconnaissance.

Résumé

Face à la dégradation croissante de la qualité des ressources hydriques et à l'émergence de nouvelles menaces parasitaires, la valorisation des macrophytes aquatiques représente une voie de recherche prometteuse et économiquement viable. La présente étude vise à évaluer le potentiel de *Lemna minor* dans le traitement des eaux salines et à explorer son activité antiparasitaire *in vitro*. La tolérance au sel a été étudiée dans des milieux de culture préparés à des concentrations croissantes de NaCl (1 g/L, 2 g/L, 3 g/L, 4 g/L, 6 g/L, 8 g/L, et enfin 35 g/L), en comparaison avec le milieu de référence de Steinberg. Les principaux paramètres physicochimiques mesurés tout au long des 14 jours d'expérimentation incluaient la biomasse, le pH, la salinité, ainsi que les concentrations en ions chlorure, nitrate et sulfate. L'activité antiparasitaire de l'extrait aqueux a été évaluée sur *Paramecium* à des concentrations allant de 0 à 830 µg/ml, avec confirmation microscopique des effets observés. Les résultats ont révélé que la croissance de *Lemna minor* est inversement proportionnelle à la concentration saline, avec une biomasse maximale de 45,1 mg enregistrée dans le milieu de Steinberg à J14, et une inhibition totale à 35 g.L⁻¹. Un taux de dessalement atteignant 24,27% a été obtenu dans le milieu à faible salinité, accompagné d'une réduction significative des ions chlorure (67%), nitrate (77%) et sulfate (48%). L'extrait aqueux a démontré une activité antiparasitaire concentration-dépendante, avec une CI₅₀ estimée entre 280 et 300 µg/ml et un effet létal total à 332 µg/ml, confirmé par des altérations morphologiques sévères observées au microscope.

Mots clés : *Lemna minor* ; eaux salines ; phytoremédiation ; dessalement biologique ; activité antiparasitaire ; *Paramecium*

Abstract

Given the increasing deterioration of water resource quality and the emergence of new parasitic threats, the use of aquatic macrophytes in biological treatment represent a promising and economically viable research avenue. This study aims to evaluate the potential of *Lemna minor* in saline water treatment and to explore its antiparasitic activity *in vitro*. Salt tolerance was investigated in culture media prepared at increasing NaCl concentrations (1 g/L, 2 g/L, 3 g/L, 4 g/L, 6 g/L, 8 g/L, and finally 35 g/L), compared to the Steinberg reference medium. The main physicochemical parameters monitored throughout the 14-day experiment included biomass, pH, salinity, and the concentrations of chloride, nitrate, and sulfate ions. The antiparasitic activity of the aqueous extract was assessed against *Paramecium* at concentrations ranging from 0 to 830 µg/ml, with microscopic confirmation of the observed effects. Results revealed that *Lemna minor* growth is inversely proportional to salt concentration, with a maximum biomass of 45.1 mg recorded in the Steinberg medium at day 14, and complete growth inhibition at 35 g.L⁻¹. A desalination rate of 24.27% was achieved in the low-salinity medium, accompanied by a significant reduction in chloride (67%), nitrate (77%), and sulfate (48%) ions. The aqueous extract demonstrated a concentration-dependent antiparasitic activity, with an estimated IC₅₀ between 280 and 300 µg/ml and a total lethal effect at 332 µg/ml, confirmed by severe morphological alterations observed under the microscope.

Keywords: *Lemna minor*; saline water; phytoremediation; biological desalination; antiparasitic activity; *Paramecium*

الملخص

في ظل التدهور المتصاعد لجودة الموارد المائية وبروز تهديدات طفيلية متجددة، يكتسب توظيف النباتات المائية في المعالجة البيولوجية أهمية بحثية وعملية بالغة. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم إمكانية *Lemna minor* في معالجة المياه المالحة واستكشاف نشاطها المضاد للطفيليات في المختبر. جرى دراسة تحمل النبتة للملوحة في أوساط زراعية مُعدة بتركيزات متصاعدة من كلوريد الصوديوم (1 غرام/لتر، 2 غرام/لتر، 3 غرام/لتر، 4 غرام/لتر، 6 غرام/لتر، 8 غرام/لتر، وأخيراً 35 غرام/لتر)، مقارنةً بوسط Steinberg المرجعي. وشملت المعاملات الفيزيوكيميائية الرئيسية المُتابعة على امتداد 14 يوماً: الكتلة الحيوية، والأس الهيدروجيني، والملوحة، وتركيزات أيونات الكلوريد والنترات والكبريتات. كما قُيِّم النشاط المضاد للطفيليات للمستخلص المائي على *Paramecium* بتركيزات تتراوح بين 0 و 830 ميكروغرام/مل، مع تأكيد مجهري للتأثيرات المُلاحظة. كشفت النتائج أن نمو *Lemna minor* يتناسب عكسياً مع تركيز الملح، بكتلة حيوية قصوى بلغت 45.1 مغ في وسط Steinberg في اليوم الرابع عشر، وتوقف كلي للنمو عند 35 غ.ل⁻¹. وبلغ معدل إزالة الملوحة 24.27% في الوسط منخفض الملوحة، رفقة تراجع معتبر في تركيزات أيونات الكلوريد (67%) والنترات (77%) والكبريتات (48%). وأثبت المستخلص المائي نشاطاً مضاداً للطفيليات يتناسب مع التركيز، بـ CI_{50} تتراوح بين 280 و 300 ميكروغرام/مل وتأثير مميت كلي عند 332 ميكروغرام/مل، أكدته تغيرات شكلية حادة رُصدت تحت المجهر.

الكلمات المفتاحية *Lemna minor* ؛ المياه المالحة ؛ المعالجة النباتية ؛ إزالة الملوحة البيولوجية ؛ النشاط المضاد للطفيليات ؛ *Paramecium*

Remerciements	2
Dedicace	3
Table des matieres	Erreur ! Signet non défini.
Liste des figures	10
Liste des tableaux	11
Liste des abréviations	12
Introduction	13
Chapitre I : <i>Lemna minor</i>	4
1.1. Historique	5
1.2. Définition	5
1.3. Origine des noms	6
1.4. Systématiques de la plante	6
1.5. Description de l'espèce	7
1.5.1. Caractéristiques morphologiques	7
1.5.2. Espèces ressemblantes	8
1.6. Répartition et écologie	9
1.6.1. Distribution géographique	9
1.6.2. Biotope	9
1.7. Biologie de <i>lemna minor</i>	10
1.7.1. Reproduction - multiplication	10
1.7.2. Facteurs influençant la croissance	11
1.8. Composition et nutrition	13
1.8.1. Composition	13
1.8.2. Nutrition	13
1.9. Rôles et applications	13
1.9.1. Capacité de bioaccumulation des contaminants	13
1.9.2. Contribution de <i>Lemna minor</i> à l'épuration des eaux usées	14
1.9.3. Activité antileishmanienne	15
Chapitre II : Généralités sur le dessalement des eaux	17
2.1. Historiques	18
2.2. Problème de la rareté de l'eau	18
2.3. Définition du dessalement de l'eau de mer	19

2.4. Classification des eaux selon la salinité	19
2.5. Différents types d'eau	20
2.5.1. Eau douce	20
2.5.2. Eau saumâtre	21
2.5.3. Eau de mer	21
2.6. Les principales technologies de dessalement des eaux	22
2.6.1. Les procédés thermiques (La distillation)	23
2.6.2. Les procédés membranaires	24
2.7. Dessalement en Algérie	25
2.8. Définition du bio-dessalement de l'eau de mer	25
2.9. Mécanismes de bio-dessalement biologique dans la nature	26
2.9.1. Système de transport dans la membrane cellulaire des organismes vivants ...	27
2.9.2. Mécanismes de bio-dessalement des bactéries	27
2.9.3. Mécanismes de bio-dessalement des plantes	28
2.9.4. Mécanismes de bio-dessalement chez les animaux	28
Chapitre III : Matériels et Méthodes	30
3.1. Matériel biologique : <i>Lemna minor</i> L.	31
3.2. Milieu de culture et nutriments	32
3.2.1 Milieu Steinberg (Modified Steinberg Medium)	32
3.3. Dispositif de culture et essais de bio-dessalement	33
3.4. Mesure de la biomasse et suivi de la croissance de <i>Lemna minor</i>	35
3.4.1. Détermination de la masse fraîche (Masse humide)	35
3.4.2. Détermination de la masse sèche finale	35
3.5. Mesure du pH	36
3.6. Mesure de la salinité	36
3.7. Détermination de chlorure	36
3.8. Détermination de Nitrate selon APHA	37
3.9. Détermination de Sulfate (SO ₄)	38
3.10. Évaluation de l'activité antiparasitaire <i>in vitro</i>	39
3.10.1. Préparation de l'extrait végétal de <i>Lemna minor</i>	39
3.10.2. Isolement, purification et choix du modèle biologique (<i>Paramecium</i> sp.)	39
3.11. Analyse statistique	41
Chapitre IV : Résultats et Discussion	43

4.1. Effet de la salinité sur la croissance de <i>Lemna minor</i>	44
4.2. Variation du pH	46
4.3 Salinité	47
4.3. Chlorure (Cl^-)	50
4.4. Nitrate (NO_3^-)	51
4.5. Sulfate (SO_4^{2-})	53
4.6. L'activité antiparasitaire	55
Conclusion	59
References bibliographiques	62
Annexes	62

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1: La lentille d'eau commune (photos originales).....	6
Figure 1.2: La lentille d'eau commune (<i>Lemna minor</i> 5631).....	8
Figure 1.3 : Reproduction sexuée chez la <i>Lemna</i>	10
Figure 1.4 : Modes de reproduction de <i>Lemna minor</i>	11
Figure 1.5 : Mécanismes de reproduction des lentilles d'eau douce	11
Figure 1.6 : Variation du pH des eaux en fonction du temps.....	15
Figure 1.7 : Variations de la C.E des eaux usées.....	15
Figure 2.1 : Les différents procédés de dessalement de l'eau de mer.....	23
Figure 2.2 : Principe des phénomènes d'osmose et d'osmose inverse	24
Figure 2.3 : Bio-dessalement par utilisation d'algues.....	26
Figure 3.1 : Aspect macroscopique de la culture de <i>Lemna minor</i> (Lentilles d'eau).....	32
Figure 3.2 : Dispositif expérimental de la culture de <i>Lemna minor</i> dans le milieu Steinberg sous stress salin.....	35
Figure 3.3 : Détermination de la masse sèche de la poudre broyée de <i>Lemna minor</i> (lentille d'eau) après séchage à l'étuve.....	40
Figure 3.4 : Observation microscopique (micrographie) de cellules de <i>Paramecium</i> sp.....	41
Figure 3.5 : Dispositif expérimental pour l'évaluation de l'activité antiparasitaire <i>in vitro</i> ...	41
Figure 4.1 : L'étude de la croissance de <i>Lemna minor</i> dans différents milieux salins.....	45
Figure 4.2 : Évaluation de la tolérance de <i>Lemna minor</i> à différentes concentrations salines.	46
Figure 4.3 : Évolution temporelle du pH du milieu de culture de <i>Lemna minor</i> en fonction de différents gradients de salinité durant	47
Figure 4.4 : Profil de diminution de la charge saline des milieux de culture de <i>Lemna minor</i>	48
Figure 4.5 : Évaluation du taux de dessalement (%) des milieux de culture par <i>Lemna minor</i>	50
Figure 4.6 : Cinétique de diminution des ions (Cl^-) dans les milieux de culture de <i>Lemna minor</i>	51
Figure 4.7 : Cinétique d'absorption des ions nitrates (mg.L^{-1}) dans le milieu de culture en fonction du temps et du gradient de salinité induit.....	53

Figure 4.8 : Profil d'abattement des ions sulfates (SO_4^{2-}) par <i>Lemna minor</i>	54
Figure 4.9 : Effet de différentes concentrations de l'extrait de <i>Lemna minor</i> sur la viabilité de <i>Paramecium</i>	56
Figure 4.10 : Observation microscopique comparative de la morphologie de <i>Paramecium</i> ..	57

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1:Activité antileishmanienne de l'extrait de <i>Lemna minor</i>	1
Tableau 2.1:Classification des eaux selon la salinité	1
Tableau 2.2 : Caractéristiques des eaux marines et des eaux saumât.....	21
Table au3.1:Composition du milieu de croissance Steinberg (ISO 20079)	1

LISTE DES ABREVIATIONS

ANOVA: Analyse de variance.

APHA: American Public Health Association.

AgCl: Chlorure d'argent.

BaCl₂: Chlorure de baryum.

BaSO₄: Sulfate de baryum.

CI₅₀: Concentration inhibitrice médiane (50%).

Cl⁻: Ion chlorure.

CO₂: Dioxyde de carbone.

DBO₅: Demande biologique en oxygène (5 jours).

DCO: Demande chimique en oxygène.

DMSO: Diméthylsulfoxyde.

g.L⁻¹: Gramme par litre.

GC-MS: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

HPLC: Chromatographie liquide haute performance.

IC₅₀: Concentration inhibitrice à 50% (Inhibitory Concentration 50).

J0: Jour zéro (début de l'expérimentation).

J6: Sixième jour de l'expérimentation.

J14: Quatorzième jour de l'expérimentation.

KrCrO₄: Chromate de potassium.

MES: Matières en suspension.

mg: Milligramme.

mg.L⁻¹: Milligramme par litre.

MTT: Bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium (test de viabilité cellulaire).

µg/ml: Microgramme par millilitre.

NaCl: Chlorure de sodium.

NO₃⁻: Ion nitrate.

OMS: Organisation mondiale de la Santé.

pH: Potentiel hydrogène.

SO₄²⁻: Ion sulfate.

UV: Ultra-violet.

XRD: Diffraction des rayons X (X-Ray Diffraction).

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Dans de nombreuses régions arides et semi-arides du monde, y compris l'Algérie, la pénurie d'eau est un problème majeur. En raison de son immense étendue, de sa croissance démographique rapide, des effets du changement climatique et de politiques de gestion de l'eau inefficaces, l'Algérie, l'un des plus grands pays d'Afrique du Nord, est confrontée à un stress hydrique croissant. ses régions côtières sont particulièrement vulnérables à la pénurie d'eau ; des solutions innovantes sont donc nécessaires de toute urgence pour garantir un approvisionnement en eau fiable et durable.

Le dessalement de l'eau de mer est devenu une technologie viable ces dernières années pour accroître les ressources en eau douce et réduire la pénurie d'eau dans les zones côtières. Afin de fournir une eau potable adaptée à divers usages, l'eau de mer doit être traitée pour éliminer les sels et les contaminants. L'installation de projets de dessalement s'accélère en Algérie face à la demande croissante en eau potable (**Kehal, 2001**).

Face à ce problème, les méthodes alternatives à faible impact environnemental suscitent un intérêt croissant. Parmi celles-ci, la bio-désalinisation par de grandes plantes aquatiques se distingue comme une option prometteuse. La lentille d'eau (*Lemna minor*), également appelée lentille d'eau, est une plante aquatique flottante à croissance rapide, reconnue pour sa capacité à absorber les ions minéraux, les métaux lourds et les polluants organiques dissous dans l'eau. Sa relative tolérance aux concentrations de salinité modérées, associée à sa biomasse à régénération rapide, en fait une candidate idéale pour le traitement biologique des eaux saumâtres (**Ebizimor et al., 2020**).

Par ailleurs, outre ses propriétés médicinales, la lentille d'eau (*Lemna minor*) présente un potentiel pharmacologique encore largement inexploré. Plusieurs études récentes ont mis en évidence la richesse de sa composition phytochimique ,flavonoïdes, polyphénols et acides gras essentiels qui pourrait conférer à cette plante d'importantes propriétés biologiques, notamment une activité antiparasitaire présentant un intérêt tant vétérinaire que médical (**Shabnum et al., 2026**).

INTRODUCTION

Les objectifs de cette étude sont les suivants :

- Évaluer la tolérance de *Lemna minor* à différentes concentrations de sel et déterminer le seuil de salinité à partir duquel sa croissance est inhibée.
- Analyser l'évolution des paramètres physico-chimiques du milieu de culture (biomasse, pH, salinité, ions chlorure, nitrate et sulfate) en présence de *Lemna minor* pendant 14 jours, en fonction du gradient de salinité appliqué.
- Étudier le potentiel de *Lemna minor* comme bioédulcorant en déterminant sa capacité à réduire la charge ionique du milieu durant sa croissance.
- Évaluer l'activité antiparasitaire in vitro d'un extrait aqueux de *Lemna minor* contre *Paramecium* en déterminant la concentration inhibitrice moyenne et en confirmant microscopiquement les effets cytotoxiques observés.

CHAPITRE I
LEMNA MINOR

CHAPITRE I : LEMNA MINOR

1.1. Historique

Décrite dès 1753 par Linné, en raison de sa vaste aire de distribution, la plante d'eau douce a été (re)décrite par de nombreux botanistes sous diverses appellations synonymes dont les plus cités en la littérature sont les suivantes (Haigh *et al.*, 2011).

- *Hydrophace minor*
- *Lemna minima*
- *Lemna rwandensis*
- *Lenticula minor*
- *Lenticula monorhiza*
- *Lenticula vulgaris*
- *Lemna minor*

1.2. Définition

Lemna minor, une lentille d'eau, est une plante aquatique d'eau douce qui appartient à la sous-famille Lemnoideae, anciennement connue sous le nom de famille Lemnaceae. L'une des variétés de lentilles d'eau les plus répandues et cosmopolites se multiplie rapidement lorsque l'ensoleillement et la température sont idéaux (Filbin et Hough, 1985). On trouve *Lemna minor* dans tous les endroits où l'eau est de faible mouvement ou stagnante, sauf dans les climats arctiques et les déserts arides. Elle occupe donc une vaste étendue des régions mondiales telles que l'Afrique, l'Asie, l'Europe et l'Amérique du Nord. Elle possède un grand potentiel pour le traitement de l'eau et peut être employée en tant qu'engrais biologique ou comme nourriture pour certains êtres aquatiques (Leng, 1999).

Lemna minor est une plante aquatique de la famille des Lemnaceae (angiosperme) de forme ovale et d'un diamètre moyen de 1,7 mm, formant des colonies d'au moins deux à quatre plantes et possédant un système racinaire bien développé. Actuellement, la taxonomie de ce groupe de plantes a subi quelques modifications, et elles sont désormais classées dans la sous-famille des Lemnaceae au sein de la famille des Araceae (Severi *et al.*, 1983).



Figure 1.1: *Lemna minor*, La lentille d'eau commune (photos originales) (Vulpe *et al.*, 2025)

1.3. Origine des noms

- **Origine du nom français**

Lentille: pour la ressemblance de la lame flottante avec les lentilles

Mineure: petite taille.

- **Origine du nom scientifique**

Lemna du latin [lemna] = lentille

Minor du latin [minor]= petite, par sa petite taille.

L'espèce a été décrite en 1753 par Linnaeus (Corolla *et al.*, 2012).

1.4. Systématiques de la plante (Kuper et Corolla, 2019).

Règne plante : Plantes

Sous-règne : Tracheobionta

Division magnoliophyta : angiospermes, phanerogames

Classe liliopsida : Monocotyledones

CHAPITRE I : LEMNA MINOR

Sous-classe : Alismatidae

Ordre : Alismatales

Famille : Araceae

Genre : *Lemna*

Espèce : *Minor*

1.5. Description de l'espèce

La lentille d'eau (*Lemna minor*) est une toute petite plante aquatique qui flotte à la surface des eaux calmes. Elle se multiplie très rapidement par division, jusqu'à former un tapis dense recouvrant toute la surface de l'eau. Cette plante a un rôle écologique utile : elle protège les eaux stagnantes du soleil en été, ce qui aide à limiter la hausse de leur température (Corolla *et al.*, 2012).

1.5.1. Caractéristiques morphologiques

Lemna minor est une plante aquatique flottante de très petite taille, caractérisée par une organisation morphologique simple. Elle est constituée de frondes aplaties, de forme ovale, mesurant généralement entre 1 et 8 mm de diamètre, pouvant atteindre exceptionnellement 10 mm. Ces frondes, de couleur verte brillante, présentent généralement trois nervures visibles et assurent les fonctions vitales de la plante. Les individus se développent souvent en colonies de 2 à 4 frondes. Chaque fronde porte une racine unique, filiforme, pouvant atteindre jusqu'à 2 cm de longueur. Cette structure simplifiée reflète l'adaptation de l'espèce au milieu aquatique (Xu *et al.*, 2011 ; Ahmed, 2020).

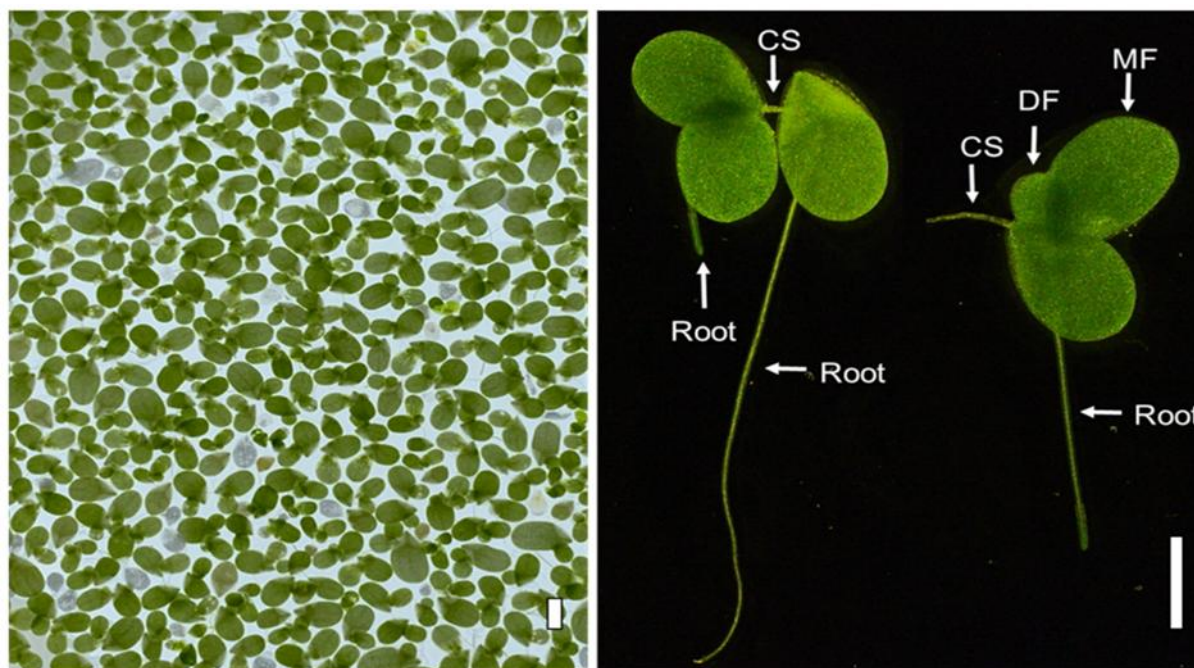


Figure 1.2: La lentille d'eau commune (*Lemna minor* 5631). De nombreuses frondes sont représentées (à gauche), et des plantes représentatives sont présentées en vue latérale (à droite).

CS : pétiole ; DF : fronde fille ; MF : fronde mère. Échelle : 2

1.5.2. Espèces ressemblantes

On peut rencontrer en Europe d'autres espèces de lentilles d'eau:

- **Autochtones**

- *Wolffia arrhiza* (L.) Horkel ex Wimm., la wolffie sans racines, lames minuscules de 0,5 à 1 mm, sans racine. Elle est assez rare.
- *Lemna trisulca* Linnaeus, la lentille d'eau trilobée, souvent submergée. Elle est plus grande (5 à 15 mm) et monte à la surface pour fleurir. Les lames restent souvent attachées. Sa fronde est très caractéristique: étroite, pointue, vert clair transparent, avec 3 nervures bien marquées.
- *Lemna gibba* Linnaeus, la lentille d'eau bossue, 2 à 5 mm fortement renflée à la face inférieure.
- *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleid., la lentille d'eau à racines nombreuses. D'une taille de 5 à 10 mm, elle possède 5 à 15 racines sous les lames d'un vert foncé.

CHAPITRE I :LEMNA MINOR

- **Introduites**

- *Lemna minuta* Kunth, la lentille d'eau minuscule, importée d'Amérique (1965 en France). Les lames sont petites (0,8 à 4 mm) avec des bords minces et translucides.
- *Lemna turionifera* Landolt, la lentille d'eau rouge, importée d'Amérique (1983 en Allemagne). Elle descend en profondeur à l'automne et passe l'hiver sous forme de turions* qui remontent à la surface à partir de mars. Seule la base des racines et les turions ont cette couleur rouge due à la présence d'anthocyanine, un pigment végétal (**Corolla et al., 2012**).

1.6. Répartition et écologie

1.6.1. Distribution géographique

Lemna minor est une espèce cosmopolite largement répandue à travers le monde. Elle se développe principalement dans les eaux douces stagnantes et eutrophes, riches en matières nutritives.

Elle est présente dans de nombreuses régions d'Europe, notamment en France et en Belgique. En Suisse, elle est particulièrement abondante dans le Jura et sur le Plateau suisse, tandis qu'elle est plus localisée dans les régions alpines (**Corolla et al., 2012**).

1.6.2. Biotope

Elle se développe principalement à la surface des eaux calmes, lentes (un brassage de surface est une façon de lutter contre la prolifération des lentilles). Elle affectionne la lumière, la chaleur et les eaux chargées en nutriments .

Elle est présente jusqu'à 1800 m d'altitude (**Corolla et al., 2012**).

CHAPITRE I : LEMNA MINOR

1.7. Biologie de *lemna minor*

1.7.1. Reproduction - multiplication

- Sexuée

Il existe une reproduction sexuée: si les conditions de température sont favorables, la petite lentille d'eau peut fleurir entre mai et septembre. La fronde peut porter, sur le bord, de minuscules fleurs vertes qui sont pollinisées par l'eau (pollinisation hydrogame) pour donner des fruits indéhiscents à une seule graine. Les graines sont dispersées par les mouvements de l'eau (dissémination hydrochore) (Corolla *et al.*, 2012).



Figure 1.3 : Reproduction sexuée chez la *Lemna* (Wayne, 2001)

- Asexuée

Mais la reproduction est principalement asexuée : la lentille se reproduit par division, au printemps. Chaque lame va se séparer en deux pour former deux plantes distinctes.

Cette multiplication, très rapide dans de bonnes conditions (doublement de la population en 3 à 15 jours), va rapidement couvrir la surface de l'étang en empêchant parfois la photosynthèse, arrêtant la lumière nécessaire à la photosynthèse des autres organismes (Corolla *et al.*, 2012).

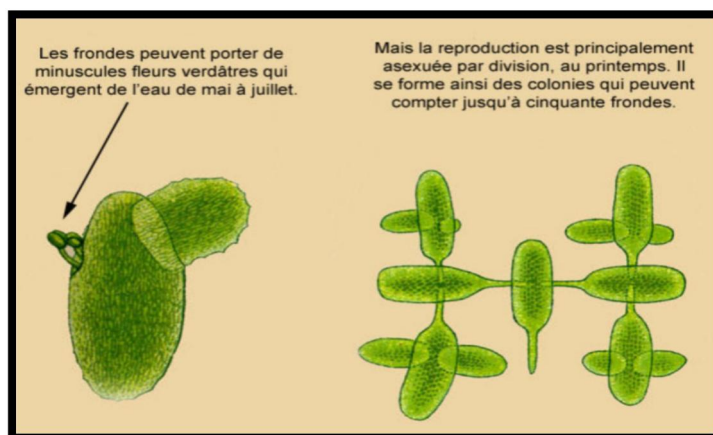


Figure 1.4 : Modes de reproduction de *Lemna minor* (Corolla *et al.*, 2012)

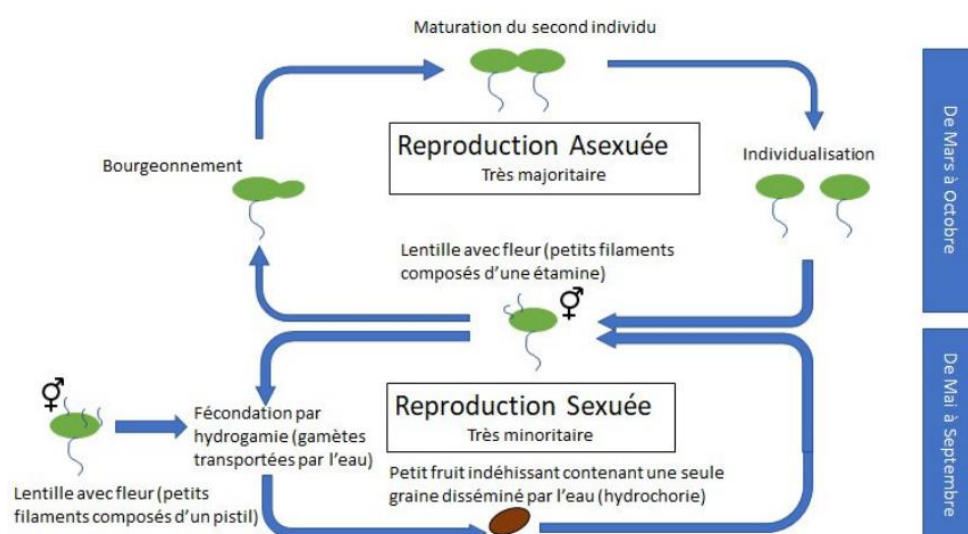


Figure 1.5 : Mécanismes de reproduction des lentilles d'eau douce (Chergui *et al.*, 2020).

1.7.2. Facteurs influençant la croissance

Dans des conditions de croissance optimales, *Lemna minor* peut doubler sa biomasse en quelques jours, présentant une large tolérance au pH et aux facteurs abiotiques. La teneur en amidon, la couleur du feuillage, le potentiel bioactif et l'accumulation de protéines, entre autres paramètres, varient selon les conditions de croissance et peuvent être influencés par des facteurs environnementaux (salinité, carence en nutriments, températures basses ou élevées, intensité lumineuse et photopériode) ou des polluants (par exemple, les métaux lourds). Ainsi, *L. minor* présente également une large gamme de conditions de croissance optimales, qui varient selon les études.

- Température

CHAPITRE I : LEMNA MINOR

La température, l'intensité lumineuse et la photopériode sont des paramètres environnementaux importants qui peuvent influencer la croissance de *L. minor*. *L. minor* peut croître dans une plage de température de 6 à 33°C (Oros *et al.*, 2011), avec environ 26°C comme température optimale (Lasfar *et al.*, 2007). Outre la croissance, de nombreux processus biochimiques (*par exemple* l'absorption des nutriments, la photosynthèse, la respiration) et physiques (*par exemple* diffusion des éléments, transpiration, perméabilité) de *L. minor* dépendent également de la température (Landolt et Kandeler, 1987). Par exemple, la photosynthèse nette augmente avec la température jusqu'à atteindre un maximum (entre 15 et 25°C), puis la photosynthèse nette diminue. La photosynthèse peut donc être inhibée par des températures basses mais aussi élevées (Pallardy, 2008).

- **pH**

pH : Gamme de tolérance : *Lemna minor* tolère une très large gamme de pH, allant de 3,0 à 10,0. Croissance optimale : Le développement est idéal dans un milieu neutre à légèrement acide, avec un pH compris entre 4,5 et 7,5 ou 5,0 et 7,0. Elle est capable de faire baisser le pH d'eaux usées alcalines vers la neutralité.

- **Lumière**

les plantes sont exposées dans des conditions naturelles à une plage de lumière solaire intense et à une ombre dense, absorbant donc différentes longueurs d'onde dans la partie visible du spectre, mais leur croissance est optimale pour assurer une distribution spectrale adéquate (Landolt et Kandeler, 1987 ; Vidakovič-Cifrek *et al.*, 2013). Outre les longueurs d'onde, l'intensité lumineuse est également un paramètre environnemental important pour la croissance des plantes. L'exposition de *L. minor* à des intensités lumineuses plus élevées peut entraîner une augmentation du taux de photosynthèse, entraînant une augmentation de la biomasse, de la longueur des racines, du taux de respiration par surface, des niveaux de protéines, des concentrations de chlorophylles et de caroténoïdes (Landolt et Kandeler, 1987 ; Yin *et al.*, 2015). Les zones ombragées, malgré des intensités lumineuses plus faibles, sont souvent favorables à la croissance de *L. minor* en raison d'un meilleur apport en nutriments et matière organique dans l'eau grâce à la chute des feuilles et à la litière organique (Landolt, 1986). La biomasse augmente également lorsque *L. minor* est exposée à des photopériodes plus longues, car les plantes peuvent absorber plus d'énergie lumineuse, ce qui entraîne une productivité accrue de la photosynthèse et donc une meilleure croissance et développement des plantes (Yin *et al.*, 2015). Inclure toutes ces conditions de croissance dans

CHAPITRE I : LEMNA MINOR

un modèle mathématique pour la croissance et le transfert de *polluants de L. minor* peut aider à choisir la phytoremédiation comme stratégie de rémédiation appropriée pour des scénarios spécifiques.

1.8. Composition et nutrition

1.8.1. Composition

Les lentilles d'eau sont composées à 94 % d'eau, et 6% de matière sèche. Elles sont également très riches en hydrate de carbone (glucide), en cellulose et en hémicellulose (Chergui, 2020).

1.8.2. Nutrition

Lemna minor est une plante autotrophe, capable de produire sa propre matière organique grâce à la photosynthèse.

Ce processus utilise l'eau, le dioxyde de carbone et l'énergie lumineuse pour synthétiser des substances organiques nécessaires à la croissance de la plante.

La fronde, bien exposée à la lumière, constitue l'organe principal assurant la photosynthèse (Corolla *et al.*, 2012).

1.9. Rôles et applications

1.9.1. Capacité de bioaccumulation des contaminants

Dans les écosystèmes aquatiques, les métaux peuvent être dissous, complexés avec d'autres molécules organiques ou inorganiques ou en suspension. Certaines de ces formes peuvent être incorporées et bioaccumulées dans les organismes aquatiques (Sanders *et al.*, 2014). Ses macrophytes sont largement répartis dans divers milieux humides et en matière de biomasse, elles sont prédominantes dans les écosystèmes aquatiques (Phillips *et al.*, 2015; Vardanyan et Ingole, 2006). Par comparaison avec les autres formes végétales, ces plantes ont une grande capacité d'accumulation de métaux (Łojko *et al.*, 2015; Matache *et al.*, 2013) et sont des indicateurs efficaces de la qualité de l'environnement aquatique (Matache *et al.*, 2013). Plusieurs auteurs ont déjà démontré que les quantités de métaux absorbées par les plantes (ex : cadmium ou palladium) étaient proportionnelles à leur teneur dans les compartiments abiotiques de leur environnement (Jmii et Dewez, 2021 ; Stout *et al.*, 2010). Elles peuvent aider à estimer les niveaux de pollution dans de nombreux

CHAPITRE I : LEMNA MINOR

environnements aquatiques (**Vardanyan et Ingole, 2006**). Au-delà de la bioaccumulation, la bioamplification est le processus par lequel les contaminants s'accumulent dans les tissus d'un organisme aquatique à la suite d'une bioaccumulation de contaminants dans le milieu aquatique (**Jelassi et al., 2019**).

1.9.2. Contribution de *Lemna minor* à l'épuration des eaux usées

Cette étude vise à évaluer l'efficacité de *Lemna minor* dans le traitement des eaux usées industrielles du site de l'oued Mebouja, ainsi que son potentiel d'utilisation au sein de systèmes de phytoépuration basés sur les macrophytes.

L'expérimentation a été menée en laboratoire, en simulant un dispositif de type marais filtrant composé de quatre bacs contenant des plants de *Lemna minor* immergés dans des eaux usées provenant de l'activité industrielle du complexe ISPAT.

Les analyses physico-chimiques réalisées avant traitement ont révélé une pollution importante de ces eaux, marquée par des teneurs élevées en matières en suspension (MES), en demande biologique en oxygène (DBO5), en demande chimique en oxygène (DCO), ainsi qu'en conductivité électrique, témoignant d'une charge organique conséquente.

À l'issue du traitement par *Lemna minor*, une amélioration sensible de la qualité de l'eau a été constatée, se traduisant par une baisse notable des paramètres de pollution (pH, MES, DBO5, DCO et conductivité électrique), ainsi que par une élimination quasi complète des nitrates et des nitrites.

Ces résultats démontrent que l'utilisation de *Lemna minor* représente une méthode de traitement biologique à la fois efficace, économique et respectueuse de l'environnement pour l'épuration des eaux usées industrielles, ouvrant ainsi des perspectives prometteuses dans le domaine de la phytoépuration (**Bedouh et Boumedris, 2016**).

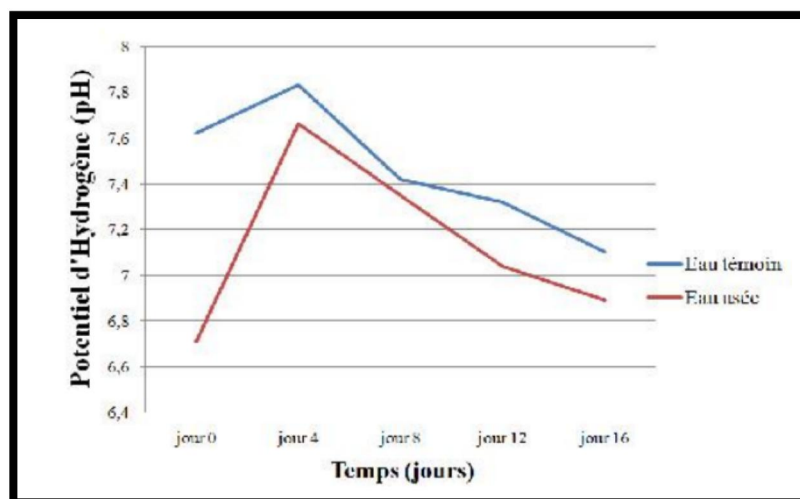


Figure 1.6 : Variation du pH des eaux en fonction du temps (Bedouh et Boumedris, 2016)

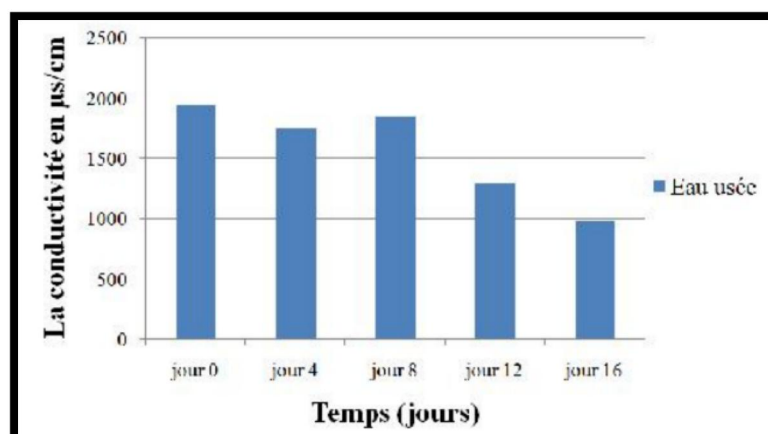


Figure 1.7 : Variations de la C.E des eaux usées (Bedouh et Boumedris, 2016)

1.9.3. Activité antileishmanienne

La leishmaniose est une maladie fortement contagieuse et infectieuse, provoquée par des parasites du genre *Leishmania*. D'après l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), elle est endémique dans 85 pays et touche chaque année entre 1,5 et 2 millions de nouvelles personnes dans le monde. La propagation de cette pathologie reste préoccupante, en raison de la présence de vecteurs bien adaptés ainsi que de l'efficacité restreinte et du coût élevé des traitements actuellement disponibles.

La cytotoxicité des extraits végétaux a été examinée grâce à un test de létalité mené sur les formes promastigotes et amastigotes de *Leishmania tropica* (Tableau 1). Comme le montre ce

CHAPITRE I : LEMNA MINOR

tableau, ces deux formes parasitaires ont été soumises au test MTT en présence de formulations de *Lemna minor* à des concentrations comprises entre 25 et 150 µg/mL. Les résultats obtenus révèlent une activité cytotoxique dépendante de la dose, avec des taux de mortalité notables atteignant $75,40 \pm 1,16$ % pour les promastigotes et $60,15 \pm 0,12$ % pour les amastigotes à la concentration la plus élevée, soit 150 µg/mL (Shaheen *et al.*, 2025).

Cette activité antileishmanienne des extraits végétaux s'explique essentiellement par la présence de composés bioactifs tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponines et les terpénoïdes. Ces métabolites secondaires perturbent des processus biochimiques essentiels au parasite — notamment la production d'énergie, la synthèse des protéines et la réplication de l'ADN — conduisant ainsi à l'inhibition de sa croissance, voire à sa destruction (Shaheen *et al.*, 2025).

Tableau 1.1: Activité antileishmanienne de l'extrait de *Lemna minor* (Shaheen *et al.*, 2025)

Con (µg/ml)	Promastigote inhibition	Amastigote	IC50 (µg/ml)	IC50 (µg/ml)
200	75.40 ± 1.16	60.15 ± 0.12	75.40	60.15
100	64.90 ± 0.23	57.00 ± 1.09	Amastigote	Promastigote
50	53.13 ± 1.20	44.22 ± 1.14		
25	39.20 ± 0.26	30.20 ± 0.10		

CHAPITRE II

GENERALITES SUR LE DESSALEMENT

DES EAUX

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LE DESSALEMENT DES EAUX

2.1. Historiques

Le concept d'extraire le sel de l'eau remonte à une époque très ancienne, lorsque le sel, et non l'eau, était considérée comme un bien précieux. L'augmentation constante de la population et, par suite, de la demande en eau douce a incité scientifiques et industriels à explorer des solutions pour produire de l'eau douce sur des lieux reculés, notamment sur les navires en mer. En 1938, une grande usine de dessalement d'eau de mer a été érigée sur ce qui est aujourd'hui le territoire saoudien. Pendant la Seconde Guerre mondiale, des recherches sur le dessalement ont été menées pour répondre aux besoins militaires en matière d'eau douce dans les zones arides. Même après la guerre, les États-Unis et d'autres nations ont persisté dans cet effort. Les premiers dispositifs de distillation ont vu le jour au début du XXe siècle, cependant, c'est à partir de 1975 que des méthodes industrielles ont été employées pour la désalinisation de l'eau de mer (Absar, 2012).

2.2. Problème de la rareté de l'eau

L'Algérie est classée parmi les pays les plus déficitaires en eau. De part son appartenance à la zone géographique du "Middle-East and North Africa (MENA)" et la quasi-totalité de son territoire (87%) classé en zone désertique, sa pluviométrie moyenne annuelle varie de 1600 mm dans l'extrême nord-est à 12 mm à l'extrême sud-ouest. Néanmoins, la pluviométrie moyenne du territoire, toutes zones confondues n'est que de l'ordre de 89 mm. De ce fait, l'Algérie est classée parmi les 13 pays africains qui souffrent le plus du manque d'eau. En effet, avec moins de 500 m³/habitant/an d'eau renouvelable, l'Algérie dispose de moins de 50% du seuil théorique de rareté fixé par la Banque Mondiale à 1000 m³ par habitant et par an. Afin d'assurer sa sécurité alimentaire à la fin de la prochaine décennie, il faudra mobiliser entre 15 et 20 milliards de m³/an, tout en sachant que les potentialités du pays ne sont que de 17 milliards de m³/an et que la mobilisation actuelle n'est que de 5 à 6 milliards de m³/an. Conscients de l'importance du facteur eau pour une meilleure stabilité politique du pays et pour tout développement économique et social, et dans un souci d'une meilleure maîtrise des différents aspects du manque d'eau, en général et dans le secteur de l'agriculture en particulier qui consomme environ 70% des eaux mobilisées annuellement, nous essayons de mettre un peu de lumière sur les différents aspects du Programme d'actions

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LE DESSALEMENT DES EAUX

pour une gestion économique et durable de l'eau, en général et celle destinée à l'agriculture, en particulier (**Mouhouche, 2012**).

2.3. Définition du dessalement de l'eau de mer

Le dessalement, également appelé désalinisation ou plus rarement dessalage, consiste à séparer l'eau des sels qu'elle contient à partir d'une eau brute. Cette eau brute peut être : de l'eau de mer, ou une eau saumâtre d'origine continentale (**Dunglas, 2014**).

Composition de l'eau de mer L'eau de mer contient en moyenne 35 g/L de sels, principalement sous forme de :

Chlorures de sodium (NaCl) : 76 %

Chlorures de magnésium : 11 %

Sulfates de magnésium : 5 %

Calcium : 3,5 %

Potassium : 2,4 %

Dans l'eau, ces sels sont dissociés en ions :

Anions : chlorures (Cl^-), sulfates (SO_4^{2-}) Cations : sodium (Na^+), magnésium (Mg^{2+}), calcium (Ca^{2+}), potassium (K^+) Variabilité de la salinité La salinité de l'eau de mer n'est pas constante et varie selon les régions : Méditerranée : 36 à 39 g/L Golfe Persique : peut dépasser 60 g/L Mers froides avec forts apports fluviaux (ex. Baltique) : ~7 g/L . Ces variations dépendent de facteurs tels que la température, l'évaporation, et l'apport d'eau douce (**Germain, 1997**).

2.4. Classification des eaux selon la salinité

On exprime la salinité de l'eau par la concentration de tous les sels dissous, également connu sous le nom de Sels Dissouts Totaux, en anglais TDS (Total dissolved Salt). C'est un

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LE DESSALEMENT DES EAUX

critère utilisé pour classer les eaux. Le tableau suivant présente une classification des eaux basée sur leur salinité (**Absar, 2012**).

Tableau 2.1:Classification des eaux selon la salinité (Absar, 2012)

Type d'eau	Salinité TDS
Eau douce	inférieure à 1000 mg/l
Faiblement saumâtre	de 1000 à 5000 mg/l
Moyennement saumâtre	de 5000 à 15000 mg/l
Fortement saumâtre	de 15000 à 35000 mg/l
Eau de mer	35000 mg/l et plus

Selon l'Agence américaine de protection de l'environnement (E.P.A), la concentration en sel de l'eau potable destinée à la consommation ne doit pas excéder 500 mg/l. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), la salinité ne doit pas excéder 1000 mg/l et le niveau des chlorures ne doit pas dépasser 250 mg/l (**Watson, 2003**).

2.5. Différents types d'eau

2.5.1. Eau douce

Dans la majorité des situations, lorsqu'une source d'eau douce est présente, le coût du traitement pour obtenir de l'eau potable destinée à l'usage public reste assez modique. Dans certaines zones, un simple réglage du pH et une désinfection peuvent suffire comme traitement. Toutefois, dans certains domaines, l'eau douce de surface ou souterraine peut avoir une qualité médiocre, nécessitant ainsi un traitement plus approfondi. Dans ces situations, l'eau saumâtre dessalée pourrait représenter une source d'approvisionnement plus stable et moins onéreuse (**Absar, 2012**).

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LE DESSALEMENT DES EAUX

2.5.2. Eau saumâtre

Par rapport au dessalement de l'eau de mer, la gestion de l'eau saumâtre est fortement dépendante du lieu d'implantation. Les eaux de surface et souterraines présentent une grande diversité en termes de composition et de salinité. Dans le même puits, les espèces ioniques peuvent varier considérablement. Pour identifier la qualité de l'eau la plus basse, il est essentiel d'effectuer les analyses avec une grande rigueur, car les propriétés de l'eau peuvent fluctuer de façon imprévisible (**Absar, 2012**).

2.5.3. Eau de mer

La salinité des eaux de mer ouvertes est relativement uniforme et se situe approximativement à 3,5%, soit environ 35.000 ppm (mg/l). Dans les zones où les précipitations sont élevées, la concentration en eau de mer est inférieure à celle des régions où l'évaporation est forte (comme la mer Rouge, l'Arabie saoudite, etc.). Dans tous les scénarios, le rapport relatif des ions principaux par rapport au TDS reste étonnamment stable (**Watson, 2003**).

Tableau 2.2 : Caractéristiques des eaux marines et des eaux saumâtres (Rahmstorf et al., 2018)

Caractéristique	Eau marine	Eau saumâtre
Salinité	35 g/L en moyenne	0,5 à 3 g/L
pH	7,8 à 8,2	6,5 à 8,5
Température	Variable selon la latitude, la profondeur et la saison (25°C en moyenne).	Variable selon la température de l'air et de l'eau douce et de rayonnement solaire.
Densité	1 025 kg/m ³	Variable selon la salinité
Composition chimique	Chlorure de sodium, sulfate de magnésium, sulfate de calcium, potassium, calcium,	Varie selon la salinité, la composition de l'eau douce et les activités dans le calcium,

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LE DESSALEMENT DES EAUX

bromure, iode, bassin versant.
oxygène, azote,
dioxyde de carbone,
matières organiques

2.6. Les principales technologies de dessalement des eaux

Les technologies actuelles de dessalement des eaux sont classées en deux grandes catégories, selon le principe appliqué pour obtenir de l'eau douce à partir l'eau salée ; voici les deux catégories de technologies :

- Procédés thermiques : changement de phase (congélation et distillation)
- Procédés par membranes : osmose inverse et électrodialyse.

Parmi les procédés précités, la distillation et l'osmose inverse sont des technologies dont les performances ont été prouvées pour le dessalement d'eau de mer. En effet, ces deux procédés sont les plus commercialisés dans le marché mondial du dessalement. Les autres techniques n'ont pas connu un essor important dans le domaine à cause de problèmes liés généralement à l'importance des investissements et/ou à la consommation d'énergie et la capacité d'eau souhaitée qu'ils requièrent.

Quel que soit le procédé de séparation du sel et de l'eau envisagé, toutes les installations de dessalement comportent 4 étapes :

- Prise d'eau de mer (pompe et filtration grossière)
- Prétraitement (filtration plus fine, biocides, antitartre)
- Procédé de dessalement.
- Post-traitement (reminéralisations possible) (**Maurel, 2006**).

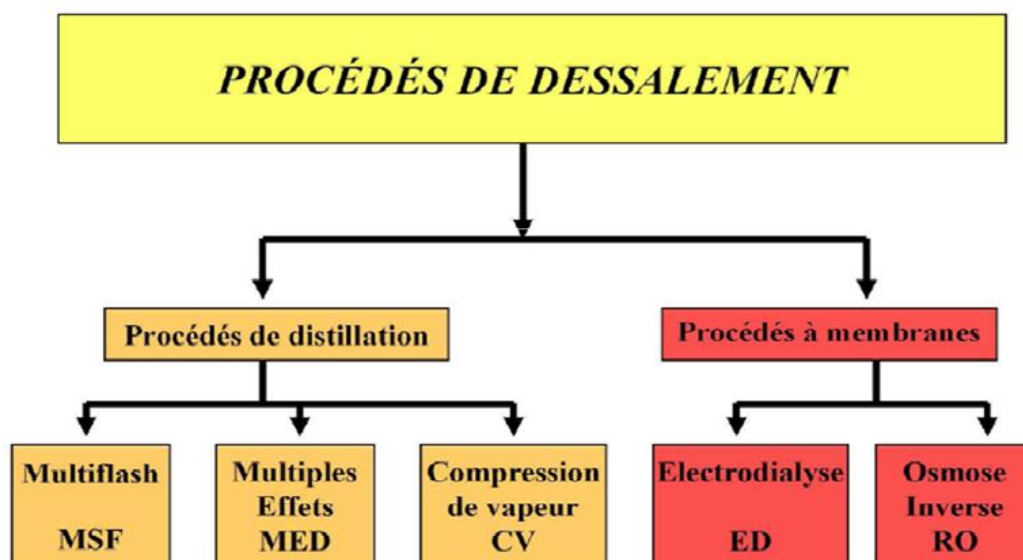


Figure 2.1: Les différents procédés de dessalement de l'eau de mer (Boukellal *et al.*, 2015)

2.6.1. Les procédés thermiques (La distillation)

Le but commun des technologies de dessalement utilisant des procédés thermiques est de reproduire le processus naturel d'évaporation et de condensation à une vitesse supérieure et d'ainsi réduire la quantité de sels dissous dans l'eau en la distillant. En effet, le cycle de l'eau utilise naturellement la distillation comme technique de dessalement de l'eau salée à partir de l'énergie solaire. Grâce à ce processus, la terre reçoit des précipitations d'eau douce sous différentes formes. Les précipitations représentent la plus grande source d'eau douce sur Terre. Les techniques de distillation utilisent donc de la chaleur afin de faire évaporer l'eau. Lors de l'évaporation, les molécules d'eau passent de la phase liquide à la phase gazeuse. Elles deviennent donc de la vapeur d'eau. Pour capter les molécules d'eau sous forme gazeuse, il suffit de diminuer la température afin que l'eau se condense et passe de la phase gazeuse à la phase liquide, laissant derrière elle les matières dissoutes et les autres contaminants contenus dans l'eau d'alimentation. C'est seulement au 19^e siècle que des procédés industriels ont été inventés ce qui a permis de commencer à produire de l'eau douce en grande quantité. Les premières usines de dessalement étaient situées dans des régions riches en combustibles fossiles comme le Moyen-Orient et utilisaient principalement des procédés de dessalement thermiques, entre autres, en raison du faible coût du pétrole comme source d'énergie (Jones *et*

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LE DESSALEMENT DES EAUX

al., 2019). L'eau dessalée issue de la distillation a généralement une salinité de moins de 5 mg/l (Rover, 2017).

2.6.2. Les procédés membranaires

2.6.2.1. Osmose inverse

L'osmose inverse est un procédé de purification de l'eau par séparation par membranes ou filtration par membrane. Ce procédé utilise une membrane semi-perméable dont les pores sont très petits et donc à travers laquelle seulement les molécules d'eau sont capables de passer, laissant de l'autre côté les molécules de sel et autres contaminants et substances organiques dissous ou en suspension dans l'eau d'alimentation (Omar et khaldi, 2017). L'eau dessalée par osmose inverse a généralement une salinité d'environ 100 à 250 mg/l en fonction de la qualité de la membrane utilisée (Rover, 2017).

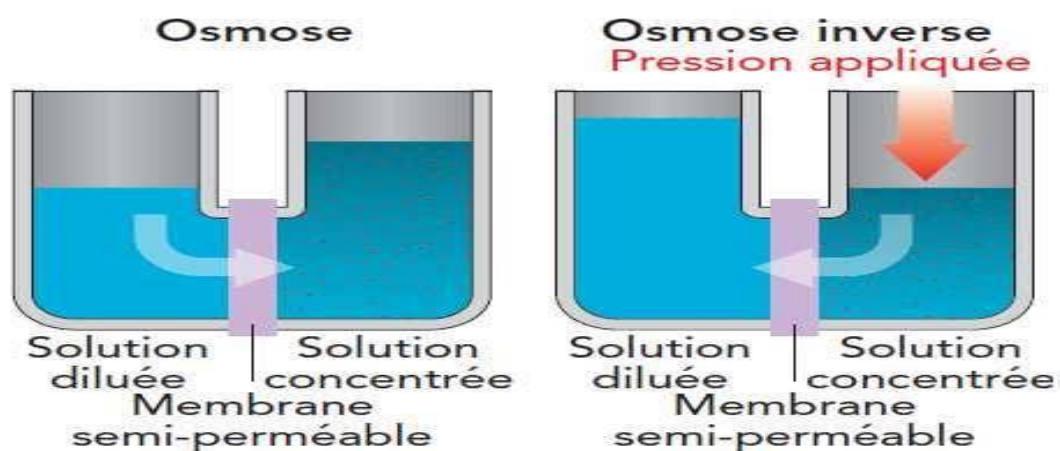


Figure 2.2 : Principe des phénomènes d'osmose et d'osmose inverse (Maurel, 2006)

2.6.2.2. Électrodialyse

L'électrodialyse est un procédé qui a été commercialisé dans les années 1960. Cette technologie est souvent utilisée en combinaison à l'osmose inverse lorsque l'eau saumâtre circule sous terre ou pour obtenir de l'eau utilisable pour les procédés industriels puisque la combinaison des deux technologies permet d'obtenir une eau à plus faible teneur en sels

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LE DESSALEMENT DES EAUX

dissous. Tout comme l'osmose inverse, le but de cette technologie est de séparer le sel et l'eau à l'aide d'une membrane. Dans le cas de l'électrodialyse, cette séparation est engendrée par un champ électrique qui permet de retirer les composants ioniques et non ioniques de l'eau d'alimentation (**Ben sik *et al.*, 2010**).

2.7. Dessalement en Algérie

Depuis qu'elle a acquis son indépendance, l'Algérie a consenti d'importants efforts pour optimiser ses ressources en eau et garantir la disponibilité de l'eau pour répondre aux besoins de ses secteurs économiques. Dans les premières années de l'Algérie indépendante, les efforts se sont concentrés sur la réhabilitation du réseau de distribution existant, l'édification de barrages et l'exploitation des nappes phréatiques, à une époque où le dessalement ne faisait encore que ses débuts. L'Algérie n'a utilisé son expérience en dessalement que pour établir des unités de déminéralisation destinées à l'industrie pétrolière et sidérurgique, notamment l'unité de déminéralisation d'Oulad Djallal dans la Wilaya de Biskra, qui traite les eaux souterraines à haute salinité. Trois unités de 8 m³/j ont été mises en place dans l'installation de gaz liquéfié à Arzew en 1964. La méthode employée est celle des « tubes submergés », opérant sous basse pression. En 1969, une installation monobloc de 4 560 m³/j a été établie à Arzew. La méthode employée est la flash multi-étapes, aussi appelée MSF. D'autres installations ont été mises en service pour répondre aux besoins en eau de grande pureté, utilisée dans les complexes de production d'énergie (Cap Djinet à l'est d'Alger) et l'industrie de liquéfaction (Arzew et Skikda). L'unité de dessalement par osmose inverse de Mostaganem, d'une capacité de 57 600 m³/j, a été lancée en 1980 et était alors considérée comme la plus grande au monde (**Manuel d'exploitation et d'entretien, 2011**).

2.8. Définition du bio-dessalement de l'eau de mer

Bio-dessalement constitue une technologie émergente qui exploite des micro-organismes vivants et/ou des matériaux biologiques, directement ou indirectement, pour retirer les sels présents dans l'eau de mer (**Amezaga *et al.*, 2014**).

La conception de membranes de dessalement à structure innovante peut s'inspirer des systèmes de transport biologiques afin d'améliorer l'efficacité par rapport aux procédés classiques basés sur la diffusion. Par exemple, la perméabilité sélective de l'eau à travers les canaux membranaires d'aqua-porines permettrait une élimination plus efficace des sels

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LE DESSALEMENT DES EAUX

lorsqu'une membrane de dessalement est conçue selon cette configuration. Une autre approche consiste à s'inspirer des mécanismes naturels de dessalement déjà existants dans les systèmes biologiques. L'osmose directe, par exemple, repose sur un gradient de pression osmotique à travers la membrane cellulaire pour séparer l'eau douce de l'eau salée et représente un procédé largement utilisé. Cependant, ces méthodes ne sont généralement pas considérées comme des procédés de dessalement véritablement durables (Zhao, 2014).

Les procédés de dessalement biologique font également appel directement à des micro-organismes vivants tels que les macro- et micro-algues, les cyanobactéries, le zooplancton et diverses bactéries. Ces organismes offrent un fort potentiel pour développer des procédés de dessalement autosuffisants, une caractéristique essentielle dans les technologies respectueuses de l'environnement. Le dessalement biologique repose sur deux mécanismes principaux : la bio-adsorption, indépendante de l'énergie, et la bioaccumulation, dépendante de l'énergie. Parmi ceux-ci, la bio-adsorption joue un rôle prédominant et constitue le mécanisme le plus contributif. Cette méthode simple et prometteuse permet de produire de l'eau douce à faible coût à partir d'eau de mer ou saumâtre, avec un impact environnemental minimal, voire nul (Taheri *et al.*, 2016).

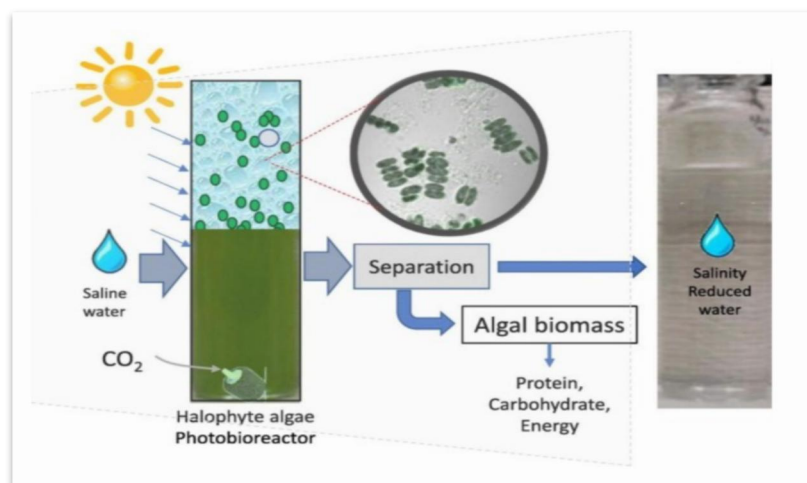


Figure 2.3 : Bio-dessalement par utilisation d'algues (Endalkachew et al., 2019)

2.9.

Mécanismes de bio-dessalement biologique dans la nature

Le sodium et le chlorure sont les ions dissous les plus abondants dans l'eau salée et les sols (El-Dessouky *et al.*, 2002). et jouent un rôle physiologique important chez la plupart des

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LE DESSALEMENT DES EAUX

organismes vivants. Cependant, une concentration élevée de sodium dans les cellules peut entraîner des dommages aux protéines et perturber le métabolisme (**Hall, 2010**). Par conséquent, les organismes vivants ont mis en œuvre différentes stratégies pour équilibrer la concentration de sodium (**Shabala, 2011**). notamment (1) le blocage de l'entrée des ions Na^+ dans le cytosol (résistance au sel) et (2) la réduction de la concentration de Na^+ dans le cytosol (tolérance au sel) via des systèmes de transport complexes à travers la membrane cellulaire (**Shabala et al., 2012**).

2.9.1. Système de transport dans la membrane cellulaire des organismes vivants

La membrane plasmique des organismes vivants contient divers transporteurs. Bien que ces transporteurs puissent être classés selon différentes caractéristiques, ils se répartissent principalement en trois groupes : les pompes, les transporteurs et les canaux, chacun comportant de nombreux sous-groupes (**Stein, 2012**).

La fonction principale de ces transporteurs est de permettre le passage de l'eau et des nutriments, et de maintenir l'équilibre chimique intracellulaire (**Bernhardt et al., 2013**). La caractéristique la plus importante de ces transporteurs est leur sélectivité, avec différentes affinités : un transporteur donné est capable de reconnaître des ions ou des molécules spécifiques au sein d'une solution complexe et de faciliter leur transport. Par exemple, les pompes à potassium peuvent distinguer le potassium (K^+) du sodium (Na^+), même si ces deux ions possèdent des propriétés physico-chimiques similaires (**Trivedi, 2006**).

2.9.2. Mécanismes de bio-dessalement des bactéries

Chez les organismes unicellulaires comme les bactéries, la pression osmotique doit être contrôlée en milieu salin. Par conséquent, le mécanisme naturel le plus impliqué chez les bactéries halophiles est l'osmo-régulation. Chez les bactéries adaptées aux conditions de l'eau salée, le gradient de K^+ est maintenu par une combinaison d'anti porteurs Na^+/H^+ et d'uni porteurs K^+ (**Hanelt et al., 2013**).

Une stratégie plus flexible est observée chez les bactéries modérément halophiles, qui existent dans une large gamme de salinités. Cette stratégie repose sur l'accumulation de fortes concentrations de solutés organiques compatibles. Les solutés compatibles sont de petites molécules très solubles dans l'eau et qui n'interfèrent pas avec le métabolisme cellulaire

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LE DESSALEMENT DES EAUX

(Klahn *et al.*, 2011). En réponse au stress osmotique, les bactéries accumulent principalement des composés organiques tels que des sucres, des polyols, des acides aminés et des dérivés d'acides aminés (Müller *et al.*, 2005). Par exemple, le transporteur de glycine bêtaïne accumule l'osmoprotecteur glycine bêtaïne chez *Methanohalophilus portucalensis*. De plus, certains halophiles modérés, comme *Halobacillus halophilus*, utilisent une stratégie hybride unique pour s'adapter aux variations de salinité de leur environnement (Pade, 2013).

2.9.3. Mécanismes de bio-dessalement des plantes

Une salinité extrêmement élevée constitue un problème majeur pour les plantes, car elle limite l'absorption d'eau, dénature les enzymes et dégrade la structure du sol. Par conséquent, les plantes font appel à des mécanismes sophistiqués pour résister aux conditions salines (Shabala, 2011). Ces mécanismes sont généralement classés en sécrétion de sel (par exemple, *Avicennia* sp.), accumulation de sel (*Atriplex* sp.) et exclusion du sel (Flowers *et al.*, 2015 ; Manousaki *et al.*, 2010). Le mécanisme de sécrétion de sel repose sur l'exportation du sel via des organes excréteurs situés dans les feuilles (Mitra, 2013 ; Krishnamurthy, 2014). On observe une accumulation de sel sur les feuilles de certaines halophytes qui désalinisent le sol par compartimentation des ions Na^+ et Cl^- dans leurs tissus aériens. Le mécanisme d'exclusion du sel repose sur le blocage du sel (Kim, 2016). Grâce à des structures spécifiques telles que les anti-porteurs. La micro-algue verte *Dunaliella salina* est un exemple typique de plante halophile, car elle peut survivre dans des concentrations de NaCl allant jusqu'à 3 M grâce à son extrême capacité à bloquer le sel. Cette capacité est due à la présence d'un anti porteur Na^+/H^+ sur la membrane de la vacuole (tonoplaste) et de pompes H^+/ATPase sur la membrane plasmique (Taheri *et al.*, 2013).

2.9.4. Mécanismes de bio-dessalement chez les animaux

Les poissons marins (par exemple, *Heterodontus portusjacksoni*), les oiseaux marins (par exemple, *Larus marinus*) et certains reptiles (par exemple, *Amblyrhynchus cristatus*) utilisent leurs reins et leurs glandes à sel pour dessaler l'eau salée (Schmidt-Nielsen, 1997). Les glandes à sel contiennent de nombreux tubules sécréteurs dont le diamètre et la longueur varient selon l'absorption de sel de l'espèce (Ellis *et al.*, 1977).

CHAPITRE II : GENERALITES SUR LE DESSALEMENT DES EAUX

Les glandes à sel permettent aux reptiles et aux oiseaux marins d'éliminer efficacement la salinité. Ces animaux utilisent un ensemble complexe de réactions, notamment la formation d'un gradient électrique par les ions chlorure, permettant au sodium de traverser les jonctions serrées des cellules sécrétrices et de pénétrer dans la lumière tubulaire, accompagné d'une quantité négligeable d'eau (**Hildebrandt, 2001**).

CHAPITRE III

MATERIELS ET METHODES

3.1. Matériel biologique : *Lemna minor* L.

Comme matériel biologique d'étude dans ce travail, nous avons sélectionné la lentille mineure, connue scientifiquement sous le nom de *Lemna minor* L. (Famille des *Lemnaceae* / *Araceae*). Il s'agit d'une plante monocotylédone, hydrophyte et macrophyte flottante de petite taille (mesurant environ 0,6 mm de long), qui peuple naturellement les eaux douces stagnantes ou à faible courant des régions tempérées et tropicales.

Le choix de ce modèle biologique particulier repose sur un ensemble de caractéristiques physiologiques, écologiques et pharmacologiques hautement avantageuses pour l'expérimentation scientifique :

- **Croissance rapide et facilité de culture**
- **Richesse nutritionnelle et biochimique**
- **Potentiel phytochimique et pharmacologique**
- **Capacités de phytoremédiation et de bioaccumulation**

En somme, l'utilisation de *Lemna minor* L. comme matériel biologique dans le cadre de notre étude se justifie par sa polyvalence. Elle représente à la fois une ressource biosourcée prometteuse pour l'extraction de principes actifs antimicrobiens et immunomodulateurs, et un modèle biologique robuste, économique et écologique s'inscrivant parfaitement dans les concepts modernes de la bioéconomie circulaire.



Figure 3.1: Aspect macroscopique de la culture de *Lemna minor* (Lentilles d'eau) développée en tapis dense à la surface du milieu de culture, utilisée pour la culture et la préparation de l'extrait végétal. Source : Originale, laboratoire pédagogique-SNV, Université

3.2. Milieu de culture et nutriments

Dans les milieux naturels, les macrophyte aquatiques obtiennent tous les nutriments, minéraux et vitamines dont ils ont besoin dans l'eau dans laquelle ils vivent. Cependant, pour les développer en laboratoire sous des conditions contrôlées, nous devons leur fournir toutes ces ressources essentielles.

Les milieux de culture font référence à la solution nutritive dans laquelle les plantes aquatiques se multiplient. Tous les milieux ont plusieurs composants en commun : les sources d'azote (principalement sous forme de nitrates et d'ammonium), le phosphore, le potassium, ainsi que des micro-éléments essentiels (oligo-éléments).

3.2.1. Milieu Steinberg (Modified Steinberg Medium)

Le milieu Steinberg est l'un des milieux de croissance les plus recommandés et standardisés (notamment par les normes ISO 20079 et OCDE 221) pour la culture des Lemnacées, en particulier de *Lemna minor*. Ce milieu est spécifiquement formulé pour répondre aux exigences nutritionnelles des plantes flottantes d'eau douce, favorisant une excellente productivité de la biomasse et maintenant un développement clonal stable.

Outre le milieu Steinberg, divers autres milieux de croissance, tels que le milieu Hoagland, le milieu Hutner et le milieu Schenk-Hildebrandt (SH), ont été utilisés pour la culture des Lemnacées. Cependant, le milieu Steinberg reste le plus adapté car il limite les variations de pH et prévient les carences minérales courantes chez cette espèce.

Le tableau 3.1 présente la composition chimique du milieu Steinberg. Avant chaque expérience, le milieu de culture est stérilisé par autoclavage à une température de 121 °C et à une pression de 1,5 bar pendant 20 minutes, et le pH est ajusté à une valeur optimale de $7,2 \pm 0,2$.

Tableau 3.1 : Composition du milieu de croissance Steinberg (ISO 20079)

Macroelements	mg L ⁻¹
KNO ₃	350.0
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	295.0
KH ₂ PO ₄	90.0
K ₂ HPO ₄	12.6
MgSO ₄ ·7H ₂ O	100.0
Macroelements	µg L ⁻¹
H ₃ BO ₃	120.0
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	180.0
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	44.0
MnCl ₂ ·4H ₂ O	180.0
FeCl ₃ ·6H ₂ O	760.0
EDTA	1500.0

Source:(Golob *et al.*, 2021)

3.3. Dispositif de culture et essais de bio-dessalement

La culture de *Lemna minor* a été réalisée dans huit (08) bacs en plastique transparent d'une capacité de 500 ml servant de récipients de culture. Contrairement aux micro-algues, les lentilles d'eau sont des macrophytes flottants qui captent le CO₂ directement de l'atmosphère, ce qui exclut l'utilisation d'un système de bullage ou d'aération artificielle, ces derniers pouvant perturber la stabilité du tapis végétal en surface. Pour permettre un échange gazeux

passif tout en évitant les contaminations externes et en maintenant une humidité adéquate, les bacs ont été recouverts de leurs couvercles en plastique transparent, préalablement perforés.

Chaque bac de culture a été ensemencé et placé à l'intérieur d'une enceinte en carton isolée et tapissée de papier d'aluminium pour optimiser la réflexion de la lumière, comme illustré dans la Figure 3.2. Le dispositif a été soumis à un éclairage artificiel continu assuré par une lampe à lumière blanche froide de 23 W, réglée selon un photopériodisme de 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité. L'expérience a été suivie régulièrement sur une période d'un mois à température ambiante.

Après avoir stabilisé la culture pré-axénique, l'évaluation du potentiel de bio-dessalement a été entamée en soumettant la plante à un stress salin à travers différentes concentrations de chlorure de sodium (NaCl). Pour cela, les huit bacs ont été répartis comme suit :

- Un bac témoin : contenant uniquement le milieu Steinberg standard, sans aucune addition de sel.
- Sept bacs expérimentaux : contenant le milieu Steinberg enrichi en NaCl à des concentrations progressives : 1 g/L, 2 g/L, 3 g/L, 4 g/L, 6 g/L, 8 g/L, et enfin 35 g/L (cette dernière concentration simulant la salinité moyenne de l'eau de mer).

Le chlorure de sodium a été dissous directement dans le milieu de culture avant l'ajustement du pH et la stérilisation, afin d'évaluer la capacité d'adaptation, la tolérance et l'efficacité de bio-dessalement de *Lemna minor* face à ces différents gradients de salinité.



dessalement de *Lemna*
différents gradients de

Figure 3.2 : Dispositif expérimental de la culture de *Lemna minor* dans le milieu Steinberg sous stress salin. (A) : Vue d'un bac de culture scellé avec couvercle perforé et filet de protection ; (B) : Disposition des différents bacs d'essais (Témoin et lots salins)

3.4. Mesure de la biomasse et suivi de la croissance de *Lemna minor*

Pour évaluer le taux de croissance et la productivité végétale de *Lemna minor*, un suivi régulier de la biomasse a été réalisé par des méthodes de pesée directe (masse fraîche et masse sèche).

3.4.1. Détermination de la masse fraîche (Masse humide)

À des intervalles de temps réguliers, l'ensemble des frondes de chaque bac de culture a été récolté délicatement à l'aide d'un filet fin ou d'une passoire stérile. Les échantillons végétaux ont été déposés sur du papier absorbant pendant quelques minutes afin d'éliminer l'excès d'eau intercellulaire résiduel (l'eau de surface). La biomasse humide ainsi obtenue a été immédiatement pesée à l'aide d'une balance analytique de précision pour déterminer la masse fraîche. Après la pesée, les plantes ont été rapidement remises dans leurs bacs respectifs afin de poursuivre l'expérimentation sans altérer leur viabilité.

3.4.2. Détermination de la masse sèche finale

À la fin de la période d'expérimentation (après un mois), la biomasse totale de chaque bac a été récoltée et séchée afin d'éliminer toute la teneur en eau et obtenir la matière sèche absolue. Les plantes ont été placées dans des verres de montre préalablement pesés, puis introduites dans une étuve thermostatée à 45 °C selon votre protocole pendant 72 heures jusqu'à l'obtention d'une masse constante. La masse sèche finale a été mesurée à l'aide de la balance analytique.

Cette approche a permis de calculer précisément le taux de croissance relatif et d'évaluer l'impact cinétique du stress salin sur le développement macroscopique de *Lemna minor*.

3.5. Mesure du pH

Nous avons mesuré le pH des Filtrats à l'aide d'un pH-mètre par plonger la sonde de mesure dans l'eau analysée. Après, on lie la valeur de pH obtenu.

3.6. Mesure de la salinité

Après la culture de la plante dans des milieux contenant des concentrations croissantes de chlorure de sodium, les échantillons ont été filtrés afin d'éliminer les particules solides. La salinité des filtrats a ensuite été déterminée à l'aide d'un réfractomètre Abbe. Quelques gouttes de chaque échantillon ont été placées sur la surface prismatique de l'appareil, puis l'indice de réfraction a été relevé après ajustement et mise au point. Les valeurs obtenues ont été converties en concentrations en sel (g/L) à l'aide d'une courbe d'étalonnage préalablement établie à partir de solutions de NaCl de concentrations connues.

En complément à la mesure au réfractomètre, la salinité des échantillons filtrés a également été déterminée par conductimétrie. Chaque échantillon a été introduit dans une cuve propre, puis la conductivité électrique (en $\mu\text{S}/\text{cm}$) a été mesurée à l'aide d'un conductimètre préalablement calibré avec une solution standard. Les valeurs de conductivité obtenues ont ensuite été converties en concentrations de sel (g/L) à l'aide d'une courbe d'étalonnage établie à partir de solutions de NaCl de concentrations connues.

3.7. Détermination de chlorure (Méthode de Mohr)

La méthode de Mohr est une méthode de dosage par précipitation. Elle est utilisée pour le dosage d'halogénures.

- **Principe du dosage**

La méthode de Mohr est un titrage argentimétrique utilisé pour déterminer la concentration en ions chlorure (Cl^-) dans une solution. Elle est basée sur la réaction de précipitation entre les ions Ag^+ et Cl^- pour former AgCl (chlorure d'argent). L'indicateur

CHAPITRE III: MATERIELS ET METHODES

utilisé est le chromate de potassium (K_2CrO_4), qui forme un précipité rouge brique d' Ag_2CrO_4 lorsque tout le Cl^- a été consommé.

- **Mode opératoire**

- Prélever un volume précis de la solution contenant les chlorures à l'aide d'une pipette.
- Verser l'échantillon dans un erlenmeyer propre.
- Ajouter environ 1 mL de solution de chromate de potassium (K_2CrO_4) à 5 %, la solution prend une couleur jaune pâle.
- Rincer et remplir une burette avec la solution de $AgNO_3$ de concentration connue.
- Ajouter progressivement le $AgNO_3$ dans l'erlenmeyer sous agitation constante.
- Continuer le titrage jusqu'à l'apparition d'une coloration rouge brique persistante.
- Noter le volume de $AgNO_3$ consommé à l'équivalence et Calculer de la concentration en chlorures.

3.8. Détermination de Nitrate selon APHA

La détermination du nitrate (NO_3) peut être difficile en raison de la forte probabilité que des constituants interférents soient présents dans diverses matrices. La technique de la lumière ultraviolette (UV), qui mesure l'absorbance du NO_3 à 220 nm, est adaptée au dépistage des eaux non contaminées (à faible teneur en matière organique).

- **Principe**

La mesure de l'absorption UV à 220 nm permet aux analystes de déterminer rapidement le NO_3 . Il est à noter que la matière organique dissoute peut également absorber à 220 nm, mais que le NO_3 n'absorbe pas à 275 nm. Une deuxième mesure à 275 nm peut donc être effectuée et utilisée pour corriger la valeur du NO_3 , si nécessaire. L'importance de cette correction empirique dépend de la nature et de la concentration de la matière organique et peut varier. Cette méthode n'est donc pas recommandée si une correction importante est nécessaire.

- **Mode opératoire**

- 50 ml d'échantillon est filtré,
- Mesure spectrophotométrique : Lire l'absorbance ou la transmittance par rapport à l'eau distillée,

CHAPITRE III: MATERIELS ET METHODES

-Utiliser une longueur d'onde de 220 nm pour obtenir la mesure de NO_3 et une longueur d'onde de 275 nm pour déterminer toute interférence due à la matière organique dissoute, une courbe d'étalonnage du NO_3 a été établie.

-Pour les échantillons et les étalons, soustrayez deux fois l'absorbance mesurée à 275 nm de celle mesurée à 220 nm pour obtenir l'absorbance de NO_3 (Si la valeur de correction est égale à 10 % de la valeur mesurée à 220 nm pour un échantillon donné).

-Calculez la concentration en NO_3 à partir de l'équation suivante :

$$C = \frac{A - I}{S}$$

Où :

C : concentration,

A : absorbance,

I : interception de la droite de régression,

S : pente de la droite de régression.

3.9. Détermination de Sulfate (SO_4)

• Principe

Les ions sulfate (SO_4^{2-}) présents dans une solution réagissent avec le chlorure de baryum (BaCl_2) en milieu acide pour former un précipité blanc insoluble de sulfate de baryum (BaSO_4). Ce précipité est filtré, lavé, séché, puis pesé. La masse du BaSO_4 obtenu permet de calculer la concentration en sulfates dans l'échantillon, selon une relation stœchiométrique fixe entre BaSO_4 et SO_4^{2-} .

• Mode opératoire

-Prélever un volume précis de l'échantillon contenant les sulfates.

-Acidifier légèrement avec quelques gouttes d'HCl dilué ($\text{pH} \approx 2-3$).

-Chauffer doucement la solution.

-Ajouter goutte à goutte une solution chaude de chlorure de baryum (BaCl_2) 10% sous agitation constante.

-Laisser reposer pour permettre la précipitation complète du sulfate de baryum (BaSO_4).

-Filtrer le précipité chaud à l'aide d'un papier filtre préalablement pesé.

-Laver le précipité avec de l'eau distillée chaude pour éliminer les ions chlorure.

CHAPITRE III: MATERIELS ET METHODES

- Sécher le papier filtre contenant le précipité dans une étuve à 105–120 °C jusqu'à masse constante.
- Refroidir dans un dessiccateur puis peser.
- Calcul du taux de sulfates : $[\text{SO}_4^{2-}]\text{mg/L} = \text{Masse de BaSO}_4 \times 96,06 \times 10^6 / 233,4 \times V$

3.10. Évaluation de l'activité antiparasitaire *in vitro*

3.10.1. Préparation de l'extrait végétal de *Lemna minor*

Pour l'extraction des composés bioactifs, les frondes de *Lemna minor* ont été initialement retirées de leur milieu de culture, puis lavées soigneusement à l'eau distillée afin d'éliminer toute impureté résiduelle. La biomasse végétale a ensuite été séchée, puis broyée finement jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène. L'extraction a été réalisée en utilisant le Diméthylsulfoxyde (DMSO) comme solvant d'extraction, réputé pour sa haute capacité à solubiliser une large gamme de molécules lipophiles et hydrophiles, permettant ainsi d'obtenir l'extrait brut qui sera testé ultérieurement.



Figure 3.3 : Détermination de la masse sèche de la poudre broyée de *Lemna minor* (lentille d'eau) après séchage à l'étuve, en utilisant une balance analytique de précision.

3.10.2. Isolement, purification et choix du modèle biologique (*Paramecium* sp.)

CHAPITRE III: MATERIELS ET METHODES

Le modèle biologique utilisé pour les tests de toxicité est un protozoaire cilié appartenant au genre *Paramecium*. Ces micro-organismes ont été préalablement isolés à partir d'un milieu naturel, puis soumis à un processus de sélection et de repiquages successifs (cultures de lignées pures) afin d'obtenir une souche biologiquement pure et homogène.

Le choix de *Paramecium* comme modèle d'étude dans ce travail est justifié par plusieurs critères scientifiques et méthodologiques importants :

Modèle d'étude alternatif pour les protozoaires parasites : En raison de ses similitudes structurales, physiologiques et comportementales avec de nombreux protozoaires parasites pathogènes (tels que *Leishmania*, *Plasmodium* ou *Trypanosoma*), la paramécie constitue un excellent modèle d'évaluation préliminaire (screening) pour tester l'efficacité des molécules antiparasitaires.

Sécurité biologique (Biosécurité) : Contrairement aux parasites pathogènes stricts qui nécessitent des laboratoires de haute sécurité, *Paramecium* est un organisme libre et totalement non pathogène. Il ne présente donc aucun risque biologique ou sanitaire pour la santé des étudiants et des manipulateurs au sein du laboratoire.

Facilité de manipulation : Ce micro-organisme offre une réponse cellulaire rapide (perte de motilité, lyse cellulaire) observable directement sous microscope optique en un temps court (15 minutes), ce qui permet une quantification précise de la toxicité aiguë de l'extrait.

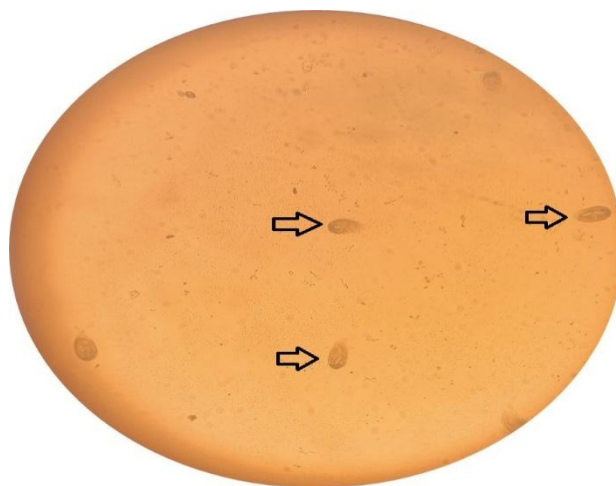


Figure 3.4 : Observation microscopique (micrographie) de cellules de *Paramecium* sp. Isolées et purifiées. Les flèches indiquent des cellules de *Paramecium* intactes et vivantes

Les tests de mortalité ont été effectués en exposant la souche pure de paramécies à différentes concentrations de l'extrait brut dissous dans le DMSO, tout en veillant à maintenir une concentration finale en solvant non toxique pour le témoin.



Figure 3.5 : Dispositif expérimental pour l'évaluation de l'activité antiparasitaire in vitro. Cette image présente une série de tubes à essai (réacteur) contenant une concentration standard de *Paramecium* sp. Isolée, à laquelle ont été ajoutées des concentrations

3.11. Analyse statistique

Nous avons réalisé une analyse statistique en utilisant EXCEL pour évaluer l'impact de différents niveaux de salinité sur la croissance de la biomasse.

CHAPITRE IV

RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Effet de la salinité sur la croissance de *Lemna minor*

Les macrophytes aquatiques, dont *Lemna minor*, sont sensibles aux variations des paramètres physicochimiques du milieu, notamment la salinité, qui constitue un facteur environnemental déterminant pour leur croissance et leur développement (**Vulpe et al., 2025**).

Les résultats de la croissance de *Lemna minor* en fonction du temps, représentés dans la Figure 4.1, montrent qu'à J0, la biomasse initiale est identique pour tous les milieux (1,2 mg), ce qui garantit l'homogénéité des conditions de départ. À J6, une légère augmentation est observée dans la majorité des milieux, avec une valeur maximale de (6,8 mg) enregistrée dans le milieu de Steinberg, tandis que les milieux salins présentent des valeurs nettement inférieures, allant de 0,6 mg (3 g.L⁻¹) à 3,1 mg (1 g.L⁻¹). À J14, les écarts entre les milieux deviennent particulièrement marqués : le milieu de Steinberg atteint la biomasse la plus élevée (45,1 mg), suivi du milieu à (1 g.L⁻¹) (36,4 mg), alors que les milieux à forte salinité (3 et 4 g.L⁻¹) enregistrent des valeurs très faibles, respectivement 8,2 mg et 2,5 mg.

Ces résultats indiquent que la croissance de *Lemna minor* est inversement proportionnelle à la concentration en sel du milieu. En effet, des concentrations salines élevées perturbent l'équilibre osmotique cellulaire, réduisant l'absorption de l'eau et des nutriments essentiels, ce qui se traduit par une inhibition progressive de la croissance. Ce phénomène est cohérent avec les observations de (**Vulpe et al., 2025**), qui soulignent la sensibilité de *Lemna minor* aux perturbations physicochimiques du milieu aquatique, ainsi qu'avec les travaux de (**Mane et al., 2017**), qui ont démontré que les conditions de culture influencent directement la production de biomasse et la teneur en métabolites primaires de cette espèce.

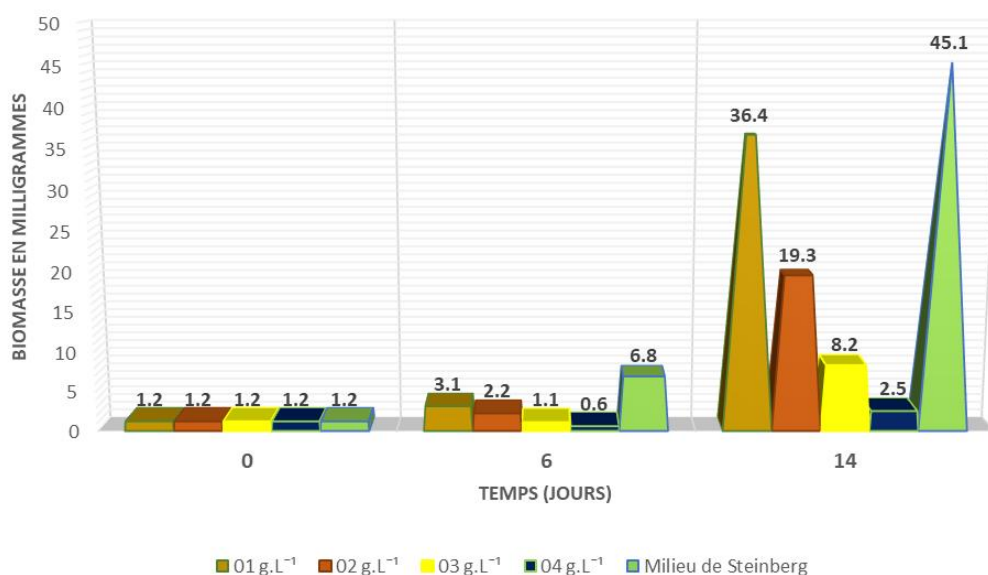


Figure 4.1 : L'étude de la croissance de *Lemna minor* dans différents milieux salins, analysée par une analyse de variance, révèle une différence significative entre les groupes ($p < 0.05$). Ces résultats confirment que la salinité influence de manière cruciale la biomasse

L'évaluation macroscopique de l'état physiologique des plants de *Lemna minor* après 14 jours d'incubation dans des milieux à salinité croissante constitue un indicateur complémentaire et révélateur de la réponse de cette espèce au stress salin.

La Figure 4.2 illustre clairement un gradient de réponse physiologique directement lié à l'augmentation de la concentration en sel. À 35 g.L⁻¹, concentration équivalente à celle de l'eau de mer, une inhibition totale de la croissance est observée, accompagnée d'une décoloration complète des frondes traduisant une chlorose aiguë et une dégradation irréversible des pigments photosynthétiques. À 8 g.L⁻¹, bien que quelques fragments végétaux subsistent, l'absence de frondes vertes fonctionnelles témoigne d'une perturbation physiologique sévère incompatible avec la survie de la plante. À 6 g.L⁻¹, on note la présence de rares frondes présentant une légère pigmentation verte résiduelle, suggérant une tentative d'adaptation partielle, toutefois insuffisante pour maintenir une croissance active. En revanche, à 4 g.L⁻¹, des colonies de frondes vertes sont clairement visibles, indiquant que cette concentration représente un seuil tolérable permettant une reprise partielle de la croissance.

Ces observations visuelles corroborent les données quantitatives obtenues précédemment et sont en accord avec les travaux de (Al-Snafi, 2019), qui souligne que *Lemna minor* est une espèce d'eau douce dont les capacités d'adaptation aux milieux salins demeurent limitées. Par ailleurs, (Vulpe *et al.*, 2025) rappellent que la sensibilité de cette espèce aux perturbations

physicochimiques du milieu, notamment la salinité, conditionne directement son efficacité en tant qu'outil de phytoremédiation, ce qui implique une sélection rigoureuse des conditions expérimentales lors de son utilisation en laboratoire.

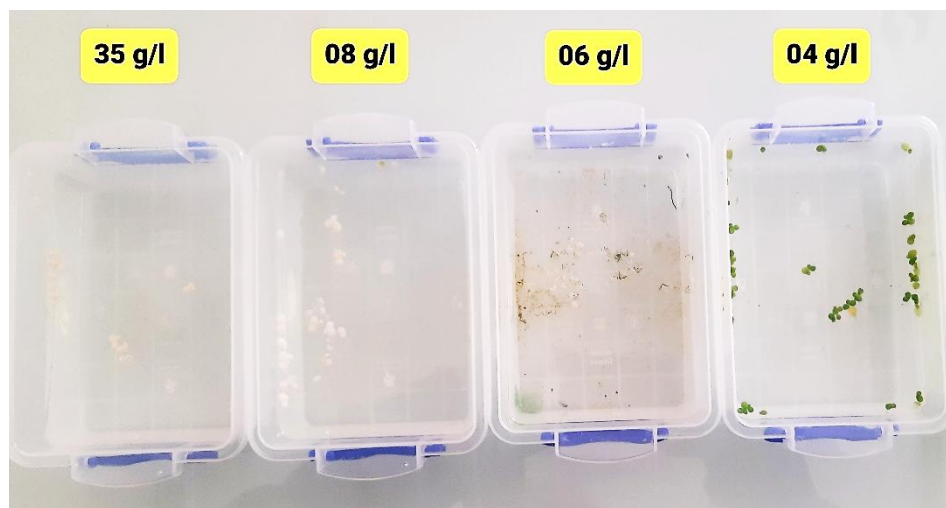


Figure 4.2 : Évaluation de la tolérance de *Lemna minor* à différentes concentrations salines après 14 jours d'incubation. À la concentration maximale de 35 g/l (équivalente à la salinité marine), on observe une inhibition totale de la croissance accompagnée d'une déc

4.2.

Variation du pH

Le pH constitue l'un des paramètres physicochimiques les plus déterminants pour la physiologie des macrophytes aquatiques, dans la mesure où il conditionne la disponibilité des nutriments, l'activité enzymatique et les échanges gazeux liés à la photosynthèse (Vulpe *et al.*, 2025).

La Figure 4.3 illustre l'évolution temporelle du pH dans les différents milieux de culture de *Lemna minor* sur une période de 14 jours. À J0, tous les milieux présentent un pH initial identique de 7,2, assurant ainsi des conditions de départ homogènes et comparables. Dès J6, une divergence nette est observée entre les milieux : le milieu de Steinberg enregistre une augmentation significative du pH jusqu'à 7,8, reflétant une activité photosynthétique soutenue de la plante qui consomme le CO₂ dissous et alcalinise le milieu. À l'inverse, les milieux salins (1 à 4 g.L⁻¹) affichent tous une baisse du pH vers 6,8, témoignant d'une activité métabolique réduite. Cette tendance se confirme et s'accroît à J14 : le milieu de Steinberg maintient un pH stable à 7,8, tandis que les milieux salins continuent leur déclin pour

atteindre des valeurs comprises entre 6,45 et 6,55, sans différence notable entre les différentes concentrations salines testées.

La baisse progressive du pH dans les milieux salins peut être interprétée comme le reflet d'une inhibition de la photosynthèse sous l'effet du stress osmotique, conduisant à une accumulation de CO_2 dissous et à une acidification du milieu. Ce résultat est cohérent avec les observations de (Vulpe *et al.*, 2025), qui indiquent que les perturbations physicochimiques, dont la salinité, affectent directement les processus métaboliques de *Lemna minor*. Par ailleurs, (Al-Snafi, 2019), rappelle que cette espèce est fondamentalement inféodée aux eaux douces, ce qui explique son incapacité à maintenir une activité photosynthétique normale dans des conditions de salinité même modérée.

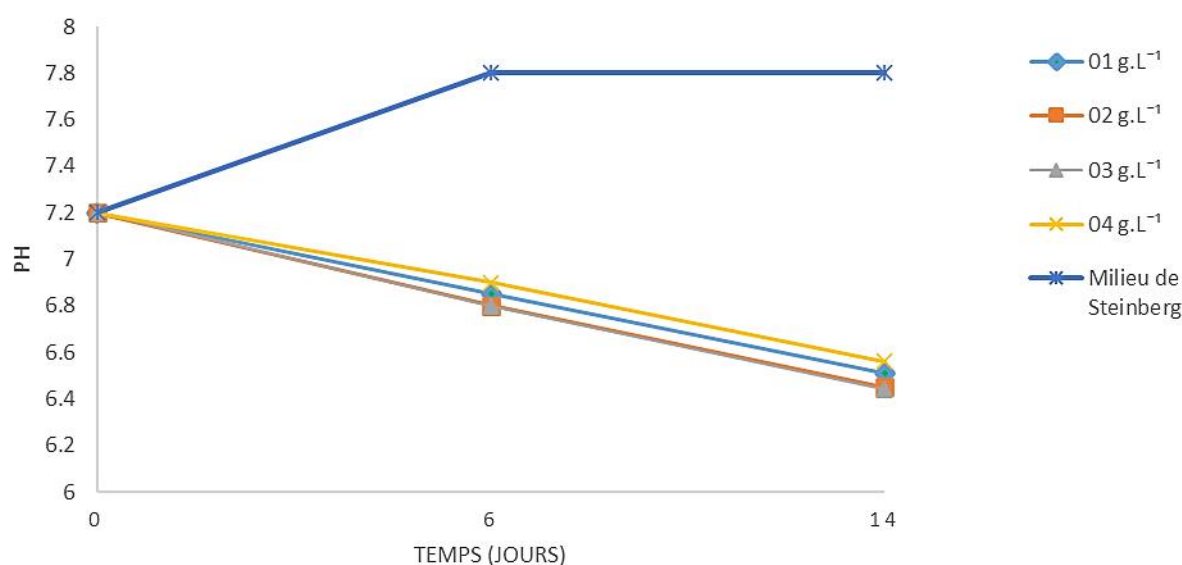


Figure 4.3 : Évolution temporelle du pH du milieu de culture de *Lemna minor* en fonction de différents gradients de salinité durant 14 jours d'incubation.

4.3 Salinité

La capacité des macrophytes aquatiques à absorber et à accumuler les ions dissous dans leur milieu constitue l'un des mécanismes fondamentaux sur lesquels repose leur potentiel de phytoremédiation. *Lemna minor*, de par sa structure simple et sa surface de contact directe avec l'eau, présente une aptitude particulière à l'absorption ionique (Vulpe *et al.*, 2025).

La Figure 4.4 représente l'évolution temporelle de la charge saline dans les quatre milieux de culture testés sur une période de 14 jours. Dans l'ensemble des milieux, une tendance générale à la diminution progressive de la salinité est observée au fil du temps, suggérant une absorption active des ions par la plante. Dans le milieu à 1 g.L^{-1} , la salinité passe de 0,44% à J0 à 0,412% à J6, puis à 0,312% à J14, soit une réduction totale d'environ 29%. Une tendance similaire est enregistrée dans le milieu à 2 g.L^{-1} , où la salinité décroît de 0,77% à 0,73%, puis à 0,63%, représentant une baisse d'environ 18%. Dans les milieux à plus forte salinité, soit 3 g.L^{-1} et 4 g.L^{-1} , les diminutions sont également présentes mais de moindre amplitude, passant respectivement de 1,11% à 1,06% et de 1,44% à 1,39%, ce qui correspond à des taux de réduction n'excédant pas 5%.

Ces résultats indiquent que *Lemna minor* présente une capacité d'absorption saline plus efficace dans les milieux à faible concentration, probablement parce que le stress osmotique induit par des salinités élevées compromet l'intégrité membranaire et réduit l'activité métabolique globale de la plante, limitant ainsi ses capacités d'absorption ionique. Ces observations sont cohérentes avec les travaux de (Vulpe *et al.*, 2025), qui confirment l'efficacité de *Lemna minor* en tant que bioaccumulateur dans des conditions de faible à moyenne contamination. Par ailleurs, (Mane *et al.*, 2017) soulignent que les performances physiologiques de cette espèce sont étroitement liées aux conditions du milieu, ce qui conditionne directement son efficacité dans les applications de dépollution aquatique.

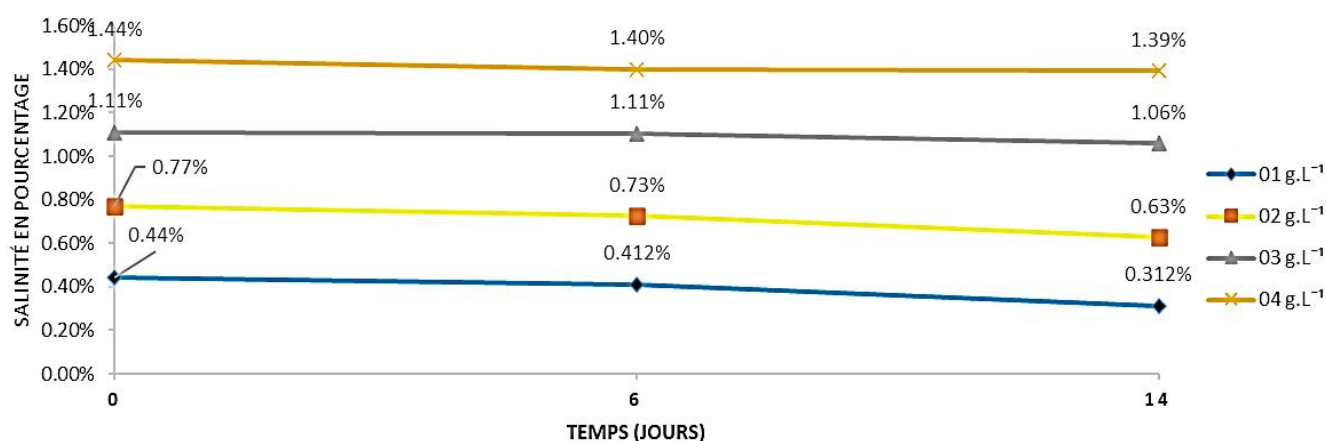


Figure 4.4 : Profil de diminution de la charge saline des milieux de culture de *Lemna minor* durant 14 jours d'expérimentation.

La capacité de dessalement des macrophytes aquatiques flottants représente un indicateur quantitatif direct de leur efficacité en phytoremédiation saline. *Lemna minor*, grâce à son contact permanent avec le milieu aquatique et à sa surface d'absorption élevée par rapport à sa masse, constitue un candidat particulièrement intéressant pour l'évaluation de ce paramètre (Vulpe *et al.*, 2025).

La Figure 4.5 présente les taux de dessalement enregistrés dans les quatre milieux de culture à J6 et à J14. À J6, le milieu à 1 g.L⁻¹ affiche le taux de dessalement le plus élevé avec 6,36%, suivi du milieu à 2 g.L⁻¹ avec 5,71%, tandis que les milieux à 3 g.L⁻¹ et 4 g.L⁻¹ présentent des taux nettement inférieurs, respectivement 0,36% et 2,78%, révélant ainsi l'effet inhibiteur précoce de la salinité élevée sur l'activité de la plante. À J14, cette tendance se confirme et s'amplifie considérablement : le milieu à 1 g.L⁻¹ atteint un taux de dessalement remarquable de 24,27%, et celui à 2 g.L⁻¹ enregistre 13,77%, traduisant une activité d'absorption ionique soutenue et progressive dans les milieux de faible salinité. En revanche, les milieux à 3 g.L⁻¹ et 4 g.L⁻¹ demeurent à des taux très faibles de 4,16% et 0,64% respectivement, confirmant l'incapacité de *Lemna minor* à exercer une activité de dessalement significative sous des contraintes osmotiques élevées.

Ces résultats mettent en évidence une relation inverse entre la concentration saline du milieu et le taux de dessalement réalisé par *Lemna minor*, et démontrent que l'efficacité de dessalement de cette espèce est conditionnée par son état physiologique, lui-même tributaire des conditions du milieu. Ces observations s'inscrivent dans la continuité des travaux de (Vulpe *et al.*, 2025), qui confirment le potentiel de *Lemna minor* comme bioaccumulateur efficace dans les systèmes de phytoremédiation à faible charge ionique. Par ailleurs, (Al-Snafi, 2019) rappelle que les performances métaboliques de cette espèce sont directement influencées par les paramètres physicochimiques du milieu de culture, ce qui conditionne en retour l'ensemble de ses capacités fonctionnelles, dont le dessalement.

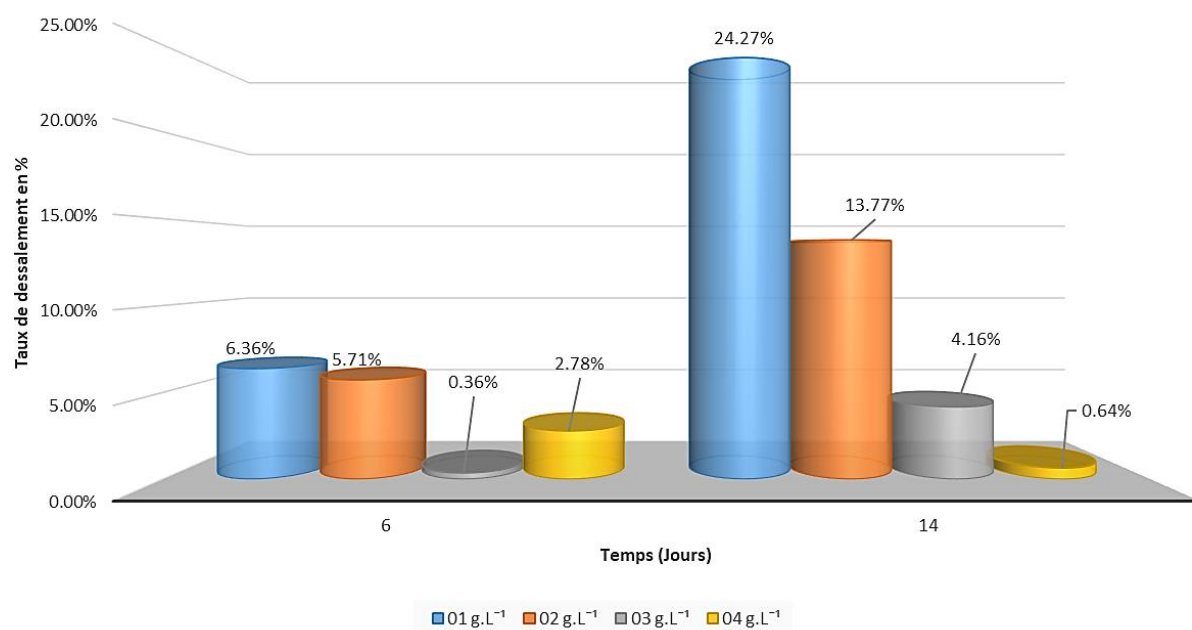


Figure 4.5 : Évaluation du taux de dessalement (%) des milieux de culture par *Lemna minor* après 6 et 14 jours d'incubation sous différents stress salins.

4.3. Chlorure (Cl⁻)

Les ions chlorure (Cl⁻) constituent l'anion majoritaire dans les milieux salins et représentent l'un des principaux facteurs de stress osmotique affectant les macrophytes aquatiques. Leur suivi au cours du temps permet d'évaluer directement la capacité d'absorption ionique de *Lemna minor* et de quantifier sa contribution à la réduction de la charge saline du milieu (Vulpe *et al.*, 2025).

La Figure 4.6 illustre la cinétique de diminution des concentrations en ions Cl⁻ dans les quatre milieux de culture entre J0 et J14. Dans le milieu à 1 g.L⁻¹, la concentration initiale en Cl⁻ était de 600 mg.L⁻¹ à J0, et a chuté à environ 200 mg.L⁻¹ à J14, soit une réduction de l'ordre de 67%. Dans le milieu à 2 g.L⁻¹, la concentration passe de 1200 mg.L⁻¹ à environ 350 mg.L⁻¹, représentant une diminution d'environ 71%. Les milieux à plus forte salinité présentent également une réduction notable : le milieu à 3 g.L⁻¹ voit sa concentration en Cl⁻ diminuer de 1800 mg.L⁻¹ à environ 450 mg.L⁻¹, soit une baisse de 75%, tandis que le milieu à 4 g.L⁻¹ enregistre la réduction absolue la plus importante, passant de 2400 mg.L⁻¹ à environ 400 mg.L⁻¹. Il est néanmoins important de noter que cette diminution dans les milieux à forte

salinité n'est pas nécessairement le reflet d'une activité biologique accrue de la plante, mais peut être en partie attribuée à des phénomènes d'évaporation et de précipitation ionique, d'autant plus que la croissance de *Lemna minor* dans ces milieux a été quasi nulle comme démontré précédemment.

Ces résultats suggèrent que *Lemna minor* contribue activement à la réduction des ions Cl^- dans les milieux de faible salinité, où son activité métabolique est préservée. Cette observation est en accord avec les conclusions de (Vulpe *et al.*, 2025), qui confirment la capacité de *Lemna minor* à absorber les ions dissous dans le cadre de systèmes de phytoremédiation, et avec celles de (Al-Snafi, 2019), qui souligne l'interaction étroite entre les paramètres physicochimiques du milieu et les performances physiologiques de cette espèce.

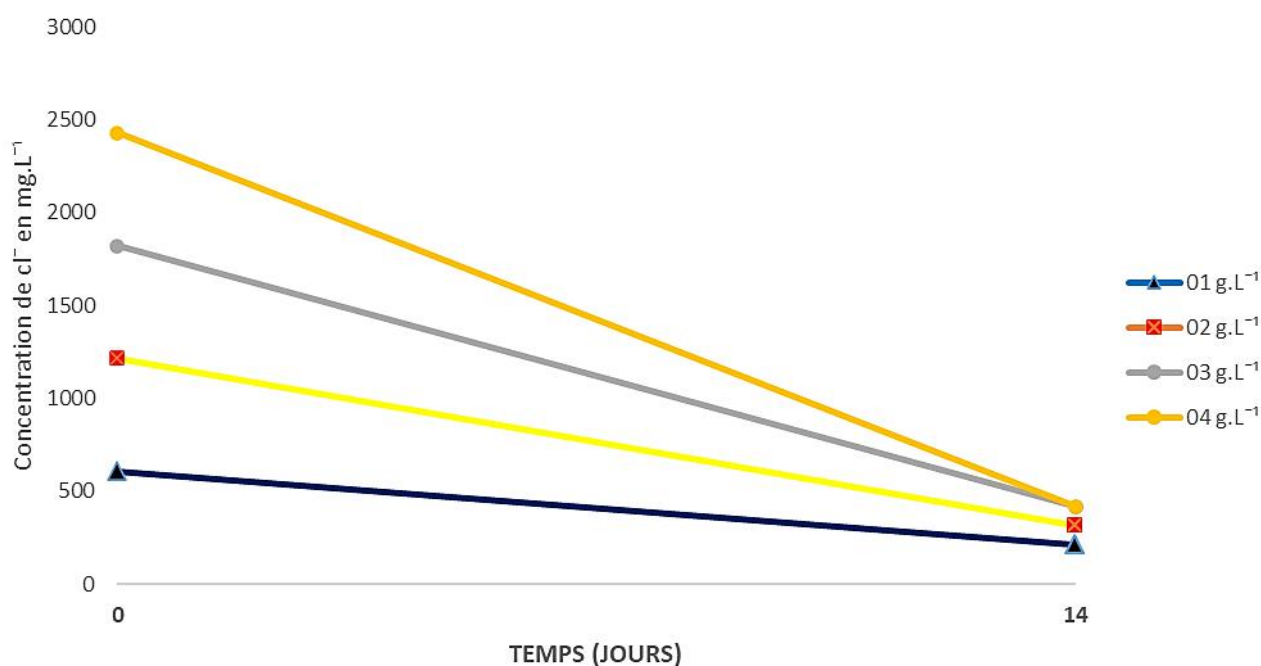


Figure 4.6 : Cinétique de diminution des ions Cl^- dans les milieux de culture de *Lemna minor* entre le premier (J0) et le quatorzième jour (J14) d'expérimentation.

4.4. Nitrate (NO_3^-)

Les nitrates constituent la principale source d'azote assimilable pour les macrophytes aquatiques, jouant un rôle fondamental dans la synthèse des protéines, des acides nucléiques

et des métabolites primaires. La capacité d'une plante à absorber les nitrates de son milieu est donc un indicateur direct de son activité métabolique et de sa vigueur physiologique (**Mane et al., 2017**).

La Figure 4.7 illustre la cinétique de réduction des concentrations en nitrates dans les quatre milieux de culture entre J0 et J14. À J0, tous les milieux présentent une concentration initiale homogène et élevée en nitrates d'environ 365 mg.L⁻¹, garantissant des conditions de départ comparables. À J14, des divergences marquées apparaissent selon le gradient salin : le milieu à 1 g.L⁻¹ enregistre la diminution la plus prononcée, avec une concentration résiduelle de seulement 85 mg.L⁻¹, soit une absorption de l'ordre de 77% de la quantité initiale. Le milieu à 2 g.L⁻¹ présente une réduction significative également, atteignant 165 mg.L⁻¹, représentant une consommation d'environ 55%. En revanche, les milieux à 3 g.L⁻¹ et 4 g.L⁻¹ affichent des concentrations résiduelles élevées de 290 mg.L⁻¹ et 305 mg.L⁻¹ respectivement, correspondant à des taux d'absorption ne dépassant pas 21% et 16%, témoignant d'une quasi-inhibition de l'assimilation azotée sous l'effet du stress salin.

Ces résultats démontrent que la capacité de *Lemna minor* à assimiler les nitrates est étroitement corrélée à la concentration saline du milieu. En effet, le stress osmotique induit par des concentrations élevées en sel compromet les mécanismes de transport ionique transmembranaire et réduit l'activité des enzymes impliquées dans le métabolisme azoté, notamment la nitrate réductase. Ces observations sont cohérentes avec les travaux de (**Mane et al., 2017**), qui ont démontré que *Lemna minor* présente une teneur élevée en acides aminés et en protéines dans des conditions de culture optimales, ce qui présuppose une absorption efficace des nitrates. Par ailleurs, (**Vulpe et al., 2025**) confirment que l'efficacité de *Lemna minor* dans l'élimination des nutriments azotés, dont les nitrates, est conditionnée par les paramètres physicochimiques du milieu, au premier rang desquels figure la salinité.

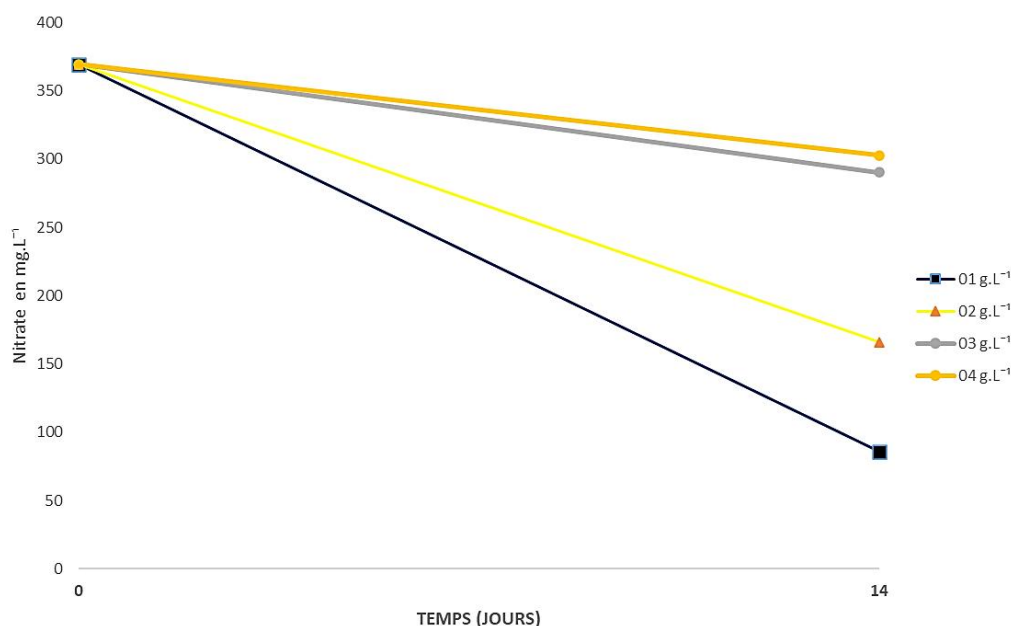


Figure 4.7 : Cinétique d'absorption des ions nitrates (mg.L⁻¹) dans le milieu de culture en fonction du temps et du gradient de salinité induit.

4.5. Sulfate (SO₄²⁻)

Les ions sulfate (SO₄²⁻) constituent un anion essentiel pour le métabolisme végétal, intervenant notamment dans la biosynthèse des acides aminés soufrés tels que la cystéine et la méthionine, ainsi que dans la synthèse de nombreux métabolites secondaires. Leur absorption depuis le milieu de culture reflète directement l'intensité de l'activité métabolique de la plante et la fonctionnalité de ses transporteurs membranaires (Mane *et al.*, 2017).

La Figure 4.8 présente l'évolution des concentrations en ions SO₄²⁻ dans les quatre milieux de culture entre J0 et J14. À J0, tous les milieux affichent une concentration initiale quasi identique oscillant entre 38,5 et 39,5 mg.L⁻¹, garantissant des conditions de départ homogènes. À J14, des disparités significatives s'observent en fonction du gradient salin : le milieu à 1 g.L⁻¹ enregistre la réduction la plus marquée, avec une concentration résiduelle de 20,3 mg.L⁻¹, correspondant à un abattement d'environ 48% de la quantité initiale. Le milieu à 2 g.L⁻¹ présente une diminution intermédiaire, atteignant 28,2 mg.L⁻¹, soit une réduction d'environ 28%. En revanche, les milieux à 3 g.L⁻¹ et 4 g.L⁻¹ affichent des concentrations résiduelles proches de leurs valeurs initiales, respectivement 35,2 mg.L⁻¹ et 35,4 mg.L⁻¹, correspondant à des taux d'abattement très faibles n'excédant pas 9% et 10%, révélant ainsi une quasi-absence d'absorption des sulfates dans ces milieux.

CHAPITRE IV: RESULTATS ET DISCUSSION

Ces résultats confirment la tendance observée pour les autres ions étudiés, à savoir une efficacité d'absorption inversement proportionnelle à la concentration saline du milieu. L'inhibition de l'absorption des sulfates dans les milieux à forte salinité est vraisemblablement liée à la compétition entre les ions Na^+ et Cl^- en excès et les transporteurs membranaires de SO_4^{2-} , ainsi qu'à la réduction globale de l'activité enzymatique sous l'effet du stress osmotique. Ces observations s'inscrivent dans la continuité des travaux de (Mane *et al.*, 2017), qui soulignent l'importance des conditions de culture sur la teneur en métabolites soufrés de *Lemna minor*, dont la cystéine et la méthionine, dont la biosynthèse dépend directement de la disponibilité et de l'absorption des sulfates. Par ailleurs, (Vulpe *et al.*, 2025), confirment que les performances de *Lemna minor* en tant que bioaccumulateur ionique sont étroitement conditionnées par les paramètres physicochimiques du milieu, notamment la salinité.

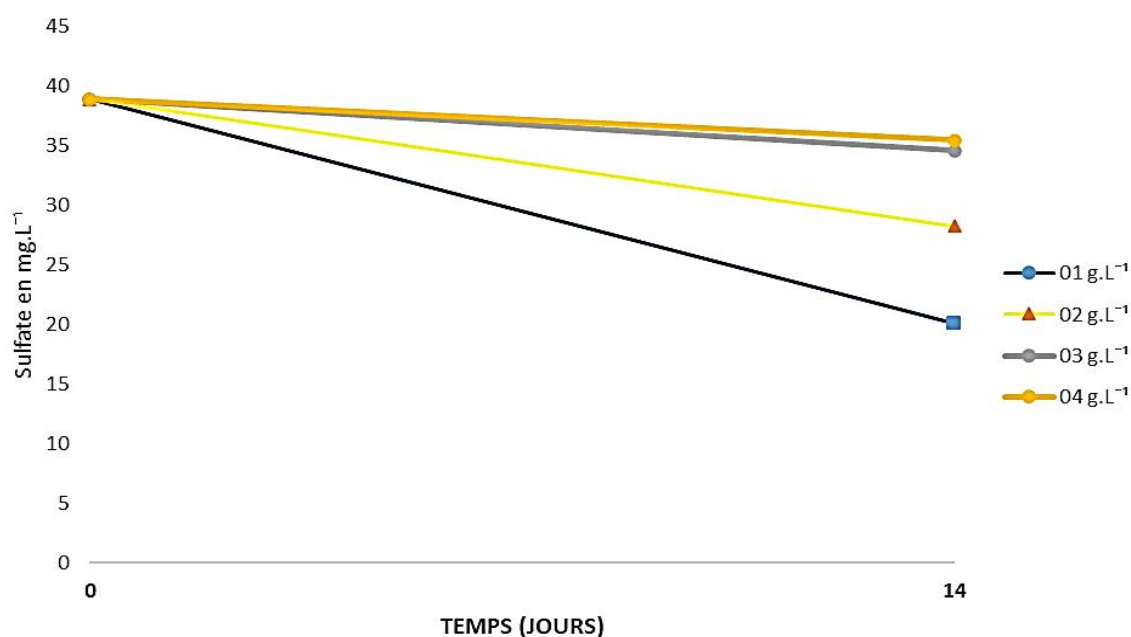


Figure 4.8 : Profil d'abattement des ions sulfates SO_4^{2-} par *Lemna minor* durant 14 jours d'exposition à différentes concentrations de NaCl.

4.6. L'activité antiparasitaire

L'évaluation de l'activité antiparasitaire des extraits de plantes aquatiques constitue un axe de recherche en plein essor, dans la mesure où ces organismes synthétisent une diversité de métabolites primaires et secondaires dotés de propriétés biologiques notables. *Lemna minor*, de par sa richesse en flavonoïdes, en tanins, en composés phénoliques et en alcaloïdes, représente un candidat d'intérêt croissant pour l'évaluation de ce type d'activité (Al-Snafi, 2019 ; Shaheen *et al.*, 2026).

La Figure 4.9 présente l'effet dose-réponse de l'extrait aqueux de *Lemna minor* sur la viabilité de *Paramecium* après 15 minutes d'exposition. À la concentration nulle (0 µg/ml), la viabilité des paramécies est de 100%, confirmant l'absence d'effet létal en l'absence de l'extrait. À 83 µg/ml, une légère diminution est enregistrée, atteignant environ 90%, suggérant un effet cytotoxique faible mais perceptible à faibles doses. À partir de 166 µg/ml, la viabilité chute de manière progressive et soutenue jusqu'à 249 µg/ml. La transition la plus drastique s'observe entre 249 et 332 µg/ml, où la viabilité s'effondre brutalement de près de 15% à moins de 5%, indiquant la présence d'une concentration létale critique dans cet intervalle. Au-delà de 332 µg/ml et jusqu'à la concentration maximale testée de 830 µg/ml, la viabilité se maintient à des valeurs proches de zéro, témoignant d'un effet létal total et irréversible.

Ces résultats révèlent un effet antiparasitaire concentration-dépendant, avec une CI_{50} estimée aux alentours de 280–300 µg/ml. Cet effet est cohérent avec les travaux de (Shaheen *et al.*, 2026), qui ont démontré que les extraits de *Lemna minor* exercent une activité antiparasitaire significative contre les formes promastigotes et amastigotes de *Leishmania tropica*, avec des taux de mortalité respectifs de $75,40 \pm 1,16\%$ et $60,15 \pm 0,12\%$ à 150 µg/ml, attribuant cet effet à la présence de flavonoïdes, de saponines, d'alcaloïdes et de terpenoïdes qui perturbent les processus biochimiques essentiels des parasites. Par ailleurs, (Al-Snafi, 2019) rapporte que les études pharmacologiques ont mis en évidence des effets cytotoxiques significatifs des extraits de *Lemna minor*, et (Mane *et al.*, 2017) confirment que les protéines et acides aminés présents dans cette espèce exercent une première ligne de défense contre les organismes pathogènes, renforçant ainsi la plausibilité biologique des résultats obtenus dans la présente étude.

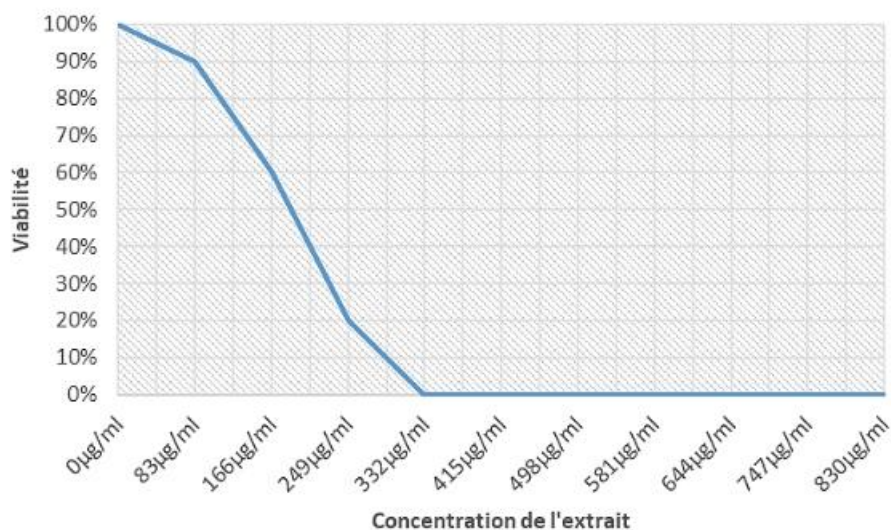


Figure 4.9 : Effet de différentes concentrations de l'extrait de *Lemna minor* sur la viabilité de *Paramecium* après 15 minutes.

La confirmation microscopique des effets cytotoxiques d'un extrait végétal sur un organisme cible constitue une étape fondamentale dans la validation de son activité antiparasitaire, dans la mesure où elle permet de visualiser directement les dommages structuraux induits au niveau cellulaire (Shaheen *et al.*, 2026).

La Figure 4.10 présente une observation microscopique comparative de la morphologie de *Paramecium* après 15 minutes d'exposition à deux concentrations distinctes de l'extrait de *Lemna minor*. À 249 µg/ml, correspondant à une concentration sous-létale située juste en deçà de la CI_{50} estimée, les cellules de *Paramecium* demeurent relativement nombreuses dans le champ microscopique, mais présentent des altérations morphologiques perceptibles : contraction du cytoplasme, perte de la forme ellipsoïdale caractéristique et réduction de la mobilité cellulaire. Les flèches indiquent des cellules présentant des déformations membranaires et des signes précoces de perturbation de l'intégrité cellulaire. En revanche, à 332 µg/ml, concentration correspondant au seuil létal critique mis en évidence dans la Figure 4.9, une réduction drastique du nombre de cellules viables est observée. Les rares cellules encore visibles présentent des signes avancés de lyse cellulaire, caractérisés par une rupture évidente de la membrane plasmique, une désorganisation complète du contenu cytoplasmique et une perte totale de la morphologie normale, comme l'indiquent les flèches.

Ces observations microscopiques corroborent et approfondissent les données quantitatives obtenues précédemment, confirmant que l'action létale de l'extrait de *Lemna minor* sur *Paramecium* est médiée par une atteinte directe de l'intégrité membranaire. Ce mécanisme d'action est cohérent avec les conclusions de (Shaheen *et al.*, 2026), qui ont démontré que les composés bioactifs de *Lemna minor*, notamment les flavonoïdes, les tanins et les composés phénoliques, exercent leur activité antiparasitaire en perturbant les processus biochimiques essentiels des parasites, dont la synthèse protéique, la production d'énergie et la réplication de l'ADN. Par ailleurs, (Al-Snafi, 2019), confirme que les propriétés cytotoxiques documentées pour cette espèce sont attribuables à la richesse de ses extraits en métabolites secondaires bioactifs capables d'altérer l'intégrité des membranes biologiques des organismes cibles.

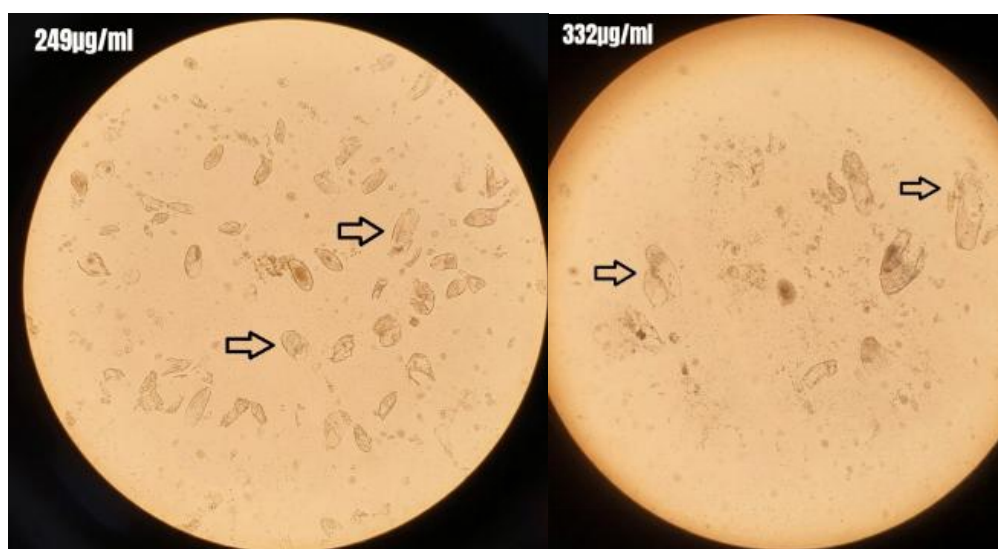


Figure 4.10 : Observation microscopique comparative de la morphologie de *Paramecium* après 15 minutes d'exposition à l'extrait de *Lemna minor* à des concentrations 249µg/ml (concentration sous-létale) et 332µg/ml (concentration létale). Les flèches indiquent les cellules

CONCLUSION

CONCLUSION

La raréfaction des ressources en eau douce et la dégradation progressive de la qualité des eaux constituent des défis environnementaux majeurs à l'échelle mondiale, affectant à la fois les écosystèmes aquatiques, la santé publique et le développement durable. Face à ces enjeux, le recours aux macrophytes aquatiques comme agents de phytoremédiation représente une alternative naturelle, économique et respectueuse de l'environnement. C'est dans cette perspective que s'inscrit la présente étude, qui a porté sur l'évaluation du potentiel de *Lemna minor* dans le traitement des eaux salines et l'évaluation de son activité antiparasitaire.

À travers une approche expérimentale rigoureuse menée en conditions contrôlées, les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence les points suivants :

- **La croissance de *Lemna minor*** est inversement proportionnelle à la concentration saline du milieu ; elle demeure optimale dans le milieu de Steinberg avec une biomasse atteignant 45,1 mg à J14, alors qu'une inhibition totale est observée à des concentrations équivalentes à la salinité marine.
- **La capacité de dessalement** de la plante a été confirmée, avec un taux d'élimination maximal de 24,27% enregistré dans le milieu à 1 g.L⁻¹ après 14 jours d'incubation, accompagné d'une absorption significative des ions chlorure, nitrate et sulfate, témoignant d'une activité de bioaccumulation ionique réelle.
- **L'évolution du pH** dans les milieux salins a révélé une inhibition progressive de la photosynthèse sous l'effet du stress osmotique, confirmant l'étroite relation entre l'activité métabolique de la plante et les conditions physicochimiques du milieu.
- **L'activité antiparasitaire** de l'extrait aqueux de *Lemna minor* sur *Paramecium* a été démontrée avec une CI₅₀ estimée entre 280 et 300 µg/ml et un effet létal total à partir de 332 µg/ml, confirmé par des observations microscopiques révélant des altérations morphologiques sévères et une lyse cellulaire complète.

À la lumière de ces résultats, nous recommandons :

- D'étudier le comportement de *Lemna minor* dans des systèmes de traitement en flux continu reproduisant des conditions réelles de terrain.

CONCLUSION

- D'évaluer l'efficacité de la plante sur des eaux salines d'origine naturelle ou industrielle contenant plusieurs types de polluants simultanément.
- D'identifier et de caractériser les composés bioactifs responsables de l'activité antiparasitaire par des techniques chromatographiques avancées telles que le GC-MS et le HPLC.
- De tester l'activité antiparasitaire des extraits de *Lemna minor* sur des parasites d'intérêt médical et vétérinaire, afin d'élargir les perspectives d'application thérapeutique.
- D'optimiser les conditions de culture de la plante afin d'en maximiser la biomasse et la teneur en métabolites actifs pour des applications à plus grande échelle.

En définitive, *Lemna minor* se révèle être un organisme aquatique à fort potentiel, alliant des capacités de phytoremédiation des eaux salines à des propriétés biologiques prometteuses. Ce travail constitue une base scientifique solide pour de futures recherches visant à intégrer cette plante dans des systèmes de traitement des eaux durables et à faible coût.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Al-Snafi, A. E.** (2019). Lemna minor: Traditional uses, chemical constituents and pharmacological effects-A review. *IOSR Journal of Pharmacy*, 9(8), 6-11.
2. **Amezaga J M.** (2014). Biodesalination: a case study for applications of photosynthetic bacteria in water treatment Plant Physiol.
3. **Aymenryc., & Guillaume, L.** (2011). *Plante aquatique, eau pure*. Éditions Sang de la Terre.
4. **Bedouh, Y., & Boumedris, Z. D.** (2016). *Laboratoire de Toxicologie Cellulaire, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Badji Mokhtar, BP 12, Annaba 23000, Algérie*.
5. **Belkacem Absar.** (2012). *Chercheur de modélisation et simulation de système de désalement d'eau de mer par osmose inverse et énergie. [Thèse de doctorat]*.
6. **Ben Sik Ali, M., Mnif, A., Hamrouni, B. et Dhahbi, M.** (2010). Electrodialytic desalination of brackish water: Effect of process parameters and water characteristics. *Ionics*, 16(7), 621-629.
7. **Bernhardt I & Ellory J C.** (2013). *Red Cell Membrane Transport in Health and Disease*(Berlin: Springer) .
8. **BOUKELLAL Imane & HANANE Abdelghani.** (2015). Étude du procédés de dessalement de l'eau de mer et de la qualité physico- chimique de l'eau dessalée de la station de Cap Djenet de la wilaya de Boumerdes.
9. **Chergui, A., Duran-Doz, L., Georges, B., & Sibille, L.** (2020). *La lentille d'eau comme fertilisant*. Projet lentille d'eau, Master Sol-Eau-Environnement, Université Sorbonne, France.
10. **Corolla, J. P., Kupfer, M., Rochefort, G., & Sohier, S.** (2012). *La vie en eau douce : Les carnets du plongeur*. Neptune Plongée.
11. **DUNGLAS J.** (2014). Le dessalement de l'eau de mer, une nouvelle méthode pour accroître la ressource en eau. Groupe eau, Académie d'agriculture de France.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

12. **Ebizimor kirido ,Zalmon G.P.** (2020). Experimental Investigation of Phytodesalination Rate of Duckweed (Lemna Minor) in Brackish Water.
13. **El-Dessouky H T and Ettouney H M.** (2002). Fundamentals of Salt Water Desalination (Amsterdam: Elsevier) Hall J E 2010 Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology.
14. **Ellis R A, Goertemiller C C and Stetson D L.** (1977). Significance of extensive 'leaky' cell junctions in the avian salt gland Nature.
15. **Endalkachew Sahle-Demessie , Ashraf Aly Hassan , Amro El Badawy.** (2019). Bio-desalination of brackish and seawater using halophytic algae.
16. **Filbin, G. J., & Hough, R. A.** (1985). Photosynthesis, photorespiration, and productivity in *Lemna minor* L. *Limnology and Oceanography*, 30(2), 322–334.
17. **Flowers T J & Colmer T D.** (2015). Plant salt tolerance: adaptations in halophytes Ann. Bot
18. **Germain, R. D.** (1997). L'organisation internationale du crédit : États et finance
19. **Golob, A., Vogel-Mikuš, K., Brudar, N., & Germ, M.** (2021). Duckweed (*Lemna minor* L.) successfully accumulates selenium from selenium-impacted water. *Sustainability*, 13(23), 13423.
20. **Haigh, A., Clark, B., Reynolds, L., Mayo, S. J., Croat, T. B., Lay, L., Boyce, P. C., Mora, M., Bogner, J., Sellaro, M., Wong, S. Y., Kostelac, C., Grayum, M. H., Keating, R. C., Ruckert, G., Naylor, M. F., & Hay, A.** (2011). *CATE Araceae*.
21. **Hall J E.** (2010.) Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology (Philadelphia, PA: Saunders).
22. **Hänelt I & Müller V.** (2013). Molecular mechanisms of adaptation of the moderately halophilic bacterium *Halobacillus halophilus* to its environment Life.
23. **Hildebrandt J-P.** (2001). Coping with excess salt: adaptive functions of extrarenal osmoregulatory organs in vertebrates Zoology.
24. **Jelassi, R., Khemaissia, H., Ghemari, C., Raimond, M., Souty-Grosset, C., & Nasri-Ammar, K.** (2019). Ecotoxicological effects of trace element contamination in talitrid amphipod *Orchestia montagui* Audouin, 1826. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(6), 5577–5587.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

25. **Jmii, S., & Dewez, D.** (2021). Toxic responses of palladium accumulation in duckweed (*Lemna minor*): Determination of biomarkers. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 40(6), 1630–1638.
26. **Jones, E., Qadir, M., Van Vliet, M., Smakhtin, V. et Kang, Seong-mu.** (2019). The state of desalination and brine production: A global outlook. *Science of the Total Environment*, 657, 1343-1356.
27. **Kehal Salim.** (2001). Retrospective et perspective du dessalement en Algérie.
28. **Kim K.** (2016). Novel water filtration of saline water in the outermost layer of mangrove roots Sci. Rep.
29. **Klähn S & Hagemann M.** (2011). Compatible solute biosynthesis in cyanobacteria *Environ. Microbiology*.
30. **Krishnamurthy P.** (2014). Role of root hydrophobic barriers in salt exclusion of a mangrove plant *Avicennia officinalis* *Plant Cell Environ.*
31. **Kupfer, M., & Corolla, J. P.** (2019). *Lemna minor* L. DORIS.
32. **Landolt, E.** (1986). *The family of Lemnaceae: A monographic study* (Vol. 1). Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der ETH Stiftung Rübel.
33. **Landolt, E., & Kandeler, R.** (1987). *The family of Lemnaceae: A monographic study* (Vol. 2). Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der ETH Stiftung Rübel.
34. **Lasfar, S., Monette, F., Millette, L., & Azzouz, A.** (2007). Comprehensive modeling of mat density effect on duckweed (*Lemna minor*) growth under controlled eutrophication. *Water Research*, 41(12), 2738–2746.
35. **Leng, R. A.** (1999). *Duckweed: A tiny aquatic plant with enormous potential for agriculture and environment*.
36. **Łojko, R., Polechońska, L., Klink, A., & Kosiba, P.** (2015). Trace metal concentrations and their transfer from sediment to leaves of four common aquatic macrophytes. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(19), 15123–15131.
37. **Mane, V. S., Gupta, A., Pendharkar, N., & Shinde, B.** (2017). Exploration of primary metabolites from *Lemna minor* and determined its immunomodulatory and antimicrobial activity. *Eur J Pharm Med Res*, 4(4), 384-388.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

38. **Manousaki E & Kalogerakis N.** (2010). Halophytes present new opportunities in phytoremediation of heavy metals and saline soils *Ind. Eng. Chem. Res.*
39. **MANUEL D'exploitation et d'entretien, « Usine de dessalement de Mostaganem »** (2011).
40. **Matache, M. L., Marin, C., Rozyłowicz, L., & Tudorache, A.** (2013). Plants accumulating heavy metals in the Danube River wetlands. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 11(1), 1–7.
41. **Maurel, A.** (2006). Dessalement de l'eau de mer et des eaux saumâtres (2^e éd.). Tec & Doc.
42. **Mitra A.** (2013) .Sensitivity of Mangrove Ecosystem to Changing Climate(Berlin: Springer) mondiale dans l'économie mondiale. Cambridge University Press.
43. **Mouhouche Brahim.** (2012). Les problèmes du manque d'eau en Algérie: Une réalité qui fait peur ,57-40 ,(1) 7
44. **Müller V, Spanheimer R & Santos H.** (2005). Stress response by solute accumulation in archaea *Curr. Opin. Microbiology*
45. **Omar, A. et Khaldi, A.** (2017). Dessalement de l'eau de mer et impacts environnementaux : cas de la station d'El-Mactaâ. *Journal of water and environmental sciences*, 1, 249-253.
46. **Oros, A., & Tudoran, O.** (2011). Études sur la croissance de *Lemna minor* sous différentes conditions environnementales.
47. **Pade N.** (2013). Bioenergetics of the moderately halophilic bacterium halobacillus halophilus: composition and regulation of the respiratory chain *Appl. Environ. Microbiology*
48. **Pallardy, S. G.** (2008). *Physiology of woody plants* (3rd ed.). Academic Press.
49. **Phillips, D., Human, L., & Adams, J.** (2015). Wetland plants as indicators of heavy metal contamination. *Marine Pollution Bulletin*, 92(1–2), 227–232.
50. **Rahmstorf S, L. Caesar A. Robinson, G. Feulner & V. Saba.** (2018). Observed fingerprint of a weakening Atlantic Ocean overturning circulation . *Nature* volume 556, pages191–196
51. **Rover., J-M.** (2017). Eau de mer et eau potable. Techniques de l'ingénieur.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

52. Sanders, C. J., Eyre, B. D., Santos, I. R., Machado, W., Luiz-Silva, W., Smoak, J. M., Breithaupt, J. L., Ketterer, M. E., Sanders, L., & Marotta, H. (2014). Elevated rates of organic carbon, nitrogen, and phosphorus accumulation in a highly impacted mangrove wetland. *Geophysical Research Letters*, 41(7), 2475–2480.
53. Schmidt-Nielsen K. (1997). *Animal Physiology: Adaptation and Environment* (Cambridge: Cambridge University Press)
54. Severi, A., & Fornasiero, R. B. (1983). Morphological variations in *Lemna minor* L. and possible relationships with abscisic acid. *Caryologia*, 36, 57–64.
55. Shabala S & Munns R. (2012). *Salinity stress: physiological constraints and adaptive mechanisms Plant Stress Physiology* (Oxford: CAB International) pp 59–93
56. Shabala S. (2011). Halophytes: what makes them special? Revealing ionic mechanisms of salinity tolerance XVIII Int. Botanical Congress
57. Shabnum Shaheen , Moneeza Abbas , Riffat Siddique , Zaryab Khalid , Tahira Alyas , Sana Khalid , Jawaher Alzahrani , Nadia Ghani , Sobia Sarwar , Asif Kamal , Moona Nazish , Maximilian Lackner d. (2026). GC-MS, FTIR, XRD, UV–Vis, and HPLC profiling of the natural bioactive constituents of *Lemna minor* L. extract and its in-vitro antimicrobial and anti-parasitic activities against pathogenic organisms.
58. Shaheen, S., Abbas, M., Siddique, R., Khalid, Z., Alyas, T., Khalid, S., & Lackner, M. (2025). GC-MS, FTIR, XRD, UV-Vis, and HPLC profiling of the natural bioactive constituents of *Lemna minor* L. extract and its in-vitro antimicrobial and anti-parasitic activities against pathogenic organisms. *Kuwait Journal of Science*, 100469.
59. Shaheen, S., Abbas, M., Siddique, R., Khalid, Z., Alyas, T., Khalid, S., & Lackner, M. (2025). GC-MS, FTIR, XRD, UV-Vis, and HPLC profiling of the natural bioactive constituents of *Lemna minor* L. extract and its in-vitro antimicrobial and anti-parasitic activities against pathogenic organisms. *Kuwait Journal of Science*, 100469.
60. Shannon, M. A., Bohn, P. W., Elimelech, M., Georgiadis, J. G., Marinas, B. J., & Mayes, A. M. (2008). Science and technology for water purification in the coming decades. *Nature*.
61. Stein W. (2012). *Transport And Diffusion Across Cell Membranes* (Orlando, FL: Academic)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

62. **Steinberg, R. A.** (1946). Mineral requirements of *Lemna minor*. *Plant Physiology*, 21, 42.
63. **Taheri R and Shariati M.** (2013). Study of the inhibitory effect of the media culture parameters and cell population to increase the biomass production of *Dunaliella tertiolecta* Prog. Biol. Sci.
64. **Trivedi P C.** (2006). *Advances in Plant Physiology* (New Delhi: I K International Publishing House)
65. **Vardanyan, L. G., & Ingole, B. S.** (2006). Studies on heavy metal accumulation in aquatic macrophytes from Sevan (Armenia) and Carambolim (India) lake systems. *Environment International*, 32(2), 208–218.
66. **Vidakovič-Cifrek, Ž., Tkalec, M., Pavlica, M., Regula, I., & Papeš, D.** (2013). Growth and photosynthetic responses of *Lemna minor* exposed to different light conditions. *Periodicum Biologorum*, 115(3), 367–372.
67. **Vulpe, C. B., Toplicean, I. M., Agachi, B. V., & Datcu, A. D.** (2025). A review on uses of *Lemna minor*, a beneficial plant for sustainable water treatments, in relation to bioeconomy aspects. *Water*, 17(9), 1400.
68. **Watson, I. C., Morin, O. J., & Henthorne, L.** (2003). *Desalting handbook for planners* (Report No. 72). US Bureau of Reclamation.
69. **Wayne, A.** (2001). *Treatment of Lemnaceae*. Lemna Corporation, St. Paul, Minnesota, USA.
70. **Yin, Y., Yu, C., Yu, L., Zhao, J., Sun, C., Ma, Y., & Zhou, G.** (2015). Effects of light intensity and photoperiod on growth and biochemical composition of duckweed.
71. **Zhao J.** (2014). Biomimetic and bioinspired membranes: preparation and application Prog. Polym. Sci.



Photo 01 : Milieu de culture — Steinberg

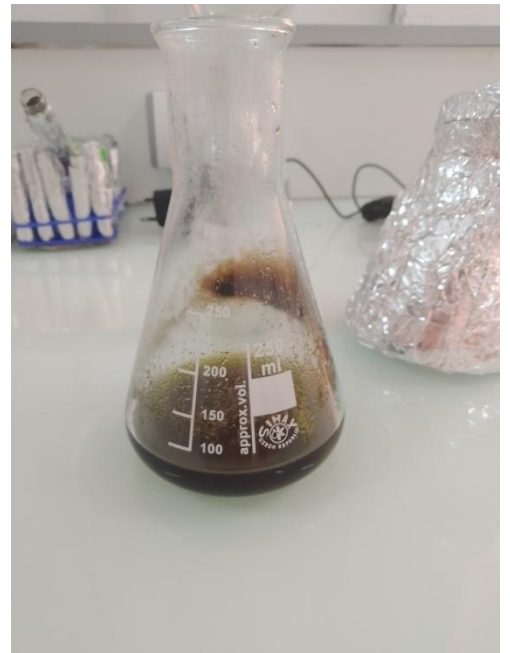


Photo 02 : Extrait végétal avec DMSO



Photo 03 : Refractomètre ABBE



Photo 04 : Conductimètre

الملخص

في ظل التدهور المتصاعد لجودة الموارد المائية وبروز تهديدات طفيلية متجددة، يكتسب توظيف النباتات المائية في المعالجة البيولوجية أهمية بحثية وعملية بالغة. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم إمكانية *Lemna minor* في معالجة المياه المالحة واستكشاف نشاطها المضاد للطفيليات في المختبر. جرى دراسة تحمل النبتة للملوحة في أوساط زراعية مُعدّة بتركيز متصاعد من كلوريد الصوديوم (1 غرام/لتر، 2 غرام/لتر، 3 غرام/لتر، 4 غرام/لتر، 6 غرام/لتر، 8 غرام/لتر، وأخيراً 35 غرام/لتر)، مقارنةً بوسط Steinberg المرجعي. وشملت المعاملات الفيزيوكيميائية الرئيسية المُتابعة على امتداد 14 يوماً: الكتلة الحيوية، والأس الهيدروجيني، والملوحة، وتركيز أيونات الكلوريد والنترات والكبريتات. كما قُيِّم النشاط المضاد للطفيليات للمستخلص المائي على *Paramecium* بتركيز تتراوح بين 0 و830 ميكروغرام/مل، مع تأكيد مجهرى للتأثيرات الملاحظة. كشفت النتائج أن نمو *Lemna minor* يتناسب عكسياً مع تركيز الملح، بكتلة حيوية قصوى بلغت 45.1 مغ في وسط Steinberg في اليوم الرابع عشر، وتوقف كلي للنمو عند 35 غ.ل⁻¹. وبلغ معدل إزالة الملوحة 24.27% في الوسط منخفض الملوحة، رفقة تراجع معتبر في تركيز أيونات الكلوريد (67%) والنترات (77%) والكبريتات (48%). وأثبت المستخلص المائي نشاطاً مضاداً للطفيليات يتناسب مع التركيز، بـ CI_{50} تتراوح بين 280 و300 ميكروغرام/مل وتأثير مميت كلي عند 332 ميكروغرام/مل، أكدته تغيرات شكلية حادة رُصدت تحت المجهر.

الكلمات المفتاحية: *Lemna minor*؛ المياه المالحة؛ المعالجة النباتية؛ إزالة الملوحة البيولوجية؛ النشاط المضاد للطفيليات؛ *Paramecium*

Abstract

Given the increasing deterioration of water resource quality and the emergence of new parasitic threats, the use of aquatic macrophytes in biological treatment represent a promising and economically viable research avenue. This study aims to evaluate the potential of *Lemna minor* in saline water treatment and to explore its antiparasitic activity *in vitro*. Salt tolerance was investigated in culture media prepared at increasing NaCl concentrations (1 g/L, 2 g/L, 3 g/L, 4 g/L, 6 g/L, 8 g/L, and finally 35 g/L), compared to the Steinberg reference medium. The main physicochemical parameters monitored throughout the 14-day experiment included biomass, pH, salinity, and the concentrations of chloride, nitrate, and sulfate ions. The antiparasitic activity of the aqueous extract was assessed against *Paramecium* at concentrations ranging from 0 to 830 µg/ml, with microscopic confirmation of the observed effects. Results revealed that *Lemna minor* growth is inversely proportional to salt concentration, with a maximum biomass of 45.1 mg recorded in the Steinberg medium at day 14, and complete growth inhibition at 35 g.L⁻¹. A desalination rate of 24.27% was achieved in the low-salinity medium, accompanied by a significant reduction in chloride (67%), nitrate (77%), and sulfate (48%) ions. The aqueous extract demonstrated a concentration-dependent antiparasitic activity, with an

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

estimated IC₅₀ between 280 and 300 µg/ml and a total lethal effect at 332 µg/ml, confirmed by severe morphological alterations observed under the microscope.

Keywords: *Lemna minor*; saline water; phytoremediation; biological desalination; antiparasitic activity; *Paramecium*

Résumé

Face à la dégradation croissante de la qualité des ressources hydriques et à l'émergence de nouvelles menaces parasitaires, la valorisation des macrophytes aquatiques représente une voie de recherche prometteuse et économiquement viable. La présente étude vise à évaluer le potentiel de *Lemna minor* dans le traitement des eaux salines et à explorer son activité antiparasitaire *in vitro*. La tolérance au sel a été étudiée dans des milieux de culture préparés à des concentrations croissantes de NaCl (1 g/L, 2 g/L, 3 g/L, 4 g/L, 6 g/L, 8 g/L, et enfin 35 g/L), en comparaison avec le milieu de référence de Steinberg. Les principaux paramètres physicochimiques mesurés tout au long des 14 jours d'expérimentation incluaient la biomasse, le pH, la salinité, ainsi que les concentrations en ions chlorure, nitrate et sulfate. L'activité antiparasitaire de l'extrait aqueux a été évaluée sur *Paramecium* à des concentrations allant de 0 à 830 µg/ml, avec confirmation microscopique des effets observés. Les résultats ont révélé que la croissance de *Lemna minor* est inversement proportionnelle à la concentration saline, avec une biomasse maximale de 45,1 mg enregistrée dans le milieu de Steinberg à J14, et une inhibition totale à 35 g.L⁻¹. Un taux de dessalement atteignant 24,27% a été obtenu dans le milieu à faible salinité, accompagné d'une réduction significative des ions chlorure (67%), nitrate (77%) et sulfate (48%). L'extrait aqueux a démontré une activité antiparasitaire concentration-dépendante, avec une CI₅₀ estimée entre 280 et 300 µg/ml et un effet létal total à 332 µg/ml, confirmé par des altérations morphologiques sévères observées au microscope.

Mots clés : *Lemna minor* ; eaux salines ; phytoremédiation ; dessalement biologique ; activité antiparasitaire ; *Paramecium*