

Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

## **MASTER**

### *Thème*

Mise en évidence de l'effet de la pollution sur les paramètres spermatiques et de la fertilité chez l'oursin livide (*Paracenrotus lividus*) dans la région de Béjaïa.

Présenté par :

**MAHOUI Louiza et ISMAIL Sabrina**

Soutenu le : 14 septembre 2022.

Devant le jury composé de :

<b>Mr. Iguer-Ouada Mokrane</b>	Professeur	Président
<b>Mme. Sad Eddine Zennouche Ourdia</b>	MCA	Encadreur
<b>Mme. Chikhoun Keltoum</b>	MAA	Examineur
<b>Mr. Aissanou Sofiane</b>		Co-encadreur

**Année universitaire : 2021 / 2022.**

# Remerciements

*Ces quelques lignes vont nous permettre de remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de ce modeste travail et sans qui, il n'aurait pu aboutir.*

*En premier lieu, nous tenons à adresser nos sincères et vifs remerciements à notre encadreur, madame **SADEDDINE ZENNOUCHE Ourdia**, qui est à l'origine du sujet de ce mémoire, et qui a consacré un peu de son temps ci-cher pour nous accompagner le long de ce parcours fastidieux. Son soutien, ses encouragements, sa gentillesse et surtout ses qualités professionnelles nous ont été d'un grand apport.*

*Nous ne raterons pas cette occasion pour exprimer, nos meilleurs sentiments, notre grand respect et profonde gratitude à Monsieur **AISSANOU Sofiane**, pour son aide précieuse, sa disponibilité et pour avoir consacré un peu de son temps précieux, pour nous aider dans nos travaux pratiques et ce depuis le début.*

*Nos sincères remerciements et profonde gratitude à Monsieur **IGUEROUADA Mokrane**, d'avoir accepté de faire partie des membres du jury et qui nous a fait l'honneur de le présider.*

*Nos grands remerciements vont aussi à madame **CHIKHOUNE Keltoum** qui a aussi accepté de faire partie des membres de jury pour examiner ce projet.*

*Grands remerciements à mademoiselle **IHAMMOUCHENE Meriem** pour son aide inestimable, sa bonne humeur, sa patience angélique et sa présence tout au long de la préparation de ce mémoire.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à Mr **KECHA Yanis Lounas**, Mr **RABOUHI Yanis** et Mr **ABOU Nassim** pour nous avoir aidé dans l'opération d'échantillonnage.*

*Nous remercions également mesdemoiselles **ABERBOUR Assia** et **IDJERAOUI Dalila** pour leurs encouragements, conseils et leurs gentillesse.*

*Nous remercions tous les **membres du Laboratoire Associé en Écosystèmes Marins et Aquacoles de l'université de Bejaïa**, qui à un moment ou à un autre, nous ont apporté leur aide.*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*À mes chers parents qui m'ont apporté leurs soutiens et encouragements tout le long de mon cursus universitaire et qui ont été très patient et compréhensif, malgré les moments difficiles.*

*À mon très cher et adorable frère « Yacine » qui m'a épaulé tout le long de ce parcours parsemé d'embuches. Sa gentillesse, sa finesse, son tempérament drôle et joyeux, ont égayés mes jours et m'ont permis de surmonter tous les obstacles.*

*À mes oncles qui m'ont soutenu et encouragé et qui m'ont été d'un grand réconfort.*

*À mes ami(e)s de la FAC avec qui j'ai partagé des moments inoubliables.*

*MAHOUI Louiza*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail :*

*À mes très chers parents pour qui tous les mots de gratitude ne peuvent rendre justice à leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragement. Que Dieu les garde pour nous.*

*Mes sœurs et mes frères qui à travers leur aide, leur soutien et leur amour, m'ont appris à vivre et être ce que je suis aujourd'hui.*

*À mes deuxièmes parents Fahima et son mari IZIKI Mokrane*

*Je leur témoigne toutes mes sincères reconnaissances et je profite de l'occasion pour leur dire : « je vous aime très fort ».*

*À mon fiancé Mourad.*

*Tous mes amis et mes camarades, pour les bons moments passés ensemble en particulier ma très chère Meriem. Pour tous ceux qui me connaissent et qui m'ont aidé. Sans oublier ma binôme Louisa.*

***ISMAIL Sabrina.***

# Sommaire

Liste des figures

Liste des abréviations et quelques définitions

<b>Introduction.....</b>	<b>9</b>
<b>Chapitre I : Revue bibliographique</b>	
<b>I. Généralités sur <i>Paracentrotus lividus</i>.....</b>	<b>12</b>
1. Description .....	12
2. Classification .....	13
3. Morphologie externe.....	13
4. Anatomie interne.....	14
5. Écologie et biologie de l'espèce.....	15
5.1. Répartition géographique.....	15
5.2. Habitats .....	16
5.3. Alimentation .....	16
6. Reproduction .....	16
6.1. Développement larvaire.....	17
7. Intérêt écologique et économique de l'espèce.....	17
8. Modèle animale.....	18
<b>II. Fertilité de <i>Paracentrotus lividus</i>.....</b>	<b>18</b>
1. Paramètres spermatiques.....	18
1.1. Importance de l'évaluation de la qualité du sperme.....	18
1.2. Computer Assisted Semen Analysis (CASA) system.....	19
2. Reproduction artificielle de l'oursin <i>P. lividus</i> .....	19
2.1. Les gamètes.....	20
2.1.1. L'ovocyte .....	20
2.1.2. Le spermatozoïde .....	20
2.2. La fécondation.....	20
2.3. La segmentation .....	22
2.4. La gastrulation.....	23
2.5. La phase larvaire.....	23
<b>III. Pollution des écosystèmes marins.....</b>	<b>24</b>
1. Définition de la pollution marine .....	24
2. Sources de la pollution marine.....	24
<b>IV. Les huiles essentielles.....</b>	<b>25</b>
1. Généralités .....	25
2. Composition chimique des huiles essentielles .....	25
3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles .....	26
3.1. Méthodes conventionnelles d'extraction .....	26
4. Activités biologiques des huiles essentielles.....	27
5. Toxicité des huiles essentielles .....	27
6. L'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i> .....	28
<b>Chapitre II : Matériel et méthodes</b>	
<b>I. Zone d'étude .....</b>	<b>29</b>
1. La Brise de mer .....	29
2. Les Aiguades.....	29
<b>II. Matériel utilisé.....</b>	<b>30</b>

1. Matériel de terrain.....	30
2. Matériel de laboratoire .....	31
<b>III. Méthode de travail .....</b>	<b>31</b>
1. Collecte d'échantillon .....	31
2. Traitement au laboratoire.....	32
2.1. Filtration de l'eau de mer.....	32
2.2. Préparation de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba alba</i> .....	32
2.3. Préparation des bacs pour la fécondation artificielle .....	33
2.4. Dissection et préparation des pools de gamètes.....	33
2.5. Paramètres spermatiques.....	34
2.6. La fécondation artificielle .....	35
3. Suivi du développement embryonnaire.....	36
4. Mesure de la longueur larvaire.....	37
5. Analyse statistique.....	37
<b>Chapitre III : Résultats et discussion</b>	
<b>I. Évaluation des paramètres spermatiques chez l'oursin livide (<i>P. lividus</i>) .....</b>	<b>38</b>
1. Résultats .....	38
1.1. Mobilité .....	38
1.1.1. Mobilité totale et mobilité progressive .....	38
1.2. Cinétique de mouvement des spermatozoïdes des deux stations.....	39
1.2.1. Paramètres de progression (LIN, STR, WOB) .....	39
1.2.2. Paramètres de vitesse (VCL, VSL, VAP) .....	39
1.2.3. Paramètres de progression (ALH, BCF) .....	40
2. Discussion.....	41
<b>II. Effets de l'HE d'<i>Artemisia herba alba</i> sur la fécondation, le développement embryonnaire et larvaire dans les deux milieux (pollué et non pollué) .....</b>	<b>43</b>
1. Résultats .....	43
1.1. Suivi du développement à 24h .....	43
1.2. Suivi du développement à 48h .....	43
1.3. Suivi du développement à 72h .....	44
2. Discussion .....	45
<b>III. La mesure de la longueur larvaire des milieux pollué et non pollué (BDM et AGD) de <i>P. lividus</i> en fonction de différentes concentration d'HE d'<i>A. herba alba</i>.....</b>	<b>50</b>
1. Résultats .....	50
1.1. Longueurs larvaires à 48h .....	50
1.2. Longueurs larvaires à 72h .....	51
2. Discussion .....	52
<b>Conclusion .....</b>	<b>53</b>
Références bibliographiques	
Résumé	

## Liste des figures

N° Figure	Titre des figures	Page
1	Oursin commun <i>Paracentrotus lividus</i> (Pillon,2012).	12
2	Morphologie externe de <i>P.lividus</i> : vue du pole inférieur (Oral).	13
3	Morphologie externe de <i>P. lividus</i> : vue du pole supérieur (aboral) (Kaharudin,2020).	14
4	Anatomie d'un oursin adulte : tube digestif, système aquifère, appareil génital et système nerveux. Modifié d'après Grosjean (2001).	15
5	Schéma de la technique de frai induit des oursins violets par injection avec du KCl 0,5 (Mendes et al., 2019).	19
6	Fertilisation des oursins. La réaction acrosomique est déclenchée lorsque le sperme entre en contact avec la couche de gelée de l'ovule (Mueller et al., 2015).	21
7	Spermatozoïdes fécondants à la surface de l'ovule vus par microscopie électronique à balayage chez l'oursin ( <i>Paracentotus lividus</i> ).	22
8	Illustration schématique de la différence entre des ovocytes fécondés et non fécondés chez l'oursin (Mandes et al., 2019).	22
9	Schéma simplifié décrivant les étapes clés du développement et les premières activités moléculaires régulant la morphogenèse le long de l'axe DV de l'embryon d'oursin (Cavalieri et spinelli,2015).	24
10	Schéma du procédé d'extraction par hydrodistillation.	27
11	<b>Armoise blanche, Artemisia herba-alba, (F. PREVOT).</b>	28
12	Localisation des deux stations d'échantillonnage la Brise de mer et les Aiguades (google map).	30
-	-	-
14	Une épuisette de pêche.	30
15	Oursins <i>P.lividus</i> collecté dans les deux stations.	32
16	Papier Whatman	32
17	Filtration d'eau de mer.	32
18	Agitation magnétique.	32
19	Préparation des milieux.	33
20	Schéma explicatif de l'évaluation des paramètres spermatiques de <i>P.lividus</i> avec le système CASA (Computer Assisted Sperm Analysis)	34
21	Un oursin stimulé.	34
22	Cellule Makler	34
23	Un pool de gamètes femelles.	35
24	Un pool de gamètes mâles.	35
25	Les bacs de fécondation.	35
26	Schéma de préparation des milieux et fécondation in Vitro.	36
27	Observation des stades embryonnaire.	36
28	Mesure de longueur larvaire.	37

29	Histogramme représentant les pourcentages de la motilité (MT, MP) des SPZs des deux populations de <i>P. lividus</i> (AGD et BDM).	38
30	Histogramme représentant les paramètres de progression (LIN, STR, WOB) des SPZs des deux populations de <i>P. lividus</i> pour les deux milieux (AGD et BDM).	39
31	Histogramme représentant les paramètres de progression (VCL, VSL, VAP) des SPZs des deux populations de <i>P. lividus</i> (AGD et BDM).	40
32	Histogramme représentant les paramètres de progression (ALH, BCF) de SPZ des deux populations de <i>P. lividus</i> (AGD et BDM).	41
33	Histogrammes représentant les pourcentages de développement embryonnaires, larvaires et d'embryons dégénérés des deux populations de <i>P. lividus</i> dans les deux milieux (AGD, BDM) à 24H d'incubation.	43
34	Histogrammes représentant les pourcentages de développement embryonnaires, larvaires et d'embryons dégénérés des deux populations de <i>P. lividus</i> des deux milieux (AGD, BDM) à 48H d'incubation.	44
35	Histogrammes représentant les pourcentages de développement embryonnaires, larvaires et d'embryons dégénérés des deux populations de <i>P. lividus</i> (AGD, BDM) à 72H d'incubation.	45
36	Effets de l'HE d' <i>A. herba alba</i> sur la fécondation et le développement embryonnaire et larvaires des milieux propre (AGD) de <i>P. lividus</i> .	48
37	Effets de l'HE d' <i>A. herba alba</i> sur la fécondation et le développement embryonnaire et larvaires des milieux pollué (BDM) de <i>P. lividus</i> .	49
38	Histogramme représentant la longueur larvaire dans les milieux pollués et non pollués (AGD, BDM) de <i>P. lividus</i> en fonction des différentes concentrations d'HE d' <i>A. herba alba</i> à 48H d'incubation.	50
39	Histogramme représentant la longueur larvaire des milieux pollués et non pollués (AGD, BDM) de <i>P. lividus</i> en fonction des différentes concentrations d'HE d' <i>A. herba alba</i> à 72H d'incubation.	51

## Liste des abréviations et quelques définitions

**µl** : Microlitres.

**A.herba alba** : *Artemisia herba-alba*.

**AGD** : Aiguades.

**BDM** : Brise de Mer.

**CASA**: Computer-assisted semen analysis.

**Cd** : Cadmium.

**Fig.** : Figure.

**HE** : Huile essentielle.

**Hz** : Hertz.

**ml** : Millilitres.

**Mn** : Manganèse.

**P. lividus** : *Paracentrotus Lividus*.

**Pb** : Plomb.

**PCB** : Polychlorobiphényles.

**PEG** : Poly éthylène glycol

**SPZ**: Spermatozoïde.

**TCM** : Tissus collagéniques mutables.

**UV** : Rayonnement ultraviolet.

**Zn** : Zinc.

**ALH** : Amplitude of Lateral Head Displacement (Amplitude du déplacement latéral de la tête) : Ce paramètre correspond à la distance, en  $\mu\text{m}$  balayé par la tête des spermatozoïdes durant le mouvement de battement.

**BCF** : Beat Cross Frequency (Fréquence croisée des battements) : Il mesure en Hertz la fréquence de battement de la tête des spermatozoïdes en mouvement (nombre de battement par unité de temps).

**LIN** : Linearity (Linéarité) : le résultat de la division de la VSL sur VCL (VSL/VCL en pourcentage %).

**MP** : Mobilité progressive (Le pourcentage de spzs progressives) : Inclut tous les spzs ayant une VAP < 50 $\mu\text{m}/\text{sec}$  et une linéarité (VCL/VAP) supérieur à 75%.

**MT** : Mobilité totale : Représente-le % des gamètes qui bougent indépendamment de leur qualité de mouvement par rapport à la population totale.

**STR** : Straightness (Rectitude) : le résultat de la division de la VSL sur VAP (VSL/VAP en pourcentage %).

**VAP** : Velocity Average of Path (Vitesse moyenne de trajectoire) : Cette vitesse correspond à la VCL, mais après lissage de son trajet.

**VCL** : Velocity Curvilinear of path (Vitesse curviligne) : Cette vitesse prend en considération la totalité de la distance (point par point) parcourue par le spermatozoïde pour un temps donné.

**VSL** : Velocity Straight-Line (Vitesse en ligne droite) : Cette vitesse prend en considération, pour un temps donné, les points de départ et d'arrivée sur spermatozoïdes, indépendamment de son trajet.

**WOB** : Wobble (Oscillation) : le résultat de la division de la VAP sur VCL (VAP/VCL en pourcentage %).

# Introduction

## Introduction

L'oursin livide *Paracentrotus lividus* est un échinoïde comestible (Tejada et al., 2013), retrouvé en grande abondance sur les fonds rocheux peu profond des côtes méditerranéennes (Sala et al., 1998) et dans l'Atlantique Nord-Est de l'Écosse et de l'Irlande, au sud du Maroc et aux îles Canaries, y compris les Açores (Bayed et al., 2005 ; Boudouresque et Verlaque, 2013, 2020 ; Guinda et al., 2016 ; Machado et al., 2019)

En raison de son importance écologique et économique, l'oursin comestible a été étudié de manière très approfondie partout dans le monde (Goodwin et Srisukh, 1950 ; Fenaux, 1968 ; Hereu et al., 2004 ; Boudouresque et Verlaque, 2007 ; Dermeche, 2010 ; Couvray, 2014 ; Amri, 2018 ; Hermas et al., 2018 ; Ghali et Dria, 2019 ; Boudouresque et Verlaque, 2020). L'aquaculture de l'oursin est devenue une activité intéressante et précieuse (Sun et Chiang, 2015). La demande du marché mondial pour l'oursin en 2014 était d'environ 70 000 tonnes (FAO, 2014). Les œufs d'oursins (caviar d'oursin) sont consommés dans le monde entier. Actuellement, le Chili est considéré comme le principal producteur d'œufs d'oursins. Le Japon est considéré comme le pays le plus consommateur, avec environ 80-90% de l'offre mondiale. Le marché européen n'est pas très important, la consommation ne dépasse pas les 5 % (Stefánsson et al., 2017). La France, l'Espagne et l'Italie sont les principaux pays consommateurs d'œufs d'oursins en Europe. L'oursin violet, *Paracentrotus lividus*, est très demandé en raison de ses œufs de haute qualité (Cook et al., 2007). Ce fruit de mer est connu pour sa saveur délicate et légèrement salée, riche et de couleur orange (Fabbrocini et al., 2014). Afin de préserver et de commercialiser *P. lividus*, la production de cette espèce doit être efficace, économiquement viable et durable. Cette production doit couvrir la demande en fruits de mer et pour la restauration des lieux où la quasi-population a disparu à cause de la surexploitation des ressources sauvages (Rodrigues, 2021). En Algérie, la consommation des oursins est peu importante et reste très locale et traditionnelle (Soualili, 2008).

En plus de son importance économique, l'oursin livide est également reconnu pour être très sensible aux modifications des conditions environnementales (Dermeche, 2010 ; Couvray, 2014 ; Amri, 2018 ; Hermas et al., 2018 ; Boudouresque et Verlaque, 2020). Cette espèce est considérée comme un excellent bioindicateur de la qualité du milieu. En effet, sa présence dans les milieux propres et pollués et sa sensibilité connue aux agents polluants font d'elle un bon modèle dans les programmes de biomonitoring des écosystèmes

marins (Angioni et al., 2014 ; Bayed et al., 2005 ; Soualili et al., 2008 ; Ternengo et al., 2018).

Depuis environ un siècle, les oursins sont reconnus pour être un excellent modèle pour l'étude de la fécondation et du développement embryonnaire car de grandes quantités de gamètes sont facilement disponibles et l'ensemble du cycle de vie est facilement accessible (Neil et Vacquier, 2004). *P. lividus* a été reconnu aussi, comme un modèle de recherche approprié dans différents domaines de l'écotoxicologie (Paredes et Bellas, 2009), l'écologie (Gallo et al., 2018 ; Taşçı et al., 2022 ; Rumahlatu et al., 2019 ; Sherman et al., 2021 ; Cunningham et al., 2019 ; Mos et al., 2020 ; Ruocco et al., 2019).

Les gonades en particulier, sont une source riche en acides gras polyinsaturés et en polysaccharides actifs. De plus, ils peuvent servir d'aliment fonctionnel pour lutter contre les maladies inflammatoires, le diabète (Pozharitskaya et al., 2015) et le cancer (Liu et al., 2007 ; Wang et al., 2011). De même, ils possèdent un effet antibactérien (Li et al., 2015), antiviral (Giga et al., 1985 ; Salas-Rojas et al., 2014) et antioxydant (Urakova et al., 2012 ; Pozharitskaya et al., 2015). Les pigments quinones des oursins, en particulier l'échinochrome et les spinochromes, sont connus pour leurs activités antioxydantes, antibactériennes, antifongiques et antitumorales efficaces (Ageenko et al., 2014).

Afin de préserver et de commercialiser *P. lividus*, sa production doit être efficace, économiquement viable et durable (McBride, 2005).

En effet, certaines plantes possèdent des composés actifs aux propriétés antimicrobiennes, immunostimulantes et nutritionnelles sont utilisées en aquaculture (Reverter et al., 2014 ; Syahidah et al., 2015 ; Pereira et al., 2016). Parmi les plantes médicinales connues et utilisée en médecine traditionnelle, l'armoise blanche qui se distingue par la présence de divers composés bioactifs présentant des propriétés antivirales, antiparasitaires et antibactériennes (Abad et al., 2012).

L'objectif de la présente étude est d'évaluer les effets de l'huile essentielle d'armoise (*Artemisia herba-alba*) sur les taux du développement des différents stades ainsi que la longueur des larves d'oursin livide incubées artificiellement, dont les géniteurs sont issus de deux stations différentes d'une part. D'autre part, analyser l'effet de la pollution sur les paramètres de la mobilité spermatique chez ces mêmes populations.

La présente étude est structurée en trois chapitres.

- Le premier chapitre est une revue bibliographique sur l'oursin livide (*Paracentrotus lividus*).
- Le deuxième chapitre est une description détaillée du matériel et des différentes méthodes utilisées sur le terrain et au laboratoire.
- L'ensemble des résultats obtenus suivis de leurs discussions respectives sont rapportés dans le dernier chapitre (chapitre troisième).
- En fin, une conclusion générale et des perspectives.

# Chapitre I

## Revue Bibliographique

## I. Généralités sur *Paracentrotus lividus*

### 1. Description

*Paracentrotus lividus*, l'un des nombreux oursins comestibles (**Fig.1**) est l'oursin le plus commun et le plus consommé en Méditerranée. Il a une taille moyenne d'environ 8 cm (test et épines), avec des piquants relativement longs d'environ 3 centimètres (**Ourès et al., 2013a ; Guinda et al., 2016 ; Boudouresque et Verlaque, 2020**) ; de couleur allant du vert olive au brun, avec de différentes nuances de violet d'où son nom commun, oursin violet. Il se caractérise par sa forme généralement sphérique, sa surface dorsale aplatie et ses épines épaisses et légèrement lisses, dont la base est entourée d'un anneau caractéristique de couleur claire, éventuellement recouvert de débris végétaux (**Boudouresque et Verlaque, 2013 ; Jamila et al., 2018**).



**Fig. 1** : Oursin commun *Paracentrotus lividus* (© **Pillon, 2012**).

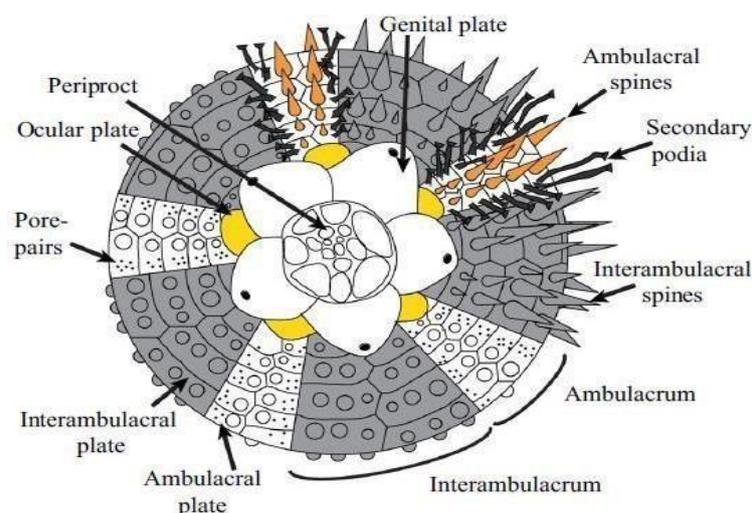
## 2. Classification

La position systématique de *P. lividus* est la suivante :

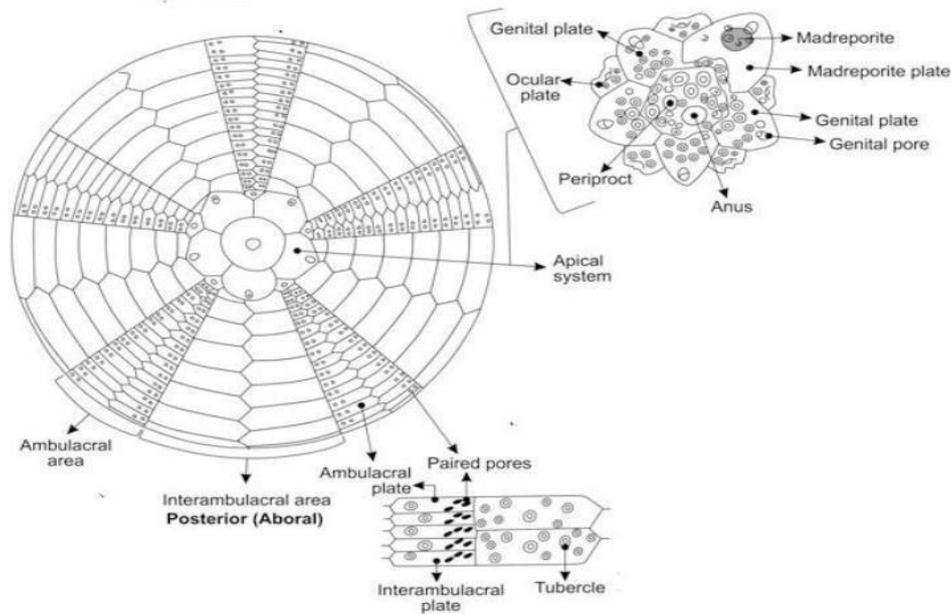
<b>Embranchement:</b>	<i>Echinodermata</i>	<b>Famille:</b>	<i>Parechinidae</i>
<b>Classe:</b>	<i>Echinoidea</i>	<b>Genre:</b>	<i>Paracentrotus</i>
<b>Ordre:</b>	<i>Camarodonta</i>	<b>Espèce:</b>	<i>Lividus</i>

## 3. Morphologie externe

Le corps de l'échinidé a une forme hémisphérique avec une symétrie penta radiale. Principalement, il est composé d'un endosquelette calcaire situé juste sous l'épiderme, ainsi que d'osselets calcaires suturés ensemble dans un test solide qui contient essentiellement les gonades et les différents composants de l'appareil digestif (Zuber, 2016). L'ouverture orale (Fig.2) qui fait face au substrat est entourée d'une épaisse membrane circulaire non recouverte d'épines composée d'un tissu conjonctif spécifique appelé tissu collagénique mutable (TCM) ou péristome. La nourriture ingérée, au niveau de ce dernier est broyée par un appareil squelettique complexe, appelé Lanterne d'Aristote (Sugni et al., 2013). Le pôle supérieur (aboral) (Fig.3) comprend l'anus entouré d'une membrane ; la périprocte formée de 10 plaques intradermiques calcifiées, étroitement juxtaposées (David et al., 2009 ; Boudouresque et Verlaque, 2013).



**Fig. 2 :** Morphologie externe de *P. lividus*: vue du pôle inférieur (Oral).

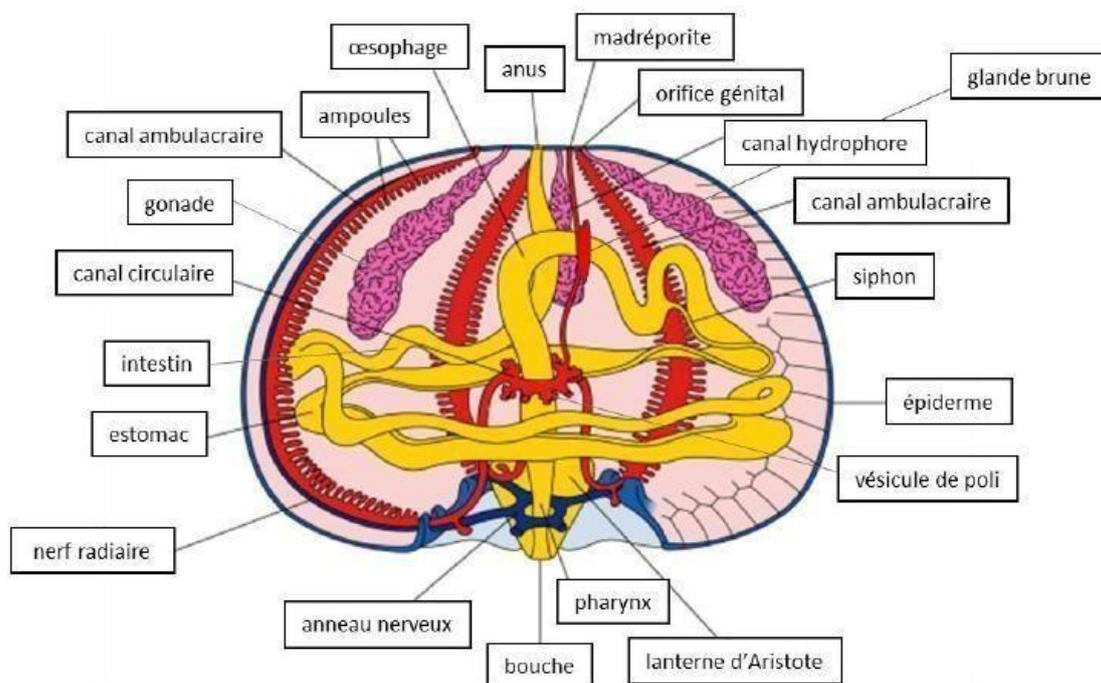


**Fig. 3 :** Morphologie externe de *P. lividus* : vue du pôle supérieur (aboral)(Kaharudin,2020).

#### 4. Anatomie interne

La bouche est un système complexe appelé lanterne d'Aristote, composé de 5 pyramides se terminant chacune par une dent. De la bouche part le pharynx suivi du tube digestif composé de l'œsophage, de l'intestin oral et de l'intestin aboral. Les fèces sont expulsées par l'anus dans le pôle aboral.

Cinq gonades et des pores génitaux relatifs forment les organes reproducteurs. Les gonades sont disposées radialement dans la cavité cœlomique. Les gamètes sont émis par les pores génitaux disposés autour de l'anus. *P. lividus* atteint la taille de première maturité à 20-25mm montrant une variation de 1 cm entre les zones géographiques (Ouréns et al., 2011). Les gonades de l'oursins ont constituées de deux principaux types de cellules : les cellules germinales, qui produisent les gamètes, et les phagocytes nutritifs, qui fournissent les nutriments et l'énergie nécessaires aux gamètes en développement (Fig.4) (Walker et al., 2001 ; Boudouresque et Verlaque, 2013 ; Zuber, 2016).



**Fig. 4 :** Anatomie d'un oursin adulte : tube digestif, système aquifère, appareil génital et système nerveux. Grosjean (2001).

## 5. Écologie et biologie de l'espèce

### 5.1. Répartition géographique

*Paracentrotus lividus* est distribué dans toute la Méditerranée et dans l'Atlantique nord-est, en Écosse et en Irlande, au sud du Maroc et aux îles Canaries, y compris les Açores (Bayed et al., 2005 ; Boudouresque et Verlaque, 2013, 2020 ; Guinda et al., 2016 ; Machado et al., 2019). Il est particulièrement commun dans les régions où la température de l'eau en hiver varie entre 10 et 15°C et en été entre 18 et 25°C (Boudouresque et Verlaque, 2013, 2020). Des expériences sur le terrain et en laboratoire, réalisées afin d'examiner l'impact de la récente augmentation de la température de surface de la mer en Méditerranée orientale, ont montré une mortalité massive des oursins lorsque les températures dépassent 30,5 °C (Yeruham et al., 2015).

## 5.2. Habitats

*Paracentrotus lividus* est typiquement présent dès la zone intertidale jusqu'à - 80 m (**Machado et al., 2019**). Sa densité décroît avec la profondeur et les plus fortes densités sont observées entre 0 et 10m (**Ouchene et al., 2020**). Dans ces zones intertidales, *Paracentrotus lividus* vit souvent dans des cavités qu'il creuse lui-même dans les roches à l'aide de ses piquants et de ses dents (**Jamila et al., 2018**). En pleine mer, *P. lividus* se rencontre principalement dans les habitats rocheux subtidaux peu profonds et dans les lits de *Posidonia oceanica* et *Zostera marina* (**Cecchelli et al., 2009 ; Boudouresque et Verlaque, 2020 ; Le Mao et Godet et al., 2020**).

## 5.3. Alimentation

Les oursins sont les principaux herbivores et influencent souvent l'abondance et la composition des assemblages d'algues (**Yeruham et al., 2015**) : les macro algues (i.e. *Cystoseira amentacea*, *Padina pavonica*, *Rissoella verrucolosa* etc.) et les herbiers (i.e. *Cymodocea nodosa* et *Posidonia oceanica*) sont clairement "préférés" comme nourriture (**Verlaque et Nédelec, 1983 ; Boudouresque et Verlaque, 2013, 2020**).

## 6. Reproduction

*Paracentrotus lividus* est une espèce gonochorique (**Meriem et al., 2021**). Comme chez les autres espèces d'Échinoïde, la fécondation est externe, se produit directement dans l'eau après l'émission des gamètes (**Calderón et al., 2020; Limatola et al., 2020**). En Méditerranée, le cycle de reproduction de *P. lividus* présente 1 ou 2 pics saisonniers de croissance des gonades qui, cependant, peuvent différer de manière significative entre des lieux proches (**Sellem et al., 2007**).

Les données de la littérature sur la biologie de la reproduction de *P. lividus* sont diverses et souvent contradictoires. En effet, l'espèce semble suivre des schémas différents en fonction de l'emplacement géographique et des paramètres environnementaux clés tels que la température, l'habitat, les conditions hydrodynamiques, la profondeur et la disponibilité de nourriture (**Sellem et al., 2007 ; Gianguzza et al., 2013 ; Ournes et al., 2013b ; De La Uz et al., 2018 ; Vafidis et al., 2019 ; Santos et al., 2020**).

## 6.1. Développement larvaire

En méditerranée nord-occidentale, la larve qui se développe après la fécondation est présente dans le plancton tout au long de l'année et elle peut vivre jusqu'à un mois avant de se fixer sur le substrat. En général, les larves produites par des individus bien nourris survivent mieux, leur croissance est plus rapide et la métamorphose se produit avant celles qui sont obtenues à partir de spécimens mal nourris (**Boudouresque et Verlaque, 2013, 2020**). Par la suite, elle se métamorphose en un oursin juvénile dont la symétrie passe de bilatérale à penta radiale. La maturité sexuelle semble être atteinte vers la troisième année de vie avec un diamètre de test de 20-25 mm montrant une variation de 1 cm entre les zones géographiques (**Ouréns et al., 2011**).

## 7. Intérêt écologique et économique de l'espèce

En mer Méditerranée, *P.lividus* est une espèce majeure dans la régulation des communautés algales (**Lecchini et al., 2002 ; Soualili et al., 2009**). De plus, elle est considérée comme une espèce clé des écosystèmes méditerranéens tels que: ceux à *Posidonia oceanica* (**Jamila et al., 2018**). Des densités élevées d'oursins peuvent pratiquement éliminer de vastes zones de végétation de grande taille et stimuler la production d'un environnement biodégradable dominé par les algues coralliennes (**Machado et al., 2019**). Il joue également un rôle important en tant qu'indicateur biologique de la pollution des écosystèmes marins côtiers, cet invertébré marin est un modèle biologique pertinent pour l'étude de la pollution environnementale. Il est reconnu comme un bioindicateur pour plusieurs raisons : sa pertinence écologique, son mode de vie benthique et relativement sédimentaire, sa réponse rapide et sa grande sensibilité à de nombreux types de contaminants (**Ternengo et al., 2018**).

En Europe, *P.lividus* est une ressource extrêmement précieuse à grand profit économiques, car ses gonades ("œufs") sont très appréciées comme mets gastronomiques, en particulier en France, en Italie et en Espagne, où les populations locales sont fortement exploitées. (**Machado et al., 2019 ; Le Mao et Godet et al., 2020 ; Santos et al., 2020 ; Lourenço et al., 2021**).

## 8. Modèle Animal

L'oursin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) est considéré depuis longtemps comme une espèce modèle pour la recherche dans différents domaines. En effet, il a été utilisé pour des applications dans plusieurs domaines allant de la reproduction à l'écotoxicologie (**Paredes et Bellas, 2009**), notamment dans :

- La mise en œuvre rapide comme bio essai,
- Pour le criblage de nouveaux composés, à caractère antiprolifératif, et la recherche des cibles intracellulaires (**Gosselin et al., 2013**),
- Pour le criblage de toxines,
- L'évaluation de l'impact de la présence de métaux lourds; Cu (**Gallo et al., 2018; Taşcı et al., 2022**), Cd (**Rumahlatu et al., 2019**), Ni (**Sherman et al., 2021**), Zn (**Cunningham et al., 2019**), du pH (**Mos et al., 2020**), et de contaminants (**Ruocco et al., 2019**),
- Utilisation pour l'évaluation des risques de toxicologie,
- Pour générer une méthode d'évaluation du potentiel cancérigène de molécules (**Marcet et al., 2004**).
- Permet la compréhension des mécanismes de prolifération des tumeurs chez l'humain par l'étude des modes de reproduction (**Bellé, et al., 2007 ; Chassé et al., 2016**).

## II. Fertilité de *Paracentrotus lividus*

### 1. Paramètres spermatiques

#### 1.1. Importance de l'évaluation de la qualité du sperme

La caractérisation spécifique aux espèces des schémas de motilité des spermatozoïdes et le développement d'outils de routine pour leur évaluation rapide et facile sont des étapes clés dans la mise en place de protocoles spécifiques aux espèces impliquant la gestion des gamètes et la production d'embryons, à la fois pour l'aquaculture et pour la recherche en laboratoire (**Cabrita et al., 2014 ; Lahnsteiner et Caberlotto, 2012**). De ce fait, l'échiniculture, à la fois à grande échelle pour la production commerciale et à petite échelle pour la recherche en laboratoire, peut également bénéficier d'une application plus large des biotechnologies de la reproduction

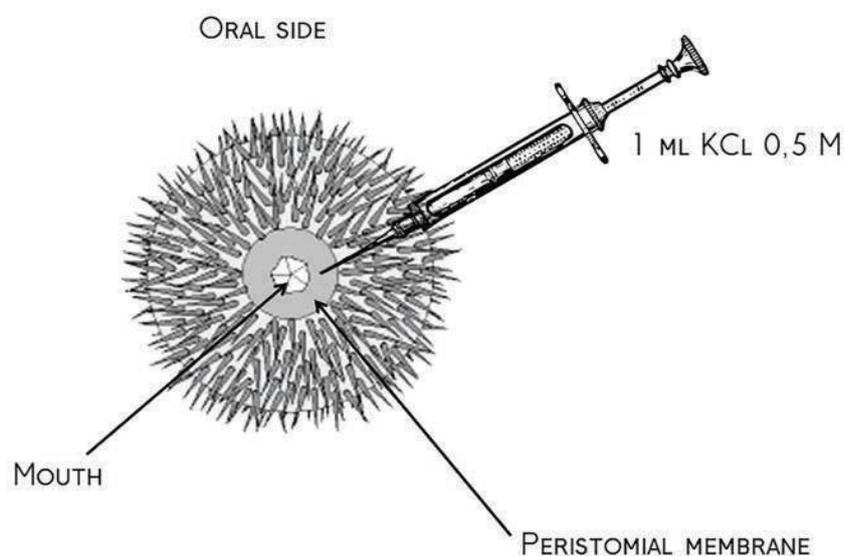
(Fabbrocini et al., 2014) et la caractérisation des modèles de motilité des spermatozoïdes des espèces d'oursins les plus importantes est la première étape de leur développement (Fabbrocini et D'Adamo, 2017).

## 1.2. Computer-assisted semen analysis (CASA) system

La technologie CASA a été développée au milieu des années 1980 et permet une évaluation objective et détaillée des caractéristiques du sperme (Soler et al., 2018 ; Shingh et al., 2021).

## 2. Reproduction artificielle de l'oursin *P. lividus*

En aquaculture et en laboratoire de recherche, les embryons d'oursins sont produits par fécondation in vitro en utilisant des pools de gamètes femelles et mâles (Mendes et al., 2019). Il existe plusieurs approches d'induction du frai qui ont été référencées dans la littérature, mais la méthode la plus efficace reste le choc osmotique (Fig.5), pour induire ce choc osmotique, 1 ml de chlorure de potassium 0,5 M est injecté dans l'espace coelomique à travers la membrane péristomiale (Gago et al., 2010).



**Fig. 5 :** Schéma de la technique de frai induit des oursins violets par injection avec du KCl 0,5 (Mendes et al., 2019).

## 2.1. Les gamètes

### 2.1.1. L'ovocyte

Les gonades femelles libèrent des gamètes matures qui ont achevé leur méiose (émission des 2 globules polaires) (Vacquier, 2011). Chez l'oursin livide, l'ovocyte présente une pigmentation orangée uniforme. D'ailleurs, les oursins femelles à maturité se reconnaissent par l'émission de leurs produits génitaux orangés.

L'ovule est une cellule volumineuse (diamètre environ 100  $\mu\text{m}$ ) avec un cytoplasme abondant contenant un pigment orangé et relativement peu de réserves nutritives (vitellus). La membrane plasmique est doublée extérieurement par une membrane vitelline. Le noyau (haploïde) est de petite taille. L'ensemble est entouré par une gangue gélatineuse (Costache, 2012).

### 2.1.2. Le spermatozoïde

Le spermatozoïde est une cellule hyper-différenciée qui n'a conservé que très peu de cytoplasme et développé un dispositif de propulsion responsable de sa grande mobilité. Il comprend trois parties principales :

- La tête avec le noyau (quelques  $\mu\text{m}$  de long) ;
- La pièce intermédiaire avec les centrioles et l'ensemble des mitochondries ;
- La queue ou flagelle (50 à 60  $\mu\text{m}$  de long), organe de motricité (Vacquier, 2011).

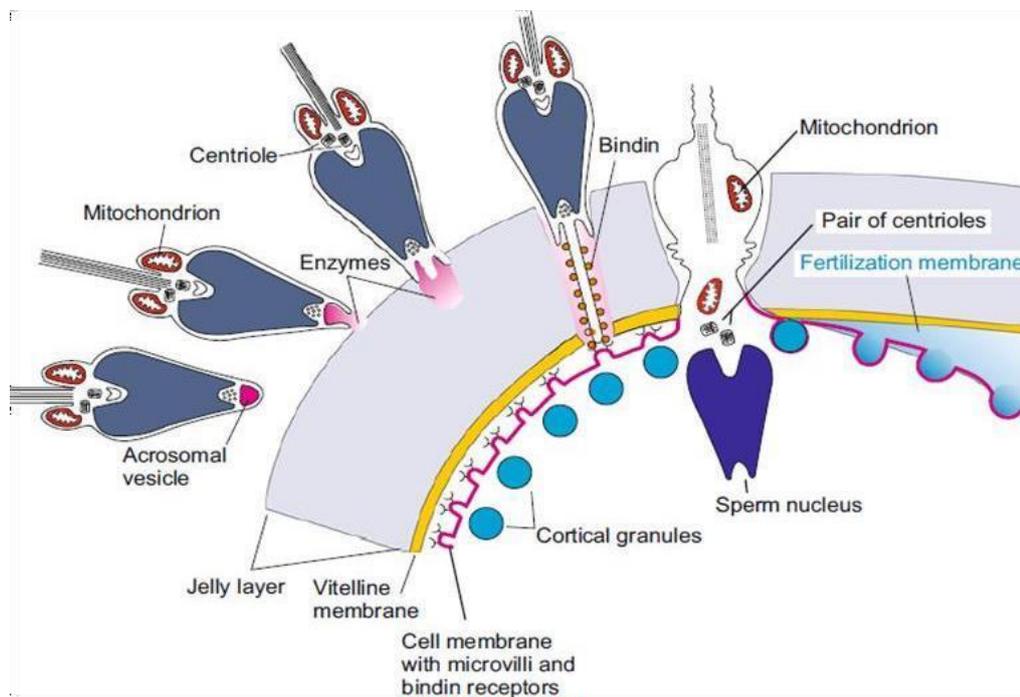
## 2.2. La fécondation

La fécondation déclenche une cascade d'événements dont chaque étape dépend de la précédente. Cet enchaînement, comme d'ailleurs plus généralement le développement embryonnaire, est la traduction de la mise en œuvre d'un programme génétique du développement.

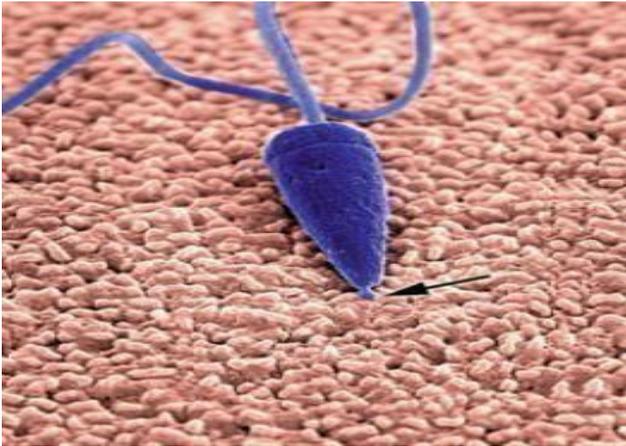
- Attraction du spermatozoïde : Les spermatozoïdes (spermatozoïde) sont attirés par chimiotactisme positif et se déplacent grâce à leurs flagelles vers les ovules qui flottent dans l'eau (Vogel, 1982)

- Réaction acrosomique (**Fig.6 et Fig. 7**).
- Adhésion du spermatozoïde : La protéine du sperme, la Bindine, joue un rôle central dans la fécondation de l'oursin. La Bindine recouvre le processus acrosomique du sperme et lie le sperme à l'enveloppe vitelline de l'ovule; la Bindine peut également être impliquée dans la fusion des membranes du sperme et de l'ovule. L'échec de la liaison des spermatozoïdes à l'enveloppe vitelline de l'ovule et le blocage de la fusion des membranes du sperme et de l'ovule sont deux étapes du processus de fécondation qui empêchent généralement les gamètes de différentes espèces d'oursins de se féconder mutuellement (**Zigler et al., 2005 ; Vacquier, 2012**).
- Activation de l'œuf (blocage précoce de la polyspermie) (**Swann, 2022**)
- Réaction corticale (blocage tardif de la polyspermie) : soulèvement de la membrane de fécondation (**Fig.8**) (**Vacquier, 2011**).

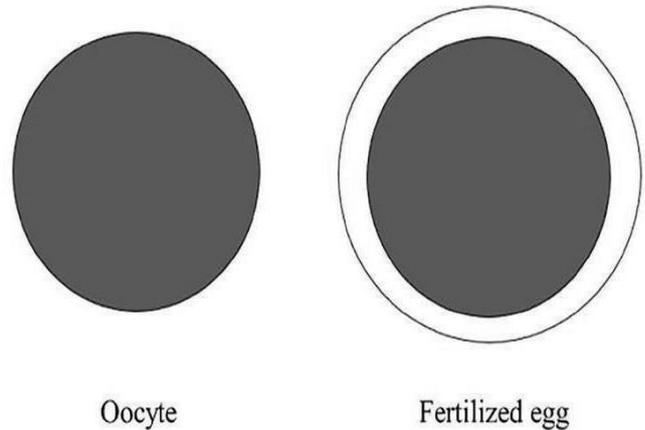
Les deux pronucléus se rejoignent dans la région centrale de l'œuf puis fusionnent ; c'est l'amphimixie.



**Fig. 6** : Fécondation des oursins. La réaction acrosomique est déclenchée lorsque le sperme entre en contact avec la couche de gelée de l'ovule (**Mueller et al., 2015**).



**Fig. 7:** Spermatozoïdes fécondants à la surface de l'ovule, vus par microscopie électronique à balayage, chez l'oursin (*Paracentotus lividus*)



Oocyte

Fertilized egg

**Fig. 8:** Illustration schématique de la différence entre des ovocytes fécondés et non fécondés, chez l'oursin (Mandes et al., 2019).

### 2.3. La segmentation

Chez les oursins, la segmentation est totale :

- Stade 2 : 1<sup>ère</sup> division méridienne (verticale), on obtient 2 cellules.
- Stade 4 : 2<sup>ème</sup> division également selon le plan méridien mais cette fois si perpendiculaire au 1<sup>er</sup>, les blastomères sont identiques.
- Stade 8 : 3<sup>ème</sup> clivage équatorial perpendiculaire à l'axe de l'œuf, ce qui donne 4 blastomères supérieurs (pôle animale) et les 4 inférieurs (pôle végétatif).
- Au cours du passage au Stade 16, les cellules de la moitié du pôle animal se divisent selon un plan méridien formant une couronne de 8 blastomères égaux et de tailles moyennes, les mésomères. Les plans de clivage sont latitudinaux pour l'hémisphère végétatif qui va comprendre deux couches de blastomères : macromères et micromères qui jouent un rôle essentiel dans la lignée des cellules germinales et la formation des gonades du futur adulte (Yajima et al., 2011).
- L'ensemble donne : morula.
- Stade blastula (**Fig.9**) : une cavité se creuse et les cellules se répartissent en une seule assise (couche) au tour de la cavité remplie de liquide. Cette cavité est appelée, le blastocœle ou cavité de segmentation. À la fin de la segmentation, la blastula obtenue est un cœloblastule régulier. Ce cœloblastule va se recouvrir de cils et donc va commencer à être mobile (Costache, 2012).

## 2.4. La gastrulation

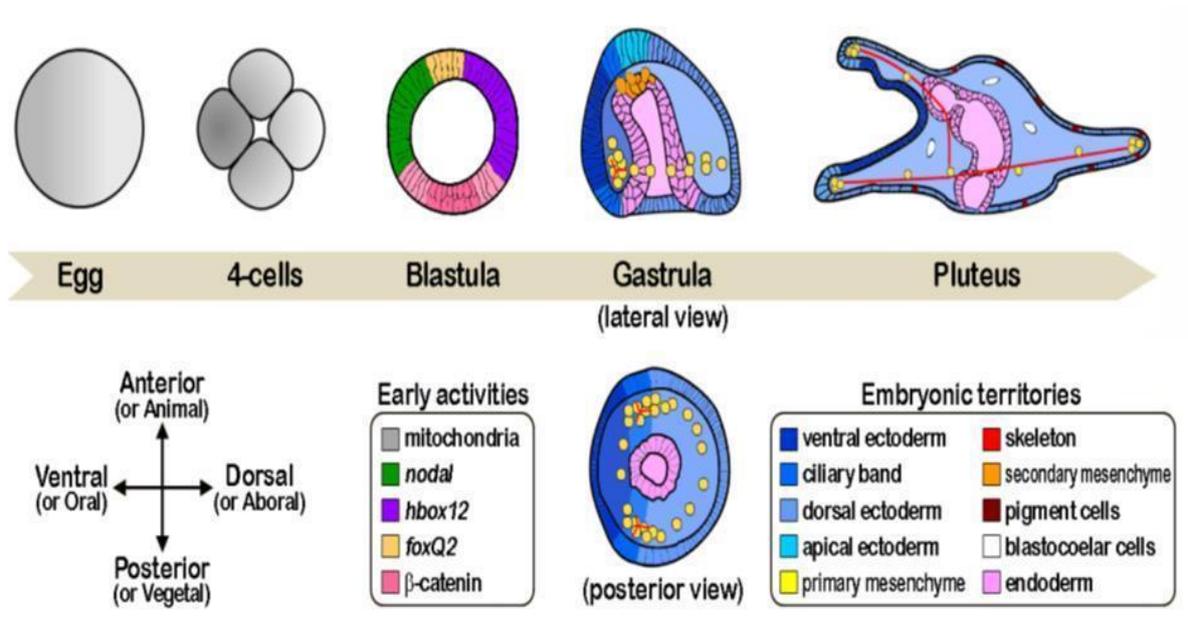
La gastrulation est l'événement morphogénétique le plus important du développement précoce. Elle entraîne la formation des trois couches germinales : l'ectoderme, le mésoderme et l'endoderme (**Fig.9**) (**Kominami et Takata, 2004**).

La formation de l'archentéron (intestin primitif) se fait par invagination au niveau du pôle végétatif. Cette étape est spécifique du stade gastrula qui intervient à 30 heures après la fécondation chez *P.lividus*. L'archentéron de la gastrula s'allonge jusqu'à atteindre l'ectoderme latéral où se forme l'orifice buccal de la future larve, preuve de l'appartenance aux deutérostomiens (**Costache, 2012**).

## 2.5. La phase larvaire

Le pluteus présente une symétrie bilatérale. Au stade pluteus, l'ectoderme est visiblement divisé en quatre domaines principaux le long des coordonnées axiales Dorsal Ventral : l'ectoderme ventral/oral qui est un épithélium épaissi entourant la bouche ; l'ectoderme dorsal/aboral qui est un épithélium squameux qui couvre la plupart du reste du corps larvaire ; la bande ciliaire, une ceinture de cellules ciliées positionnée à la frontière entre l'ectoderme ventral et dorsal ; et le domaine neurogène apical. De plus, les cellules pigmentaires rouge foncé, dérivées des précurseurs du mésenchyme secondaire (**Fig.9**) (**Boraïy, 2018**).

Le pluteus se nourrit activement dans la colonne d'eau par filtration jusqu'à la formation d'un rudiment à partir de la poche cœlomique gauche (hydrocoele), qui donne naissance à un juvénile avec une symétrie pentaradiaire, lors de la métamorphose. Cette étape est simultanée avec sa sédimentation au fond de l'eau, où le futur adulte va mener toute sa vie, en broutant le biofilm et les algues benthiques (**Costache, 2012**).



**Fig. 9** : Schéma simplifié décrivant les étapes clés du développement et les premières activités moléculaires régulant la morphogénèse le long de l'axe DV de l'embryon d'oursin (**Cavaliere et spinelli,2015**).

### III. Pollution des écosystèmes marins

#### 1. Définition de la pollution marine

La pollution marine est une perturbation de l'écologie naturelle des systèmes aquatiques, en particulier les océans, comme résultat direct ou indirect de l'activité humaine (**Burnes, 2016**).

#### 2. Sources de la pollution marine

À l'échelle mondiale, on estime que 80 % de la pollution des écosystèmes marins provient de sources terrestres et les 20 % restants de sources marines (**Li et al., 2016 ; Ritchie et Roser, 2022**).

Il existe de nombreuses sources de pollution marine (**Vikas et al., 2015**), d'après **Barnes et al., 2009; Galgani et al., 2021; Mankou-Haddadi et al., 2021** le plastique étant le composant majeur, les débris pénètrent dans la mer en grande partie par les

rivières et le ruissellement des eaux pluviales, les rejets côtiers, les déversements sur les rivages, ou par le rejet direct en mer des navires et des activités maritimes ([Ambrose et al., 2019](#)). Les déversements d'hydrocarbures sont courants dans les environnements marins, et de nombreux petits déversements ne sont pas signalés, en particulier dans les zones où les normes ou réglementations environnementales sont minimales, inapplicables ou inexistantes ([Zhang et al., 2019](#)). Cela inclut les déchets industriels et les eaux usées mal/non traitées.

Les sous-produits des exploitations agricoles à grande échelle, notamment les herbicides, les pesticides, les engrais chimiques et les fortes concentrations de déchets animaux, sont particulièrement problématiques. Ils peuvent submerger les écosystèmes locaux puis s'agréger en s'écoulant en aval, pour finalement se retrouver dans les océans ([Vikas et al., 2015](#)). Il en résulte des dépôts, par exemple, de métaux lourds comme le plomb et le mercure, et de polychlorobiphényles (PCB) dans les systèmes marins, qui sont ingérés par la faune marine, laquelle peut à son tour être consommée par les animaux terrestres et les humains. Avec la bioaccumulation de ces substances dans les tissus adipeux, le problème passe de la terre à la mer et inversement. ([Burnes, 2016](#)).

#### **IV. Les huiles essentielles**

##### **1. Généralités**

Les huiles essentielles sont des extraits de plantes aromatiques utilisées dans de nombreuses industries. Il existe différentes méthodes pour extraire les huiles essentielles, chaque méthode présente des avantages spécifiques et détermine les propriétés biologiques et physicochimiques de l'huile extraite ([Aziz et al., 2018](#)). Les applications des huiles essentielles en tant qu'agents antibactériens, anticancéreux, anti-inflammatoires et antiviraux découlent de leurs propriétés puissantes ([Bakkali et al., 2007](#)).

##### **2. Composition chimique des huiles essentielles**

Les mélanges d'huiles essentielles pures contiennent plus de 200 ingrédients ([Aziz et al., 2018](#)). Ces mélanges contiennent des dérivés phénylpropanoïdes ou des terpènes avec des différences structurelles et chimiques minimales ([Rao et Pandey, 2007](#)). L'huile essentielle est composée de :

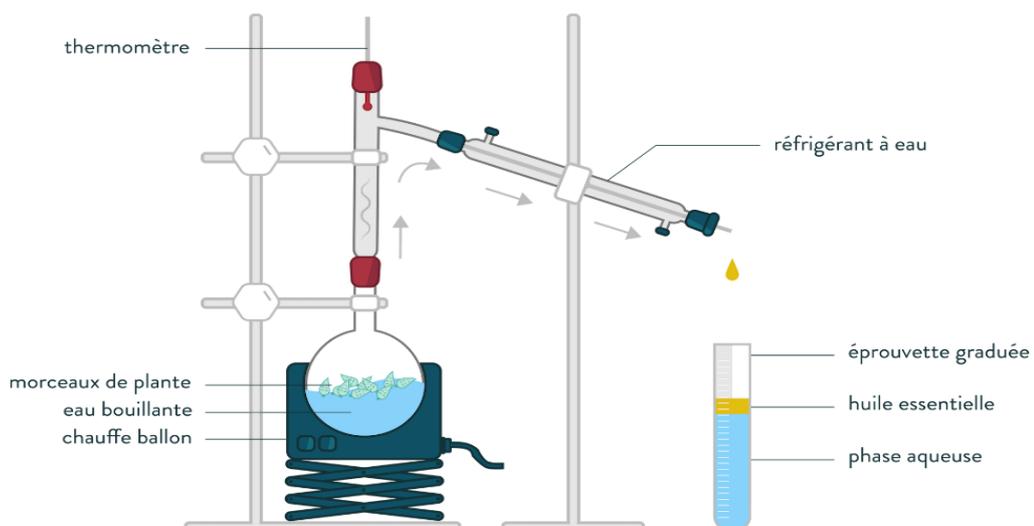
- La fraction volatile : représente 90 à 95 % du poids total de l'huile. Elle contient des monoterpènes, des sesquiterpènes et leurs dérivés oxygénés. Des alcools aliphatiques, des esters et des aldéhydes peuvent également être présents dans la fraction volatile.
- Résidus non volatils : représente 1 à 10% du poids total de l'huile essentielle. Il contient des acides gras, des hydrocarbures, des stérols, des cires, des flavonoïdes et des caroténoïdes (Hanif *et al.*, 2019).

### 3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Plusieurs parties de diverses plantes aromatiques peuvent être extraites pour former des HE qui ont de nombreuses utilisations. La méthode d'extraction des huiles essentielles dépend des propriétés et des ingrédients souhaités dans l'extrait de plante et permet de garantir la qualité des HE (Tongnuanchan *et al.*, 2014).

#### 3.1. Méthodes conventionnelles d'extraction

Les techniques conventionnelles appliquées pour extraire les huiles essentielles des plantes sont basées sur la distillation de l'eau par le processus de chauffage : Hydrodistillation (Fig. 10), distillation à la vapeur, hydro-diffusion, extraction par solvant.



**Figure 10** : Schéma du procédé d'extraction par hydrodistillation

#### 4. Activités biologiques des huiles essentielles

Il est essentiel de souligner qu'en ce qui concerne leurs propriétés biologiques, les HE sont des mélanges complexes de nombreuses molécules et que, par conséquent, leurs effets biologiques peuvent être dus à une synergie de toutes les molécules ou le reflet des principales molécules présentes aux niveaux les plus élevés ([Baptista-Silva et al., 2020](#)).

La nature lipophile de ces HE leur permet de traverser facilement les membranes des cellules et d'atteindre l'intérieur de celles-ci. Les HE sont décrits comme de puissants antioxydants ([Tepe et al., 2004](#); [Yu et al., 2011](#)) et antimicrobiens ([Lu et al., 2013](#); [Mutlu- Ingok et al., 2020](#)) et sont utilisées pour la gestion de maladies graves comme les maladies cardiovasculaires ([Saljoughian et al., 2017](#)), le diabète ([Boukhris et al., 2012](#)), la maladie d'Alzheimer ([Perry et al., 2001](#) ; [Agatonovic-Kustrin et al., 2019](#)), le cancer ([Gautam et al., 2014](#) ; [Lima et al., 2018](#) ; [Sharma et al., 2022](#)), et beaucoup d'autres maladies.

#### 5. Toxicité des huiles essentielles

Bien que les HE aient des effets bénéfiques, elles sont loin d'être non toxiques. Elles ont des effets négatifs, cancérigènes et parfois mortels et plusieurs types de toxicité peuvent être observés qui peuvent être due aux mauvaises connaissances des contre indications, les modalités d'utilisation, ingestion accidentelle : notamment dermatotoxiques, hépatotoxiques et neurotoxiques ([Hilan et al., 2009](#)).

#### 6. L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*

*Artemisia herba-alba* Asso est une herbe aromatique sauvage qui est populaire pour ses effets médicinaux ([Mohammed et al., 2021](#)), elle est connue sous le nom d'absinthe du désert", ou "Chih" comme on l'appelle communément en Algérie, où elle est largement consommée. L'armoise blanche est une plante de la famille des Lamiacées (**Fig. 11**), qui pousse dans les climats arides et semi-arides. Elle est largement utilisée en médecine conventionnelle et en phytothérapie pour le traitement du diabète, des infections parasitaires, de l'hypertension et du rhume ([Mohammed et al., 2021](#)).

Plusieurs études ont rapporté des activités biologiques intéressantes de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* ; notamment antioxydante (Aljaiyash et al., 2018), antibactérienne (Moussi et al., 2019 ; Amor et al., 2019 ; Ed-Dra et al., 2021), anti-inflammatoire, antalgique (El Ouahdani et al., 2021), et antiviral (Asdadi et al., 2020).



**Fig. 11** : Armoise blanche, *Artemisia herba-alba*, (© F. PREVOT).

# Chapitre II

## Matériel & Méthodes

## I. Zone d'étude

Afin d'atteindre les objectifs tracés pour la présente étude et d'évaluer l'effet de la pollution sur les paramètres spermatiques et le développement embryonnaire chez l'oursin livide, nous avons effectué des échantillonnages dans la zone côtière de la région de Béjaïa. Nous avons, en effet, choisi de faire nos prélèvements dans deux stations. La première, jugée propre, elle s'agit de la station des Aiguades. La seconde est considérée comme polluée, elle est localisée au niveau de la Brise de Mer (**Fig.12**).

### 1. La Brise de mer

La Brise de mer est une place touristique, rocheuse située entre le port de pêche et le port pétrolier de Bejaia ( $36^{\circ} 45' 19.5879''$  N,  $5^{\circ} 5' 32.8454''$  E) (**Fig.12**). Cette localisation fait d'elle une zone polluée en raison des rejets des bateaux ainsi que les conduites d'assainissement des habitants sans oublier les rejets des usines résidentes à sa proximité. Compte tenu de toutes les anomalies déterminées et par référence aux études antérieures en rapport avec ce sujet, il est judicieux d'émettre une hypothèse relative à la propagation de la pollution au niveau de la brise de mer de Béjaïa (**SELMANI, 2017**).

### 2. Les Aiguades

Les Aiguades représentent une petite baie située au centre du parc national de Gouraya, sur le flanc septentrional du massif de Gouraya à une altitude d'une trentaine de mètres par rapport au niveau de la mer ( $36^{\circ} 45' 54.3321''$  N,  $5^{\circ} 6' 10.8931''$  E) (**Fig.12**). D'après la définition donnée par le Centre National de Ressources Textuelles et Lexicales (<https://www.cnrtl.fr>), elle est éloignée de toute activité industrielle et aménagement urbaine ce qui la caractérise de non polluée, preuve de la présence des sources karstiques d'eau douce (**Merrien et al., 2014**). Les Aiguades est définie comme une zone rocheuse où on peut rencontrer plusieurs espèces végétales comme, *Posidonia oceanica*, *Corrallina officinalis*, *Ulva lactuca*, et plusieurs espèces du genre *Cystoseira*. Ainsi elle renferme une faune marine exubérante dont l'espèce *Paracentrus lividus* est fréquemment abondante approximativement à une profondeur qui varie de 0.5 allant aux grandes profondeurs.



**Fig.12** : Localisation des deux stations d'échantillonnage dans la zone côtière de Béjaïa (Google Earth)

## II. Matériel utilisé

### 1. Matériel biologique

Dans la présente étude, nous avons travaillé sur des oursins pêchés vivant au niveau des deux stations, il s'agit de *Paracentrus lividus* reconnu à la coloration de son teste qui varie du violet au châtain verdâtre et à sa forme légèrement aplatie. Nous avons utilisé aussi leurs gamètes (ovocytes et du sperme des oursins adultes).

### 2. Matériel de terrain

Pour faciliter notre travail sur le terrain, nous avons utilisé : une époussette de pêche (**Fig.14**), des bocaux individuels en plastique, des bouteilles d'eau en plastique et des gants de protections.



**Fig. 14** : une époussette de pêche.

### 3. Matériel de laboratoire

Afin de réaliser nos expérimentations nous avons utilisé :

- Des éprouvettes graduées, des fioles de 500 ml, des bacs en verre, des entonnoirs, des lames, et des boîtes de pétris.

Des seringues, une trousse à dissection, des tubes d'Eppendorf, des embouts et des micropipettes (5-10  $\mu$ l, 10-10  $\mu$ l et 100-1000  $\mu$ l).

Papiers Whatman (MN640WO 110mm) et papiers absorbants.

Agitateur magnétique, agitateur a tube à essais, et une balance.

Un microscope optique, le CASA (SCA5.4 Motility), la cellule Makler, une caméra MVY 3000 et un micro-ordinateur.

Pour les produits chimiques on a utilisé un antibiotique streptomycine (1mg /5ml) et l'HE d'armoise préalablement extraite et préparée à différentes concentrations.

### III. Méthode de travail

Nous avons réalisé 4 sorties qui se sont étalées sur 3 mois (de Mars à Mai) où nous avons collecté un total de 80 oursins livides. Pour chaque sortie, nous avons prélevé 10 individus de chaque station (20 échantillons pour chaque sortie).

#### 1. Collecte d'échantillon

La collecte a été effectuée le matin entre 8h et 10h sur les deux sites en même moment. Le prélèvement s'est effectué à une profondeur de 0,5 à 1m en s'aidant d'une épuisette, 10 individus de l'espèce étudiée ont été collectés pour chaque site. Afin d'éviter l'émission de gamètes et tout contact, chaque individu collecté a été directement plongé dans un récipient en plastique remplis d'eau provenant du même site d'échantillonnage (**Fig.15**), de plus, une bouteille d'eau de mer de 1.5L provenant de chaque station, a été remplie pour les besoins des manipulations de laboratoire. L'ensemble des échantillons ont été transportés au laboratoire.



**Fig. 15 :** Oursins *P.lividus* collecté dans les deux stations.

## 2. Traitement au laboratoire

### 2.1. Filtrations de l'eau de mer

L'eau de mer récupérée de chaque station a été filtrée (**Fig.16**) plusieurs fois avec du papier Whatman (MN640WO 110mm) MACHEREY NAGEL (**Fig.17**) afin de se débarrasser de toute sorte de débris. 500 mg de streptomycine (1mg / 5ml) ont été additionnés à 500 ml d'eau filtrée. Et pour avoir un mélange homogène on a agité la solution avec un agitateur magnétique (**Fig.18**).



**Fig. 16 :** Papier Whatman



**Fig. 17 :** Filtration d'eau de mer.



**Fig. 18 :** Agitation magnétique

### 2.2. Préparation de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*

Pour cette étude, on a utilisé le poly (éthylène glycol) (PEG) comme solubilisant afin de pouvoir diluer l'HE (lipophile) et la rendre hydrophile. Le PEG a été choisi en raison de sa large gamme de solubilité, de son manque de toxicité, de son absence d'antigénicité et d'immunotoxicité, de sa non-interférence avec les activités enzymatiques et les conformations des polypeptides et de sa facilité d'excrétion par les organismes vivants (**González et al., 2014**).

Dans le but d'obtenir les concentrations voulues, nous avons dilué l'huile essentielle d'A herba alba dans 100 ml d'eau distillée contenant du PEG.

### 2.3. Préparations des bacs pour la fécondation artificielle

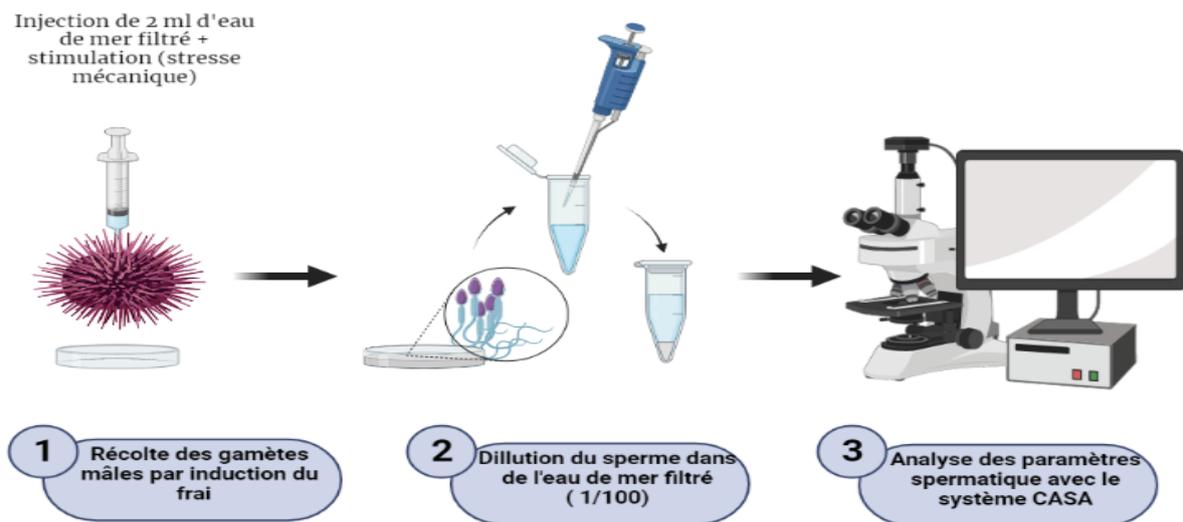
Un total de 12 bacs en verre étiquetés a été utilisés (6 bacs pour la station polluée et 6 autres pour la station non polluée), chaque station renferme un bac contrôle et 5 autres contenant l'huile essentielle d'armoise (*Artemisia herba alba*) avec différentes concentrations. Dans l'ensemble des expériences, 30  $\mu\text{l}$  d'huile avec différentes concentrations : (25  $\mu\text{l}/\text{ml}$ , 50  $\mu\text{l}/\text{ml}$ , 100  $\mu\text{l}/\text{ml}$ , 150  $\mu\text{l}/\text{ml}$  et 200  $\mu\text{l}/\text{ml}$ ) ont été injectés dans 30 ml d'eau de mer pour chaque station (**Fig.19**).



**Fig. 19** : Préparation des milieux.

### 2.4. Paramètres spermatiques

Une fois au laboratoire, les individus ont été stimulés mécaniquement en les tapotant sur la paille pour qu'ils émettent leur semence. Les individus refusant de délivrer leurs semences sont injectés de 2ml d'eau de mer provenant de leur milieu dans la membrane péribuccale jusqu'à la libération de la semence '**Fig.20, 21**'. Le sperme des oursins reconnaissable pour sa couleur blanchâtre, est récupéré dans une boîte de pétri, puis dilué 1/100 (10 $\mu\text{l}$  du sperme pour 990  $\mu\text{l}$  d'eau). 10 $\mu\text{l}$  ont été mis sur la cellule Makler '**Fig.22**' pour l'analyse des paramètres spermatiques (VCL, VSL, VAP, ALH, BCF, LIN, STR, WOB, la motilité et la progression) à l'aide du logiciel CASA (SCA 5.4 Motility).



**Fig. 20 :** Schéma explicatif de l'évaluation des paramètres spermatiques de *P. lividus* avec le système CASA (Computer Assisted Sperm Analysis).



**Fig. 21 :** Oursin stimulé.



**Fig.22:** Cellule Makler.

## 2.5. Dissection et préparation des pools de gamètes

Après l'obtention de la semence, l'ensemble des oursins ont été disséqués horizontalement à l'aide d'une paire de ciseaux robuste, les gonades femelles de couleur orangée (**Fig.23**) et les gonades mâles blanchâtres (**Fig.24**) ont été récupéré soigneusement dans des boîtes de pétri pour former 2 pools de gamètes mâles et femelles pour chaque sortie.



**Fig. 23** : Un pool de gamètes femelles

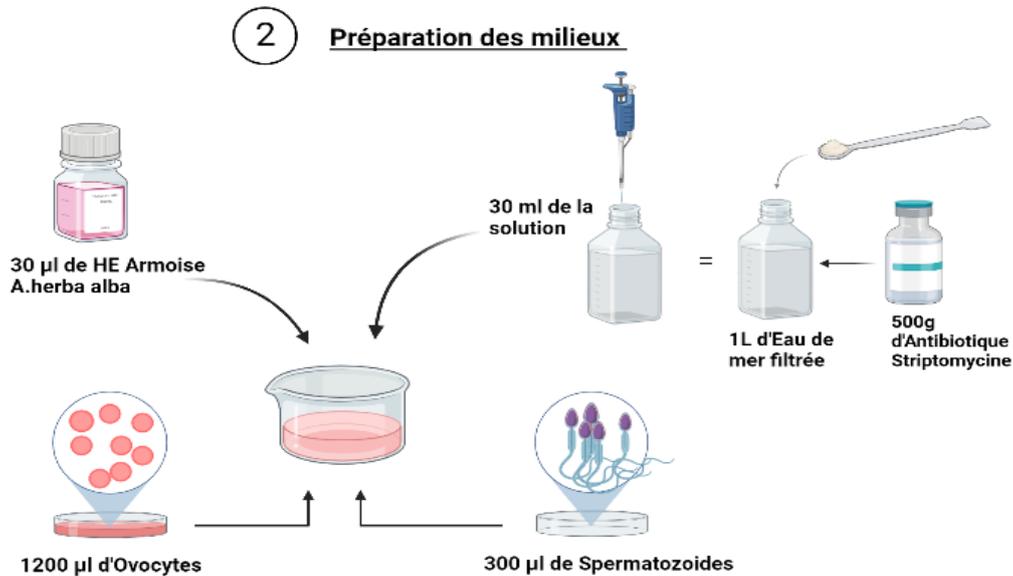


**Fig. 24** : Un pool de gamètes mâles

## 2.6. La fécondation artificielle

Nous avons dans un premier temps déterminé les doses d'huile essentielle d'armoise et les différentes concentrations d'ovocytes et de spermatozoïdes à utiliser pour la fécondation artificielle. Nous avons ensuite procédé à la fécondation en mélangeant 1200  $\mu\text{l}$  d'ovocytes et 300  $\mu\text{l}$  de sperme (pipeté dans le pool de semence femelle et dans le pool de semence mâle.) dans chaque bac contenant 30 ml d'eau de mer filtrée (**Fig.25 et Fig. 26**).

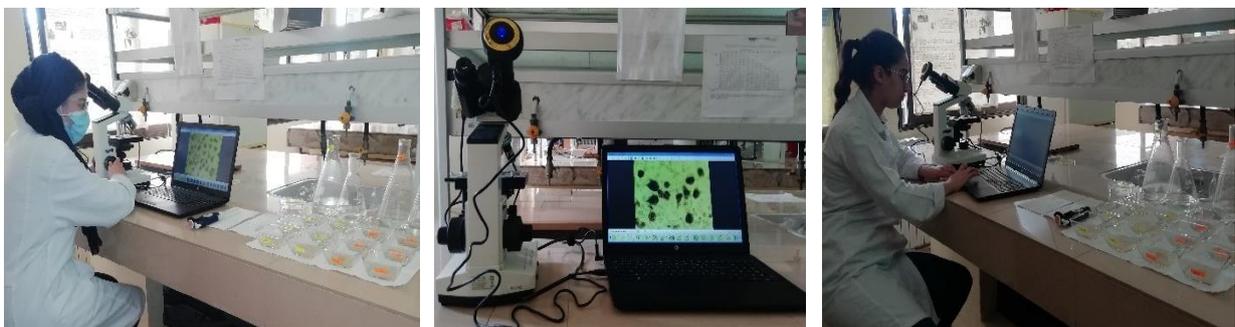


**Fig. 25 :** Les bacs de fécondation.**Fig. 26 :** Schéma de préparation des milieux et fécondation in Vitro.

### 3. Suivi du développement embryonnaire

Pour assurer le suivi du développement embryonnaire, nous avons effectué 3 observations à différents temps (24h, 48h et 72h) après la fécondation. À l'aide d'une pipette, 10 µl de solution larvaire ont été prélevés au fond du bac, puis déposés sur une lame et observés sous un microscope optique relié à une caméra (MVY 3000) à un grossissement de 10x10 (**Fig.27**). Ainsi, des captures de plusieurs champs ont été réalisées à l'aide du logiciel Future Winjoe.

Nous avons pris les captures des champs observer et on a compté le nombre de chaque stade ensuite nous avons fait la moyenne pour l'ensemble des sorties.

**Figure 27 :** Observation des stades embryonnaire.

#### 4. Mesure de la longueur larvaire

Les mesures des longueurs des corps larvaires ont été effectuées (**Fig.28**) à l'aide du logiciel Image J software 1.53k.



**Fig. 28** : Mesure de la longueur larvaire.

#### 5. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une étude statistique, le test de STUDENT non apparié pour les paramètres spermatique, l'ANOVA pour les mesures des longueurs larvaires. Les stades de développement embryonnaire ont été calculés en pourcentages, toutes ces analyses ont été réalisées en utilisant le logiciel Statview 4.5 et GraphPad Prism 8.3.0. Pour les illustrer graphiquement.

# Chapitre III

## Résultats & Discussion

## I. Evaluation des paramètres spermatiques chez l'oursin livide (*P. lividus*)

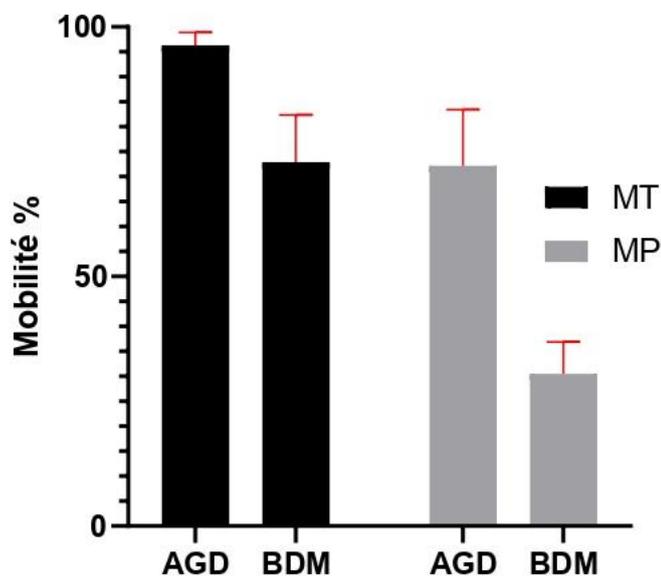
### 1. Résultats

#### 1.1. Motilité

##### 1.1.1. Mobilité totale et mobilité progressive

Les résultats relatifs à la mobilité spermatique immédiatement après l'activation du sperme de *P. lividus* sont rapportés dans la **Figure 29** et qui sont exprimés par le pourcentage de SPZ mobiles et des SPZs progressifs dans les deux milieux préparés avec l'eau et de la semence provenant des Aiguades et de la Brise de mer.

Les individus collectés au niveau de la station des Aiguades sont caractérisés par des pourcentages élevés de SPZ mobiles et de SPZ progressifs, avec une moyenne de  $96.267 \pm 2.621\%$  ( $P = 0.0494$ ) et  $72.17 \pm 11.26\%$  ( $P = 0.0066$ ), respectivement. Par ailleurs, les oursins récoltés au niveau de la Brise de mer ont révélé un pourcentage plus faible avec  $72.90 \pm 9.480\%$  SPZ mobiles ( $P = 0.0494$ ) et seulement  $30.49 \pm 6.44\%$  SPZ progressif ( $P = 0.0066$ ) (**Fig.29**).



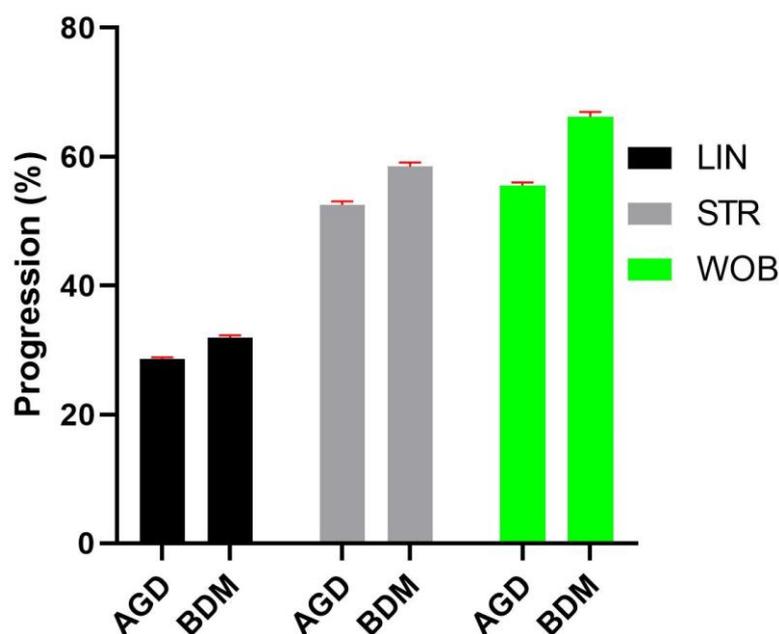
**Fig.29** : Histogramme représentant les pourcentages de la motilité (MT, MP) des SPZs des deux populations de *P. lividus* (AGD et BDM).

## 1.2. Cinétique de mouvement des spermatozoïdes des deux stations

Les paramètres cinétiques spermatozoïdes des deux populations de l'oursin commun *P. lividus* sont représentés dans les **Figure 30**, **Figure 31** et la **Figure 32**.

### 1.2.1. Paramètres de progression (LIN, STR, WOB)

Les paramètres de progression (LIN, STR, WOB) de *P. lividus* des deux milieux sont représentés dans la **Figure 30**. Des pourcentages élevés de LIN, STR, WOB ont été enregistrés en faveur du sperme des mâles de la station BDM, avec  $31.88 \pm 0.4\%$  pour la linéarité,  $58.48 \pm 0.65\%$  pour la rectitude, et  $66.22 \pm 0.73\%$  pour l'oscillation contre  $28.57 \pm 0.3\%$  (LIN),  $52.53 \pm 0.52\%$  (STR), et  $55.55 \pm 0.46\%$  (WOB) pour les mâles de la Station des AGD ( $P < 0.0001$ ).

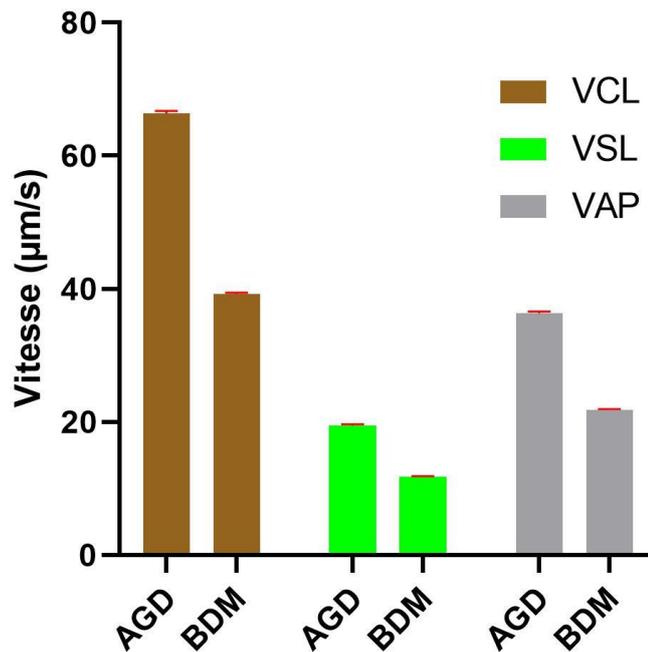


**Fig.30** : Histogramme représentant les paramètres de progression (LIN, STR, WOB) des SPZs des deux populations de *P. lividus* pour les deux milieux (AGD et BDM).

### 1.2.2. Paramètres de vitesse (VCL, VSL, VAP)

Les paramètres de vitesse (VCL, VSL, VAP) pour les SPZ de *P. lividus* des deux milieux préparés (AGD et BDM) sont représentés dans la **Figure 31**. Les valeurs

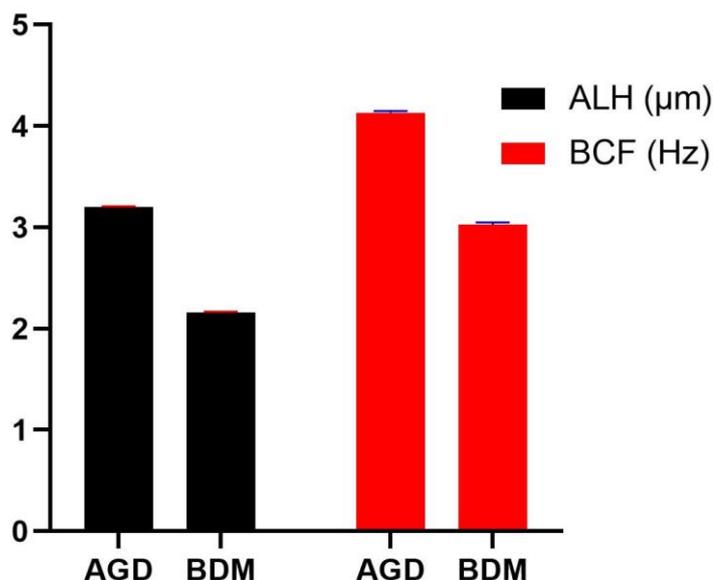
indiquent que la VCL des spermatozoïdes des mâles de la station des Aiguades est largement supérieure à celle de la VCL des SPZ de la population de la Brise de mer avec respectivement une moyenne de  $66.387 \pm 0.364 \mu\text{m/s}$ ,  $39.253 \pm 0.191 \mu\text{m/s}$ . Les mêmes constatations peuvent être retenues pour la VSL avec respectivement  $19.450 \pm 0.18 \mu\text{m/s}$  et  $11.780 \pm 0.1 \mu\text{m/s}$  et la VAP avec  $36.35 \pm 0.24 \mu\text{m/s}$  et  $21.83 \pm 0.14 \mu\text{m/s}$  ( $P < 0.0001$ ).



**Fig.31** : Histogramme représentant les paramètres de progression (VCL, VSL, VAP) des SPZs des deux populations de *P. lividus* (AGD et BDM).

### 1.2.3. Paramètres de progression (ALH, BCF)

Les paramètres de progression (ALH, BCF) des SPZs de *P. lividus* des deux stations (AGD et BDM) sont représentés dans la **Figure 32**. Il ressort que la moyenne de l'amplitude du déplacement latéral (ALH) et de la fréquence croisée des battements (BCF) de la tête des SPZs de *P. lividus* des Aiguades soit supérieure à celle enregistrée pour les SPZs des mâles de la 2<sup>ème</sup> station, avec  $3.20 \pm 0.01 \mu\text{m}$  contre  $2.16 \pm 0.01 \mu\text{m}$  pour ALH et  $4.13 \pm 0.02 \text{ Hz}$  contre  $3.03 \pm 0.02 \text{ Hz}$  pour BCF.



**Figure 32** : Histogramme représentant les paramètres de progression (ALH, BCF) de SPZ des deux populations de *P. lividus* (AGD et BDM).

## 2. Discussion

Les villes côtières sont souvent identifiées comme des « Hot spots » pour divers types de pollution provenant de différentes sources (Fabbrocini et al., 2010 ; Vikas et al., 2015 ; Gendouzi et al., 2020). À Bejaia, la présence de contaminants de l'écosystème marin a été signalée par (Mankou-Haddadi et al., 2021 et Alik et al., 2021).

La motilité est une caractéristique des gamètes mâles qui permet aux spermatozoïdes d'atteindre activement les gamètes femelles et de les pénétrer dans les organismes fécondés en interne et en externe (Bondarenko & Cosson, 2019). De par sa pertinence, la motilité est le biomarqueur le plus étudié pour évaluer la qualité du sperme chez plusieurs espèces et la fertilité chez certaines espèces (Rurangwa et al., 2001 ; van der Hors et al., 2018). Pendant longtemps, l'évaluation de la motilité était basée uniquement sur des estimations du pourcentage de spermatozoïdes mobiles et de la durée totale de la motilité. Le développement des méthodes d'évaluation objective assistée par ordinateur (CASA) a changé l'évaluation de la motilité des spermatozoïdes pour être plus précise et permettre l'évaluation de différentes caractéristiques de la

motilité des spermatozoïdes telles que le type de motilité, la trajectoire et la vitesse des spermatozoïdes (Cabrita et al., 2009 ; Shingh et al., 2021).

Les résultats de la présente étude ont montré que la motilité totale (MT) et progressive (MP), la vélocité (VCL, VSL, VAP), et la progression (ALH, BCF) les plus élevées ont été observées chez les SPZs des individus collectés au niveau de la station des Aiguades (AGD). Ceci est rapporté de manière similaire chez l'oursin *Heliocidaris erythrogramma* endémique d'Australie avec 95.35% pour la motilité totale (Smith et al., 2019) et chez la population de *P. lividus* capturé au sud et nord du Portugal avec  $78.5 \pm 28.3 \mu\text{m/s}$  pour la VCL,  $13.8 \pm 13.8 \mu\text{m/s}$  pour la VSL,  $41.1 \pm 16.3 \mu\text{m/s}$  pour la VAP et ALH avec  $3.8 \pm 1 \mu\text{m}$ , et  $4 \pm 3 \text{ Hz}$  pour la BCF ont été relevé par Rodrigues, (2021). Cependant, une étude menée par Abrizio et son équipe dans la région de Fasano en Italie en 2018 a montré que *P. lividus* présentait une motilité complète et progressive au printemps, nettement inférieure à celles enregistrées dans notre étude.

Le problème majeur rencontré sur des études antérieures dans lesquelles l'effet des polluants et des facteurs de stress sur la motilité des SPZs a été examiné chez de nombreuses espèces de vertébrés et d'invertébrés marins (Ebrarimi, 2005 ; Chiarli et al., 2019). En effet, plusieurs études ont rapporté que les facteurs de stress environnementaux affectent la qualité du sperme, divers facteurs de stress environnementaux modifient la motilité, la morphologie, la concentration, l'activité mitochondriale des spermatozoïdes et induisent la fragmentation de l'ADN, la peroxydation des lipides de la membrane plasmique et la formation de ROS (Gallo et al., 2018 ; 2020). Effectivement, il a été rapporté que l'exposition combinée du sperme de poisson-chat au zinc et au cadmium à 1ppm pour un temps supérieur à 50-60 s avait un impact négatif sur les paramètres de vélocité (Ebrahimi, 2005). Arriza et son équipe (2009) ont démontré également que les gamètes mâles de *P. lividus* exposés aux xénobiotique (Cadmium, cuivre et tributylétain) réduisaient la fertilité et affectaient la motilité des spermatozoïdes. Ceci pourrait expliquer la diminution des paramètres de vélocité et de progression (ALH et BCF) obtenus dans la présente étude dans le milieu BDM. À cet égard, une étude récente consacrée à l'analyse anatomohistopathologique de trois espèces de poissons : Sardine *Sardina pilchardus*, Saupel *Salpa sarpa*, Saurel *Trachurus mediteraneus* récupérées au niveau de la brise de mer

de Béjaïa, avait enregistré des anomalies relatives à la présence des agents polluants (Selmani, 2017).

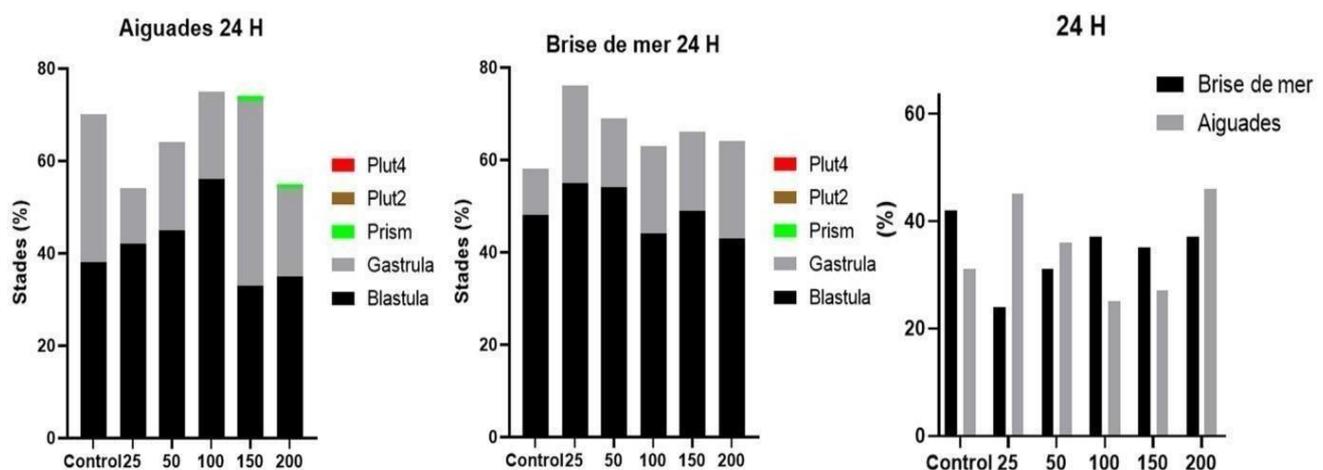
Les résultats de cette présente étude nous permettent d'avancer que la qualité du sperme est nettement supérieure dans la station des Aiguades. Ces résultats ont été démontrés en utilisant le système CASA pour l'oursin commun *P. lividus*.

## II. Effets de l'HE d'*Artemisia herba alba* sur la fécondation, le développement embryonnaire et larvaire dans les deux milieux (pollué et non pollué)

### 1. Résultats

#### 1.1. Suivi du développement à 24h

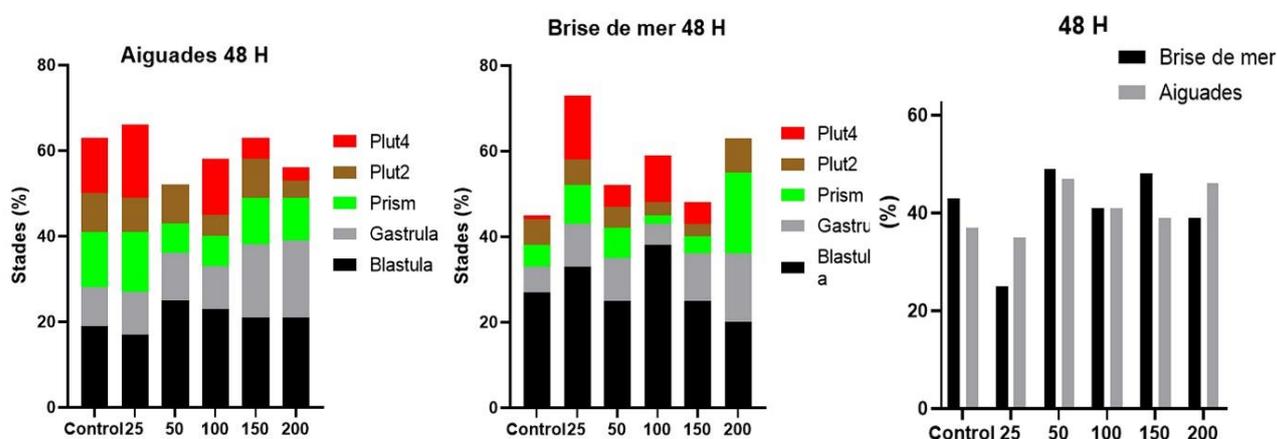
Après 24h de fécondation, une prédominance des stades blastula et gastrula dans les différents milieux préparés avec ou sans HE (Fig.33). Néanmoins, dans les milieux contenant l'HE à 150  $\mu$ l/ml et à 200  $\mu$ l/ml le stade prism est apparu précocement avec un 1%, dans les milieux propres des Aiguades. Une dégénérescence est enregistrée dans l'ensemble des milieux avec une valeur plus élevée dans le milieu propre contenant 200  $\mu$ l/ml d'HE (Fig.36 et Fig. 37).



**Fig.33** : Histogrammes représentant les pourcentages de développement embryonnaires, larvaires et d'embryons dégénérés des deux populations de *P. lividus* dans les deux milieux (AGD, BDM) à 24H d'incubation.

## 1.2. Suivi du développement à 48h

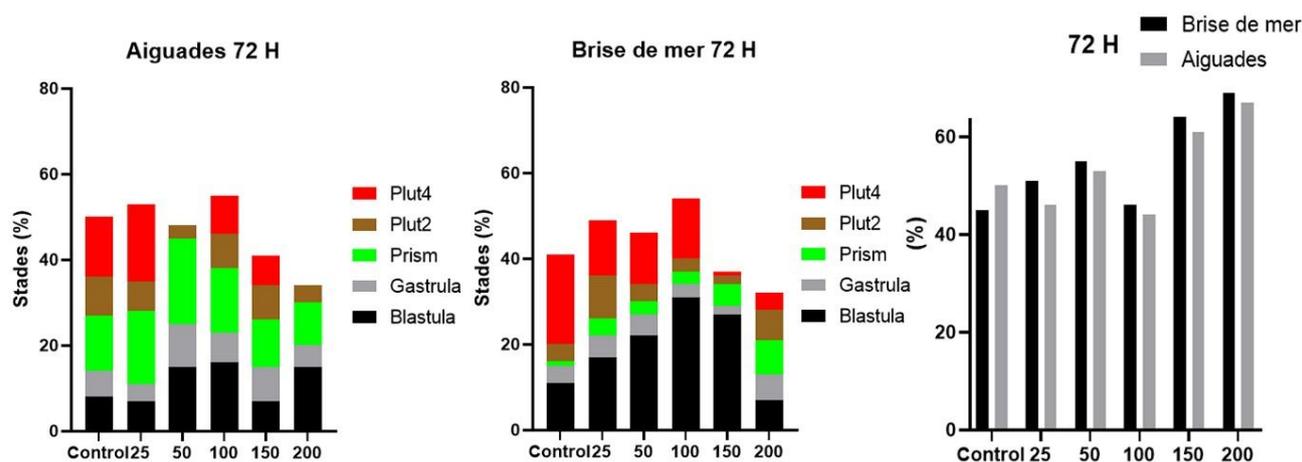
Après 48h de fécondation, tous les stades embryonnaires et larvaires ont fait apparition sauf avec une concentration d'HE de 50  $\mu\text{l/ml}$  dans le milieu propre des AGD et à 200  $\mu\text{l/ml}$  dans le milieu pollué de BDM (**Fig.34**). Le stade pluteus 4 armes, étant le plus développé, présente les valeurs les plus élevées dans les milieux à 25  $\mu\text{l/ml}$  d'HE et une valeur minimale de 1%, seulement dans le milieu contrôlé pollué. Même après 48h d'incubation, une dégénérescence est constatée dans les différents milieux notamment dans le milieu à 50  $\mu\text{l/ml}$  d'HE d'armoise (**Fig.36 et Fig. 37**).



**Fig.34** : Histogrammes représentant les pourcentages de développement embryonnaires, larvaires et d'embryons dégénérés des deux populations de *P.lividus* des deux milieux (AGD, BDM) à 48Hd'incubation.

## 1.3. Suivi du développement à 72h

Après 72h, l'ensemble des stades embryonnaires et larvaires sont présents dans tous les milieux, exception faite pour les milieux propre à 50  $\mu\text{l/ml}$  et 200  $\mu\text{l/ml}$  d'HE où le stade pluteus 4 armes est absent. Une dominance du stade prism dans tous les milieux propres que ce soit le contrôle ou avec la présence de l'HE. Une forte dégénérescence est survenue dans tous les milieux dépassant parfois les 60%, notamment les milieux à forte concentration en HE (150  $\mu\text{l/ml}$  et 200  $\mu\text{l/ml}$ ). Il est à noter également que la dégénérescence est légèrement importante dans les milieux pollués avec une exception pour le contrôle (**Fig.35, Fig. 36 et Fig. 37**).



**Fig.35 :** Histogrammes représentant les pourcentages de développement embryonnaire, larvaires et d'embryons dégénérés des deux populations de *P.lividus* (AGD, BDM) à 72H d'incubation.

## 2. Discussion

Le développement embryonnaire représente une étape de la vie extrêmement sensible et délicate pour tous les organismes vivants, en particulier pour ceux dont la fécondation est externe, comme les oursins. En effet, dans l'écosystème marin, les adultes et les embryons d'oursins sont constamment exposés à une variété de pressions environnementales, y compris des facteurs intrinsèques et extrinsèques/anthropogènes causant un stress oxydatif et nitrosatif (Milito et al., 2020).

De nombreuses études ont examiné l'impact des substances toxiques, y compris les métaux dont le Cd, Mn, Pb et Zn (Gallo et al., 2018 ; Cunningham et al., 2019 ; Rumahlatu et al., 2019 ; Sherman et al., 2021 ; Taşçı et al., 2022) et les nanomatériaux (nanoparticules, nano-fibres) (Gotner-Hotch et al., 2019 ; Burić et al., 2015 ; Gambardella et al., 2015). Ainsi que l'impact d'autres facteurs de stress tels que les UV et les rayons X (Bonaventura et al., 2021) sur la fertilité, l'embryologie et le développement larvaire chez les différentes espèces d'oursins et en particulier sur *Paracentrotus lividus* (Chiarlli et al., 2019).

Les résultats de la présente étude ont montré que les pourcentages des différents stades de développement embryonnaire et larvaire chez *P. lividus* dans le contrôle des AGD est globalement supérieurs au contrôle de la BDM. Et inversement pour le

pourcentage d'embryons dégénérés, où le contrôle de la BDM a présenté des pourcentages bien plus élevés de dégénérescence. Dans cette optique, de nombreuses études ont rapportés des taux de fécondation des œufs altérés, des anomalies de l'embryogenèse, ainsi que des arrêts du développement à différents stades après exposition des SPZs à des concentrations supérieures à 10 µg/L de Cd (Gharred et al., 2016), mais aussi après le traitement d'embryons avec 1000 à 2 500 µg/L de Cd (Manzo et al., 2010). D'autres études sur les processus apoptotiques activés chez *P. lividus* ont été menées après une exposition de longue durée à de faibles concentrations de Cd, similaires à celles trouvées dans les eaux de mer modérément ou fortement polluées. Ces expositions ont provoqué de graves retards de développement et des anomalies chez les larves, suggérant que même de très petites quantités de Cd, si elles sont accumulées dans les cellules, peuvent produire des effets cytotoxiques et une apoptose significative (Filosto et al., 2008). Par ailleurs, une étude menée par Selmani (2017) a démontré que la Brise de mer était une zone relativement polluée en raison de la présence de métaux lourds (Zn, Fe, Ni, Cu, Pb et le Cd) avec des concentrations élevées, ce qui explique en partie les résultats obtenus par cette investigation.

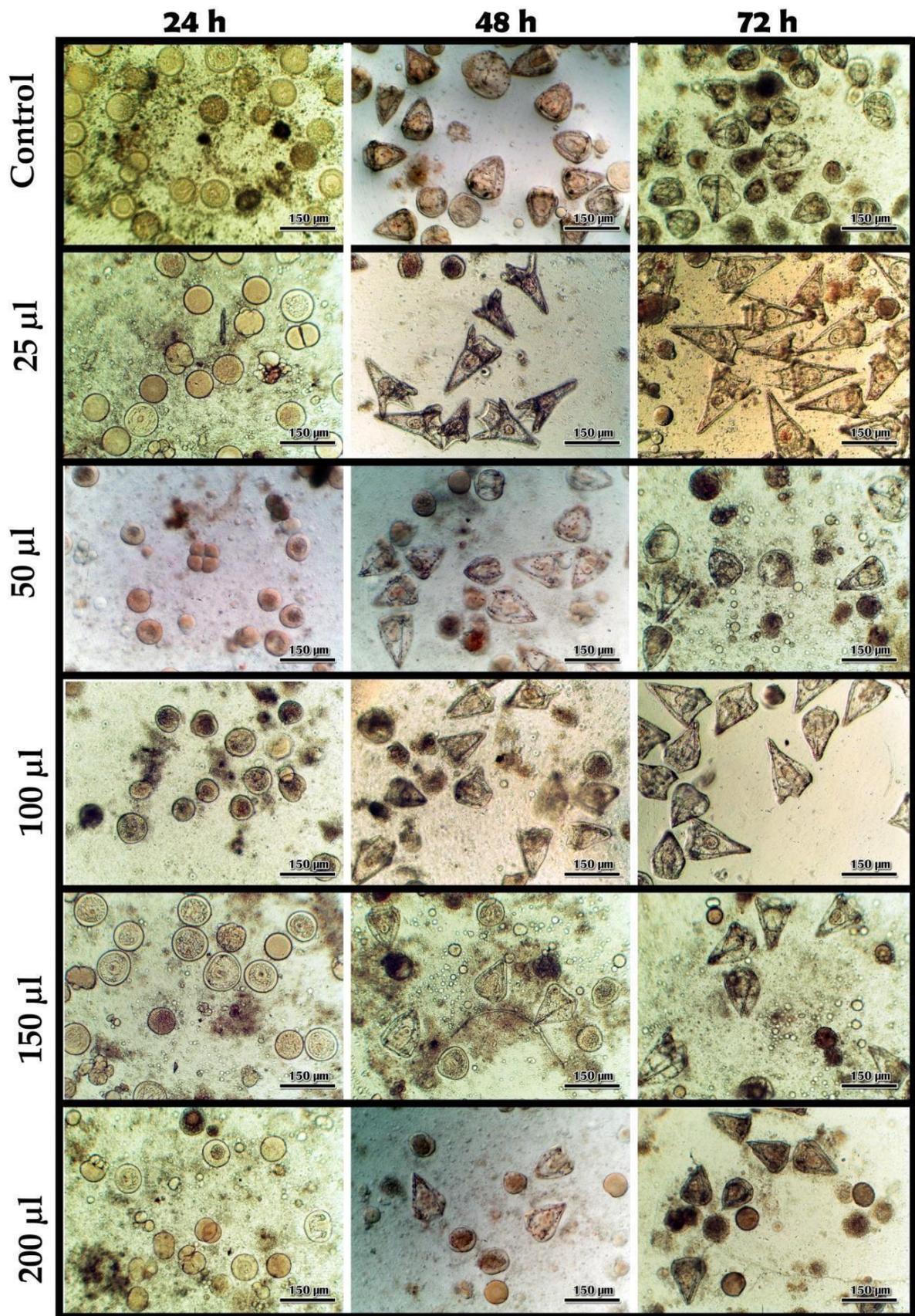
Par ailleurs, une étude réalisée en 2021, en Tunisie menée par Gharred et son équipe ont démontrés une corrélation des altérations des caractéristiques physico-chimiques ainsi que les niveaux élevés de métaux dans les échantillons d'eau de mer étudiés avec la réduction du taux de fertilité, du taux de gastrulation et de la fréquence des larves normales. L'absence totale de larves normales d'oursins pluteus dans les eaux de mer des sites fortement pollués prouve la grande sensibilité des larves à la pollution mixte.

Toutefois, Milito et al., rapportent dans une étude récemment publiée que l'Ovothiol (L'Ovothiol A (N1-méthyl-4-mercaptohistidine) est un antioxydant hautement réducteur, qui s'accumule à des niveaux très élevés dans les œufs de certains invertébrés marins) assure le bon développement de l'embryon de l'oursin *P. lividus*, aidant vraisemblablement les processus fondamentaux à se produire, de la prolifération cellulaire à la formation du squelette et à la réponse immunitaire en agissant comme agent protecteur des facteurs de stress environnementaux.

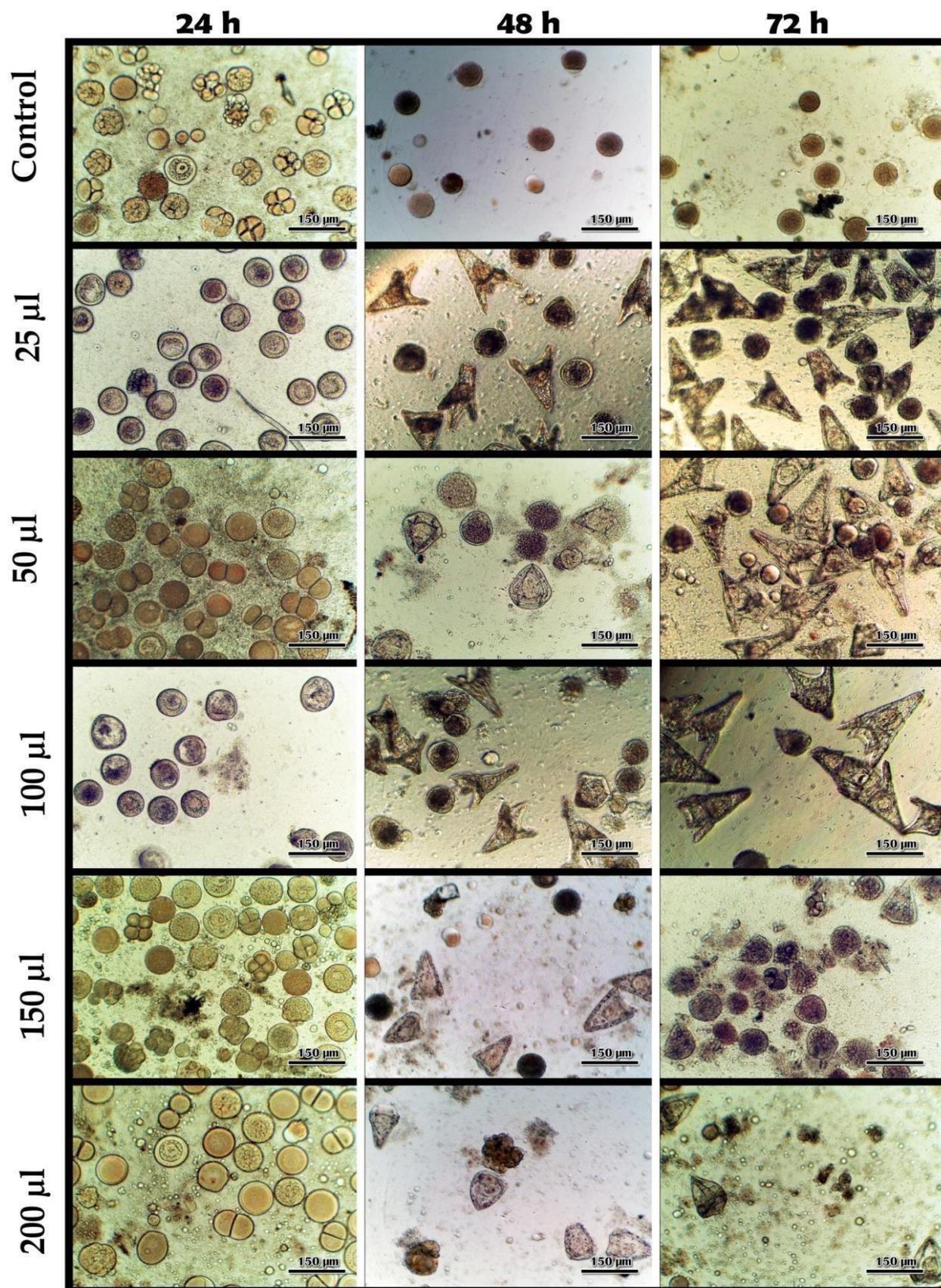
La présente étude nous a permis d'étendre notre domaine de recherche aux HE, tout en acquérant des connaissances sur les bienfaits effets de l'HE d'*Artemisia herba alba* sur la fécondation et le développement larvaires de *P. lividus*. Cette recherche s'est

spécifiquement concentrée sur la façon dont plusieurs concentrations 25, 50, 100, 150 et 200  $\mu\text{l}$  L-1 d'HE d'A. herba alba affectent le développement embryonnaire et larvaire dans les deux milieux AGD et BDM. Nous avons remarqué que la concentration 25  $\mu\text{l/l}$  d'HE excellé les autres milieux avec et sans HE, tant par un pourcentage élevé de développement homogène des stades, que par une réduction du pourcentage de dégénérescence.

Les huiles essentielles sont des extraits de plantes aromatiques utilisées dans de nombreuses industries (**Baptista-Silva et al., 2020**) comme agents antibactériens, anticancéreux, anti-inflammatoires et antiviraux (**Bakkali et al., 2007**). En effet, plusieurs études ont rapporté des activités biologiques intéressantes des huiles essentielles sur le développement larvaire. D'ailleurs, il a été déjà démontré dans certaines études (**Marengoni et al., 2017**) que l'huile essentielle d'ail augmente les taux de fécondation des œufs et aide à l'éclosion des larves de *Rhamdia quelen* dans un système d'incubation artificielle. Par ailleurs, Une étude a rapporté un effet sédatif et anesthésique de l'huile essentielle de *Lippia alba* qui suggère une amélioration de la réponse au stress oxydatif chez l'oursin *Echinometra lucunter* (**Linnaeus, 1758**).



**Fig.36** : Effets de l'HE d'*A. herba alba* sur la fécondation et le développement embryonnaire et larvaires des milieux propre (AGD) de *P. lividus*.



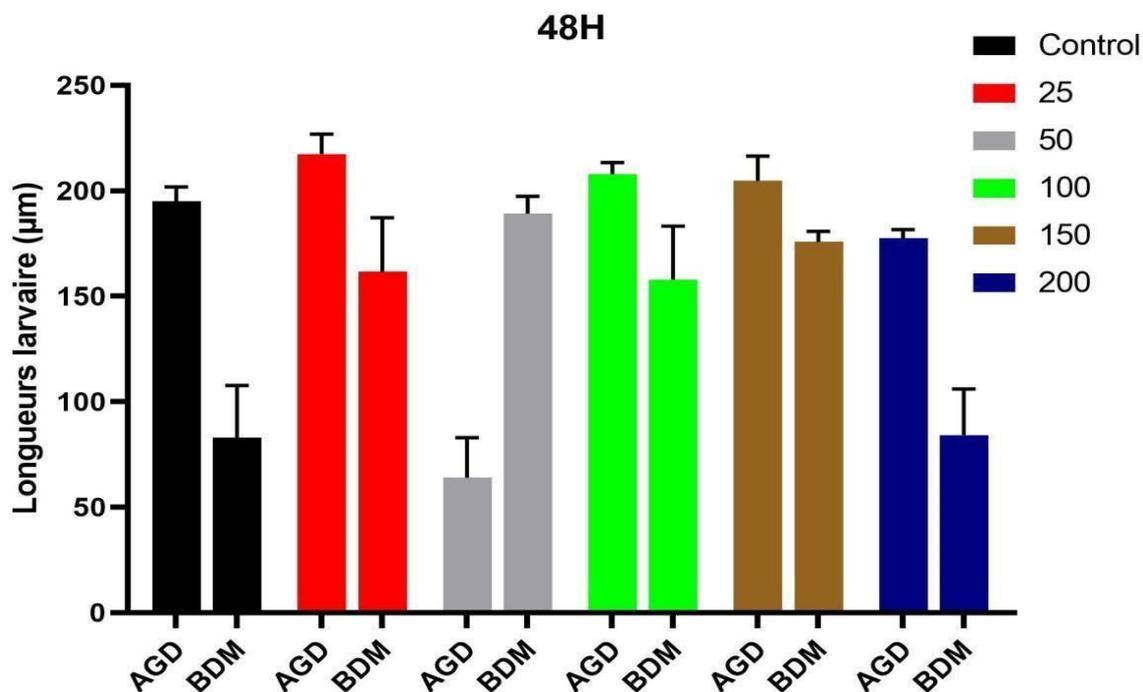
**Fig.37** : Effets de l'HE d'*A. herba alba* sur la fécondation et le développement embryonnaire et larvaires des milieux pollués (BDM) de *P. lividus*.

### III. La mesure de la longueur larvaire des milieux pollué et non pollué BDM et AGD de *P.lividus* en fonction de différentes concentration d'HE d'*A. herba alba*.

#### 1. Résultats

##### 1.1. Longueurs larvaires à 48h

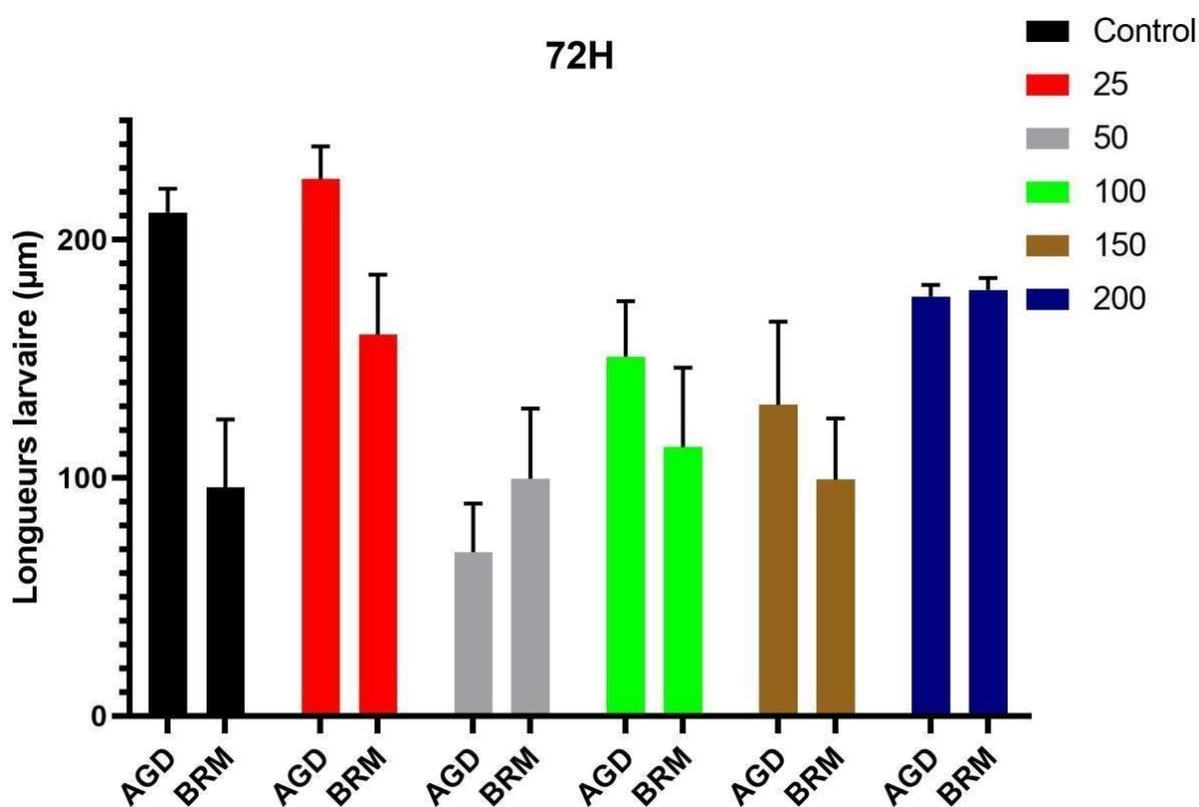
Les longueurs larvaires évaluées après 48h de développement sont regroupées sous forme d'histogrammes (**Fig.38**). On peut distinguer que la taille des larves est globalement plus importante dans les milieux propres comparée aux milieux pollués avec ou sans l'HE, avec une différence significative ( $P < 0.0001$ ) pour le contrôle avec une longueur moyenne de  $195.095 \pm 6.780 \mu\text{m}$  pour le milieu propre contre  $83.030 \pm 24.744 \mu\text{m}$  pour le milieu pollué. A une concentration d'HE de  $25 \mu\text{l/l}$  les larves atteignent une longueur moyenne de  $217.38 \pm 9.49$  ( $P = 0.0472$ ). Par contre dans les milieux avec  $50 \mu\text{l/ml}$  d'HE les larves ont une taille significativement supérieure dans le milieu pollué avec  $189.24 \pm 8.16 \mu\text{m}$  ( $P < 0.0001$ ).



**Fig.38** : Histogramme représentant la longueur larvaire dans les milieux pollués et non pollués (AGD, BDM) de *P. lividus* en fonction des différentes concentrations d'HE d'*A. herba alba* à 48H d'incubation.

## 1.2. Longueurs larvaires à 72h

À 72h, les mesures larvaires rapportés dans la **Figure 39**, pour le milieu propre restent clairement plus élevées que celle du milieu pollué excepté pour le milieu avec 50  $\mu\text{l/l}$  d'HE avec  $99.59 \pm 29.45 \mu\text{m}$  pour le milieu pollué contre  $68.82 \pm 20.38 \mu\text{m}$ . Le milieu avec 25  $\mu\text{l/ml}$  d'HE présente la longueur de larve la plus élevée avec  $225.45 \pm 13.78 \mu\text{m}$  ( $P=0.0242$ ) suivie du contrôle avec  $211.40 \pm 10.126 \mu\text{m}$  ( $P= 0.0004$ ). Contrairement aux milieux pollués où la mesure la plus élevée enregistrée se trouve dans le milieu avec 200  $\mu\text{l/ml}$  d'HE et une mesure de  $178.89 \pm 5\mu\text{m}$ .



**Fig. 39 :** Histogramme représentant la longueur larvaire des milieux pollués et non pollués (AGD, BDM) de *P. lividus* en fonction des différentes concentrations d'HE d'*A. herba alba* à 72H d'incubation.

## 2. Discussion

Les longueurs larvaires observées dans la présente étude étaient inférieures à celles observées précédemment (**Fernández and Beiras, 2000 ; Liu et al., 2007**).

Néanmoins, les milieux avec les différentes concentrations d'HE d'*A. herba alba* ont montré des effets significatifs sur le développement qui peuvent être attribués aux propriétés nutritionnelles de l'HE. Ainsi, le développement était globalement plus rapide chez les larves des milieux propres traités avec l'HE d'Armoise.

En effet, la concentration 25 µl/l a démontré une mesure de la longueur larvaire nettement supérieur avec  $217.38 \pm 9.49$  µm. Ce constat, reste valable malgré les rétrécissements de la longueur larvaire observé a 72h dans les milieux contenant les HE.

# Conclusion

## Conclusion

L'objectif de cette étude était d'évaluer dans un premier temps ; l'effet de la pollution sur les paramètres de la mobilité spermatique chez deux populations d'oursin livide *Paracentrotus lividus* et d'autre part, investiguer les effets de l'huile essentielle d'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) sur les taux du développement des larves issues de ces mêmes populations incubées artificiellement dans leurs eaux d'où ils proviennent.

Afin de mettre en évidence l'effet de la pollution sur les paramètres de la motilité spermatique, nous avons utilisé le système CASA, qui nous a permis d'évaluer la motilité totale et progressive, la vitesse (VCL, VSL, VAP), et la progression (LIN, STR, WOB, ALH, et BCF) des SPZ des deux populations d'oursin *Paracentrotus lividus* des Aiguades et de la Brise de mer.

Les résultats ont montré que la motilité totale ( $96.267 \pm 2.621\%$ ) et progressive ( $72.17 \pm 11.26\%$ ), VCL ( $66.387 \pm 0.364 \mu\text{m/s}$ ), VSL ( $39.253 \pm 0.191 \mu\text{m/s}$ ), VAP ( $19.450 \pm 0.18 \mu\text{m/s}$ ), ALH ( $3.20 \pm 0.01 \mu\text{m}$ ), et BCF ( $4.13 \pm 0.02 \text{ Hz}$ ) les plus élevées ont été observées chez les SPZs des individus collectés au niveau de la station des Aiguades (AGD). Par contre, Des pourcentages élevés de LIN, STR, WOB ont été enregistrés en faveur du sperme des mâles de la station BDM, avec  $31.88 \pm 0.4 \%$  pour la linéarité,  $58.48 \pm 0.65\%$  pour la rectitude, et  $66.22 \pm 0.73\%$  pour l'oscillation Les résultats de cette présente étude nous permettent d'avancer que la qualité du sperme est nettement supérieure dans la station des Aiguades

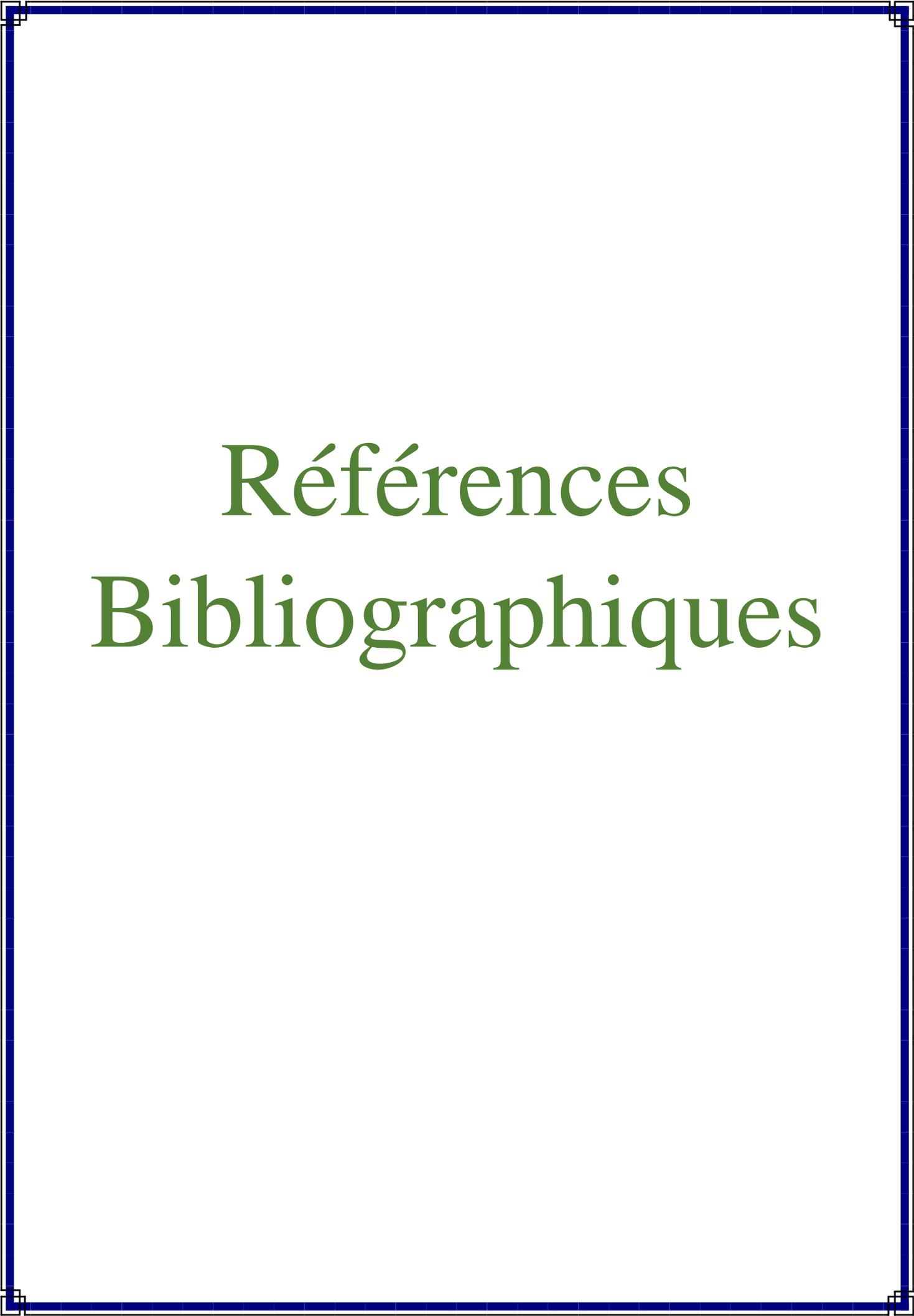
La deuxième partie de notre travail a consisté à évaluer l'effet de l'huile essentielle d'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) sur les taux de développement des larves de ces mêmes populations incubées artificiellement dans les eaux dont elles sont issues.

Les taux de développement des différents stades larvaires ont été déterminés à 24, 48 et 72h après fécondation. La longueur des corps larvaires a été évaluée à l'aide d'un logiciel de mesure microscopique afin de déterminer le taux de développement normal. La concentration de  $25 \mu\text{l/l}$  a favorisé de meilleurs développements pour les larves. Les concentrations d'huile essentielle d'armoise ont eu un effet linéaire sur les taux d'éclosion, la durée du développement ainsi que la longueur des larves. L'huile d'armoise à concentrations plus forte que  $25 \mu\text{l/l}$  a montré une influence négative sur le développement des larves ( $P > 0,05$ ).

Il est recommandé d'utiliser 25 µl d'huile essentielle d'armoise pour promouvoir de meilleurs taux du développement des différents stades larvaires d'oursin livide incubé artificiellement.

Compte tenu de l'importance de l'oursin *P. lividus* comme espèce modèle dans la recherche marine, la présente enquête a montré que les paramètres de motilité des spermatozoïdes, ainsi que les embryons et les larves de l'oursin commun *Paracentrotus lividus* sont de bons bio indicateurs de la pollution de l'eau.

En perspectives, il serait également intéressant de travailler sur plusieurs stations et de prolonger l'étude sur une plus longue période pour déterminer la période de reproduction de *Paracentrotus lividus*.



# Références Bibliographiques

## Références Bibliographiques

### A

**Abad, M. J., Bedoya, L. M., Apaza, L., & Bermejo, P. (2012).** The *Artemisia L.* genus: a review of bioactive essential oils. *Molecules*, 17(3), 2542-2566.

**Aberkane, B., Touazi, L., Bellik, Y., Moula, N., & Iguer-Ouada, M. (2022).** Barbel (*Barbus barbus callensis*) sperm parameters and oxidative stress status as bioindicators of freshwater pollution.

**Agatonovic-Kustrin, S., Kustrin, E., & Morton, D. W. (2019).** Essential oils and functional herbs for healthy aging. *Neural regeneration research*, 14(3), 441.

**Albrizio, M., Aiudi, G., Cicirelli, V., Guaricci, A. C., Passantino, G., Di Summa, A., & Zizzo, N. (2019).** Male reproductive physiology of *Paracentrotus lividus* : monthly and seasonal evaluations to study the effects of the environment on gonadal development and sperm cells kinetic. *Aquaculture*, 503, 620-627.

**Alik, O., Oudainia, S. E., Bouchebbah, S., Dehbi-Zebboudj, A., & Zerouali-Khodja, F. (2021).** Heavy Metal and Trace Element Bioaccumulation in Muscle and Liver of the Merlu (*Merluccius merluccius* Linneaus, 1758) from the Gulf of Bejaia in Algeria. *Ekológia*, 40(1), 91-100.

**Aljaiyash, A., Kasrati, A., Jamali, C. A., & Chaouch, A. (2018).** Effect of cultivation on chemical composition and bioactivities of essential oils from *Artemisia herba-alba* Asso grown in Morocco. *Biochemical Systematics and Ecology*, 81, 74-79.

**Altamirano, M., Andreakis, N., Souza-Egipsy, V., Zanolla, M., & De la Rosa, J. (2014, December).** First record of *Caulerpa cylindracea* (caulerpaceae, chlorophyta) in andalusia (southern Spain). In *Anales del Jardín Botánico de Madrid* (Vol. 71, No. 2, pp. e007-e007).

**Ambrose, K. K., Box, C., Boxall, J., Brooks, A., Eriksen, M., Fabres, J., ... & Walker, T. R. (2019).** Spatial trends and drivers of marine debris accumulation on shorelines in South Eleuthera, The Bahamas using citizen science. *Marine pollution bulletin*, 142, 145-154.

**Amor, G., Caputo, L., La Storia, A., De Feo, V., Mauriello, G., & Fechtali, T. (2019).** Chemical composition and antimicrobial activity of Artemisia herba-alba and Origanum majorana essential oils from Morocco. *Molecules*, 24(22), 4021.

**Andrade, E. D. S., de Andrade, E. A., Felizardo, V. D. O., Paula, D. A. D. J., Veras, G. C., & Murgas, L. D. S. (2015).** Biologia reprodutiva de peixes de água doce. *R. bras. Reprod. Anim.*, 195-201.

**Asdadi, A., Hamdouch, A., GHARBY, S., & HASSANI, L. M. I. (2020).** Chemical characterization of essential oil of Artemisia herba-alba asso and his possible potential against covid-19. *Journal of Analytical Sciences and Applied Biotechnology*, 2(2), 2-2.

**Asif, M., Yehya, A. H., Dahham, S. S., Mohamed, S. K., Shafaei, A., Ezzat, M. O., ... & Majid, A. M. S. A. (2019).** Establishment of in vitro and in vivo anti-colon cancer efficacy of essential oils containing oleo-gum resin extract of Mesua ferrea. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 1620-1629.

**Aziz, Z. A., Ahmad, A., Setapar, S. H. M., Karakucuk, A., Azim, M. M., Lokhat, D., ... & Ashraf, G. M. (2018).** Essential oils: extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential-a review. *Current drug metabolism*, 19(13), 1100-1110.

## B

**Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.

**Baptista-Silva, S., Borges, S., Ramos, O. L., Pintado, M., & Sarmiento, B. (2020).** The progress of essential oils as potential therapeutic agents : A review. *Journal of Essential Oil Research*, 32(4), 279-295.

**Barbaglio, A., Tricarico, S., Di Benedetto, C., Fassini, D., Lima, A. P., Ribeiro, A. R., ... & Candia Carnevali, M. D. (2013).** The smart connective tissue of echinoderms: a materializing promise for biotech applications. *Cah Biol Mar*, 54, 713-720.

**Barnes, D. K., Galgani, F., Thompson, R. C., & Barlaz, M. (2009).** Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical transactions of the royal society B : biological sciences*, 364(1526), 1985-1998.

- Bayed, A., Quiniou, F., Benrha, A., & Guillou, M. (2005).** The *Paracentrotus lividus* populations from the northern Moroccan Atlantic coast: growth, reproduction and health condition. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 85(4), 999-1007.
- Belhattab, R., Amor, L., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Figueiredo, A. C. (2014).** Essential oil from *Artemisia herba-alba* Asso grown wild in Algeria : Variability assessment and comparison with an updated literature survey. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(2), 243-251.
- Bellé, R., Le Bouffant, R., Morales, J., Cosson, B., Cormier, P., & Mulner-Lorillon, O. (2007).** L'embryon d'oursin, le point de surveillance de l'ADN endommagé de la division cellulaire et les mécanismes à l'origine de la cancérisation. *Journal de la Société de Biologie*, 201(3), 317-327.
- Benabdelhak, A. C. (2015).** Contribution à l'étude de l'hydrogéochimie des eaux de deux sources karstiques : cas de Toudja et des Aiguades–Bejaia–Algérie.
- Bertucci, J. I., & Bellas, J. (2021).** Combined effect of microplastics and global warming factors on early growth and development of the sea urchin (*Paracentrotus lividus*). *Science of The Total Environment*, 782, 146888.
- Bohra, D., & Safa, G. (2020).** Screening chimique du test de l'oursin marin *Paracentrotus lividus*.
- Bondarenko, V., & Cosson, J. (2019).** Structure and beating behavior of the sperm motility apparatus in aquatic animals. *Theriogenology*, 135, 152-163.
- Boudouresque, C. F., & Verlaque, M. (2007).** Ecology of *Paracentrotus lividus*. In *Developments in aquaculture and fisheries science* (Vol. 37, pp. 243-285). Elsevier.
- Boudouresque, C. F., & Verlaque, M. (2013).** *Paracentrotus lividus*. In *Developments in Aquaculture and Fisheries Science* (Vol. 38, pp. 297-327). Elsevier.
- Boudouresque, C. F., & Verlaque, M. (2020).** *Paracentrotus lividus*. In *Developments in aquaculture and fisheries science* (Vol. 43, pp. 447-485). Elsevier.

**Boukhris, M., Bouaziz, M., Feki, I., Jemai, H., El Feki, A., & Sayadi, S. (2012).** Hypoglycemic and antioxidant effects of leaf essential oil of *Pelargonium graveolens* L'Hér. in alloxan induced diabetic rats. *Lipids in health and disease*, *11*(1), 1-10.

**Brasseur, L., Demeyer, M., Decroo, C., Caulier, G., Flammang, P., Gerbaux, P., & Eeckhaut, I. (2018).** Identification and quantification of spinochromes in body compartments of *Echinometra mathaei*'s coloured types. *Royal Society open science*, *5*(8), 171213.

**Bulfon, C., Volpatti, D., & Galeotti, M. (2015).** Current research on the use of plant-derived products in farmed fish. *Aquaculture Research*, *46*(3), 513-551.

**Burić, P., Jakšić, Ž., Štajner, L., Sikirić, M. D., Jurašin, D., Cascio, C., ... & Lyons, D. M. (2015).** Effect of silver nanoparticles on Mediterranean sea urchin embryonal development is species specific and depends on moment of first exposure. *Marine Environmental Research*, *111*, 50-59.

**Burns, T. J. (2012).** Marine pollution. *The Wiley-Blackwell Encyclopedia of Globalization*, 1-3.

**Byrne, M. (1990).** Annual reproductive cycles of the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* from an exposed intertidal and a sheltered subtidal habitat on the west coast of Ireland. *Marine Biology*, *104*(2), 275-289.

## C

**Calderón, I., Pita, L., Brusciotti, S., Palacín, C., & Turon, X. (2012).** Time and space: genetic structure of the cohorts of the common sea urchin *Paracentrotus lividus* in Western Mediterranean. *Marine Biology*, *159*(1), 187-197.

**Carboni, S., Vignier, J., Chiantore, M., Tocher, D. R., & Migaud, H. (2012).** Effects of dietary microalgae on growth, survival and fatty acid composition of sea urchin *Paracentrotus lividus* throughout larval development. *Aquaculture*, *324*, 250-258.

**Ceccherelli, G., Pinna, S., & Sechi, N. (2009).** Evaluating the effects of protection on *Paracentrotus lividus* distribution in two contrasting habitats. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *81*(1), 59-64.

**Chassé, H., Mulner-Lorillon, O., Boulben, S., Glippa, V., Morales, J., & Cormier, P. (2016).** Cyclin B translation depends on mTOR activity after fertilization in sea urchin embryos. *PLoS One*, 11(3), e0150318.

**Chen, Q., Bao, B., Li, Y., Liu, M., Zhu, B., Mu, J., & Chen, Z. (2020).** Effects of marine oil pollution on microbial diversity in coastal waters and stimulating indigenous microorganism bioremediation with nutrients. *Regional Studies in Marine Science*, 39, 101395.

**Chiarelli, R., & Roccheri, M. C. (2014).** Marine invertebrates as bioindicators of heavy metal pollution.

**Chiarelli, R., Martino, C., & Roccheri, M. C. (2019).** Cadmium stress effects indicating marine pollution in different species of sea urchin employed as environmental bioindicators. *Cell Stress and Chaperones*, 24(4), 675-687.

**Chiarelli, R., Martino, C., Roccheri, M. C., & Cancemi, P. (2021).** Toxic effects induced by vanadium on sea urchin embryos. *Chemosphere*, 274, 129843.

**Chun, J. T., Vasilev, F., Limatola, N., & Santella, L. (2018).** Fertilization in starfish and sea urchin: roles of actin. *Marine Organisms as Model Systems in Biology and Medicine*, 33-47.

**Costache, V. (2012).** Régulation traductionnelle en réponse à la fécondation et en conditions perturbées dans l'embryon d'oursin (Doctoral dissertation, Université Rennes 1).

**Cunningham, B., Torres-Duarte, C., Cherr, G., & Adams, N. (2020).** Effects of three zinc-containing sunscreens on development of purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*) embryos. *Aquatic Toxicology*, 218, 105355.

## D

**Dauvin, J. C., Bakalem, A., Baffreau, A., & Grimes, S. (2017).** Benthic ecological status of Algerian harbours. *Marine pollution bulletin*, 125(1-2), 378-388.

**David, B., Mooi, R., Néraudeau, D., Saucedo, T., & Villier, L. (2009).** Evolution et radiations adaptatives chez les échinides. *Comptes Rendus Palevol*, 8(2-3), 189-207.

**De La Uz, S., Carrasco, J. F., Rodríguez, C., & Anadon, N. (2013).** Metamorphosis, growth and survival of early juveniles of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata : Echinoidea) : Effects of larval diet and settlement inducers. *Cah Biol Mar*, 54, 691-695.

**De La Uz, S., Carrasco, J. F., Rodríguez, C., & López, J. (2018).** Evaluation of tagging and substrate refuges in release of juvenile sea urchins. *Regional Studies in Marine Science*, 23, 8-11.

**Dinnel, P. A., Link, J. M., & Stober, Q. J. (1987).** Improved methodology for a sea urchin sperm cell bioassay for marine waters. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 16(1), 23-32.

## E

**Ebrahimi, M. (2005).** Using computer assisted sperm analysis (CASA) to monitoring the effects of zinc and Cadmium pollution on fish sperm.

**Ed-Dra, A., Filali, F. R., Presti, V. L., Zekkori, B., Nalbone, L., Elsharkawy, E. R., ... & Giarratana, F. (2021).** Effectiveness of essential oil from the *Artemisia herba-alba* aerial parts against multidrug-resistant bacteria isolated from food and hospitalized patients. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(7).

**Edris, A. E. (2007).** Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(4), 308-323.

**El Asbahani, A., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E. A., Casabianca, H., ... & Elaissari, A. (2015).** Essential oils: From extraction to encapsulation. *International journal of pharmaceutics*, 483(1-2), 220-243.

**El Ouahdani, K., Es-Safi, I., Mechchate, H., Al-Zahrani, M., Qurtam, A. A., Aleissa, M., ... & Bousta, D. (2021).** *Thymus algeriensis* and *Artemisia herba-alba* essential oils: chemical analysis, antioxidant potential and in vivo anti-inflammatory, analgesic activities, and acute toxicity. *Molecules*, 26(22), 6780.

## F

**Fabbrocini, A., & D'Adamo, R. (2017).** Motility of sea urchin *Paracentrotus lividus* spermatozoa in the post-activation phase. *Aquaculture Research*, 48(11), 5526-5532.

**Fabbrocini, A., Coccia, E., D'Adamo, R., Faggio, C., & Paolucci, M. (2019).** Mifepristone affects fertility and development in the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Molecular Reproduction and Development*, 86(10), 1348-1356.

**Fabbrocini, A., D'Adamo, R., Pelosi, S., Oliveira, L. F., Silvestri, F., & Sansone, G. (2014).** Gamete cryobanks for laboratory research: Developing a rapid and easy-to-perform protocol for the cryopreservation of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lmk, 1816) spermatozoa. *Cryobiology*, 69(1), 149-156.

**Fabbrocini, A., Di Stasio, M., & D'Adamo, R. (2010).** Computerized sperm motility analysis in toxicity bioassays: a new approach to pore water quality assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(7), 1588-1595.

**Fabbrocini, A., Maurizio, D., & D'Adamo, R. (2016).** Sperm motility patterns as a tool for evaluating differences in sperm quality across gonad development stages in the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lmk, 1816). *Aquaculture*, 452, 115-119.

**Farrar, A. J., & Farrar, F. C. (2020).** Clinical aromatherapy. *Nursing Clinics*, 55(4), 489-504.

**Fernández, N., & Beiras, R. (2001).** Combined toxicity of dissolved mercury with copper, lead and cadmium on embryogenesis and early larval growth of the *Paracentrotus lividus* sea-urchin. *Ecotoxicology*, 10(5), 263-271.

**Filosto, S., Roccheri, M. C., Bonaventura, R., & Matranga, V. (2008).** Environmentally relevant cadmium concentrations affect development and induce apoptosis of *Paracentrotus lividus* larvae cultured in vitro. *Cell Biology and Toxicology*, 24(6), 603-610.

**Fuangswat, W., Abking, N., & Lawhavinit, O. A. (2011).** Sensitivity comparison of pathogenic aquatic fungal hyphae to sodium chloride, hydrogen peroxide, acetic acid and povidone iodine. *Agriculture and Natural Resources*, 45(1), 84-89.

## G

- Gago, J., & Luís, O. J. (2011).** Comparison of spawning induction techniques on *Paracentrotus lividus* (Echinodermata : Echinoidea) broodstock. *Aquaculture international*, 19(1), 181-191.
- Galgani, F., Brien, A. S. O., Weis, J., Ioakeimidis, C., Schuyler, Q., Makarenko, I., ... & Bebianno, M. J. (2021).** Are litter, plastic and microplastic quantities increasing in the ocean?. *Microplastics and Nanoplastics*, 1(1), 1-4.
- Gallo, A., Boni, R., & Tosti, E. (2020).** Gamete quality in a multistressor environment. *Environment international*, 138, 105627.
- Gallo, A., Manfra, L., Boni, R., Rotini, A., Migliore, L., & Tosti, E. (2018).** Cytotoxicity and genotoxicity of CuO nanoparticles in sea urchin spermatozoa through oxidative stress. *Environment international*, 118, 325-333.
- Gambardella, C., Ferrando, S., Gatti, A. M., Cataldi, E., Ramoino, P., Aluigi, M. G., ... & Falugi, C. (2016).** Morphofunctional and biochemical markers of stress in sea urchin life stages exposed to engineered nanoparticles. *Environmental toxicology*, 31(11), 1552-1562.
- Gambardella, C., Marcellini, F., Falugi, C., Varrella, S., & Corinaldesi, C. (2021).** Early-stage anomalies in the sea urchin (*Paracentrotus lividus*) as bioindicators of multiple stressors in the marine environment: Overview and future perspectives. *Environmental Pollution*, 287, 117608.
- Gautam, N., Mantha, A. K., & Mittal, S. (2014).** Essential oils and their constituents as anticancer agents : a mechanistic view. *BioMed research international*, 2014.
- Gharred, C., Jenzri, M., Bouraoui, Z., Guerbej, H., Jebali, J., & Gharred, T. (2022).** Application of the *Paracentrotus lividus* sea-urchin embryo-larval bioassay to the marine pollution biomonitoring program in the Tunisian coast. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(4), 5787-5797.
- Gharred, T., Ezzine, I. K., Naija, A., Bouali, R. R., & Jebali, J. (2015).** Assessment of toxic interactions between deltamethrin and copper on the fertility and developmental events

in the Mediterranean sea urchin, *Paracentrotus lividus*. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(4), 1-8.

**Gianguzza, P., Bonaviri, C., Prato, E., Fanelli, G., Chiantore, M., Privitera, D., ... & Agnetta, D. (2013).** Hydrodynamism and its influence on the reproductive condition of the edible sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Marine environmental research*, 85, 29-33.

**Giga, Y., Sutoh, K., & Ikai, A. (1985).** A new multimeric hemagglutinin from the coelomic fluid of the sea urchin *Anthocardaris crassispira*. *Biochemistry*, 24(16), 4461-4467.

**Gildor, T., Malik, A., Sher, N., Avraham, L., & de-Leon, S. B. T. (2016).** Quantitative developmental transcriptomes of the Mediterranean sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Marine genomics*, 25, 89-94.

**González, J. O. W., Gutiérrez, M. M., Ferrero, A. A., & Band, B. F. (2014).** Essential oils nanoformulations for stored-product pest control—Characterization and biological properties. *Chemosphere*, 100, 130-138.

**Goodwin, T. W., & Srisukh, S. (1950).** A study of the pigments of the sea-urchins, *Echinus esculentus* L. and *Paracentrotus lividus* Lamarck. *Biochemical Journal*, 47(1), 69.

**Guendouzi, Y., Soualili, D. L., Fowler, S. W., & Boulahdid, M. (2020).** Environmental and human health risk assessment of trace metals in the mussel ecosystem from the Southwestern Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin*, 151, 110820.

**Guinda, X., Bidegain, G., Puente, A., & Juanes, J. A. (2017).** A first approach to stock assessment of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) in Cantabria (Bay of Biscay). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 97(3), 561-570.

**Gutner-Hoch, E., Martins, R., Maia, F., Oliveira, T., Shpigel, M., Weis, M., ... & Benayahu, Y. (2019).** Toxicity of engineered micro-and nanomaterials with antifouling properties to the brine shrimp *Artemia salina* and embryonic stages of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Environmental Pollution*, 251, 530-537.

## H

**Hanif, M. A., Nisar, S., Khan, G. S., Mushtaq, Z., & Zubair, M. (2019).** Essential oils. In *Essential oil research* (pp. 3-17). Springer, Cham.

**Harris, P. T. (2020).** The fate of microplastic in marine sedimentary environments: a review and synthesis. *Marine Pollution Bulletin*, 158, 111398.

**Hilan, C., Bouaoun, D., Aoun, J., Sfeir, R., & Garabeth, F. (2009).** Propriétés antimicrobiennes et toxicité par détermination de la DL50 de l'huile essentielle de *Prangos asperula* Boissier. *Phytothérapie*, 7(1), 8-14.

## J

**Jamila, H., Hanan, O., Jamila, E. H., Hanan, O., Jamila, E. H., & Hanan, O. (2018).** L'oursin comestible *Paracentrotus lividus* (Lamarck. 1816) au niveau de la baie d'Agadir : Biotopes et Biométrie. *SMETox Journal*, 1(2), 100-107.

## K

**Kominami, T., & Takata, H. (2000).** Cellular basis of gastrulation in the sand dollar *Scaphechinus mirabilis*. *The Biological Bulletin*, 199(3), 287-297.

**Kominami, T., & Takata, H. (2004).** Gastrulation in the sea urchin embryo: a model system for analyzing the morphogenesis of a monolayered epithelium. *Development, growth & differentiation*, 46(4), 309-326.

## L

**Lahnsteiner, F., & Caberlotto, S. (2012).** Motility of gilthead seabream *Sparus aurata* spermatozoa and its relation to temperature, energy metabolism and oxidative stress. *Aquaculture*, 370, 76-83.

**Lahnsteiner, F., & Caberlotto, S. (2012).** Motility of gilthead seabream *Sparus aurata* spermatozoa and its relation to temperature, energy metabolism and oxidative stress. *Aquaculture*, 370, 76-83.

**Le Mao, P., Godet, L., Fournier, J., Desroy, N., Gentil, F., Eric, T., ... & Chambers, P. (2020).** *Atlas de la faune marine invertébrée du golfe Normano-Breton-Volume 6/7-Espèces d'intérêt particulier*. Éditions de la Station biologique de Roscoff.

**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/Life & Environment*, 111-119.

**LI, W. C., Tse, H. F., & Fok, L. (2016).** Plastic waste in the marine environment: A review of sources, occurrence and effects. *Science of the total environment*, 566, 333-349.

**Lima, E. J. D., Alves, R. G., D'Elia, G. M., Anunciação, T. A. D., Silva, V. R., Santos, L. D. S., ... & Bezerra, D. P. (2018).** Antitumor effect of the essential oil from the leaves of *Croton matourensis* Aubl.(Euphorbiaceae). *Molecules*, 23(11), 2974.

**Limatola, N., Chun, J. T., & Santella, L. (2020).** Effects of salinity and pH of seawater on the reproduction of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *The Biological Bulletin*, 239(1), 13-23.

**Liu, C., Lin, Q., Gao, Y., Ye, L., Xing, Y., & Xi, T. (2007).** Characterization and antitumor activity of a polysaccharide from *Strongylocentrotus nudus* eggs. *Carbohydrate polymers*, 67(3), 313-318.

**Lourenço, S., Cunha, B., Raposo, A., Neves, M., Santos, P. M., Gomes, A. S., ... & Pombo, A. (2021).** Somatic growth and gonadal development of *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) fed with diets of different ingredient sources. *Aquaculture*, 539, 736589.

**Lu, M., Han, Z., & Yao, L. (2013).** In vitro and in vivo antimicrobial efficacy of essential oils and individual compounds against *P. hytophthora parasitica* var. *nicotianae*. *Journal of applied microbiology*, 115(1), 187-198.

## M

**Ma, L., & Yao, L. (2020).** Antiviral effects of plant-derived essential oils and their components : an updated review. *Molecules*, 25(11), 2627.

- Machado, I., Moura, P., Pereira, F., Vasconcelos, P., & Gaspar, M. B. (2019).** Reproductive cycle of the commercially harvested sea urchin (*Paracentrotus lividus*) along the western coast of Portugal. *Invertebrate Biology*, 138(1), 40-54.
- Mankou-Haddadi, N., Bachir-Bey, M., Galgani, F., Mokrane, K., & Sidi, H. (2021).** Benthic marine litter in the coastal zone of Bejaia (Algeria) as indicators of anthropogenic pollution. *Marine Pollution Bulletin*, 170, 112634.
- McBride, S. C. (2005).** Sea urchin aquaculture. In American Fisheries Society Symposium (Vol. 46, p. 179). American Fisheries Society.
- Mendes, A., Araújo, J., Soares, F., Bandarra, N., & Pousão-Ferreira, P. (2019).** Production of Purple Sea Urchin *Paracentrotus lividus* in Portugal. *The World Aquaculture Society*, 50(1), 46-50.
- Milito, A., Cocurullo, M., Columbro, A., Nonnis, S., Tedeschi, G., Castellano, I., ... & Palumbo, A. (2022).** Ovothiol ensures the correct developmental programme of the sea urchin *Paracentrotus lividus* embryo. *Open Biology*, 12(1), 210262.
- Milito, A., Murano, C., Castellano, I., Romano, G., & Palumbo, A. (2020).** Antioxidant and immune response of the sea urchin *Paracentrotus lividus* to different re-suspension patterns of highly polluted marine sediments. *Marine environmental research*, 160, 104978.
- Mishra, S., charan Rath, C., & Das, A. P. (2019).** Marine microfiber pollution : a review on present status and future challenges. *Marine Pollution Bulletin*, 140, 188-197.
- Mohammed, M. J., Anand, U., Altemimi, A. B., Tripathi, V., Guo, Y., & Pratap-Singh, A. (2021).** Phenolic composition, antioxidant capacity and antibacterial activity of white wormwood (*Artemisia herba-alba*). *Plants*, 10(1), 164.
- Mos, B., Byrne, M., & Dworjanyn, S. A. (2020).** Effects of low and high pH on sea urchin settlement, implications for the use of alkali to counter the impacts of acidification. *Aquaculture*, 528, 735618.
- Moussii, I. M., Nayme, K., Timinouni, M., Jamaledine, J., Filali, H., & Hakkou, F. (2020).** Synergistic antibacterial effects of Moroccan *Artemisia herba alba*, *Lavandula angustifolia* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Synergy*, 10, 100057.

**Mueller, W. A., Hassel, M., & Greal, M. (2015).** The Start : Fertilization, Activation of the Egg and a First Series of Cell Divisions (Cleavage). In *Development and Reproduction in Humans and Animal Model Species* (pp. 39-57). Springer, Berlin, Heidelberg.

**Mutlu-Ingok, A., Devecioglu, D., Dikmetas, D. N., Karbancioglu-Guler, F., & Capanoglu, E. (2020).** Antibacterial, antifungal, antimycotoxigenic, and antioxidant activities of essential oils: An updated review. *Molecules*, 25(20), 4711.

## O

**Oliviero, M., Schiavo, S., Dumontet, S., & Manzo, S. (2019).** DNA damages and offspring quality in sea urchin *Paracentrotus lividus* sperms exposed to ZnO nanoparticles. *Science of the Total Environment*, 651, 756-765.

**Ouchene, H., Boutgayout, H., Hermas, J., Benbani, A., Abou Oualid, J., & Elouizgani, H. (2021).** Reproductive Cycle of Sea Urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) from the South Coast of Morocco : Histology, Gonads Index, and Size at First Sexual Maturity. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 46(6), 5393-5405.

**Ouréns, R., Fernández, L., & Freire, J. (2011).** Geographic, population, and seasonal patterns in the reproductive parameters of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Marine Biology*, 158(4), 793-804.

**Ouréns, R., Fernández, L., Fernández-Boán, M., Naya, I., & Freire, J. (2013).** Reproductive dynamics of the sea urchin *Paracentrotus lividus* on the Galicia coast (NW Spain) : effects of habitat and population density. *Marine biology*, 160(9), 2413-2423.

**Ouréns, R., Flores, L., Fernández, L., & Freire, J. (2013).** Habitat and density-dependent growth of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in Galicia (NW Spain). *Journal of Sea Research*, 76, 50-60.

**Ouréns, R., Freire, J., Vilar, J. A., & Fernández, L. (2014).** Influence of habitat and population density on recruitment and spatial dynamics of the sea urchin *Paracentrotus lividus* : implications for harvest refugia. *ICES Journal of Marine Science*, 71(5), 1064-1072.

## P

**Paredes, E., & Bellas, J. (2009).** Cryopreservation of sea urchin embryos (*Paracentrotus lividus*) applied to marine ecotoxicological studies. *Cryobiology*, 59(3), 344-350.

**Pereira, L. A., Weiss, L. A., Besen, M. A., & Marengoni, N. G. (2016).** Use of plant extracts and their prophylactic or therapeutic properties in the fish production. *Scientia Agraria Paranaensis*, 15(4), 373-380.

**Perry, N. S., Houghton, P. J., Sampson, J., Theobald, A. E., Hart, S., Lis-Balchin, M., ... & Perry, E. K. (2001).** In-vitro activity of *S. lavandulaefolia* (Spanish sage) relevant to treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Pharmacy and pharmacology*, 53(10), 1347-1356.

**Pinna, S., Pais, A., Campus, P., Sechi, N., & Ceccherelli, G. (2012).** Habitat preferences of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Marine Ecology Progress Series*, 445, 173-180.

**Pozharitskaya, O. N., Shikov, A. N., Laakso, I., Seppänen-Laakso, T., Makarenko, I. E., Faustova, N. M., ... & Makarov, V. G. (2015).** Bioactivity and chemical characterization of gonads of green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* from Barents Sea. *Journal of functional foods*, 17, 227-234.

**Prato, E., Fabbrocini, A., Libralato, G., Migliore, L., Parlapiano, I., D'Adamo, R., ... & Biandolino, F. (2021).** Comparative toxicity of ionic and nanoparticulate zinc in the species *Cymodoce truncata*, *Gammarus aequicauda* and *Paracentrotus lividus*. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(31), 42891-42900.

## R

**Rao, V. P., & Pandey, D. (2007).** Extraction of essential oil and its applications (Doctoral dissertation).

**Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., & Sasal, P. (2014).** Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. *Aquaculture*, 433, 50-61.

**Rumahlatu, D., Duran-Corebima, A., Amin, M., & Rohman, F. (2019).** Effect of cadmium on the concentration and expression of TNF- $\alpha$  protein in sea urchin *Diadema setosum* (Leske, 1778). *Hidrobiológica*, 29(3), 181-188.

**Ruocco, N., Bertocci, I., Munari, M., Musco, L., Caramiello, D., Danovaro, R., ... & Costantini, M. (2020).** Morphological and molecular responses of the sea urchin *Paracentrotus lividus* to highly contaminated marine sediments: The case study of Bagnoli-Coroglio brownfield (Mediterranean Sea). *Marine environmental research*, 154, 104865.

## S

**Sala, E., Boudouresque, C. F., & Harmelin-Vivien, M. (1998).** Fishing, trophic cascades, and the structure of algal assemblages : evaluation of an old but untested paradigm. *Oikos*, 425-439.

**Salas-Rojas, M., Galvez-Romero, G., Anton-Palma, B., Acevedo, R., Blanco-Favela, F., & Aguilar-Setién, A. (2014).** The coelomic fluid of the sea urchin *Tripneustes depressus* shows antiviral activity against Suid herpesvirus type 1 (SHV-1) and rabies virus (RV). *Fish & Shellfish Immunology*, 36(1), 158-163.

**Saljoughian, S., Roohinejad, S., Bekhit, A. E. D. A., Greiner, R., Omidizadeh, A., Nikmaram, N., & Mousavi Khaneghah, A. (2018).** The effects of food essential oils on cardiovascular diseases: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(10), 1688-1705.

**San Martin, G. A. (1995).** Contribution à la gestion des stocks d'oursins : étude des populations et transplantations de *Paracentrotus lividus* à Marseille (France, Méditerranée) et production de *Loxechinus albus* à Chiloe (Chili, Pacifique) (Doctoral dissertation, Aix-Marseille 2).

**Santos, P. M., Albano, P., Raposo, A., Ferreira, S. M., Costa, J. L., & Pombo, A. (2020).** The effect of temperature on somatic and gonadal development of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). *Aquaculture*, 528, 735487.

**Sellem, F., & Bouhaouala-Zahar, B. (2021).** Biometric characteristics of the wild population of sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) on the Tunisian coast. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*, 37(2), 659-669.

**Sellem, F., & Guillou, M. (2007).** Reproductive biology of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata : Echinoidea) in two contrasting habitats of northern Tunisia (south-east Mediterranean). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 87(3), 763-767.

**Selmani, S. (2017).** Influence de la pollution marine sur quelques espèces de poissons dans la Brise de Mer de Bejaia.

**Semroud, R., & Kada, H. (1987).** Contribution à l'étude de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Lamarck) dans la région d'Alger (Algérie) : indice de réplétion et indice gonadique. In *Colloque international sur Paracentrotus lividus et les oursins comestibles* (pp. 117-124). Marseille : GIS Posidonie Publications.

**Sharma, M., Grewal, K., Jandrotia, R., Batish, D. R., Singh, H. P., & Kohli, R. K. (2022).** Essential oils as anticancer agents : Potential role in malignancies, drug delivery mechanisms, and immune system enhancement. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 146, 112514.

**Sherman, S., Chen, W., Blewett, T. A., Smith, S., Middleton, E., Garman, E., ... & McGeer, J. C. (2021).** Complexation reduces nickel toxicity to purple sea urchin embryos (*Strongylocentrotus purpuratus*), a test of biotic ligand principles in seawater. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 216, 112156.

**Singh, A. K., Kumar, A., & Bisla, A. (2021).** Computer-assisted sperm analysis (CASA) in veterinary science : A review. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 91(6).

**Soler, C., Picazo-Bueno, J. Á., Micó, V., Valverde, A., Bompard, D., Blasco, F. J., ... & García-Molina, A. (2018).** Effect of counting chamber depth on the accuracy of lensless microscopy for the assessment of boar sperm motility. *Reproduction, Fertility and Development*, 30(6), 924-934.

**Soualili, D., & Guillou, M. (2009).** Variation in the reproductive cycle of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in three differently polluted locations near Algiers (Algeria). *Marine Biodiversity Records*, 2.

**Soualili, D., Dubois, P., Gosselin, P., Pernet, P., & Guillou, M. (2008).** Assessment of sea water pollution by heavy metals in the neighbourhood of Algiers : use of the sea urchin, *Paracentrotus lividus*, as a bioindicator. *ICES Journal of Marine Science*, 65(2), 132-139.

**Sugni, M., Barbaglio, A., Bonasoro, F., Gioria, M., Fasano, P., & Pasini, M. E. (2013).** The role of models in science : a multicomprehensive experience with the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, 93, 1404-1408.

**Swann, K. (2022).** SPERM FACTORS AND EGG ACTIVATION : PLCzeta as the sperm factor that activates eggs: 20 years on. *Reproduction*, 164(1), E1-E4.

**Syahidah, A., Saad, C. R., Daud, H. M., & Abdelhadi, Y. M. (2015).** Status and potential of herbal applications in aquaculture : A review.

## T

**Taşcı, E., & Hayretdağ, S. (2022).** Investigation of spermiotoxic, embryotoxic and cytotoxic effects of copper pyrrithione on *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). *Pesticides and Phytomedicine/Pesticidi i fitomedicina*, 37(1), 29-39.

**Tejada, S., Deudero, S., Box, A., & Sureda, A. (2013).** Physiological response of the sea urchin *Paracentrotus lividus* fed with the seagrass *Posidonia oceanica* and the alien algae *Caulerpa racemosa* and *Lophocladia lallemandii*. *Marine environmental research*, 83, 48-53.

**Tepe, B., Donmez, E., Unlu, M., Candan, F., Daferera, D., Vardar-Unlu, G., ... & Sokmen, A. (2004).** Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). *Food chemistry*, 84(4), 519-525.

**Ternengo, S., Marengo, M., El Idrissi, O., Yepka, J., Pasqualini, V., & Gobert, S. (2018).** Spatial variations in trace element concentrations of the sea urchin, *Paracentrotus lividus*, a first reference study in the Mediterranean Sea. *Marine pollution bulletin*, 129(1), 293-298.

**Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014).** Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7), R1231-R1249.

**Turek, C., & Stintzing, F. C. (2013).** Stability of essential oils: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 12(1), 40-53.

## U

**Urakova, I. N., Pozharitskaya, O. N., & Makarov, V. G. (2012).** Scavenging effects of hydrolyses obtained from the sea urchins coelomic fluid. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*, 10(2), 111-112.

## V

**Vacquier, V. D. (2011).** Laboratory on sea urchin fertilization. *Molecular reproduction and development*, 78(8), 553-564.

**Vacquier, V. D. (2012).** The quest for the sea urchin egg receptor for sperm. *Biochemical and biophysical research communications*, 425(3), 583-587.

**Vafidis, D., Antoniadou, C., & Kyriakouli, K. (2019).** Reproductive cycle of the edible sea urchin *Paracentrotus lividus* (Echinodermata : Echinoidea) in the Aegean Sea. *Water*, 11(5), 1029.

**Van der Horst, G., Bennett, M., & Bishop, J. D. (2018).** CASA in invertebrates. *Reproduction, Fertility and Development*, 30(6), 907-918.

**Velisek, J., Svobodova, Z., Piackova, V., Groch, L., & Nepejchalova, L. (2005).** Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Veterinarni Medicina*, 50(6), 269-275.

**Verlaque, M. (1984).** Biologie des juvéniles de l'oursin herbivore *Paracentrotus lividus* (Lamarck) : sélectivité du broutage et impact de l'espèce sur les communautés algales de substrat rocheux en Corse (Méditerranée, France).

**Verlaque, M., & Nédelec, H. (1983).** Biologie de *Paracentrotus lividus* (Lamarck) sur substrat rocheux en Corse (Méditerranée, France) : alimentation des adultes *Biology of Paracentrotus*

lividus (Lamarck) on rocky bottoms in Corsica (Mediterranean, France) : Diet of adults. *Vie et Milieu/Life & Environment*, 33, 191-201.

**Vikas, M., & Dwarakish, G. S. (2015).** Coastal pollution : a review. *Aquatic Procedia*, 4, 381-388.

**Vogel, H., Czihak, G., Chang, P., & Wolf, W. (1982).** Fertilization kinetics of sea urchin eggs. *Mathematical Biosciences*, 58(2), 189-216.

## W

**Walker, C. W., Lesser, M. P., & Unuma, T. (2013).** Sea urchin gametogenesis—structural, functional and molecular/genomic biology. In *Developments in aquaculture and fisheries science* (Vol. 38, pp. 25-43). Elsevier.

**Walker, C. W., Unuma, T., & Lesser, M. P. (2007).** Gametogenesis and reproduction of sea urchins. In *Developments in aquaculture and fisheries science* (Vol. 37, pp. 11-33). Elsevier.

**Wang, H., Wang, M., Chen, J., Tang, Y., Dou, J., Yu, J., ... & Zhou, C. (2011).** A polysaccharide from *Strongylocentrotus nudus* eggs protects against myelosuppression and immunosuppression in cyclophosphamide-treated mice. *International immunopharmacology*, 11(11), 1946-1953.

## Y

**Yeruham, E., Rilov, G., Shpigel, M., & Abelson, A. (2015).** Collapse of the echinoid *Paracentrotus lividus* populations in the Eastern Mediterranean—result of climate change?. *Scientific reports*, 5(1), 1-6.

**Yu, J. Q., Lei, J. C., Zhang, X. Q., Yu, H. D., Tian, D. Z., Liao, Z. X., & Zou, G. L. (2011).** Anticancer, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of *Lycopus lucidus* Turcz. var. *hirtus* Regel. *Food Chemistry*, 126(4), 1593-1598.

## Z

**Zhang, B., Matchinski, E. J., Chen, B., Ye, X., Jing, L., & Lee, K. (2019).** Marine oil spills—oil pollution, sources and effects. In *World seas: an environmental evaluation* (pp. 391-406). Academic Press.

**Ziegler, A., Faber, C., Mueller, S., & Bartolomaeus, T. (2008).** Systematic comparison and reconstruction of sea urchin (Echinoidea) internal anatomy: a novel approach using magnetic resonance imaging. *BMC biology*, 6(1), 1-15.

**Zigler, K. S., McCartney, M. A., Levitan, D. R., & Lessios, H. A. (2005).** Sea urchin binding divergence predicts gamete compatibility. *Evolution*, 59(11), 2399-2404.

**Zuber, B. (2016).** Isolation and characterization of sea urchin *P. lividus* microbiota from coelomic fluid.

## Résumé

L'objectif de cette étude était d'évaluer dans un premier temps; l'effet de la pollution sur les paramètres de la mobilité spermatique chez deux populations d'oursin livide (*Paracentrotus lividus*) et d'autre part, investiguer les effets de l'huile essentielle d'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) sur les taux du développement des larves issues de ces mêmes populations incubées artificiellement dans leurs eaux d'où ils proviennent.

L'expérience a été menée en utilisant un plan expérimental complètement randomisé avec six traitements et 3 répétitions pour chaque station. Les traitements consistaient à introduire de l'huile essentielle d'armoise blanche dans des bacs contenant de l'eau de mer provenant de chaque station d'étude, exposés à température ambiante, à des concentrations de 0, 25, 50, 100, 150 et 200  $\mu\text{l L}^{-1}$ .

Les taux de développement des différents stades larvaires ont été déterminés à 24, 48 et 72h après fécondation. La longueur des corps larvaires a été évaluée à l'aide d'un logiciel de mesure microscopique afin de déterminer le taux de développement normal. La concentration de 25  $\mu\text{l L}^{-1}$  a favorisé de meilleurs développements pour les larves. Les concentrations d'huile essentielle d'armoise ont eu un effet linéaire sur les taux d'éclosion, la durée du développement ainsi que la longueur des larves. L'huile d'armoise à concentrations plus forte que 25  $\mu\text{l L}^{-1}$  a montré une influence négative sur le développement des larves ( $P > 0,05$ ).

Il est recommandé d'utiliser 25  $\mu\text{l L}^{-1}$  d'huile essentielle d'armoise pour promouvoir de meilleurs taux du développement des différents stades larvaires d'oursin livide incubé artificiellement. De plus, les résultats obtenus à travers SCA CASA nous ont révélé une forte différence significative de la plupart des paramètres liés à la mobilité spermatique en faveur de la station non polluée à été enregistrés entre les deux populations.

**Mots clés:** Fécondation artificielle, *Paracentrotus lividus*, pollution, reproduction, mobilité spermatique.

## Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of pollution on sperm motility parameters in two populations of sea urchins (*Paracentrotus lividus*) and to investigate the effects of white artemisia (*Artemisia herba-alba*) essential oil on the developmental rates of larvae from these same populations artificially incubated in their native waters. The experiment was conducted using a completely randomised experimental design with six treatments and three replications for each station. The treatments consisted of introducing white artemisia essential oil into tanks containing seawater from each study station, exposed to room temperature, at concentrations of 0, 25, 50, 100, 150 and 200  $\mu\text{l L}^{-1}$ .

The development rates of the different larval stages were determined at 24, 48 and 72 h after fertilisation. The length of the larval bodies was assessed using microscopic measurement software to determine the normal development rate. The concentration of 25  $\mu\text{l L}^{-1}$  promoted better development of the larvae. The concentrations of artemisia oil had a linear effect on hatching rates, development time and larval length. Mugwort oil at concentrations higher than 25  $\mu\text{l L}^{-1}$  showed a negative influence on larval development ( $P > 0.05$ ).

It is recommended to use 25  $\mu\text{l L}^{-1}$  of Artemisia essential oil to promote better development rates of the different larval stages of artificially incubated sea urchins. Furthermore, the results obtained through SCA CASA revealed a strong significant difference in most parameters related to sperm mobility in favour of the unpolluted station was recorded between the two populations.

**Keywords:** Artificial fertilisation, *Paracentrotus lividus*, pollution, reproduction, sperm mobility.