

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Toxicologie et Sécurité Alimentaire

Présenté par :

- BENYOUB Yessmina
- GAAMOUCI Wahiba
- BOUACHRIA Narimane

Thème

Etude de biomarqueurs de stress chez les échinodermes marins
(*Paracentrotus lividus*) (Lamarck 1816)

Soutenu publiquement, le :

Jury :

Grade

Présidente : Dr. MEZOUAR Djamila

«MCA »

Examinatrice: Pr. BENARABA Rachida

« Pr »

Encadrant : Melle BELMOKHTAR RAHMA

« MAA »

Année universitaire 2023-2024

Remerciements

Avant tout, nous remercions ALLAH tout puissant de nous avoir guidés et aidés tout au long de notre vie, qu'il nous a donné courage et patience pour passer tous les moments difficiles, et qu'il nous a permis d'achever ce travail et de pouvoir le mettre entre vos mains aujourd'hui. Nous adressons nos vifs remerciements à tous ceux qui nous ont aidés à l'élaboration de ce mémoire de fin d'étude par leurs Conseils et leurs orientations

*A notre encadreur **Melle BELMOKHTAR RAHMA** ont vous suis extrêmement reconnaissant pour votre précieux encadrement et votre soutien constant. Merci infiniment.*

*Nous remercions également **Dr. MEZOUAR Djamila** qui a accepté présider ce jury. Et **Pr. BENARABA Rachida** d'avoir accepté examiner ce travail.*

Nous remercions également aux techniciens de laboratoire pour avoir facilité la partie expérimentale de ce travail.

Enfin, nous remercions vivement tous les enseignants du département des sciences de la Nature et de la Vie, et tous ceux et celles qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicace

À mes chers parents, qui ont joué un rôle majeur en m'encourageant et en me soutenant tout au long de mon parcours académique. Merci pour tout l'amour, les sacrifices et le soutien moral et financier que vous m'avez apportés.

Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude à mes chères sœurs, Wiam et Fatima, qui ont toujours été à mes côtés à chaque instant, et qui ont été une source d'inspiration et de soutien continu.

Je remercie particulièrement mes chers frères, Youssef et Imad, qui n'ont pas hésité à m'aider et à me procurer l'oursin qui a été au centre de ma recherche pour cette mémoire. Merci pour votre soutien et votre coopération. Je remercie également mes frères Ben Aissa et Ishak.

Merci à tous

Narimane

Dédicace

Je dédie ce succès à ma chère mère, "BENZITOUNI Fatiha", qui m'a comblé de son amour et de son soutien tout au long des années de ma vie; Tous les mots de remerciement ne vous suffisent pas; Merci beaucoup ma chérie.

Je dédie ce succès de ma vie à mon père , "BENYOUB Abd El Kader"; Et je lui dis que tu es toujours à mes côtés et je te sens à chaque étape de ma vie.

A mes chers frères " Abidou et Abd El Moudjib, Hichem, Chakib ,Mounir,Djawad"et mes sœurs " Amoula , Maroua et Fatouma ma petite fille, khadouj et ouided"Qu'ils trouvent l'expression de mes grands attachements. Qu'ils trouvent le témoignage de mes immenses affections. En leurs souhaitant la réussite et le bonheur.

"À mes collègues"Bouachria Narimane"et " Gaamouci wahiba"

Merci pour ton travail acharné et pour tous les moments merveilleux que nous avons partagés pour ce projet. Je te souhaite plein succès dans ta vie professionnelle et personnelle.

A ma chère "Tata Amel"

Merci pour tout le soutien et l'encouragement que tu m'as apportés tout au long de ce long voyage. Grâce à toi et à ton amour, j'ai pu réaliser cette importante réussite dans ma vie. Je souhaite que tu sois toujours à mes côtés pour partager davantage de moments merveilleux et de succès à l'avenir.

A mes chers amis Benzitouni Miloud , Maamer Benchohra, Assmaa, qui ont été à mes côtés à chaque étape de ma vie. Votre amitié précieuse et vos encouragements constants ont illuminé mes jours les plus sombres et ont rendu les bons moments encore plus spéciaux. Je vous remercie du fond du cœur pour votre présence inestimable.

BENYOUB Yessmina

Dédicace

« وآخر دعواهم أن الحمد لله رب العالمين »

« Et un autre que leur cas Louange à Allah »

Dieu soit loué, aucun effort n'a été achevé ni aucun effort n'a été achevé sauf par sa grâce et sa générosité, et aucun obstacle ni difficulté n'a été surmonté sauf par sa grâce. Grâce à Dieu, j'ai terminé ma carrière universitaire.

Louange à Dieu, avec amour, remerciement et gratitude pour le début et la fin. Me voici aujourd'hui, point culminant des derniers instants de ce chemin qui portait en lui des pierres d'achoppement et des épines, et malgré elles, mes pieds ont continué à marcher avec toute la patience, l'ambition, la détermination, l'optimisme et la bonne foi en Dieu. les jours passaient avec leur lourdeur et leur amertume, mais ils ne me gênaient pas, mais étaient plutôt un souvenir passager qui illuminait les rêves.

Je consacre mes recherches de fin d'études avec amour :

À celui qui a décoré mon nom des plus beaux titres, à celui qui m'a soutenu sans limites et qui m'a donné gratuitement, à celui qui m'a appris que le monde est une lutte et que ses armes sont la connaissance et la réussite. Mon premier soutien. ma carrière et mon refuge après

Dieu, ma fierté et ma fierté : mon grand père, que Dieu le protège.

À celle à qui Dieu a fait pour elle le paradis sous ses pieds, à celle que notre Prophète, que la prière et la paix de Dieu soient sur lui, lui a conseillé et répété son nom trois fois, et dont le cœur m'a embrassé devant ses mains, à celle qui m'a ouvert le chemin en priant pour ma chère mère, que Dieu prolonge sa vie.

À ceux par qui je suis plus grand, sur qui je compte et par la présence desquels je gagne force et amour, mes frères (Noor Al-Islam, Zahra, Bilal, Hayat).

Et je n'oublierai jamais celui que Dieu m'a destiné et qui a eu le mérite de me faire entrer à l'école et de m'instruire, mon second père, (Sriba sassi).

Celui que je pensais être le premier à s'occuper, mais comme le destin l'a voulu, il serait le premier à disparaître, mon (Hicham), que Dieu ait pitié de lui.

A ceux qui furent notre première joie, mes anges (Taha, Iyad).

À ma sœur que ma mère n'a pas pu trouver, au symbole de loyauté et d'amitié, ma seule amie (Maryam).

Enfin, celui qui dit : « Je suis à elle » l'aura, et si elle refuse, contre sa volonté, je l'amènerai.

Louange à Dieu pour la bonne réalisation et la bonne conclusion.

Oh mon Dieu, profite-moi de ce que tu m'as appris et profite-moi

Gaâmouci wahiba

Résumé

Dans cette étude, nous avons évalué les indicateurs de stress biologique chez les échinodermes marins *Paracentrotus lividus*, avec pour objectif principal d'utiliser ces indicateurs pour évaluer l'impact de la pollution sur ces organismes marins. Les biomarqueurs utilisés incluent: Glutathion-S-transférase (GST), Glutathion réduit (GSH), Catalase (CAT) et la concentration des protéines

Des échantillons d'oursins ont été collectés à partir de deux sites différents sur la côte ouest de l'Algérie : la plage de Madrid à Aïn Témouchent et le port d'Oran. Ces sites ont été choisis en fonction de leurs niveaux de pollution, le port d'Oran étant considéré comme pollué et la plage de Madrid comme loin de source de pollution.

D'une manière générale, l'ensemble des résultats reflètent des variations significatives des paramètres biométriques, et non significatives pour les biomarqueurs de stress, néanmoins, une légère élévation dans le taux de catalase et GST au niveau du port d'Oran. Cependant, le taux de protéine et de GSH est élevé au niveau de la plage de Madrid.

Mots-clés : Biomarqueurs de stress ; *Paracentrotus lividus* ; Pollution, Algérie

ملخص

في هذه الدراسة، قفنا بتقييم مؤشرات الإجهاد الحيوي في شوكلات الجلد البحرية *Paracentrotus lividus* ، بهدف استخدام هذه المؤشرات لتقييم تأثير التلوث على هذه الكائنات البحرية. تضمنت المؤشرات المستخدمة ما يلي: جلوتاثيون-S-ترانسفيراز (GST)، جلوتاثيون المختزل (GSH)، كاتالاز (CAT)، تركيز البروتينات.

تم جمع عينات من قنذ البحر من موقعين مختلفين على الساحل الغربي للجزائر، وهما شاطئ مدريد في عين تموشنت وميناء وهران. تم اختيار هذه المواقع بناءً على اختلاف مستويات التلوث، حيث يُعتبر ميناء وهران ملوثاً بينما يُعتبر شاطئ مدريد غير ملوث.

بشكل عام، تعكس جميع النتائج تباينات كبيرة في المعايير البيومترية وغير مهمة لمؤشرات الإجهاد. ومع ذلك، هناك ارتفاع طفيف في مستويات الكاتالاز و GST في ميناء وهران. من ناحية أخرى، كانت مستويات البروتين و GSH مرتفعة في شاطئ مدريد.

الكلمات المفتاحية: مؤشرات الإجهاد؛ *Paracentrotus lividus* ؛ التلوث؛ الجزائر

Abstract

In this study, we evaluated the biomarkers of biological stress in the marine echinoderms *Paracentrotus lividus*, with the primary objective of using these biomarkers to assess the impact of pollution on these marine organisms. The biomarkers used include: Glutathione-S-transferase (GST), Reduced Glutathione (GSH), Catalase (CAT), Protein concentration.

Sea urchin samples were collected from two different sites on the western coast of Algeria: Madrid Beach in Aïn Témouchent and the Port of Oran. These sites were chosen based on their differing levels of pollution, with the Port of Oran being polluted and Madrid Beach being unpolluted.

In general, the overall results reflect significant variations in biometric parameters and non-significant variations for stress biomarkers. However, there is a slight increase in the levels of catalase and GST in the port of Oran. On the other hand, the levels of protein and GSH are higher at Madrid beach.

Keywords: Stress Biomarkers; *Paracentrotus lividus*; Pollution, Algeria

Liste d'abréviation

BSA:	Albumine de sérum bovin
CAT:	Catalase
CDNB:	1-chloro -. 2,4-dinitrobenzène
DBO:	Demande biochimique en oxygène
DO:	Densité optique
DTNB:	Nitrobenzoïque
ERO:	Espèces réactives d'oxygène
GSH:	Glutathione réduit
GST:	Glutathione s-transferase
HAP:	Hydrocarbures aromatiques
La:	Largeur
Lt:	Longueur totale
MDA:	Malondialdéhyde
MES:	Mate in comment
PCB:	Biphenyles polychlorés
TBA:	Acide thiobarbituric
PCB:	Biphenyles polychlorés
TBA:	Acide thiobarbituric
TNB:	Nitrobenzoïque

Liste des figures

Figures 01: Arbre phylogénétique de <i>Paracentrotus lividus</i>	07
Figure 02: Espèce <i>Paracentrodus lividus</i>	08
Figure 03: Distribution Géographique	09
Figure 04 : Morphologie interne et externe de l'oursin <i>Paracentrotus Lividus</i>	09
Figure 05 : Carte géographique de la zone d'étude.....	12
Figure 06 : Plage de Madrid.....	13
Figure 07 : Port d'Oran.....	14
Figure 08 : méthode d'échantillonnage des Oursins.....	16
Figure 9 : Méthode de mesure de l'oursin par le pied de coulisse.....	16
Figure 10 : Poids d'Oursins	17
Figure 11 : Dissection des oursins	18
Figure 12 : PH mètre.....	19
Figure 13 : Conductimètre.....	20
Figure 14 : Oxymètre	21
Figure 15 : Appareil de dosage MES.....	22
Figure16 : Variation de l'activité spécifique du catalase (CAT).....	31
Figure17 : Variation de l'activité spécifique moyenne de GST.....	32
Figure18 : Variation de la concentration moyenne en GSH.....	33
Figure19 : Variation de la concentration moyenne des protéines.....	34

Liste des tableaux

Tableau 1. Descriptions des sites étudiés.....	15
Tableaux 2. Les paramètres physico-chimiques des différents sites étudiés.....	28
2.1 Température.....	28
2.2 Potentiel d'hydrogène PH.	28
2.3 Salinité.	28
2.4 Conductivité.....	29
2.5 Oxygène dissous.....	29
2.6 Matière en suspension (MES).	29
Tableau 3: Mesure des paramètres biométriques de l'espèce P. lividus des différents sites étudiés.....	30

Sommaire

Remerciements :	
Dédicaces	
Résumé	
Liste d'abréviation	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
INTRODUCTION	1
Chapitre I : GENERALITES	
1-POLLUTION MARINE	4
1-1 POLLUTION DE LA MER MÉDITERRANÉE	4
1-2 MÉTAUX LOURDS	4
1-3 HYDROCARBURES	4
1-4 POLLUTION PLASTIQUE	4
1-5 ORGANIQUES	4
2-Biomarqueurs de pollution	5
2.2 Stress oxydant et biomarqueurs	5
2.3 Biomarqueurs de stress	5
2.3.1 Glutathion (GSH)	6
2.3.2 Glutathion -S-transférase (GST)	6
2.3.3 Catalase (CAT)	6
2.3.4 Malondialdéhyde (MDA)	6
3. Description de l'espèce étudié: <i>Paracentrotus lividus</i>	7
3.1 Taxonomie	8
3.2 Répartition géographique	9
3.3 Description physique	9
3.4 Habitat et alimentation	10
3.5 Écologie	10
Chapitre II : MATERIEL ET METHODE	
1-Présentation de la zone d'étude	12
1-1 Situation géographique de la ville d'Aïn Témouchent	12
1-1-1.Plage de Madrid	13
1-2 Port d'Oran	13
2-Méthodologie	14

2-1 Echantillonnage	14
2-1-1 Prélèvement des échantillons d'eau de mer	15
2-2 Matériel biologique	15
2-2-1 Dissection des Oursins :	17
2-3 Analyses physico-chimiques	18
2-4 Analyses biochimiques	23
2-4-1 Évaluation des biomarqueurs	23
2-4-1-1 Dosage des protéines	23
2-4-1-2 Dosage de la glutathion S-transférase (GST)	24
2-4-1-3 Réduction du glutathion (GSH)	25
2-4-1-4 Catalase	26

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

3.Résultats	28
3. 1 Les analyses physico-chimiques du l'eau de mer	28
IV-2 Paramètres biométriques	30
IV-3 Biomarqueur de stress	30
IV-3-1 Activité spécifique du Catalase	30
V-3-2 Activité spécifique du Glutathion S-transérases (GST)	31
-3-3 Glutathion réduit (GSH)	32
V-3-4 Concentration des protéines	34
Discussion générale	35
Conclusion générale	42
Référence Bibliographique	42
ANNEXE	42

INTRODUCTION

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Pollution marine est un problème mondial en raison des effets dévastateurs des polluants qui atteignent des niveaux de plus en plus alarmants. Conformément à la directive-cadre sur la stratégie maritime européenne (2008/56/CE/; **Sandra et al, 2017**). Les écosystèmes marins côtiers sont vulnérables à une vaste gamme de perturbations, notamment les effets du changement climatique et la présence de diverses substances étrangères rejetées dans la mer(**Marie et al, 2022**).

Les activités humaines, telles que l'expansion des villes et des zones industrielles, contribuent également à une pollution importante du milieu marin, dont les principales sources sont les déchets plastiques, les hydrocarbures, les polluants agricoles, les émissions industrielles, les déchets municipaux et les eaux usées (**Boughriet R. , 2011**).

La présence de ces polluants peut avoir des effets dévastateurs sur la vie marine et ses écosystèmes et constitue un problème mondial majeur (**El idrissi et al., 2023**).

Les échinodermes représentent un groupe d'invertébrés deutérostomisés caractérisés par une symétrie à cinq corps.Ce phylum compte cinq membres différents, dont les Creinoidea (crinoïdes et étoiles à plumes), les Asteroidea (étoiles de mer), les Opetoidea (sous-groupes d'étoiles de serpent), les Echinoidea (oursins) et les Holothuroidea (sous-groupes de concombres de mer) (**Armone et al , 2015**).

Paracentrotus lividus (Lamarck) est considérée comme l'espèce d'oursin la plus délicieuse du réseau côtier méditerranéen.Cet échinoderme marin est un grand herbivore important de la mer Méditerranée, se nourrissant d'une variété de plantes vertes.Ils préfèrent *P. Oceanica*, qui est abondante et facilement disponible, mais peuvent également manger d'autres algues (**Tejada et al., 2013**).

Les organismes marins sont menacés par divers facteurs de stress, qu'ils soient naturels ou provoqués par les activités humaines. Ces stress comprennent la pollution, l'hypoxie, la turbidité et d'autres changements environnementaux. Les réponses des organismes marins à ces stress sont complexes et influencées par des facteurs biotiques et abiotiques (**Nahrgang et al., 2013**).

. En raison de *paracentrotus lividus* ses habitudes sédentaires et de sa sensibilité aux polluants, cet oursin est utilisé comme indicateur biologique et biochimique de la pollution locale, ainsi

INTRODUCTION

que dans les tests d'embryotoxicité pour les programmes d'évaluation environnementale et de surveillance des risques(**Soualili *et al.*, 2008**).

L'oursin *Paracentrotus lividus* est un outil important dans les études environnementales et de pêche pour évaluer l'impact des activités humaines et des polluants sur les écosystèmes marins(**Fabbrocini *et al.*, 2010**).

L'analyse des biomarqueurs est un outil important pour évaluer la réponse des espèces indigènes au stress environnemental, comme la pollution ou l'introduction d'espèces envahissantes. Le suivi de ces indicateurs nous aidera à mieux comprendre l'impact de ces menaces sur les populations d'oursins **Paracentrotus lividus**. Cette méthode détecte les changements physiologiques et biochimiques dans les organismes, fournissant ainsi des signaux précoces sur la santé des écosystèmes et la pression exercée sur les espèces indigènes. Les biomarqueurs peuvent donc contribuer de manière significative à la gestion et à la conservation des écosystèmes marins(**Frenzille *et al.*, 2004**).

L'objectif de ce travail est d'illustrer l'utilisation de biomarqueurs de stress pour évaluer l'impact de pollution sur les échinodermes marins, en particulier le taux de GSH et de la MDA, ainsi que l'activité spécifique de la GST et de la catalase. L'étude a été réalisée à partir d'échantillons d'oursins prélevés sur deux sites différents de la côte ouest de l'Algérie, choisis pour leur exposition variée aux activités humaines.

La recherche est structurée en trois chapitres :

-Le premier chapitre passe en revue la littérature générale sur le sujet, identifiant les types de pollution marine et décrivant les biomarqueurs de stress.

-Le deuxième chapitre discute du matériel et des méthodes utilisés dans cette étude.

-Le troisième chapitre présente les résultats et les discussions des différents traitements effectués au cours de cette étude.

-Enfin, une conclusion générale résume les principaux résultats obtenus et propose des perspectives de recherche

Chapitre I

GENERALITES

1-POLLUTION MARINE

1-1 POLLUTION DE LA MER MÉDITERRANÉE

La mer Méditerranée est une mer semi-fermée qui agit comme une zone de transit stratégique pour les navires, ce qui la rend vulnérable à la pollution et aux risques environnementaux (Boukhmis Ounassa, 2021). Occupant environ 0,8 % des eaux du globe, cette mer intercontinentale est située entre l'Europe, l'Afrique du Nord et l'Asie de l'Ouest (Benmakhlouf, 2020).

1-2 MÉTAUX LOURDS

Les métaux lourds sont naturellement présents dans l'environnement, mais les activités industrielles et urbaines ont augmenté la contamination dans les milieux marins, avec des conséquences néfastes sur les écosystèmes marins. Certains métaux, comme le mercure, le cuivre et le plomb, sont toxiques au-delà d'un certain seuil de biodisponibilité, perturbant ainsi les écosystèmes aquatiques (Ahdy *et al*, 2009).

1-3 HYDROCARBURES

La pollution par les hydrocarbures peut persister pendant de nombreuses années dans l'environnement marin, en fonction du type et de la localisation des déversements. L'Algérie, en tant que l'un des principaux producteurs de pétrole en Afrique, constitue une source potentielle de pollution pétrolière dans le bassin occidental de la mer Méditerranée (Angla *et al*, 2019).

1-4 POLLUTION PLASTIQUE

Les microplastiques sont désormais omniprésents dans la mer Méditerranée, représentant une menace sérieuse pour l'écosystème marin en raison de leur capacité à s'accumuler dans la chaîne alimentaire (Andrady, 2017).

1-5 ORGANIQUES

Les organiques, principalement issues du transport maritime et des eaux usées, constituent une préoccupation majeure pour l'écosystème marin de la mer Méditerranée. Elles peuvent persister dans l'environnement, se propager sur de longues distances et s'accumuler dans la

chaîne alimentaire, présentant ainsi un risque toxique pour les organismes marins (Jacek, 1999).

2-Biomarqueurs de pollution

2.1 Définition d'un biomarqueur

Les biomarqueurs sont des paramètres biochimiques, cellulaires, physiologiques ou comportementaux qui peuvent être mesurés dans les tissus ou les fluides d'un organisme, ou sur l'organisme entier, pour démontrer l'exposition ou les effets d'un ou plusieurs contaminants (Jeanne *et al*, 2010)

2.2 Stress oxydant et biomarqueurs

Le stress oxydatif se produit lorsque la production de molécules appelées espèces réactives de l'oxygène (ROS) dépasse la capacité des systèmes biologiques à les détoxifier ou à réparer les dommages qu'ils causent au niveau cellulaire et moléculaire. Les écotoxicologues utilisent généralement deux méthodes pour évaluer le stress oxydatif intracellulaire, en mesurant les composants du système P450 et les modifications de glutathion (Parling, 2016).

2.3 Biomarqueurs de stress

L'utilisation de biomarqueurs est essentielle pour le suivi biologique du secteur aquatique et permet d'évaluer l'impact croissant des polluants sur *Paracentrotus lividus*. L'impact des polluants sur les écosystèmes marins est déterminé par des paramètres biochimiques tels que la catalase (CAT) et la glutathion S-transférase (GST), ainsi que par la quantité de produit de peroxydation lipidique, le malondialdéhyde (MDA) et la teneur en hydrogène.

Les biomarqueurs du stress oxydatif sont largement utilisés dans les milieux marins car le peroxyde (H_2O_2) présent dans les tissus des organismes est un bon indicateur du degré de stress oxydatif (El idrissi *et al*, 2023).

2.3.1 Glutathion (GSH)

Le glutathion (GSH) est un tripeptide sulfhydryle essentiel présent en concentrations millimolaires dans les cellules. Il agit comme un antioxydant, aide à maintenir l'équilibre rédox des thiols cellulaires et peut jouer un rôle dans la régulation du cycle cellulaire. Bien que l'oxydation du GSH puisse neutraliser les radicaux libres, une diminution de sa

concentration peut être nocive et précède souvent des dommages cellulaires induits chimiquement. Le partage du GSH entre des cellules reliées par des jonctions lacunaires peut limiter les dommages causés par les radicaux libres, en particulier dans les cellules défectueuses dans la synthèse ou le maintien de l'équilibre rédox du GSH (Barhoumi *et al*, 1993).

2.3.2 Glutathion -S-transférase (GST)

La GST est une enzyme de détoxification de phase II bien connue qui favorise la liaison du glutathion aux xénobiotiques et aux substances endogènes. Il joue également un rôle important dans la protection contre la peroxydation lipidique. Certains composés, tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les biphényles polychlorés (PCB) et le phénobarbital, peuvent stimuler l'activité de ces enzymes chez l'invertébré *Paracentrotus lividus*. Les invertébrés sont souvent utilisés comme indicateurs biologiques de la santé environnementale (Cunha, 2005).

2.3.3 Catalase (CAT)

Le biomarqueur de catalase est utilisé pour évaluer les effets du stress oxydatif et des polluants. Des études ont montré que l'activité catalase augmente de manière significative en réponse à la pollution et au stress environnemental, indiquant un déséquilibre oxydatif. Ces indicateurs sont importants pour évaluer l'impact des activités humaines et des espèces envahissantes sur ces espèces marines (Bellas *et al*, 2022).

2.3.4 Malondialdéhyde (MDA)

La teneur en malondialdéhyde (MDA) dans les tissus biologiques est un bon indicateur de l'activité oxydative. Il est l'un des produits finaux de la peroxydation lipidique. Le MDA est le résultat de l'oxydation radicalaire des acides gras polyinsaturés par les espèces réactives de

l'oxygène (ERO). Il est largement utilisés chez *Paracentrotus lividus* comme biomarqueur de stress (El idrissi *et al*, 2023).

1. Description de l'espèce étudiée: *Paracentrotus lividus*

Les oursins appartiennent au phylum des échinodermes, qui comprend cinq classes: Echinoidea, Asteroidea, Holothuroidea, Crinoidea et Ophiuroidea (Sylvain Couvray, 2016). Leur importance réside dans leur rôle crucial en tant que régulateurs majeurs des écosystèmes marins. En se nourrissant d'algues, ils contrôlent la quantité d'algues au fond des océans, contribuant ainsi à maintenir l'équilibre de l'écosystème. De plus, les oursins jouent un rôle essentiel dans la conservation de la biodiversité marine et la stabilité des écosystèmes côtiers. Ils constituent également une source alimentaire importante dans certaines régions côtières et sont consommés comme une source alimentaire ayant une grande valeur culturelle (Noélia *et al*, 2021).

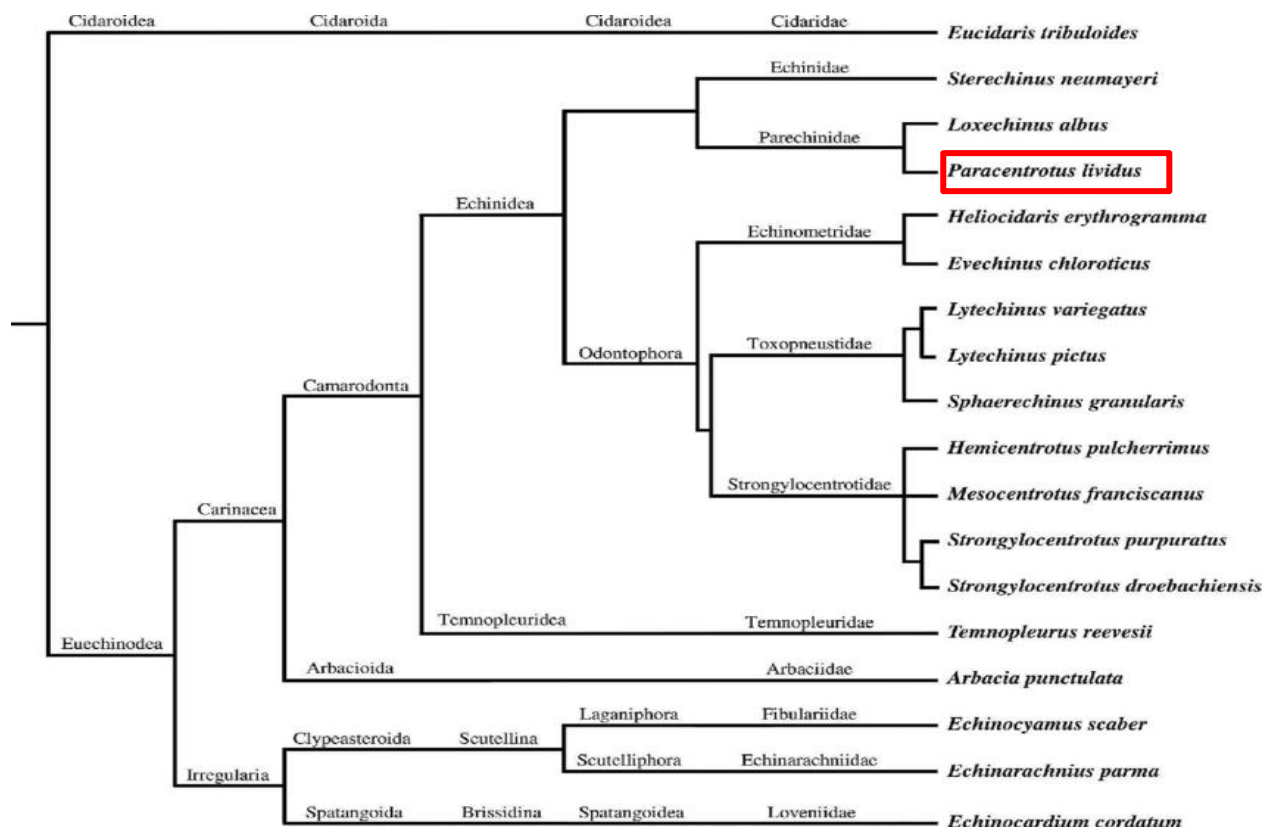


Figure 01: Arbre phylogénétique de *Paracentrotus lividus*(**Florian et al,2022**)

3.1 Toxonomie

Régne: Animal

Embranchement : Échinodermes

Sous-embranchement : Échinozoaires

Classe : Échinoidées

Sous-classe : Echinoidea

Ordre : Camarodonta

Famille : Parchinidés

Genre : Paracentrotus

Espèce : *Paracentrotus lividus* (www.marinespecies.org)



Figure 02: Espèce *Paracentrodus lividus* (<https://stock.adabe.com>)

3.2 Répartition géographique

Paracentrotus lividus est une espèce largement répandue en Méditerranée et dans l'Atlantique



Nord-est, de l'Écosse au sud du Maroc, ainsi qu'aux îles Canaries et aux Açores. On peut la trouver dans la zone intertidale jusqu'à une profondeur de -80 mètres. La densité de cette espèce diminue avec la profondeur, les densités les plus élevées étant observées entre 0 et 10 mètres (**Hermas *et al*, 2018**).

Figure 03: Distribution Géographique *paracentrotus lividus* (rouge) (www.seafibase.se)

3.3 Description physique

En général, dans leur environnement naturel, les oursins réguliers ont un test (coquille) avec une taille moyenne allant de 5 à 8 cm, en excluant les piquants. Leur test est peu élevé, rond et plat sur la face inférieure, avec des piquants mobiles pouvant mesurer jusqu'à 3 cm de long. Comme beaucoup d'échinodermes, ils présentent une variété de couleurs, allant du blanc au violet en passant par le vert. Cependant, leur capacité de régénération est limitée (**Noelle *et al*, 2014**)

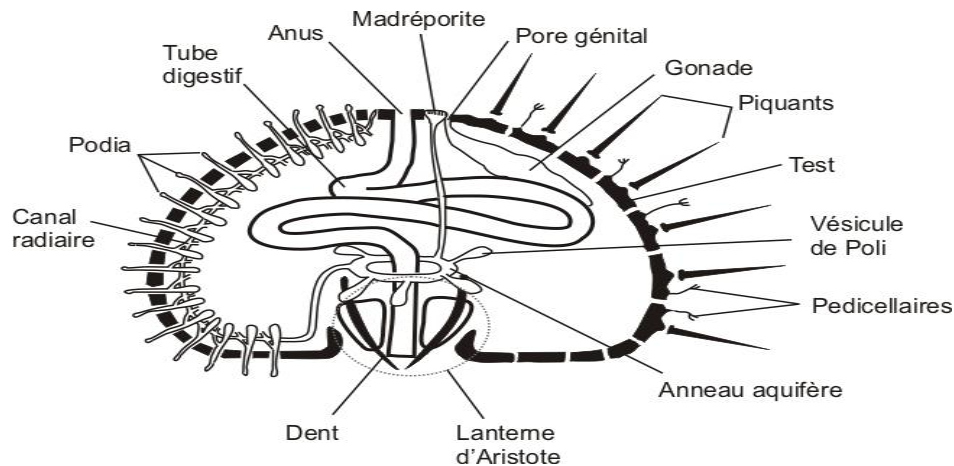


Figure 04 : Morphologie interne et externe de l'oursin *Paracentrotus Lividus* (Germazi, 2018)

3.4 Habitat et alimentation

Dans la Méditerranée, on observe souvent l'oursin *Paracentrotus lividus* dans les habitats rocheux peu profonds ainsi que dans les prairies marines de *Posidonia oceanica*, où il se réfugie parmi les rhizomes et les pousses. Dans les zones rocheuses, il se nourrit principalement d'algues, tandis que dans les prairies de *P. Oceanica*, son régime alimentaire est composé d'épiphytes présents le long des feuilles. Les densités d'individus sont généralement plus élevées dans les zones rocheuses, tandis que la taille moyenne des oursins est plus grande dans les prairies marines, où environ 70% des individus atteignent un diamètre de 60 mm. Les facteurs qui influent sur cette répartition et les déplacements entre les habitats comprennent la densité d'oursins, la disponibilité de nourriture et la présence de prédateurs, ce qui entraîne une activité accrue la nuit pour éviter les prédateurs diurnes. Des déplacements sur de courtes distances vers les prairies marines ont été observés chez les oursins de différentes tailles (Stefannia *et al*, 2012).

3.5 Écologie

Paracentrotus lividus est souvent trouvé dans des régions où la température de l'eau oscille entre 10 et 15 degrés Celsius en hiver et entre 18 et 25 degrés Celsius en été (Charles, 2013).

Chapitre II

MATERIEL

ET METHODE

1-Présentation de la zone d'étude

La présente étude porte sur deux sites qui diffèrent par leurs sources de pollution, le port d'Oran ainsi que la plage de Madrid. L'échantillonnage des oursins sont réalisées sur ces deux sites pendant les mois de Février à Mars 2024. La représentation graphique ci-dessous illustre la position géographique des deux sites étudiés.

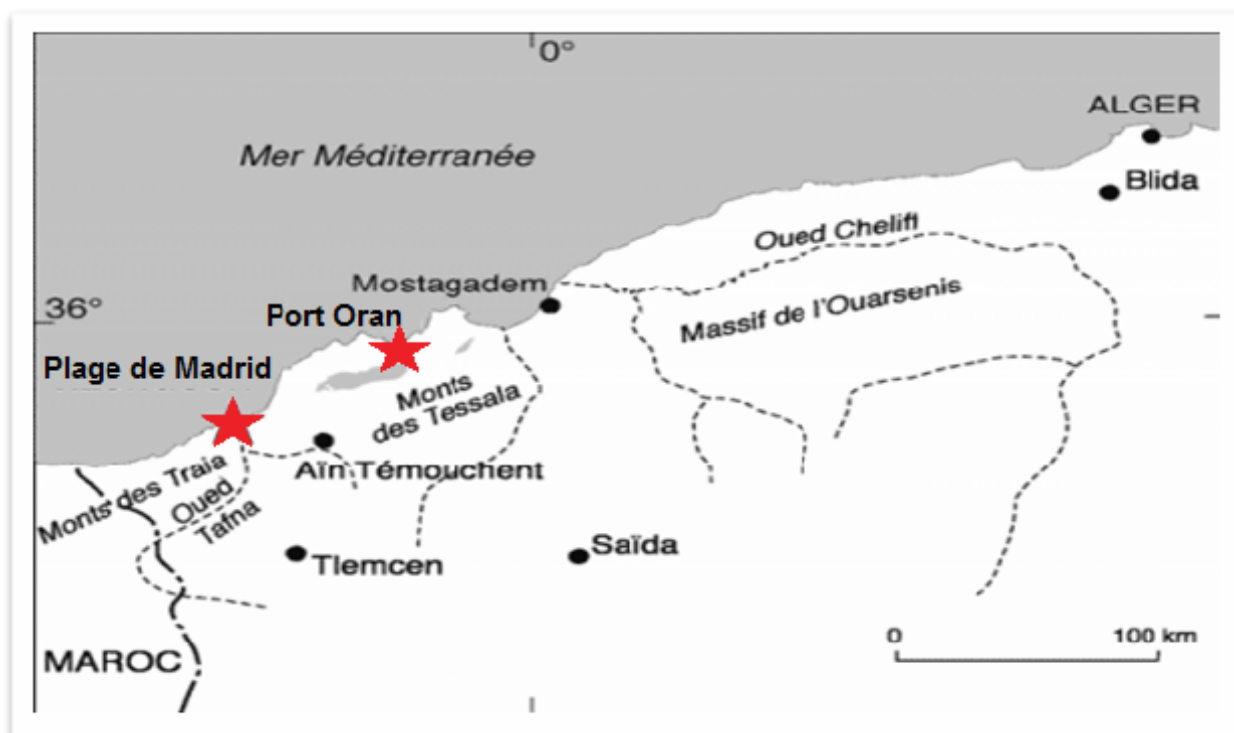


Figure 05 : Carte géographique de la zone d'étude.

1-1 Situation géographique de la ville d'Aïn Témouchent

La wilaya d'Aïn Témouchent dans sa région constitue un avantage considérable pour son avenir. Sur le plan régional, Aïn Témouchent fait partie de la région Nord-Ouest du pays. Elle se situe à la croisée de trois grandes villes de l'ouest, Tlemcen, Oran et Sidi Bel Abbès, elle se trouve à une isochrone de 60' et à une centaine de kilomètres de la frontière marocaine. Elle se trouve dans l'arrière-pays d'une côte industrialisée située entre Oran, la zone de Hassi et Arzew. Au niveau administratif, Aïn Témouchent couvre une superficie de 2.376 km² avec un fond de mer de 80 km.

La wilaya est bordée au Nord par la mer Méditerranée, au Sud-Est par la wilaya de Tlemcen et à l'Ouest par la wilaya d'Oran ; la wilaya de Sidi Bel Abbès au Sud.

1-1-1.Plage de Madrid

La plage de Madrid se trouve dans la mer méditerranée et occupe la 9ème position sur 19 plages. Elle se trouve à 29.1mk de centre de la région d'Aïn Témouchent. Il s'agit d'une des plages de Rachgoun, située à seulement 0,5 km du centre.

La commune est bordée par la mer Méditerranée au Nord.

À l'Est, la municipalité de Sid Safi.

Au sud, Rechgoun.

Au Sud, à Oualana.



Figure 06 : Plage de Madrid (Vitamine .dz. Com).

1-2 Port d'Oran

Le port d'Oran occupe la deuxième place en tant que port commercial et le premier port à passagers; l'accès au port est facilité grâce aux réseaux routiers et ferroviaires reliés à l'hinterland; il possède 33 postes à quai qui peuvent accueillir des navires de 220 mètres de long avec des cargaisons de 40 000 tonnes à moins de 12 mètres. Le port d'Oran est situé entre la pointe de l'Aumône à l'ouest et le Cap Blanc à l'est. Il est construit avant 1962, il se trouve à l'ouest d'Alger.

Au nord se trouve la jetée du large, longue de 2827 mètres, et à l'est, une autre jetée de 519 mètres de longueur qui sa source à 190 mètres de l'extrémité de la jetée du large.

La ville d'Oran compte 11 émissaires urbains, dont les trois principaux se trouvent à l'est et à l'ouest du port :

- À l'ouest, le représentant du fort Liamone se trouve à l'extérieur du port d'Oran. Selon une communication orale des services d'assainissement de la direction d'hydraulique d'Oran, l'évacuation des rejets oranais par l'émissaire de la cheminée du petit lac et le collecteur de ceinture du centre-ville et Oran Est représenté environ 80% des rejets oranais. Le port contient 8 émissaires provenant de la ville d'Oran et de faible importance, qui se déversent dans les différents bassins du port (bassin de Mostaganem : un rejet très important, bassin de Ténès et bassin de Bejaia). Par conséquent, les eaux portuaires qui s'évacuent par la passe vers la baie d'Oran peuvent être considérées comme une source de pollution. Les eaux usées domestiques constituent principalement ces rejets, qui se terminent par des petits ruisseaux qui se déversent sur les plages environnantes, que ce soit à l'Ouest de Mers el-Kébir ou à l'Est du port d'Oran. Il existe également d'autres sources de rejets d'eaux usées dans les ports de Mers el-Kébir et Kristel.



Figure 07 : Port d'Oran (photo originale)

2-Méthodologie

2-1 Echantillonnage

Pour cette étude, nous avons sélectionné deux sites différents, le port d'Oran et la plage de Madrid. Des échantillons de la population de *Paracentratus Lividus* ont été collectés d'une

manière aléatoire dans ces deux sites afin de mener des analyses biochimiques sur les biomarqueurs de stress oxydant et les caractéristiques physico-chimiques de l'eau. Le tableau 01 résume la description des sites étudiés au moment de l'échantillonnage.

Tableau 01 : Description des sites étudiés

ZONE	DATE	HEUR	CLIMAT	Etat de la mer	Température (C°)
Plage de Madrid	21.02.2024	10 :00	Journée ensoleillée	Calme	16
Port d'Oran	22.03.2024	13 :00	Journée nuageux	Troublé	12

2-1-1 Prélèvement des échantillons d'eau de mer

Au niveau de chaque station, une bouteille en verre ambrée d'une capacité d'un litre est prélevée, les bouteilles sont remplies jusqu'au bord et le bouchon est placé de telle façon qu'il n'y ait aucune bulle d'air (**Rodier et al., 1978**). Les échantillons sont numérotés, étiquetés puis transportés à l'obscurité et à basse température ($\approx 4\text{ °C}$) dans des glacières.

2-2 Matériel biologique

Au niveau de chaque station, les oursins ont été récoltés en plongée et manuellement à l'aide d'un couteau. Les oursins récoltés ont été triés à l'aide d'un pied à coulisse, seuls les individus ayant une taille de 50 mm (taille minimale marchande de l'oursin) sont prélevés, rincés délicatement à l'eau de mer puis transporter au laboratoire dans des bidons remplis d'eau de mer oxygénée.



Figure 08 : méthode d'échantillonnage des oursins (Photo originale)

Une mesure linéaire des paramètres à l'aide d'un pied à coulisse avec une précision de 1/20mm.

-Le diamètre de l'échantillon (D) avec piquants.

- La hauteur de l'échantillon (H) avec piquants.

-Le poids total des oursins (P): On utilise une balance de précision qui permet de peser les oursins frais directement après leur collecte.



Figure 9 : Méthode de mesure de l'oursin par le pied de coulisse (Photo originale)

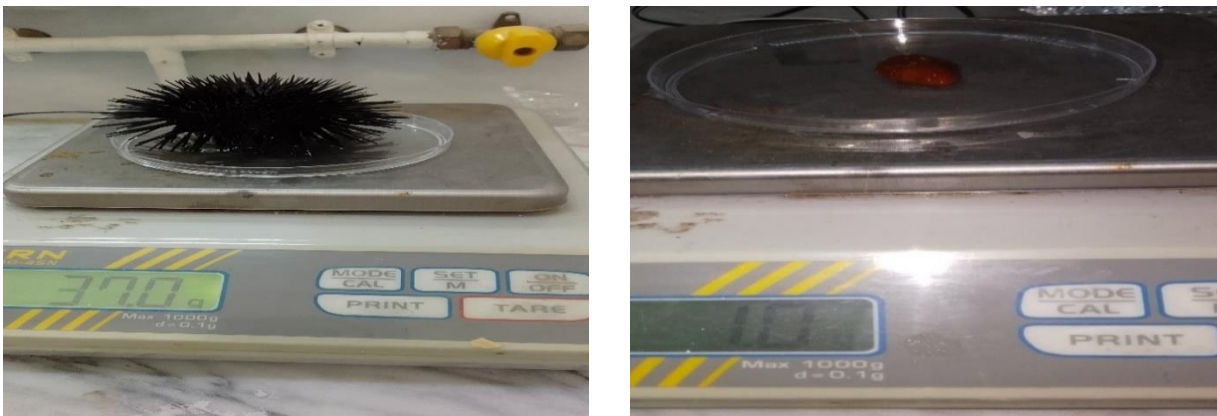


Figure 10 : Poids d'Oursins (1 : Poids de l'oursin ; 2 : Masse des gonades) (Photo originale)

2-2-1 Dissection des Oursins :

On peut procéder à la dissection des oursins en respectant les étapes suivantes :

-Le nettoyage des oursins :

consiste à nettoyer l'oursin avec l'eau de mer de site pour éliminer toute impureté.

-Ouverture d'Oursins :

Pour ouvrir les oursins, il est possible d'utiliser un couteau ou un outil spécialisé pour frapper le levier sur la charnière de l'oursin. Il convient de veiller à ne pas causer de dommages aux tissus internes de l'oursin.

-Retrait des gonades :

Après avoir ouvert l'oursin, il est possible de retirer les gonades de l'oursin en utilisant une cuillère ou un outil spécialisé. Toutes les gonades de l'oursin doivent être retirées, y compris les parties attachées à l'oursin.



Figure 11 : Dissection des oursins (Photo originale)

2-3 Analyses physico-chimiques

Les analyses ont été réalisées dans les 24 heures qui ont suivi le prélèvement pour éviter toute modification des paramètres physico-chimiques.

- **Température**

La détermination de la température est faite au laboratoire à l'aide d'un thermomètre incorporé à l'oxymétrie étalonné avant chaque manipulation. On lit directement la température exprimée Celsius (°C) (Kassem, 2005).

- **pH**

Le pH de l'eau a été mesuré au laboratoire par la méthode électrique à l'aide d'un pH-mètre de marque **METTLER TOLEDO**.

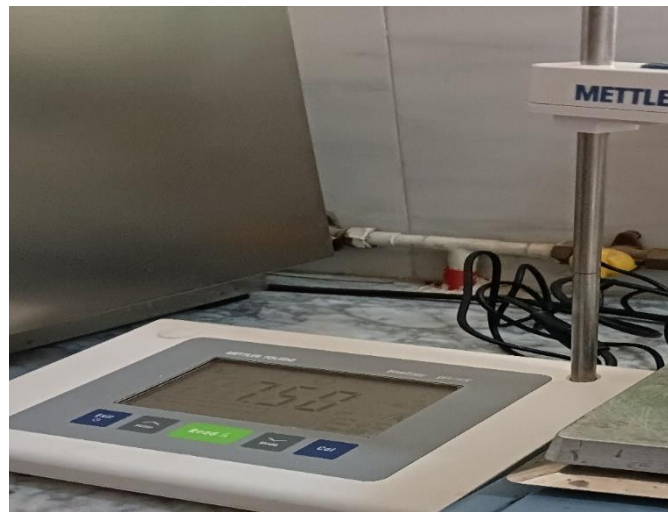


Figure 12 :PH mètre (*METTLER TOLEDO.*) (Photo originale)

- **Salinité**

La salinité de l'eau marine est définie comme la quantité totale de substances dissoutes dans un kilogramme d'eau marine. On obtient cette masse en substituant les ions bromure et iodure par leur équivalent de chlorure, en transformant les carbonates en oxydes et en oxydant toute la matière organique qui y est présente. Cependant, cette définition n'est pas généralement utilisée (**Sorensen, 1902**), ce qui a entraîné l'utilisation de la notion de chlorite, qui repose sur la proportionnalité entre les principaux composants du sel de l'eau de mer (**Dittmardés, 1884**). Le chlorure constitue 55% de la salinité et peut être mesuré de manière précise en routine à l'aide d'une argentimétrie. Afin d'éviter que la valeur de la chlorite ne soit influencée par les déterminations successives des masses atomiques de l'argent et du chlore, la chlorite était alors convertie en salinité selon la formule suivante :

$$S\% = 1,80655 \times CI$$

Cette nouvelle formule correspondait à l'expression précédente concernant la salinité de 35000. La salinité joue un rôle essentiel dans les environnements marins et est généralement liée à la mesure de la température. Les différentes étapes de titrage de la salinité sont expliquées dans les annexes.

- **Conductivité électrique**

Le terme "conductivité" désigne la capacité de l'eau de mer à conduire l'électricité en raison de la présence de sels dissous. La présence de sels tels que le sodium, le chlorure, le magnésium et le calcium exerce une influence sur elle, car ils se dissocient en ions chargés électriquement. Grâce à cette dissociation, l'eau de mer est capable de transporter de l'électricité (Millerot, 2006 ; UNESCO, 2010). On mesure la conductivité en micro siemens par centimètre (S/cm). Elle est réalisée en utilisant un conductimètre.



Figure 13 : Conductimètre (Hanna) (Photo originale)

- **Oxygène dissous**

Les échantillons contiennent de l'oxygène dissous, ce qui est mesuré par oxymétrie. L'eau de mer à tester est versée dans un bécher, l'électrode est plongée dans le bécher et on attend la stabilisation de l'appareil. On lit directement la valeur, après chaque lecture, l'électrode est rincée avec de l'eau distillée.



Figure 14 : Oxymètres (Photo originale)

- **Matière en suspension (MES)**

La filtration est une technique simple et couramment employée pour évaluer la concentration de matière en suspension (MES) dans l'eau. L'objectif de cette méthode est de retenir toutes les particules de plus de 0,45mm à travers un filtre. Ensuite, le filtre est séché et pesé à la fois avant et après sa filtration. Selon **Kumar&Puri(2020)**, la différence de poids entre les deux pesées (p_1 , p_2) permet de calculer la masse sèche totale de la matière en suspension dans le volume d'eau correspondant.

Cette méthode nécessite l'utilisation d'un papier filtre de type wattman GF/C de 47mm de diamètre. En premier lieu, le filtre est mis dans une étuve à une température de 100-105°C pendant 24 heures afin de renforcer sa rigidité et sa solidité. Par la suite, le fil vide (P_1 en mg) est pesé.

Par la suite, le filtre est placé dans un dispositif de filtration et 250ml d'échantillon est versé. Une fois que le filtre est retiré, il est repositionné dans l'étuve à une température de 105°C pendant 24 heures afin de le sécher. Après la filtration, le filtre est pesé (P_2 en mg). On calcule la concentration de MES en se basant sur l'expression suivante :

$$\text{MES (mg/l)} = (P_2 - P_1) / V$$

Étant donné que :

MES : représente la matière en suspension en mg/l

P₁ : est le poids du filtre sec avant filtration en g

P_2 : est le poids du filtre sec après filtration en g

V : est le volume d'eau filtré en ml.



Figure 15 : Appareil de dosage MES (Photo originale)

- **Demande d'oxygène biochimique (DBO)**

La DBO (Demande Biochimique en Oxygène) est une méthode qui permet de comparer la quantité d'oxygène consommée par les micro-organismes lors de la dégradation de la matière organique dans un échantillon d'eau à celle consommée dans un échantillon témoin qui ne contient pas de matière organique. La mesure de la concentration en oxygène dissous dans l'eau est effectuée à deux moments distincts : au début de l'incubation (t_0) et après 5 jours (t_5) (APHA, 2017).

➤ Les étapes suivantes sont incluses dans le protocole de mesure de la DBO :

- Collecter un échantillon d'eau à analyser ainsi qu'un échantillon témoin, qui servira à évaluer la concentration initiale d'oxygène dissous (d_0).
- Après une incubation de 5 jours à 20°C dans l'obscurité, on évalue la concentration d'oxygène dissous (d_5) dans les deux échantillons en utilisant une sonde de mesure d'oxygène.

- Évaluer la DBO en se basant sur l'équation ci-dessous :

$$DBO = F (T_0 - T_5) - (F - 1) (D_0 - D_5)$$

Où :

T_0 : est la concentration initiale d'oxygène dissous dans l'échantillon à analyser (en mg/l)

T_5 : est la concentration d'oxygène dissous dans l'échantillon à analyser après 5 jours d'incubation (en mg/l)

D_0 : est la Concentration initiale d'oxygène dissous dans l'échantillon témoin (en mg/l)

D_5 : est concentration d'oxygène dissous dans l'échantillon témoin après 5 jours d'incubation (en mg/l).

F : est un facteur de dilution qui permet de corriger la concentration initiale d'oxygène dissous dans l'échantillon à analyser en fonction de sa dilution éventuelle.

Il convient de souligner que la DBO est une méthode indirecte pour évaluer la qualité de l'eau, car elle ne permet pas de mesurer directement la concentration de matière organique dans l'échantillon. Toutefois, la DBO est couramment employée en tant qu'indicateur de pollution organique des eaux, car elle permet de mesurer l'activité biologique présente dans l'échantillon et ainsi d'évaluer la quantité de matière organique biodégradable présente (APHA, 2017).

2-4 Analyses biochimiques

2-4-1 Évaluation des biomarqueurs

- Préparer les surnageants

Afin de préparer les surnageants, nous avons préparé quatre tampons différents. Le tampon phosphate à 0.1M (pH=6.5) a été utilisé pour mesurer les protéines, le GST, le GSH et le tampon phosphate à 0.1M (pH=7.5) a été utilisé pour mesurer la catalase. Les mesures ont été mesurées dans la section S9. Afin d'accomplir cela, nous avons préalablement écrasé 1g de tissu (glande digestive) dans 3ml d'une solution tampon appropriée. Une fois que le mélange homogène a été écrasé, il a été placé dans une centrifugeuse à 9000g pendant 20 minutes à une température de 4°C. Les échantillons liquides obtenus ont été distribués dans des tubes Eppendorf et conservés à une température de -20°C jusqu'à la date de l'analyse.

2-4-1-1 Dosage des protéines

Pour estimer la quantité de protéine, nous allons utiliser la méthode de Bradford. Il est courant d'utiliser la méthode de Bradford pour évaluer la densité de protéines dans un échantillon. Le principe de cette méthode est basé sur une réaction colorimétrique entre les protéines et le colorant de Bradford, ce qui génère une coloration bleue distinctive en présence de protéine (Bradford ,1976).

On considère que la méthode de Bradford est rapide, simple et peu coûteuse pour évaluer la concentration de protéines dans des échantillons biologiques tels que les extraits de tissus, les surnageants de culture cellulaire, les liquides biologiques, etc. Différentes recherches ont prouvé l'efficacité de cette approche dans différents domaines, comme la recherche biomédicale, la microbiologie et la biotechnologie (**Waheb & Fatima, 2016**).

Voici comment effectuer le dosage des protéines :

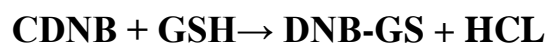
En diluant la solution d'albumine de sérum bovin (BSA) à différentes concentrations (0 ;0,1 ;0,2 ;0,4 ;0,6 ;0,8 et 1 mg/l), on peut préparer une variété de protéines standard. Afin d'évaluer la quantité de protéines présentes dans un échantillon, on utilise la méthode du réactif de Bradford pour ceci.

En Eppendorf, il est nécessaire de mélanger 799 μ l d' H_2O +1 μ l d'échantillon avec 200 μ l de réactif Bradford.

Après avoir incubé pendant 5 minutes, le mélange est placé dans un récipient spécialement conçu pour le spectrophotomètre et la densité optique (DO) est évaluée à une longueur d'onde de 595nm. Les conjonctions protéine-réactif de Bradford permettent l'absorption de la lumière grâce à cette lecture de la DO.

2-4-1-2 Dosage de la glutathion S-transférase (GST)

La méthode colorimétrique de **Haig et ses collègues (1974)** a été employée afin de mesurer l'activité de la glutathion S-transférase (GST). La conjugaison du substrat 1-chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB) avec le glutathion réduit (GSH) est le résultat de cette réaction chimique, qui est catalysée par l'enzyme glutathion S-transférase (GST). Au cours de cette réaction, le glutathion S (2,4-dinitrophényl) (DNB-GS) est produit, avec la libération d'acide chlorhydrique (HCL). La méthode consiste à préparer une solution de substrat CDNB, une solution de GSH, à incuber l'échantillon de protéine avec les deux solutions précédentes et à arrêter la réaction avec du méthanol.



On a mesuré l'absorbance en 340nm pendant 2 minutes à un intervalle de 30 secondes, en utilisant une solution qui ne contient pas l'échantillon à doser (blanc). Grâce à cette mesure, il est possible d'évaluer l'efficacité de la GST, qui est réduite en fonction de la quantité de

protéines présentes dans l'échantillon, en unités de mol par minute par milligramme de protéine.

On calcule cette efficacité en se basant sur une formule spécifique pour cette évaluation.

$$A_S = \frac{\Delta DO / \text{min} \times V_t \times F}{\epsilon \times L \times V_s \times c \text{ protéines}}$$

Où :

A_S : Activité spécifique (nmol de CDNB conjugué formé/minute/mg de protéines)

ΔDO/min : est la différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat, mesurée en unités de

V_T : est volume total ou est réalisée la mesure, exprimé en millilitre (ml)

V_S : est le volume du surnageant, exprimé en millilitres (ml)

F : est le facteur de dilution

ε : est le coefficient d'extinction molaire du CDNB ($\epsilon=9.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

L : est la longueur de la cuve utilisée, qui est de 1cm

C protéines : est la concentration des protéines, exprimée en milligramme par litre (mg/l).

2-4-1-3 Réduction du glutathion (GSH)

Le dosage de la glutathion réduit (GSH) est effectué en utilisant la méthode décrite par **Weckbecker et Cory (1988)**. On utilise la méthode de dosage pour évaluer la réaction suivante :



On utilise fréquemment la méthode de dosage réduit à l'acide DTNB pour évaluer les niveaux de glutathion dans les échantillons biologiques.

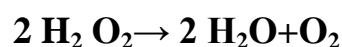
Afin de commencer l'analyse, on prépare et traitement des échantillons de test avec de l'acide sulfosalicylique à 4% afin de faire précipiter les protéines et obtenir le surnageant contenant

du glutathion. Ensuite, on centrifuge ce surnageant à basse température afin d'éliminer les précipitations indésirables. Ensuite, on ajoute à la solution un tampon Tris_HCL à l'EDTA, puis on ajoute le réactif d'Allman, qui interagit avec le glutathion réduit pour former l'acide TNB, ce qui donne une coloration jaune intense.

. Afin de créer une relation quantitative, on élabore une courbe étalon en utilisant des solutions standard de GSH à 6 concentrations différentes (0 ; 20 ;40 ;60 ;80 et 100, mol/ml). Il peut être nécessaire de procéder à des dilutions préalables pour que les valeurs d'absorbance des échantillons soient incluses dans l'intervalle des valeurs d'absorbance de la gamme étalon. L'absorbance est évaluée à une longueur d'onde de 412 nm. Il est possible de lire sur un blanc préparé dans les mêmes conditions en utilisant un tampon Tris-HCL à l'EDTA pour remplacer le surnageant.

2-4-1-4 Catalase

Le dosage de la catalase est effectué en utilisant la méthode décrite par **Saint-Denis (1998)**, qui repose sur la disparition de l'eau oxygénée par catalase selon la réaction suivante :



Le processus de mesure de l'activité particulière de la catalase implique plusieurs étapes distinctes. En premier lieu, on prépare un tampon de phosphate à pH=7,5. Par la suite, on réalise un mélange en mélangeant le tampon phosphate, l'eau oxygénée et un échantillon contenant la catalase. On mesure la densité optique de la solution à une longueur d'onde de 240 nm pendant une minute et toutes les 15 secondes. On prépare également un blanc en utilisant uniquement le tampon phosphate. En se basant sur les informations collectées, on calcule l'activité particulière de la catalase. Cette approche donne des données quantitatives sur l'efficacité catalytique de la catalase dans la dégradation de l'eau oxygénée sous forme de catalase. La formule suivante permet de calculer l'activité spécifique de la catalase

$$A_s = \frac{\Delta DO / \text{min} \times V_t \times F}{\varepsilon \times L \times V_s \times c \text{ protéines}}$$

Où

A_s : Activité spécifique (μmol de H_2O réduit/minute/mg de protéines).

DO/min : Différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

V_t : Volume totale où est réalisée la mesure.

V_s : Volume du surnageant.

F : Facteur de dilution

ϵ : Coefficient d'extinction molaire du CDNB ($\epsilon=0.04\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

L : Longueur de la cuve utilisée ($L=1\text{cm}$)

C protéine : Concentration des protéines (mg/l)

CHAPITRE III

RESULTATS ET

DISCUSSION

3. Résultats

3. 1 Les analyses physico-chimiques du l'eau de mer

Notre étude consiste à faire une analyse physico-chimique de l'eau de mer des deux sites (plage de Madrid, Port d'Oran).

- **Température**

Les résultats des mesures de la température de l'eau de mer des deux sites sont présentés dans le tableau ci-dessous:

Les sites	Port d'Oran	Plage de Madrid
T (°C)	10.4	21.6

L'analyse de la température sur nos sites de prélèvement a permis d'enregistrer des valeurs comprises entre 10,4 °C et 21,6 °C, restant ainsi dans les normes (Rodier.2009).

- **Potentiel d'hydrogène (pH)**

Les résultats de la mesure du pH de l'eau de mer des deux sites sont regroupés dans le tableau suivant :

Les sites	Port d'Oran	Plage de Madrid
ph	6.9	8.9

Le pH de l'eau de mer enregistre une valeur moindre au port d'Oran (6.9) par rapport au pH de la plage de Madrid qui présente une valeur de 8.9.

- **Salinité**

Les résultats de mesure de salinité de l'eau de mer des deux sites sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Les sites	Port d'Oran	Plage de Madrid
salinite	33.6	34.2

Le pourcentage de salinité ne varie pas considérablement entre les deux sites étudiés.

- **Conductivité**

Le tableau ci-dessous présente les résultats des mesures de la conductivité de l'eau de mer dans les deux sites étudiés.

Les sites	Port d'Oran	Plage de Madrid
Conductivité	42.3	46.7

Les résultats montrent une valeur légèrement élevée de conductivité dans la plage de Madrid (46.7 μ s/cm) par rapport au port d'Oran (42.3 μ s/cm).

- **Oxygène dissous**

Les résultats des mesures de la concentration en oxygène dissous dans l'eau de mer des deux sites étudiés sont regroupés dans le tableau suivant :

Les sites	Port d'Oran	Plage de Madrid
O ₂ (mg/l)	7.7	8

Les résultats de mesure de tau d'oxygène montrent des valeurs légèrement proches pour les deux sites d'études.

- **Matière en suspension (MES)**

Les résultats d'analyse de la matière en suspension de l'eau de mer des deux sites sont montrés dans le tableau ci-dessous :

Les sites	Port d'Oran	Plage de Madrid
MES (mg/l)	47.6	54.3

La concentration de matière en suspension (MES) atteint un pic de (54,3 mg/l) à la plage de Madrid et un minimum de (47,6 mg/l) au port d'Oran.

IV-2 Paramètres biométriques

Les valeurs moyennes des différentes mesures de l'espèce étudiée *P. Lividus* sont présentés dans le tableau 03.

Tableau 3: Mesure des paramètres biométriques de l'espèce *P. Lividus* des deux sites d'études

	Port d'Oran	Plage de Madrid	<i>p-value</i>
	N= 17.	N=8.	
Poids (g)	19.48±5.39	42.13±4.55	0.0001
Diamètre (mm)	35.25±3.34	43.67±2.47	0.0001
Hauteur (mm)	16.91±1.94	23.99±2.03	0.0001

Les différents mesures morpho métriques (poids, diamètre et hauteur) de *P. Lividus* démontrent des valeurs moyennes significativement différente entre les deux sites étudiés, où les valeurs supérieures correspondent à la plage Madrid ($p < 0,001$).

IV-3 Biomarqueur de stress

IV-3-1 Activité spécifique du Catalase

Les résultats de l'activité spécifique du catalase sont présentés dans la figure ci-dessous :

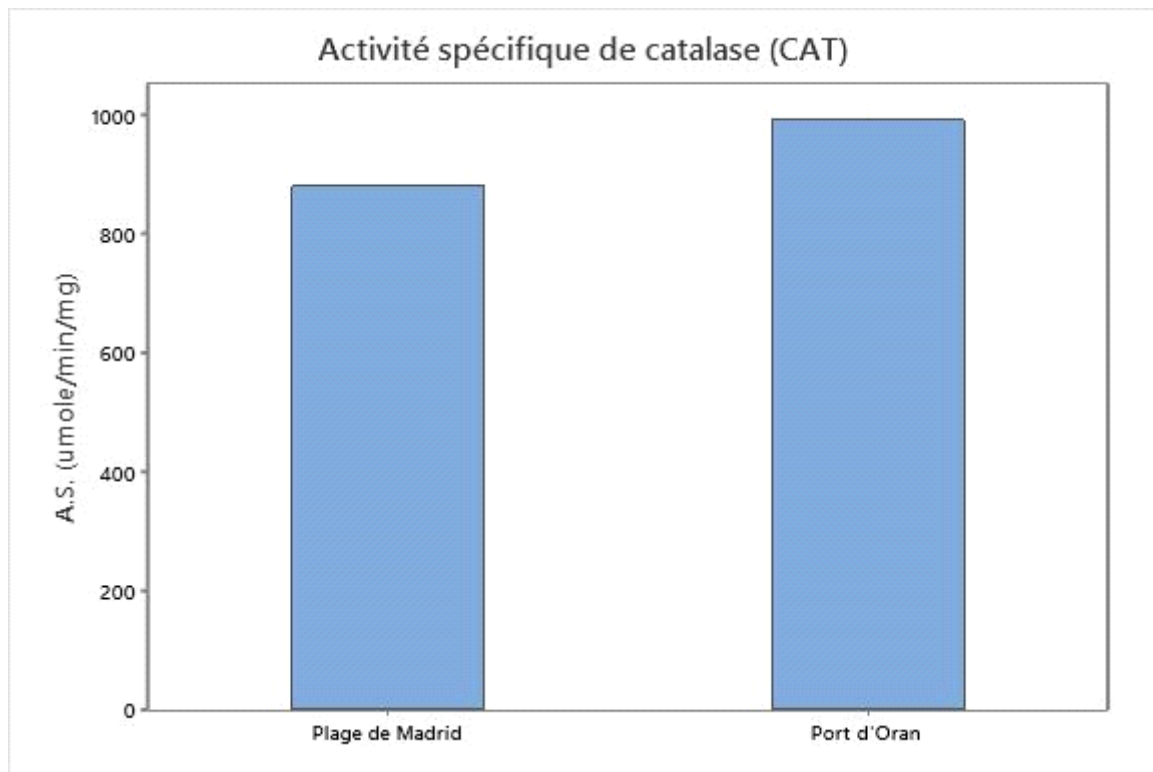


Figure16 : Variation de l'activité spécifique du catalase (CAT)

En termes de valeurs d'activité spécifique, les deux sites étudiés ne présentent pas une variation significative pour la catalase ($p=0.38$). Le site de Port d'Oran affiche la plus haute moyenne, avec des valeurs d'activité spécifique allant jusqu'au $1000 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine.

V-3-2 Activité spécifique du Glutathion S-transférases (GST)

Les résultats de l'activité spécifique du catalase sont présentés dans la figure ci-dessous :

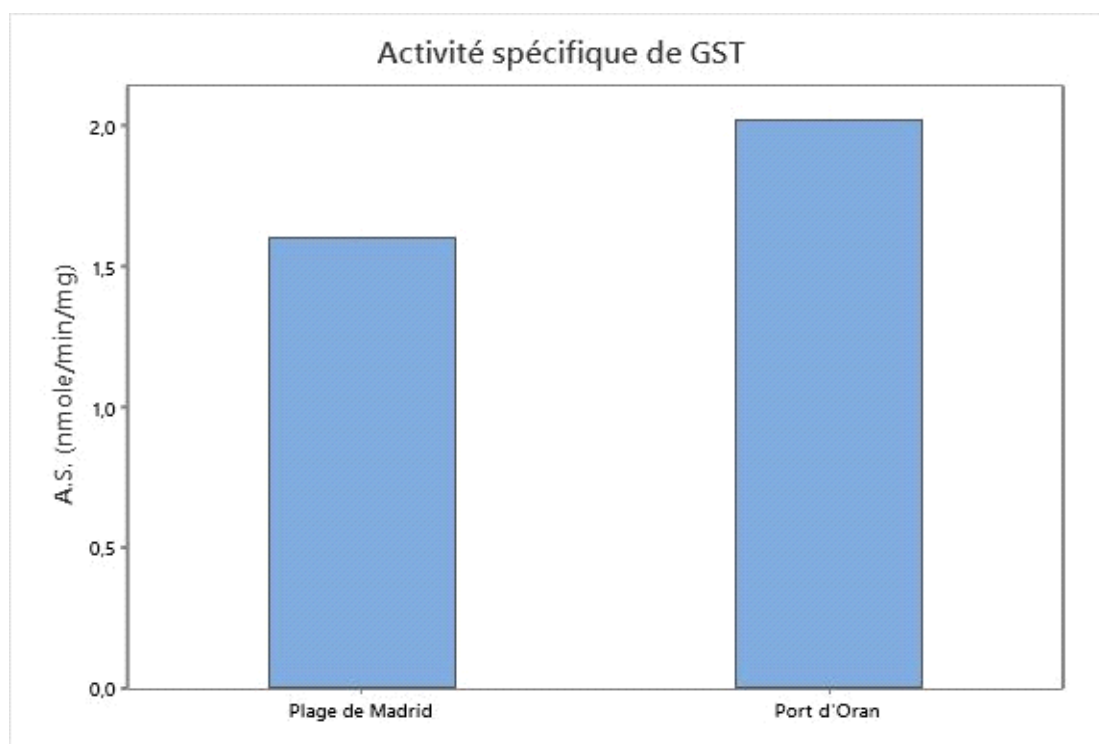


Figure17 : Variation de l'activité spécifique moyenne de GST

Les résultats montrent une variation non significative des niveaux d'activité spécifique de Glutathion S-transférases entre les deux sites étudiés ($p = 0,223$).

En ce qui concerne les valeurs d'activité spécifique du GST, le site de Port d'Oran présente une plage moyenne légèrement élevée allant jusqu'à 1,6 (nmole/min/mg) de protéine. Par contre, le site port d'Oran affiche la plus haute moyenne, avec des valeurs d'activité spécifique allant jusqu'à 2 (nmole/min/mg) de protéine. Ces résultats laissent entendre que le site port d'Oran affiche une activité spécifique modérée par rapport à Madrid en ce qui concerne le GST.

-3-3 Glutathion réduit (GSH)

Les résultats de variation de la concentration de Glutathion réduit (GSH) sont présentés dans la figure ci-dessous :

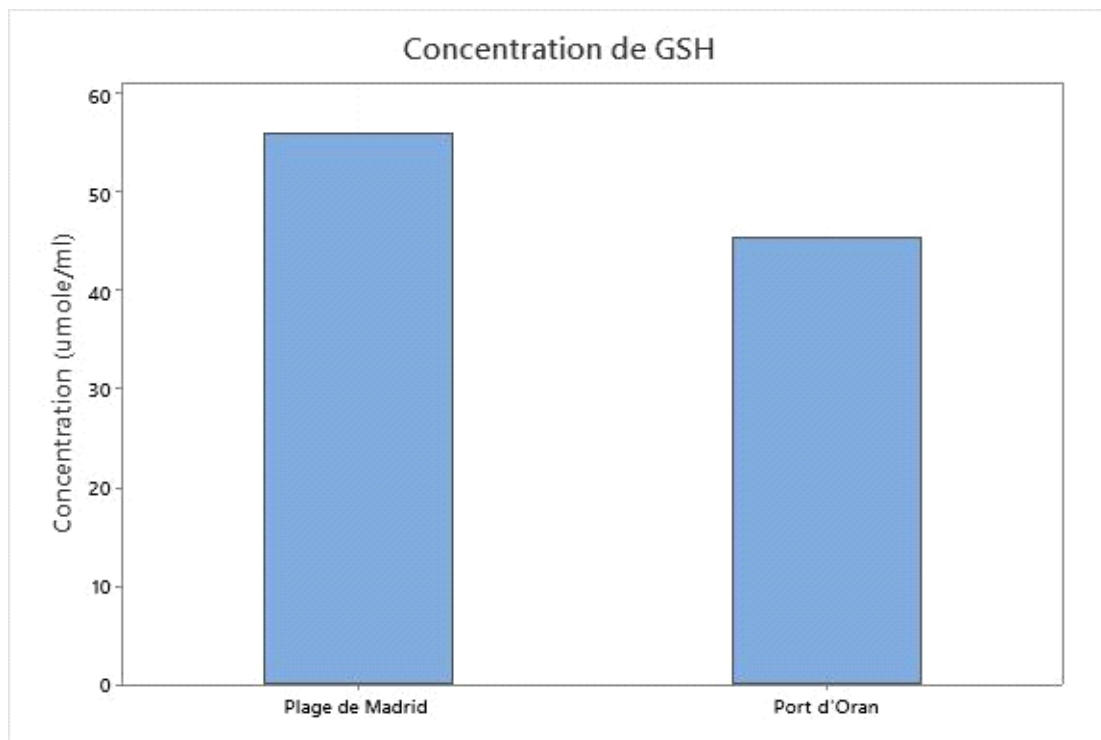


Figure18 : Variation de la concentration moyenne en GSH

Les résultats montrent une variation non significative de la concentration du Glutathion réduit entre les deux sites étudiés ($p = 0,56$, $t = 0,297$).

Les concentrations en GSH révèlent que le site de la plage Madrid présente une moyenne plus élevée, se situant autour de 55 (umole/ml). En revanche, le site du port d'Oran affiche une moyenne légèrement inférieure, avoisinant les 45 (umole/ml).

V-3-4 Concentration des protéines

Les résultats de variation de la concentration des protéines sont présentés dans la figure ci-dessous :

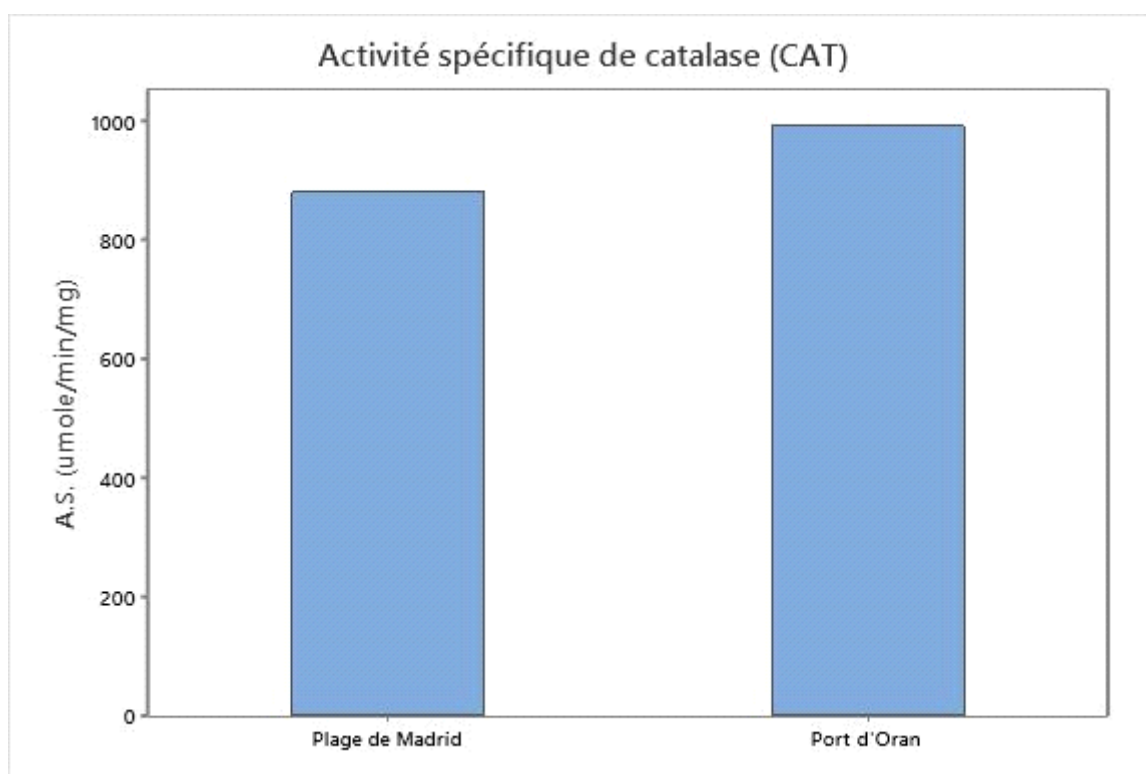


Figure19 : Variation de la concentration moyenne des protéines

Les résultats révèlent une variation non significative de la concentration des protéines chez les individus de deux sites étudiés ($p=0,166$).

Les concentrations moyennes de protéines varient selon les sites étudiés. Au site du port d'Oran, la concentration moyenne est de 0,39 (mg/l) tandis qu'au site de la plage de Madrid, elle est plus élevée, atteignant 0,55 (mg/l). Ces résultats indiquent que le site de la plage Madrid présente des concentrations de protéines potentiellement plus élevées par rapport à celles observées au port d'Oran.

Discussion

générale

Discussion générale

La dispersion des polluants dans l'environnement constitue une préoccupation majeure pour la communauté scientifique depuis de nombreuses années. La prise de conscience croissante de la nécessité de préserver les écosystèmes terrestres et aquatiques a conduit à des questions urgentes concernant la transformation et les effets de ces polluants sur les communautés végétales et animales. Cependant, la compréhension de l'impact de cette pollution est complexe en raison de la multitude de facteurs impliqués, tels que l'état de l'eau, des sédiments, les paramètres physico-chimiques de l'eau et les mouvements d'air.

Paramètre physico-chimiques

Température

De petits changements de température affectent le métabolisme et la physiologie des animaux aquatiques, entraînant des difficultés de croissance, de fécondité, de comportement alimentaire, de répartition, de migration et de population. Ces changements entraînent des changements dans la distribution temporelle, l'activité périodique et les réponses physiologiques des espèces végétales et animales dans les environnements aquatiques et terrestres, ainsi que des déplacements de pôles et une augmentation supplémentaire de la répartition des animaux à sang froid (**Daniel et al., 2020**).

Les températures enregistrées dans la zone d'études semblent être favorables au développement de l'oursin *P. lividus*; ce dernier colonise principalement les régions tempérées où les conditions thermiques fluctuent entre 10 et 15 °C en hiver et 18 et 25 °C en été (**De Casamajor, 2004**). La hausse de la température de l'eau de mer peut induire la ponte chez l'oursin *P. lividus* (**Byrne, 1990 ; Soualili et Guillou, 2009**).

Le pH (Potentiel hydrogène)

Le pH est un indicateur de pollution qui mesure l'état de l'eau. Le pH naturel de l'eau est proche de 7, souvent compris entre 6 et 8. Plus le pH est bas, plus la solution est acide. De nombreux types de poissons et autres organismes aquatiques ne peuvent pas tolérer une eau très acide. Les invertébrés marins sont très sensibles aux variations du pH (**Pane et Barry, 2007 ; Pörtner, 2008**), ce dernier peut limiter l'énergie dirigée vers les processus cellulaires coûteux tels que la synthèse des protéines ce qui entraîne une diminution de la croissance et la

Discussion générale

perturbation du cycle de reproduction (**Seibel et Walsh, 2003**). L'oursin *P. lividus* adulte a une aptitude à réguler la concentration des ions au niveau du fluide extracellulaire (**Stickle et Diehl, 1987**) ce qui leur procure une légère capacité de tamponner le pH de l'eau de mer (**Binyon, 1966 ; Shick, 1983**). D'après ces résultats, le pH de l'eau de mer aux deux endroits

Oxygène dissous O₂

L'oxygène est toujours présent dans l'eau, et ses fluctuations dépendent de plusieurs facteurs (température de l'eau, pression partielle de l'atmosphère, salinité) (**Rodier, 2009**). La limite minimale d'oxygène dissous acceptable pour la plupart des organismes marins est d'environ 4 à 5 mg/l (milligrammes par litre). En dessous de cette valeur, les organismes peuvent rencontrer des difficultés respiratoires, ce qui peut entraîner des effets néfastes sur leur survie et leur reproduction (**CCME, 1999**). Les niveaux enregistrés dans les deux sites de cette étude correspondent à la norme demandée.

Salinite

La salinité de l'eau de mer joue un rôle essentiel dans de nombreux aspects environnementaux et biologiques. Elle influence la densité de l'eau, ainsi que son point de congélation et de solidification. De plus, elle affecte la régulation osmotique des organismes marins. Les écosystèmes marins sont fortement influencés par la salinité, qui détermine la biodiversité et la répartition des espèces marines. Il est important de noter que la salinité varie selon les régions en raison de facteurs tels que l'évaporation, les précipitations, les apports en eau douce et les courants océaniques (**Smyth 2016**). Les oursins sont des organismes généralement considérés comme sténohalins (**Roller et Stickle, 1993**), la diminution de la salinité peut entraîner un ralentissement de la maturation des gonades et une diminution de la croissance (**Basuyaux et al., 1998**). Les résultats obtenus à partir des mesures de la salinité effectués pendant la période d'étude ne montre pas une grande différence entre les deux sites. Ces observations sont en accord avec les travaux réalisés au niveau de la côte Oranaise par **Rouane-Hacene (2013)**, du site de Skikda par **Gueddah (2003)**, et de la baie d'Alger (**Bachari-Houma, 2011**). De même nos résultats sont en accord avec d'autres auteurs tels qu'**Ounissi et al. (2014)** et **Ziouch (2014)** qui rapportent l'existence de fluctuations similaires qui varie entre 23 et 37,9 %.

Conductivité

La conductivité mesure la capacité de l'eau à conduire le courant électrique. Ce paramètre indique la concentration totale d'ions dans l'eau. La plupart des sels dissous dans l'eau se présentent sous forme d'ions (chlorure, nitrate, sodium, calcium, sulfure, etc). Les fluctuations de ces concentrations peuvent affecter le milieu naturel (**Bradall, Minnesota, 1994**).

La conductivité de l'eau est couramment utilisée comme indicateur de sa salinité, qui est la mesure de la quantité de sel dissous. Dans les environnements marins, où la salinité est généralement plus élevée, la conductivité de l'eau sera également plus élevée. Cependant, la norme pour la conductivité de l'eau de mer est de 20 à 60ms/cm (**Reinhard, 2007**). Les résultats trouvés dans notre étude ont été 42,3mS/cm, et 46,7mS/cm au port d'Oran et plage de Madrid respectivement, ce qui montre que les valeurs trouvées sont dans les normes.

MES

Les mesures de la concentration des matières en suspension (MES) dans les eaux marines sont utilisées pour comprendre leurs caractéristiques physiques et chimiques, ainsi que les processus qui se déroulent dans les océans. Les principaux éléments de matière en suspension (MES) dans l'eau de mer en Méditerranée comprennent des particules de sédiments, de la matière organique, des particules biologiques et des particules inorganiques. Ces éléments sont transportés par les courants marins et peuvent provenir de sources naturelles ainsi que d'activités humaines telles que les rejets industriels et les eaux usées. L'OMS et le PNUE ont fixé en 1995 une limite de concentration pour les MES dans les effluents liquides (ménagers, industriels et agricoles) à 35 mg/l. Cependant, les niveaux mesurés dans certains ports méditerranéens dépassent cette norme : au port d'Oran et à la plage de Madrid, les concentrations de MES sont de 47,4 mg/l et 54,3 mg/l respectivement, dépassant légèrement les normes.

Paramètres biométriques

Les oursins de l'espèce *P. lividus* sont largement répandus dans toute la côte algérienne le long des rives de la mer Méditerranée. Ces oursins se distinguent par leur capacité à s'adapter à différents types d'habitats marins, y compris les récifs et les herbiers marins.

Discussion générale

Nous utilisons des mesures biométriques des *P. lividus* pour étudier leurs caractéristiques biologiques ainsi que pour comprendre les changements qui se produisent dans ces espèces au fil du temps.

Les mesures biométriques ont montré une différence significative entre les deux sites, les valeurs de poids, de diamètre de la coquille et de hauteur de la coquille étant beaucoup plus élevées sur la plage de Madrid par rapport au port d'Oran ($p < 0.001$).

Cette différence dans les valeurs des paramètres biométriques entre les deux sites peut s'expliquer par de nombreux facteurs, y compris les différences dans les conditions environnementales. La plage de Madrid offre un environnement plus favorable à la croissance et au développement des *P. lividus* par rapport aux conditions environnementales similaires à Oran, en particulier en termes de température, car les oursins préfèrent une température de l'eau modérée allant de 18 à 24 degrés Celsius, ce qui favorise leur croissance et leur reproduction. La salinité de l'eau, qui se situe entre 35 et 40 parties pour mille, et l'abondance de nourriture, les oursins se nourrissant principalement d'une variété d'algues, renforcent également leur croissance (**Fadi et al., 2009**).

Biomarqueurs de stress

L'évaluation des niveaux de contamination dans un écosystème ne suffit pas à estimer leurs répercussions sur les organismes, les populations et les communautés présentes. Cependant, l'analyse de certains paramètres, regroupés sous le terme de « biomarqueurs », peut grandement contribuer à la compréhension de ces effets (**Depledge et al., 1995 ; Lagadic et al., 1998**).

Catalase

De nombreux scientifiques considèrent la catalase comme un biomarqueur sensible et important du stress oxydatif, elle révèle les effets biologiques de l'état redox des organismes marins (**Regoli et al., 2002a**). L'activité enzymatique de la catalase est fortement influencée par les facteurs environnementaux, qu'ils soient d'origine anthropique ou naturelle (**Pellerin-Massicotte, 1994**). Elle réagit particulièrement à certains contaminants qui induisent un stress oxydatif, tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les polychlorobiphényles, les pesticides (**Livingstone, 1993**) et les métaux lourds (**Labrot et al., 1996**). La catalase joue un rôle crucial chez les oursins en protégeant leurs cellules contre le stress oxydatif. Cette

enzyme décompose le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène, empêchant ainsi les dommages causés par les radicaux libres. Les résultats sont parfois contradictoires *in vivo*, certains auteurs montrent une induction de l'activité (**Di Giulio et al., 1993**), d'autres une inhibition (**Labrot et al., 1996**). Nos résultats obtenus ont indiqué une activité légèrement élevée de la CAT chez les oursins du port d'Oran par rapport à celui de la plage de Madrid, ce qui peut être expliqué comme une réponse transitoire contre la pollution (**Regoli et Principato, 1995**). **Pellerin-Massicotte et al. (1997)** ont observé une induction de l'activité catalase dans un endroit non pollué qui pourrait être dû à un stress physiologique relatif à la répétition de la ponte. Selon ces auteurs, la catalase pourrait être sensible à des variations subtiles des conditions environnementales. Chez *P. lividus* l'induction de l'activité de la CAT est obtenue à partir de la saison printanière, il semblerait que l'activité des enzymes antioxydantes s'intensifie dans les gonades de l'oursin *P. lividus* probablement due à une réponse à la production élevée des ROS en raison d'une forte demande énergétique associée à un investissement reproductif élevé (**Kraffe et al., 2008 ; Gonzalez et al., 2005**).

Glutathion-S-transférase

GST enzyme intracellulaire, démontre une polyvalence remarquable dans son interaction avec divers substrats (**Adewale et Afolayan, 2005**). Son rôle crucial dans la protection cellulaire contre les agents toxiques en fait un biomarqueur privilégié pour évaluer l'exposition à des composés d'origine anthropique (**Park et al., 2009**).

Chez les invertébrés, l'activation de l'activité de la GST dépend de la concentration et de la nature des xénobiotiques dans l'eau de mer (**Stein et al., 1998 ; Boutet et al., 2004**). L'augmentation légère observée de l'activité enzymatique de la GST chez les oursins du port d'Oran suggère une activation du processus de détoxification, reflétant probablement un état de stress élevé (**Louiz et al., 2016**). Des résultats similaires ont été retrouvés chez l'oursin *P. lividus* exposé à des hydrocarbures aromatiques polycycliques (**Cunha et al., 2005**).

Glutathion réduit (GSH)

GSH est un tripeptide thiol (γ -glutamylcystéinyl-glycine) synthétisé de manière endogène, présentant des propriétés biochimiques significatives. Le GSH joue un rôle crucial en tant qu'antioxydant grâce à ses deux fonctions principales :

Discussion générale

1. En présence d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), le thiol du GSH subit une oxydation, conduisant à la formation de glutathion oxydé (GSSG).
2. Le GSH sert de substrat à des enzymes telles que la glutathion peroxydase (GPX), qui utilise le GSH comme agent réducteur pour éliminer les peroxydes (**Franchi et al., 2012**).

Les travaux de **Suteau et al. (1988)** ; **Regoli et Principato (1995)** ont indiqué une diminution du taux du GSH comme réponse générale des mollusques bivalves exposés aux contaminants. Pareillement **Salama et al. (2005)** ont observé une diminution significative de ce tripeptide chez les gastéropodes après traitement aux pesticides.

Les individus du port d'Oran présentent des niveaux bas de GSH. Ils sont exposés à de multiples déversements continus d'origine urbaine, industrielle et portuaire. La diminution des taux de GSH indique une activation des voies de détoxification dépendantes du GSH, visant à réduire les peroxydes en alcools primaires non toxiques. Plusieurs travaux aident à mieux expliquer la relation entre la diminution du taux de GSH et le niveau de contamination du milieu; ceci a été observé par **Gorbi et al. (2008)** chez *M. galloprovincialis* transplantée en mer adriatique et exposée à des sédiments pollués par les ETM, et par **Sifi et al. (2013)** chez *D. trunculus*. Cependant, D'autres travaux ont montré l'augmentation significative du glutathion réduit (GSH) au printemps coïncide avec la période de reproduction, soulignant ainsi l'importance de ce composé dans le processus de défense antioxydante (**Cantú-Medellín et al., 2009**). Il apparaît que l'état physiologique de l'oursin *P. lividus* est fortement perturbé et vulnérable pendant cette période. En effet, le cycle de reproduction semble affecter leur capacité défensive (**Delaporte et al., 2006**).

Concentration des protéines

La concentration des protéines chez les oursins revêt une importance cruciale dans leur physiologie, car les protéines jouent un rôle essentiel dans leur croissance, leur développement et le maintien de leur santé. En tant qu'herbivores se nourrissant principalement d'algues et d'autres matières végétales, les oursins doivent être capables de concentrer les protéines à partir de ces sources alimentaires pour répondre à leurs besoins métaboliques (**Tejada et al., 2013**).

Des études telles que celle de **Lawrence (1975)** ont souligné l'importance des algues dans l'alimentation des oursins et, par conséquent, dans leur apport en protéines. Les résultats de

Discussion générale

cette recherche suggèrent que la disponibilité et la qualité des algues peuvent influencer la concentration des protéines chez les oursins, avec des implications majeures pour leur santé et leur condition physique. Les recherches menées par **Denny et Wethey (2001)** ont exploré les processus physiques qui influent sur la disponibilité des ressources alimentaires pour les organismes marins, ce qui peut avoir un impact sur la concentration des protéines chez les oursins.

Conclusion générale

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif de cette étude était le diagnostic de l'état de santé de la zone côtière de l'Ouest Algérien en mettant en valeur les potentialités des échinodermes, en particulier *Paracentrotus lividus*, en tant qu'espèce sentinelle utilisable pour la surveillance de la pollution du milieu marin. L'utilisation d'une approche multi-marqueurs basée sur le suivi des paramètres morphométriques et biochimiques chez cette espèce au niveau de deux sites du littoral Ouest Algérien: Port d'Oran et la plage de Madrid.

D'une manière générale, l'ensemble des résultats reflètent des variations significatives des paramètres biométriques, et non significatives pour les biomarqueurs de stress, néanmoins, une légère élévation dans le taux de catalase et GST au niveau du port d'Oran. Cependant, le taux de protéine et de GSH est élevé au niveau de la plage de Madrid.

Ces différences peuvent être attribuées aux variations des conditions environnementales telles que la température, la salinité, la disponibilité de la nourriture ainsi qu'au facteur biotique, lié à l'état physiologique de ces échinodermes dans les deux sites. De plus, ces résultats permettent de déduire les interactions anthropiques telles que l'industrie, le commerce et l'agriculture, ainsi que la situation géographique des sites étudiés et l'état physique et chimique de leurs ressources en eau.

L'utilité de ces indicateurs réside dans cette étude qui encadrent et évaluent le stress chez l'oursin et sa santé, ce qui donne à cette recherche d'autres perspectives d'analyse. Il apparaît que l'étude de l'impact du stress sur la vie marine des oursins et la recherche d'indicateurs biologiques de ce stress représentent une part essentielle de la recherche environnementale et scientifique. Comprendre comment les organismes marins répondent aux défis qui les entourent aide à dessiner des scénarios futurs et à déterminer les étapes nécessaires pour préserver l'environnement marin et la biodiversité. Grâce à cette étude, nous pouvons nous orienter vers des stratégies plus efficaces pour protéger l'environnement marin des côtes de la Méditerranée et réaliser un équilibre entre l'utilisation durable des ressources marines et leur protection pour les générations actuelles et futures.

Cette étude ouvre de nouvelles perspectives :

1. Une meilleure compréhension des effets du stress environnemental sur la santé des animaux marins : Ces informations peuvent aider à identifier les espèces les plus vulnérables

Conclusion générale

aux impacts environnementaux négatifs et à développer des stratégies pour protéger ces espèces.

2. Développement de nouveaux outils pour surveiller la santé des écosystèmes : Les biomarqueurs de stress peuvent être utilisés comme indicateurs biologiques pour mesurer la santé des écosystèmes marins.

3. Une meilleure compréhension des mécanismes d'adaptation des animaux marins : Étudier les réponses au stress des oursins peut aider à comprendre comment ces animaux s'adaptent aux changements environnementaux et à développer de nouvelles stratégies pour aider les animaux marins à s'adapter aux changements climatiques et à d'autres défis environnementaux.

4. Développement de nouvelles techniques pour l'aquaculture : Les biomarqueurs de stress peuvent être utilisés pour évaluer le bien-être des animaux dans les fermes aquacoles et développer de nouvelles techniques pour une aquaculture plus durable.

5. Développement de techniques médicales : Étudier les mécanismes de réponse au stress chez les oursins peut aider à comprendre les maladies humaines liées au stress et à développer de nouveaux traitements pour ces maladies.

L'étude des biomarqueurs de stress chez les oursins peut également enrichir notre compréhension générale de la physiologie, de l'écologie et de la biochimie.

Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Bachari-Houma, M.** (2011). Contribution à l'étude de la communauté des macroalgues infralittorales de la baie d'Alger (Algérie).* Thèse de doctorat, Université d'Alger.
- Basuyaux, C., Mathieu, M., & Pépin, D.** (1998). Effects of variations in salinity and temperature on gametogenesis and early development of the sea urchin *Paracentrotus lividus*.* *Marine Biology*, 132, 377-386.
- Binyon, J.** (1966). The effect of external pH on the ionic composition of the blood of the sea urchin *Echinus esculentus*.* *Journal of Experimental Biology*, 44, 133-142.
- Byrne, M.** (1990). Annual reproductive cycles of echinoderms. In M. Whitfield (Ed.), *Reproductive cycles of sea-stars and other echinoderms* (pp. 3-22). Springer Netherlands.
- CCME (Conseil canadien des ministres de l'environnement).** (1999). Recommandations pour la protection de la qualité de l'eau : Oxygène dissous. <https://ccme.ca/fr/tableau-sommaire>
- De Casamajor, M.-N.** (2004). Baie de Biscaye, richesse méconnue et diversité. Alexandre Dewez éditeur, Ascain, 262 p.
- Fadi Benamer, Nadia Mouzayed et Michel Perillo.** (2009). Facteurs influençant la distribution et l'abondance des oursins (Echinodermata: Echinoidea) dans la zone intertidale rocheuse de la mer Méditerranée".
- Gonzalez, M. J., Moure, A., & Cerda, V.** (2005). Seasonal changes in antioxidant defences and lipid peroxidation in the Mediterranean sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 140(3), 289-296.
- Gorbi, G., Regoli, F., & Fantin, M. C.** (2008). Oxidative stress and antioxidant systems in the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to copper and cadmium in water and sediment. *Aquatic Toxicology*, 89(4), 167-178.
- Gueddah, F.** (2003). Etude de l'écosystème à *Zostera marina* de la Baie de Skikda (Algérie): Caractérisation structurale et fonctionnelle. Thèse de doctorat, Université d'Annaba.*

Références Bibliographiques

- Kraffe, E., Roche, H., & Boughezal, F.** (2008). Antioxidant and pro-oxidant balance in the Mediterranean sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck): spatial and seasonal variations. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 150(2), 289-296.
- Ounissi, H., Gaid, N., & Hillenbrand, C.** (2014). Étude spatio-temporelle de la salinité et des paramètres physicochimiques des eaux de surface de la Baie d'Alger (Algérie). *Revue des Sciences Naturelles et Appliquées*, 5(1), 14-21.
- Pane, E. & Barry, J. P.** (2007). CO₂-induced ocean acidification and its effects on marine life. In: Riebesell, U., Fabry, J., Hansson, L. G., & Gattuso, J. P. (Eds.), *Effects of ocean acidification on marine ecosystems* (pp. 35-51). Oxford University Press.
- Pellerin-Massicotte, J., Bureau, D., & Tetu, T. M.** (1997). Seasonal variation in antioxidant defenses and lipid peroxidation in the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Marine Biology*, 129(1-2), 145-152.
- Pörtner, H. O.** (2008). Ecosystem impacts of ocean acidification: A unifying framework for metabolic and behavioral responses. *Marine Ecology Progress Series*, 367, 311-322.
- Regoli, F., & Principato, M. C.** (1995). A rapid method for the assessment of oxidative stress in marine mussels (*Mytilus galloprovincialis*) by measuring the activity of catalase. *Marine Pollution Bulletin*, 31(4-5), 229-234.
- Regoli, F., Perrotti, E., & Fantin, M. C.** (2002a). Use of biomarkers for assessing environmental impact in coastal and marine ecosystems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54(3), 325-343.
- Reinhard, M.** (2007). Seawater Conductivity and Temperature. Dans: Goni, G., & Schlittenhardt, M. (Eds.), *Handbook of Quality Assurance and Quality Control in the Laboratory* (pp. 47-59). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Roller, L. M., & Stickle, W. B.** (1993). Regulation of hemolymph pH and CO₂ in the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Marine Biology*, 94, 179-185.
- Rouane-Hacene, M.** (2013). Etude de la relation entre les paramètres physicochimiques et les peuplements benthiques des zones humides côtières de la Baie d'Arzew (Algérie). Thèse de doctorat, Université d'Oran 2.

Références Bibliographiques

- Salama, A., Zaghmout, N. H., & Abdel-Fattah, A. M.** (2005). Effects of the pesticide deltamethrin on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in the freshwater snail *Biomphalaria alexandrina*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24(10), 2608-2614.
- Seibel, B. A., & Walsh, P. J.** (2003). Importance of ocean acidification in mediating the physiological ecology of marine calcifiers. In: Gattuso, J. P., & Hansson, L. G. (Eds.), *Ocean acidification* (pp. 225-252). Springer.
- Shick, J. M.** (1983). Regulation of extracellular pH and CO₂ in the marine echinoderm *Asterias forbesi*. *Journal of Experimental Biology*, 106, 279-294.
- Smyth, T. J.** (2016). The role of salinity in estuarine ecosystems. In: *Aquatic Ecosystem Ecology: Paradigms, Diversity, and Function* (pp. 357-381). Elsevier.
- Soualili, D., & Guillou, M.** (2009). Gametogenic cycle and spawning of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) in the Bay of Algiers (Algeria). *Aquaculture Research*, 40(12), 1650-1657.
- Stickle, W. B., & Diehl, M. R.** (1987). Regulation of hemolymph pH and CO₂ in the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Marine Biology*, 94, 179-185.
- Suteau, C., Bocquené, G., & Gaillochet, C.** (1988). Glutathione-related enzymes in the digestive gland of the clam *Tapes philippinarum*: responses to cadmium contamination. *Marine Biology*, 97(1), 101-106.
- Ziouch, N.** (2014). Caractérisation des paramètres physicochimiques des eaux marines de la Baie de Jijel (Algérie). Master 2, Université de Jijel.

ANNEXE

FICHE D'ÉCHANTILLONNAGE

Référence station	Site : port d'Oran	Code :							
Coordonnées	Latitude : N 35° 41' 51.555"	Longitude : W 0° 38' 1.455"							
Etat du temps	Ensoleillé Peu nuageux <input checked="" type="checkbox"/> Très nuageux Pluvieux								
	Type de nuage :	Précipitations :							
	Direction du vent :	Vitesse du vent :							
Etat de la mer	Très calme Calme <input checked="" type="checkbox"/> Peu agitée Agitée Très agitée								
	<table border="1"> <tr> <th>Houle</th> <th>Courants</th> </tr> <tr> <td>Direction :</td> <td>Direction :</td> </tr> <tr> <td>Hauteur :</td> <td>Vitesse :</td> </tr> <tr> <td>Période :</td> <td></td> </tr> </table>	Houle	Courants	Direction :	Direction :	Hauteur :	Vitesse :	Période :	
Houle	Courants								
Direction :	Direction :								
Hauteur :	Vitesse :								
Période :									
Paramètres physicochimiques & biologiques	Température (°) : 12	pH :							
	Salinité (‰) :	O ₂ dissous (mg/l ; %) :							
	Turbidité (NTU) :	biologiques							
Références de l'échantillon	Nature : Oursins	Espèce : Paracentrotus Lividus							
	Date du prélèvement : 22/03/2024	Heure du prélèvement : 13:00H							
	Profondeur (hauteur d'eau)	Nature du substrat							

ANNEXE

Référence station	Site : Plage Madrid	Code :							
Coordonnées	Latitude : N 35° 6' 00"	Longitude : W 1° 52' 21"							
Etat du temps	Ensoleillé <input checked="" type="checkbox"/> Peu nuageux Très nuageux Pluvieux								
	Type de nuage :	Précipitations :							
	Direction du vent :	Vitesse du vent :							
Etat de la mer	Très calme Calme <input checked="" type="checkbox"/> Peu agitée Agitée Très agitée								
	<table border="1"> <tr> <td style="text-align: center;">Houle</td> <td style="text-align: center;">Courants</td> </tr> <tr> <td>Direction :</td> <td>Direction :</td> </tr> <tr> <td>Hauteur :</td> <td>Vitesse :</td> </tr> <tr> <td>Période :</td> <td></td> </tr> </table>	Houle	Courants	Direction :	Direction :	Hauteur :	Vitesse :	Période :	
Houle	Courants								
Direction :	Direction :								
Hauteur :	Vitesse :								
Période :									
Paramètres physicochimiques & biologiques	Température (°) : 16	pH :							
	Salinité (‰) :	O ₂ dissous (mg/l ; %) :							
	Turbidité (NTU) :	biologiques							
Références de l'échantillon	Nature : Oursins	Espèce : Paracentrotus Lividus							
	Date du prélèvement : 16/03/2023	Heure du prélèvement : 10 H							
	Profondeur (hauteur d'eau)	Nature du substrat							
	Autres :								

Materials utilisé



Agitateur.



Balance
électrique



Spectraux mètre
(cinétique)



Centrifugeuse



PH mètre