

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ D'ORAN
FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Laboratoire Réseau de Surveillance Environnementale



Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de

Magister

En

SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

Option: Biologie et Pollution Marines

**Utilisation de Bioessais pour l'évaluation de l'impact anthropique
sur l'oursin comestible *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) de la
côte orientale oranaise.**

Présentée par: *AIT MOHAMED AMER LILIA*

Soutenue le: / / 2010 devant la commission du jury composée de :

PRESIDENT:	D. AIT YAHIA	Professeur, Université d'Oran
EXAMINATEURS:	M. BOUDERBALA	Maitre de Conférences, Université d'Oran
	T. SAHRAOUI	Professeur, Université d'Oran
DIRECTEUR DE THESE:	Z. BOUTIBA	Professeur, Université d'Oran
Co- DIRECTEUR :	S. DERMECHE	Maitre conférences B, Université d'Oran

DÉDICACES

À MES TRÈS CHERS PARENTS, À TOUTE MA FAMILLE ET À MES DEUX GRANDES MÈRES, LONGUE VIE À ELLES.

À MON TRÈS CHER FIANCÉ, JE LE REMERCIE POUR LES EFFORTS FOURNIS LORS DE MES ÉCHANTILLONNAGES, AINSI QUE POUR LE SOUTIEN MORAL, QU'IL TROUVE DANS CES QUELQUES LIGNES TOUTE MON AFFECTION ET MON AMOUR.

REMERCIEMENTS

Avant de présenter ce mémoire basé sur une expérience riche en enseignements dans le domaine de la surveillance environnementale, je souhaite exprimer ma vive reconnaissance à tous les enseignants qui ont contribué à l'élaboration ma formation et qui ont eu la patience de me guider, de me soutenir et de m'aider tout au long de ces deux années.

C'est avec beaucoup de gratitude que je remercie le Professeur *BOUTIBA Zitouni* **Directeur du laboratoire « Réseau de Surveillance Environnementale »** du Département de Biologie, Faculté des Sciences de l'Université d'Oran, pour m'avoir ouvert les portes de son laboratoire, et qui n'a cessé de me guider dans mes premiers pas dans la recherche, de m'avoir encouragé, et éclairé dans mon parcours scientifique, mais aussi pour son sens de la perfection. Merci

Je tiens à adresser mes remerciements les plus chaleureux à Madame *DERMECHE Saliha*, **Maitre de Conférences** et chercheur au sein du même laboratoire, qui a veillé à ce que ce mémoire se fasse dans des conditions que tout étudiant souhaiterait, et qui en plus de ses qualités de scientifique, j'ai découvert une personne profondément humaine qui se bat pour ses idées sans jamais renoncer, je vous remercie pour vos remarques fructueuses et merci aussi pour les tannées que je recevais de temps à autre. Je suis fière d'avoir été votre étudiante.

Je remercie Madame le Professeur *AIT YAHIA Dalila* **Professeur en nutrition** à la Faculté des Sciences de l'Université d'Oran qui a bien accepté de présider le jury de soutenance. Je lui adresse toute ma gratitude.

J'exprime également mes sincères remerciements à Monsieur *BOUDERBALA Mohammed*, **Maitre de Conférences** à la Faculté des Sciences de l'Université d'Oran, pour s'être intéressé à mon travail et pour avoir accepté de l'examiner en siégeant au sein du jury. Qu'il me soit permis de lui exprimer ma sincère gratitude.

À Monsieur le Professeur *SAHRAOUI Tewfik*, **Professeur en biologie de développement** à l'Université d'Oran, qu'il soit ici remercié de l'intérêt qu'il témoigne à ce travail en acceptant de participer au jury de ce mémoire.

Un grand merci à Monsieur *CHAHROUR Fayçal* **Maitre assistant** au laboratoire «Réseau de Surveillance Environnementale» du Département de Biologie, Faculté des Sciences de l'Université d'Oran, pour ses précieux conseils.

J'exprime ma reconnaissance en premier à mes parents (désolée de t'avoir fais faire du sport papa en récoltant de l'eau de mer), à mon frère à qui je souhaite une grande réussite; je le remercie pour son humour et pour les moments de détente qu'il m'offre chaque jour, à ma sœur à qui j'adresse toute mon affection.

Je tiens particulièrement à remercier les plongeurs qui sans eux je n'aurais jamais pu avoir la chance de découvrir les fonds marins **Mr Khaloufi Fouzi** et **Mr Mokhtari Tarik**.

J'exprime également ma gratitude à Messieurs **Denis Allemand Directeur du Centre Scientifique de Monaco et Professeur de Biologie** pour sa gentillesse et son aide incontestable dans mes recherches bibliographiques.

À tous les étudiants de la promotion 2008-2009, sans oublier notre technicienne Belkhadim Lila.

À tous mes amis: mes jumelles adorées merci pour votre soutien et votre amitié pendant toutes ces longues années, qu'il est loin le lycée, et à tous les autres que je n'ai pas pu citer.

Résumé

Les essais biologiques (**bioessais**) est une technique fréquemment utilisée pour évaluer les effets biologiques des polluants sur les organismes marins. Ces organismes sont un bon outil biologique d'étude de l'environnement et de l'écosystème côtier au laboratoire.

L'objectif de tels essais est la mise en évidence d'effets toxiques sur des populations représentatives des écosystèmes et appartenant à des niveaux trophiques différents. Quel que soit l'organisme, le principe général de ces tests repose sur l'établissement d'une corrélation entre la dose d'exposition et l'effet toxique.

L'oursin constitue un matériel de choix dans le domaine de la toxicologie environnementale, les essais biologiques sur les larves d'oursins ont été employés couramment pour évaluer la toxicité des métaux.

L'oursin commun *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) espèce d'Echinoderme la plus répandue sur le littoral occidental algérien et du fait de sa distribution surtout dans la partie supérieure de l'étage infralittoral (0-15 m), il est l'une des espèces en danger en Méditerranée. Considérer comme régulateur de certaines populations, l'oursin commun joue un rôle déterminant dans la structure et l'évolution des phytocénoses benthiques. Par conséquent, toute modification de leur densité ou composition démographique est sérieuse pour la balance de l'écosystème de l'infralittoral.

Le travail entrepris dans ce mémoire est un essai sur l'évaluation de la toxicité du cadmium, cuivre, plomb et du zinc à différentes concentrations (10µg/l, 50µg/l, 100 µg/l, 200µg/l) vis-à-vis du développement embryonnaire de *P.lividus*, provenant d'Ain Franin pendant une période allant de mars à juin 2010 (période de forte maturité gonadique).

Les tests utilisant l'exposition des embryons aux quatre polluants métalliques sont basés sur le taux d'anomalie, les retards de croissance ou l'arrêt du développement embryonnaire pour caractériser l'effet toxique de ces xénobiotiques, ainsi les CL_{50} des quatre polluants (Pb, Cd, Cu et Zn) sont déterminées.

Mots clé: *P.lividus*, bioessais, métaux lourds, CL_{50} , Ain Franin

Abstract:

Biological tests (bioassays) are a technique frequently used to evaluate the biological effects of pollutants on marine organisms. These organizations are a good tool for studying the biological environment and the coastal ecosystem in the laboratory.

The objective of such tests is the detection of toxic effects on populations and ecosystems representative belonging to different trophic levels. Whatever the organization, the general principle of these tests is based on a correlation between dose and toxic effect.

The sea urchin is a material of choice in the field of environmental toxicology; bioassays on larvae of sea urchins have been widely used to evaluate the toxicity of metals.

The sea urchins *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) echinoderm species most common on the western coast of Algeria and it's the fact of distribution especially in the upper floor of the subtidal (0-15 m), it is an endangered species in the Mediterranean, Consider as a regulator of some populations, sea urchins play a role in the structure and evolution of benthic plant communities. Therefore, any change in their density or demographic composition is serious for the balance of the ecosystem of the subtidal zone.

The work undertaken in this thesis is an essay on the evaluation of the toxicity of cadmium, copper, lead and zinc at different concentrations (10µg / l, 50µg / l, 100 mg / l 200µg / l) in the embryonic developments of *P. lividus*, from Ain Franin during a period from March to June 2010 (period of high gonadal maturity).

Tests using the exposure of embryos to the four metal pollutants are based on the rate of abnormality, growth retardation or arrest of embryo development to characterize the toxicity of these xenobiotics, and the LC_{50} of the four pollutants (Pb, Cd, Cu and Zn) are determined.

Keywords: P.lividus, bioassays, heavy metals, LC_{50} , Ain Franin

ملخص

التجارب البيولوجية (اختبارات بيولوجية) هي التقنية المستخدمة في كثير من الأحيان لتقييم الآثار البيولوجية للملوثات و هذه المنظمات هي وسيلة جيدة لدراسة البيئة البيولوجية والأنظمة الإيكولوجية الساحلية المختبرة على الكائنات البحرية والهدف من مثل هذه الاختبارات هو الكشف عن التأثيرات السامة على سكان الأنظمة الإيكولوجية اللذين ينتمون إلى مختلف المستويات الغذائية. مهما كان العضو فان المبدأ العام لهذه التجارب يتمثل في وجود ارتباط بين تركيز الملوث و التأثير السام.

قنفاذ البحر هو المادة المفضلة في مجال السموم البيئية. الاختبارات البيولوجية على اليرقات قنفاذ البحر استخدمت على نطاق واسع لتقييم التسمم بالمعادن.

من قنفاذ البحر الشوكية الأكثر أنواع شيوعا على الساحل الجزائري *Paracentrotus lividus* (لامارك ، 1816) ذلك لتوزيعه بشكل رئيسي في الطابق العلوي من المدية (0-15 م). انه مهدد بالانقراض في البحر الأبيض المتوسط. باعتباره منظم لبعض السكان ، فان قنفاذ البحر تلعب دورا في بنية وتطور المجتمعات النباتية القاعية ، وبالتالي فإن أي تغيير في كثافته وتكوينه الديموغرافي يشكل خطرا على التوازن في النظام الإيكولوجي و البيئي للمدية.

العمل المنجز في هذه الدراسة هو مقال عن تقييم سمية الكاديوم والرصاص والنحاس و الزنك بتركيزات مختلفة (10, 50, 100, 200مكر وغرام / ل) خلال التطور الجنيني *P. lividus* من موقع عين فرانين و هذا في فترة دامت من مارس حتى يونيو 2010 (فترة الأعلى نضج للغدد التناسلية).

تستند الاختبارات بتعريض الأجنة للمعادن الأربعة و حساب معدل تشوهات وتأخر النمو أو إقاف تطور الجنين لتحديد خصائص سمية هذه الأجسام الضارة و Cl_{50} للملوثات الأربعة (الرصاص ،الكاديوم، النحاس و الزنك).

كلمات المفتاحية : *P. lividus* , اختبارات بيولوجية , المعادن الثقيلة , Cl_{50} , عين فرانين

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	

Introduction	1
---------------------	----------

Partie I : Synthèse des connaissances sur la biologie et l'écologie de l'oursin commun *Paracentrotus lividus*

1. Systématique et répartition géographique de <i>Paracentrotus lividus</i>	5
2. Description et structure	6
2.1. Morphologie externe	6
2.2. Anatomie interne	9
2.2.1. Étude de l'hémisphère inférieur	9
2.2.1.1. Appareil masticateur	9
2.2.1.2. Appareil aquifère	10
2.2.2. Étude de l'hémisphère supérieur	11
3. Biologie et écologie de <i>Paracentrotus lividus</i>	12
3.1. Habitat et alimentation	12
4. Reproduction, ponte et développement larvaire	14
4.1. Attraction du spermatozoïde	15
4.2. Réaction acrosomique	16
4.3. Extension du processus acrosomique	16
4.4. Adhésion du spermatozoïde	16
4.5. Activation de l'œuf	17
4.5.1. Segmentation	17
4.5.2. Stade Blastula	18
4.5.3. Gastrulation	18
4.5.3.1. Ingression du mésenchyme primaire	19
4.5.3.2. Migration du mésenchyme primaire	19
4.5.3.3. Inflexion du pôle végétatif dans le blastocœle	20
4.5.3.4. Élongation de l'archentéron et individualisation du mésenchyme secondaire	20

Partie II : Généralités sur l'écotoxicologie des métaux lourds (plomb, cadmium, cuivre, zinc, mercure)

1. Qu'est ce qu'un métal ?	26
2. Cycle biogéochimique des métaux lourds	28
2.1. Précipitation	28
2.2. Adsorption	28
2.3. Absorption	28
2.4. Sédimentation	28
3. Pollution par les métaux lourds étudiés	31
3.1. Pollution par Cadmium	31
3.2. Pollution par Cuivre	33
3.3. Pollution par Plomb	34
3.4. Pollution par Zinc	36
4. Métaux lourds dans l'environnement aquatique	38
5. Effets des métaux lourds sur les organismes marins	39
6. Toxicité des métaux lourds	41
6.1 Toxicité aigüe	41

6.2 Toxicité chronique	41
7. Écotoxicologie	41
7.1. Bioaccumulation	41
7.2. Bioconcentration	42
7.3. Bioamplification	42
8. Métaux lourds en Algérie	44
Partie III : Matériel et méthodes	
1. Test biologiques ou bioessais	45
2. Choix de la station d'étude	45
3. Méthode d'échantillonnage	46
3.1. Prélèvement	46
3.2. Traitement au laboratoire	47
3.2.1. Frai et fertilisation	47
3.2.2. Effet des polluants métalliques sur le développement embryonnaire des oursins	49
4. Détermination de la CL_{50}	52
4.1. Méthode de Bliss	52
Partie IV : Résultats et discussion	
1. Résultats des pourcentages de malformations chez les embryons de l'oursin <i>P. lividus</i>	55
2. Établissement des probits empiriques	58
3. Tracé de la droite de régression	60
4. Calcul des paramètres de la droite de régression linéaire ($y = ax + b$)	62
5. Détermination de la CL_{50}	62
Conclusion et perspectives	70
Références bibliographiques	72
Annexes	92

LISTE DES ABBREVIATIONS

ATSDR	:	Agency for Toxic Substance and Disease Registry.
Cd	:	Cadmium.
CE₅₀	:	Concentration Efficace.
CELPAP	:	Entreprise Nationale de la Cellulose et du Papier.
CL₅₀	:	Concentration Létale 50%.
Cu	:	Cuivre.
°C	:	Degré Celsius.
DL₅₀	:	Dose Létale.
EMF	:	Eau de Mer Filtrée.
FAO	:	Food and Agriculture Organization.
Fe	:	Fer.
GESAMP	:	Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine environmental Protection.
H	:	Hydrogène.
Hg	:	Mercure
IFREMER	:	Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la MER.
IPCS	:	International Programme on Chemical Safety.
IRPTC	:	International Register of Potentially Toxic Chemicals.
Kcl	:	Chlorure de Potassium.
Lmck	:	Lamarck.
LRSE	:	Laboratoire Réseau de Surveillance Environnementale.
Mg	:	Milligramme.
µg	:	Microgramme.
NAS	:	National Academy of Sciences.
NRC	:	National Research Council.
OMS	:	Organisation Mondiale de la Santé.
Pb	:	Plomb.
PCB	:	Polychlorobiphényles.
pH	:	Potentiel Hydrogène.
<i>P. lividus</i>	:	<i>Paracentrotus lividus</i> .
PPM	:	Partie Par Million.
Zn	:	Zinc.

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 :** Oursin commun *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816).
- Figure 2 :** Anatomie externe de l'oursin régulier *P. lividus* A : Face orale ; B : Face aborale (Grosjean, 2001).
- Figure 3 :** Observation des deux pôles apicaux de l'oursin commun *P. lividus*.
- Figure 4:** Zones ambulacraires et interambulacraires de l'oursin commun *P. lividus*.
- Figure 5 :** Lanterne d'Aristote *Paracentrotus lividus*.
- Figure 6:** Anatomie interne de l'oursin régulier *P. lividus* (Grosjean, 2001).
- Figure 7:** Disposition pentaradiaire des gonades de l'oursin commun *P. lividus*.
- Figure 8:** Profil topographique des quatre étages aquatiques selon leur profondeur.
- Figure 9:** Cycle de reproduction de l'oursin commun *Paracentrotus lividus*.
- Figure 10:** Représentation des différents stades de développement de *P. lividus*.
- Figure 11:** Les métaux essentiels et non essentiels.
- Figure 12:** Classification des métaux traces (Tessier et Turner, 1995 ; Stumm et Morgan, 1996).
- Figure 13:** Illustration schématique des processus physico-chimiques et biochimiques affectant le comportement et la distribution dissous/particulaire des éléments métalliques et des radionucléides à l'interface continent/océan (d'après Olsen et al., 1982).
- Figure 14:** Destination des polluants dans l'environnement aquatique et leurs origines (Boutiba et al ; 2007).
- Figure 15:** Transferts trophiques des polluants chez les organismes vivants (Boutiba et al ; 2007).
- Figure 16:** Localisation du site de prélèvement (Ain Franine-Kristel).
- Figure 17 :** Récolte des spécimens d'oursins.
- Figure 18 :** Injection du KCL.

- Figure 19 :** Collecte du sperme d'oursins mâles.
- Figure 20 :** Collecte des gamètes femelles.
- Figure 21:** Présentation des puits utilisés pour la réalisation des tests d'embryotoxicité chez *P. lividus*.
- Figure 22 :** Incubation des puits à 21°C.
- Figure 23 :** Arrêt de la division cellulaire.
- Figure 24 :** Les différentes anomalies embryonnaires et larvaires chez *P. lividus* (D'après Klöckner et al. 1985).
- Figure 25 :** Observation au microscope photonique (Carl Zeiss) pour le dénombrement des anomalies larvaires.
- Figure 26:** Relation Concentration-Réponse type obtenue lors d'un bioessai (Gilbin, 2001).
- Figure 27:** Pourcentages de malformation en fonction des concentrations du Cadmium.
- Figure 28:** Pourcentage des malformations larvaires en fonction des concentrations du Cuivre.
- Figure 29 :** Pourcentage des malformations larvaires en fonction des concentrations du plomb.
- Figure 30 :** Pourcentage des malformations larvaires en fonction des différentes concentrations du Zinc.
- Figure 31 :** Courbe de régression du Cadmium ($Y = ax+b$).
- Figure 32:** Courbe de régression du Cuivre ($Y = ax+b$).
- Figure 33 :** Courbe de régression du Plomb ($Y = ax+b$).
- Figure 34 :** Courbe de régression du Zinc ($Y = ax+b$).
- Figure 35 :** Observation microscopique du développement embryonnaire normale (A) et des malformations et arrêts à différents stades (B) chez *P. lividus* (x400).



Figure 1 : Oursin commun *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816)

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1** : Systématique de l'oursin commun *P. lividus*.
- Tableau 2** : Période et nombre de pontes par an de *P. lividus*.
- Tableau 3** : Sources industrielles et agricoles dans l'environnement du Cd, Cu, Pb, Zn (Biney. C et al ; 1992).
- Tableau 4** : Teneurs en métaux lourds ($\mu\text{g/g}$) dans les principaux ports d'Algérie (Chalabi et al, 2002).
- Tableau 5** : Moyenne de pourcentage d'anomalies embryonnaires $\pm$ l'écart type chez l'oursin commun *P. lividus* (Ain Franin).
- Tableau 6** : Calcul de la CL_{50} par la méthode de Bliss chez *P. lividus* en présence de Cadmium (Cd).
- Tableau 7** : Calcul de la CL_{50} par la méthode de Bliss chez *P. lividus* en présence de Cuivre(Cu).
- Tableau 8** : Calcul de la CL_{50} par la méthode de Bliss chez *P. lividus* en présence de Plomb (Pb).
- Tableau 9** : Calcul de la CL_{50} par la méthode de Bliss chez *P. lividus* en présence de Zinc (Zn).
- Tableau 10** : Toxicité (CL_{50}) des métaux lourds (Cadmium, Cuivre, Plomb, Zinc) de différentes espèces d'oursins méditerranéens.

INTRODUCTION

Introduction :

Le milieu marin est un biotope particulièrement riche, est caractérisé à la fois par une remarquable stabilité de ses propriétés fondamentales et une grande variabilité de ses microconstituants **(Romeo et al, 1987)**.

L'eau de mer contient en solution des combinaisons de tous les éléments chimiques mais seulement certains d'entre eux, au nombre de douze, ont des concentrations égales ou supérieures au mg/l, or les concentrations de métaux lourds dans l'environnement sont de l'ordre du nano grammes par litre d'eau **(Gaujous, 1995)**.

Il est de plus en plus évident que la méditerranée n'assurent pas une dilution illimitée des produits résiduels de l'activité humaine qui augmentent fortement les niveaux de toxicité des métaux traces; cependant, les polluants les plus néfastes pour l'équilibre fragile de la vie maritime ne sont pas les plus visibles, bien au contraire, ce sont celles qui se voient le moins. Les degrés d'assimilation et de rétention des métaux traces chez les organismes aquatiques sont des processus assez complexes qui varient entre les différents genres et espèces **(Eisler, 1981)** et dépendent des propriétés biochimiques de chaque élément **(Bowen, 1996)**.

Aujourd'hui, les stratégies de surveillance de l'environnement sont plus que jamais au cœur des préoccupations de groupes d'études émanant d'instances internationales. A cette fin, des programmes de suivi de la pollution côtière et marine et des études scientifiques ont été lancés à travers le monde entier et aussi en Algérie, pays méditerranéen, touchée ces dernières années par ce problème, qui est dû à l'accroissement de la population humaine côtière **(Soualili, 2008 ; Dermeche, 2010)**.

L'implantation sur le littoral de nombreuses activités industrielles engendre d'importants déversements de produits chimiques, à savoir la CELPAP de Mostaganem (ex SONIC) rejette à elle seule 1500 à 1700m³/heure, d'eau résiduaire en mer, et la raffinerie d'Arzew déverse des centaines de tonnes d'eau traitées partiellement par an **(Taleb et Boutiba, 1996)**.

Tous ces rejets nocifs ne subissent aucun traitement préalable, ceci est dû généralement à l'absence ou au dysfonctionnement des stations de traitement. De nombreuses recherches ont été entamées afin d'évaluer les niveaux de la pollution ; les analyses chimiques permettent de déterminer le degré et la nature de la pollution, mais ils ne fournissent pas de preuve quant aux conséquences biologiques (**Chapman et al ., 1987**), de la, des études utilisent des organismes marins qui peuvent être parfois de bon indicateurs biologiques représentants différents maillons des chaînes trophodynamiques: Echinoderme (oursin communs), Mollusque (moules), Poisson (rouget).

Les tests écotoxicologiques en laboratoire (*bioessais* ou *biotests*) ont fait l'objet d'un développement et d'une standardisation conséquente afin de fournir des outils adaptés à l'évaluation des dangers des substances dans la démarche d'évaluation des risques.

L'objet de tels essais est la permission de la détection de ces risques par la mesure des réponses biologiques des organismes marins (**Quiniou et al., 1999**), en particulier dans leurs premiers stades de vie très sensibles (**His et al ., 1999**).

Wilson (1951), Lallier (1955) ; (1956), Bougis (1956) ; (1965), Waterman (1937), ont démontré l'intérêt des échinodermes en écotoxicologie et leurs utilisation pour tester la toxicité des agents chimiques (métaux lourds, polluants industriels, substance cancérigènes...) au niveau des différents stades de développement de cet invertébrés.

Les deux principaux stades de vie de l'oursin les plus généralement utilisés dans les bioessais sont les embryo-larvaires et les stades adultes et cela depuis la fin du 19ème siècle (**Hertwig et Hertwig, 1887**).

le début des stades de vie de différentes espèces d'oursins ont démontré une grande sensibilité pour les métaux depuis les années 1950 (**Tabata, 1956; Okubo et Okubo, 1962; Kobayashi, 1971, 1984, 1994**) et cela par différentes anomalies (**Waterman, 1937; Kobayashi, 1973 ; Kobayashi et Fujinaga, 1976 ; Kobayashi, 1980; Kobayashi, 1981 ; Carr et al, 1996; Warnau et al., 1996 ; Phillips et al., 2003;**).

Ainsi, dans une première approche, des tests biologiques judicieusement choisis peuvent permettre l'étude de la toxicité dans les eaux (**Fochtman et al., 2000**). Les tests *in vitro*, à ce stade, donnent une information intégrée sur l'effet potentiel des polluants présents sur le développement du spécimen.

Notre sujet de recherche s'inscrit dans le programme du Laboratoire du Réseau de Surveillance Environnementale (LRSE) qui s'intéresse à la surveillance du milieu marin côtier et l'étude des différents types de pollution et leurs effets sur les écosystèmes le long du littoral oranais.

Le travail se structure en quatre parties : l'étude bibliographique portant sur l'espèce biologique, sur les polluants métalliques, les méthodologies et le traitement des résultats.

Le chapitre bibliographique est consacré :

- A la présentation de la biologie et de l'écologie de *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816).

- A la présentation du comportement et des caractéristiques générales des polluants métalliques étudiés (Cd, Cu, Pb, Zn), leurs effets sur l'équilibre de l'écosystème et leur devenir dans le milieu aquatique.

Le troisième chapitre concerne:

- Le pourquoi du choix de cette espèce et du site de prélèvement, ainsi qu'à la méthodologie utilisée pour l'étude des biotests par l'utilisation de quatre métaux lourds à savoir Cd, Cu, Pb et Zn, et à la présentation des différentes techniques expérimentales utilisées (échantillonnage, fécondation *in vitro*, contamination par les métaux lourds).

Enfin, la dernière partie regroupe les résultats obtenus de l'effet des polluants métallique sur le développement embryonnaire de *P.lividus* et leurs discussions par l'utilisation d'un test statistique des Probit Empirique appliquée par la méthode de Bliss pour la détermination de la CL_{50} des quatre xénobiotiques choisis.

L'accent est mis, particulièrement, sur l'importance du paramètre biologique (reproduction et développement larvaire) de la saison de ponte (mars, juin).

Une conclusion comportant recommandations et perspectives.

**SYNTHESE DES CONNAISSANCES SUR LA BIOLOGIE ET
L'ÉCOLOGIE DE *Paracentrotus lividus***

1. Systématique et répartition géographique de *Paracentrotus lividus* :

Classe ECHINOIDEA, 15 ordres, 600 espèces.

Selon **Mortensen (1927) et Tortonese et Vadon (1987)**, la position systématique de l'oursin commun *P. lividus* **Lmk, 1816** est la suivante :

Tableau 1 : Systématique de l'oursin commun *P. lividus*

Embranchement	Echinodermata
Sous Embranchement	Echinozoa
Classe	Echinoïdea
Sous Classe	Regularia
Ordre	Diadematoïdea
Sous-ordre	Camarodonta
Famille	Echinidae
Genre	<i>Paracentrotus</i>
Espèce	<i>lividus</i>

L'oursin *P. lividus* est présent sur toute la Méditerranée (**Regis, 1987**), en Atlantique Est et les Canaries, des côtes d'Irlande et d'Ecosse jusqu'au Maroc et au Sahara occidental (Açores inclus) (**Koehler, 1921; Allain, 1975; Dermeche, 1998**).

En Méditerranée occidentale, cet oursin est très abondant, ainsi qu'en mer Adriatique; il devient moins abondant dans la partie la plus orientale du bassin Méditerranéen (**Tortonese et Vadon, 1987**).

2. Description et structure :

2.1. Anatomie externe :

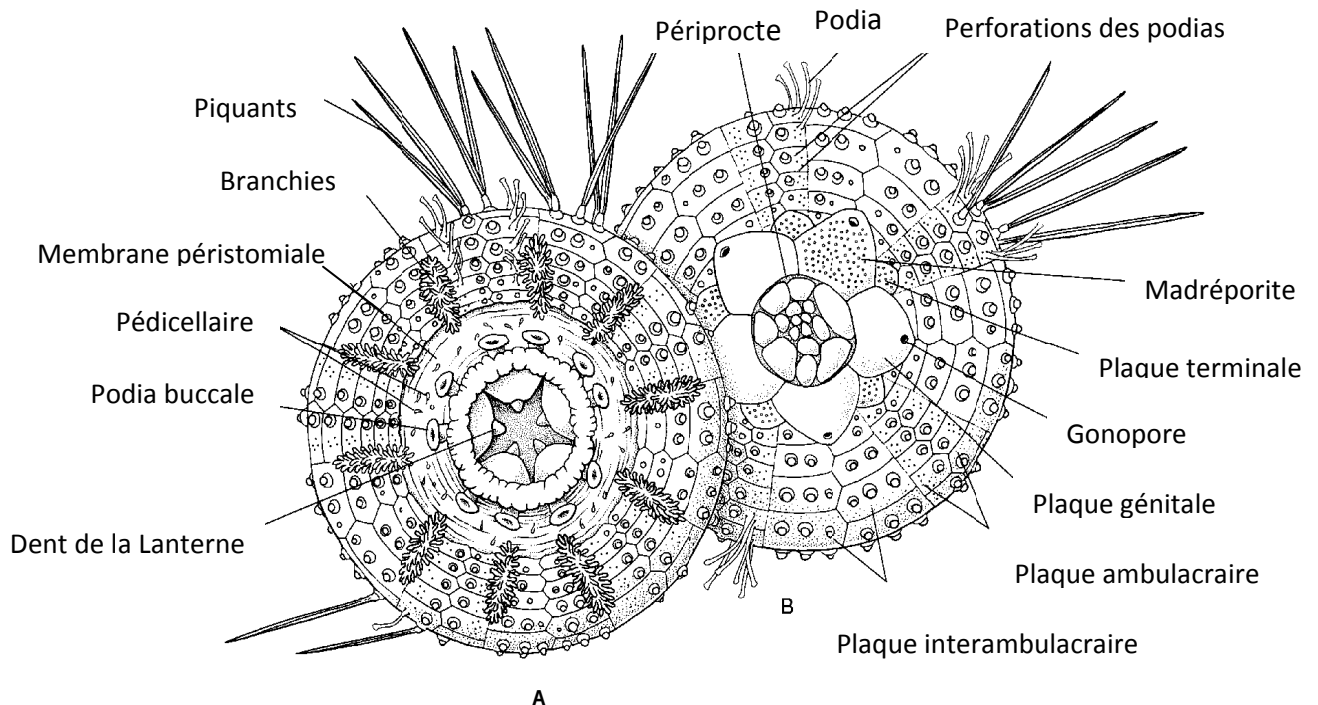


Figure 2: Anatomie externe de l'oursin régulier *P. lividus*
A : Face orale; B : Face aborale (Grosjean, 2001)

Le corps dont la couleur varie du vert olive au violet foncé, a la forme d'un globe aplati, ce qui permet de distinguer deux pôles (**Figure 2**). La bouche occupe le pôle inférieur et à l'opposé se trouve un ensemble de plaques auquel on donne le nom **d'appareil apical**, au centre du quel, on observe une membrane contenant de petites plaques calcaires, perforée d'un orifice: **l'anus** (**Ruppert et Barnes, 1994**) (**Figure 2**).

Cette membrane anale (membrane **péripoccale**) est entourée de 5 grandes plaques pentagonales qui font face chacune à une zone interambulacraire. Chaque plaque possède un orifice, le **pore génital** (**Figure 2**), d'où le nom de plaque génitale. L'une des 5 plaques est plus volumineuse que les autres, est criblée de pores minuscules, c'est la **plaque madréporique** qui est utilisé pour aider à maintenir la bonne pression dans l'eau du système vasculaire, qui permet la pénétration de l'eau de mer à l'intérieur de l'oursin.

Alternant avec les 5 plaques génitales, 5 autres plaques, plus petites, situées en face des zones ambulacraires, constituent les **plaques intergénitales** ou plaques **radiales**, elles sont percées chacune d'un très petit orifice par ou passe un nerf qui se ramifie sur la partie externe du test.

Sous une peau fine se trouve une carapace rigide, appelée **test**, formée d'un grand nombre de plaques calcaires soudées entres elles.

Presque toute la surface du corps est recouverte de **piquants mobiles**, qui peuvent atteindre les 3 cm de longueur et qui se détachent assez facilement du test (**Figure 2**).

La cassure du piquant nous montre qu'il possède une structure cristalline ; ce calcaire cristallisé est de la calcite. Ils jouent un rôle dans la protection, la défense et la locomotion (**Regis, 1987**).

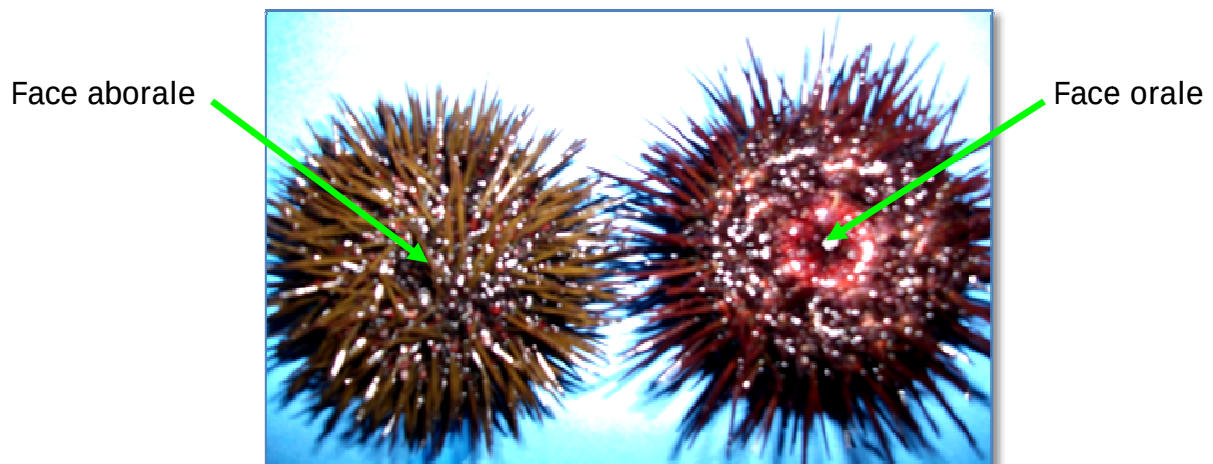


Figure 3: Observation des deux pôles apicaux de l'oursin commun *P. lividus*

Les oursins présentent des **pieds ambulacraires** ayant un aspect de petits tentacules terminés par une ventouse. Ils sont localisés selon 5 zones rayonnantes appelées **zones ambulacraires**. Ces organes constituent la partie externe visible d'un appareil ambulacraire, ou appareil aquifère.

La membrane entourant la bouche (membrane péristomiale) de l'oursin comporte de petites pinces microscopiques, appelées **pédicellaires**, formées de trois dents articulées (**Figure 2**) ; certains de ces **pédicellaires** sont venimeux.

Les pinces sont reliées au corps par une tige souple vers son extrémité, mais contenant à sa base une baguette calcaire rigide.

Ils ont des fonctions multiples : capture des proies, le nettoyage du test, la défense et empêche les petits organismes de s'y fixer (**Hyman, 1955 ; Campbell, 1974 ; Boue et Chamton, 1978 ; Ghyoot, 1997**).

À la surface du test on observe de nombreuses petites saillies, arrondies et lisses, de taille variable ; ce sont **les tubercules** sur lesquels venaient s'articuler les piquants (**Figure 4**).

On voit alors que le test est formé de petites plaques calcaires pentagonales soudées entre elles et disposées en 10 zones comprenant chacune deux files de plaques. Ces dernières se divisent en 5 zones **radiales** étroites et appelées zones ambulacraires ; 5 zones **interradiaires** larges alternées appelées zones interambulacraires (**Figure 4**).

Les plaques des zones **radiales** sont perforées, d'où sortent les ambulacres ; ce sont les **pores ambulacraires**, disposés selon une double rangée dessinant une ligne légèrement arquée (**Figure 4**).

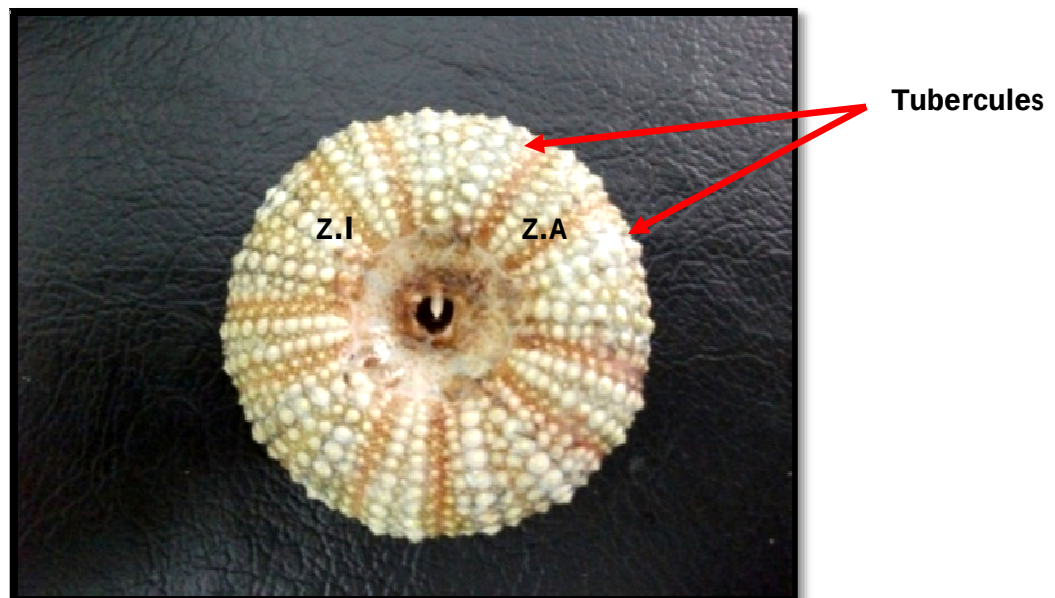


Figure 4: Zones ambulacraires (Z.A) et interambulacraires (Z.I) de l'oursin commun *P. lividus*

2.2. Anatomie interne :

2.2.1. Étude de l'hémisphère inférieur :

2.2.1.1. Appareil masticateur :

Appliqué contre la roche (**Ruppert et Barnes, 1994**), il est formé par une membrane souple, granuleuse, contenant des plaques calcaires atrophiées, et 10 petites plaques plus développées correspondant aux premières plaques ambulacraires : c'est la **zone péribuccale**.

Au centre s'ouvre la bouche ou **lanterne d'Aristote** d'où sortent **5 dents calcaires** dures tenues sur **5 mâchoires**, taillées en biseau, de forme pyramidale au centre desquels se trouve une petite langue charnue (**Figure 5**); Vers l'intérieur cette dent se continue par un fourreau membraneux qui assure sa croissance. Sur le pourtour de la membrane péribuccale, on aperçoit, 5 paires de petites houppes : les **branchies**.

L'appareil masticateur est actionné par un système de muscles et de ligaments qui s'attachent d'une part sur les mâchoires, d'autre part sur un système circulaire de plaque saillantes situées sur le bord interne des plaques péribuccale : les **auricules**.

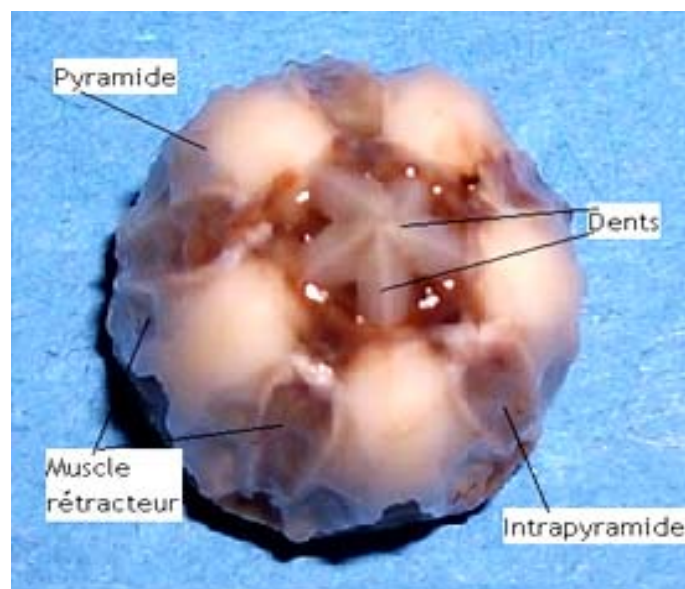


Figure 5: Lanterne d'Aristote *Paracentrotus lividus*

2.2.1.2. Appareil aquifère :

Chaque zone ambulacraire est parcourue sur toute sa longueur par un canal radial, ou canal ambulacraire. Les 5 canaux ambulacraires partent d'un anneau ambulacraire entourant l'œsophage au dessus de la lanterne d'Aristote (**Figure 6**).

Cet anneau ambulacraire communique avec l'extérieur par le canal hydrophore qui aboutit à la plaque madréporique.

Tous les pieds ambulacraires communiquent avec le canal ambulacraire (**Figure 6**).

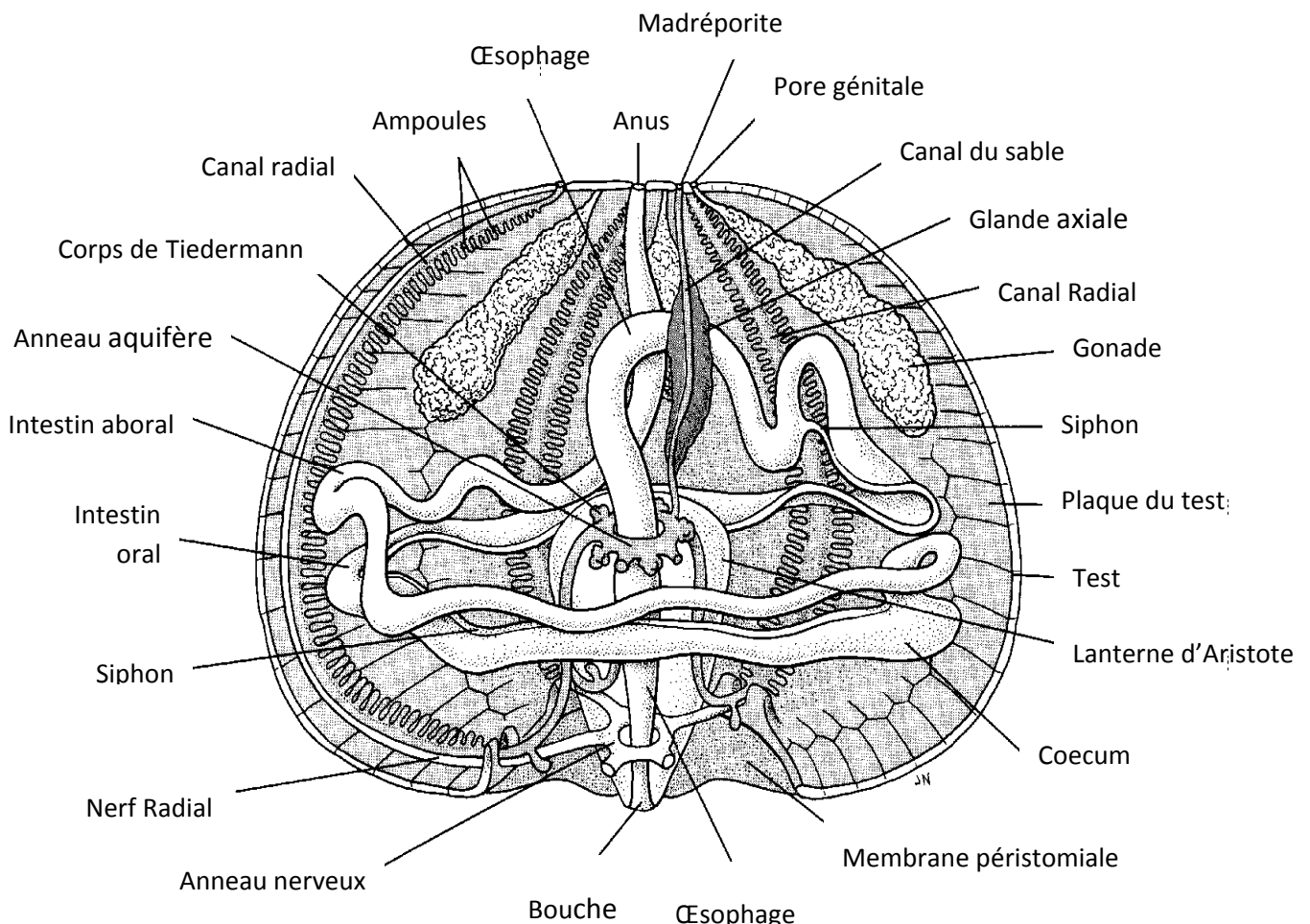


Figure 6: Anatomie interne de l'oursin régulier *P. lividus* (Grosjean, 2001)

2.2.2. Étude de l'hémisphère supérieur :

Paracentrotus lividus possède une cavité coelomique protégée par un test, dans cette cavité logent les systèmes : digestif, nerveux qui est formé de **cinq nerfs** radiaires juxtaposés aux canaux radiaires du système aquifère. Ces nerfs dérivent des canaux péri-œsophagiens sanguins et reproducteurs (**Harmelin et al, 1981**).

L'appareil digestif est constitué de la **bouche** et son armature (lanterne d'Aristote), l'**œsophage** se continue par un **tube digestif** sinueux et fragile, bourré de vase et de sable, dessinant un double cercle à l'intérieur du test (**Beaumont et Cassier, 1978**) et d'un **estomac**, un **siphon** pour aboutir à l'**anus** (**Figure 6**).

Cinq glandes génitales, granuleuses, d'un jaune orangé chez la femelle et plus fines et d'un jaune pâle chez le mâle, sont situées au niveau des zones interambulacraires (**Figure 7**), (**Fenaux, 1968**).

Les cellules reproductrice mâles et femelles, ou **gamètes**, parvenues à maturité, sortent par les pores génitaux (**Figure 6**), (**Boue et Chanton, 1978**).

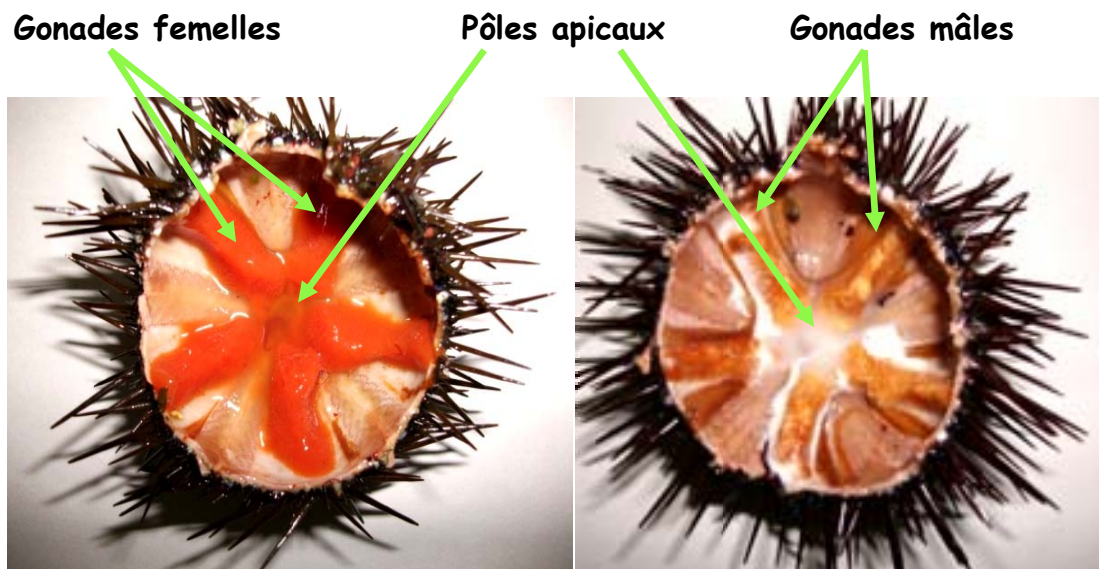


Figure 7: Disposition pentaradiaire des gonades de l'oursin commun *P. lividus*

Le milieu intérieur des Échinodermes est isotonique et peut différer de l'eau de mer, La respiration est essentiellement cutanée et s'effectue sur toute la surface essentiellement au niveau de certains pieds ambulacraires peribuccal et par les podia (**Harmelin et al, 1981**).

3. Biologie et écologie de *Paracentrotus lividus* :

3.1. Habitat et alimentation :

Cette espèce vit au niveau du médiolittoral inférieur et l'infralittoral (**Figure 8**) mais aussi dans les cuvettes rocheuses toujours submergées qu'il creuse lui-même pour se faire une alvéole ou il revient se loger pendant la journée (**Grasse et al, 1970**), en les usants à l'aide de ses piquants et de ses dents (**Peres et Picard, 1964**), il est souvent localisé dans des fissures (**Kempf, 1962**), les dessous des blocs rocheux et les pentes douces, parfois exposés à l'hydrodynamisme (**Azzolina, 1988**), il a été signalé aussi sur les substrats meubles tels le sable et les fonds détritiques (**Zavodnik, 1987**), et dans l'herbier de *Posidonia oceanica* (**Regis, 1978**) dont il en fait sa nourriture. il devient ainsi, dans certaines régions, un agent d'érosion non négligeable doté de ventouses puissantes,

Semroud (1993) indique que le maximum de densité d'oursins se trouve dans les premiers mètres d'eaux mais il n'est pas rare de le rencontrer en groupe dans les mares rocheuses jusqu'à 30 m de profondeur (**Figure 8**) (**Mortensen, 1927**), et plus rarement jusqu'à 80m (**Tortonese, 1965**).

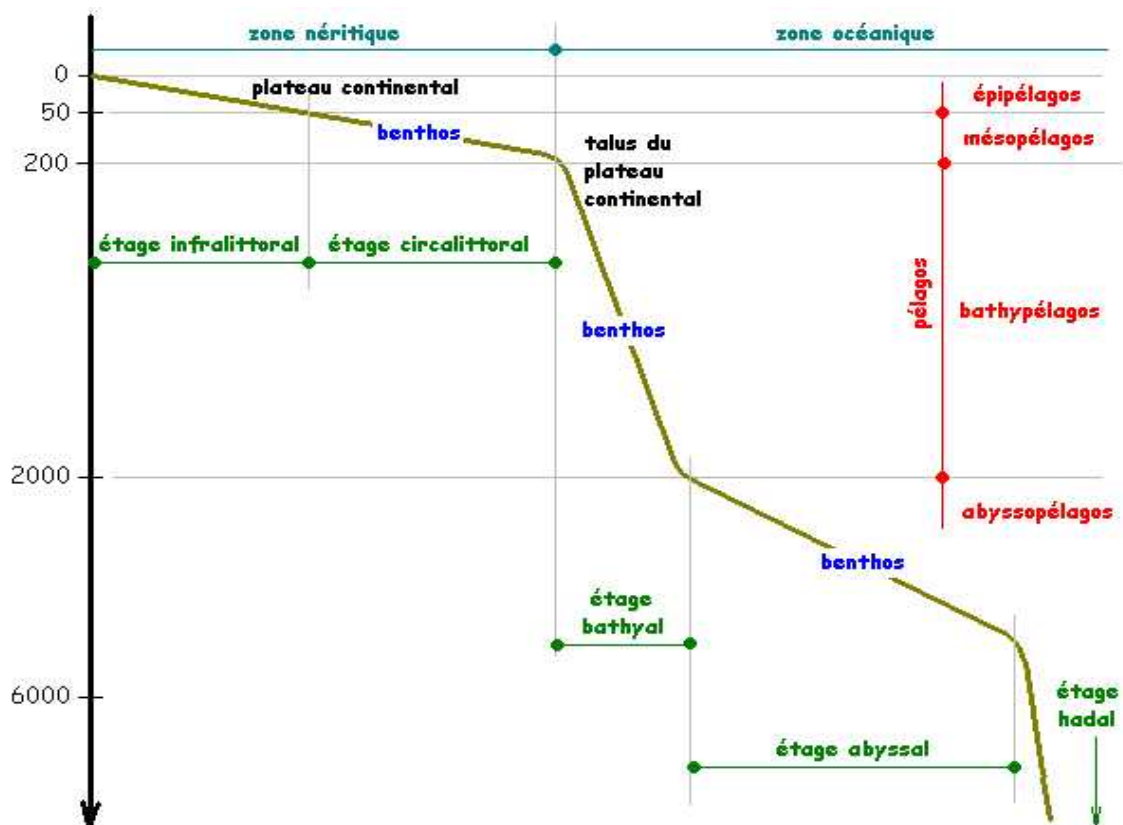


Figure 8: Profil topographique des quatre étages aquatiques selon leur profondeur

P.lividus est capable de résister aux assauts du déferlement en s'ancrant solidement à son support **(Verlaque et Nédélec, 1983; Verlaque, 1987)**.

En méditerranée cette espèce d'oursin est plus actif la nuit que le jour **(Shepherd et Boudouresque, 1979 ; Dance, 1987)**, étant un animal brouteur à régime généraliste, bien spécifique mais essentiellement herbivore dans son milieu naturel; Il présente cependant avec *Sarpa salpa* (Linnaeus) l'un des principaux consommateur du macrophytobentos **(Traer, 1980 ; Nedelec et al, 1981 ; Nedelec, 1982)** et dans certaines conditions, il peut être omnivore **(Neill et Pastor, 1973 ; Régis, 1978)**, ce qui fait qu'en plus de la fraction végétale, on peut retrouver dans son contenu digestif une fraction animale, constituée de Foraminifères, Spongiaires et des Bryozoaires **(Traer, 1980 ; Verlaque, 1987, Dermeche, 1998)**.

Nourrit aux feuilles de *Posidonia oceanica* aussi, il préfère les feuilles brunes aux feuilles vertes **(Traer, 1980 ; Ott et Maurer, 1977)**, et les feuilles épiphytées aux feuilles non épiphytées **(Traer, 1980; Nédélec et Verlaque, 1984)**.

Traer (1980) suppose que ce choix est lié à l'action de l'acide cicorique, dont la teneur est élevée dans les feuilles vertes.

L'alternance de phase de nutrition et de phases de repos alimentaire chez *P.lividus* dépend en général de la quantité de nourriture disponible dans le milieu **(Semroud et Kada, 1987)**, qui elle même peut être liée à d'autres paramètres naturels tels que l'hydrodynamisme.

Les variations du cycle de nutrition peuvent également être corrélées à celle du cycle de reproduction **(Dermeche, 2010)**.

L'oursin comestible *P.lividus* (Lamarck, 1816) est une des espèces les plus importantes du benthos littoral de la méditerranée, tant par le nombre de ses individus que par son impact sur les peuplements.

Si son anatomie, sa physiologie, et surtout, son embryologie ont été très étudiées, son écologie par contre est relativement moins bien connue.

Au niveau écologique, les échinodermes occupent le statut d'herbivores par excellence dans la chaîne trophique (**Benghali, 2006**). Quelques espèces ont un rôle clef dans le système, ou sont sensibles aux changements du milieu.

P. lividus est un oursin dont le diamètre moyen est de 5 cm et peut atteindre 7 à 8 cm dans des conditions favorables, (**Fischer et al, 1987**) d'où son statut de bon indicateur de la stabilité du système (**Verlaque, 1987**).

Les oursins, et particulièrement *P. lividus*, sont considérés comme les herbivores les plus importants de la Méditerranée, et cela par des densités élevées qui provoquent des phénomènes de surpâturage (**Kempf, 1962 ; Verlaque, 1987**). Une forte dominance de Poissons et de carnivores, peut maintenir les populations d'oursins dans des densités moyennes, de ce fait, toute modification des effectifs ou de la structure démographique des populations de cet Échinoderme révèle une importance considérable et peut remettre en cause le fragile équilibre dynamique qui s'est instauré entre l'échelon primaire et les herbivores (**Frogia, 1989**).

4. Reproduction, ponte et développement larvaire :

Comme presque tous les échinides, *P. lividus* est gonochorique et la fécondation est externe (**Figure 9**). Lorsque les animaux sont mûres au début du printemps (**Allain, 1975; Spirlet et al, 1998**) et dans certaines localités à l'automne (**Crapp et Willis, 1975; Fernandez, 1996**), la ponte est synchronisée et déclenchée par un signal externe, telle que le changement de température ou l'hydrodynamisme (**Spirlet et al, 1998**).

La variabilité dans le cycle de reproduction de *P. lividus* est due à de nombreux facteurs qui interviennent lors du déroulement de ses phases de reproduction et influencent ainsi le cycle annuel de *P. lividus*.

Ces facteurs peuvent être physiologiques liés au milieu environnant tel que la qualité et l'abondance de la nourriture, stimulateurs biologiques (substances hormonales), et la profondeur, et peuvent être aussi des facteurs physicochimiques (température, photopériode et périodicité lunaire) (**Ebert, 1968 ; Dix, 1970 ; Gonor, 1973; Vadas, 1977 ; Regis, 1979 ; Fenaux, 1980; Lawrence et Lane, 1982; Lawrence, 1987 ; San Martin, 1995; in Guettaf, 1997; Soualili, 2008**).

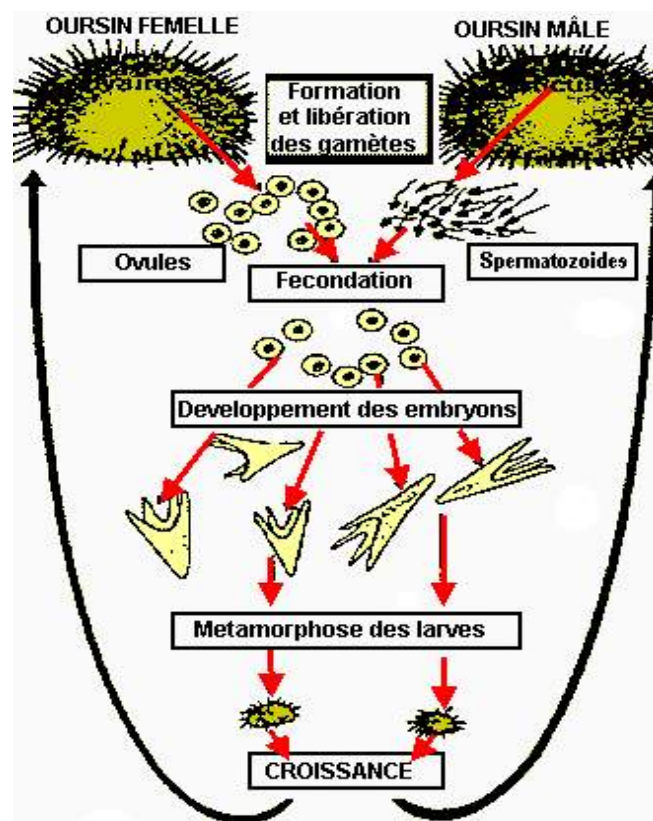


Figure 9: Cycle de reproduction de l'oursin commun *Paracentrotus lividus*
(<http://svtarcheguedon.free.fr>)

P. lividus produit plus de 10^7 œufs par femelle des milliards d'ovocytes et de spermatozoïdes sont libérés. Les mouvements d'eau de mer et les courants contribuent au brassage des gamètes et favorisent leur rencontre ; de plus, des mécanismes moléculaires spécifiques d'attraction des spermatozoïdes (chimiotactisme) et d'interaction cellulaire (adhésion du spermatozoïde) préparent le spermatozoïde à sa reconnaissance par l'ovocyte.

La fécondation apparaît comme une cascade d'événements cellulaires qui concernent d'abord le spermatozoïde puis l'ovocyte, soit dans l'ordre de 5 étapes :

4.1. Attraction du spermatozoïde :

La diffusion des ovocytes dans l'eau de mer, crée un gradient de concentration qui guide les spermatozoïdes vers les ovotides. La membrane plasmique des spermatozoïdes contient des protéines transmembranaires réceptrices des ovocytes (Horstadius ; 1973).

4.2. Réaction acrosomique :

Une fois au contact de la gangue, le spermatozoïde subit une seconde activation, ce processus libère des enzymes (hydrolases) qui lysent la gangue de la tête du spermatozoïde. De cette façon, à mesure qu'il progresse vers l'ovotide, le spermatozoïde se fraye un chemin à travers l'épaisseur de la gangue ([http:// WWW. Snv. Jussieu.fr](http://WWW.Snv.Jussieu.fr)).

4.3. Extension du processus acrosomique :

La progression du spermatozoïde dans la gangue de l'œuf est facilitée par le contenu de la vésicule acrosomique qui s'est déversé en avant de la tête spermatique et qui est entraîné en profondeur par l'élongation du processus acrosomique (**Suzuki et al ; 1995**).

4.4. Adhésion du spermatozoïde :

Les interactions bindine-récepteur sont nécessaires pour que le spermatozoïde adhère à la membrane vitelline (**Cherr et al, 1990**).

Au point d'impact du spermatozoïde, la lyse de la membrane vitelline est effectuée par des hydrolases présentes à la surface de la membrane plasmique du processus acrosomique (enzymes transmembranaires). Une fois la membrane vitelline dissoute à cet emplacement, les deux membranes plasmiques du spermatozoïde et de l'ovocyte entrent en contact ([http:// WWW. Snv. Jussieu.fr](http://WWW.Snv.Jussieu.fr)).

Les membranes plasmiques des deux partenaires fusionnent alors et le noyau spermatique ainsi que le contenu de la pièce intermédiaire puis le flagelle sont englobés dans le cytoplasme de l'œuf fécondé.

Dès que le contact des membranes plasmiques a lieu, l'œuf entame une cascade d'événements moléculaires qui constituent l'activation du cytoplasme et mettent en place les processus de blocage de la polyspermie ([http:// WWW. Snv. Jussieu.fr](http://WWW.Snv.Jussieu.fr)).

4.5. Activation de l'œuf:

La fécondation est le produit de la fusion de deux gamètes haploïdes (noyau à n chromosomes) ; le noyau de fécondation ou zygote est donc diploïde ($2n$ chromosomes), c'est ainsi que la fécondation rétablit la diploïdie avec un nombre de chromosomes spécifique de l'espèce.

Les œufs sont fécondés dans la colonne d'eau et se développent en nage libre une caractéristique de la larve planctotrophique des échinides: un *Echinopluteus*.

L'œuf fécondé va subir une série de clivage qui se caractérise par le passage de l'état unicellulaire à l'état pluricellulaire (**Figure 10 a**). Des mitoses successives et rapides conduisent à la formation du stade blastula. Chaque blastomère subit une bipartition en cellules filles. La totalité du cytoplasme et des réserves ovulaires est répartie dans les cellules filles. Au terme de la segmentation, la blastula est composée d'environ 2000 blastomères. Progressivement, une cavité centrale se forme, la cavité de segmentation ou blastocœle ([http:// WWW. Snv. Jussieu.fr](http://WWW.Snv.Jussieu.fr)).

4.5.1. Segmentation :

Le premier sillon de clivage apparaît environ 90 mn après la fécondation. Une construction méridienne apparaît en même temps que de nouvelles membranes plasmiques sont élaborées par les deux premiers blastomères naissants. Le deuxième sillon de clivage est également méridien et perpendiculaire au premier, séparant quatre cellules de dimensions identiques. Le troisième sillon de clivage est équatorial et perpendiculaire aux deux précédents. Huit cellules semblables sont formées.

A partir du stade 16 blastomères, les divisions cellulaires deviennent inégales. Dans l'hémisphère animal, les plans de clivage sont méridiens et génèrent huit cellules semblables. Dans l'hémisphère végétatif, les plans de clivage sont latitudinaux et nettement excentrés vers le pôle végétatif. Deux sortes de cellules

filles en sont issues : les macromères proches de l'équateur et les micromères au pôle végétatif (**McClay et al; 2000**) (**Figure 10 b**).

4.5.2. Stade Blastula :

Dès le stade 32 blastomères, la segmentation inégale s'estompe. C'est à ce moment qu'apparaît une cavité de segmentation centrale, **le blastocœle**. Au stade 128 cellules, la blastula est formée par un épithélium unistratifié et sphérique. Il est limité par une membrane basale interne et la couche hyaline externe.

A la fin de la segmentation, la blastula est entièrement ciliée. Le pôle animal porte une touffe de cils plus longs, l'embryon éclos dans le milieu marin, devient libre, se déplace dans le plancton grâce à sa ciliature. L'embryon sphérique présente un épithélium unistratifié autour d'une large cavité de segmentation, le blastocœle.

Une matrice extracellulaire tapisse la paroi du blastocœle et la couche hyaline, héritée du contenu des granules corticaux, tapisse l'extérieur de l'épithélium (**Figure 10 c**).

La carte des territoires présomptifs nous indique que le nombre des micromères sont déterminés. Dès lors, c'est à partir du pôle végétatif que la **gastrulation** sera initiée et les micromères seront les premières cellules à s'animer (**Coffman et al ; 2001**).

4.5.3. Gastrulation : La gastrulation est caractérisée par :

1-L'apparition des mouvements cellulaires coordonnés (mouvements morphogénétiques).

2-La ségrégation des trois tissus fondamentaux : l'ectoderme, à l'origine de l'épiderme, le mésoderme à l'origine des mésenchymes primaire et secondaire, et l'endoderme à l'origine du tube digestif (**Croce et Mc Clay, 2010**).

3-L'apparition d'une cavité secondaire digestive, l'archentéron.

Parallèlement, le rythme mitotique diminue et le cycle cellulaire s'allonge.

Les mouvements cellulaires mis en œuvre au cours de la gastrulation de l'oursin sont de 4 étapes. Chacun de ces mouvements est lié à une étape de la gastrulation, soit, dans l'ordre chronologique.

4.5.3.1. Ingression du mésenchyme primaire

Les prémisses de la gastrulation s'observent au niveau du pôle végétatif. A cet emplacement, l'épithélium s'aplatit.

Les cellules du pôle végétatif issues des micromères montrent des mouvements pulsatiles sur leur face interne qui aboutissent à la formation de filopodes (**Sweet et al, 1999**).

Simultanément, alors que l'ensemble des cellules de la blastula possède une forte affinité pour la couche hyaline externe héritée des granules corticaux, les cellules des micromères perdent cette affinité et la renforcent de 100 fois pour la lame basale et la matrice extracellulaire interne (**Schroeder, 1980**).

La lame basale se rompt et les cellules passent de l'état épithélial à l'état mésenchymateux ; elles se dirigent dans la cavité du blastocœle au contact de la matrice extracellulaire pour former les cellules du mésenchyme primaire (**figure 10 d**).

4.5.3.2. Migration du mésenchyme primaire

Les cellules en migration entrent en contact avec la matrice extracellulaire, sur la paroi du blastocœle. Plusieurs molécules jouent un rôle important dans ces événements.

Deux d'entre elles sont particulièrement importantes pour l'adhésion et la migration des cellules du mésenchyme primaire, la fibronectine, constituant majeur de la matrice extracellulaire, et des protéoglycanes sulfatés associés à la surface des cellules du mésenchyme primaire en migration.

L'ampleur de cette migration reste relativement réduite dans la mesure où les cellules du mésenchyme primaire restent confinées latéralement dans l'hémisphère végétatif.

Parallèlement à leur activité migratoire, les cellules du mésenchyme primaire développent de longues expansions cytoplasmiques ou filopodes, ces derniers explorent la paroi du blastocœle et pourraient jouer un rôle dans la reconnaissance de la polarisation dorso-ventrale de l'ectoderme (**Angerer et Angerer, 2000**).

4.5.3.3. Inflexion du pôle végétatif dans le blastocœle

Une fois les cellules du mésenchyme primaire dans le blastocœle, le pôle végétatif est formé par les cellules à l'origine du tube digestif. Celles-ci restent sous forme d'un épithélium cohérent de cellules adhésives.

La couche hyaline qui sert d'ancrage aux cellules qui changent de forme, est composée de deux sous-couches étroitement accolées, la hyaline interne et la hyaline externe, impliquées dans les mouvements d'inflexion du pôle végétatif.

4.5.3.4. Élongation de l'archentéron et individualisation du mésenchyme secondaire

L'élongation de l'archentéron est assurée par l'aplatissement des cellules qui composent ses parois. De plus, des mouvements d'intercalation cellulaire réduisent le diamètre de l'archentéron pour en faire un tube étroit et allongé (**Croise et al ; 2006**).

Un autre mécanisme peut contribuer à cette élongation. Les cellules situées à l'apex de l'archentéron émettent des filopodes, parfois très longs, puisqu'ils vont à la rencontre du toit du blastocœle.

Une fois cette connexion assurée, les filopodes se contractent, exerçant une force de traction qui contribue à l'allongement de l'endoderme vers le pôle animal.

Dans la suite du développement, alors que l'archentéron approche du pôle animal, les cellules du mésenchyme secondaire se séparent de l'endoderme et se dispersent dans le blastocœle où elles constitueront des organes mésodermiques coelomiques (**Duloquin et al ; 2007**).

Au total, l'embryon parvenu au terme de la gastrulation possède une organisation concentrique où l'on retrouve l'endoderme en position profonde, c'est le tube digestif primitif ou archentéron (**figure 10 e**).

L'épiderme constitue le feuillet limitant externe de l'embryon. Quant au mésoderme, il est représenté par les cellules des mésenchymes primaire et secondaire situées dans les espaces laissés libres entre l'épiderme et l'archentéron, formant ainsi le prisme (**Figure 10 f**).

Quarante huit à soixante douze heures après la fécondation, des larves pélagiques à 4 bras appelées *Echinopluteus* de 450 à 550 µm se laissent apparaître (**Fénaux, 1968 ; 1969**) (**Figure 10 g**).

La larve poursuit son développement avec 6 bras, puis 8 bras soutenus par des tiges de calcaire du squelette.

Après quelques semaines, l'*echinopluteus* élaborera un rudiment à l'intérieur de l'invagination épidermique du mur (le vestibule) situé sur le côté droit du corps (**Strathmann, 1978**). Lorsque la larve devient compétente, elle cherche un substrat solide pour s'installer et de se métamorphoser. Un stimulus chimique suffisant est requis (**Gosselin et Jangoux, 1996**).

La métamorphose dure moins d'une heure: le rudiment des Échinides est invaginé et la plupart des tissus larvaires sont résorbés. La post-larve ressemble à un adulte en miniature mais pas de la bouche ni de l'anus, et est donc endotrophe (**Gosselin et Jangoux, 1998**).

Après une semaine, le stade post-larve a subi quelques changements majeurs et devient un exotrophique juvénile développé avec un appareil digestif fonctionnel ; il commence alors le butinage.

Chez les oursins en général, la taille des gonades et la quantité des gamètes produites sont fortement influencées par la quantité et la qualité de la nourriture (**Ebert, 1968; Dix, 1970; Gonor, 1973; Lawrence et Lane, 1982; Keats et al., 1984; Lawrence, 1987**).

La larve plutéus est nageuse et planctonique, elle avance en dirigeant sa face orale vers l'avant. La bandelette ciliée, portée par les bras oraux et anaux, permet ce déplacement en même temps qu'elle dirige les courants d'eau vers la bouche. Le plutéus se nourrit de diatomées planctoniques.

Dans les conditions très favorables, *P. lividus* restaure rapidement ses gonades, 9 jours seulement après la ponte (**Fenaux 1968 ; Régis 1979**).

Différents auteurs ont montré une certaine homogénéité concernant ces périodes de pontes, car en générale, la ponte a lieu deux fois par an en méditerranée la première se déroulant à la fin du printemps alors que la seconde a lieu à la fin de l'été (**Allain, 1975 ; Byrne, 1990 ; Guettaf, 1997**).

On parle d'une seule ponte chez l'oursin en Bretagne Nord et Irlande qui débute en mars et se poursuit jusqu'à la mi-septembre (**Fenaux, 1980**) les travaux de (**Byrne 1990**) le confirme avec une seule ponte de mai à juillet et juin à juillet, (**Tableau 2**).

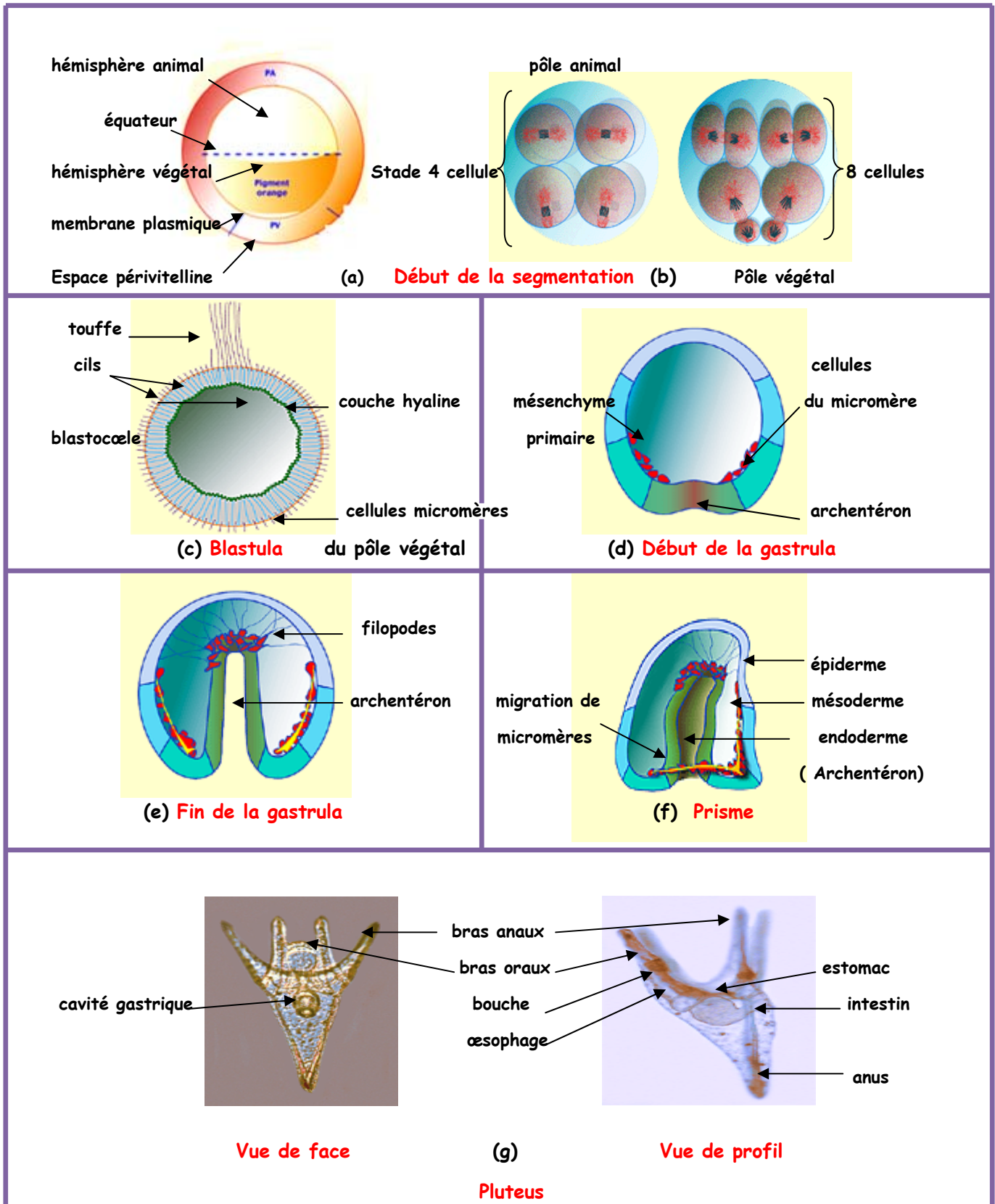


Figure 11: Représentation des différents stades de développement de *P. lividus*
([http:// WWW. Snv. Jussieu.fr](http://WWW.Snv.Jussieu.fr))

Tableau 2 : Période et nombre de pontes par an de *P. lividus*.

Référence et région	Période de ponte	Type de substrat
Méditerranée Nord occidentale FENAU (1968) France (Ville Franche-mer) REGIS (1979) France (Marseille)	2 périodes de ponte juin et sept à novembre mai à juin et août à octobre	Herbier à <i>Posidonia oceanica</i> Herbier à <i>Cymodocea nodosa</i>
BYRNE (1990) Irlande	1 seule période de ponte mai à juillet et juin à juillet	roches avec Macrophytes
Méditerranée nord occidentale LOZANO et al (1995) Espagne	Février à Juin	Roche avec Macrophytes
Méditerranée Sud occidentale GUETTAF et al (2000) Algérie (Ain Tagourait)	Février à Mars	Roches avec Macrophytes herbier à <i>Posidonia oceanica</i>
Méditerranée Sud occidentale GUETTAF et al (2000) Algérie (Alger plage) Algérie (El Marsa) Algérie (El Marsa)	Avril et Mai/Août Septembre Avril à Juin/Octobre à Décembre Avril à Juin/Octobre à Décembre	Roches avec Macrophytes Roche surpâturée Herbier à <i>Posidonia oceanica</i>
LEONI et al (2000 non publié) France (Corse) in SOUALILI 2008	juillet à novembre	roches avec Macrophytes
SANCHEZ et al (2004) Espagne	Mai à Aout Mars à Août ou Septembre	Roches avec Macrophytes Herbier à <i>Zostera</i> et à algue(Ulva)
JACQUIN et al (2006) France (Bretagne)	Mai à Juillet	Roches avec Macrophytes
BAYED et al (2005) Maroc	Mars à Mai	Cuvette rocheuse avec Macrophytes
SELLEM et GUILLOU (2007) Tunisie (Baie de Tunis)	Avril à Juillet	Roches avec Macrophytes herbier à <i>Posidonia oceanica</i>
SOUALILI (2008) Algérie (Alger plage) (Sidi Fredj) (Tamentfoust)	Juin à Septembre Juillet à Décembre Avril à Décembre	Roches avec Macrophytes Herbier à <i>Posidonia oceanica</i> Roches avec Macrophytes et <i>Posidonia oceanica</i>
ADDA NEGGAZ (2008) Algérie (Mostaganem)	Novembre et Décembre/ Jan à Mai	Algues photophiles
SAHNOUN (2009) Algérie (Mostaganem)	De Novembre à Juin	Roches avec Macrophytes
BELKHEDIM (2010) Algérie (Ain Franin-Oran)	De Novembre à Juin	Roches avec Macrophytes
DERMECHE (2010) Algérie (Mostaganem et Madagh)	Février à Mars	Algues photophiles et prairie de Posidonie

**GÉNÉRALITÉS SUR LA BIOACCUMULATION DES MÉTAUX
LOURDS (Cd, Cu, Pb, Zn)**

Depuis le début du siècle, l'environnement (atmosphérique, terrestre et aquatique) a été soumis à la pression croissante des activités industrielles et humaines (**Miquel, 2001 ; Neiff, 2002**), cependant, la présence des contaminants, et spécialement des métaux lourds à des concentrations supérieures aux charges naturelles est devenue un problème de plus en plus préoccupant (**GIS, 1996**).

Contrairement aux autres polluants, comme les hydrocarbures, les métaux lourds s'accumulent subrepticement, pour finir par atteindre des seuils toxiques, (**Kurland et al., 1960 ; Nitta, 1972 ; Goldberg, 1979**).

Bien que des activités industrielles soient moins élevées dans des régions moins développées comme l'Afrique, on y observe une prise de conscience croissante de la nécessité de gérer rationnellement les ressources aquatiques et notamment de maîtriser les déversements de déchets dans l'environnement, (**Dejoux, 1988; Philips, 1991**). Néanmoins on remarque que dans quelques pays africains, les activités minières sont à l'origine d'importants apports de métaux lourds dans l'environnement ; tel que le mercure en Algérie, l'arsenic en Namibie et en Afrique du sud, l'étain au Nigéria et au Zaïre, et le cuivre en Zambie (**C. Biney et al ; 2001**).

Les contaminants rejetés dans l'environnement finissent par se retrouver plus ou moins rapidement dans les milieux aquatiques, en particulier estuariens et côtiers, où ils peuvent avoir des effets à court et à long terme (**Burton, 1992**), et peuvent modifier la composition de l'eau de mer qui peut devenir toxique pour les plantes et les animaux (**Miquel, 2001; Neiff, 2002**).

Une substance d'origine anthropique rejetée dans le milieu est étrangère à la cellule, si elle exerce des effets défavorables, il s'agit alors d'un **polluant** ou d'un **contaminant** (**Moriarty, 1990, Butler et Lowe ; 1978**) ; Ce dernier terme désigne toute substance qui n'existe pas à l'état naturel et qui se caractérise par une forte toxicité à des faibles concentrations et qui ne sont pas régulés par le vivant et entraînent des effets biologiques délétères (**Ramade, 1998**). Le passage de l'extérieur de ces xénobiotiques à l'intérieur du vivant se fait à travers trois barrières : (**la barrière cutanée, la barrière respiratoire, la barrière digestive**) (**Bouderbala, 1997**).

1. Qu'est ce qu'un métal ?

Un métal est un élément chimique, issu, le plus souvent, d'un minerai doté d'un éclat particulier, bon conducteur de chaleur et d'électricité, ayant des caractéristiques de dureté et de malléabilité, se combinant aisément avec d'autres éléments pour former des alliages utilisés par l'Homme (**Chiffolleau et al, 2001**).

Si les métaux sont souvent essentiels au déroulement des processus biologiques (oligo-éléments) dont le Cu et le Zn (**Aouameur, 1990, Schroeder et al 1967**); nombreux d'entre eux peuvent s'avérer contaminants et non essentiels (Cd, Pb) pour diverses formes de vie (**Mason et Jenkins, 1995 ; Miquel, 2001**); lorsque leur concentration dépasse un seuil, lui-même en fonction de l'état physico-chimique (spéciation) de l'élément considérés (**Figure 11**).

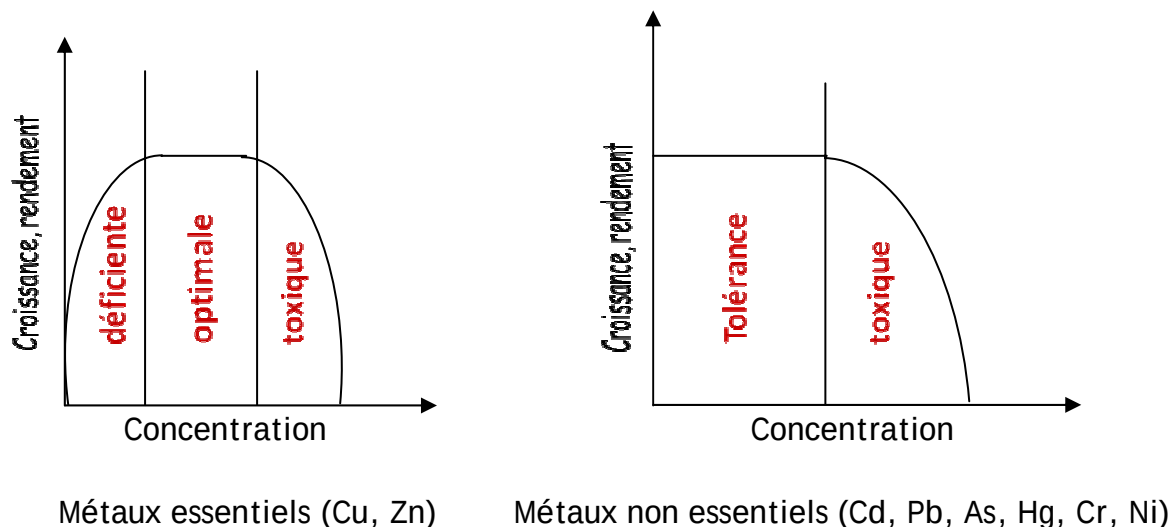


Figure 11: Les métaux essentiels et non essentiels (Chiffolleau et al, 2001)

Un métal a la capacité de se lier aux atomes et groupements avec lesquels il possède une affinité. Dans le milieu aquatique, il sera défini comme un élément chimique qui peut former des liaisons métalliques et perdre des électrons pour former des cations. De ce fait, les métaux ayant une affinité pour le soufre se fixent sur les protéines ayant des acides aminés soufrés (**Rainbow, 2002**).

Ainsi, sur la base de leurs propriétés chimiques, les métaux ont été distingués selon 3 groupes : les éléments de la Classe A, ceux de la Classe B et les éléments de Transition (**Nieboer et Richardson, 1980**).

Les premiers, dont l'Al, Ba, Mg, sont caractérisés par une forte préférence de liaison avec des groupements contenant de l'oxygène (groupements phosphates, carboxyles, carbonyles), puis pour l'azote et dans une moindre mesure pour le soufre ($O > N > S$). À l'inverse, les éléments de Classe B (Ag, Hg), ont une plus grande affinité pour les groupes riches en soufre ($S > N > O$).

Les éléments de Transition (Co, Mn, Zn), présentent une affinité équivalente à la fois pour l'O et le S (**Figure 12**). Ces propriétés chimiques des éléments jouent un rôle crucial sur leur devenir dans les organismes mais aussi pour leur biodisponibilité dans la colonne d'eau et pour leur incorporation potentielle dans les tissus des êtres vivants.

Elles déterminent, de plus, le caractère essentiel ou non essentiel de l'élément. Il est en général considéré que les éléments de la Classe B sont plus toxiques que les éléments de Transition, et que les éléments de la Classe A sont les moins toxiques (**Figure 12**).

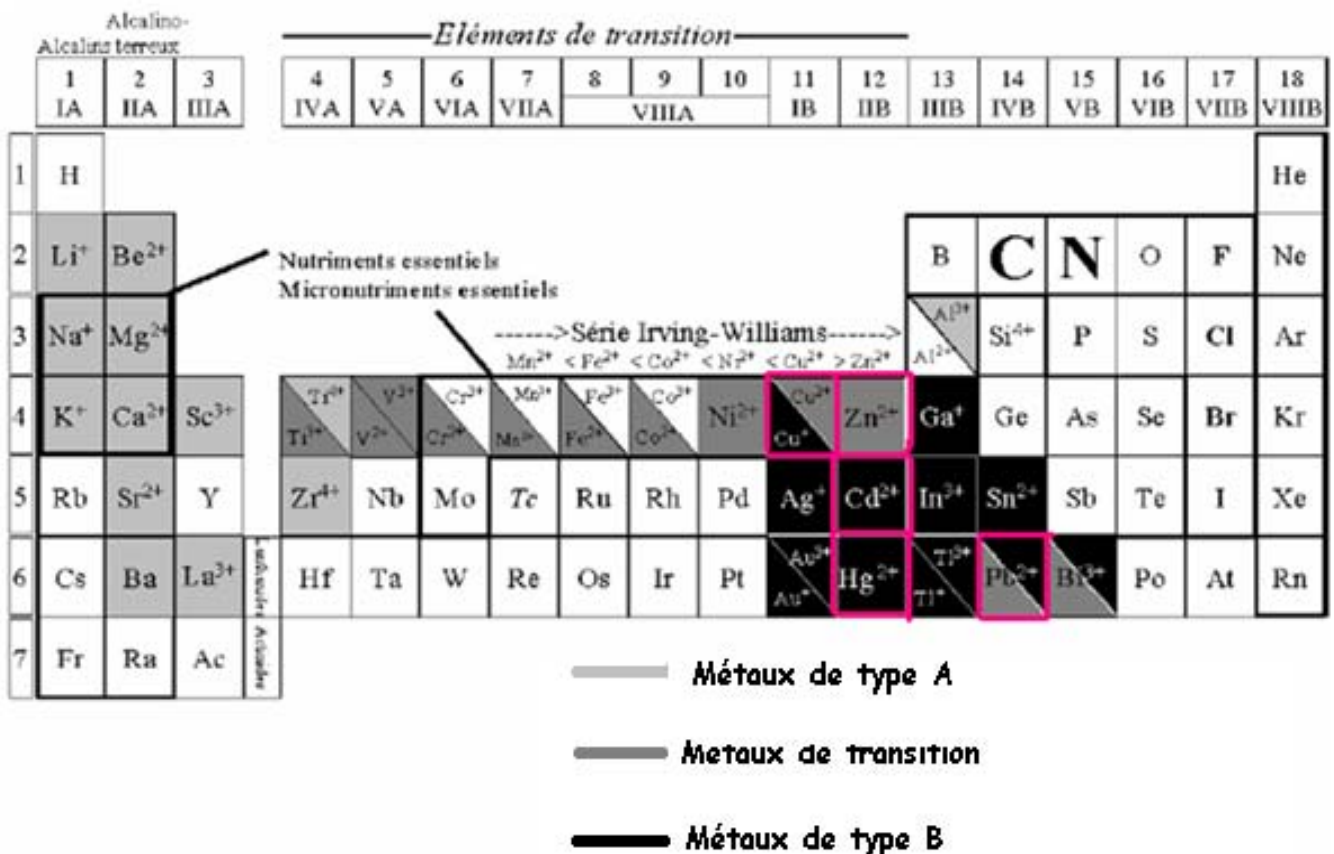


Figure 12: Classification des métaux traces (Stumm et Morgan, 1996).

2. Cycle biogéochimique des métaux lourds :

Le cycle biogéochimique des métaux traces est altéré par les activités anthropiques; l'augmentation des concentrations peut entraîner des effets nuisibles possibles sur les écosystèmes et l'homme. Du fait de leur stabilité et de leur persistance dans l'environnement, ils sont propices au transport et à l'accumulation dans certains compartiments de l'environnement (**Butcher et al., 1992 ; Flores-Rodriguez, 1992 ; Ramade, 1992**).

L'aboutissement ou le transfert proprement dit des métaux lourds dans l'eau de mer, leur dépôt, ainsi que leur élimination sont conditionnés par le cycle biogéochimique qui régit ainsi leur passage cyclique sous différentes formes à travers des milieux différents ceci en fonction des facteurs physiques, chimiques, géochimiques et biochimiques.

Le cycle biogéochimique des métaux lourds dans le milieu marin se déroule en deux grandes étapes :

A : Piégeage des polluants métalliques par des conditions physico chimiques du milieu marin, et cela par :

2.1. Précipitation

Phénomène qui s'opère lorsque le polluant métallique en solution chute par gravitation au fond du milieu marin. Cependant, en eau profonde, certains métaux pourraient retourner en solution bien avant d'atteindre le fond (*in Dermeche, 2010*).

2.2. Adsorption :

Phénomène qui a lieu quand les molécules ou les ions métalliques se fixent à la surface des composantes marines (particules, organismes marins, sédiment) (*in Dermeche, 2010*).

2.3. Absorption :

C'est le passage du polluant métallique dans un organisme marin (*in Dermeche, 2010*).

2.4. Sédimentation :

Phénomène qui s'effectue lorsque les ions métalliques se superposent formant, ainsi, des couches sédimentées.

Les animaux benthiques participent à l'accélération du dépôt des particules et leurs métaux associés en les consolidant dans des matières fécales (**Aouameur, 1990**). Ainsi, les animaux benthiques participent à la sédimentation du milieu marin.

B : Une deuxième étape, inverse à la première, constituerait au relargage de ces polluants par désorption qui est le phénomène inverse de l'absorption par diffusion ou par propagation dans le milieu marin, par redissolution ou remise en solution des produits précipités par décomposition ou déminéralisation des matières organiques, et parfois même, par redistribution par le biais des organismes marins (*in* **Bourdial, 1988**).

Dans l'environnement aquatique, les métaux lourds subissent de nombreuses transformations : réductions par processus biochimique interposé, méthylation, déméthylation et oxydation d'espèces de métaux isolés. Des réactions redox peuvent aussi faciliter certaines transformations, les processus biochimiques sont effectués par des micro-organismes et par des algues (**Figure 13**) (**Jernelöv, 1975**).

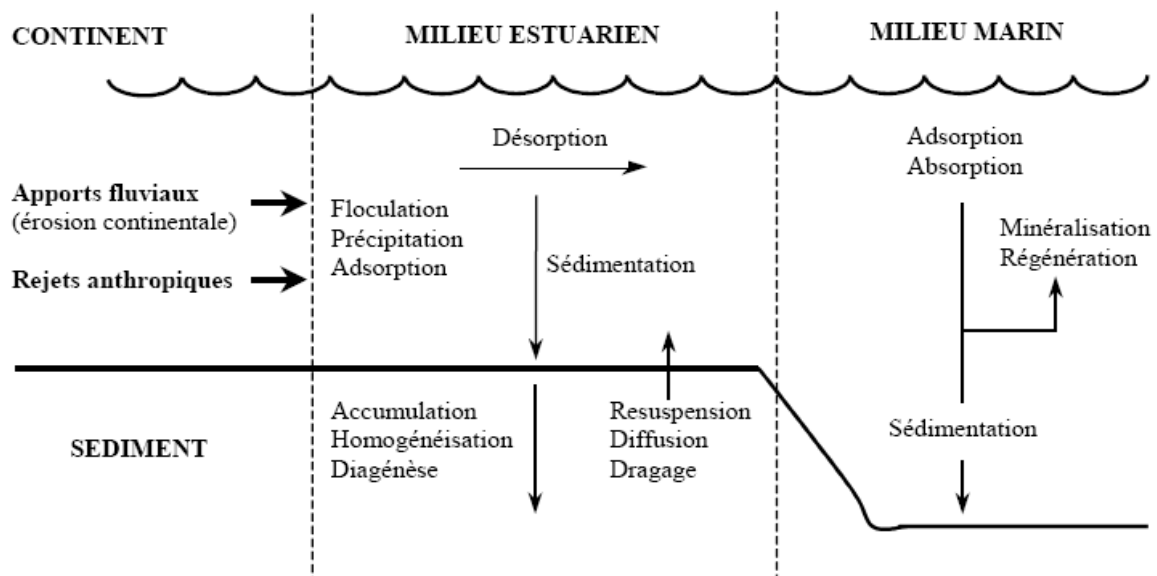


Figure 13: Illustration schématique des processus physico-chimiques et biochimiques affectant le comportement et la distribution dissous/particulaire des éléments métalliques et des radionucléides à l'interface continent/océan (Olsen et al., 1982).

Les eaux naturelles contiennent un mélange complexe de métaux traces dont l'origine est double (**Clark, 2001**). Ils sont issus de processus géologiques, donc naturellement présents dans la biosphère, qui peuvent être le résultat soit de déversements effectués directement dans les écosystèmes marins et dans les eaux douces, soit d'un cheminement indirect comme dans le cas des décharges sèches et humides et du ruissellement agricole (**Bryan, 1984, Nisbet et Fowler, 1995**).

Parmi les importantes sources naturelles, citons l'activité volcanique, l'altération des continents et les incendies de forêts. La contribution des volcans peut se présenter sous forme d'émissions volumineuses mais sporadiques dues à une activité explosive, ou d'émissions continues de faible volume, résultant notamment de l'activité géothermique et du dégazage du magma (**Zoller, 1984**).

D'autre part, ils proviennent de l'activité humaine donc d'origine anthropique dont les effluents d'extractions minières, effluent industriels, effluents domestiques et ruissellements orageux urbains, lessivage de métaux provenant de décharges d'ordures ménagères et de résidus solides.

Les apports de métaux provenant de zones rurales parmi eux, les métaux contenus dans les pesticides, ainsi que les sources atmosphériques notant la combustion de carburants fossiles, incinération des déchets et émission industrielles, mais aussi les activités pétrochimiques (**Tableau 3**).

Ces apports sont généralement importants au regard de ceux provenant des sources naturelles (**Goldberg, 1995**) ; Oran, étant la quatrième ville polluante avec ses 2200 hectares et ses 687000 habitants, rejette 140000m³/ jour d'eaux usées, dont 90% vont en mer (**Bouderbala, 1997**). Cette dernière source est souvent dominante (**Phillips et Rainbow, 1993**).

Les métaux étudiés dans le présent travail sont le cadmium (Cd), le cuivre (Cu), le plomb (Pb) et le zinc (Zn).

Ils ont été choisis car ils sont les plus représentés et les plus problématiques dans l'environnement (**Haynes et Johnson, 2000 ; McPherson et Chapman, 2000**), et pour l'abondance des études sur leur cycle biogéochimique (**Nakhlé, 2000**).

De plus ce sont les métaux qui ont été utilisés pour développer les différents modèles de biodisponibilité et de toxicité que nous présenterons ultérieurement (Ankley et al., 1994).

Tableau 3: Sources industrielles et agricoles dans l'environnement du (Zn, Pb, Cu, Cd) (Biney et al ; 1992)

Utilisations	Métaux lourds
Batteries et autres appareils électriques	Cd, Pb, Zn
Pigments et peintures	Cd, Pb, Zn, Cu
Alliages et soudures	Cd, Pb, Zn, Cu
Biocides (pesticides, herbicides, conservateurs)	Pb, Cu, Zn
Agents de catalyse	Pb, Cu
Engrais	Cd, Pb, Cu, Zn
Matières plastiques	Cd, Pb
Carburants	Cu, Pb, Cd

3. Pollution par les métaux lourds étudiés

3.1. Pollution par le Cadmium

Étant responsable de nombreuses morts humaines (Kobayashi cité par Eisler 1971 ; Yasumura et al 1980. In IFREMER) et de perturbations biologiques à effets nuisibles et irréversibles sur les espèces aquatiques, le Cd est considéré comme l'un des métaux lourds les plus toxiques (Eisler, 1971, Nardberg, 1974 ; Philipps, 1980), Sa demi-vie biologique comprise entre 16 à 33 ans se traduit par une bioaccumulation importante due à une adsorption initiale du métal sur des sites précis suivie d'un passage transmembranaire vers des sites de séquestration (Simkiss et al, 1982).

C'est un métal blanc, de densité 8.65, le point de fusion est de 321°C, le point d'ébullition est à 778°C; il présente des caractéristiques chimiques proches de celles du calcium, en particulier le rayon ionique, facilitant ainsi sa pénétration dans les organismes **(Borchardt, 1985)**.

À l'état naturel, le Cd se rencontre dans les minerais de Zinc ; industriellement, ce métal est principalement un sous-produit de l'extraction du Zinc et accessoirement du Plomb **(IFREMER, 1989)**.

Son état prédominant dans la nature est Cd^{++} , une fois libéré dans l'atmosphère, il est rapidement oxydé en CdO puis en est ôté par les précipitations ou par des retombées sèches directes ; mais la toxicité du Cd est souvent liée à sa forme ionique, plutôt qu'au Cd total.

Le cadmium est un élément rencontré en milieu aquatique sous diverses formes physiques (dissoute, colloïdale, particulaire) et chimiques (minérale ou organique).

Un ensemble de variables physicochimiques du milieu (salinité, pH, potentiel redox, caractéristiques sédimentologiques, nature géochimique des particules, concentration en chlorures) gouvernent les transformations du cadmium dans l'environnement **(Gonzalez et al., 1999; Chiffoleau et al., 2001)**.

Causées par l'altération géologique due à des agents atmosphériques et à l'érosion de l'écorce terrestre et transportant le Cd ainsi que d'autres oligo-éléments dans le milieu marin, auquel s'ajoute l'action volcanique des grands fonds **(Clarke, 1996)**.

Il a pour origine aussi les rejets industriels tels que le raffinage des métaux non ferreux, la combustion du charbon et des produits pétroliers, les incinérateurs d'ordures ménagères et la métallurgie de l'acier, la volcanoplastie, la production d'engrais phosphaté constituent les principales sources de rejet atmosphérique **(Benguedda, 1993)**. D'après **Khettib et Rezzoug, 1991** : 7000 tonnes/ an de déchets de Cd sont déversés dans l'océan mondial ; et sa production s'est considérablement amplifiée au cours des 20 dernières années.

Contrairement à de nombreux métaux, le cadmium n'a aucun rôle métabolique connu et ne semble pas biologiquement essentiel ou bénéfique au métabolisme des êtres vivants.

Il remplace parfois le Zn dans des systèmes enzymatiques carencés en Zn chez le plancton (**Price et Morel, 1990; Lane et Morel, 2000**).

Selon **Benguedda (1993)**, en présence des cyanures, la bioaccumulation du Cd devient intense, ce qui engendre un blocage des groupements thiol chez l'être humain entraînant une inhibition respiratoire au niveau cellulaire et une perturbation de certains systèmes enzymatiques fondamentaux.

3.2. Pollution par le cuivre

Le cuivre est indispensable au métabolisme des êtres vivants (oligo-éléments) ; Il peut se trouver sous forme d'hydroxyde de chlorure ou carbonates solubles ou encore à l'état de traces, c'est-à-dire inférieurs à 1mg/ l dans certaines eaux naturelles.

L'oxyde cuivreux Cu_2O est insoluble dans l'eau alors que les formes CuSO_4 , $\text{Cu}(\text{OH})_2$ et CuCl_2 le sont. La majorité du cuivre rejeté dans l'eau est sous forme particulaire et tend à se déposer, à précipiter ou à s'adsorber à la matière organique, au fer hydraté, aux oxydes de manganèse ou aux argiles. Dans l'eau, le cuivre particulaire représenterait de 40 à 90 % du cuivre (**ATSDR, 1990**). Après introduction du cuivre dans le milieu aquatique, l'équilibre chimique est généralement atteint en 24 heures.

Le cuivre est présent dans l'environnement de manière ubiquiste. Sa concentration dans l'écorce terrestre est estimée à environ 70 mg.kg⁻¹. Le transport par le vent des poussières de sol, les éruptions volcaniques, les décompositions végétales, les feux de forêts et les aérosols marins constituent les principales sources naturelles d'exposition.

Les principales sources anthropiques sont l'industrie du cuivre et des métaux en général, l'industrie du bois, l'incinération des ordures ménagères, la combustion de charbon, d'huile et d'essence et la fabrication de fertilisants (phosphate).

Le milieu environnemental le plus exposé au cuivre est le sol: 97 % du cuivre libéré dans l'environnement s'y retrouve contre seulement 3 % dans les eaux et 0,04 % dans l'air (**ATSDR, 1990**).

La contamination des sols est due principalement aux scories d'extraction et de broyage des minerais de cuivre, les boues des usines de traitement des eaux usées, les déchets de la galvanoplastie, l'industrie du fer et de l'acier.

Le cuivre est un élément essentiel chez l'homme et l'animal, il est impliqué dans de nombreuses voies métaboliques, notamment pour la formation d'hémoglobine et la maturation des polynucléaires neutrophiles (**Benguedda, 1993**).

De plus, il est un cofacteur spécifique de nombreuses enzymes et métalloprotéines de structure intervenant dans un métabolisme oxydatif, la respiration cellulaire, la pigmentation (**OMS-IPCS, 1998**).

Il a une importance capitale dans l'entretien des processus biologiques. Chez les mollusques, le sang renferme un pigment respiratoire à base de cuivre, l'hémocyanine.

La toxicité vis à vis des organismes marins dépend de la forme chimique du cuivre et de son état d'oxydation. En particulier, la concentration létale en 48 h pour 50 % des larves d'huîtres plates serait de 1 à 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ et des inhibitions de croissance du phytoplancton se produisent à partir de 4 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Les caractéristiques physico-chimiques du milieu (pH, dureté, teneurs en autres inorganiques) agissent sur le degré de dissociation entre les formes métalliques et ioniques. Le cuivre complexé est moins toxique que le cuivre à l'état ionique.

3.3. Pollution par le plomb :

Il est bleu-grisâtre, malléable et ductile possédant un point de fusion de 327°C et un point d'ébullition de 1740°C ; son usage selon « **IFREMER** » peut être classé en cinq secteurs principaux :

Produits semi-finis (tuyaux, tubes...), câbles électriques, accumulateurs (plaque, poudre...), alliages (soudure, imprimerie...), chimie (oxyde, alkyl...).

Le plomb se trouve sous forme inorganique, il existe sous trois formes essentielles: le plomb **dissous**, le plomb **colloïdal** et le plomb **particulaire**: à des valeurs de pH proche de 7 ; c'est un élément très réactif dans l'environnement, l'atmosphère et son principal vecteur vers l'océan (**IFREMER, 1993**).

Sous forme **dissoute**, le plomb prend des formes dominantes dans l'eau de mer qui sont PbCO_3 , PbCl_2 ou PbCl^+ . Cette répartition ne prend pas en compte la matière organique dissoute et le fait que le plomb, dans l'eau de mer, se trouverait essentiellement sous forme de complexes organiques labiles.

De même que pour le mercure, le plomb peut-être méthylé par les bactéries dans les sédiments, mais ce phénomène revêt une moindre importance.

Aussi, le plomb présente une forte affinité pour la matière particulaire. A peine 10 % du plomb se trouve sous cette forme dans l'océan. L'adsorption du plomb sur la matière particulaire est en fonction du pH et augmente avec ce dernier.

Dans l'air, les émissions de plomb provenant de poussières volcaniques véhiculées par le vent sont reconnues d'importance mineure. Les rejets atmosphériques sont principalement anthropiques.

Au cours des deux derniers siècles, des concentrations en plomb dans les glaces polaires ayant intégré la retombée atmosphérique, cette augmentation est en relation avec l'accroissement des émissions anthropiques. **(Murozumi et al., 1969; Boutron et Patterson, 1983).**

Les apports de plomb à l'océan se font majoritairement par voie atmosphérique, la source principale étant encore à l'heure actuelle la combustion des carburants automobiles. Les teneurs dans les eaux côtières sont à peine plus élevées qu'en zone océanique à cause de l'ampleur de l'enlèvement dans les zones où les concentrations en matières en suspension sont fortes.

Des eaux côtières, dont les teneurs sont inférieures à 50 ng.L^{-1} peuvent être considérées comme non contaminées. Dans les sédiments, le plomb peut être remis en solution par dégradation aérobie de la matière organique particulaire à laquelle il est associé. Cette solubilisation s'observe également en subsurface par dissolution des oxydes de fer et de manganèse **(Marchand et Kantin, 1997).**

Le Pb est un élément qui ne semble pas être essentiel à la croissance des animaux ni à celle des plantes **(Needelman, 1984)** ; cependant, il est bioconcentré par les organismes vivants, en particulier les organismes marins.

Des effets sur la croissance de certaines espèces phytoplanctoniques ont été enregistrés à partir de $0,5 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$.

Ainsi, considéré comme un métal toxique pour l'homme, de nombreuses recherches concernant sa bioaccumulation par les produits marins ont été réalisées, ces derniers peuvent servir de vecteur d'ingestion pour l'homme.

Il semble que le transport sous forme dissoute soit le mécanisme le plus fréquent de la pénétration du Pb dans les cellules ; la majorité des ions ne traversent les membranes plasmidiques hydrophobe que grâce à un ligand transporteur et ainsi mettre en jeux tout un système de « piègeage cinétique » afin de prévenir sa diffusion vers l'extérieur ; l'excrétion alors peut se faire sous forme dissoute ou solide. La complexité du système « stockage-excrétion » sera fonction du niveau d'excrétion de l'organisme considéré (**Simkiss et al, 1982**).

Les concentrations en Pb dans les muscles des poissons sont le plus souvent inférieurs à 1µg.g, cette concentration à tendance de diminuer avec l'augmentation en taille ; Les teneurs dans le foie et le rein sont supérieures (**Cossa et Bombled, 1992**).

Selon l'OMS, la quantité de Pb admissible apportée hebdomadairement par la nourriture serait de 3µg pour les adultes et de 0.2µg pour les enfants.

Le Pb sous forme inorganique exercerait sa toxicité en entrant en compétition avec des métaux essentiels au fonctionnement normal de la cellule.

3.4. Pollution par le zinc

Le zinc est indispensable au métabolisme des êtres vivants (oligo-éléments) ; en particulier comme coenzyme. Le zinc existe dans l'eau de mer sous diverses formes: ion hydraté ($\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})^{2+n}$), zinc complexé par les ligands organiques (acides fulviques et humiques) et zinc adsorbé sur de la matière solide.

C'est un métal blanc dont le point de fusion atteint 420°C et le point d'ébullition 907°C, La quantité de zinc tolérable dans l'eau est rapidement limitée par le goût désagréable des sels de zinc (au-dessus de 5 à 10mg/L) (**IRPTC, 1978**).

Le zinc est principalement utilisé pour les revêtements de protection des métaux contre la corrosion (galvanoplastie, métallisation, traitement par immersion), il entre dans la composition de divers alliages (laiton, bronze, alliages légers), il constitue un intermédiaire dans la fabrication d'autres composés et sert d'agent réducteur en chimie organique et de réactif en chimie analytique.

D'après **Sellali, en 1986**, il faut plus de 2,2 ppm en poids sec de zinc pour satisfaire les besoins biochimiques des organismes marins.

Le zinc principalement sous forme de sulfure (blende) est assez uniformément distribué dans les roches magmatiques (40 à 120 mg.kg⁻¹).

Sa concentration est un peu plus élevée dans les sédiments argileux (80 à 120 mg.kg⁻¹) et les schistes alors qu'elle est plus faible dans les roches mères sableuses.

Il entre naturellement dans l'atmosphère à partir du transport par le vent de particules du sol, des éruptions volcaniques, des feux de forêts et d'émission d'aérosols marins, Le zinc provient de la dissolution et des intempéries.

720000 tonnes/ an de zinc sont produites dans le monde (**Benguedda-Rahal, 1993**).

Les apports anthropiques de zinc dans l'environnement résultent des sources minières industrielles (traitement minéral, raffinages, galvanisation du fer, gouttières de toitures, piles électriques, pigments, matières plastiques, caoutchouc), des épandages agricoles (alimentation animaux, lisiers) et des activités urbaines (trafic routier, incinération ordures).

Dans les zones portuaires, le zinc est introduit à partir de la dissolution des anodes destinées à la protection des coques de bateaux contre la corrosion, et est contenu dans certaines peintures antisalissure.

De point de vue physiologique, Comme le cuivre le zinc est un métal essentiel à la vie d'un grand nombre d'organismes en quantité généralement faible, et joue un rôle prédominant dans la croissance et le métabolisme des acides nucléiques qui interviennent chez l'Homme dans la reproduction, réplication, la réparation cellulaire, et la croissance tissulaire (**Boudene, 1986**), il est indispensable au développement osseux et cérébral, au développement fœtal, au goût et à l'odorat, des fonctions immunitaires et de la cicatrisation des blessures (**NAS/NRC, 1989**).

Le zinc est l'un des oligo-éléments les plus abondants chez l'homme (besoins 15 mg/jour⁻¹).

La toxicité du zinc est relativement faible lorsqu'il est induit par voie digestif **(Aubert et al, 1987)**. Cette intoxication se traduit par des vomissements, diarrhée, troubles respiratoires suivie de convulsions, puis une paralysie **(Quillet, 1984)**.

Sa toxicité pour les organismes aquatiques n'en fait pas un contaminant prioritaire, bien qu'il agisse, à de fortes concentrations, sur la croissance des larves.

L'impact toxique du zinc n'est généralement pas immédiat, cette action s'exerce par la formation de composés toxiques insolubles au niveau des muqueuses recouvrant les branchies de poissons ou par action toxique interne **(Benguedda, 1993)**.

4. Métaux lourds dans l'environnement aquatique:

L'introduction des métaux lourds dans le milieu marin a pour conséquence des effets nuisibles et néfastes, tels que des dommages aux ressources biologiques, risques pour la santé humaine, entraves des activités maritimes (y compris la pêche), altération de la qualité de l'eau de mer **(Gesamp, 1991)**.

Une fois dans l'environnement aquatique, les métaux se répartissent entre les différents compartiments (l'eau, les particules en suspension, les sédiments et le biote), **(Chiffoleau et al.2001)**.

Les métaux présents dans l'environnement aquatique peuvent exister sous forme de complexes, de particules ou en solutions non biodégradables persistantes, qui peuvent affecter la vie aquatique, en provoquant un effet toxique, une bioaccumulation directe ou une biomagnification au fur et à mesure que l'on remonte à travers les maillons de la chaîne trophique **(Figure 15)**.

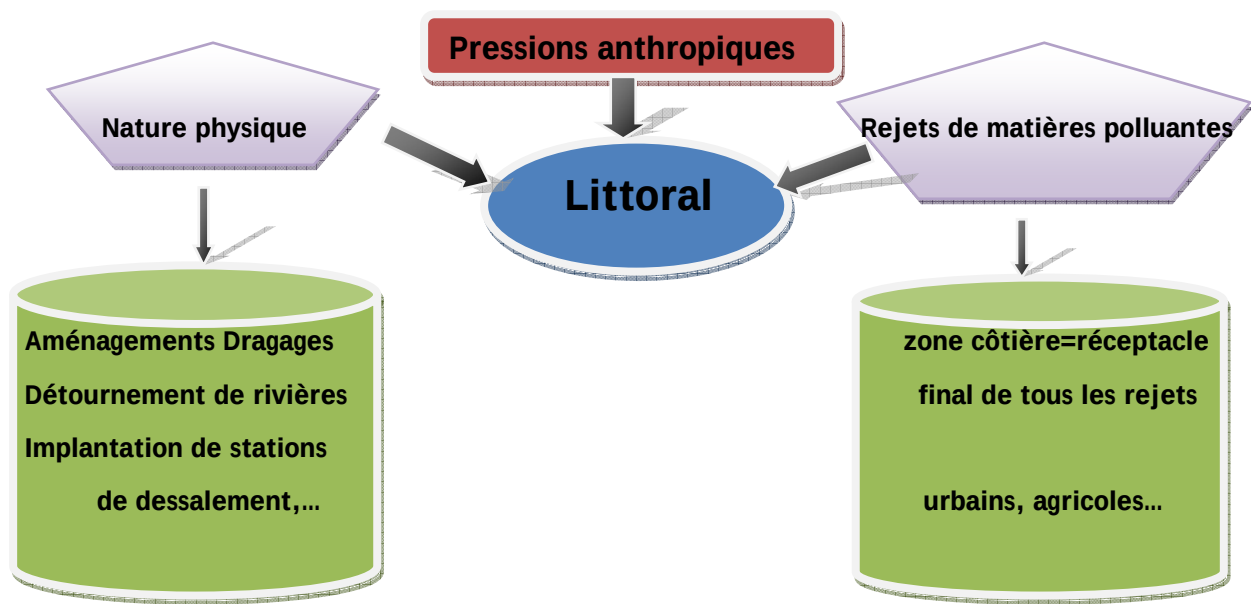


Figure 14: Destination des polluants dans l'environnement aquatique et leurs origines (Boutiba et al ; 2003)

5. Effets des métaux lourds sur les organismes marins :

Le potentiel effet des métaux sur les organismes est intrinsèquement lié aux processus de bioaccumulation, puisque les éléments doivent entrer dans les cellules avant d'exercer leur influence (**Langston, 1990**).

Dans le milieu marin, les organismes sont donc exposés aux métaux selon différentes voies d'entrée (eau, sédiment, nourriture, transfert maternel...).

Ainsi, la bioaccumulation d'un métal dans un organisme est la résultante des paramètres d'entrée et d'élimination et/ou de rétention (**Rainbow, 1990**).

Une fois entrés dans les tissus, les éléments traces sont "métaboliquement disponibles" au moins jusqu'à ce que des processus physiologiques agissent pour les éliminer ou les lier à une molécule particulière ayant une forte affinité pour l'élément, l'empêchant, de ce fait, de se fixer par ailleurs (**Rainbow, 2002**).

À ce stade, le métal est détoxiqué et peut être soit retenu dans les tissus, soit éliminé.

Dans le cas contraire, les métaux peuvent induire des perturbations biochimiques des fonctions physiologiques essentielles telles que la digestion, l'immunité ou la reproduction influençant en conséquence la santé, croissance et la survie des individus et des populations **(Langston, 1990)**.

La contamination de l'environnement aquatique par des métaux de provenance localisée, peut avoir des effets délétères, c'est-à-dire des effets toxiques aigus ou chroniques, sur la vie aquatique à l'intérieur de la zone concernée. La plupart des données publiées jusqu'ici concernant les effets des métaux sur les organismes aquatiques indiquent cependant que ces effets nocifs se produisent à des concentrations supérieures à celles que l'on trouve généralement dans l'environnement **(Gesamp, 1985, 1988)**.

Les métaux peuvent être absorbés sous la forme organique ou inorganique. Pour certains éléments, comme le Cu, la forme inorganique est la plus toxique ; pour d'autres, comme le Pb, les formes organiques sont les plus toxiques. A de faibles concentrations, beaucoup de métaux lourds dont le Cd, Pb et le Cu inhibent la photosynthèse et la croissance du phytoplancton.

Les effets observés à des niveaux trophiques supérieurs se manifestent notamment par un retard du développement des embryons, des malformations, et une moins bonne croissance des adultes chez les poissons, les mollusques, les crustacés et les Échinodermes dont *Paracentrotus lividus*.

Pour cela l'**OMS** a également élaborée des critères de qualité des eaux potables pour plusieurs substances chimiques, dont la plupart des métaux lourds **(OMS, 1985)** ; la **FAO**, de son côté a fait une compilation des teneurs limites de substances dangereuses, et notamment de métaux lourds, légèrement admises dans les poissons et les produits de la pêche **(Nauen, 1983 ; FAO, 1989)**.

Pour les animaux (comme le cas des Poissons), au moins deux voies de pénétration du cuivre sont à considérer : les voies respiratoires et le système digestif. L'incorporation dans les cellules par l'une ou l'autre des voies va suivre les mêmes règles que pour un organisme unicellulaire : adsorption à la surface puis transport et diffusion à travers la membrane **(Power et Chapman, 1992)**.

6. Toxicité des métaux lourds:

6.1 Toxicité aiguë:

Elle est due à une absorption rapide d'un toxique par voie transtégumentaire pulmonaire ou buccale; elle se développe rapidement et provoque de très graves troubles physiologiques à fortes doses et en courte durée.

6.2 Toxicité chronique:

Elle se produit lors d'une absorption du toxique après l'exposition du sujet à de très faible concentration parfois à des doses ceci à long terme, elle peut provoquer des troubles métaboliques ou physiologiques susceptible d'aboutir à la mort.

7. Écotoxicologie :

L'**écotoxicologie** est la discipline qui évalue les effets des perturbations physiques et chimiques sur les êtres vivants, les voies de transfert des contaminants et leur action sur l'environnement (**Truhaut, 1977**).

Elle regroupe des **études physico-chimiques**, permettant de décrire le milieu étudié et de définir son niveau de contamination, ainsi que des **études biologiques** afin de déterminer la qualité du milieu.

L'écotoxicologie peut intervenir à différents niveaux d'organisation biologique: moléculaire, subcellulaire et cellulaire, tissulaire, de l'organisme, de la population et de l'écosystème.

Elle peut s'interpréter en 3 modèles :

 **7.1. Bioaccumulation** est le processus par lequel un organisme vivant absorbe une substance à une vitesse plus grande que celle avec laquelle il l'excrète ou la métabolise.

Elle désigne donc la somme des absorptions d'un élément par voie directe et alimentaire par les espèces animales aquatiques ou terrestres (**Ramade, 1992**). Face à l'immensité des problèmes écotoxicologiques, il semble impératif de s'occuper séparément des mécanismes d'accumulation et du transfert des contaminants.

Les termes de transfert et d'accumulation sont fortement liés, le premier représente un changement d'état du second.

Les transferts représentent le flux de contaminants entre les différents compartiments abiotiques et biotiques et l'accumulation représente la quantité stockée dans chacun des compartiments **(Figure 16)**.

La bioaccumulation est donc le résultat des processus par lesquels le contaminant entre dans l'organisme et des processus de décontamination, une combinaison des mécanismes d'excrétion vers l'environnement et de biotransformation endogène **(Ribeyre et Boudou, 1989)**.

 **7.2. Bioconcentration** est un cas particulier de bioaccumulation. Elle est définie comme le processus par lequel une substance (ou un élément) se trouve présent dans un organisme vivant à une concentration supérieure à celle de son milieu environnant.

C'est donc l'accroissement direct de la concentration d'un contaminant lorsqu'il passe de l'eau à un organisme aquatique. Le facteur de concentration (FDC) peut être défini comme une constante issue du rapport de la concentration d'un élément dans un organisme en état d'équilibre à sa concentration dans le biotope **(Veith et al., 1979; Ramade, 1992)**.

 **7.3. Bioamplification** est le processus par lequel le prédateur concentre une substance (ou un élément) à un niveau supérieur à celui où il se trouve dans la proie **(Figure 16)**.

Ainsi, le concept de bioaccumulation résulte de la balance nette des processus de capture, de stockage et d'excrétion d'une substance dans un organisme, due à une exposition dans l'eau, la nourriture, le sédiment et l'air **(Nieff, 2002)**.

La bioaccumulation, phénomène capital au niveau de l'organisme, est exprimée par la différence entre la quantité de métaux qui pénètre au travers des barrières biologiques et celle qui est éliminée vers le milieu extérieur (processus d'excrétion).

Pénétration, stockage dans les organes cibles et élimination seront sous la dépendance des facteurs abiotiques du milieu, de la nature du contaminant et des caractéristiques physiologiques et biochimiques de l'organisme ou de l'espèce considérée.

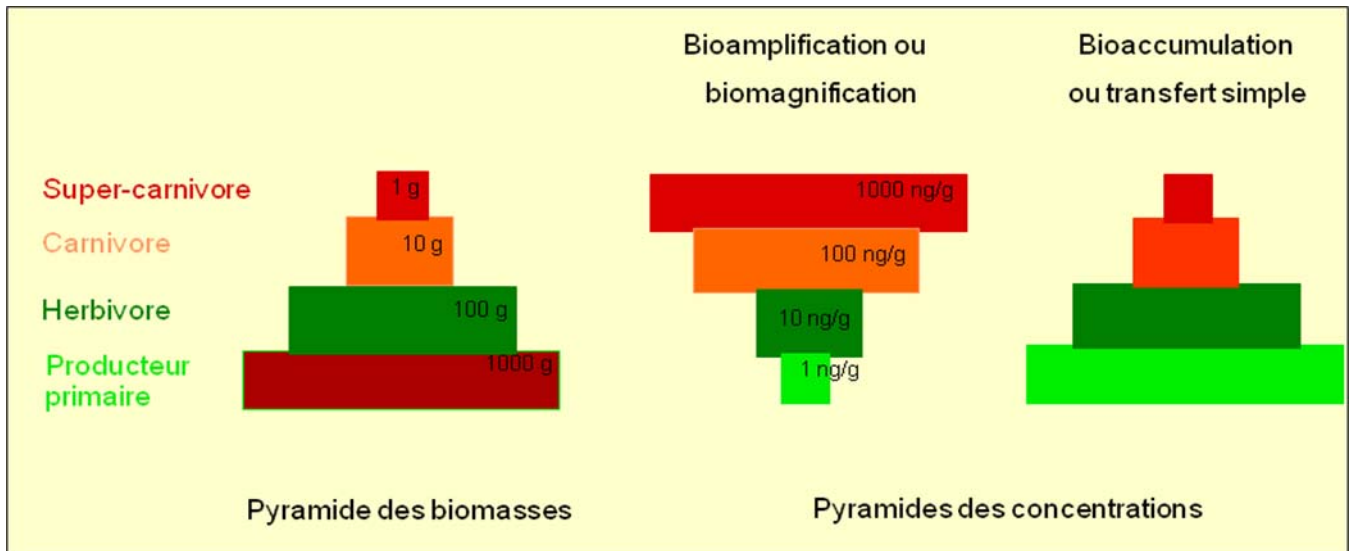


Figure 15: Transferts trophiques des polluants chez les organismes vivants (Boutiba et al ; 2003)

Le but final des essais biologiques est d'évaluer l'impact des micropolluants. Les bioessais reflètent la toxicité de la fraction biodisponible des contaminants, mais ne permettent pas d'identifier les composés responsables des effets biologiques observés.

Cette **biodisponibilité** des contaminants dépend de nombreux **facteurs physiques** (granulométrie et teneur en matière organique du sédiment et des particules en suspension etc.), **chimiques** (solubilité et réactivité des composés, présence d'agents complexant etc.), **biologiques** (organismes pélagiques ou benthiques utilisés, mode de contamination etc.) (**Borgmann, 2000**).

Elle peut dans une certaine mesure être mesurée par l'accumulation des contaminants par les organismes tests ; on parle alors de bioaccumulation.

Pour différents composés, des **concentrations corporelles critiques**, au-dessus desquelles des effets biologiques sont observés, ont été déterminées. Pour les contaminants non ou faiblement régulés et transformés, les teneurs dans les organismes sont de meilleurs **indicateurs** de la qualité du milieu que la mesure des concentrations en polluants dans le milieu même.

Ceci permet de prendre en compte tous les facteurs qui influencent la biodisponibilité de ce type de contaminants (**Borgmann et Norwood, 1997; Borgmann, 2000; Borgmann et al. 2001; Connell et al., 1999; Hwang et al., 2001; McCarty et Mackay, 1993**).

8. Métaux lourds en Algérie :

Les analyses des sédiments portuaires indiquent des teneurs variables en métaux lourds. Les ports ne sont pas les seuls touchés par la pollution des métaux lourds. Des concentrations élevées sont aussi constatées au large de zones côtières comme Ghazaouet pour le Cd, Cu, Pb, Zn ; Oran et Arzew pour le Pb, Cu ; Alger pour le Hg. On évalue à 10 000 tonnes.an⁻¹ les pertes au cours de ces opérations et 12 000 tonnes.an⁻¹ sont déversées au large par les gros transporteurs (eaux de cales et de ballast).

Les concentrations des métaux lourds sont constatées au large des côtes.

Tableau 4 : Teneurs en métaux lourds (µg/g) dans les principaux ports d'Algérie (les chiffres entre parenthèses représentent les normes)(Chalabi et al, 2002)

Ports	Mercure (1,5)	Cadmium (3)	Plomb (250)	Cuivre (150)	Zinc (500)
Ghazaouet					
Oran	2,6	2	480	200	800
Arzew	0,5	0,2	100	50	230
Béthioua	0,35	0,25	48	25	110
Mostaganem	3,2	0,4	50	65	200
Ténès	0,3	1,2	120	40	400
Alger	5,8	2,9	870	325	1100
Béjaia	0,3	2,8	100	65	440
Jijel	5,9	2,35	510	190	700
Skikda (NP)	18	0,12	30	65	170
Skikda (AP)	3,3	1,58	120	200	770
Annaba	1,1	2,5	220	115	400

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Tests biologiques ou Bioessais :

Les analyses chimiques permettent de déterminer et de connaître le niveau de contamination d'un polluant métallique, mais donnent peu d'informations sur l'action directe sur les différents organismes marins. Pour mieux appréhender cette dernière, il est plus approprié d'utiliser les réponses d'organismes vivants : **Bioessais (His et al, 1999; Geffard, 2001)**. De nombreux bioessais sont pratiqués sur des organismes utilisant la survie comme réponse biologique (**Chapman et Morgan, 1983 ; Carr et al. 1989 ; Becker et al, 1990 ; ASTM, 1992 ; Long et Wilson, 1997 ; Carr et Chapman, 1998 ; ISO, 1998 ; Miller et al, 2000**).

Le but d'un bioessai est d'évaluer des réponses biologiques chez des organismes soumis à différents xénobiotiques. La présente étude consiste à évaluer la toxicité potentielle des métaux lourds (cadmium, cuivre, plomb, zinc) sur le développement embryonnaire chez *P. lividus*, vu la sensibilité des différents stades de développement chez cet organisme marin couramment utilisé en écotoxicité marine (**Miller et al, 2000 ; Geffard, 2001**).

Les gamètes de l'oursin commun *P. lividus* ont été utilisés pour les différents tests présentés dans cette étude, vu que les œufs de cet Echinide peuvent être fécondés facilement, les phénomènes reliés à la fécondation peuvent être suivis clairement (élévation de la membrane de fécondation) et le développement est rapide (stade *Plutéus* en 3 jours) (**Delalande, 1999**). La transparence des embryons permet de faire une observation microscopique du développement.

2. Choix de la station d'étude :

Notre choix s'est porté sur un site d'étude dit de référence situé à quelques mètres d'Ain Franin, sur la côte ouest algérienne ; Il se trouve implanté entre les deux caps formant la grande baie d'Oran, Cap Ferrat au nord et le cap Falcon sud-est et à 28 Km de Kristel (coordonnée géographique: 35°46'52,06"N 0°30'48,86" O), considéré comme une zone non impactée car l'action anthropique est très peu marquée (**Hebbar, 2005 ; Benghali, 2006**) (**Figure 16**).

Topographiquement, cette zone est dotée d'une façade maritime exposée vers le Sud-Est, lui donnant une bonne position géographique, cet emplacement côtier est constitué de criques et de plages à sable fin (Sidi Moussa et Tamda).

Ainsi qu'un petit port très pittoresque, où on y pratique d'une manière artisanale la pêche.

Kristel demeure un site dans la nature sauvage, il a été entretenu en raison de l'absence totale d'activités industrielles pouvant rejeter leurs déchets à la mer, ce qui donne à nos échantillons plus de qualité par leur éloignement de toute source de pollution (**Taleb et al, 2007**).



Figure 16: Localisation du site de prélèvement (Ain Franine-Kristel)
(in Dermeche 2010)

3. Méthode d'échantillonnage :

3.1. Prélèvement :

La collecte des individus d'oursins s'est faite de Février 2010 jusqu'au mois de Mai 2010 au niveau de notre site d'étude (1 prélèvement en février, 2 prélèvements en mars, 2 prélèvements en avril et enfin 2 prélèvements en mai) et ramenés en surface dans une glacière remplis d'eau de mer à la profondeur de la récolte pour éviter tout choc osmotique (**Figure17**).

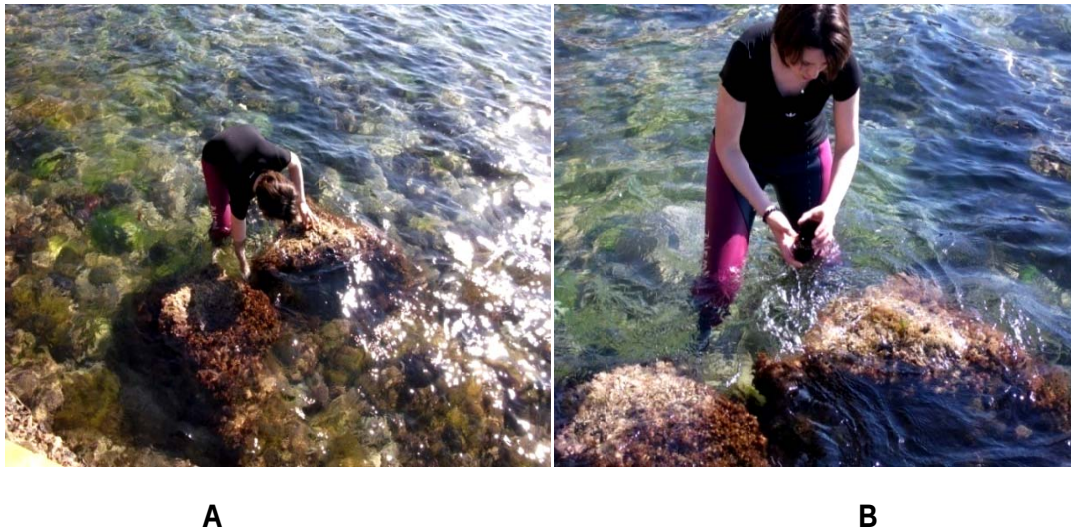


Figure 17 : Récolte des spécimens d'oursins

3. 2. Traitement au laboratoire :

Au laboratoire *LRSE* un tri des spécimens est réalisé, et l'eau de mer utilisée lors du Bioessai provient du même site d'échantillonnage.

Lors de ces tests biologiques, seuls les individus mûrs sont concernés et l'expérimentation se déroule en deux parties :

3.2.1. Frai et fertilisation :

L'eau de mer est filtrée à l'aide d'un système de filtration à pompe péristaltique en utilisant un filtre millipore $0,45\mu\text{m}$ afin d'éliminer les débris et les microorganismes(EMF). Puis la ponte est induite par injection de 0,5 ml d'une solution de KCl à 0,5M dans la cavité coelomique (**Harvey, 1940**) (**Figure 18**).



Figure 18: Injection du KCL

A l'aide d'une pipette automatique, les produits sexuels mâles (liquides blanchâtres au niveau des pores génitaux) sont récupérés « à sec » sans adjonction

d'eau de mer filtrée, et conservés dans des tubes en verre placé dans la glace fondante (garde son pouvoir fécondant pendant plusieurs heures) (**Figure 19**), suite à une vérification de la mobilité des spermatozoïdes au microscope optique, les spermes de plusieurs mâles sont poolé.



Figure 19 : Collecte du sperme d'oursin mâle

Par contre, les femelles sont placées au-dessus d'un erlen de 250 ml en verre contenant de l'EMF, les pores génitaux se trouvant en contact avec la surface de l'eau, de manière à ce que les œufs s'écoulent et décantent peu à peu sur le fond (**Figure20**).



Figure20 : Collecte des gamètes femelles

Après une ponte intense de 30 min, les œufs sont tamisés à 160 μ m pour éliminer les débris et sont recueillis dans une éprouvette de 500 ml dont le volume est ajusté à l'aide d'EMF et homogénéisés à l'aide d'un agitateur en matière

Plexiglas (disque circulaire perforé, monté sur un axe). Ils sont mis à décanter 10 minutes ; puis les 100 premiers ml de la solution d'œufs sont éliminés et remplacés par de l'EMF. Cette opération est renouvelée une seconde fois **(Quiniou et al 1999)**.

Ceci permet d'éliminer les œufs les moins denses, de moins bonne qualité **(Dinnel et al, 1988 ; Guillou et al, 2000)**

3.2.2. Effet des polluants métalliques sur le développement embryonnaire des oursins :

La méthode utilisée pour la réalisation des bioessais est celle de **(Coteur et al 2003)**, les gamètes d'oursin en suspension obtenues selon le protocole de **(Quiniou et al 1999)**.

Il a été procédé de la manière suivante : Une fois les suspensions de gamètes obtenues **(Pagr : 3.2.1)**, on a récupéré séparément les œufs de 03 femelles, et le pool de sperme provenant de 03 mâles dans 2ml d'EMF. Suite à cela une vérification au microscope photonique s'impose pour s'assurer de la bonne qualité des œufs et de la mobilité des spermatozoïdes. Une fécondation est réalisée entre les œufs de chaque femelle et le sperme poolé des 03 mâles dans des béchers correspondant à chaque femelle, contenant 30ml d'EMF.

Chaque bécher contient 1500 à 2000 ovocytes (volume nécessaire) auxquels on additionne 250µl de sperme qui sont homogénéisés, après une heure de contact, on vérifie le succès de la fécondation au hasard sous microscope photonique sur 100 ovocytes (absence de polyspermie, présence de membrane de fécondation).

Une fois la fécondation vérifiée au microscope optique (Carl Zeiss), une plaque de 15 puits de 30 ml est utilisée pour chaque polluant métallique (Cd, Pb), avec 4 concentrations de gradient croissant (10µg/l, 50µg/l, 100µg/l, 200µg/l) plus un témoin pour chaque concentration (blanc-EMF) **(Figure 21)**.

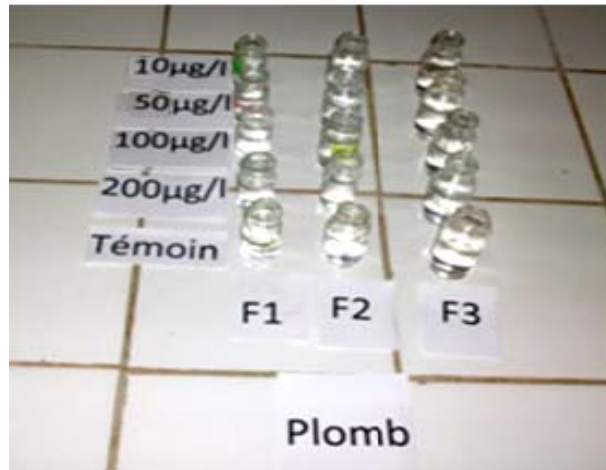


Figure 21: Présentation des puits utilisés pour la réalisation des tests d'embryotoxicité chez *P. lividus*.

Les puits de chaque plaque sont remplis avec 10 ml de chaque concentration, puis des séries de 250-300 embryons, prélevés (de chaque femelle fécondée) sont transférées dans chaque puits et séjourne dans un incubateur pendant 72 H à $21 \pm 1^\circ\text{C}$ (**Figure 22**), à l'issue de cela le développement larvaire est arrêté par adjonction de formol neutre (35%) soit 100µl (**Figure 23**) et le pourcentage des anomalies est déterminés d'après les critères de (**Klöckner et al/ 1985**) (**Figure 24**) à l'aide des observations au microscope photonique (Carl Zeiss) (**Figure 25**).



Figure 22: Incubation des puits à 21°C



Figure 23: Arrêt de la division cellulaire

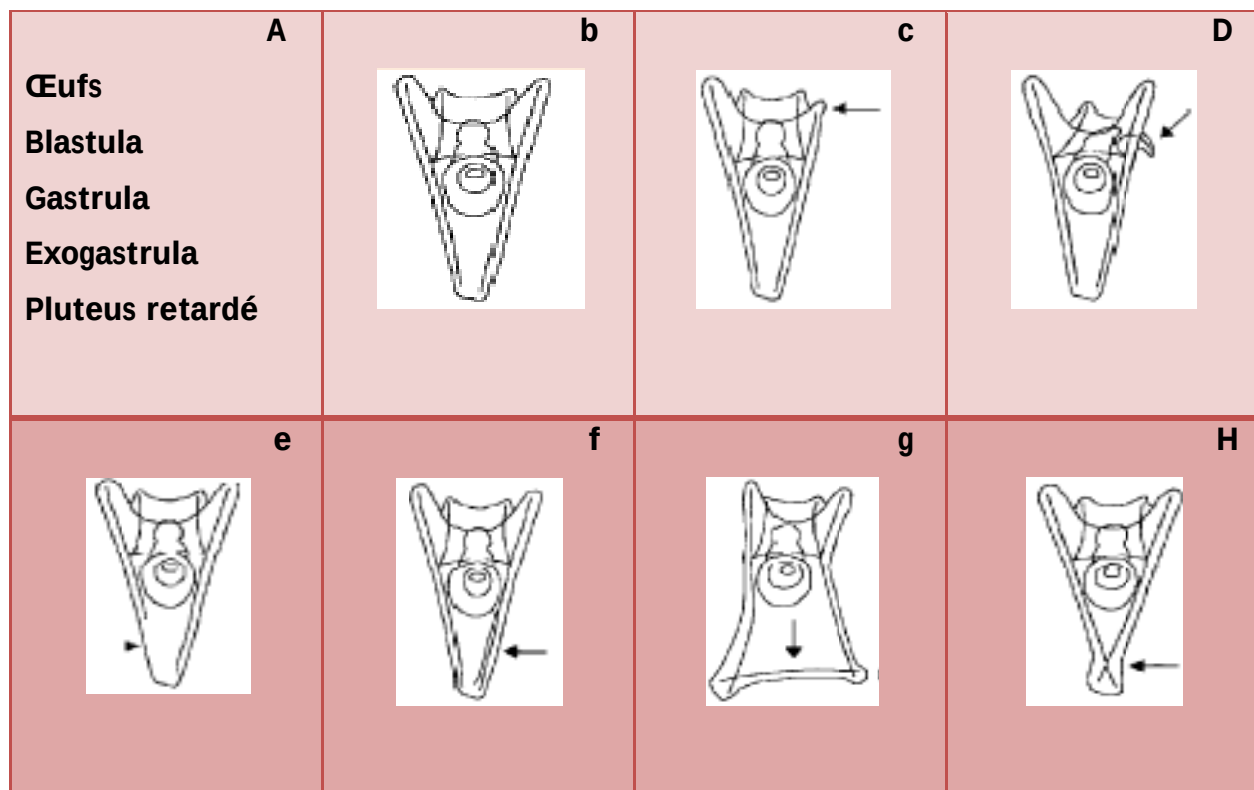


Figure24 : Les différentes anomalies embryonnaires et larvaires chez *P.lividus* (D'après Klöckner et *al.* 1985). A : développements retardés, b : développement normal, c : longueur inégale des baguettes somatiques, d : baguette antérolatérale tordue, e : une baguette somatique plus courte, f : dédoublement d'une baguette somatique, g : surnombre des baguettes somatiques et h : chevauchement des baguettes somatiques.



Figure 25: Observation au microscope photonique (Carl Zeiss) pour le dénombrement des anomalies larvaires.

La transformation du nombre d'œufs malformés se fait en pourcentage. Il peut arriver d'observer une anomalie de développement chez les témoins, et si le pourcentage de ces anomalies excède les 20%, on procède à la correction des malformations dues aux concentrations utilisées par la formule d'**Abbot (1975)**:

$$\% \text{ de mortalités corrigées} = \frac{Po - Pt}{100 - Pt}$$

Po= pourcentage de mortalités observées.

Pt = pourcentage de mortalités chez les témoins.

4. Détermination de la CL50 :

La présentation des résultats obtenus est réalisée à l'aide des tableaux donnant pour les bioessais basés sur la létalité ou anomalies de formations, les pourcentages cumulés de malformations et pour chaque concentration, ainsi, les concentrations létales pourront être obtenues avec précision en utilisant la méthode des probits et ses dérivées (**Bliss, 1935**).

4.1. Méthode de Bliss :

Quelque soit l'organisme, le principe général de ces tests repose sur l'établissement d'une corrélation entre la dose d'exposition et l'effet toxique, représentée sous la forme d'une courbe dose-réponse (**Figure 26**). Dans la pratique différente concentration de polluants sont testées et l'effet (mort d'organismes ;

arrêt de développement ou malformations embryonnaires) est exprimé par rapport à la réponse du contrôle (milieu standard, sans effet).

La toxicité est généralement exprimée de manière synergique en concentration effective (CEX), concentration pour laquelle X% d'effet est observé. On calcule classiquement la *DL50* (*CL50*), concentration effective où l'on observe 50% d'effet (**Gilbin, 2002**).

Le traitement statistique des données expérimentales effectué par la méthode des probits de **Bliss (1935)**, pour les expériences utilisant un nombre réduit d'animaux tests et particulièrement bien adaptés aux recherches menées sur des Invertébrés marins tels que les Mollusques, confirmée par **Amiard (2000)** in **Bendimerad, 2000**.

Cette méthode part de l'hypothèse que, dans la relation « effets-doses », les effets proportionnels aux logarithmes des concentrations sont normalement distribués. La méthode de calcul donnée par **Bliss (1935)**, ayant une variation linéaire des probits de mortalité ou de malformations en fonction des logarithmes de concentrations utilisées, consiste en l'établissement d'une droite de régression de la forme $Y = aX + b$.

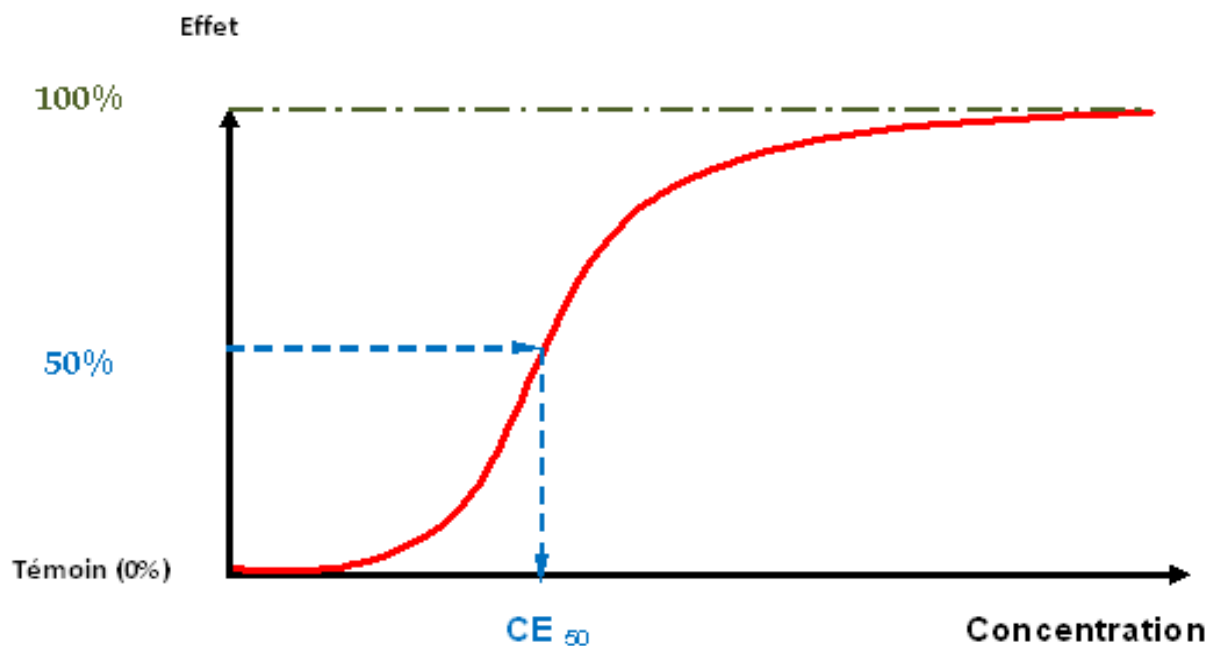


Figure 26: Relation Concentration-Réponse type obtenue lors d'un bioessai
(Gilbin, 2002)

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les systèmes aquatiques continentaux et marins représentent des réceptacles pour la quasi-totalité des contaminants, via les apports directs et indirects (**Peijnenburg et al, 1997**) ; dans ce volet, les recherches sur l'action des métaux lourds sur le développement de l'œuf d'oursin forment une importante contribution aux progrès de nos connaissances dans le domaine de la détermination embryonnaire.

Depuis longtemps, l'oursin est un modèle privilégié pour les recherches sur le développement, de plus la fécondation et la croissance externe des embryons, leur cycle de division cellulaire rapide, ainsi que leur transparence, donne à l'oursin une place dans le domaine de l'écotoxicologie(**Quiniou et al 1997 ; Guillou et al 1993**).

Les biotests permettent d'évaluer les niveaux d'effets des métaux. Ils fournissent une réponse globale par rapport aux différentes espèces chimiques présentes en intégrant les possibles interactions.

Après incubation des ovocytes traités aux différents métaux divalents (Cd,Cu,Pb,Zn) pendant 72h à 20°C, les larves sont fixées au formaldéhyde (35%) et le dénombrement du taux de malformation larvaires est déterminé par un balayage des lames au microscope optique sur 100 œufs soumis à des concentrations progressives de métaux lourds (10µg/l, 50µg/l, 100µg/l, 200µg/l) y compris le témoin pour déterminer la CL_{50} du Cd, Cu, Pb, Zn.

Le nombre d'anomalies aux niveaux du témoin est corrigé par la formule **d'Abbot (1975)**.

Les moyennes des pourcentages des anomalies embryonnaires chez cet Echinide pour chaque concentration de métal utilisé sont illustrées dans le **Tableau5**, dont nous avons effectués 5 répliques pour chaque concentration et chaque métal.

Tableau 5: Moyennes des pourcentages d'anomalies embryonnaires $\pm$ l'écart type chez l'oursin commun *P. lividus* (Ain Franin).

	10 %	50 %	100 %	200 %
Cd	7,31 $\pm$ 1,84	18,26 $\pm$ 2,97	79,32 $\pm$ 15,38	88,00 $\pm$ 14,56
Cu	5 $\pm$ 1,68	12,20 $\pm$ 7,85	22,40 $\pm$ 7,97	40,33 $\pm$ 4,04
Pb	5,93 $\pm$ 1,76	28,93 $\pm$ 4,52	41,91 $\pm$ 4,13	52,66 $\pm$ 24,61
Zn	10,60 $\pm$ 2,70	17 $\pm$ 3,98	36,73 $\pm$ 10,32	40,5 $\pm$ 24,02

Les résultats obtenus sont représentés par des graphes (**Fig 27,28, 29,30**) et des courbes (**Fig 31, 32,33, 34**) On remarque que pour les concentrations de 10 μ g/l et 50 μ g/l elles interviennent de façon mineure dans les anomalies larvaires respectivement ; pour le Pb elle est de 5 à 12,2%, suivi par le Cd avec 7 à 18,26 %, le Zn avec 10,6 à 17% puis le Cu pour un pourcentage de 5,93 à 28,93%.

Par contre à 100 μ g/l, le taux de malformations est presque double ou triple et cela en fonction du métal considéré, ce dernier est de 79,32% pour le Cd, de 41,91% pour le Cu, 22,4% pour le Pb et finalement de 36,73% pour le Zn (**Fig 27,28, 29, 30**).

Ces graphes nous révèlent des résultats préalablement attendus. Plus on augmente la concentration des métaux utilisés plus le pourcentage de malformation est plus important, mais on remarque toute fois que le cadmium marque un pourcentage très élevé (88%) de malformations larvaires chez *P. lividus* à 200 μ g/l (**Fig 27**) que les autres métaux lourds, pour le cuivre : 52,66% (**Fig 28**), le plomb : 40,33% (**Fig 29**), et le zinc avec 40,5% de malformations larvaires (**Fig 30**).

1. Résultats des pourcentages des malformations larvaires chez les embryons de l'oursin *P. lividus* :

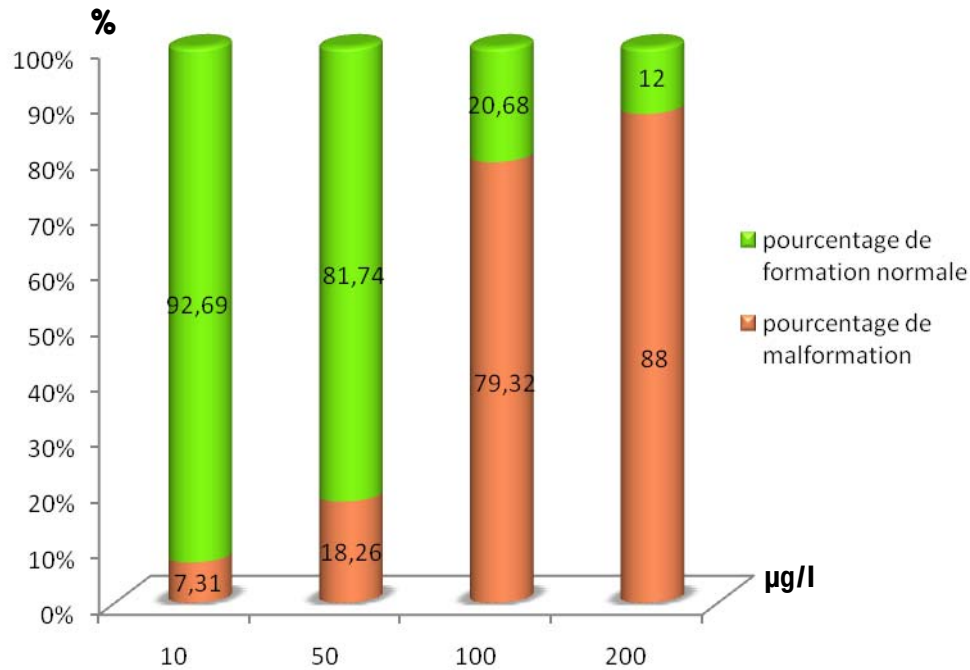


Figure 27: Pourcentage des malformations larvaires en fonction des concentrations du Cadmium

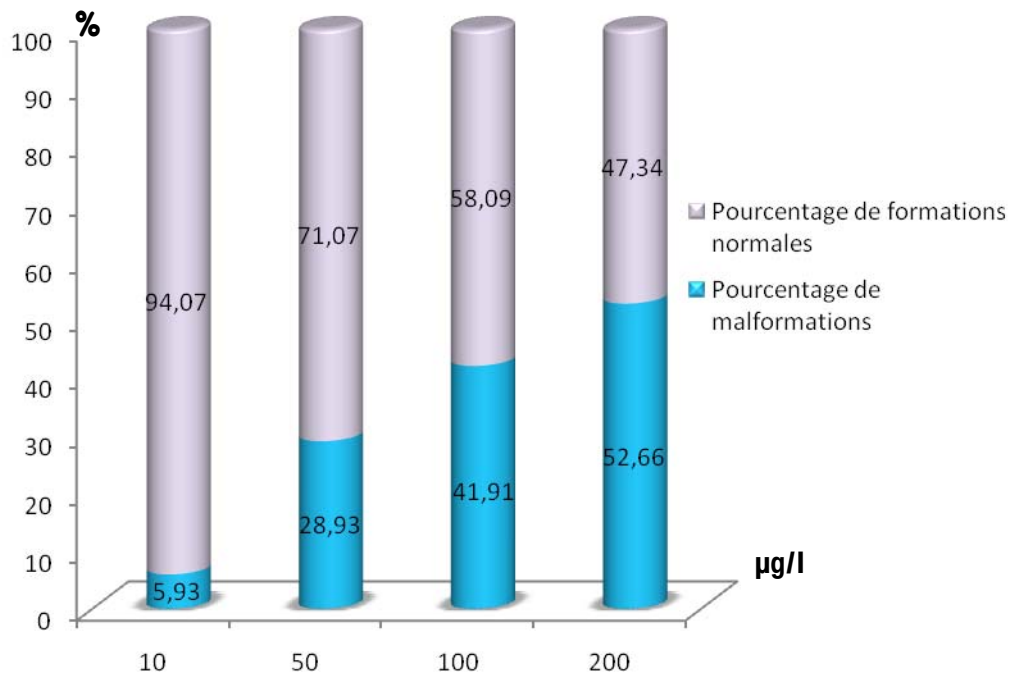


Figure 28: Pourcentage des malformations larvaires en fonction des concentrations du Cuivre

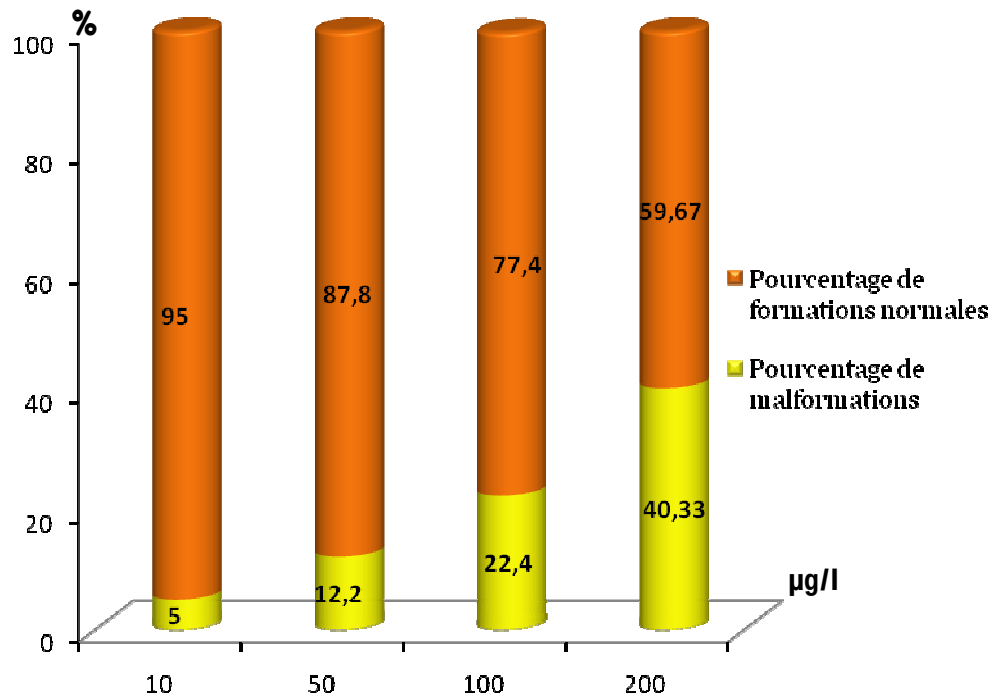


Figure 29: Pourcentage des malformations larvaires en fonction des concentrations du plomb

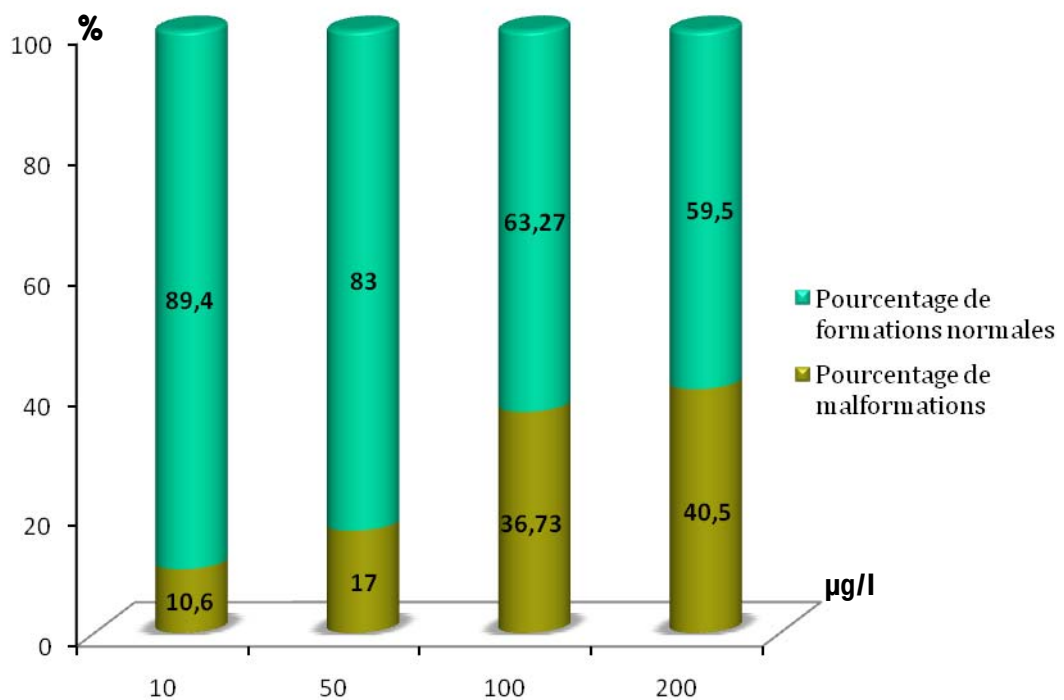


Figure 30: Pourcentage des malformations larvaires en fonction des concentrations du Zinc

D'après nos résultats, dans les échantillons pour lesquels un effet létal est observé, la CL_{50} peut être calculée pour chaque xénobiotique.

Pour pouvoir établir la CL_{50} des quatre métaux toxiques (Cd, Cu, Pb, Zn) cette opération nécessite plusieurs étapes :

2. Établissement des Probits Empiriques :

Le traitement statistique des données expérimentales effectuées par la méthode de Bliss (1935).

Cette méthode part de l'hypothèse que, dans la relation « effets-doses », les effets proportionnels aux logarithmes des concentrations sont normalement distribués.

La méthode de calcul donnée par **Bliss (1935)**, ayant une variation linéaire des probits de mortalité ou de malformation en fonction des logarithmes de concentrations utilisées, consiste en l'établissement d'une droite de régression de la forme **$Y = aX + b$** .

Pour chaque pourcentage de malformations embryonnaires, correspond à une valeur de probits appelée probit empirique lue dans la table de Bliss (**Annexe 1**): c'est la transformation des pourcentages en loi normale réduite (Tableau 6).

Tableau 6: Calcul de la CL_{50} par la méthode de Bliss (1935) chez *P.lividus* en présence de Cadmium

Concentration (µg/l)	% Malformations larvaires	Log [con]	Probit empirique
10	7,31	1	3,5242
50	18,26	1,69	4,0846
100	79,32	2	5,8064
200	88,00	2,3	6,1750

Tableau 7: Calcul de la CL_{50} par la méthode de Bliss (1935) chez *P.lividus* en présence de cuivre

Concentration (µg/l)	% Malformations larvaires	Log [con]	Probit empirique
10	5,93	1	3,4452
50	28,93	1,69	4,3872
100	41,91	2	4,7981
200	52,66	2,3	5,0753

Tableau 8: Calcul de la CL_{50} par la méthode de Bliss (1935) chez *P.lividus* en présence de Plomb

Concentration (µg/l)	% Malformations larvaires	Log [con]	Probit empirique
10	5	1	3,3551
50	12,20	1,69	3,8250
100	22,40	2	4,2278
200	40,33	2,3	4,7467

Tableau 9: Calcul de la CL_{50} par la méthode de Bliss (1935) chez *P.lividus* en présence de Zinc

Concentration (µg/l)	% Malformations larvaires	Log [con]	Probit empirique
10	11,60	1	3,8250
50	17,00	1,69	4,0458
100	36,73	2	4,6681
200	40,5	2,3	4,7467

3. Le tracé de la droite de régression :

On porte sur un graphique les probits empiriques en fonction des concentrations qui permettent d'établir une droite de régression linéaire (**Figures 31,32, 33, 34**).

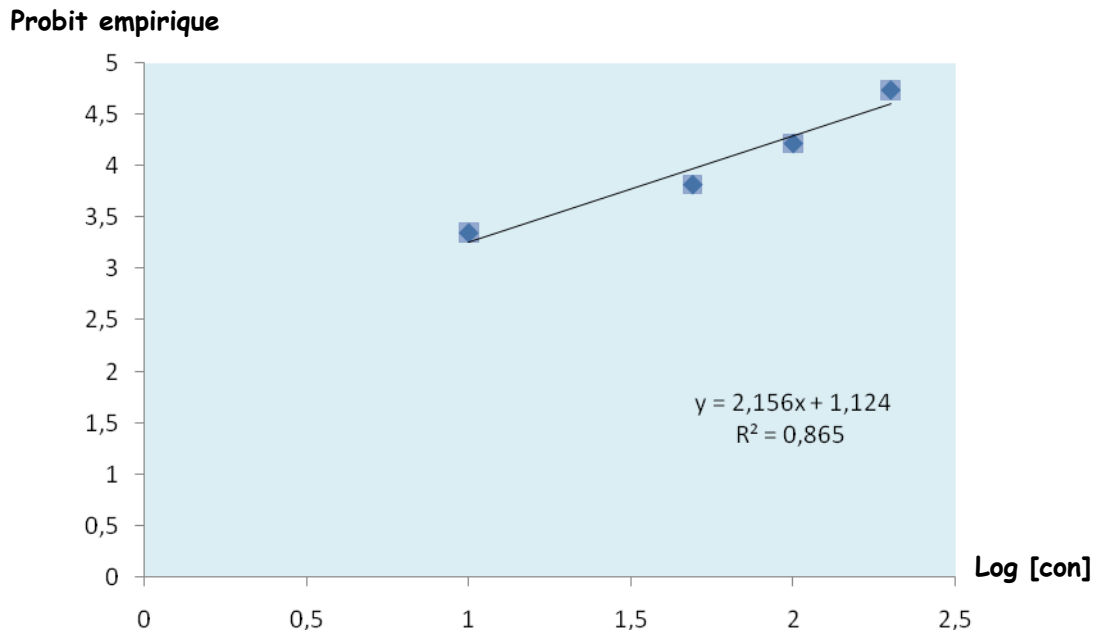


Figure 31: Courbe de régression du Cadmium ($Y = ax + b$)

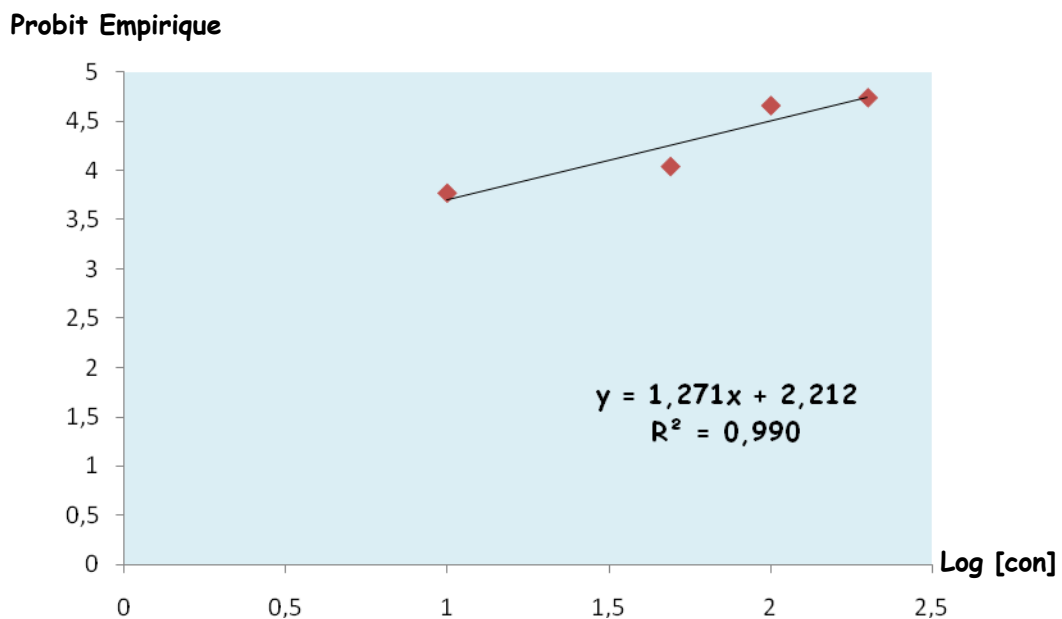


Figure 32: Courbe de régression du Cuivre ($Y = ax + b$)

Probit empirique

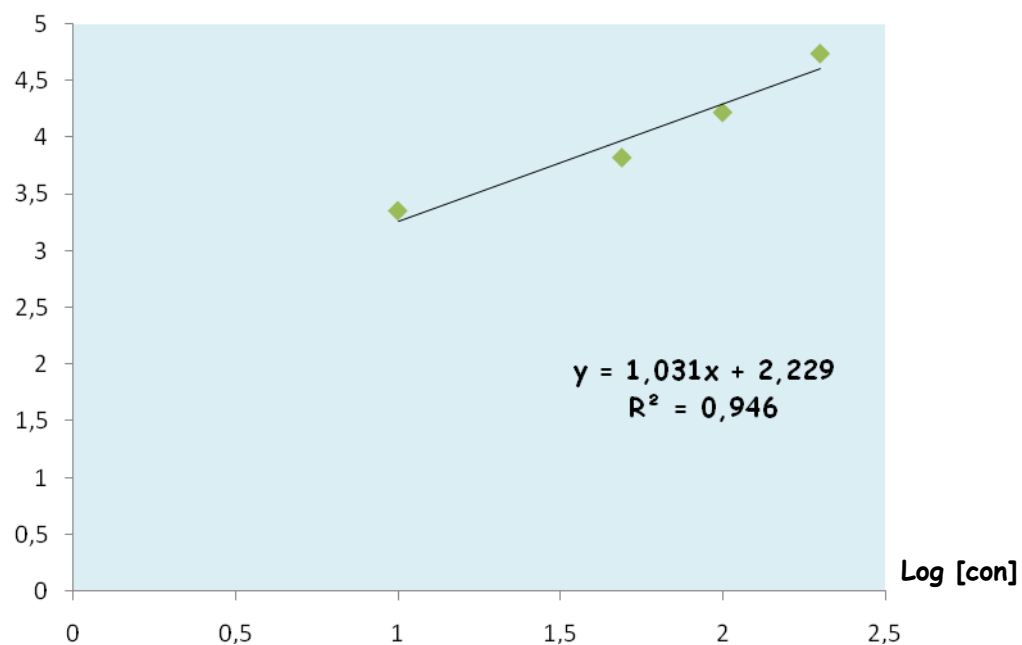


Figure 33: Courbe de régression du Plomb ($y = ax + b$)

Probit empirique

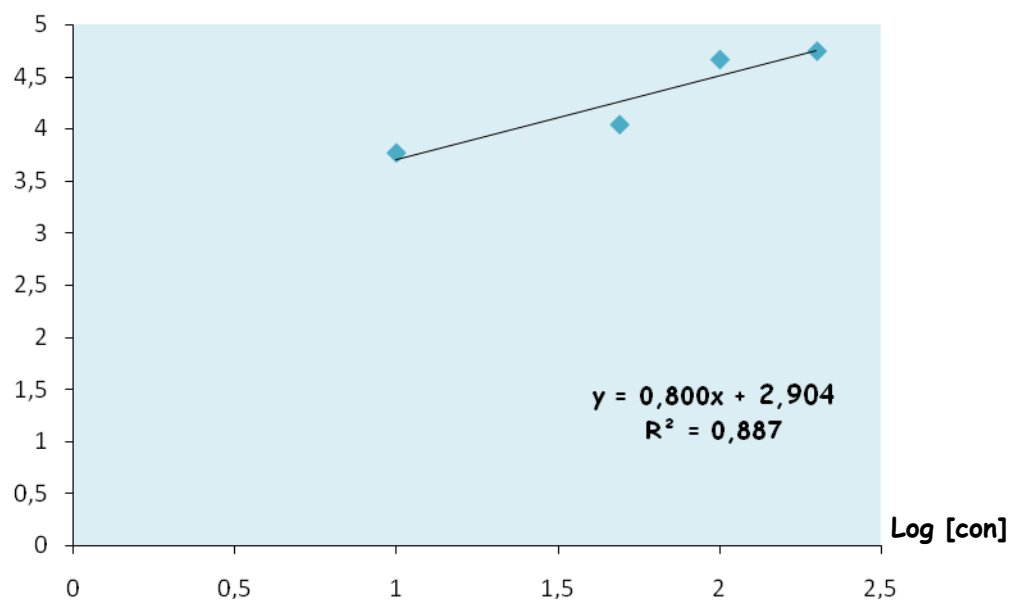


Figure 34: Courbe de régression du Zinc ($y = ax + b$)

4. Calcule des paramètres de la droite de régression linéaire ($Y = aX + b$) :

Pour déterminer le a et le b, on utilise la méthode des moindres carrés (Schwartz, 1983).

La Courbe de régression du Cadmium est de la forme $Y = 2,156 X + 1,156$

La courbe de régression du Cuivre est de la forme $Y = 2,271 X + 2,212$

La courbe de régression du Plomb est de la forme $Y = 1,031 X + 2,229$

La courbe de régression du Zinc est de la forme $Y = 0,800 X + 2,904$

5. Détermination de la CL_{50} :

Pour 50% de malformations larvaires, $Y=5$ (d'après la table de Bliss)

➤ Le Cadmium :

$$Y = 2,156X + 1,156$$

$$X = \text{Log } CL_{50} = 1,79$$

$$CL_{50} = 61,65 \mu\text{g/l}$$

➤ Le Cuivre :

$$Y = 1,271X + 2,212$$

$$X = \text{Log } CL_{50} = 2,19$$

$$CL_{50} = 158,48 \mu\text{g/l}$$

➤ Le Plomb :

$$Y = 1,031X + 2,229$$

$$X = \text{Log } CL_{50} = 2,68$$

$$CL_{50} = 446,68 \mu\text{g/l}$$

➤ Le Zinc :

$$Y = 0,80X + 2,904$$

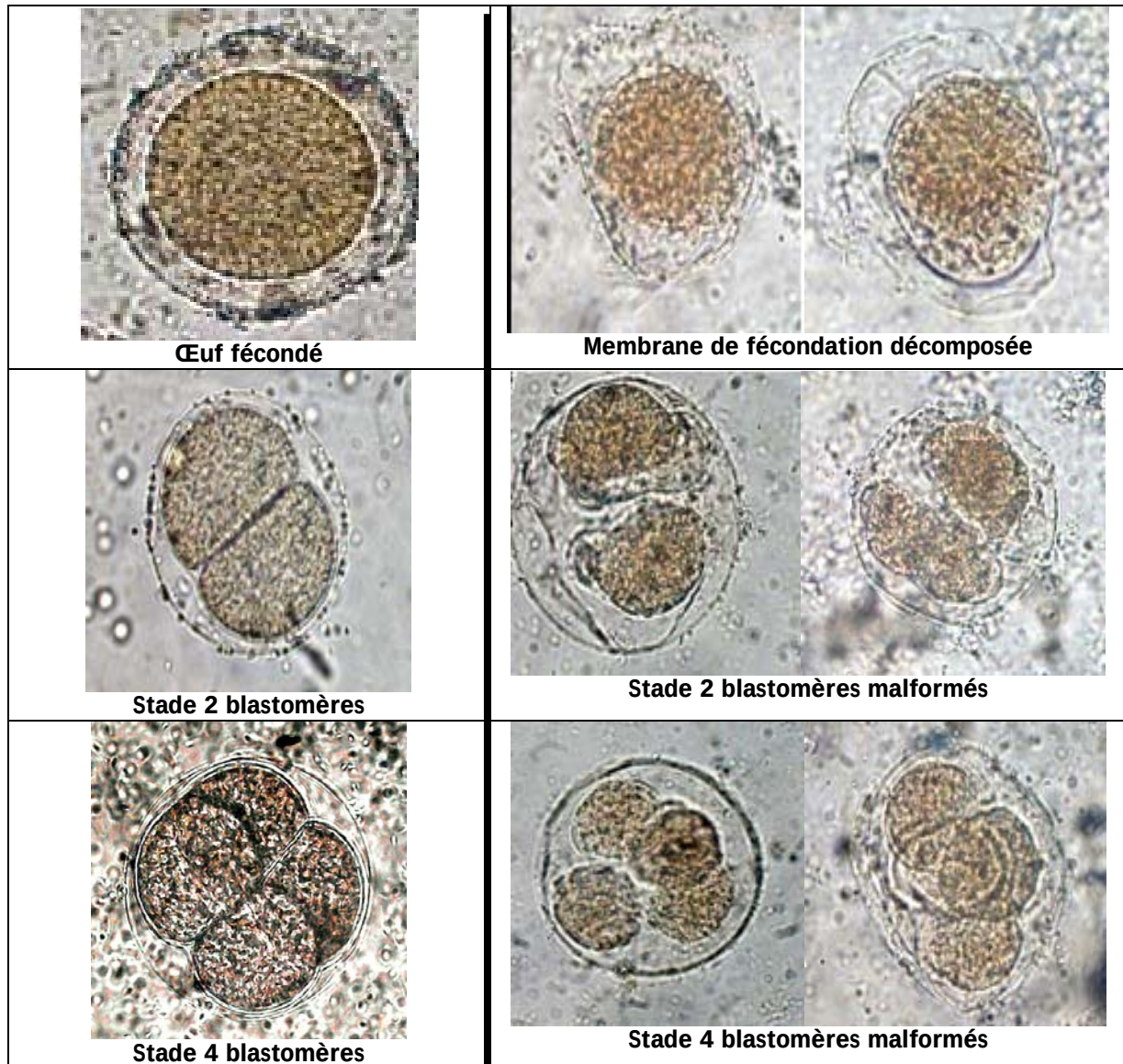
$$X = \text{Log } CL_{50} = 2,62$$

$$CL_{50} = 389,04 \mu\text{g/l}$$

La concentration létale de 50% d'atteinte de malformations larvaires est plus considérable chez le plomb que les 3 autres métaux (Cd, Cu, Zn).

(Cd) 61,65 µg/l < (Cu) 158,48µg/l < (Zn) 389,04µg/l < (Pb) 446,68µg/l.

Les effets des métaux lourds étudiés à différentes concentrations sur l'Echinide *P. lividus* marquent des malformations et des arrêts de développement et de division à tous les stades (de l'œuf au *Pluteus*) (**Figure 35**).



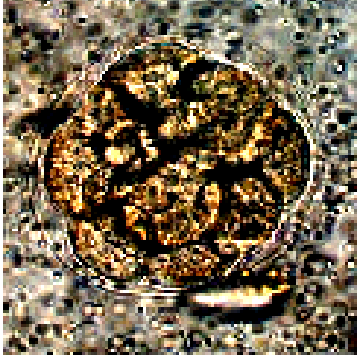
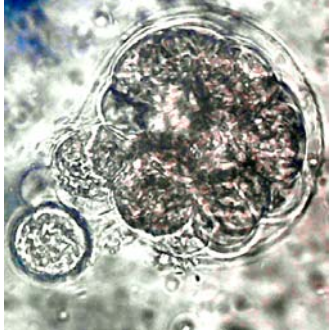
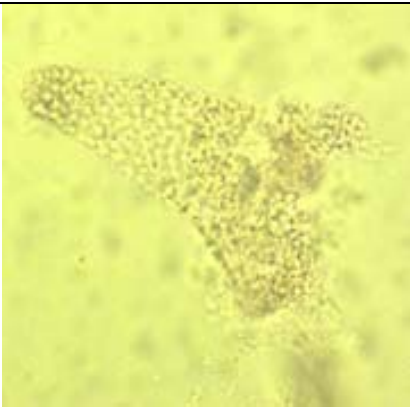
 Stade 16 blastomères	 Stade 16 blastomères (membrane déchiquetée)
 Stade blastula	 Stade blastula (Arrêt)
 Prisme	 Prisme malformé
 Plutéus	 Plutéus désintégré
A	B

Figure 35: Observation microscopique du développement embryonnaire normale (A) et des malformations et arrêts à différents stades (B) chez *P. lividus* (x400).

Le traitement des ovocytes à différentes concentrations des xénobiotiques utilisés (Cd, Cu, Pb, Zn) ne font que confirmer l'effet néfaste de ces derniers sur les populations d'oursins commun *P. lividus*.

Ceci est mis en évidence par des observations microscopiques, et interprété par des arrêts du développement embryonnaire à différents stades (un arrêt au stade 2 blastomères de la division cellulaire, plusieurs arrêts au stade gastrula) ainsi que des malformations au stade 4 blastomères, désintégration de la membrane de fécondation au stade morula et blastula ainsi qu'un pluteus malformé (**Figure 35**).

Les droites linéaires régressives montrent une corrélation significativement positive ($r = 0,86$; $0,88$; $0,94$ et $0,99$. $P < 0,05$) des concentrations des métaux lourds en fonction des pourcentages de malformations des œufs de *P. lividus* (**Figures 31, 32, 33, 34**).

De nombreux auteurs utilisent le zinc et le cuivre pour déterminer les CL_{50} tout en utilisant les larves de l'oursin livide. Selon **Hall et Golding, 1998; Volpi Ghirardini, 2005** une faible concentration de $30 \mu\text{g/l}$ de cuivre permet d'observer un effet négligeable sur la croissance alors qu'il faut une concentration de $50 \mu\text{g}$ de Cu/l pour observer les premières malformations de larves. Ces résultats sont conformes à ceux qu'obtiennent **His et al, 1999** qui montrent des malformations pour $60 \mu\text{g}$ de Cu/l. Une toxicité à $40 \mu\text{g}$ de Cu/l pour les larves de *P. lividus* (EC_{50-72h} : $60 \mu\text{g/l}$) proche de celle de (**Manzo, 2008**), avec un EC_{50-72h} de $46 \mu\text{g}$ de Cu/l ; pour notre étude on obtient un pourcentage de 28,93 de malformation

larvaire pour une concentration de 50 µg/l un résultat qui reste conforme avec les résultats obtenus par différents auteurs.

Bougis et Corre (1974) suggèrent que l'effet du cuivre est variable en fonction de la qualité des géniteurs. Cela expliquerait les différences parfois assez importantes obtenues entre différents auteurs. Il est probable que des gamètes de moindre qualité soient plus sensibles à un agent toxique. Bien que les échinodermes soient capables d'éliminer les contaminants accumulés, le temps de résidence dans l'organisme varie lui aussi en fonction du métal (**Warnau et al, 1997**) et le mode de contamination principale semble dépendre du métal considéré (**Mannaerts, 2007**).

La standardisation d'une méthode passe donc impérativement par la standardisation du conditionnement des géniteurs. D'autre part, la relative augmentation de taille des larves avec une concentration de 10 µg de Cu/l peut être la résultante de l'effet Arndt-Schulz décrit par **Pagano et Romana (1991)** sous l'appellation d'« hormèse » par lequel de faibles concentrations en agent toxique provoquent une augmentation de la croissance.

Selon les travaux de **Pétinay (2010)** ainsi que **Chataigner et Basuyaux (2009)**, les larves se développent jusqu'à une concentration en cuivre de 90 µg/l mais des malformations apparaissent dès 50 µg/l. Le cuivre entraîne une diminution de la croissance significative à partir de 30 µg/l avec des larves dont les spicules atteignent 464 ± 7 µm par rapport à 495 ± 9 µm.

Bielmyer, Brix, Capo et Grosell en 2005 remarquent que des anomalies dans le développement larvaire et surtout les arrêts au stade *pluteus* se manifestées aux concentrations de: 40 et 80 µg/l de cuivre.

Les travaux de **Geffard (2001)** utilisant différents polluants toxiques tels que HgCl_2 ; TBT et Pb acétate de l'ordre du µg/l révèle qu'une concentration de 10µg/l et 50µg/l de Pb, les pourcentages d'anomalies est de $14,8\% \pm 6,7\%$ et $17,2 \pm 3,9\%$, alors que 100% d'anomalies sont atteintes avec 1200µg/l, la CL_{50} est de $482,0 \pm 101,0\mu\text{g/l}$ chez *P. lividus* (**Tableau 10**). Notre valeur de CL_{50} pour le Pb est de 446,68µg/l, si on compare les deux valeurs on remarque que les deux concentrations létales se rapprochent (446 µg/l).

Plusieurs études ont démontré la sensibilité des embryons d'oursins à des concentrations de métaux lourds allant de 0.01-0.1 mg/l pour le Hg et le Cu, et de 0.1-10 mg/l pour le Cd et Pb (**Waterman, 1937; Kobayashi, 1981; Carr, 1996; Warnau et al., 1996**).

Le Cd provoque 100% d'arrêt de développement du stade *Pluteus* à une concentration de 16,000 µg/l et un arrêt au stade gastrula et blastula à une concentration de 32,000 et 64,000 µg/l respectivement (**Fernandez et Beiras ; 2001**). À 64 µg/l de Cu, le développement embryonnaire est arrêté au stade gastrula et on retrouve que des morulas à 128 µg/l de Cu.

Pour le Hg, le stade *pre-pluteus* et morula ont été signalé à 16 et 32 µg/l respectivement, et à 128 µg/l le développement est arrêté après la première division cellulaire, similaire au Pb à 500 µg/l les embryons se développent jusqu'au stade pré-pluteus, alors qu'au 1000 µg/l ils retrouvent que le stade gastrula (**Fernandez et Beiras ; 2001**).

Les effets toxiques du zinc sur le développement larvaire des oursins est comme suit: la concentration la plus élevée utilisée est de 480µg/l inhibe complètement le développement embryonnaire des oursins, à des concentrations inférieure (7.2 µg/l), aucun effet inhibiteur n'a été observé au premier clivage ni à la formation du stade *plutés*. Une *exogastrula* et une *apollo-like gastrula* ont été observé à des concentrations allant de 14 à 58µg/l.

Des concentrations plus importantes (120- 240 µg/l), le développement embryonnaire ainsi que l'élévation de la membrane de fécondation ont manifesté des signes de retard, arrêt et même des malformations ; ainsi que des polyspermies, des blastulas permanentes, ou bien des *exogastrula* (**Kobayashi et Okamura ; 2005**).

Les autres métaux connus pour causer des *exogastrulations* chez les échinoids sont : selenite de sodium (**Rulon, 1952**), cobaltous chloride (**Rulon, 1956; Kobayashi, 1990**), chloride du zinc ou acetate (**Timourian, 1968; Murakami et al., 1976; Mitsunaga et Yasumasu, 1984; Kobayashi, 1990**), nickel chloride (**Timourian et Watchmaker, 1970; Kobayashi, 1971, 1990**), acetate de mercure ou le chloride (**Murakami et al., 1976; Vaschenko et al., 1994**), le chromium

trivalent (**Pagano et al., 1983**), et le chlorure de manganèse (**Kobayashi, 1971, 1990**).

Les malformations squelettiques des *pluteus* d'oursins sont causées par le Zinc selon **Lallier (1955) et Timourian (1968)**, par contre le retard du développement squelettique est toujours causé par le cadmium et le cobalt (**Kobayashi, 1990 ; Mannaerts, 2007**).

King et Riddle en 2001 ; montrent que l'exposition des embryons de l'oursin *Sterechinus neumayeri* au cuivre à différentes concentrations causent des dommages significatifs au développement de ces derniers à différents stades et surtout au stade Blastula ; des anomalies importantes ont été observées à une concentration de 5µg/l et à une concentration de 4µg/l. Une mortalité importante des embryons a été estimée à une concentration de 16µg/l, et des anomalies ont été observées à une concentration de 32µg/l ; une concentration du cuivre de 11,4µg/l cause 50% d'anomalies du développement après 6 à 8 jours d'exposition.

Les travaux de **Radenac (2001)** concernant le Cu donnent 36,9% de malformations larvaires pour une concentration de 50µg/L, ce qui se rapproche des résultats obtenus lors de cette étude qui est de 28,93% pour la même concentration, alors que pour 100µg/l ce taux est de 99,8% ce qui dépasse de loin nos résultats estimés à 41,91% ; les 100% de malformations larvaires sont obtenus à 250µg/l tandis que notre étude révèle 52,66% à une concentration de 200µg/l. Pour le Pb il obtient une majorité de malformations larvaires à 250µg/l (96,6%) par contre dans notre étude à 200µg/l on obtient 40,33% de malformations. Concernant le Zn, nos résultats sont de 17% de malformations larvaires à une concentration de 50µg/l ; des résultats plutôt cohérent avec ceux de **Redenac(2001)** qui obtient 26,4% à la même concentration.

Les résultats de **Dermeche (2010)** travaillant sur la même espèce d'oursin fréquentant la même côte méditerranéenne et Concernant le Pb et le Cd uniquement révèlent qu'à une concentration 10µg/l le pourcentage d'anomalies larvaires est de $8,33 \pm 0,47\%$ pour le Cd et de $10,66 \pm 0,47\%$ pour le Pb, alors qu'à une concentration de 200µg/l ce pourcentage passe respectivement à $82,33 \pm 0,94\%$ et $40,67 \pm 0,94$ et que la CL_{50} est 69,18µg/l pour le cadmium et de

436,51µg/l pour le plomb . Nos valeurs concernant les CL_{50} sont de l'ordre de 61,65 µg/l pour le Cd et 446,68 µg/l pour le Pb, nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par **Dermeche 2010 (Tableau 10)**.

Tableau 10 : Toxicité (CL_{50}) des métaux lourds (Cadmium, Cuivre, Plomb, Zinc) de différentes espèces d'oursins méditerranéen.

Espèces	Métaux lourds				Références
	Cu	Cd	Pb	Zn	
<i>Paracentrotus lividus</i>	<32µg/l	>11mg/l	----	----	Pagano et al 1986
	----	----	----	>33µg/l	Ramachandra et al ; 1997
	----	----	0,21-0,26mg/l	----	Warnau et Pagano ; 1994
	----	----	482,68 µg/l	----	Geffard, 2001
	----	69,18 µg/l	436,51 µg/l	----	Dermeche, 2010
	158,48µg/l	61,65 µg/l	446,68 µg/l	389,04µg/l	Présente étude
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	6,3 µg/l	----	<9,7 mg/l	----	Dinnel, 1990
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	----	0,5 mg/l	----	23 µg/l	Ramachandra et al ; 1997
<i>Strongylocentrotus intermedius</i>	----	0,5-2,5 mg/l	----	----	Gnezdilova et al , 1985
<i>Arbacia lixula</i>	----	----	----	10-100µg/l	Castagna et al ; 1981

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Pour gérer rationnellement et maîtriser la pollution métallique des eaux, il faut arriver à étudier tout ce qui concerne les apports (charges), la distribution et le sort des contaminants, y compris les métaux lourds d'origine terrestre qui se déversent dans les écosystèmes aquatiques. Il faut en particulier en étudier les qualités et les caractéristiques qualitatives, ainsi que les itinéraires qu'ils empruntent quant ils se dispersent, leur destinée et leurs effets sur le biote **(Biney et al ; 2001)**.

C'est dans ce volet que se tourne notre travail dont l'objectif est la mise en évidence de la toxicité des métaux lourds qui constituent un danger pour les organismes benthique.

Entre les différents stades de développement chez *P. lividus*, les embryons et les larves se sont révélés les plus sensibles et les mieux adaptés (développement embryonnaire rapide) pour étudier la toxicité des métaux lourds. Ils peuvent être utilisés lors d'un test à court (embryotoxicité) et à long terme (croissance larvaire).

Ce travail a pu montrer que le test d'embryotoxicité chez *P. lividus* permet d'évaluer le danger que représentent les métaux lourds vis à vis des organismes benthiques. Les anomalies larvaires observées sont corrélées au niveau de l'espèce elle-même (définie selon **Long et al., 1995**).

Les gamètes, les œufs, la fécondation, le développement embryonnaire et les phases larvaires du cycle des Echinodermes offrent un champ d'investigation intéressant grâce à leur extrême sensibilité aux métaux ; ce qui permet de les utiliser comme tests biologiques de toxicité **(Bougis., 1965, Bougis et al, 1979, Pagano et al, 1982)**.

Les informations rapportées par cette approche montrent bien que les réponses données sont indicatrices d'embryotoxicité. L'utilisation de la période de ponte de l'oursin commun a permis de déterminer la CL_{50} pour les quatre xénobiotiques qui est 61,65 pour le cadmium, de 158,48 pour le cuivre, de 389,04 µg/l pour le plomb et 446,68µg/l pour le zinc.

Cet Echinide remplit bien les caractères d'une bonne espèce indicatrice, accumulatrice et bioindicatrice de l'état de santé du milieu.

Le cadmium, le cuivre, le plomb et le zinc sont considérés parmi les éléments les plus toxiques, et non dégradables, ayant une demi-vie biologique très longue (16 à 33 ans) qui se traduit par une accumulation dans les organes (**Guthrie et Perry, 1980**).

Il est donc urgent d'envisager des recherches plus poussées et une stratégie scientifique adéquate qui aura comme résultante la prise en charge des questions relatives aux sources polluantes nocives. Le suivi de la contamination côtière par les métaux, au moyen de l'échinoderme *P. lividus*, est de pratique courante dans le programme de surveillance du LRSE (Université d'Oran), cela nous permet une de faire des recommandations pour des études complémentaires.

Pour cela, il faut :

- Voir l'impact du poids de l'organisme sur le processus de bioaccumulation et la mise en évidence de la relation métal/poids.

- Étude de l'interaction entre les contaminants et les barrières biologiques et de la bioaccumulation à travers les chaînes trophiques.

- Une approche basée sur la résistance et la bioaccumulation de certains polluants afin de déterminer un modèle de cinétique d'accumulation telle que la mise en évidence du mode d'action de toxines vis-à-vis de certains enzymes intervenant dans les processus de détoxications des métaux lourds (cas de la Métallothioneïne).

- Le comportement des métaux lourds (synergie, antagonisme) vis-à-vis des divers facteurs physico-chimiques (pH, salinité, température,) et biologiques (niveau trophique, état sexuel,...).

- Des biotests sur l'ensemble des organismes des écosystèmes naturels (**Cairns et Pratt , 1989**), ne se limitant plus à une numération cellulaire ou au suivi de la viabilité, mais peuvent donner, d'une part ,des informations précises d'effet sur les activités enzymatiques, respiratoires, photosynthétiques, l'intégrité des cellules, d'autre part, ils donnent une réponse globale par rapport aux différentes espèces chimiques présentes dans l'échantillon et à leurs interactions (effets additifs - synergie - antagonisme (**Stauber et Davies 2000**)).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-A-

- **Abbot W.S., 1975-** A method of computing effectiveness of insecticid .*J.Econ.Entomol.* 18: 265-267.
- **Addaneggaz, H., 2008** - Contribution à l'étude préliminaire de l'évolution des indices physiologiques (IR-IG) de deux classes de taille de l'oursin commun *P.lividus* de la région de Mostaganem. *Mémoire D.E.S. Dépt. De Biologie, Faculté des Sciences, Université d'Oran* : 33p.
- **Allain, J.Y., 1975-** Sturcture des populations de *Paracentrotus lividus* (Lmk) (Echinodermata, Echinoïdea) soumises à la pêche sur les côtes Nord de Bretagne. *Rev. Trav. Inst. Pêches marine.* , Fr., 39,2 : 171-172.
- **Amiard, J. C., 2000-** Confirmation de l'étude statistique utilisée dans le calcul de la mortalité et l'établissement de la CL50 par la method des probits de BLISS. *Nantes, cedex 03, Fax, 08/082000-2p.*
- **Angerer LM, Angerer RC. 2000-** Animal-vegetal axis patterning mechanisms in the early sea urchin embryo. *Dev Biol*; 218: 1-2.
- **Ankley, G.T, Leonard E.M et Mattson V.R. 1994-** Prediction of bioaccumulation of metals from contamination sediments by the oligochacte *Lumbriculus variegates* water Res. 28: 1071- 1076.
- **Aouameur, R., 1990** - Contribution à l'étude de certains métaux lourds dans les sédiments superficiels de la baie d'Alger. *Mémoire d'Ingénieur d'Etat, I.S.M.A.L (Alger)* : 62 p.
- **ASTM. 1992 (American Society for Testing and Materials).**-Standard guide for Conducting 10-Day Static Sediment Toxicity Tests with Marine and Estuarine Amphipods. E-1367-92.
- **ATSDR. 1990 (Agency for toxic substances and disease registry)** -Toxicological profiles for copper., department of Health and Human Services, Public Health Services Atlanta, GA: US.
- **Aubert M, Revillon P, Breithmyer JP, Gauthier M, Aubert J et Flatan G, 1987-** métaux lourds en méditerranée 3e Tome. *Rev. Inter. Océanogr. Méd, Fr* : 28-29-1-371.
- **Azzolina, J.F., 1988** -Contribution à l'étude de la dynamique des populations de l'oursin comestible *Paracentrotus lividus* (Lmk). Croissance, recrutement, mortalité, migration. *Thèse de Doctorat Ecologie, Univ.Aix- Marseille II, Marseille, Fr.*, : 242 p.

-B-

- **Bayed A., Quiniou F., Benhra A, Guillou M., 2005** -The *Pracentrotus lividus* populations from the Northern Moroccan Atlantic Coast: Growth, reproduction and health condition. *J.Mar.Biol.Assoc.U.K.* 85:999-1007.
- **Beaumont, A., et Cassier P., 1978** - Biologie animale des Protozoaires aux Métazoaires Epithélioneuriens tome I 2eme Edition, *Dunod*, Univ, : 447 p.
- **Becker DS, Bilyard GR, Ginn TC. 1990**-Comparaison between sediment bioassays and alterations of benthic macroinvertebrate assemblage at a marine Superfund site: Commencement Bay, Washington. *Environ Toxicol Chem* 9:669-685.
- **Belkhedim., L.2009**- Contribution à l'étude de la biologie de l'oursin régulier *Paracentrotus lividus* (Lmck, 1816) du Port d'Oran et d'Ain franine. *Thèse de Mag.LRSE.Biol.Poll.Mar.Univ.Oran* 99p +annexes.
- **Bendimerad M.E.A., 2000**- Effects de la pollution cadmique sur la population de moules *Mytillus galloprovincialis* (Lamarck, 1816). -Notion de Bioessai- *Thèse de Mag.LRSE.Biol.Poll.Mar.Univ.Oran* 116p +annexes.
- **Benghali. S, 2006** - Biosurveillance de la pollution marine de la côte occidentale algérienne par la mesure de l'activité de acétylcholinestérase chez la moule *Mytilus galloprovincialis*, l'oursin *Paracentrotus lividus* et la *Patella caerulea*, *Mémoire de Mag, Sci. Env. Univ. Oran*, 83p.
- **Benguedda -Rahal, W., 1993**- Contribution à l'étude de quelques polluants métalliques chez la moule *Perna kerna* et le rouget *Mullus surmuletus* (L) dans la partie occidentala du golfe d'Arzew. *Thèse de Magister en Océanologie Biologie*, ISMAL (Alger) : 152p.
- **Bielmyer, G.K., Brix, K.V., Capo, T.R. and Grosell, M., 2005**- The effects of metals on embryo-larval and adult life stages of the sea urchin, *Diadema antillarum*. *Aquat. Toxicol.* 74, 254-263.
- **Biney, C. et al., 1992**- Etude des métaux lourds présents dans l'environnement aquatique Africain. *FAO Rapp.Pêches*, (471):7-45 et *Ecotoxicol.Environ.Saf.*, 28:134-59 (1994, en Anglais)
- **Biney. C, Amuzu A.T, Calamari. D, Kaba. N, Mbome. I.L, Naeve. H, Ochumba. O, Osibanjo. O, Radegonde. V et Saad. M.A.H., 2001**- Étude des métaux lourds dans l'environnement aquatique africain, P2.
- **Bliss C.I., 1935**- The calculation of the dosage mortality culve.*Ann.Appli.Biol.* 22: 134-167.

- **Borchardt, T. 1985** - Relation ship between carbon and cadmium uptake in *Mytilus edulis*. *Mar. Biol* **85**: 233-244.
- **Borgmann.V., 2000**- Methods for assessing the toxicological significance of metals in aquatic ecosystems: bio-accumulation- toxicity relation ship, water concentration and sediment spiking approaches. *Aquat. Ecos. Health Manaj.* 3, 277-289.
- **Borgmann.V, Norwood W.P, Reynoldson T.B, 2001** - Identifying cause in sediment assessments: bioavailability and the sediment quality Triad. *Can J Fish Aquat Sci* 58: 950-600.
- **Bouderbala, M., 1997**- Etat de la pollution marine par les métaux lourds et son impact sur les Cétacés dabs le bassin algérien. Thèse de Magister, ISN, Univ.Oran : 147p.
- **Boue, H et Chanton, R., 1978** -Zoologie I, 2, Invertébrés .Edit.Doin, Paris, 713p
- **Bougis P., 1956**- Sur l'effet biologique du cuivre en eau de mer, C. R. Acad. Sci. Paris 249-326.
- **Bougis, P., 1965**- Effet du Cuivre sur la croissance de plutéus d'oursin (*P.lividus*) *C.R.Acad.Scand.Sci.Paris*, 260: 2929-2931.
- **Bougis P., Corre M.-C, 1974**- Sur une variation de la sensibilité au cuivre des larves de l'oursin *Paracentrotus lividus*, C. R. Acad. Sci. Paris Sér. D 279 ; 1301-1303.
- **Bougis, P., Corre, M.C., Etienne, M., 1979**- Sea urchin as a tool for assessment of the quality of sea water. *Ann. Inst. Oceanogr.* Paris 55, 21-26.
- **Bourdial. I., 1988**- Le SOS de la Baleine Blanche. Science et vie. Déc. 855 : 80- 83.
- **Boutiba, Z ., Taleb, M.Z, et Abi -Ayed, S .M., 2003** - Etat de la pollution marine de la côte oranaise. Edition: Dar El-Gharb. Oran. 69p.
- **Boutiba, Z., 2007** - Place des pays du Maghreb dans la protection de la Méditerranée *Journal quotidien d'Oran* du 20; 21 août 2007, pp 05-07.
- **Boutron, C. F. et C. C. Patterson 1983**- The occurrence of lead in Antarctic recent snow firns deposited over the last two centuries and prehistoric ice.*Geochim. Cosmochim. Acta.* **47**: 1355-1368.
- **Bowen W.J., Engel D.W., 1996**- Effects of protracted cadmium exposure on gametes of the purple sea urchin, *Arbacia punctulata*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 56, 493±499.
- **Bryan, G.W., 1984**- Pollution due to heavy metals and their compounds. *Mar. Ecol.* 5, 1290- 1331.
- **Burton.J.H. 1992**- Sediment toxicity assessment. (Boca Raton FL: Lewis Publishers).

- **Butcher S., Charlson R., Orians G. 1992-** Global Biogeochemical Cycles. *Internationa*.
- **Butler P.A, Lowe J.I. 1978-** Flowing sea water toxicity tests using oyster (*Crassostrea virginica*).in bioassay Productores for the ocean Disposal Permit Program, EPA-600/9-78-010 /25-27.
- **Byrne, M., 1990** -Annual reproductive cycles of commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* from an exposed intertidal and a sheltered subtidal habitat on west coast of Ireland. *Mar. Biol. Germ.*,104: 275-289.Series. London, Academic Press. 347 p.

-C-

- **Cairns J. et Pratt J. 1989**-The scientific basis of bioassays. In: « *Environmental Bio-assay Techniques Geophysics and their Application* ». Munawar M., Dixon G., Mayfield C. et al. Eds. Dordrecht, Kluwer Academic Pubs. P: 5-20.
- **Campbell.DT .1974-** Downward causation. In Studies in the philosophy of Biology: Reduction and Related Problems, *FJ Ayala and T Dobzhansky (eds)*. (University of California, Press, Berkeley.1974). PP. 179-188.
- **Carr , R.S, Williams J.W, Fragata C.T.B. 1989-**. Development and evaluation of a Novel Marine Sediment Pore Water Toxicity Test with the Polychaete *Dinophilus gyrocilatus*. *Environ Toxicol Chem* 8:533-543.
- **Carr, R.S, Chapman DC, Howard CL, Biedenbach J. 1996-** Sediment Quality Triad assessment survey in Galvestone Bay, Texas system. *Ecotoxicology* .5:1-25.
- **Carr, R.S., Chapman, D.C., 1998.** -Marine and Estuarine toxicity .In, Wells P.G., Lee K., Blaise C., (eds), *Microscale Testing and Aquatic Toxicity Advances, Techniques and Practice*. CRC Press, Boca Raton, 36: 523-537.
- **Chalabi. A, Semroud. R, Grimes. S, 2002-** Plan d'Action Stratégique pour la Conservation de la Diversité Biologique en Région Méditerranéenne ; CAR/ASP PAS BIO ALGERIE RAPPORT NATIONAL. P 91.
- **Chapman. C., Morgan J.D. 1983-** Sédiment bioassays with oyster larvae. *Bull Environ Contam Toxicol* 31 : 438-444.
- **Chapman, P.M., Dexter, R.N. and Long, E.R., 1987-** Synoptic measures of sediments contamination, toxicity and infaunal community composition (the Sediment Quality Triad) in San Francisco Bay. *Marine Ecol. Progr. Ser.* **37**, 75-93.
- **Chataigner. C, Basuyaux. O et Pétinay.S, 2009-** Standardisation du développement larvaire de l'oursin *Paracentrotus lividus* pour l'évaluation de la qualité d'une eau de mer, *Blainville sur mer, France*. Vol. 332, P. 1104-1114.

- **Chiffolleau, J.F., D.Auger, E. Chartier, P. Michel, I. Truquet, A. Ficht, J.L. Gonzalez et L.A. Romana., 2001-** Spatiotemporal changes in Cadmium contamination in the Seine estuary(France). *Estuaries* **24**(6B) : 1029-1040.
 - **Clark, R.B., 2001-** Marine Pollution. Fifth edition. Oxford University Press.
 - **Clarke, M.R., 1996-** Cephalopods as prey. III. Cetaceans. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 351, 1053-1065.
 - **Coffman JA, Davidson EH., 2001-** Oral-aboral axis specification in the sea urchin embryo. I. Axis entrainment by respiratory asymmetry. *Dev Biol*; 230: 18-28.
 - **Connell DW, Chaisuksant Y and Yu J. 1999-** Importance of internal biotic concentrations in risk evaluations with aquatic systems. *Mar Poll Bull* 39: 54-61.
 - **Cossa D et Bombled B. 1992-** étude pilote des apports en contaminants par la seine. Niveaux de contamination, variations saisonnières. *P* (137-149).
 - **Coteur G., Gosselin P., Wantier P., Chambost-Manciet Y., Danis B., Pernet Ph., Warnau M. et Dubois Ph., 2003-**Echinoderms as bioindicators, bioassays and impact assessment tools of sediment-associated metals and PCBs in the North Sea. *Arch.Environ. Contam.Toxicol.*, 45:190-202.
 - **Crapp, G.B. et Willis, M.E., 1975 -**Age détermination of the sea Urchin *Paracentrotus lividus* (Lmk), with notes on the reproductive cycle. *J. exp. Mar. Biol.*
 - **Cröse J, Duloquin L, Lhomond G, Mc Clay DR and Gacge C., 2006-** Frizzled 5/8 is required in secondary mesenchyme cells to initiate archenteron invagination during sea urchin development. 133, 547-57.
 - **Cröse JC and McClay DR., 2010-** Dynamics of the Delta/Notch signaling on endomesoderm segregation in the sea Urchin Embryo Development 137(1); 83-91.
- D-
- **Dance C., 1987-** Patterns of activity of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in the Bay of Port-Cros (Var, France, Mediterranean). *Mar. Ecol.* 8: 131-142.
 - **Dejoux, C., 1988-** La pollution des eaux continentales africaines. Expérience acquise, situation actuelle et perspectives. *Trav.Doc.Inst.Fr.Rech.Sci.Dév.Coop.*, (213): 513p.
 - **Delalande C., 1999 -**La protéine eEF- 1 et le développement précoce de l'oursin *Spaerichinus granularis* Thèse. *Doct. Univ Rennes*.
 - **Dermeche. S., 1998 -** Teneur en métaux lourds (Cd, Pd, Cu, Zn, et Ni) chez l'oursin commun *Paracentrotus lividus* (Lmk) pêché dans le golfe d'Arzew, *Thèse de Magister Univ.Oran*: 132 pp.

- **Dermeche. S., 2010-** Indice physiologique, métaux lourds et bioessais chez l'oursin commun *Paracentrotus lividus* (Lmck, 1816) de la côte oranaise (Algérie Ouest). *Thèse doc. Univ Oran* : 29-37.
- **Dinnel, P.A., Stober, Q.J., 1985.** Methodology and Analysis of Sea Urchin Embryo Bioassays. Fisheries Research Institute, University of Washington, Seattle, WA.
- **Dinnel, P.A., Link, J.M. and Stober, Q.J. 1987-** Improved methodology for a sea urchin sperm cell bioassay for marine waters, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **16**, 23-32.
- **Dinnel. P.A, Pagano G.G, et Oshida P.S., 1988-** A sea urchin test system for marine environmental monitoring. *In*, Burke R.D., Mladenov P.V., Lambeet P., Parsley R.L., (eds), *Echinoderm Biology*, Balkema, Rotterdam, 611-619. *Eco. , Neth.*, 20 : 157-178 pp.
- **Dinnel P.A., 1990-** Summary of toxicity testing with sea urchin and sand dollar embryos. *In*: Chapman GA (ed) Culture and toxicity testing of West Coast marine organisms. *Proceedings of a workshop, February 27-28., Sacramento, CA. US EPA, Newport, OR*, p. 55-62.
- **Dix, T.G., 1970** -Biology of *Erechinus chloroticus* (Echinoidea: Echinodermata) from different localities, 1. General *N.Z Mar. Freshwat. Res.*, 4 (2) , 91-116.
- **Duloquin L, Lhomond G et Gache C., 2007-** Localized VEGF signaling from ectoderm to mesenchyme cells controls morphogenesis of the sea Urchin embryo skeleton development; 134, 2293-302.

-E-

- **Ebert T.A, 1968** -Growth rates of the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus* related to food availability and spine abration. *Ecology.* 49:1075-1091
- **Eisler, R. 1971.** Cadmium poisoning in *Fundulus heteroclitus* (Pisces: Cyprinodontidae) and other marine organisms. *J. Fish. Res. Board Canada* 28:1225-1234.
- **Eisler, R. 1981-** Trace metal concentration in marine organisms. Oxford, Pergamon Press. Bowen, H. J. M. (1966). "Trace elements in biochemistry." Academic Press, Londres: 241.
- **Esposito, A., M. Cipollara, G. Corsale, E. Ragucci, G.G. Gordiano, et G. Pagano., 1986-** The sea Urchin Bioassay in Testing Pollutants, *In: Strategies and Advanced Techniques for Marine Pollution Studies: Mediterranean Sea*, C.S.Giam and J.J.- M. Dou (éd), NATO ASI Series, vol, G9. Springer-Verlag, Berlin p. 447-455.

-F-

- **FAO, 1989.** Food safety regulations applied to fish by major importing countries. *FAO Fish.Circ.*, (825):107p.
- **Fenaux L., 1968** -Maturation des gonades et cycle saisonnier des larves chez *A.lixula*, *P.lividus* et *Psammechinus microtuberculatus* (Echinides) à Villefranche-sur-Mer. *Vie et milieu*, 19(1-A) ,1-52.
- **Fenaux, L., 1969.** Les Echinopluteus de la Méditerranée. *Bull. Inst. Océanogr.* Monaco., 68 (1394) : 1-28.
- **Fenaux L., Hignette M. et Hobaus E., 1980-** Le retour des oursins chauves. *Etudes et sports sous-marins*, Fr., 51 : 45-47.
- **Fernandez.C., 1996-** Croissance et nutrition de l'oursin *Paracentrotus lividus* dans le cadre d'un projet aquacole avec alimentation artificielle. *Thèse. Doct., Oceanol.*, Univ.Corse, Corse, France., 1-200.
- **Fernandez N. et 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. *Departamento de Ecoloxía e Bioloxía Animal, Universidade de Vigo, E-36200, Vigo, Galicia.*
- **Fischer, W., Scheinder, M., et Bauchot, M.L., 1987-** Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. Méditerranée et Mer Noire. Zone de pêche 37. Révision I. Vol.I. Végétaux et Invertébrés. 760p.
- **Flores, Rodriguez J. 1992-** Les métaux toxiques dans les eaux pluviales en milieu urbain: Caractéristiques physico-chimiques. Thèse de doctorat, Sciences et techniques de l'environnement, *Université Paris XII.* 229 pp.
- **Fochtman. P, Raszka. A, Nierzedzka. E; 2000-** The use of conventional bioassays, microbiotests, and some "rapid" methods in the selection of an optimal test battery for the assessment of pesticides toxicity, *vol 15*; p. 376-384.
- **Frogia, C., 1989-** Clam fisheries with hydraulic dredges in the Adriatic Sea. In: *Marine Invertebrate Fisheries: their Assessment and Management*, Ed. J.F. Caddy, Wiley Interscience Publication.

-G-

- **Gaujous, D., 1995-** La pollution des milieux aquatiques 2^{ème} édition.
- **Geffard, O., 2001-**Toxicité potentielle des sédiments marins et estuariens contaminés : Evaluation chimique et biologique, biodisponibilité des contaminants sédimentaires. *Thèse. Doct.Uni BordeauxI.Fra.N°2437.pp328.*

- **GESAMP** (IMO/FAO/UNESCO/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution), **1985**. Review of potentially harmful substances - Cadmium, lead and tin. Rep.Stud.,GESAMP, (22):116p. et UNEP Reg.Seas Rep.Stud., (56):85p.
- **GESAMP** (IMO/FAO/UNESCO/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution), **1988**. Review of potentially harmful substances - Arsenic, mercury and selenium. Rep.Stud.,GESAMP, (28):172p. et UNEP Reg.Seas Rep.Stud., (92):172p.
- **GESAMP** (IMO/FAO/Unesco/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution), **1991**. Review of potentially harmful substances: carcinogens. Rep.Stud.GESAMP, (46):56p.
- **Ghyoot, W. Beeckmann, M. Van den hende, P et Verstraete. W. 1997-** Treatment of low and high strength wast water with a membrane bioreactor, Proc, 94th Event of the European Federation of Bio technology, Part I, Oostende.
- **Gilbin, R 2002** -Caractérisation de l'exposition des écosystèmes aquatiques à, des produits phytosanitaires : spéciation, biodisponibilité et toxicité. *Thèse. Doct.Fac.des Sciences .Univ de Genève.thèse N°3315.pp195.*
- **Gnezdilova, S. M., Khristoforova, N. K., Lipina, I. G. (1985).** Gonadotoxic and embryotoxic effects of cadmium in sea urchins. *Symposia Biological Hungarica* 29: 239- 251.
- **Goldberg, E.D., 1979-** La santé des océans. Paris, Unesco, 188 p.
- **Goldberg, E.D., 1995-** Emerging problems in the coastal zone for the twenty-first century. *Mar. Pollut. Bull.* 31, 152-158.
- **Gonor.J.J.1973** -Reproduction cycles in Oregon populations of the echinoid *Strongylocentrotus purpuratus* (Stompson). Annual gonad growth and ovarian gametogenic cycles .*J.exp.mar.Biol.Ecol.* 12:45-64.
- **Gonzalez, J. L., J. F. Chiffolleau, P. Miramand et B. Thouvenin 1999** - Le cadmium: comportement d'un contaminant métallique en estuaire, Programme scientifique Seine Aval, Editions Ifremer, Plouzané, France: 31.
- **Gosselin, P. et M. Jangoux, 1996-** Induction of metamorphosis in *Paracentrotus lividus* larvae (Echinodermata, Echinoidea). *Oceano. Acta*, 19(3-4):293- 296.
- **Gosselin, P. & M. Jangoux, 1998-** From competent larva to exotrophic juvenile: a morphofunctional study of the perimetamorphic period of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata, Echinoidea). *Zoomorphology*, 118:31-43.
- **Grasse, P, Poisson, R.A. et Tuzet, O., 1970** - Zoologie I. Invertébrés. Edit. Masson, Paris, 935p.

Références bibliographiques

- **Grosjean. F., 2001** -Growth model of the reared sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck,1816) *Thèse PhD.*, U.L.B., Belgique.
 - **Guettaf. M., 1997**- Contribution à l'étude de la variabilité du cycle reproductif (indice gonadique et histologie des gonades) chez *Paracentrotus lividus* (Echinodermata : Echinoidea) en méditerranée Sud Occidentale (Algérie).*Thèse.Doct.Océanol.Univer.d'Aix-Marseille II.France.*, 1-132.
 - **Guettaf, M., Gustavo, A., San Martin, G. H., and Francour, P. 2000.** Interpopulation variability of the reproductive cycle of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in the southwestern Mediterranean. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 80: 899-907.
 - **Guillet, R., 1984**- Einflub des Skibetriebes of vegetation and boden in der alpine stufe. *Liz.arb. geobot. Inst. Univ. Bern*, 110 pp.
 - **Guillou.M. Michel.C. 1993** -Reproduction and growth of *Sphaerechinus granularis* (Echinodermata: Echinoidea) in southern Brittany. *J.mar.Biol.Assoc.U.K.*, 73: 179-193.
 - **Guillou B., Quiniou E., Huart B., and Pagano G., 2000** -Comparaison of embryonic development and metal contamination in several populations of the sea urchin *Sphaerechinus granularis* (Lamarck) exposed to anthropogenic pollution. *Arch.Environ.Contam.Toxicol.* 39:337-344.
 - **Guthrie F.E et Perry J., 1980**-Introduction to environmental toxicology. Black well Scientific publication : 484p.
- H-
- **Hall J.-A., Golding L.A, 1998**- Marine sand dollar embryo (*Fellaster zealandiae*) short-term chronic toxicity test protocol, NIWA Taihoro Nukurangi, MFE80205.
 - **Harmelin.J.C., Bouchon.C., et Hong., J.S., 1981**- Impact de la pollution sur la distribution des échinodermes des substrats durs en Provence (Méditerranée nord occidentale).*Téthys*, 10(1) : 13-36.
 - **Harvey, E.B., 1940** - KCL method. *Biol.Bull.Mar.Biol.Lab.Woods.Hole* 79: 363.
 - **Haynes. D et Johnson. J.E 2000**- Organochlorine, Heavy Metal and Polyaromatic Hydrocarbon Pollutant Concentrations in the Great Barrier Reef (Australia). *Australia*; Vol 41 ; P 267-278.
 - **Hebbar, C., 2005** – Surveillance de la qualité bactériologique des eaux de baignade cas des plages d'Ain Franin et de Kristel .*Mémoire de magister*. Université d'Oran p73.

Références bibliographiques

- **Hertwig, O., Hertwig, R., 1887-** Über den Befruchtungs- und Teilungs-vorgang des tierischen Eies unter dem Einfluss ausserer Agentien. Jena. Zeitsch. N.F. 13:120-241 and 477-510.
 - **His, E., Beiras R. and Seaman, M.N.L. 1999-** The assessment of marine pollution. Bioassays with bivalve embryos and larvae. In A.I. Southward, P.A. Tyler and C.M. Young (eds) *Advances in Marine Biology*, Vol. 37. London: Academic Press.
 - **Horstadius S. 1973-** *Experimental embryology of echinoderms*. London: Clarendon Press.
 - **Hwang H, Fisher SW and Landrum PF 2001-** Identifying body residues of HCBP associated with 10-d mortality and partial life cycle effects in the midge, *Chironomus riparius*. *Aquat Toxicol* 52: 251-267.
 - **Hyman.L.H. 1955** -The Invertebrates. Vol4. *Echinodermata*.Mc Craw-Hill: New-York
- I-
- **IRPTC, 1978-** Data profile for chemicals and the evaluation of their hazards to the environment of the Mediterranean Sea. PNUE, Geneva, Switzerland, 927 p.
 - **ISO 1998 -(International Standards Organisation)** - Qualité de l'eau Essai d'inhibition de la croissance des algues marines avec *Skeletonema costatum* et *Phaeodactylum tricornutum*. NF ENISO 10253 :T90-311, 8p.
- J-
- **Jernelöv, A., 1975.** Heavy metals in the marine environment. Dans Discharges of sewage from sea outfalls, édité par A.L.H. Gameson. Oxford, Pergamon, pp 115-30.
- K-
- **Keats .D.W., Steele.D.H., et South.G.R., 1984-** Depth-dependent reproductive output of the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis* (O.F.Muller), in relation to the nature and availability of food. *J.exp.mar.Biol.Ecol.* 80:77-91
 - **Kempf M., 1962** -Recherche d'écologie comparée sur *Paracentrotus lividus* (Lamarek.) et *Arbacia lixula* (L.).*Rec. Trav.Stnmar.Endoume.Fr.*25 (39).47-116
 - **King .C.K., Riddle.M.J. 2001-** Effects of metal contaminations on the development of the common Antarctic sea urchin *Sterechinus neumayeri* and comparisons of sensitivity with tropical and temperate echinoids, *Australia*, Vol. 215: 143-154.
 - **Klockner, K., Roshental, H., Willfuhr, J., 1985.** Invertebrate bioassay with North Sea water samples: structural effects on embryos and larvae of serpulid oyster and sea urchins. *Helgol. Meeresunters.* 39, 1-19.
 - **Kobayashi, N., 1971.** Fertilized sea urchin eggs as indicator materials for marine pollution bioassay, preliminary experiment. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.* 18, 379-406.

Références bibliographiques

- **Kobayashi, N., 1973.** Studies on the effects of some agents on fertilized sea urchin eggs, as a part of the bases for marine pollution bioassay. Publ. Seto Mar. Biol. Lab. 21 (2), 109-114.
- **Kobayashi, N., Fujinaga, K., 1976.** Synergism of inhibiting actions of heavy metals upon the fertilization and development of sea urchin eggs (in Japanese with English summary). Sci. Eng. Rev. Doshisha Univ. 17, 54-69.
- **Kobayashi, N. 1980-** Comparative sensitivity of various developmental stages of sea urchins to some chemicals. *Mar. Biol.*, 58 : 71-163.
- **Kobayashi, N. 1981-** Comparative toxicity of various chemicals, oil extracts and oil dispersant extracts to Canadian and Japanese sea urchin eggs. *Publications of Seto Marine Biology Laboratory XXVI* (1/3), 123-33.
- **Kobayashi, N., 1984.** Marine ecotoxicological testing with echinoderms. In: Persoone, G., Jaspers, E., Claus, C. (Eds.), *Ecotoxicological Testing for the Marine Environment*, vol. 1. State University Ghent, Bredene, p. 798.
- **Kobayashi, N., 1990-** Marine pollution bioassay by sea urchin eggs, attempt to enhance sensitivity. Publ. Seto. Mar. Biol. Lab. 34, 225-237.
- **Kobayashi, N., 1994-** Application of eggs of the sea urchin, *Diadema setosum* in marine pollution bioassays. Phuket Mar. Biol. Cent. Res. Bull. 59, 91-94.
- **Kobayashi, N., Okamura, H., 2005-** Effects of heavy metals on sea urchin embryo development. Part 2. Interactive toxic effects of heavy metals in synthetic mine effluents. Doshisha University, Karasuma-Imadegawa Kamikyo-ku, Kyoto 602-8580.
- **Koehler, 1921.** Faune de France. In, *Le chevalier P., (ed), Echinodermes.*, Paris.
- **Kurland, L.T., S.W. Faro et H.Siedler, 1960-** Minamata disease: the outbreak of a neurological disorder in Minamata, Japan, and its relation to ingestion of sea food containing mercury compounds. World Neurol., 1:370-95.

-L-

- **Lallier R., 1955.** Effets des ions zinc et cadmium sur le développement de l'oeuf de l'oursin *Paracentrotus lividus*, Arch. de Biol. Liège et Paris 66 () 75-102.
- **Lallier R., 1956.** Les ions de métaux lourds et le problème de la détermination embryonnaire chez les Echinodermes, J. Embryol. Exp. Morph. 4. 265-278.
- **Lane, T. W. et Morel. F. M. M. 2000-** A biological function for cadmium in marine diatoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97**(9): 4627-4631.
- **Langston, W.J., 1990.** Toxic effects of metals and the incidence of metal pollution in marine ecosystems. In: R.W. Furness and P.S. Rainbow (Eds), *Heavy Metals in the Marine Environment*. CRC Press

Références bibliographiques

- **Laskowski. R 1995** -Some good reasons to ban the use of NOEC, LOEC and related concepts in ecotoxicology. *Oikos* 73, 140-144.
- **Lawrence, J.M. et J.M. Lane, 1982**- The utilization of nutrients by postmetamorphic echinoderms. In: M. Jangoux & J.M. Lawrence (eds). Echinoderm nutrition. Balkema, Rotterdam. Pp. 331-371.
- **Lawrence .J.M., 1987**- Echinodermata. In,Pandian T.J., Vernberg F.J., (eds), Animal energetic.Academic Press, Inc., San Diego, 2 : 29-321.
- **Lazano J., Galera.J., Lopez.S., Turon .X., Palacin C., et Morera. G., 1995**- Biological cycles and recrutement of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in two contrasting habitats.Mar.Ecol.Progr.ser. 122 (1-3): 179-191.
- **Long E, MacDonald D, Smith S, Calder F., 1995**- Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentration in marine and estuarine sediments. *Environmental Management*. 19, 81-97.
- **Long ER, Wilson C.J. 1997** - On the identification of toxic hot spots using measures of the sediment quality triad. *Environ Toxicol Chem* 34(6):373-374.

-M-

- **Mannaert. G, 2007**- Effets des métaux lourds sur la morphologie et la mécanique des piquants de l'échinide *Echinus acutus*, Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de licencié en biologie (orientation biologie animale). P 31-35.
- **Manzo S., Buono S., Cremisini C., 2008**- Predictability of copper, irgarol, and diuron combined effects on sea urchin *Paracentrotus lividus*, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 54; 57-68.
- **Marchand M. et Kantin R., 1997**- Contaminants chimiques en milieux aquatiques, 3e partie, *Oceanis* 23 (4), 694 p.
- **Mason AZ, Jenkins KD 1995**- Metal detoxification in aquatic organisms. In: Tessier A, Turner DR (eds) Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. *Wiley, Chichester*, pp 479- 608.
- **McCarty LS et Mackay D 1993**- Enhancing ecotoxicological modelling and assessment. *Environ Sci Technol* 27: 1719-1728.
- **McClay DR, Peterson RE, Range RC., 2000**- A micromere induction signal is activated by beta-catenin and acts through notch to initiate specification of secondary mesenchyme cells in the sea urchin embryo. *Development*; 127: 5113-22.
- **McPherson, C.A., Chapman, P.M., 2000** -Copper effects on potential sediment test organisms: the importance of appropriate sensitivity. *Marine Pollution Bulletin* 40, 656-665.

Références bibliographiques

- **Miller, B.S., Pine .D.J., et Redshaw., C.J., 2000-** An assessment of the contamination and toxicity of marine sediments in the Holy Lock, Scotland. *Mar.Pollut.Bull.* 40: 22-34.
- **Miquel, M. 2001-** Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport Office Parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques (Dir). *Rapport Sénat* n° 261 : 360.
- **Mitsunaga, K., Yasumasu, I., 1984-** Stage specific effects of Zn^{2+} on sea urchin embryogenesis. *Dev. Growth Diff.* 26, 317-327.
- **Moriarty.F., 1990-** Ecotoxicology. The study of pollutants in Ecosystems. *Academic Press*, London, 289p.
- **Mortensen, T., 1927-** Hand book of the echinoderms of the British Isles. Clarendon Press Publ., *Oxford*: 471 pp.
- **Murakami, T.H., Hayakawa, M., Fujii, T., Hara, T., Itami, Y., Kishida, A., Nishida, I., 1976-** The effects of heavy metals on developing sea urchin eggs. *Okayama Igakkai Zasshi* 88, 39-50 (in Japanese with English summary).
- **Murozumi, M., Chow, T.J., and Patterson, C., 1969-** Chemical concentrations of pollutant lead aerosols, terrestrial dusts and sea salts in Greenland and Antarctic snow strata: *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 33, p. 1247-1294.

-N-

- **NAS/NRC 1989-** Recommended dietary allowances, National Academy of Science/National Research Council, Washington.
- **Nauen, C., 1983-** Compilation of legal limits for hazardous substances in shellfish, fish and fishery products. *FAO Fish.Circ.*, (764): 102 p.
- **Nedelec.H., Verlaque.M., et Dialopoulis .A., 1981-**Preliminary data on *Posidonia* consumption by *Paracentrotus lividus* in Corsica (France). *Rapp.Comm.int.Mer Médit.*, 27 (2): 203-204.
- **Nédelec H. 1982-** Ecologie alimentaire de *Paracentrotus lividus* dans le baie de Galeria (Corse) et son impact sur les peuplements de phytobenthoniques. PhD thesis, Univ Pierre et Marie Curie and Univ Aix-Marseille II
- **Nedelec H.et Verlaque M., 1984-**Alimentation de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Lamarck) dans un herbier à *Posidonia oceanica* (L) Delile en Corse (Méditerranée – France). In, Boudouresque et al., (eds), *International Workshop Posidonia oceanica beds.*, GIS Posidonie , publ., Marseille, 1 : 349 – 364.
- **Needleman, H. L. 1984-** Comments on chapter 12 and appendix 12 C, Air Quality Criteria for Lead (external review draft n°1). Available for inspection at: US

Références bibliographiques

Environmental Protection Agency, Central Docket Station, Washington, DC. Docket No. ECAO-CD-81-2 IIA E. C.1.20.

- **Neill F.X et Pastor R ., 1973-** Relaciones troficas de *Paracentrotus lividus* (Lmk.) en la zona littoral. Invest. Pesquera, Esp., 37 (1) : 1-7.
- **Neiff,J. M. 2002-** Bioaccumulation in Marine Organisms : Effect of contamination from oil well produced water. *Elsevier Science Publishers, Amsterdam*.
- **Nieboer, E. et Richardson, D.H.S., 1980-** The replacement of the nondescript term 'heavy metal' by a biologically and chemically significant classification of metal ions. Environ. Pollut. 1, 3:26.
- **Nisbet, E.G. et Fowler, C.M.R., 1995-** Is metal disposal toxic to deep oceans. Nature (Lond.) 375, 715.
- **Nitta, T., 1972-** Marine pollution in Japan. Dans Marine Pollution and Sea Life, édité par M. Ruivo. West Byfleet, Surrey, Fishing News (Books), pp 77-81
- **Nordberg GF. 1974-** Health hazards of environmental cadmium pollution. *Ambio*. 3:55.
- **NRC, (National Research Council) 1981-** Effect of the Environment on Nutrient Requirement of Domestic Animals. National Academic Press. Washington D.C. USA. ss:493-502.

-O-

- **Okubo, K., Okubo, T., 1962.** Study on the bioassay method for the evaluation of water pollution. II. Use of the fertilized eggs of sea urchins and bivalves. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. 32, 131-140.
- **Olsen, P.G, Mc cune A.R, et Thomson, K.S, 1982,** Correlation of the early Mesozoic Newark super group by vertebrates, principally fishes: *American journal of Science*, Vol 282, P. 1-44.
- **OMS, 1985.** Dix années de lutte contre l'onchocercose dans l'Afrique de l'Ouest. Bilan des activités du Programme de lutte contre l'onchocercose dans la région du Bassin de la Volta de 1974 à 1984. Genève, Organisation Mondiale de la Santé, OCP/GVA/85.1A; 137 p.
- **OMS-IPCS 1998-**Environmental Health Criteria n°200: copper, World Health Organisation, International Programme on chemical safety.
<http://www.inchem.org/fullist.htm>.
- **Ott,J.A et Maurer, L., 1977 -**Strategies of energy transfer from marine macrophytes to consumer levels the *Posidonia oceanica* example.In: Kegan,Ceidigh et Boaden (edit) Biology of benthic organisms, 11 Th .Europ. Symp. Mar. Biol., Galway, Pergamon Pre.

-P-

- **Pagano G., Esposito A., et Giordano G., 1982-** Fertilization and Larval development in sea urchins following exposure of gametes and embryos to cadmium. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, G.B, 11: 45-55.
- **Pagano G., A.Esposito, P.Bove, M. de angelis, A.Rota, et G.G. Giordano., 1983-** The effects of Hexavalent and Trivalent Chromium on Fertilisation and Development in Sea Urchin, *Environ. Res.*, 30: 442-452.
- **Pagano G., Cipollaro M., Corsale G., Esposito A., Giordano G., Ragussi. E et Trieff. NM., 1986-**The sea urchin: bioassay for the assessment of damage from environmental contaminants. Community Toxicity Testing, ASTM STP, John CAIRNS Edit., Americ.Society for Testing And materials. Philadelphia, USA. 66-92pp.
- **Pagano G, Romana LA., 1991-** L'utilisation des oursins de mer comme temoins de contamination. *Oceanis* 17:367-381.
- **Peijnenburg, W., Posthuma, L., Eijsackers, H., Allen, H., 1997-** A conceptual framework for implementation of bioavailability of metals for environmental management purposes. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 37, 163-172.
- **Peres.J et Picard.J.,1964-** Nouveau manuel de bionomie benthique de la mer Méditerranée. *Rec. Trav. St. Mar. Endoume, Fr.*, 31(47):1-123
- **Pétinay S., Chataigner.C et Basuyaux., O., 2010 -** Standardisation du développement larvaire de l'oursin, *Paracentrotus lividus*, pour l'évaluation de la qualité d'une eau de mer. *Acad.Sci.Sciences Direct.Elsevier Masson SAS* p21.
- **Phillips, D. J. H. 1980-** Quantitative Aquatic Biological Indicators: Their Use to Monitor Trace Metal and Organochlorine Pollution. Applied Science Publishers, London.
- **Phillips, D.J.H., 1991-** Selected trace elements and the use of biomonitors in subtropical and tropical marine ecosystems. *Rev.Environ.Contam.Toxicol.*, 120:105-29.
- **Phillips, D. J. H. et Rainbow, P. S. 1993-** Biomonitoring of Trace Aquatic Contaminants. Applied Science Publishers, Barking.
- **Phillips, B.M., Nicely, P.A., Hunt, J.W., Anderson, B.S., Tjeerdema, R.S., Palmer, S.E., Palmer, F.H., et Puckett, H.M., 2003 -**Toxicity of cadmium-copper-nickel-zinc mixtures to larval purple sea urchins. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 70, 592-599.
- **Power et Chapman, 1992-** Assessing sediment quality. In Burton, GAJ (Eds). *Sédiment toxicity. Assessment*, Lewis, Chelsea, MI, USA: 1-18.

Références bibliographiques

- **Price, N. M. et F. M. M. Morel 1990** - Cadmium and cobalt substitution for zinc in a marine diatom. *Nature* **344**(6267): 658-660.

-Q-

- **Quiniou, F., Judas, A., et Lesquer-André E., 1997**- Toxicité potentielle des eaux et des sédiments des principaux estuaires de la rade de Brest évaluées par les deux bioessais. *Ann.Inst.Oceano*.Paris.
- **Quiniou, F., Guillou, M., Judas, A., 1999**- Arrest and delay in embryonic development in sea urchin populations of the bay of Brest (Brittany, France): link with environmental factors. *Mar. Poll. Bull.* 38, 401-406.

-R-

- **Radenac, G., Fichet, D., Miramand, P., 2001** - Bioaccumulation and toxicity of four dissolved metals in *Paracentrotus lividus* sea-urchin embryo. *Mar. Environ. Res.* 51, 151-166
- **Raer, K. 1980**-The consumption of *Posidonia oceanica* Delile by Echinoids at the Isle of Ischia. In JANGOUX, M. 2 edit *Echinoderms: Present and Past*. Balkema Pub. Rotterdam: 241-244
- **Rainbow, P. S., D. J. H. Phillips et M. Depledge 1990** - The significance of trace metal concentrations in marine invertebrates. A need for laboratory investigation of accumulation strategies." *Mar. Pollut. Bull.* 21(7): 321-324.
- **Rainbow, P.S., 2002**- Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environ. Pollut.* 120, 497-507
- **Ramachandran, S., Patel, T.R. et Colbo, M.H., 1997**-Effect of copper and cadmium on three Malaysian tropical estuarine invertebrate larvae. *Ecotox. Environ. Safe.* 36: 183-188.
- **Ramade, F., 1992**- Précis d'écotoxicologie. Paris, Masson. 224 pp.
- **Ramade, F., 1998**- Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau. *Ediscience International, Paris*
- **Regis, M. B., 1978** -Croissance de deux Echinoides du Golfe de Marseille (*Paracentrotus lividus* (Lmck) et *Arbacia lixula*, L) Aspects écologiques de la microstructure du squelette et de l'évolution des indices physiologiques. *Thèse de Doctorat d'état*, Univ. Aix-Marseille III, Marseille Fr., : 221 p+I-VI+12 pl.h.t.
- **Regis M.B.1979** -Analyse des fluctuations des indices physiologiques chez *Paracentrotus lividus* (Lmk) et *Arbacia lixula* (L).Du golf de Marseille.Tethys, France, 167-181.
- **Regis, M.B., 1987**- L'oursin comestible *Paracentrotus lividus*, une ressource en danger dans le Quartier maritime de Marseille, France. In : BOUDOURESQUE C-F.

Ed, *Colloque international sur Paracentrotus lividus et les oursins comestibles*, GIS Posidonie publ. Marseille, Fr., : 391-397.

- **Ribeyre, F. et Boudou. A, 1989-** Trophic chains and experimental ecosystems: study of bioaccumulation and transfer processes. In: *Aquatic Ecotoxicology : fundamental concepts and methodologies* (Boudou A. and Ribeyre F. eds), Vol II : 3-46.- Boca Raton : CRC Press.
- **Romeo M, Nassia G- Barelli M, et Carr C; 1987-** trace metals: Cd, Cu, Pb and Zn in gelatinous macroplankton from the northwestern Méditerranéen. *Wal. Res.* 21 (10). 1287-1292.
- **Rulon, O., 1952-** The modification of development patterns in the sand dollar by sodium selenite. *Physiol. Zool.* 25, 333- 346.
- **Rulon, O., 1956-** Effects of cobaltous chloride on development in the sand dollar. *Physiol. Zool.* 29, 51-63. Runnstroem, J., 1928. Zur experimentellen Analyse der Wirkung des lithiums auf den Seeigelkeim. *Acta Zool.* 9, 365 424.
- **Ruppert, E.E. et R.D. Barnes, 1994-** Invertebrate zoology. 6th ed. Saunders College Publishers, Philadelphia.

-S-

- **Sánchez-Espana, A.I., Martenez-Pita, I. et Garcea, F.J., 2004-** Gonadal growth and reproduction in the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (Echinodermata : Echinoidea) southern Spain. *Hydrobiologia*, **519**, 61-72.
- **San Martin G.A., 1995-** Contribution à l'étude du comportement trophique de l'Echinoide *Paracentrotus lividus* (Lmk) dans l'étang de thau (Hérault). *Mem .D.E.A.Oceanol.* Univ. Aix-Marseille II.France., 1-42.
- **Schroeder, H. A., Nason, A. P., Tipton, I. H. et Balassa, E. J. 1967-** Essential trace metal in man. Zinc relation to environmental cadmium. *J. Chromic.* 20: 179-210.
- **Schroeder TE., 1980-** Expressions of the prefertilization polar axis in sea urchin eggs. *Dev Biol* ; 79 : 428-43.
- **Schwartz D. 1983-** méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes, Ed. Flammarion Médecin Sciences (Paris), France, 1-318.
- **Sellem, F., Langar, H. et El Abed, A., 2001.** Ecobiology and sustainable management of sea urchin in the southeast of the gulf of Tunis. In *Proceedings of the Fifth International Conference on the Mediterranean Coastal Environment, MEDCOAST 01*, Hammamet, Tunisia, 23-27 octobre 2001 (ed. E. Ozhan), vol.2 , pp. 833- 837.

- **Sellem F, et Guillou M, 2007** -Reproductive biology of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata; Echinoidae) in two contrasting habitats of northern Tunisia (south-east Mediterranean). *J.Mar.Biol.Asso.U.K.* 87: 763-767.
- **Semroud R., Kada H., 1987** -Contribution à l'étude de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Lmk) dans la région d'Alger (Algérie : indice de réplétion et indice gonadique. Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles, C.F. Boudouresque édit., *GIS.Posidonis publ.* Marseille, Fr., 117-124.
- **Semroud R. 1993-** Contribution à la connaissance de l'écosystème à *Posidonia oceanica* (L).Delile dans la région d'Alger (Algérie : Etude de quelques compartiments. *Thèse .Doct.Univ.Sci.Techno.(USTHB)* Alger,218pp
- **Shepherd SA, Boudouresque CF 1979-** A preliminary note on the movement of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Trav Sci Parc Nat Port-Cros* 5:155-158
- **Simkiss, K., M. Taylor et A. Z. Mason 1982-** Metal detoxification and bioaccumulation in molluscs. *Mar. Biol. Letters* **3**: 197-201.
- **Soualili, D.L., 2008-** Les populations naturelles d'oursins : un outil évaluateur de l'état de santé de la d'Alger. *Thèse.Doct.Océan.Univ.U.S.T.H.B.* pp 147+annexes.
- **Spirlet, Ch., Ph. Grosjean et M. Jangoux, 1998-** Reproductive cycle of the echinoid *Paracentrotus lividus*: analysis by means of the maturity index. *Invert. Reprod. Develop.*, 34(1):69-81.
- **Stauber J. et Davies C. 2000-** Use and limitations of microbial bioassays for assessing copper bioavailability in the aquatic environment. *Environmental Reviews* **8**:255-301.
- **Strathmann, R.R., 1978-** Larval settlement in echinoderms. In F.S. Chia & M.E. Rice (eds). *Settlement and metamorphosis of marine invertebrate larvae*. Elsevier, New York. Pp. 235-246.
- **Stumm W., et Morgan J., 1996-** Aquatic Chemistry - Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters - Third Ed. New York, John Wiley and Sons. 1022 pp.
- **Suzuki K, Tanaka Y, Nakajima Y, 1995-** Spatiotemporal relationships among early events of fertilization in sea urchin eggs revealed by multiview microscopy. *Biophys J* ; 68 : 739-48.
- **Sweet HC, Hodor PG, Ettensohn CA. 1999-** The role of micromere signaling in Notch activation and mesoderm specification during sea urchin embryogenesis. *Development*; 126: 5255-65.

-T-

- **Tabata, K., 1956-** Systematic studies on toxic components in industrial wastes with reference to the tolerance of aquatic lives. III. On acute toxic components in water-extract liquor from bark. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. 42, 17-21.
- **Taleb, M.Z et Boutiba, Z., 1996** - la santé de la Méditerranée et du littoral Ouest Algérien. 3^{ème} colloque national de l'association pour la recherche sur le climat de l'environnement (ARCE), "l'environnement côtier" 16 et 17 Déc. 1996, Complexe les Andalouses, Oran : 9p.
- **Taleb, M. Z., Benghali, S. Kaddour, A. et Boutiba, Z., 2007-** *Monitoring of pollution biological effects using the mussels Mytilus galloprovincialis in the Algerian west coast.* Oceanologia, Polish Academy of Sciences, 49, 4: 543-564.
- **Timourian, H., 1968-** The effects of zinc on sea urchin morphogenesis. J. Exp. Zool. 169, 121-132.
- **Timourian, H., Watchmaker, G., 1970-** Nickel uptake by sea urchin embryos and their subsequent change. J. Exp. Zool. 182, 379-388.
- **Tortonese, E., 1965-** Fauna d'Italia, Vol. VI : Echinodermata. Calderini publ., Bologna , Italia : 422pp.
- **Tortonese E. et Vadon C., 1987-** Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. Méditerranée et mer d'Europe. Echinodermes. Zone de pêche 37. Révision 1, 1 : 715-739.
- **Traer K., 1980-** The consumption of *Posidonia oceanica* by Echinoïds at the Isle of Ischia. In *Echinoderms Present and Past, Colloq. On Echinoderms*, Michel Jangoux edit., Rotterdam: 241-244.
- **Truhaut R.1977** -Ecotoxicology: objectives, principes, and perspectives. *Ecotox. Envir Saf* 1:151-173.

-V-

- **Vadas, R. L. 1977-** Preferential feeding: an optimization strategy in sea urchins. Ecol. Monogr. 47:337-371 Walker, C. W (1982). Nutrition of gametes. In: Jangoux, M., Lawrence, J. M. (ed) Echinoderm nutrition. Balkema, Rotterdam, p. 449-468
- **Vaschenko, M.A., Zhadan, P.M., Malakhov, V.V., Medvedeva, L.A., 1994-** Toxic effects of mercury chloride on gametes and embryos in the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. Russ. J. Mar. Biol. 21, 300-307.
- **Veith GD, De Foe DL, Bergstedt BV., 1979-** Measuring and estimating the bioconcentration factor of chemicals in fish. J Fish Res Board Can 36:1040-1048.

Références bibliographiques

- **Verlaque.M., et Nedelec H., 1983-** Biologie de *Paracentrotus lividus* (Lmk) sur substrat rocheux en Corse Alimentation des adultes. *Symbioses*, 15(4):221-222.
- **Verlaque M., 1987** -Contribution à l'étude du phytobenthos d'un écosystème photophile thermique marin en Méditerranée occidentale. Etude structurale et dynamique du phytobenthos et analyse des relations faune-flore. *Thèse Doct.Univ.Aix.Marseille II*, Marseille, France, 1-136.
- **Volpi Ghirardini A., Arizzi Novelli A., Losso C., Ghetti P.F., 2005.** Sperm cell and embryo toxicity tests using the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lmk), in: Gary K. Ostrander (Ed.), *Techniques in Aquatic Toxicity*, vol. II, CRC Press, Danvers, pp. 147- 168.

-W-

- **Warnau, M., et Pagano, G. 1994-** Developmental toxicity of PbCl₂ in the echinoid *Paracentrotus lividus* (Echinodermata). *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*, 53- 434±441.
- **Warnau, M., Ledent, G., Temara, A., Bouquegneau, J.-M., Jangoux, M., Dubois, P., 1995.** Heavy metals in *Posidonia oceanica* and *Paracentrotus lividus* from seagrass beds of north-western Mediterranean. *Sci. Tot. Environ.* 171, 95-99.
- **Warnau, M., Iaccarino, M., De Biase, A., Temara, A., Jangoux, M., Dubois, P. and Pagano, G. 1996.** Spermiotoxicity and embryotoxicity of heavy metals in the Echinoid *Paracentrotus lividus*. *Environ. Toxicol. Chem.* **15**(11), 1931-6.
- **Warnau, M., Teyssié, J-L., et Fowler, S.W., 1997-** Cadmium Bioconcentration in the Echinoid *Paracentrotus lividus*: Influence of the Cadmium Concentration in Seawater. *Marine Environmental Research*. Vol.43, n°4, 303-31
- **Waterman, A.J. 1937-** Effects of salts of heavy metals on development of sea urchin, *Arbacia punctulata*. *Marine Biol. Lab.* **LXXIII**(3), 401-20.
- **Wilson D.P., 1951-** A biological difference between natural sea waters, *J. Mar. Biol. Ass. UK* 30. 1-26.

-Y-

- **Yasumura S, Vartsky D, Ellis KJ, Cohn SH., 1980-** An overview of cadmium in human beings. In: Nriagu, JO (ed) *Cadmium in the Environment. Part I. Ecological Cycling*. Wiley, New York, pp. 12-34.

-Z-

- **Zavodniak D., 1987.** Synopsis on the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lmk, 1816) in the Adriatic Sea. In : colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles, C.F.Boudouresque édit., *GIS Posidonie publ*, Marseille, Fr., 221-240.

Références bibliographiques

- **Zoller, W.H., 1984.** Anthropogenic perturbations of metal fluxes into the atmosphere. Dans Changing metal cycles and human health, édité par J.O. Nriagu. Dahlem Konferenzen. Berlin, Springer, pp 27-34

ANNEXES

Annexe 1

Table: Probits, normal deviates + 5. Probits of the normal curve in the body of the table correspond to the percentages of cumulative frequency on of response in the margins.

	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
0		1 0000	2 1210	3 2522	4 3870	5 5242	6 6670	7 8127	8 9611	9 6244
1	2 6737	2 7096	2 7439	2 7738	2 8027	2 8299	2 8556	2 8799	2 9031	2 9251
2	2 9462	2 9665	2 9850	3 0016	3 0176	3 0331	3 0480	3 0622	3 0758	3 1012
3	3 1107	3 1237	3 1478	3 1616	3 1750	3 1881	3 2009	3 2134	3 2256	3 2276
4	3 2492	3 2608	3 2721	3 2831	3 2940	3 3046	3 3151	3 3253	3 3354	3 3454
5	3 3551	3 3648	3 3742	3 3836	3 3928	3 4018	3 4107	3 4195	3 4282	3 4368
6	3 4452	3 4536	3 4618	3 4699	3 4780	3 4859	3 4937	3 5015	3 5091	3 5167
7	3 5242	3 5316	3 5389	3 5462	3 5534	3 5605	3 5675	3 5745	3 5813	3 5882
8	3 5949	3 6016	3 6082	3 6148	3 6213	3 6278	3 6342	3 6405	3 6468	3 6531
9	3 6592	3 6654	3 6715	3 6772	3 6829	3 6884	3 6939	3 7012	3 7070	3 7127
10	3 7184	3 7241	3 7298	3 7354	3 7409	3 7464	3 7519	3 7574	3 7628	3 7681
11	3 7735	3 7788	3 7840	3 7892	3 7945	3 7996	3 8048	3 8099	3 8150	3 8200
12	3 8250	3 8300	3 8350	3 8399	3 8448	3 8497	3 8545	3 8593	3 8641	3 8689
13	3 8736	3 8783	3 8829	3 8877	3 8923	3 8969	3 9015	3 9061	3 9107	3 9152
14	3 9197	3 9242	3 9286	3 9331	3 9375	3 9419	3 9463	3 9506	3 9550	3 9593
15	3 9636	3 9678	3 9721	3 9763	3 9806	3 9848	3 9890	3 9931	3 9972	4 0014
16	4 0055	4 0096	4 0137	4 0178	4 0218	4 0259	4 0299	4 0339	4 0379	4 0419
17	4 0458	4 0498	4 0537	4 0576	4 0615	4 0654	4 0693	4 0731	4 0770	4 0808
18	4 0846	4 0884	4 0922	4 0960	4 0998	4 1035	4 1073	4 1110	4 1147	4 1184
19	4 1221	4 1258	4 1295	4 1331	4 1367	4 1404	4 1440	4 1476	4 1512	4 1548
20	4 1584	4 1619	4 1655	4 1690	4 1726	4 1761	4 1796	4 1831	4 1866	4 1901
21	4 1936	4 1970	4 2005	4 2039	4 2074	4 2108	4 2142	4 2176	4 2210	4 2244
22	4 2278	4 2312	4 2345	4 2379	4 2412	4 2446	4 2479	4 2512	4 2546	4 2579
23	4 2612	4 2644	4 2677	4 2710	4 2743	4 2775	4 2808	4 2840	4 2872	4 2905
24	4 2937	4 2969	4 3001	4 3033	4 3065	4 3097	4 3129	4 3160	4 3192	4 3224
25	4 3255	4 3287	4 3318	4 3349	4 3380	4 3412	4 3443	4 3474	4 3505	4 3536
26	4 3567	4 3597	4 3628	4 3659	4 3689	4 3720	4 3750	4 3781	4 3811	4 3842
27	4 3872	4 3902	4 3932	4 3962	4 3992	4 4022	4 4052	4 4082	4 4112	4 4142
28	4 4172	4 4201	4 4231	4 4260	4 4290	4 4319	4 4349	4 4378	4 4408	4 4437
29	4 4466	4 4495	4 4524	4 4554	4 4583	4 4612	4 4641	4 4670	4 4699	4 4727
30	4 4756	4 4785	4 4813	4 4842	4 4871	4 4899	4 4928	4 4956	4 4985	4 5013
31	4 5041	4 5070	4 5098	4 5126	4 5155	4 5183	4 5211	4 5239	4 5267	4 5295
32	4 5323	4 5351	4 5379	4 5407	4 5435	4 5462	4 5490	4 5518	4 5546	4 5573
33	4 5601	4 5628	4 5656	4 5684	4 5711	4 5739	4 5766	4 5793	4 5821	4 5848
34	4 5875	4 5902	4 5929	4 5957	4 5984	4 6011	4 6038	4 6066	4 6093	4 6120
35	4 6147	4 6174	4 6201	4 6228	4 6255	4 6281	4 6308	4 6335	4 6362	4 6389
36	4 6415	4 6442	4 6469	4 6495	4 6522	4 6549	4 6575	4 6602	4 6628	4 6655
37	4 6681	4 6708	4 6734	4 6761	4 6787	4 6814	4 6840	4 6866	4 6892	4 6919
38	4 6945	4 6971	4 6998	4 7024	4 7050	4 7076	4 7102	4 7129	4 7155	4 7181
39	4 7207	4 7233	4 7259	4 7285	4 7311	4 7337	4 7363	4 7389	4 7415	4 7441

Table (continued)

	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
40	4.7467	4.7492	4.7518	4.7544	4.7570	4.7596	4.7622	4.7647	4.7673	4.7699
41	4.7725	4.7750	4.7776	4.7802	4.7827	4.7853	4.7879	4.7904	4.7930	4.7955
42	4.7981	4.8007	4.8032	4.8058	4.8083	4.8109	4.8134	4.8160	4.8185	4.8211
43	4.8236	4.8262	4.8287	4.8313	4.8338	4.8363	4.8389	4.8414	4.8440	4.8465
44	4.8490	4.8516	4.8541	4.8566	4.8592	4.8617	4.8642	4.8668	4.8693	4.8718
45	4.8743	4.8769	4.8794	4.8819	4.8844	4.8870	4.8895	4.8920	4.8945	4.8970
46	4.8996	4.9021	4.9046	4.9071	4.9096	4.9122	4.9147	4.9172	4.9197	4.9222
47	4.9247	4.9272	4.9298	4.9323	4.9348	4.9373	4.9398	4.9423	4.9448	4.9473
48	4.9498	4.9524	4.9549	4.9574	4.9599	4.9624	4.9649	4.9674	4.9699	4.9724
49	4.9749	4.9774	4.9799	4.9825	4.9850	4.9875	4.9900	4.9925	4.9950	4.9975
50	5.0000	5.0025	5.0050	5.0075	5.0100	5.0125	5.0150	5.0175	5.0201	5.0226
51	5.0251	5.0276	5.0301	5.0326	5.0351	5.0376	5.0401	5.0426	5.0451	5.0476
52	5.0502	5.0527	5.0552	5.0577	5.0602	5.0627	5.0652	5.0677	5.0702	5.0728
53	5.0753	5.0778	5.0803	5.0828	5.0853	5.0878	5.0904	5.0929	5.0954	5.0979
54	5.1004	5.1030	5.1055	5.1080	5.1105	5.1130	5.1156	5.1181	5.1206	5.1231
55	5.1257	5.1282	5.1307	5.1332	5.1358	5.1383	5.1408	5.1434	5.1459	5.1484
56	5.1510	5.1535	5.1560	5.1586	5.1611	5.1637	5.1662	5.1687	5.1713	5.1738
57	5.1764	5.1789	5.1815	5.1840	5.1866	5.1891	5.1917	5.1942	5.1968	5.1993
58	5.2019	5.2045	5.2070	5.2096	5.2121	5.2147	5.2173	5.2198	5.2224	5.2250
59	5.2275	5.2301	5.2327	5.2353	5.2378	5.2404	5.2430	5.2456	5.2482	5.2508
60	5.2533	5.2559	5.2585	5.2611	5.2637	5.2663	5.2689	5.2715	5.2741	5.2767
61	5.2793	5.2819	5.2845	5.2871	5.2898	5.2924	5.2950	5.2976	5.3002	5.3029
62	5.3055	5.3081	5.3207	5.3134	5.3160	5.3186	5.3213	5.3239	5.3266	5.3292
63	5.3319	5.3345	5.3372	5.3398	5.3425	5.3451	5.3478	5.3505	5.3531	5.3558
64	5.3585	5.3611	5.3638	5.3665	5.3692	5.3719	5.3745	5.3772	5.3799	5.3826
65	5.3853	5.3880	5.3907	5.3934	5.3961	5.3989	5.4016	5.4043	5.4070	5.4097
66	5.4125	5.4152	5.4179	5.4207	5.4234	5.4261	5.4289	5.4316	5.4344	5.4372
67	5.4399	5.4427	5.4454	5.4482	5.4510	5.4538	5.4565	5.4593	5.4621	5.4649
68	5.4677	5.4705	5.4733	5.4761	5.4789	5.4817	5.4845	5.4874	5.4902	5.4930
69	5.4959	5.4987	5.5015	5.5044	5.5072	5.5101	5.5129	5.5158	5.5187	5.5215
70	5.5244	5.5273	5.5302	5.5330	5.5359	5.5388	5.5417	5.5446	5.5476	5.5505
71	5.5534	5.5563	5.5592	5.5622	5.5651	5.5681	5.5710	5.5740	5.5769	5.5799
72	5.5828	5.5858	5.5888	5.5918	5.5948	5.5978	5.6008	5.6038	5.6068	5.6098
73	5.6128	5.6158	5.6189	5.6219	5.6250	5.6280	5.6311	5.6341	5.6372	5.6403
74	5.6433	5.6464	5.6495	5.6526	5.6557	5.6588	5.6620	5.6651	5.6682	5.6713
75	5.6745	5.6776	5.6808	5.6840	5.6871	5.6903	5.6935	5.6967	5.6999	5.7031
76	5.7063	5.7095	5.7128	5.7160	5.7192	5.7225	5.7257	5.7290	5.7323	5.7356
77	5.7388	5.7421	5.7454	5.7488	5.7521	5.7554	5.7588	5.7621	5.7655	5.7688
78	5.7722	5.7756	5.7790	5.7824	5.7858	5.7892	5.7926	5.7961	5.7995	5.8030
79	5.8064	5.8099	5.8134	5.8169	5.8204	5.8239	5.8274	5.8310	5.8345	5.8381

Table (continued)

	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
80	5.8416	5.8452	5.8488	5.8524	5.8560	5.8596	5.8632	5.8669	5.8705	5.8742
81	5.8779	5.8816	5.8853	5.8890	5.8927	5.8965	5.9002	5.9040	5.9078	5.9116
82	5.9154	5.9192	5.9230	5.9260	5.9307	5.9346	5.9385	5.9424	5.9463	5.9502
83	5.9542	5.9581	5.9621	5.9623	5.9701	5.9741	5.9782	5.9822	5.9863	5.9904
84	5.9945	5.9986	6.0027	6.0069	6.0110	6.0152	6.0194	6.0237	6.0279	6.0322
85	6.0364	6.0407	6.0450	6.0494	6.0537	6.0581	6.0625	6.0669	6.0714	6.0758
86	6.0803	6.0848	6.0893	6.0939	6.0985	6.0581	6.1077	6.1123	6.1170	6.1217
87	6.1264	6.1311	6.1359	6.1407	6.1455	6.1503	6.1552	6.1601	6.1650	6.1700
88	6.1750	6.1800	6.1850	6.1901	6.1952	6.2004	6.2055	6.2107	6.2160	6.2212
89	6.2265	6.2319	6.2372	6.2426	6.2481	6.2536	6.2591	6.2646	6.2702	6.2759
90	6.2816	6.2873	6.2930	6.2988	6.3047	6.3106	6.3165	6.3225	6.3285	6.3346
91	6.3408	6.3469	6.3532	6.3595	6.3658	6.3722	6.3787	6.3852	6.3917	6.3984
92	6.4051	6.4118	6.4187	6.4255	6.4325	6.4395	6.4466	6.4538	6.4611	6.4684
93	6.4758	6.4833	6.4909	6.4985	6.5063	6.5141	6.5220	6.5301	6.5382	6.5464
94	6.5548	6.5632	6.5718	6.5805	6.5893	6.5982	6.6072	6.6164	6.6258	6.6352
95	6.6449	6.6546	6.6646	6.6747	6.6849	6.6954	6.7060	6.7169	6.7279	6.7392
96	6.7507	6.7624	6.7744	6.7866	6.7991	6.8119	6.8250	6.8384	6.8522	6.8663
97	6.8808	6.8957	6.9110	6.9268	6.9431	6.9600	6.9774	6.9954	7.0141	7.0335
98.0	7.0537	7.0558	7.0579	7.0600	7.0621	7.0642	7.0663	7.0684	7.0706	7.0727
98.1	7.0745	7.0770	7.0792	7.0814	7.0836	7.0858	7.0880	7.0902	7.0924	7.0947
98.2	7.0969	7.0992	7.1015	7.1038	7.1061	7.1084	7.1107	7.1130	7.1154	7.1177
98.3	7.1201	7.1224	7.1248	7.1272	7.1297	7.1321	7.1345	7.1370	7.1394	7.1419
98.4	7.1444	7.1469	7.1494	7.1520	7.1545	7.1571	7.1596	7.1622	7.1648	7.1675
98.5	7.1701	7.1727	7.1754	7.1781	7.1808	7.1835	7.1862	7.1890	7.1917	7.1945
98.6	7.1973	7.2001	7.2029	7.2058	7.2086	7.2115	7.2144	7.2173	7.2203	7.2232
98.7	7.2262	7.2292	7.2322	7.2353	7.2383	7.2414	7.2445	7.2476	7.2508	7.2539
98.8	7.2571	7.2603	7.2636	7.2668	7.2701	7.2734	7.2768	7.2801	7.2835	7.2869
98.9	7.2904	7.2938	7.2973	7.2946	7.3044	7.3080	7.3116	7.3152	7.3188	7.3226
99.0	7.3263	7.3301	7.3339	7.3378	7.3416	7.3455	7.3495	7.3553	7.3575	7.3615
99.1	7.3656	7.3698	7.3739	7.3781	7.3824	7.3867	7.3911	7.3954	7.3999	7.4044
99.2	7.4089	7.4135	7.4181	7.4228	7.4276	7.4324	7.4372	7.4422	7.4471	7.4522
99.3	7.4573	7.4624	7.4677	7.4730	7.4783	7.4838	7.4893	7.4949	7.5008	7.5063
99.4	7.5121	7.5181	7.5241	7.5302	7.5364	7.5427	7.5491	7.5556	7.5622	7.5690
99.5	7.5758	7.5828	7.5899	7.5972	7.6045	7.6121	7.6197	7.6276	7.6356	7.6437
99.6	7.6521	7.6606	7.6693	7.6783	7.6874	7.6968	7.7065	7.7164	7.7266	7.7370
99.7	7.7478	7.7589	7.7703	7.7822	7.7944	7.8070	7.8202	7.8338	7.8480	7.8627
99.8	7.8782	7.8943	7.9112	7.9290	7.9478	7.9677	7.9889	8.0115	8.0357	8.0618
99.9	8.0902	8.1214	8.1559	8.1947	8.2389	8.2905	8.3528	8.4316	8.5401	8.7190

From C.I.Bliss (1935). The calculation of dosage mortality curve, *Ann.Appli.Biol.*22/134-167.

Reprinted from Table IX of Fisher and Yates, "Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research," Oliver and Boyd Ltd., Edinburgh, by permission of the authors and publishers.