

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955-سكيكدة
UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques
Option : Éco toxicologie Animale

Intitulé

**Evaluation de la qualité des eaux du littoral de Skikda et
effet du plomb sur la composition biochimique des
gonades femelles de l'oursin commun *paracentrotus
lividus* (lamarck, 1816).**

Présenté Par :

- LOUIDI Yasser
- YAKOUBI Manel
- GUETTARI Hadjer

Membre de Jury:

| | | |
|-----------------------------|-----------|------------------------------------|
| Mme. BOUCETTA Sabrine (MCA) | Président | Université du 20 Août 1955- Skikda |
| Mme. ZAIDI Nedjoudja (Pr.) | Promoteur | Université du 20 Août 1955- Skikda |
| Mme. LAIB Imane (MCA) | Examineur | Université du 20 Août 1955- Skikda |

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

*En tout premier lieu, on remercie Allah, de nous avoir donné la force et le courage pour dépasser toutes les difficultés afin de réaliser ce travail. Nos remerciements vont aux membres de jury Madame **BOUCETTA Sabrina** et Madame **LAIB IMANE** d'avoir accepté d'évaluer ce travail. On tient tout particulièrement à remercier notre encadrant Professeur **ZAIDI Nedjouda** et madame **TALBI Faiza** pour ses précieux conseils, son suivi, son soutien, sa gentillesse incontestable et ses qualités humaines nous ont profondément touché. On tient à présenter par occasion tout notre respect à tous les enseignants qui ont contribué à nos formations du primaire jusqu'au cycle universitaire. En fin on remercie toute personne qui a participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire. On n'oublie pas nos plus tous nos amis qui nous aiment et les membres de nos familles qui nous ont toujours encouragé pour atteindre nos objectifs*

Dédicace

C'est avec profonde gratitude et sincères mots, que je dédie ce modeste travail de fin d'étude à mes chère parents; qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite et m'ont éclairé le chemin par leur conseils judicieux , j'espère qu'un jour, je pourrait leurs rendre un peux de ce qu'ils ont fait pour moi que dieu prête bonheurs et longue vie

Je dédie aussi ce travail a ma jolie sœur rym et ma grande famille et a mon grand père qui nous a quitté depuis 15ans et il est toujours dans mon cœur, et ma grande mère

A mes amies assma ,houda et marwa

A tous mes professeurs qui nous ont enseigner et a tous ce qui me sont chers

GUETTARI Hadjer

Dédicace

Dédicace A toute ma famille

, mes amis

et mes professeurs

YAKOUBI Manel

Dédicace

A ma très chère mère Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon très cher père Qui m'a encouragé à étudier et a toujours été mon soutien

A mon meilleur soutien (Rihab).

A mon cher oncle (Sofiane)

A mon cher oncle maternel (Djamel)

A ma cher tante (Fatiha) et tout ma chère famille, que dieu les protégé.

Sans oublier les amis Qui m'ont aidé a prélevé les oursins (Amir , raid , Borhan , akram , mokhtar) un grand merci à eux et tous les amis .

A tous mes professeurs.

LOUIDI Yasser

Résumé

La présente étude a pour objectif d'évaluer la qualité des eaux côtières du littoral de Skikda par la mesure des paramètres physicochimiques de l'eau dans trois sites et de déterminer les doses létales d'un métal lourd très toxiques, le plomb, à l'égard de l'oursin commun *P. lividus* (Lamarck, 1816). De plus, les effets de ce métal lourd ont été évalués sur les taux de vittélloginine et d'un biomarqueur du stress oxydant, la catalase, dans les gonades de cette espèce. Les paramètres mesurés sont: le pH, la conductivité électrique, l'oxygène dissous, les matières en suspension, la salinité et la dureté de l'eau. Les doses létales et les paramètres biochimiques ont été déterminés à différents temps (24, 48, 72 et 96 heures) de traitement.

L'analyse des paramètres physicochimiques de l'eau des trois sites d'étude montre que seule la conductivité électrique n'est pas conforme aux normes.

Les essais toxicologiques montrent une corrélation positive entre les mortalités observées et corrigées et les doses testées. De plus, les concentrations létales du plomb ont été déterminées à partir de la droite de régression linéaire exprimant la mortalité en fonction des doses de plomb. Dans nos conditions expérimentales, les concentrations CL25, CL50 du plomb sont respectivement 0,41 mg/L et 4,78 mg/L.

Le plomb additionné à l'eau d'élevage des oursins à deux concentrations : 0,41 mg/L et 4,78 mg/l d'acétate de plomb correspondant respectivement à la CL25 et CL50 de plomb contre les adultes de cette espèce provoque des perturbations dans la composition biochimique des gonades. En effet, une diminution significative de l'activité de la catalase et du taux de vittélloginine a été notée après 24 heures de traitement.

Mots clé : *Paracentrotus lividus*, littoral de Skikda, paramètres physicochimiques, plomb, catalase, vittélloginine,

ملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم جودة المياه الساحلية في سكيكدة عن طريق قياس البارامترات الفيزيائية الكيميائية للمياه في ثلاثة مواقع وتحديد الجرعات المميتة من معدن ثقيل شديد السمية، الرصاص، إلى قنفذ البحر *P. lividus* (لامارك، 1816). بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم تأثيرات هذا المعدن الثقيل على مستويات فيتيلوجينين وعلامة حيوية للإجهاد المؤكسد، الكاتالاز، في الغدد التناسلية لهذا النوع. المعلمات المقاسة هي: الأس الهيدروجيني، التوصيل الكهربائي، الأكسجين المذاب، المادة المعلقة، الملوحة وصلابة الماء. تم تحديد الجرعات المميتة والبارامترات الكيميائية الحيوية في أوقات مختلفة (24 و 48 و 72 و 96 ساعة) من العلاج.

يُظهر تحليل المعايير الفيزيائية الكيميائية للمياه في مواقع الدراسة الثلاثة أن التوصيل الكهربائي فقط لا يتوافق مع المعايير.

تظهر الاختبارات السمية ارتباطاً إيجابياً بين الوفيات المرصودة والمصححة والجرعات التي تم اختبارها. بالإضافة إلى ذلك، تم تحديد تركيزات الرصاص المميتة من خط الانحدار الخطي الذي يعبر عن الوفيات كدالة لجرعات الرصاص. في ظل ظروفنا التجريبية، تكون LC25 وتركيزات الرصاص LC50 على التوالي 0.41 و 4.81 ملغم/لتر

يضاف الرصاص إلى مياه تربية قنفذ البحر بتركيزين: 0.41 mg/L و 4.78 ملغم/لتر من أسيتات الرصاص المقابلة LC25 الرصاص والرصاص LC50 على التوالي ضد البالغين من هذا النوع بسبب اضطرابات في التركيب الكيميائي الحيوي للغدد التناسلية. في الواقع، لوحظ انخفاض كبير في نشاط فيتيلوجينين و الكاتالاز بعد 24 ساعة من العلاج.

الكلمات مفتاحية: *Paracentrotus lividus*, سواحل سكيكدة، المعايير الفيزيوكيميائية، الرصاص، الكاتالاز، الفيتيلوجينين .

Abstract:

The aim of this study is to evaluate the quality of coastal waters along the Skikda coastline by measuring the physicochemical parameters of water at three sites and determine the lethal doses of a highly toxic heavy metal, lead, on the common sea urchin *P. lividus* (Lamarck, 1816). Additionally, the effects of this heavy metal were assessed on the vitellogenin levels and an oxidative stress biomarker, catalase, in the gonads of this species. The measured parameters include pH, electrical conductivity, dissolved oxygen, suspended solids, salinity, and water hardness. The lethal doses and biochemical parameters were determined at different time intervals (24, 48, 72, and 96 hours) of treatment.

The analysis of physicochemical parameters of water from the three study sites shows that only electrical conductivity does not meet the standards.

Toxicological tests reveal a positive correlation between observed and adjusted mortalities and the tested doses. Moreover, the lethal concentrations of lead were determined using linear regression expressing mortality as a function of lead doses. Under our experimental conditions, the lead CL25 and CL50 concentrations are respectively 0,41 mg/L et 4,78 mg/L.

Lead added to sea urchin rearing water at two concentrations: 0.41 mg/L and 4.78 mg/L of lead acetate corresponding to the lead CL25 and CL50 concentrations, respectively, against adults of this species, causes disturbances in the biochemical composition of the gonads. Specifically, a significant decrease in catalase activity and vitellogenin levels was observed after 24 hours of treatment.

Keywords: *Paracentrotus lividus*, Skikda coastline, physicochemical parameters, lead, catalase, vitellogenin

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

| | |
|---|----|
| 1. Introduction | 1 |
| 2. Synthèse bibliographique | 3 |
| 2.2. Caractères morphologiques | 4 |
| 2.2.1. Morphologie externe..... | 4 |
| 2.2.2. Morphologie interne de l'oursin | 5 |
| 2.2.3. Biologie et écologie de l'espèce : | 6 |
| 2.2.4. Cycle de reproduction : | 6 |
| 2.3. Les métaux lourds | 7 |
| 2.3.1. Source des métaux lourds dans le milieu marin | 7 |
| 2.3.1.2. Origine anthropique :..... | 8 |
| 2.3.2. Devenir des métaux lourds en milieu marin | 8 |
| 2.3.3. Conséquences de la pollution marine par les métaux lourds sur la biocénose : | 8 |
| 2.4. Présentation du plomb..... | 9 |
| 2.4.1. Toxicité du plomb..... | 10 |
| 3. Matériel et Méthodes | 11 |
| 3.1. Présentation de site d'échantillonnage..... | 11 |
| 3.1.1. La zone côtière de Skikda | 11 |
| 3.1.2. Les Sites des prélèvements | 11 |
| 3.2. Mesure des paramètres physicochimiques de l'eau..... | 13 |
| 3.2.1. Prélèvement de l'eau de mer | 13 |
| 3.2.2. Protocole d'analyse | 14 |
| 3.3. Etude toxicologique et biochimique | 17 |
| 3.3.1. Elevage des oursins | 17 |
| 3.3.2. Etude toxicologique..... | 18 |
| 3.3.3. Etude biochimique | 18 |
| 3.4. Traitement statistique des données..... | 21 |
| 4. Résultats | 22 |
| 4.2. Toxicologie du plomb à l'égard de l'oursin, <i>p. lividus</i> | 24 |
| 4.2.1. Mortalité observée..... | 24 |

| | |
|---|-----------|
| 4.2.2. Mortalité corrigée | 25 |
| 4.2.3. Détermination des doses létales | 25 |
| 4.3. Effet du traitement sur la composition biochimique des gonades | 26 |
| 4.3.1. Effet sur le taux de vitéloginnine..... | 26 |
| 4.3.2. Effet sur le taux de catalase : | 27 |
| 5. Discussion | 29 |
| 6. Conclusion et perspectives | 30 |
| Référence bibliographique | 31 |

| Liste Des Tableaux | PAGES |
|--|-------|
| Tableau 1 : Dosage de la catalase | 21 |
| Tableau 2 : Echelle de la classification de l'état des eaux selon la MES (SEQ-EAU, 1990) | 23 |
| Tableau 3 : Paramètres physicochimiques de l'eau prélevés de trois sites (la plage de Collo, la plage de Château vert et la plage de Righa) durant le mois de Mars 2023 | 23 |
| Tableau 4 : Effet de l'acétate de plomb additionné dans l'eau d'élevage des oursins de <i>Paracentrotus lividus</i> sur la mortalité observée | 24 |
| Tableau 5 : Effet de l'acétate de plomb additionné dans l'eau d'élevage des oursins de <i>Paracentrotus lividus</i> sur la mortalité corrigée | 25 |

| Liste des figures | PAGES |
|--|-----------|
| Figure 1 : <i>paracentrotus lividus</i> (photo personnelle, 2023) | 03 |
| Figure 2 : distribution géographique (trait rouge) de l'oursin <i>P. lividus</i> (Fredjge, 2002) | 04 |
| Figure 3 : Morphologie externe de l'oursin <i>Paracentrotus lividus</i> (Beaumont, 1998) A :Faceorale et B : face aborale | 05 |
| Figure 4 : morphologie interne de l'oursin (A:male, B:femelle) | 06 |
| Figure 5 : Cycle de reproduction de <i>Paracentrotus lividus</i> émission des gamètes. (http://www.maxicours.com) | 07 |
| Figure 6 : Structure chimique du Pb | 10 |
| Figure 7 : Situation de la zone côtière de Skikda (Google maps, 2003). | 11 |
| Figure 8 : A: Skikda Situation géographique (Google maps) ; B : Plage château vert photo originale (2023) | 12 |
| Figure 9 : plage brarek (photo personnelle, 2023) | 12 |
| Figure 10 : plage de Righa (photo personnelle, 2023) | 12 |
| Figure 11 : ProLab 2500 (permet d'effectuer des mesures pH, conductivité, OD, Salinité) | 15 |
| Figure 12 : Spectrophotomètre UV | 16 |
| Figure 13 : Thermostat | 16 |
| Figure 14 : Récolte <i>Paracentrotus lividus</i> (photo réelle, 2023). | 18 |
| Figure 15 : Acétate de plomb | 19 |
| Figure 16 : Les gonades placées dans les tubes Eppendorf | 20 |
| Figure 17 : Effet de l'acétate de plomb additionné dans l'eau d'élevage des oursins de <i>Paracentrotus lividus</i> sur la mortalité corrigée .Courbe de référence exprimant la mortalité corrigée en fonction de la dose. | 26 |
| Figure 18 : Taux de vitellogénine ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) dans les gonades de l'oursin <i>paracentrotus lividus</i> au cours d'un traitement continu avec le plomb ($m \pm s$; $n = 3$). Les astérisques au-dessus des séries traitées indiquent une (***: différence hautement significative à $p < 0.001$). | 27 |
| Figure 19 : Activité spécifique du CAT ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les femelles adultes de <i>l'oursin paracentrotus lividus</i> exposées au plomb (DL25 et DL50) ($m \pm s$; $n=3$). Les astérisques au-dessus des séries traitées indiquent une différence significatif t (*: différence significative à $p < 0.05$; **: différence significative à $p < 0.01$; ***: différence significative à $p < 0.001$). | 28 |

Introduction

1. Introduction

Tous les métaux lourds sont présents naturellement à l'état de traces dans l'environnement. Cependant, l'activité humaine a fortement augmenté la présence de certain nombre d'entre eux. La combustion de matières fossiles solides ou liquides (charbon, pétrole) peut également contribuer à l'augmentation des rejets de métaux dans l'environnement, via les cendres, vapeurs et fumées. Généralement les métaux lourds émis sous forme de très fines particules, sont transportés par le vent et se disséminent dans les sols et les milieux aquatiques, contaminant ainsi la flore et la faune aquatique et terrestre.

L'impact sur la santé des métaux lourds dépend de leur espèce chimique, de leur concentration, de leur biodisponibilité et de leur transfert dans les chaînes alimentaires. Les métaux sont soit essentiels à l'organisme (appelés oligo-éléments) comme le sélénium ou le fer, ils présentent à des taux qui ne provoquent pas de toxicité mais sont suffisants pour aider le corps à remplir ses fonctions ou bien non essentiel et qui n'ont aucune fonction biologique et donc aucun rôle dans le maintien de l'homéostasie de l'organisme et sont directement toxiques comme le mercure, le plomb ou le cadmium.

La forte concentration de plomb dans le milieu aquatique et par conséquent dans les organismes aquatiques en particulier les poissons provient des activités industrielles et humaines. Ce métal lourd entraîne des effets toxiques sur le système nerveux, le système excréteur rénal et le système circulatoire (sang) et l'effet s'étend pour inclure les activités biochimiques des organismes vivants affectés par le plomb (Fawzy, 2008).

L'oursin commun, *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) est l'espèce d'échinoïde la plus abondante dans la mer Méditerranée (Lozano et al., 1995; Boudouresque et Verlaque, 2001). Il constitue une ressource alimentaire très appréciée dans plusieurs régions du monde (Fernandez, 1996). L'influence humaine peut modifier significativement le rôle écologique de l'oursin soit en réduisant son abondance par la récolte (le manger : comme nourriture) ou en l'augmentant directement par la pollution (les oursins sont relativement peu touchés par la pollution organique et les métaux lourds se développent en fait près des sorties d'égout) et indirectement par la surpêche des prédateurs (Lamarck, 1816). Cette espèce a fait l'objet d'un grand nombre de travaux dont les plus importants concernent sa biologie, son éthologie et sa croissance (Fenaux, 1968; Régis, 1978; Harmelin, 1981; Nedelec, 1982; Semroud et kada, 1987 ; Sadoud, 1988; Soualili, 2008 ; Sahnoun, 2009).

L'oursin est un modèle privilégié dans la recherche en toxicologie environnementale, en raisons de l'excroissance des embryons, le taux de division cellulaire rapide et la transparence des cellules (Guillou et Michel, 1993; Quiniouetal, 1997). La recherche sur l'effet des métaux lourds sur le développement des gonades d'oursins représente une contribution importante à l'avancement des connaissances dans le domaine de l'écotoxicologie.

L'objectif de ce travail de recherche est d'évaluer la qualité des eaux du littoral de Skikda et la toxicité aigüe d'un métal lourd, le plomb sur l'oursin commun, *Paracentrotus lividus*. La présentation des résultats de ce travail se décline en trois parties :

- 1/ Mesure des paramètres physico-chimiques de l'eau de trois sites : Château vert, Collo Righa .
- 2/ la détermination des doses létales du plomb à l'égard des femelles adultes de l'oursin commun *Paracentrotus lividus*.
- 3/ Evaluation des effets sublétaux (CL25 et CL50) du plomb sur la composition biochimique des gonades femelles de l'oursin commun *paracentrotus lividus* (lamarck, 1816) par la détermination des taux de vitellogénine, de protéines et l'activité spécifique de le catalase dans les gonades de cette espèce.

Synthèse bibliographique

2. Synthèse bibliographique

2.1. Synthèse des connaissances sur l'oursin *Paracentrotus lividus* :

2.1.1 Systématique et distribution géographique de *Paracentrotus lividus* :

Les oursins sont un groupe des invertébrés marin de forme arrondie au corps recouvert de radioles. L'oursin (Fig.1) le plus commun sur le littoral européen est l'oursin "violet" (*Paracentrotus lividus*), très présent en Méditerranée. Cet oursin est comestible et consommé sur une grande partie du littoral, il est souvent supplanté par l'oursin noir "*Arbacia lixula*". Selon (Tortonese et Vadon, 1987), la position systématique de l'oursin *Paracentrotus lividus* est la Suivante :

Embranchement : Echinodermata

Sous-embr:Enchinozoa

Classe Echinoidea

Sous-classe: Regularia

Ordre: Diadematoidea

Sous-ordre: Camarodonta

Famille: Echinidae

Genre: *Paracentrotus*

Espèce: *Paracentrotus lividus*



Figure 1 : *paracentrotus lividus* (photo personnelle, 2023)

La distribution du *Paracentrotus lividus* (Fig.2) est principalement en mer Méditerranée, mais aussi dans une plus faible mesure en océan Atlantique et jusqu'à la Manche, du Maroc à l'Irlande (Lozano et al., 1995) (Tomas et al., 2004).



Figure 2 : Distribution géographique (trait rouge) de l'oursin *P. lividus* (Fredjge, 2002)

2.2. Caractères morphologiques

2.2.1. Morphologie externe

L'espèce *Paracentrotus lividus* est un échinidé benthique qui possède une symétrie pentamère, un corps à forme sphérique plus ou moins aplatie à ses deux pôles (Fischer et al., 1987). Chez l'oursin, le pôle inférieur (Oral) dirigé vers le substrat comprend la bouche qui est entourée d'une membrane, le péristome. Tandis que le pôle supérieur (Aboral) comprend l'anus entouré d'une membrane, le périprocte formé de 10 plaques intradermiques calcifiées, étroitement juxtaposées (Sellem, 1990). La zone postérodorsale tend à former une expansion aplatie qui rend le bord ligamentaire assez saillant. La sculpture externe (Fig.3) est formée de marques d'accroissement (Lubet, 1973; Fischer et al., 1987). La taille maximum peut atteindre 15 cm et plus ; en général la taille commune est entre 5 à 8 cm (Fischer et al., 1987).

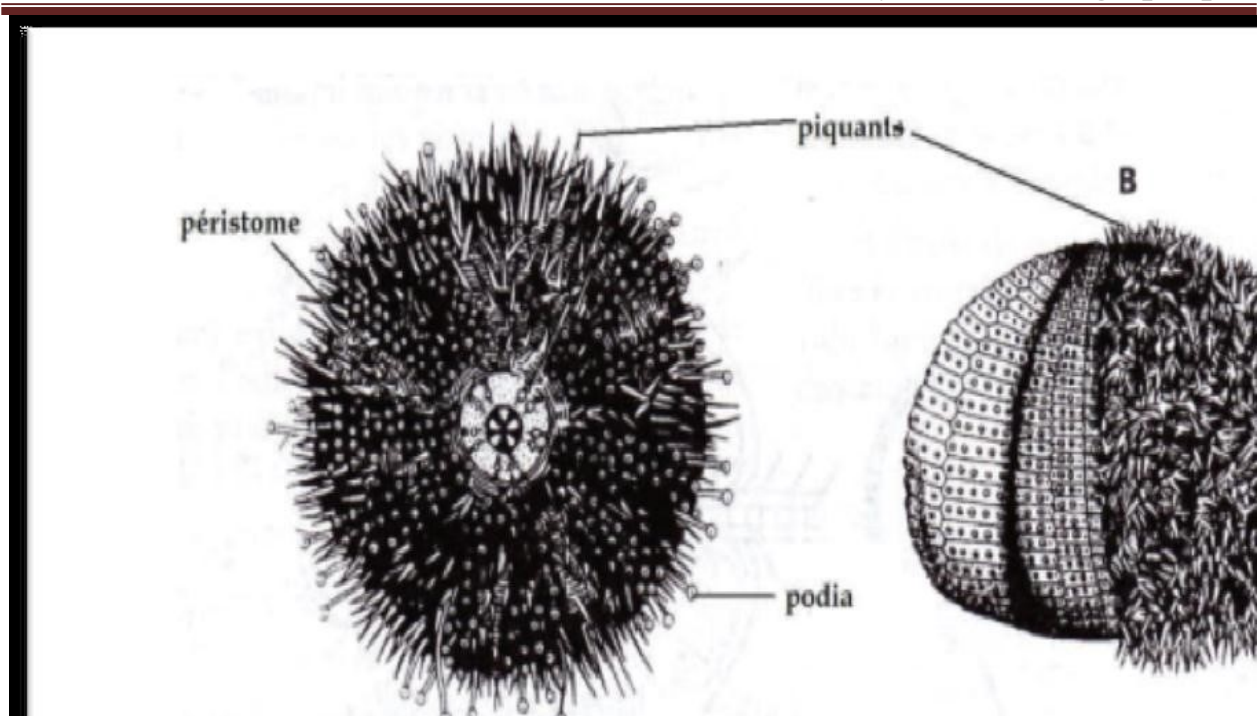


Figure 3 : Morphologie externe de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Beaumont, 1998) A :Face orale et B : face aborale

2.2.2. Morphologie interne de l'oursin

À l'intérieur du corps, le tube digestif comprend la bouche située au centre de la face inférieure du test, suivi de l'œsophage entouré d'un puissant appareil la lanterne d'Aristote formé de cinq ensembles complexes ou mâchoires. Chaque mâchoire comprend les dents, la rotule, le compas. La lanterne d'Aristote est attachée au corps par des fibres conjonctives et des muscles sur les auricules (Le Gall et Bucaille, 1987). L'estomac doublé d'un siphon intestinal où la digestion et l'absorption se font au niveau de l'intestin et se termine par un anus dorsal (Beaumont et Cassier, 1981). L'organe reproducteur est constitué de cinq gonades situées au pôle apical sous les inter radius, chacune reliée à l'extérieur par un conduit génital qui traverse le test au niveau des plaques génitales qui entourent l'anus (Grassé et *al.*, 1963). Les glandes génitales mâles et femelles ont une même apparence (gonades allongées). A la maturité, les gonades prennent une couleur orangée et rugueuse et émettent un liquide (Fig.4).

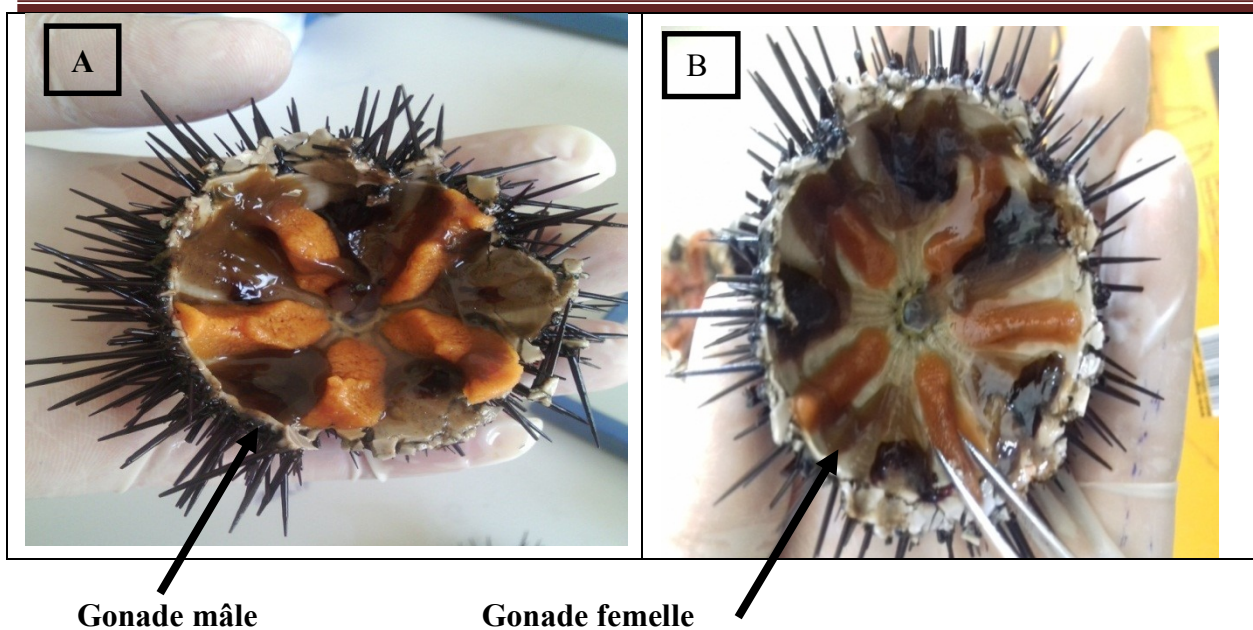


Figure 4 : morphologie interne de l'oursin (A: mâle, B: femelle)

2.2.3. Biologie et écologie de l'espèce :

Paracentrotus lividus est l'espèce d'oursin la plus courante en Méditerranée. Son milieu de vie se situe dans les faibles profondeurs (à l'étage médiolittoral inférieur entre 0 m et 10 m) (Lawrence, 2013 ; Lecchini et al., 2002). On le rencontre entre la surface et les premiers mètres, mais parfois encore jusqu'à 50 m de fond. *Paracentrotus lividus* est une espèce essentiellement herbivore mais dans certaines conditions il peut être omnivore (Regis, 1978). On peut trouver dans son contenu digestif en plus de fraction végétale, une fraction animale constituée de Foraminifères, des spongiaires et des bryozoaires, ainsi que des crustacés (Verlaque, 1987). Cet espèce consomme principalement des algues photophiles du genre *Podia pavonica* et *Cystoseira buljarica* (Regis, 1978).

2.2.4. Cycle de reproduction :

Paracentrotus lividus sont des animaux sexués comprenant des mâles et des femelles. La fécondation est externe, les mâles et femelles relâchent leurs gamètes en même temps grâce à un signal phéromonal, en pleine eau, où œufs puis larves vont évoluer parmi le plancton pendant quelques semaines avant de se fixer. Le système reproducteur est composé de 5 gonades (parties que l'on consomme chez les oursins). La reproduction de *P. lividus* suit un cycle annuel (Fig.5) le développement des gonades a lieu durant l'été et l'automne, la maturation se déroule le long de

l'hiver. Les gamètes sont ensuite libérés au printemps, début été. Une fois fécondé, l'œuf se segmente pour donner une larve pélagique à symétrie bilatérale ; celle-ci subira une série de transformations (métamorphoses) avant de donner un jeune oursin (Weinberg, 1996).

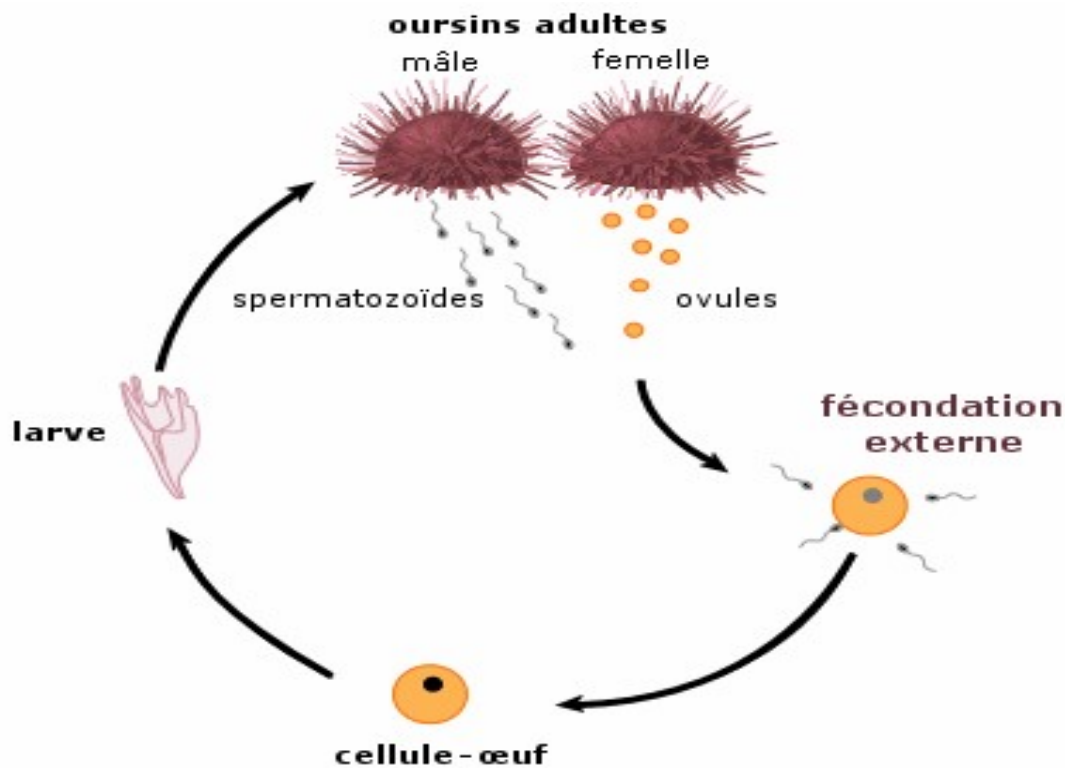


Figure 5: Cycle de reproduction de *Paracentrotus lividus* émission des gamètes.

(<http://www.maxicours.com>)

2.3. Les métaux lourds

2.3.1. Source des métaux lourds dans le milieu marin

Les métaux lourds s'accumulent pour finir par atteindre des seuils toxiques. Les problèmes associés à la contamination par les métaux lourds ont été tout d'abord mis en évidence dans les pays industriellement avancés en raison de leurs déversements industriels importants (Kurland et al., 1960; Nitta, 1972; Goldberg, 1979). Cette pollution peut être accidentelle ou volontaire, Ainsi les sources des métaux lourds en milieu marin peuvent être naturelles et/ou anthropogéniques.

2.3.1.1. Origine naturelle : Leur entrée peut être le résultat soit de :

- déversements effectués directement dans les écosystèmes marins et dans les eaux douces, soit d'un cheminement indirect comme dans le cas des décharges sèches et humides et du ruissellement agricole.
- l'activité volcanique, l'altération des continents et les incendies de forêts.

2.3.1.2. Origine anthropique :

- Effluents d'extractions minières
- Effluents industriels
- Effluents domestiques et ruissellements orageux urbains
- Lessivage de métaux provenant de décharges d'ordures ménagères et de résidus solides
- Apports de métaux provenant de zones rurales, par exemple métaux contenus dans les pesticides
- Sources atmosphériques : par exemple combustion de carburants fossiles, incinération des déchets et émissions industrielles
- Activités pétrochimiques
- La combustion de l'essence au plomb dans les automobiles : par exemple, est responsable de la large diffusion du plomb dans le monde (Hutchinson et Meema, 1987; GESAMP, 1988).

2.3.2. Devenir des métaux lourds en milieu marin

Les métaux lourds sont des éléments chimiques présentant une densité élevée et une toxicité potentiellement nuisible pour les organismes vivants lorsqu'ils sont présents en concentrations élevées. Leur présence dans les milieux marins est préoccupante en raison de leur capacité à s'accumuler dans la chaîne alimentaire, ce qui peut entraîner des effets néfastes sur la santé des écosystèmes marins et des êtres humains qui en dépendent. Ces métaux lourds peuvent être transportés vers les océans par les cours d'eau, les précipitations ou les courants marins.

2.3.3. Conséquences de la pollution marine par les métaux lourds sur la biocénose :

La pollution marine par des métaux lourds a de graves conséquences sur la biocénose marine, affectant les organismes vivants et les écosystèmes marins dans leur ensemble. Les conséquences les plus courantes de la pollution marine par des métaux lourds sont:

a. Toxicité directe pour les organismes marins : les métaux lourds tels que le mercure, le plomb, le cadmium et l'arsenic peuvent être toxiques pour de nombreux organismes marins, y compris les poissons, les crustacés, les mollusques et les microorganismes. Ces métaux s'accumulent dans les tissus des organismes marins, entraînant des problèmes de santé, des malformations, des troubles de la reproduction et même la mort.

b. Perturbation de la chaîne alimentaire : les métaux lourds présents dans l'eau de mer peuvent être absorbés par les organismes planctoniques. Lorsque ces organismes sont consommés par des poissons et d'autres prédateurs marins, les métaux lourds s'accumulent dans les tissus de ces organismes à des concentrations plus élevées. Cela entraîne une bioamplification des métaux lourds le long de la chaîne alimentaire, de sorte que les prédateurs de niveau supérieur, y compris les mammifères marins et les oiseaux, peuvent être exposés à des concentrations très élevées de métaux lourds.

c. Altération de la reproduction et du développement : Les métaux lourds peuvent perturber les processus de reproduction et de développement chez les organismes marins. Ils peuvent entraîner des problèmes de fertilité, des malformations chez les larves, des troubles du comportement sexuel et des déséquilibres hormonaux. Ces effets peuvent avoir des conséquences à long terme sur la viabilité des populations marines.

d. Destruction des habitats marins : certains métaux lourds, tels que le cuivre provenant de revêtements de navires ou de décharges industrielles, peuvent s'accumuler dans les sédiments marins et détruire les habitats benthiques. Cela peut avoir un impact négatif sur les espèces qui dépendent de ces habitats pour leur survie.

e. Effets sur la biodiversité : la pollution marine par des métaux lourds peut entraîner une diminution de la biodiversité dans les écosystèmes marins. Les espèces sensibles aux métaux lourds peuvent disparaître ou être remplacées par des espèces plus tolérantes, ce qui peut perturber l'équilibre écologique. Il est important de noter que les conséquences de la pollution marine par des métaux lourds peuvent varier en fonction du type de métal, de sa concentration, de la durée d'exposition et des caractéristiques spécifiques de l'écosystème marin concerné.

2.4. Présentation du plomb

Le plomb (Fig.6) est l'un des métaux les plus anciens et les plus utilisés par l'homme. Il fait partie des métaux trace non-essentiels (Miquel, 2001) les plus abondants et les plus largement répandus (Mishra *et al.*, 2006). Il apparaît comme un métal gris et bleuâtre et quand il s'oxyde, il prend une teinte blanche. Ce métal est malléable et conduit moins bien l'électricité que d'autres

métaux. Il possède une bonne résistance à la corrosion et réagit facilement avec des composés organiques. La toxicité de ce métal lourd s'exerce sur les végétaux, les animaux et les être humaine (Wang et al., 2006). En effet, une exposition chronique au plomb provoque des effets nocifs sur la santé humaine en affectant le système nerveux, immunitaire, rénal, gastro-intestinal, cardio-vasculaire et reproductif (Kim, 2004). L'effet toxique du plomb peut se traduire par une compétition avec des métaux essentiels au fonctionnement normal de la cellule (Cossa et al., 1993) et des ions de Ca^{2+} (Cassa *et al.*, 1993 ; Casas, 2005).

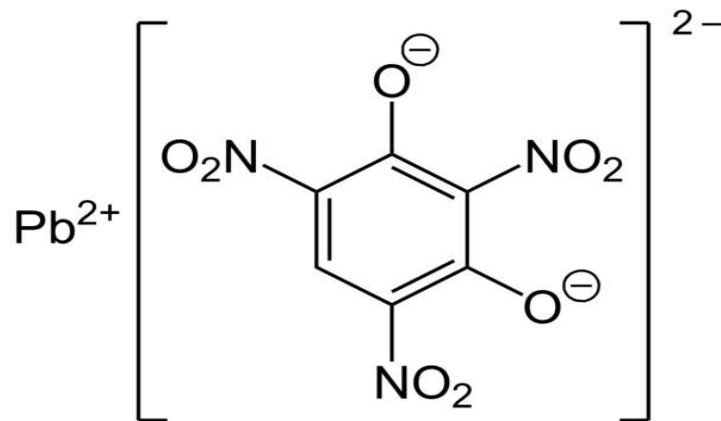


Figure 6 : Structure chimique du Pb

2.4.1. Toxicité du plomb

Les principales voies de transport du plomb sont l'eau, l'air et les aliments. Un risque existe dès que le plomb ou certains de ses composés peuvent être inhalés, ingérés ou assimilés par l'organisme. Le passage percutané est également possible.

- **Les enfants et femmes enceintes** puis les personnes âgées y sont les plus vulnérables.
- **L'embryon et le fœtus:** ils ne sont pas protégés par le placenta et y sont extrêmement sensibles, avec des effets différés graves (débilité mentale) pour de faibles doses d'exposition au stade fœtal.
- **Les enfants:** ils sont souvent les plus touchés, car leur organisme absorbe proportionnellement plus de plomb que celui des adultes. En effet, le système nerveux des enfants et leur squelette sont en développement continu, et leur absorption digestive est 3 fois plus élevée que celle des adultes.
- **Les personnes âgées:** en vieillissant, l'organisme élimine moins bien le plomb, et le plomb désorbé de l'os lors d'une ostéoporose passe dans le sang et recontamine la personne.

Matériel et Méthodes

3. Matériel et Méthodes

3.1. Présentation de site d'échantillonnage

3.1.1. La zone côtière de Skikda

La zone côtière de Skikda (Fig. 7) s'étendant sur 130 km de côtes et couvrant une superficie maritime de 3063 km². Elle possède une succession de plages divisée en 3 zones : la zone Ouest qui s'étend de l'embouchure de l'oued Zhor à Stora ; elle est généralement abrupte avec de hautes falaises, la zone centrale représentée par la côte de Ben Mhidi, les Platanes, Guèbres et les falaises de Filfila et enfin la zone Est comportant les côtes de la Marsa et les falaises du Cap de Fer.

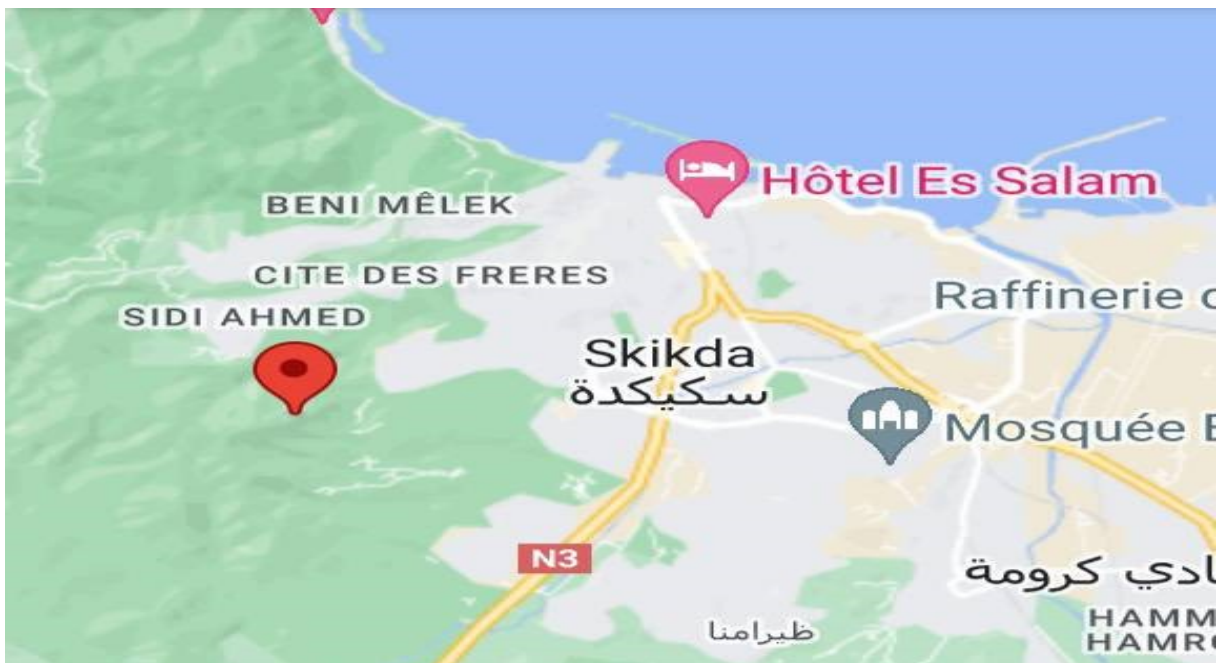


Figure 7 : Situation de la zone côtière de Skikda (Google maps, 2003).

3.1.2. Les Sites des prélèvements

a. **Château vert** : La plage château vert de Skikda (37°53'16''Nord, 6°53'49''Est) est une plage à sable moyen, elle s'étend sur une longueur de 300 m et une largeur moyenne de 15 m. Cette plage est située juste après la jetée, délimitée par un amas de blocs et de petits rochers. Château vert a toujours été préservé de la pollution, il ne recevant aucun égout ou rejets minime, né moins, elle est mitoyenne à la jetée qui polluée (Fig. 8).

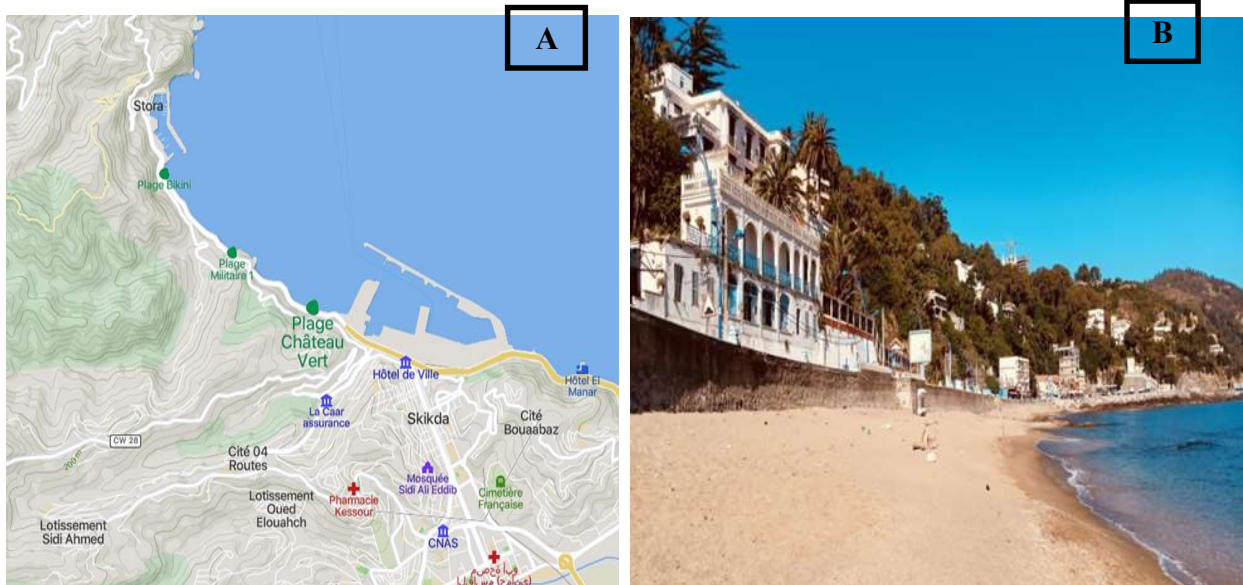


Figure 8 : A: Skikda Situation géographique (Google maps) ; B : Plage château vert photo originale (2023)

b. Collo (Brarek) :

Collo est située au nord-est de l'Algérie à 70 km à l'ouest de Skikda, à 100 km au nord de Constantine et à 500 km à l'est d'Alger. Elle s'est développée au fond de la baie éponyme, abritée à l'ouest par un promontoire semi-circulaire dont les sommets boisés dépassent 1000 m d'altitude. La plage de Collo (Brarek) est située à l'entrée de la ville, brarek a toujours été préservé de la pollution parce qu'il est situé à côté du port et de l'abattoir (Fig. 9).



Figure 9 : Plage brarek (photo personnelle, 2023)

c. Righa :

Plage située dans la ville de Falfela , caractérisée par une vaste zone sablonneuse bordée de rochers au bout, A côté se trouve le port de pêche (Fig. 10).



Figure 10 : Plage de Righa (photo personnelle, 2023)

3.2. Mesure des paramètres physicochimiques de l'eau

Pour avoir une certitude sur l'état de santé des eaux du littoral de Skikda et le milieu dans lequel vivait notre matériel biologique (*Paracentrotus lividus*), nous avons effectué une série d'analyse de paramètres physicochimiques de l'eau de mer prélevée des trois sites (la plage de Collo, la plage de Château vert et la plage de Righa). Le choix de ces sites se repose sur :

- L'éloignement et la proximité des sources de pollution.
- La facilité d'accès et l'abondance de notre espèce (oursin).

3.2.1. Prélèvement de l'eau de mer

Le prélèvement de l'eau de mer destinée à l'analyse de MES (les matières en suspension totales) et des sels nutritifs, est effectué à l'aide des flacons ombrés d'un litre. Les échantillons d'eau de mer ont été prélevés de trois sites différents (la plage de Collo, la plage de Château vert et la plage de Righa) au cours du mois Mars selon les recommandations de *Rodier et al.* (1992). L'eau est prélevée sur 1m de profondeur, pour éviter de recueillir le film de surface, dans des

flacons propres. Les échantillons sont conservés à basse température dans une glacière, en attendant leur conservation au laboratoire pour l'analyse.

3.2.2. Protocole d'analyse

Les paramètres mesurés dans cette étude sont : le pH, la conductivité électrique, la salinité, la dureté de l'eau, l'oxygène dissous, les matières en suspension, le phosphate et le cuivre.

a. Potentiel d'hydrogène (pH) : le pH mesure l'acidité ou l'alcalinité de l'eau. Il est déterminé par la concentration d'ions hydrogène (H⁺) présents. Le pH est important, car il influence la solubilité des minéraux, la disponibilité des Nutriments et la santé des organismes aquatiques.

b. La conductivité électrique : elle s'exprime généralement en mS/cm à 20 °C, la conductivité mesure la capacité d'un liquide à conduire l'électricité. Dans l'eau, la conductivité est principalement due à la présence d'ions dissous. Elle est souvent utilisée comme indicateur de la salinité ou de la concentration des éléments dissous.

c. Salinité : la salinité représente la quantité totale de sels dissous dans l'eau. Elle est généralement mesurée en termes de conductivité électrique. La salinité affecte la densité de l'eau, la capacité à dissoudre des substances et la distribution des organismes aquatiques.

d. Oxygène dissous : l'oxygène dissous est essentiel à la respiration des organismes aquatiques. Il est principalement introduit dans l'eau par la photosynthèse des plantes et par l'aération atmosphérique. La quantité d'oxygène dissous varie en fonction de la température, de la pression atmosphérique et de la présence de matière organique.

Mode opératoire :

- Allumer l'appareil (Fig. 11). et laver soigneusement les électrodes de pH et de conductivité avec de l'eau distillée.
- Mettre l'échantillon dans un bucher approprié sur l'agitateur magnétique, allumer et réglé d'agitateur à une vitesse modéré.
- Immerger les électrodes de pH et de conductivité dans l'échantillon sous agitation et appuyer sur le bouton mesure et lire les résultats (le résultat de pH est exprimé sans unité, le résultat de conductivité est exprimé par us/cm, le résultat de la salinité et les résultats de l'oxygène dissous).

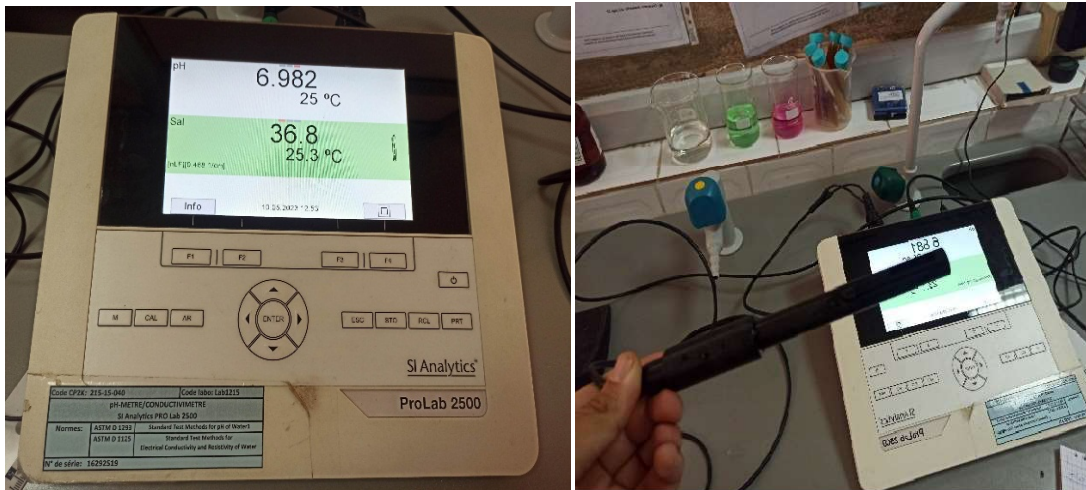


Figure 11: ProLab 2500 (permet d'effectuer des mesures pH, conductivité, OD, Salinité)

- e. **Dureté de l'eau :** la dureté d'une eau correspond à la somme des concentrations en cations métalliques, exceptées des métaux alcalins (Na^+ , K^+) et H^+ . Elle est souvent due aux ions Ca^{++} et Mg^{++} . La dureté se mesure en mg de CaCO_3 par litre.

Mode opératoire :

- Pipetter soigneusement 4,0 mL de la solution et retourner la cuve plusieurs fois jusqu'à ce que le lyophilisat se soit complètement dissous.
- Après 2 minutes, bien nettoyer l'extérieur de la cuve et mesurer.
- Retirez la cuve et pipetter soigneusement 0,2 mL de l'échantillon d'eau.
- Fermer la cuve et retourner plusieurs fois, bien nettoyer l'extérieur de la cuve et mesurer.

- f. **Phosphate :** l'analyse des phosphates dans l'eau est souvent effectuée pour évaluer la qualité de l'eau et surveiller la contamination par des sources telles que les rejets agricoles, les eaux usées et les engrais.

Mode opératoire :

- Prélevez soigneusement 2,0 mL d'échantillon.
- Pipetter 0,2 mL de réactif et visser un DosiCap C gris sur la cuve .
- Retourner plusieurs fois jusqu'à ce que le lyophilisat se soit complètement dissous.
- Après 10 minutes, retourner de nouveau, bien nettoyer l'extérieur de la cuve et mesurer (Fig 12)

- g. Cuivre** : Le cuivre est un métal de transition aux propriétés particulières, et l'analyse de l'eau de mer peut être effectuée pour déterminer les concentrations de cuivre et d'autres éléments dans cette solution

Mode opératoire :

- Pipetter soigneusement 2,0 mL d'échantillon et retourner la cuve plusieurs fois jusqu'à ce que le lyophilisat se soit complètement dissous.
- Après 3 minutes, bien nettoyer l'extérieur de la cuve et mesurer.



Figure 12: Spectrophotomètre UV



Figure 13: Thermostat

- h. Matières en Suspension (MES)** : l'analyse des matières en suspension est une méthode courante utilisée pour déterminer la quantité de particules solides en suspension dans un liquide, comme l'eau de mer.

Mode opératoire :

- Préparation de l'échantillon : Prélevez un échantillon représentatif de l'eau de mer à analyser. Veillez à utiliser des précautions appropriées pour éviter toute contamination externe pendant le prélèvement. Si nécessaire, filtrez l'échantillon pour éliminer les grosses particules en suspension.
- Préparation des réactifs : Préparez les réactifs nécessaires pour l'analyse des matières en suspension. Cela peut inclure des solutions tampons, des agents de floculation ou des réactifs spécifiques en fonction de la méthode d'analyse choisie.

- Mesure du volume d'échantillon : Mesurez avec précision le volume d'échantillon que vous allez analyser. Cette étape est importante pour calculer la concentration finale des matières en suspension.
- Flocculation : Si nécessaire, ajoutez un agent de flocculation à l'échantillon. L'agent de flocculation favorise l'agglomération des particules en suspension, ce qui facilite leur séparation ultérieure.
- Séparation des particules : Utilisez une méthode appropriée pour séparer les particules en suspension de l'échantillon liquide. Cela peut être fait par filtration, centrifugation ou sédimentation, en fonction de la taille et de la nature des particules à analyser.
- Séchage et pesée des particules : Une fois séparées du liquide, les particules sont généralement séchées pour éliminer toute trace d'humidité. Ensuite, elles sont pesées pour obtenir la masse totale des matières en suspension.
- Calcul de la concentration : En utilisant la masse des matières en suspension et le volume d'échantillon initial, vous pouvez calculer la concentration en matières en suspension (g/L ou mg/L)

3.3. Etude toxicologique et biochimique

3.3.1. Elevage des oursins

Les oursins (Fig. 14) ont été récoltés manuellement dans les eaux peu profondes de la plage Château Vert en utilisant des gants de protection, puis ils ont été ramenés au laboratoire. Les oursins, ensuite en été transférés dans des aquariums de capacité 50 litres. Ces aquariums sont munis de pompes à air, et un filtre, les oursins sont nourris quotidiennement avec des algues. Une période d'acclimatation de 3 à 4 jours à température ambiante a permis d'éliminer les individus présentant des anomalies ou malformations apparentes.

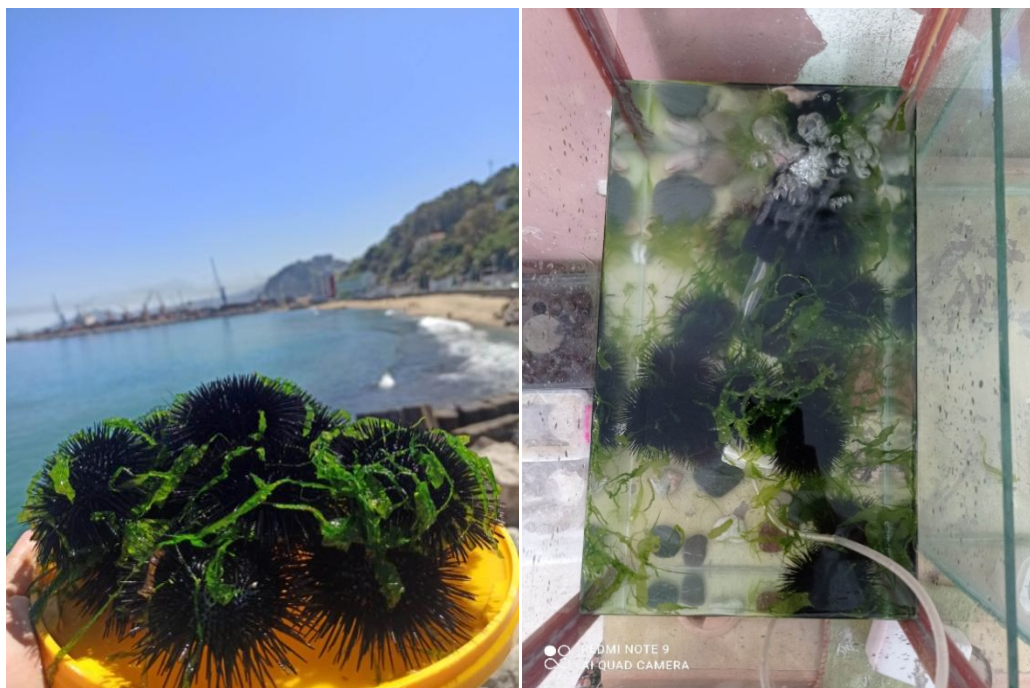


Figure 14 : Récolte *Paracentrotus lividus* (photo réelle, 2023).

3.3.2. Etude toxicologique

Pour déterminer la toxicité du plomb à l'égard des adultes de l'oursin *Paracentrotus lividus* l'oxalate de plomb a été additionné dans l'eau d'élevage des oursins à quatre concentrations : 1, 3, et 8 mg/L. Les oursins ont été exposés au plomb pendant 96 heures et les individus morts ont été prélevés chaque 24 h. Les données ont été analysées à l'aide d'un logiciel (Graph Pad Prism, version 5.03).

3.3.3. Etude biochimique

3.3.3.1. Traitement

Après acclimatation, les individus ont été divisés en 3 aquariums : un témoin et deux un traité avec le plomb pendant 96 heures. Le traitement est effectué par addition de l'oxalate de plomb (PbC_2O_4) dans l'eau d'élevage des oursins à deux concentrations : 0,41 et 4,78 mg/L d'acétate de plomb (Fig.15) correspondent à la CL25 et la CL50 des oursins adultes de cette espèce (résultats la première partie de cette étude).

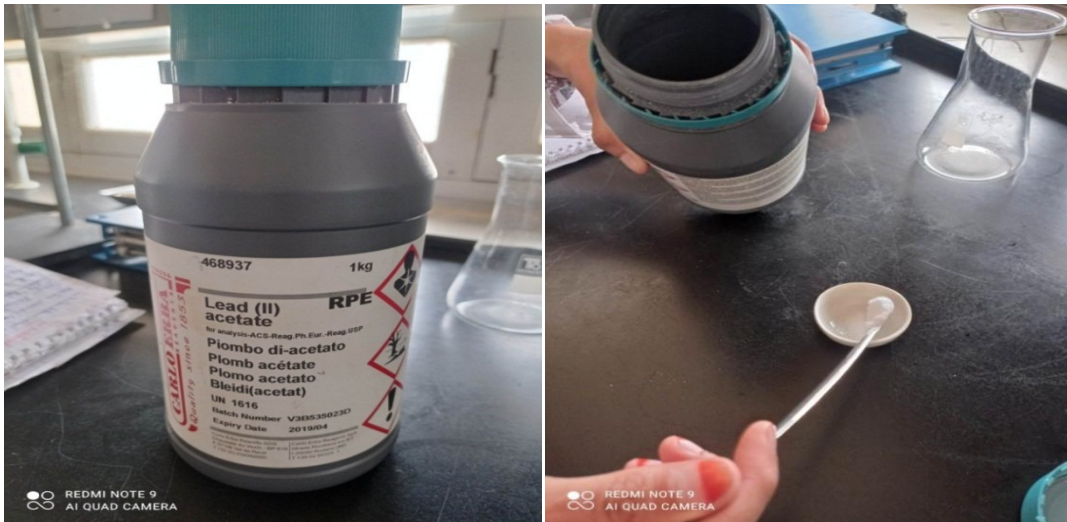


Figure 15 : Acétate de plomb.

3.3.3.2. Anesthésie et prélèvement des gonades :

Les oursins vivants ont été placés dans le réfrigérateur pour assurer l'anesthésie, ensuite, il est la dissection et le prélèvement les gonades d'une taille moyenne comprise entre 35 et 40 mm par un ciseau chaque oursin est ouvert, en découpant la calotte orale. Les gonades sont récupérées et soigneusement déposés dans des tubes marqués et pesés (Fig. 16). Le dosage de vitellogénine été effectué sur les gonades des femelles adultes témoins et traitées.



Figure 16 : Préparation des échantillons pour le dosage biochimique.

3.3.3.3. Extraction et dosage de vitellogénine

L'extraction des vitellogénine est réalisée selon la méthode de Descamps, 1996 in Fabre et *al.*, 1990. Il en résulte 3 couches distinctes, une couche de surnageant qui représente les lipides, un culot contenant des glycoprotéines et une couche intermédiaire renfermant les vitellogénines. Les échantillons sont extraits dans une solution mère de Tris-Hcl, consistent à diluer 3,02 g de tris (0,5 M) dans 300 ml d'eau distillée, puis ajuster cette solution à un pH de 7,4 avec de l'Hcl concentré et la compléter à 500 ml d'eau distillée. Pour réaliser le tampon complet : diluer 2,9 g de Nacl (0,5 M) dans 10 ml de la solution mère de tris-Hcl compléter à 100 ml d'eau distillée. Le dosage des vitellogénine s'effectue avec un réactif de bleu brillant de comassie (BBC). **Le dosage des vitellogénine est réalisé comme suit :**

- Prendre 100 µl de la couche intermédiaire obtenue après centrifugation (5000 tours pendant 10minutes)
- Ajouter 4 ml de BBC, bien agiter puis passer à la lecture des absorbances au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm contre un blanc de gamme.
- Les résultats de vitellogénine sont exprimés en µl/mg de tissu.

3.3.3.4. Dosage de catalase

L'activité de la Catalase (CAT) est déterminée selon la méthode de Greenwald (1985). Elle est basée sur la mesure des absorbances après la réduction de H₂O₂ à une longueur d'onde de 240 nm dans un spectrophotomètre UV. Les gonades sont homogénéisées dans 1 ml de tampon phosphate (50 mM, pH 7). L'homogénat est centrifugé à 15000 trs/min pendant 15 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme. Le dosage est réalisé selon le tableau suivant :

Tableau 1 : Dosage de la catalase

| | Volume du surnageant (ml) | Volume du tampon phosphate (ml) | Solution H ₂ O ₂ (20 mM) (ml) |
|-------------|---------------------------|---------------------------------|---|
| Blanc | 0,1 eau distillée | 1 | 0,1 |
| Echantillon | 0,1 | 1 | 0,1 |

La lecture des absorbances est effectuée toutes les 5 secondes pendant 30 secondes à une longueur d'onde de 240 nm. L'activité spécifique est déterminée par la formule suivante :

$$CAT (\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta D_0/\text{min} \times l}{0,043 \times V} / \text{mg de protéines}$$

$\Delta D_0 = \Delta D_0/\text{mn}$ (blanc) - $\Delta D_0/\text{mn}$ (Echantillon)

0,043: coefficient d'extinction molaire du peroxyde d'hydrogène.

l : volume total dans la cuve

V : volume du surnageant : 0,1 ml.

3.4. Traitement statistique des données

Le traitement statistique de nos données est effectuée avec le logiciel MINITAB 16.00 fr d'analyse et traitement statistique des données. Les données sont représentées par la moyenne \pm l'écart type établie sur un effectif ou un nombre de répétitions précisé dans les figures et les tableaux. Les moyennes des séries témoins et traitées ont été comparées en utilisant l'ANOVA avec un seuil de signification $P = 0,05$. Les résultats des paramètres toxicologiques et biochimiques ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère (traitement) et à deux critères (traitement et temps) de classification.

Résultats

4. Résultats

4.1. Paramètres physico-chimiques de l'eau de mer

Dans le but d'étudier la qualité des eaux de trois sites (la plage de Collo, la plage de Château vert et la plage de Righa) du littoral de Skikda, une mesure des paramètres physicochimiques a été réalisée dans ces sites durant le mois de Mars 2023.

Le pH

Le pH de nos échantillons (tableau 3) varie de 7,20 dans les eaux de la plage de Righa et 7,85 dans la plage de Collo. Selon le tableau 3 les pH enregistrés dans les trois sites étudiés sont inférieure à la norme Algérienne qui est 8,5 (J.O.R.A., 2006) indiquant un pH proche de la neutralité.

La conductivité électrique

Dans les eaux de nos trois sites d'étude, la conductivité électrique (tableau 3) passe de 55500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ dans la plage de château vert et 56 700 $\mu\text{S}/\text{cm}$ dans la plage de Collo. Cette dernière valeur est supérieure à la norme de la conductivité des eaux marines et qui est fixée à 56000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (OMS, 2008).

Les concentrations d'oxygène dissous (OD)

Les valeurs de l'oxygène dissous sont représentées dans le tableau 3. La valeur maximale d'oxygène dissous a été enregistrée dans les eaux de la plage de Château vert (7,26) et que la valeur minimale (7,09) a été enregistrée dans les eaux de Righa. Nos valeurs sont inférieures à la valeur limite supérieure d'oxygène dissous qui est 10mg /l (Journal officiel de la république algérienne n° 46, 1993)

Les matières en suspension (MES)

Les normes nationales (Décret exécutif 06-141 du 19 avril 2006 / JORADP / 23-04-2006) fixent la valeur limite pour les MES, dans les effluents liquides, à une concentration de 35 mg/l. Les valeurs de MES (tableau 3) mesurées dans nos sites d'étude varient de 4,1 mg/l dans la plage de Collo à 5,1 mg/l à château vert ce qui indique que la MES de ces sites est dans les normes. De plus, selon l'échelle de la classification (tableau 2) de l'état des eaux (SEQ-EAU, 1990) les eaux de nos trois sites sont qualifiées de très bonnes qualités.

Tableau 2 : Echelle de la classification de l'état des eaux selon la MES (SEQ-EAU, 1990)

| | | | | | |
|-------------------------|-------------|--------|----------|---------|--------------|
| MES (mg/l) | <20 | 50 | 100 | 150 | >150 |
| Qualité de l'eau | Très Bonnes | bonnes | Passable | Mauvais | Très mauvais |

Le cuivre et de phosphate

La présence de cuivre et de phosphate (tableau 3) dans les eaux des sites de prélèvement (plage de Collo, plage de Righa et plage de château vert) est indiquée comme "Trace" ce qui signifie que ces éléments sont présents à des concentrations très faibles et potentiellement négligeables.

La salinité

La salinité est mesurée en termes de salinité totale en parties pour mille (ppt) ou en pourcentage (%). Dans cette étude, elle est exprimée en ppt et elle est variée de 36,7 dans la plage de château vert à 37,6 dans la plage de Righa ce qui indique que salinité (tableau 3) est dans la norme. Ces valeurs sont inférieures à la salinité des eaux de la Méditerranée, qui avoisine 38 ppt.

Tableau 3 : Paramètres physicochimiques de l'eau prélevés de trois sites (la plage de Collo, la plage de Château vert et la plage de Righa) durant le mois de Mars 2023.

| Sites | Plage de Collo | Plage de Righa | Plage de Château vert |
|------------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------------|
| Paramètres | | | |
| Ph | 7,85 | 7,20 | 7,65 |
| Conductivité (µs/cm) | 55700 | 56700 | 55500 |
| OD (mg/l) | 7,12 | 7,09 | 7,26 |
| MES (mg/l) | 4,1 | 4,4 | 5,1 |
| Cuivre (mg/l) | Trace | Trace | Trace |
| Phosphate (mg/l) | Trace | Trace | Trace |
| Salinité (ppt) | 36,8 | 37,6 | 36,7 |
| Dureté (CaCo3) (mg/l) | 989 | 926 | 975 |

La dureté de l'eau

La dureté des eaux correspond à la somme des concentrations en cations métalliques à l'exception des métaux alcalins et de l'ion hydronium. L'analyse de la dureté de l'eau a été réalisée sur trois échantillons provenant des sources Collo, Righa et Château vert (tableau 3). Les résultats obtenus varient entre 926 mg/l et 989 mg/l. Ces valeurs sont inférieures de la limite qui est d'environ 750 degrés français ($1^{\circ}f = 10 \text{ mg/L CaCO}_3$).

4.2. Toxicologie du plomb à l'égard de l'oursin, *p. lividus*

4.2.1. Mortalité observée

Dans l'objectif de déterminer les concentrations létales du plomb à l'égard de l'oursin commun, l'acétate de plomb a été additionné dans l'eau d'élevage des adultes de l'oursin *Paracentrotus lividus* à trois doses 1, 3, et 8 mg/L. Les résultats sont mentionnés dans le tableau 4. La mortalité observée augmente avec la concentration du plomb additionné dans l'eau d'élevage avec des taux variant de 11,11 (3 mg/L) à plus de 22,22 (8 mg/L) après 24 heures de traitement. Le taux de mortalité observée augmente progressivement avec le temps pour atteindre 55,55 (3 mg/L) et 100 (8 mg/L) après 96 heures d'exposition au plomb.

Tableau 4 : Effet de l'acétate de plomb additionné dans l'eau d'élevage des oursins de *Paracentrotus lividus* sur la mortalité observée

| Doses (mg/l) | Temps (heures) | | | |
|--------------|----------------|-------|-------|-------|
| | 24 | 48 | 72 | 96 |
| Temoins | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 11,11 | 33,33 | 44,44 | 55,55 |
| 3 | 11,11 | 44,44 | 77,77 | 88,88 |
| 8 | 22,22 | 55,55 | 100 | 100 |

4.2.2. Mortalité corrigée

La mortalité corrigée calculée à partir de mortalité observée des oursins exposés au plomb indiquent une corrélation positive entre les taux de mortalité et le temps d'exposition durant la période de traitement (96 h).

Tableau 5: Effet de l'acétate de plomb additionné dans l'eau d'élevage des oursins de *Paracentrotus lividus* sur la mortalité corrigée (%)

| Doses (mg/l) | Temps (heures) | | | |
|--------------|----------------|-------|-------|-------|
| | 24 | 48 | 72 | 96 |
| Témoins | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 11,11 | 33,33 | 44,44 | 55,55 |
| 3 | 11,11 | 44,44 | 77,77 | 88,88 |
| 8 | 22,22 | 55,55 | 100 | 100 |

4.2.3. Détermination des doses létales

L'équation de la droite de régression exprimant la mortalité en fonction des doses de l'acétate de plomb additionnée à l'eau d'élevage des oursins adultes de *Paracentrotus lividus* (Fig. 17). Le coefficient de détermination ($R^2= 0.9998$) révèle une liaison positive entre les mortalités et les doses testées. Les concentrations CL25 et CI50 déterminées à partir de la droite de régression sont respectivement: 0,41 mg/L et 4,78 mg/L.

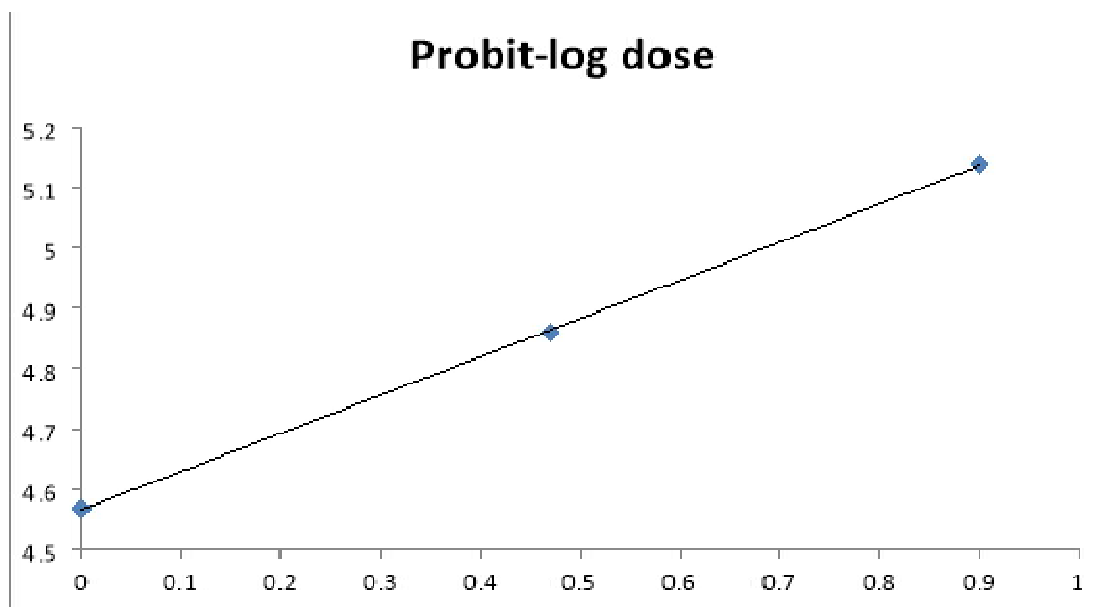


Figure 17 : Effet de l'acétate de plomb additionné dans l'eau d'élevage des oursins de *Paracentrotus lividus* sur la mortalité corrigée. Courbe de référence exprimant le probit de la mortalité corrigée en fonction de log la dose.

4.3. Effet du traitement sur la composition biochimique des gonades

4.3.1. Effet sur le taux de vitéloginnine

Le taux de vitellogénine chez les femelles de *P. lividus* est déterminé selon la méthode de Descamps, 1996 in Fabre et al. (1996). Le taux de vitellogénine a été déterminé à différents temps (24, 48, 72 et 96 heures) de traitement au niveau des gonades des femelles témoins et traités avec le plomb (Fig. 18). Nos résultats montrent que le plomb induit une réduction du taux de vitellogénine dans les gonades de ces oursins à partir de 24 heures d'exposition à la CL25 et la CL50. L'inhibition maximale du vitellogénine a été notée après 96 heures de traitement avec la CL50 ($0,3739 \pm 0,1375$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu). La comparaison avec l'ANOVA à deux critères critère de classification des valeurs moyennes de vitellogénine des adultes témoins et traités à différents temps d'exposition révèle des différences hautement significatives ($p < 0,001$) entre les témoins et les traités à partir de 24 heures de traitement avec les deux concentrations.

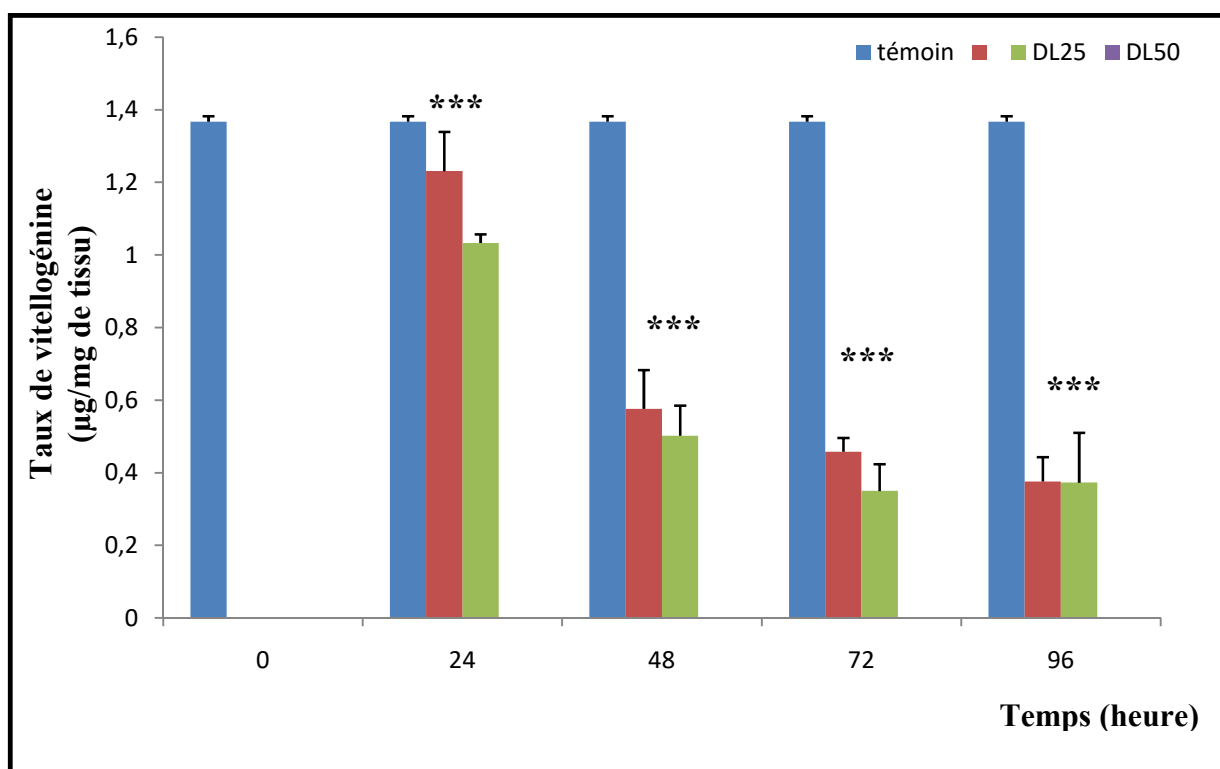


Figure 18 : Taux de vitellogénine ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) dans les gonades de l'oursin *paracentrotus lividus* au cours d'un traitement continu avec le plomb ($m \pm s$; $n=3$). Les astérisques au-dessus des séries traitées indiquent une ($p < 0.05$; **: différence significative à $p < 0.01$; ***: différence hautement significative à $p < 0.001$).

4.3.2. Effet sur le taux de catalase :

Le traitement des adultes de l'oursin *Paracentrotus lividus* avec le plomb à deux doses (DL25 et DL50) provoque une diminution marquée de l'activité spécifique de la CAT dans les gonades des oursins à partir de 24 heures d'exposition (Fig19). L'induction maximale du taux de catalase a été notée après 96 heures et atteint $8,756 \pm 1,237$ et $4,569 \pm 1,376$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu chez les oursins traités avec les deux doses, DL25 et DL50, respectivement. L'augmentation de l'activité spécifique de la CAT dépend de manière hautement significative ($p < 0,001$) du traitement, de temps et de l'interaction traitement-temps

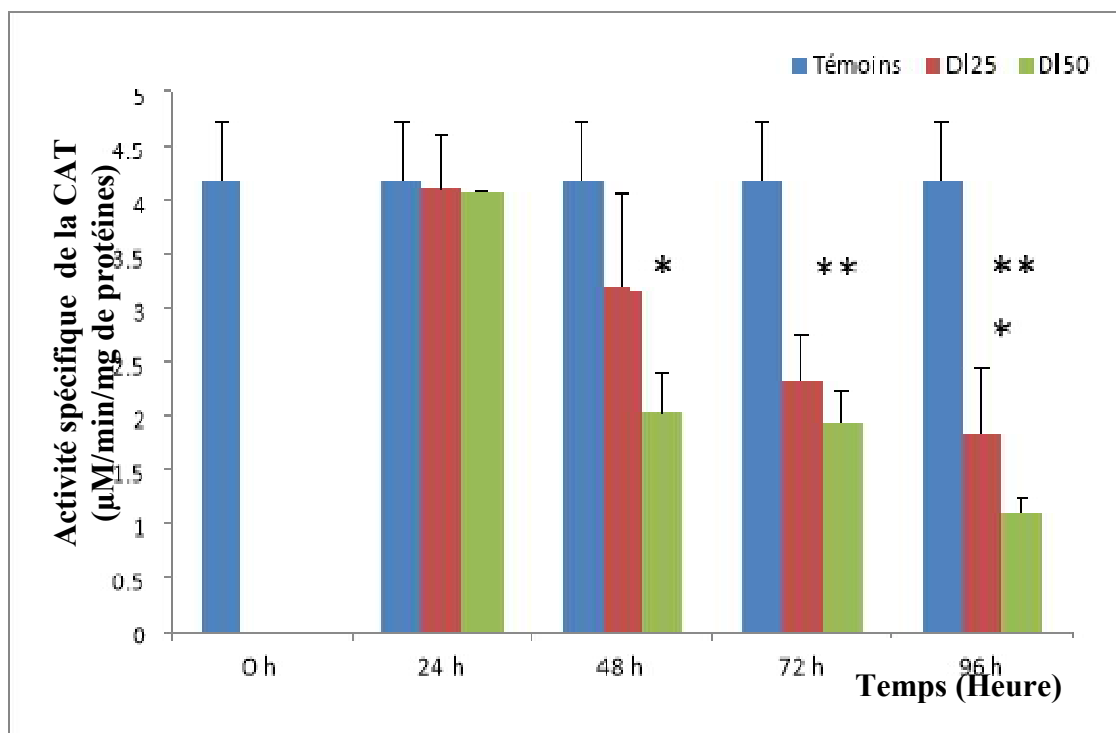


Figure 19: Activité spécifique du CAT ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les femelles adultes de *l'oursin paracentrotus lividus* exposées au plomb (DL25 et DL50) ($m \pm s$; $n=3$). Les astérisques au-dessus des séries traitées indiquent une différence significative t (*: différence significative à $p < 0.05$; **: différence significative à $p < 0.01$; ***: différence significative à $p < 0.001$).

Discussion

5. Discussion

Paramètres physicochimiques de l'eau

La qualité biologique et le niveau de pollution d'un milieu aquatique sont étroitement liés à la composition physicochimique de son biotope (Ben Messaoud, 2007). Il est donc important avant de collecter notre matériel biologique, d'examiner les facteurs physicochimiques essentiels des sites choisis comme sites d'étude. Les paramètres mesurés sont: le pH, la conductivité électrique, l'oxygène dissous, les matières en suspension, la salinité et la dureté de l'eau.

Le pH est une grandeur importante en chimie, en biologie et dans de nombreux autres domaines scientifiques, car il influence de nombreux processus chimiques, réactions et équilibres dans les systèmes naturels et les organismes vivants (Atkins et de Paula, 2017). Les pH élevés des eaux augmentent les concentrations d'ammoniac, un élément très toxique pour les poissons. Par ailleurs, les pH faibles augmentent le risque de l'ionisation de métaux (forme plus toxique). Les résultats indiquent que le pH de l'eau de mer de trois sites se situe dans les limites normales, entre 6,5 et 8,5 (J.O.R.A., 2006)). Nos résultats sont similaires aux résultats signalés dans des travaux antérieurs réalisés dans au niveau des deux baies de Skikda et de Collo (Mézédjri *et al.*, 2008; Boudelaa et Medjram, 2011). Ces pH ne présentent pas de danger pour la faune et la flore aquatiques, car seuls les pH inférieurs à 5 ou supérieurs à 9 sont mortelles (Diagne *et al.*, 2017) .

La conductivité permet de déterminer la capacité de l'eau à conduire l'électricité. Elle permet de mesurer la quantité de sels dissous dans l'eau (Pescod, 1985; Rodier, 1996) et d'évaluer l'état de santé de l'eau (Ghazali et Zaid, 2013). Elle permet aussi d'évaluer et de suivre l'évolution de la minéralisation globale de l'eau. Ce paramètre est utilisé comme indicateur de pollution dans les études environnementales. Elle permet de différencier les apports en sels d'origine naturelle et/ou anthropique. Les valeurs de la conductivité dans les eaux de Collo et Château vert sont dans les normes. Cependant, le troisième site (la plage de Righa) dépasse la norme de la conductivité des eaux marines qui sont de l'ordre 56000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (OMS, 2008). Ce dépassement peut être expliqué par les déversements d'eaux usées ce qui augmente la quantité de particules en suspension dans l'eau et par conséquent la minéralisation et la conductivité (Rodier, 2005). La conductivité élevée crée un déséquilibre dans la disponibilité des métaux libres pour la faune et la flore (Subin, 2013). De plus, une EC élevée signifie la présence des ions qui peuvent être dangereux (Fall, 2007).

L'oxygène dissous est l'un des plus importants paramètres pour la vie aquatique et constitue un bon indicateur de la qualité des eaux. sa valeur nous renseigne sur le degré de pollution et de l'autoépuration (Belghiti *et al.*, 2013). La dégradation de la matière polluante

provoque une diminution de la teneur en oxygène dissous dans le milieu, produisant un déséquilibre dans le maintien et le développement de la flore et la faune aquatiques (Afri-Mehennaoui, 1998). L'atmosphère et l'activité photosynthétique des plantes aquatiques et des algues sont les principales sources de l'oxygène dissous dans le milieu aquatique. Nos résultats montrent que le taux de l'oxygène dissous dans les trois sites et dans les normes qui est 10mg /l (Journal officiel de la république algérienne n° 26, 2006). En effet, ce paramètre varie en raison de mélanges entre les masses d'eau, des échanges entre l'air et la mer, de la respiration de la biomasse (ensemble des organismes aquatiques) et de la photosynthèse (Rodier, 2009). De plus, l'oxygène dissous est corrélé variations saisonnières de la salinité, la température et également à l'hydrodynamisme qui diminue le renouvellement de l'eau oxygénée (Florian, 2011).

Les matières en suspension se définissent comme l'ensemble des particules minérales et organiques de toutes tailles et de toutes formes, vivantes ou détritiques, de nature, soit biogénique (bactéries, phytoplancton, poissons), soit terrigène (apports fluviaux, produits de l'érosion des côtes, débris déversés par l'homme), soit éolienne (particules transportées par les courants atmosphériques et tombants dans la mer) (Invanoff, 1972). Les résultats obtenus dans notre étude indiquent que les teneurs en MES dans les trois sites d'étude sont dans les normes algériennes (40 mg/L). Les fortes teneurs de matières en suspension sont considérées comme une forme de pollution. Elles peuvent accumuler des quantités élevées de matières toxiques (pesticides, huiles minérales, métaux, hydrocarbures aromatiques polycycliques...). Ces matières agissent sur la pénétration de la lumière et la transparence de l'eau et par conséquent la photosynthèse.

Le cuivre est un métal essentiel pour l'homme et l'animal. Il joue un rôle essentiel dans de nombreuses voies métaboliques telles que la formation d'hémoglobine et la maturation des polynucléaires neutrophiles. Le cuivre est introduit dans le milieu aquatique par deux voies : naturelle (géologique) et anthropique (l'exploitation minière, la production de métaux, la production de bois, ...). Le cuivre est un métal essentiel mais toxique à forte dose. Les sels de cuivre (le sulfate de cuivre et l'hydroxyde de cuivre) sont très utilisés en agriculture comme pesticides. Le sulfate de cuivre est aussi utilisé comme supplément alimentaire. Les phosphates sont des composés phosphorés. Le phosphore est un élément minéral nutritif essentiel pour les végétaux, présent entre autres dans l'ADN et les molécules énergétiques type ATP. Les phosphates ont deux origines : naturelle (décomposition de la matière vivante, lessivage de minéraux contenant du phosphore) et anthropique (engrais, déjections animales, stations

d'épuration, eaux traitées aux phosphates, industrie chimique, . . .), mais leur présence dans les eaux est principalement associée à des apports anthropiques.

D'après les analyses effectuées, les résultats montrent qu'il n'y a aucune trace du cuivre et du phosphate dans l'eau de nos sites de prélèvement. La toxicité du cuivre vis à vis des organismes marins est liée à sa forme chimique et à son état d'oxydation. La dissociation des formes métalliques à des formes ioniques dépend des caractéristiques physico-chimiques du milieu (pH, dureté, teneurs en autres éléments inorganiques). La toxicité du phosphate est liée à sa concentration. La présence de cet élément dans les eaux à forte concentration provoque un déséquilibre de l'écosystème en favorisant le phénomène d'eutrophisation des lacs et des cours d'eau et le développement massif d'algues (Cemagref, 2004).

La salinité correspond à la teneur en sels dissous de l'eau de mer, elle peut être mesurée et exprimée de différentes manières suivant que l'on considère l'ensemble des corps, ou seulement les sels dominants (Rodier, 1996). La salinité est influencée par la variation saisonnière de la température. En effet, une température élevée provoque une forte évaporation et une baisse des précipitations et par conséquent une augmentation de la salinité (Soucek, 2007). Nos résultats (varient de 36,7 dans la plage de château vert à 37,6 dans la plage de Righa) sont dans les normes (38 ppt). En effet, La salinité influence la biodisponibilité des métaux (Mouneyrac *et al.*, 2009). Des études ont indiqué que les espèces exposées à de faibles salinités, augmentent leur consommation d'oxygène et altèrent l'utilisation du métabolisme énergétique (Einarson, 1993). La salinité est un facteur naturel influençant les taux de métaux (Roesijadi, 1994). Enfin, Les espèces aquatiques ne supportent généralement pas des variations importantes en sels dissous qui peuvent être observées par exemple en cas de déversements d'eaux usées.

La dureté de l'eau est une mesure de la concentration des minéraux, principalement du calcium et du magnésium, présents dans l'eau. La présence de ces deux cations dans l'eau tend souvent à réduire la toxicité des métaux. La dureté se mesure en mg de CaCO₃ par litre ou le degré français (°f ou °fH). Selon le degré de dureté, on peut distinguer trois types des eaux : les eaux douces (moins de 20 °f), mi-dures à dures (entre 20 et 30 °f) et les eaux très dures (plus de 30°f). Les résultats de notre étude indiquent que la dureté des eaux des trois sites (entre 926 mg/l et 989 mg/l) est inférieure de la limite qui est d'environ 750 degrés français (1°f = 10 mg/L CaCO₃) et que ces eaux sont qualifiées comme des eaux très dures. En effet, l'eau dure ne présente aucun danger pour la santé, mais peut avoir un impact sur plusieurs aspects, tels que la qualité de l'eau potable, l'entartrage des tuyauteries et des appareils électroménagers et

l'efficacité des produits de nettoyage. Par contre, une eau très douce, peut provoquer un effet corrosif sur les canalisations et conduire à la présence des particules métalliques issues des conduites dans l'eau. L'eau trop douce est paradoxalement appelée « eau agressive ».

Etude toxicologique

La dose létale médiane (DL50) est la mesure la plus couramment utilisée pour les essais de toxicité aiguë d'une substance. Une valeur LD50 inférieure signifie une toxicité relativement plus grande, ce qui indique qu'il faut moins de substance pour que l'organisme d'essai meure. Dans cette étude, la toxicité aiguë (24 h) du plomb a été testée sur des oursins adultes *P. lividus* en ajoutant ce métal à l'eau d'élevage. Les tests toxicologiques montrent que la mortalité observée et corrigée augmentent au fur et à mesure que les concentrations sont testées. De plus, ces tests ont permis de déterminer les doses DL25 et DL50 à partir d'une droite de régression exprimant la mortalité en fonction des doses de plomb pour l'oursin *Paracentrotus lividus*. Les résultats obtenus à partir de notre étude ont également montré un accord avec les résultats de (Khalifaoui *et al.*, 2022).

Etude biochimique

La vitellogénine est une protéine produite par les femelles de nombreuses espèces animales, dont les oursins. Chez les deux sexes l'oursin, la vitellogénine est élaborée par les gonades et l'intestin (Shiu, 1986). La production de vitellogénine est stimulée par les hormones sexuelles, en particulier l'œstradiol. Lorsque le niveau de ce dernier augmente, la production de vitellogénine augmente également, ce qui entraîne une augmentation de la taille et du nombre d'œufs produits par l'oursin femelle. Cette hormone est utilisée comme biomarqueur de la pollution environnementale. Les polluants environnementaux tels que les métaux lourds peuvent perturber la production de vitellogénine chez les oursins, ce qui peut avoir des effets négatifs sur leur santé et leur reproduction. Le traitement des oursins adultes par le plomb à deux doses (DL25 et DL50) induit une diminution du taux de vitellogénine à partir de 24 heures d'exposition. Nos résultats contredisent les résultats de (Khalifaoui *et al.*, 2022) où une augmentation des taux de vitellogénine a été observée. Le mécanisme d'action du plomb est d'inhiber l'action des enzymes responsables de la formation de la vitellogénine, et conduit ainsi à une diminution de ses niveaux. Cette diminution peut être aussi due à une baisse de la fonction des gonades qui modifie le trafic, la libération ou la production de vitellogénines. Une réduction du niveau de vitellogénine a été observée dans l'ovaire des femelles *Procambarus clarkii* exposées à l'atrazine (Silveyra *et al.*, 2018).

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) peuvent être piégées et métabolisées par diverses protéines enzymatiques et non enzymatiques localisées dans le cytoplasme et les organites cellulaires (Lemaire *et al.*, 1994). L'augmentation de la production de ROS peut induire ou inhiber l'activité et la synthèse de ces composés antioxydants dont l'étude donne une indication sensible de la présence de contaminants générateurs de ROS (Lopes *et al.*, 2001). La catalase est une enzyme présente dans de nombreux organismes, dont les oursins. La fonction principale de cette enzyme est de protéger les systèmes biologiques contre les ROS (Roméo *et al.* 2000). Elle décompose le peroxyde d'hydrogène, une molécule qui peut être toxique pour les cellules en grande quantité, en eau et en oxygène moléculaire (Orbea *et al.*, 2002). Les résultats obtenus après exposition des oursins adultes au plomb montrent une réduction du taux de catalase à partir de 24 heures de traitement et cette diminution est corrélée avec la concentration. La réduction de l'activité spécifique de la CAT dans notre étude traduit la réponse des oursins à l'augmentation de la génération de ROS avec le plomb. L'exposition de nos oursins au plomb entraîne une augmentation des niveaux d'oxydation dans leurs tissus et peut donc provoquer un stress oxydatif et des dommages cellulaires. La catalase peut jouer un rôle important dans leur système de défense et leur capacité à résister aux effets toxiques de ce métal. Les faibles niveaux de catalase peuvent entraîner une accumulation accrue de métaux lourds dans les tissus animaux, ce qui peut éventuellement entraîner des lésions tissulaires et organiques et un risque accru de maladie. Ainsi, des niveaux réduits de catalase chez les oursins exposés au plomb pourraient affecter négativement la santé de ces animaux.

Conclusion et perspectives

6. Conclusion et perspectives

Les métaux lourds peuvent être à l'origine de perturbations à court et à long terme des écosystèmes aquatiques récepteurs, en particulier pour les animaux sensibles aux pollutions aussi bien organiques que métalliques. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'état de santé de l'eau de mer du littoral de Skikda et de déterminer les concentrations létales du plomb et l'impact, dans des conditions contrôlées, de ce métal à l'égard des adultes femelles de l'oursin commun, *Paracentrotus lividus*. Six facteurs physicochimiques (le pH, la conductivité électrique, l'oxygène dissous, les matières en suspension, la salinité et la dureté de l'eau) ont été mesurés dans trois sites du littoral de Skikda (la plage de Collo, la plage de Righa et la plage de Château vert). Les doses létales et les paramètres biochimiques (vittélogénine et catalase) ont été déterminés à différents temps (24, 48, 72 et 96 heures) de traitement.

Les analyses physico-chimiques réalisées montrent que tous les paramètres mesurés sont dans les normes (Algérienne ou OMS) à l'exception de la conductivité électrique dans la plage de Righa qui est supérieur à la norme.

L'étude toxicologique montre que le traitement des adultes de *l'oursin commun*, *Paracentrotus lividus* avec le plomb provoque une mortalité progressive avec le temps. De plus, une corrélation positive entre les mortalités observée et corrigée et les doses testées a été enregistrée. Les concentrations CL50 et CL25 déterminées à partir de la droite de régression exprimant les probits la mortalité en fonction de logarithmes décimaux des doses de plomb ont été calculées.

Le plomb additionné dans l'eau d'élevage des adultes de l'oursin commun, *P. lividus* à deux doses correspondent aux DL25 et DL50 de ce métal contre cette espèce provoque des perturbations plus ou moins marquées sur la composition biochimique des gonades. il y'a une diminution significative du taux vitellogénine et de l'activité de la catalase.

Les variations de ces paramètres traduisent la toxicité de ce métal (plomb) à l'égard de cette espèce.

En perspective : il conviendrait de poursuivre ces recherches par:

- La réalisation des tests de toxicité pour déterminer la DL25 et la DL50 chez les alevins de *P. lividus*.
- Déterminer les effets des métaux lourds chez les oursins mâles et femelles de *P. lividus* et la faune associée.

Références bibliographiques

Référence bibliographique

- Afri-Mehennaoui F.Z.**, 1998. Contribution à l'étude physico-chimique et biologique de l'Oued KébirRhumel et de ses principaux affluents. Thèse de Magister en Ecologie. Université Mentouri Constantine, 238 pp.
animales. 1- Cycle. Univ. Ed. DUNOD. p.128-140.
- Atkins, P., et Paula, J.**, 2017 "Chimie générale : Principes et applications modernes" 4e édition Bibliothèque nationale, Paris. P.472
- Azzolina JF.**, 1988. Contribution à l'étude de la dynamique des populations de l'oursin comestible *ParacentrotusLividus* (Lmck.). Croissance, recrutement, mortalité, migrations. Thèse Doct. Univ. Aix-Marseille II. P. 242
- Beaumont A. et Cassier P.**, 1978. Biologie animale des Protozoaires aux Métazoaires
- Beaumont. A. Cassier, P. Trechot, J.P.**, 1998. Biologie et physiologie
- BELGHITI M.L.1 , CHAHLAOUI A.1 , BENGOUNI D.2 , EL MOUSTAINE R.**, 2013. ETUDE DE LA QUALITE PHYSICO-CHIMIQUE ET BACTERIOLOGIQUE DES EAUX SOUTERRAINES DE LA NAPPE PLIO-QUATERNAIRE DANS LA RÉGION DE MEKNÈS (MAROC). Larhyss Journal, 14 : 21-36.
- Ben Messaoud F.**, 2007. Qualité physicochimique, métallique et bactériologique des eaux de l'estuaire de Bou Regreg et impact sur la biologie et la démographie de *Venerupis decussata* (LINNE, 1758) et *Cardium edule* (LINNE, 1758). Thèse de doctorat d'état. Université Mohammed V. Rabat. 306p
- Boudelaa S, Medjram MS.** Assessment of chemical and petrochemical effluent:—case of hydrocarbon pole of Skikda, Algeria. Eur J Sci Res. 2011; ISSN 1450-216X: 63(4):563–84.
- Bourdoureuque and Marc V.**,2001. Ecology of *Paracentrotuslividus*. Centre of Oceanology of Marseille, Campus of Luminy 13288 Marseille cedex 9, France. p.178-200.
- Brown, R.M., McClelland, N.I.**,2014. Water Quality Monitoring: A Practical Guide to the Design and Implementation of Freshwater Quality Studies and Monitoring Programs. CRC Press.
- Casas S.**, 2005. Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu, et Zn) chez la moule. *Mytilusgalloprovincialis* en milieu méditerranéen. these doctorat université de Toulon, France.p. 301.
- CEMAGREF.** 2004. Traitement du phosphore dans les petites stations d'épuration à boues activées, Document technique FNDAE n ° 29, France.
- Cossa D, Elbaz-Poulichet F, Gnassia-Barelli M, Romeo M.**, 1993. Le plomb en milieu marin. Bio géochimie et éco toxicologie. Repères Océan, n° 3 Ed Ifremer.p.76.
- Einarson S.**, 1993. Effects of temperature, seawater osmolarity and season on oxygen consumption and osmoregulation of the amphipod *Gammarus oceanicus*. Mar. Biol., 117: 599–606.
- Emad F.**, 2008. Coure : pollution de eaux avec les métaux lourds ; Université Alkahira. Epithélioneuriens tome I 2eme Edition, Dunod, Univ, : 447p Biological Association of the United Kingdom.p.73: 179-193.

- Fall C.**, 2007. Etude de la qualité de l'eau de robinet et celle de la nappe phréatique dans les différentes communes d'arrondissement du département de Guédiawaye, Dakar, Sénégal. Thèse de Doctorat. Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal.
- Fenaux L.**, 1968. Maturation des gonades et cycle saisonnier des larves chez *A. lixula*, *P. lividus* et *P. microtuberculatus* (échinides) à Villefranche-sur-Mer. Vie Milieu 19.p.1-52.
- Fernandez C.**, 1996. Croissance et nutrition de l'oursin *Paracentrotus lividus* dans le cadre d'un projet aquacole avec alimentation artificielle. These Doctorat. Université de Corse. P.200.
- Fischer W. Schneider M. Bauchot M.L.**, 1987. Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. Méditerranée et Mer Noire. Zone de Pêche 37. Révision I.Vol.I.Végétaux et invertébrés. p.760. p23.
- Florian M.**, 2011. Etude des réactions mettant en jeu l'oxygène dans un système électrochimique lithium-air aqueux rechargeable électriquement. Thèse de Doctorat. UNIVERSITÉ DE GRENOBLE. France.
- GESAMP (IMO/FAO/UNESCO/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution.)**, 1988. Review of potentially harmful substances - Arsenic, mercury and selenium. Rep. Stud., GESAMP, (28). p.172. et UNEP Reg. Seas Rep. Stud., (92). p.172.
- Ghazali D. et Zaid A.**, 2013. Étude de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux de la source Ain Salama-Jerri (région de Meknès, Maroc). Larhyss Journal, (12). p.25-36.
- Goldberg E.D.**, 1979. La santé des océans. Paris, Unesco. p.188.
- Grasse P.**, 1948. Traité de zoologie anatomie, Systématique, Biologie Echinoderme
- Guillou M. and Michel C.**, 1993. Reproduction and growth of *Sphaerechinus granularis* (Echinodermata: Echinoidea) in southern Brittany. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 73. P.179-193.
- Harmelin, J. Bouchon C. et Hong, J.**, (1981). Impact de la pollution sur la distribution des échinodermes des substrats durs en Provence (Méditerranée nord-occidentale). Téthys, 10. P.13-36.
- Hutchinson T.C. et K.M. Meema.**, 1987. Lead, mercury and arsenic in the environment. SCOPE 31. Chichester, John Wiley and Sons. P.360.
- Invanoff A.**, 1972 : Paramètres physico-chimiques des eaux de mer. Edt Librairie Vuibert. Tome I. 208p.
- Journal officiel de la république Algérienne**, 2006. Les normes des rejets industriels (Réglementation Algérienne et européenne). Décret exécutif 06-141 du 19 avril 2006.
- Journal officiel de la république Algérienne**, 2006. Les normes des rejets industriels (Réglementation Algérienne et européenne). Décret exécutif N° 26 du 23-04-2006.
- Khalfaoui.R . Ahmed Laloui S . Ouaddah Z.**, 2022 Toxicité aiguë du plomb à l'égard de l'oursin commun, *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) , Skikda .
- Khatir Z. Leitao A. Lyons, B.P.**, 2020. The Biological Effects of Chemical Contaminants in the Arabian/Persian Gulf: A Review. Regional Studies in Marine Science, 33. P.100930.

- Kim M.**, 2004. determination of lead and cadmium in wines by graphite furnace atomic absorption spectrometry food additives and contaminants 21. P.154-157.
- Kurland L.T. S.W. Faro et H. Siedler.**, 1960. Minamata disease: the outbreak of a neurological disorder in Minamata, Japan, and its relation to ingestion of seafood containing mercury compounds. *World Neurol.* P.1: 370–395.
- Lawrence J.M.**, 2013. *Sea Urchins: Biology and Ecology*. 3rd edition, *Developments and Fisheries Science*, 38. P. 297-319.
- Le Gall. P. et D. Bucaille.**, 1987. Intérêt d'un élevage intensif de l'oursin violet, *Paracentrotus lividus*. Dans C.F. Boudouresque (Ed. présenté à Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles, Marseille, France : Gis Posidonie.), p.399-405.
- Lecchini D. Lenfant P. Planes S.**, 2002. Variation in abundance and population dynamics of the sea-urchin *Paracentrotus lividus* on the Catalan coast (North-western Mediterranean Sea) in relation to habitat and marine reserve. *Vie et Milieu*, 52 (2-3). P.111-118.
- Lemaire P., Matthews A., Förlin L. & Livingstone D. R.**, 1994. Stimulation of oxyradical production of hepatic microsomes of flounder (*Platichthys flesus*) and perch (*Perca fluviatilis*) by model and pollutant xenobiotics. *Arch. Environ. Cont. Toxicol.*, 26: 191-200.
- Lopes P. A., Pinheiro T., Santos M. C., da Luz Mathias M., Collares-Pereira M. J. & Viegas-Crespo A. M.**, 2001. Response of antioxidant enzymes in freshwater fish populations (*Leuciscus alburnoides* complex) to inorganic pollutants exposure. *Sci. Total Environ.*, 280:153-63.
- Lozano J. Galera J. Lopez S. Turon X. Palacin C. and Morera G.**, 1995. Biological cycles and recruitment of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in two contrasting habitats. *Marine Ecology Progress Series*, 122. p.179–191.
- Mézédjri L., A. Tahar et A.B. Djebbar**, 2008. Statistical Approach on the Impact of the Activity of the Industrial Zone of Skikda on the Quality of the Waters of Saf-Saf Wadi (Skikda Algerian East Coasts). *European Journal of Scientific Research*, 20(2) : 343-347.
- Miquel G.**, 2001. Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport de l'office parlementaire des choix scientifiques et technologiques n° 261 Sénat 5 avril 2001. p.366.
- Mouneyrac C., Durou C., Gillet P., Hummel H., Amiard-Triquet C.**, 2009. Linking energy metabolism, reproduction, abundance, and structure of *Nereis diversicolor* populations. In: Amiard-Triquet C. & Rainbow P.S. (Ed), *Environmental Assessment of Estuarine Ecosystems: A Case Study*. CRC Press – Taylor & Francis Group, Boca Raton, p159-181.
- Nédélec H.**, 1982. Éthologie alimentaire de *Paracentrotus lividus* dans la baie de Galeria (Corse) et son impact sur les peuplements phytobenthiques. Thèse Doct 3e cycle. Univ Aix-Marseille. P. 1-175.
- Nitta T.**, 1972. Marine pollution in Japan. Dans *Marine Pollution and Sea Life*. édité par M. Ruivo. West Byfleet. Surrey. Fishing News (Books). p. 77–81.

- Orbea A., Ortiz-Zarragoitia M., Sole M., Porte C., & Cajaraville M.P.**, 2002. Antioxidant enzymes and peroxisome proliferation in relation to contaminant body burdens of PAHs and PCBs in bivalve molluscs, crabs and fish from the Urdaibai and Plentzia estuaries (Bay of Biscay). *Aquat. Toxicol.*, 58: 75–98.
- Ouniou F. Judas A. et Lesquer-André E.**, 1997. Toxicité potentielle des eaux et des sédiments des principaux estuaires de la rade de Brest évaluée par deux bio-essais. *Annales de l'Institut océanographique*. 73. p.35-48.
- Peijnenburg. W. Posthuma. L. Eijsackers. H. and Allen. H.**, 1997. A Conceptual Framework for Implementation of Bioavailability of Metals for Environmental Management Purposes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 37. p.163-172.
- Pescod, M.B.**, 1985. Wastewater treatment and use in agriculture. Irrigation and Drainage Paper No. 47, FAO, Rome.
- Pillière F. Hervé B. Courtois B. Goutet P. Guillemain M.**, 2004. Le risque cancérigène du plomb. Évaluation du risque cancérigène lié à l'exposition professionnelle au plomb et à ses composés inorganiques. *Avis d'experts. Les Ulis: EDP Sciences*. p.105-54, 356.
- Regis M.B.**, 1978. Croissance de deux Échinoïdes du Golfe de Marseille (*Paracentrotus Lividus* (Lmk.) et *Arbacia lixula* L.). Aspects écologiques de la microstructure du squelette et de l'évolution des indices physiologiques. Thèse Doct d'État, Univ. Aix-Marseille III. p.221.
- Rodier J, Legube B, Merlet N.**, 1996 . *L'Analyse de l'Eau*, (8è éd). Dunod : Paris ; 1384.
- Rodier J. Bazin. C. Broutin, J-P. Chambon. P. Champsaur. H. Rodi, L.**, 1997. *L'Analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires et eaux de mer*, 8ème édition. Dunod, imprimé en Belgique. Dépôt légal septembre. p.66.
- Rodier J.**, 1996 : *L'analyse de l'eau (eaux naturelles, eaux résiduaires et eaux de mer)* 8ème Edition Dunod, Paris.
- Rodier J.**, 2005. *L'Analyse de l'eau - Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer*. 8e édition. Technique et ingénierie. 1381.
- Rodier J**, 2009. *L'analyse de l'eau - 10e édition. Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer*. OMS/PNUE ; Organisation Mondiale de la Santé 2011. Rapport historique sur les effets pour l'homme de l'exposition aux perturbateurs endocriniens chimiques. p.221.
- Rodier J.**, 1978. *L'Analyse de l'eau. Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer*. 5ème édition. Éd. Dunod, Paris.
- Roesijadi, G.**, 1994. Metallothionein induction as a measure of response to metal exposure in aquatic animals. *Environ. Health Perspect.* 102 (Suppl. 12), 91–95.
- Sadoud L.**, 1988 Contribution à l'étude de la biologie de l'oursin *Paracentrotus lividus* des régions d'Ain Chorb et de port d'Alger. *Mémo. D, E, S, Biol, Mar, U, S, T, H, B, Alger*. p.1-74.
- Sellem. F. Langar. H. et El Abed. A.**, 2001. Ecobiology and sustainable management of sea urchin in the southeast of the gulf of Tunis. In *Proceedings of the Fifth International Conference on the Mediterranean Coastal Environment, MEDCOAST 01, Hammamet, Tunisia, 23-27 octobre 2001* (ed. E. Ozhan), vol.2. p.833- 837
- Semroud R. Kada H.**, 1987. Contribution à l'étude de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Lamak) dans la région d'Alger (Algérie): indice de réplétion et indice gonadique. In:

- Boudouresque CF (ed) Colloque international sur ParacentrotusLividus et les oursins comestibles. GIS Posidonie, Marseille. p.177-124.
- Shiu MH. Karas M. Nisce L. Lee BJ. Filippa DA.,** 1982. Lieberman PH. Management of primary gastric lymphoma. Ann Surg;195. p.196–202.
- SHYU A.-B., RAFF R.A., BLUMENTHAL T.** (1986). Expression of the vitellogenin gene in female and male sea urchin. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 83, 3865-3869.
- Silveyra G.R., Silveyra P., Itzick Vatnick I., Medesani D.A., et Rodríguez E.M.,** 2018. Effects of atrazine on vitellogenesis, steroid levels and lipid peroxidation, in female red swamp crayfish Procambarus clarkia. Aquatic Toxicology. 197: 136-142.
- Soucek D.J.,** 2007. Sodium sulfate impacts feeding, specific dynamic action, and growth rate in the freshwater bivalve Corbicula fluminea. Aqua. Toxicol., 83: 315-322.
- Subin. Ph, h.,** 2013 an assessment on the impact of waste discharge on water quality of Priyar river lets in certain selected sites in the northern part of Ernakulam district in Kerala). Int. Res. J. Environment Sci., 2(6): 76-84
- Tomas. F. Romero. J. and Turon, X.,** 2004. Settlement and recruitment of the sea urchin Paracentrotuslividus in two contrasting habitats in the Mediterranean. Marine Ecology Progress Series, 282. p.173–184.
- VERLAQUE M.,** 1987. Relations entre Paracentrotuslividus (Lamarck) et le phytobenthos de Méditerranée occidentale in: Colloque International Sur ParacentrotusLividus Et Les Oursins Comestibles. GIS Posidonie Publ, Marseille. p.5-36.
- Wang. G. Su. M.-Y. Chen. Y.-H. Lin. F.-F. Luo. D. Gao. S.-F.,** 2006. Transfer characteristics of cadmium and lead from soil to the edible parts of six vegetable species in southeastern China. Environmental Pollution 144. p.127-135.
- Weinberg S.,** 1996. DÉCOUVRIR LA MÉDITERRANÉE. ed. Nathan nature. p.352.
- Wirtz P. Debelius H.,** 2003. MEDITERRANEAN AND ATLANTIC INVERTEBRATE GUIDE FROM SPAIN TO TURKEY, FROM NORWAY TO EQUATOR. I. A. Norrgren and L. L. Kautsky., 2001. Ecological Effects of Heavy Metals in the Baltic Sea: Present Situation, Extent and Perspectives. Swedish Environmental Protection Agency, Naturvardsverket, Stockholm. Sweden. p.196.
- Zaitsev Y.P.,** 1992. Perspectives of the ecological studies in the Black Sea. Oceanology, 32(4). p.198-202.

Site Web :

<https://maps.google.com>

<http://www.maxicours.com>

<https://fr.hach.com>