

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane MIRA – Béjaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques de l'Environnement
Spécialité Biologie Animale



Réf :

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

MASTER

Thème

Effets de quelques substances bioactives sur la fécondation et le développement embryonnaire chez l'oursin commun *Paracentrotus lividus*

Présenté par :

LAIB Amina & FELLA Katia

Soutenu le : 02 Juillet 2024

Devant le jury composé de :

- | | | |
|---|------------|---------------|
| • M. IGUER-OUADA Mokrane | Professeur | Président |
| • M ^{me} . SAD EDDINE ZENNOUCHE Ourdia | MCA | Encadrante |
| • M. KHELLOUF Alla Eddine | MCB | Examineur |
| • M ^{lle} . IHAMMOUCHENE Meriem | | Co-encadrante |

Année universitaire : 2023 / 2024

Remerciements

Avant tout, nous remercions **Dieu** le tout puissant qui nous a donné l'envie, le courage et la force pour accomplir ce modeste travail.

Nos sincères remerciements vont à notre encadrante, Madame **SAD-EDDINE ZENNOUCHE Ourdia**, à qui nous devons beaucoup de respect et de gratitude, nous la remercions pour nous avoir guidés afin de mener à bien cette étude, pour sa disponibilité tout au long des étapes de ce travail, pour ses remarques pertinentes et pour ses conseils judicieux qui ont constamment permis d'améliorer la qualité de ce projet.

Nous exprimons nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à Monsieur **IGUEROUDA Mokrane** pour avoir accepté de faire partie des membres du jury et pour nous avoir fait l'honneur de le présider.

Nous tenons également à exprimer notre profonde gratitude à Monsieur **KHELLOUF Alla Eddine** pour avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce projet.

Un immense merci à mademoiselle **IHAMMOUCHENE Meriem** pour son aide précieuse, sa positivité constante, sa patience remarquable et son soutien indéfectible tout au long de la préparation de ce mémoire.

Nous ne manquerons pas cette occasion pour exprimer notre sincère gratitude et notre profond respect à Monsieur **AISSANOU Sofiane**. Nous lui sommes extrêmement reconnaissantes pour son aide précieuse, sa disponibilité et le temps précieux qu'il nous a consacré pour nous assister dans nos travaux pratiques depuis le début.

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

Et enfin, nos sincères remerciements à toutes les personnes qui nous ont aidés de loin ou de près pour réaliser notre travail.

Merci à tous

Dédicaces

Ce modeste travail est dédié spécialement

*À ma chère grand-mère **Baya**, ma source d'inspiration et de force, pour son amour inconditionnel et son soutien indéfectible.*

À ma chère Maman, la prunelle de mes yeux, en témoignage de ma reconnaissance pour sa patience, son amour et ses sacrifices.

À mon cher Papa pour son soutien et son dévouement.

<< À vous, mes parents, je dis merci d'avoir fait de moi celle que je suis aujourd'hui aucune dédicace ne pourra exprimer mes respects, mes considérations et ma grande admiration pour vous, puisse ce travail vous témoigne mon affection et mon profond amour >>.

*À mes chers frères, **ADEM** et **ABDERAOUF** pour leur appui et leur encouragement, que dieu vous garde pour moi.*

*À mes chers Oncles **Azzedine** et **Omar** ainsi qu'à mes chères tantes **Kamília**, **Nabíla** et **Karíma** et **Dalíla** pour leur soutien, leur amour et leurs encouragements constants.*

*À mes chers cousins, cousines et à ma meilleure **Chahrazed** compagnons de mes joies et de mes défis, ce travail est dédié en reconnaissance de notre lien indéfectible et de notre soutien mutuel.*

*À mes chers amis de la fac mes meilleures amies **Yasmine**, **Kenza**, **Romy**, **Sara**, **Kahína**, **Samra**, **Narímene** et **Sara**, qui ont enrichi mon parcours avec leur amitié et leur soutien constants, et surtout à ma binôme **KATIA** ce travail est dédié avec toute ma gratitude et mon affection.*

Et pour finir, à tous ceux que j'aime et qui m'aiment, je dédier ce mémoire.

LAI B Amína

Dédicaces

Je dédie ce travail

À ma chère maman SALIHA, mon ange pur, ton soutien et tes encouragements m'ont donné la force et la motivation pour accomplir ce travail.

Merci pour tous tes sacrifices et ta présence à mes côtés, sans toi rien de tout cela n'aurait été possible. Reconnaisante que dieu t'ait choisi parmi les humains pour être ma mère.

À mon cher papa MOHAND AMOKRANE, que dieu l'accueille en son vaste paradis, tu resteras toujours dans ma mémoire

À mes chers frères SLIMANE, DJAMEL, ABDERRAHMANE et ATHMANE. Que dieu vous garde pour moi.

À ma chère sœur et ma deuxième maman NADIA merci pour tous tes sacrifices et ta présence à mes côtés, que dieu te garde pour moi

À ma binôme et camarade AMINA.

FELLA Katia

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces.....	
Liste des figures	
Liste des abréviations.....	
Introduction	1

Chapitre I : Revue bibliographique

I. Généralités sur <i>Paracentrotus lividus</i>	3
1. Description	3
2. Classification.....	3
3. Caractères morphologiques.....	4
3.1. Morphologie externe	4
3.2. Anatomie interne.....	4
4. Écologie et biologie de l'espèce.....	6
4.1. Répartition géographique et habitat	6
4.2. Alimentation	6
4.3. Reproduction.....	7
5. Développement larvaire :.....	8
6. Intérêt écologique et économique de l'espèce	8
7. Modèle Animal.....	9
II. Fertilité de <i>Paracentrotus lividus</i>	10
1. Les gamètes.....	10
1.1. L'ovocyte.....	10
1.2. Le spermatozoïde	10
2. La fécondation.....	11
3. La segmentation	12
4. La Gastrulation	13
5. La phase larvaire	14
III. Les huiles essentielles	15
1. Généralités	15
2. Composition chimique des huiles essentielles	15
3. Activités biologiques des huiles essentielles	16
4. Toxicité des huiles essentielles	16

5. Le romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i> L)	17
5.1. Définition et description	17
5.2. Composition chimique de l'huile essentielle du romarin	18
IV. Les Vitamines	18
1. Définition	18
2. La vitamine C	18
3. La vitamine E	19

Chapitre II : Matériel et méthode

I. Zone d'étude.....	20
1. Le choix du site « Brise de mer »	20
II. Matériel utilisé	21
1. Matériel biologique	21
1.1. Matériel de terrain	21
1.2. Matériel de laboratoire	22
1.3. Produits chimiques	23
2. Méthode de travail.....	23
2.1. Collecte des échantillons	23
2.2. Traitement au laboratoire	24
2.2.1. Filtration de l'eau de mer.....	24
2.2.2. Préparation de de l'huile essentielle du romarin	24
2.2.3. Préparation de la solution de la vitamine E.....	25
2.2.4. Préparation de la solution de la vitamine C	25
2.2.5. Préparation de l'association des deux vitamines	25
2.2.6. Dissection, Collecte des gamètes et préparation des pools	25
2.2.7. Préparation des bacs pour la fécondation artificielle	26
2.2.8. La fécondation artificielle :	26
3. Suivi du développement embryonnaire	28
3.1. Analyse statistique	29

Chapitre III : Résultats et discussions

I. Effet de l'huile essentielle du romarin et les vitamines (C et E) sur la fécondation chez l'oursin commun <i>Paracentrotus Lividus</i>	30
II. Effet de l'huile essentielle du romarin sur le développement embryonnaire chez l'oursin commun <i>Paracentrotus Lividus</i> après 2h, 24h, 48h et 72h	30

1. Résultats.....	30
1.1. A une concentration de 10 µl/ml.....	30
1.2. Avec une concentration de 25 µl/ml	31
1.3. A une concentration de 50 µl/ml.....	32
1.4. A une concentration de 100 µl/ml.....	33
1.5. A une concentration de 150 µl/ml.....	34
1.6. Le contrôle	35
2. Discussions.....	38
III. Effets des vitamines E, C, ainsi que leur association	39
1. Effet de la vitamine E (20 µl/ml) sur le développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun <i>Paracentrotus Lividus</i> après 2h, 24h, 48h, et 72h	39
2. Effet de la vitamine C (20 µl/ml) sur la fécondation et le développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun <i>Paracentrotus Lividus</i> sur 2h, 24h, 48h, et 72h.	40
3. Effet de l'association vitamine E /vitamine C (20/20 µl/ml) sur la fécondation et le développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun <i>Paracentrotus Lividus</i> sur 2h, 24h, 48h, et 72h	41
4. Discussions.....	44
IV. Pourcentage des cellules dégénérées 48h et 72h après la fécondation	45
1. Résultats.....	45
2. Discussion	47
Conclusion.....	48
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Liste des figures

Fig. 1 : Oursin commun <i>Paracentrotus lividus</i>	3
Fig. 2 : Morphologie générale d'un oursin <i>Paracentrotus lividus</i> (à droite : vue du côté de l'anus (dessus de l'animal), à gauche : vue du côté de la bouche (dessous)	4
Fig. 3 : Anatomie interne de l'oursin <i>Paracentrotus lividus</i>	5
Fig. 4 : Distribution géographique (trait rouge) de <i>Paracentrotus lividus</i>	6
Fig. 5 : Représentation schématique du cycle de vie de l'oursin <i>Paracentrotus lividus</i>	7
Fig. 6 : Stades de développement de <i>Paracentrotus lividus</i> (M, Morula ; Bl, Blastula ; G, Gastrula ; Pr, Prisme ; ePl, Pluteus 2 Armes ; Pl, Pluteus 4 Armes)	8
Fig. 7 : Morphologie du spermatozoïde de l'oursin	10
Fig. 8 : La réaction acrosomique est déclenchée lorsque le sperme entre en contact avec la couche de gelée de l'ovule chez l'oursin	11
Fig. 9 : Stades de segmentation de <i>Paracentrotus lividus</i> en microscopie optique	12
Fig. 10 : Stades de blastula de <i>Paracentrotus lividus</i> en microscopie optique	13
Fig. 11 : Stades de gastrulation de <i>Paracentrotus lividus</i> en microscopie optique	14
Fig. 12 : Développement larvaire de <i>Paracentrotus lividus</i> en microscopie optique.....	15
Fig. 13 : <i>Rosmarinus officinalis L</i>	17
Fig. 14 : Localisation de la station d'échantillonnage (BDM) dans la zone côtière de Bejaia	20
Fig. 15 : Oursin pêché au niveau de la Brise de mer <i>Paracentrotus Lividus</i>	21
Fig. 16 : Matériels de terrain	21
Fig. 17 : Matériels utilisés dans le laboratoire.....	22
Fig. 18 : Les produits chimiques utilisés dans cette expérience.....	23
Fig. 19 : Echantillons d'oursins <i>Paracentrotus Lividus</i> collectés à la brise de mer.....	24
Fig. 20 : La filtration et l'agitation magnétique de l'eau de mer.....	24
Fig. 21 : Pool de gamètes femelles	26
Fig. 22 : Pool de gamètes males	26
Fig. 23 : Préparation des milieux.....	26
Fig. 24 : Les bacs de fécondation	27
Fig. 25 : Schéma de la préparation des milieux de fécondation avec l'huile essentiel de romarin.	27
Fig. 26 : Schéma de la préparation des milieux de fécondation avec des vitamine E et C..	28
Fig. 27 : Observation du développement des stades embryonnaires	29

Fig. 28 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun <i>Paracentrotus Lividus</i> avec une concentration de 10 µl/ml de l'huile essentielle du romarin.	31
Fig. 29 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun <i>Paracentrotus Lividus</i> avec une concentration de 25 µl/ml de l'huile essentielle du romarin.	32
Fig. 30 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun <i>Paracentrotus Lividus</i> avec une concentration de 50 µl/ml de l'huile essentielle du romarin.	33
Fig. 31 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun <i>Paracentrotus Lividus</i> avec une concentration de 100 µl/ml de l'huile essentielle du romarin.	34
Fig. 32 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun <i>Paracentrotus Lividus</i> avec une concentration de 150 µl/ml de l'huile essentielle du romarin.	35
Fig. 33 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun <i>Paracentrotus Lividus</i> dans le contrôle.....	36
Fig. 34 : Effets de l'HE de Romarin sur la fécondation et le développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun <i>P. lividus</i>	37
Fig. 35 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun <i>Paracentrotus Lividus</i> en utilisant une concentration de 20 µl/ml de vitamine E.....	40
Fig. 36 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun <i>Paracentrotus Lividus</i> en utilisant une concentration de 20 µl/ml de la vitamine C.	41
Fig. 37 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun <i>Paracentrotus Lividus</i> en utilisant une concentration de 20 µl/ml de l'association de la vitamine E et la vitamine C.	42
Fig. 38 : Effets de la vitamine E et C ainsi que leurs associations sur la fécondation et le développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun <i>P. lividus</i>	43
Fig. 39 : Histogramme représentant les pourcentages des cellules dégénérées chez l'oursin commun <i>Paracentrotus Lividus</i> après 48h de fécondation.	46
Fig. 40 : Histogramme représentant les pourcentages des cellules dégénérées chez l'oursin commun <i>Paracentrotus Lividus</i> après 72h de fécondation.	47

Liste des abréviations

µl : Microlitres.

BDM : Brise de Mer.

Fig. : Figure.

HE : Huile essentielle.

PEG : Poly éthylène glycol

ml : Millilitres.

P. lividus : *Paracentrotus lividus*

H : Heures.

R. officinalis : *Rosmarinus officinalis*.

Vit E : Vitamine C.

Vit C : Vitamine E.

Introduction

Introduction

Les oursins sont des organismes modèles bien établis qui offrent un outil précieux pour la compréhension des processus de fécondation et de développement embryonnaire. L'utilisation de ces derniers dans la recherche scientifique permet d'élucider des mécanismes fondamentaux qui sont souvent conservés à travers les espèces.

Le *Paracentrotus lividus*, communément appelé oursin violet, est une espèce largement étudiée en raison de sa répartition géographique et de son importance écologique dans les écosystèmes marins méditerranéens et atlantiques (**Smith et al., 2010**). Cette espèce est également appréciée dans le domaine de la recherche en raison de la simplicité de son système reproducteur et de la transparence de ses ovocytes, ce qui rend les études de développement in vitro simples et faciles (**Jones et al., 2015**). Depuis des années, plusieurs laboratoires ont choisi cette espèce comme modèle animal. Les travaux de biologie moléculaire et d'écotoxicologie, qui nécessitent l'utilisation de gamètes et d'embryons à différents stades de développement (**Pagano et al., 1986, Pagano et al., 1993, Privitera et al., 2012**), sont venus s'ajouter aux études classiques sur la fécondation et le développement embryonnaire (**Monroy, 1986**). L'une des exigences fondamentales d'un modèle expérimental est sa disponibilité tout au long de l'année et c'est le cas de *Paracentrotus lividus*.

D'après **Leahy (1986)**, l'oursin commun *Paracentrotus lividus* est un choix pertinent pour l'étude de l'impact des substances bioactives en raison de la facilité de collecte et de fécondation des œufs in vitro, offrant ainsi des manipulations expérimentales précises et contrôlées. De plus, la clarté des embryons permet une observation détaillée des diverses phases du développement, ce qui facilite l'étude des effets des traitements expérimentaux sur ces derniers (**Gilbert, 2010**).

La reproduction et le développement embryonnaire sont des phénomènes complexes et peuvent être influencés par divers facteurs environnementaux et biochimiques. Les huiles essentielles ainsi que les vitamines peuvent avoir un impact sur la fertilisation mais également sur la viabilité et le développement des embryons.

En effet, les vitamines C et E, antioxydants puissants, ont la capacité de neutraliser les radicaux libres et de protéger les cellules contre les dommages oxydatifs, ce qui pourrait bénéficier à la viabilité des œufs et au taux de fécondation (**Taylor et al., 2019**). L'acide ascorbique, ou vitamine C, est une molécule hydrosoluble impliquée dans de nombreux

processus biologiques, tels que la synthèse du collagène, la régénération d'autres antioxydants, et la réduction des dommages oxydatifs (Carr et Frei, 1999). Le tocophérol, ou vitamine E, quant à lui, est une molécule liposoluble qui protège les membranes cellulaires contre les dommages oxydatifs en interagissant avec les radicaux libres pour prévenir la peroxydation des lipides (Brigelius-Flohé et Traber, 1999).

De son côté, L'huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis*) contient des composés bioactifs comme le cinéole, qui peut améliorer la motilité des spermatozoïdes et influencer la fécondation. Ses propriétés antioxydantes peuvent également réduire le stress oxydatif, favorisant ainsi un environnement favorable au développement embryonnaire précoce. Par exemple, l'injection in ovo d'huile essentielle de romarin à faible concentration a montré des effets bénéfiques sur les taux d'éclosion et la survie embryonnaire chez les cailles japonaises, bien que des concentrations plus élevées puissent être toxiques (Aberbour, A et al., 2023). En outre, l'utilisation des extraits de romarin pourrait diminuer le risque d'infections lors des premières étapes cruciales du développement embryonnaire (Rašković et al., 2014).

Cette étude vise à explorer l'impact des vitamines C et E ainsi que l'huile essentielle de romarin sur la fertilisation et le développement embryonnaire de *Paracentrotus lividus* dans la région de Béjaïa. De manière plus précise, notre objectif est de vérifier si ces produits qui n'ont jamais été testé auparavant sur cette espèce peuvent accroître la survie des gamètes, améliorer les chances de fécondation, et favoriser la croissance saine des embryons.

Cette étude vise également à vérifier l'effet de ces substances bioactives, un domaine en pleine expansion qui a comme objectif d'exploiter des composés naturels pour diverses applications médicales, environnementales et industrielles. Les connaissances acquises grâce au *Paracentrotus lividus* pourraient être appliquées à d'autres espèces marines et terrestres.

Le présent document est scindé en trois chapitres ; le premier est consacré à une petite synthèse bibliographique, le deuxième évoque l'ensemble du matériel et les différentes techniques utilisées dans l'expérimentation et le troisième expose l'ensemble des résultats obtenus, leur interprétation et leur discussion. Ce document se termine par une conclusion et quelques perspectives.

Chapitre I

Revue bibliographique

I. Généralités sur *Paracentrotus lividus*

1. Description

L'oursin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816), Phylogénétiquement il appartient au phylum des échinodermes (Cannon *et al.*, 2014) il s'agit d'un oursin régulier dont la taille varie généralement entre 5 et 8 cm (Fig. 1). À l'âge adulte, l'oursin présente quatre caractéristiques anatomiques spécifiques aux échinodermes : un endosquelette en calcite, un tissu collagène mutable, un système vasculaire aqueux et une symétrie pentaradiale (Formery *et al.*, 2022). Il se distingue des autres échinodermes par sa lanterne d'Aristote et son endosquelette rigide. Chez *Paracentrotus lividus*, sa symétrie en cinq parties est visible dans son squelette interne et son système vasculaire (Formery *et al.*, 2022).



Fig. 1 : Oursin commun *Paracentrotus lividus* (Originale, 2024).

2. Classification

La classification de l'oursin *Paracentrotus lividus* selon (Fischer *et al.*, 1987) est indiqué ci-dessous :

Tableau I. Classification de l'oursin *Paracentrotus lividus*.

Embranchement	Echinodermata
Sous-embranchement	Echinozoa
Classe	Echinoidea
Sous-classe	Euechinoidea
Super ordre	Echinacea
Ordre	Camarodonta
Famille	Parechinidae
Genre	Paracentrotus
Espèce	<i>Paracentrotus lividus</i>

3. Caractères morphologiques

3.1. Morphologie externe

Le corps de *Paracentrotus lividus* est de forme plus ou moins sphérique aplatie à ses deux pôles (**Fischer et al., 1987**). La partie inférieure (orale) dirigée vers le substrat comprend la bouche entourée d'une membrane, le péristomie (**Zuber, 2016**). Tandis que la partie supérieure (aborale) comprend l'anus entouré d'une membrane, c'est le test de l'oursin (**Fig. 2**). Ce dernier est rond (contour circulaire) peu élevé, aplati sur sa face ventrale et hérissé portant divers appendices ; Piquants, podia et pédicellaires. L'Axe de symétrie du corps passe par la bouche et l'anus déterminant les pôles oraux où se trouve l'appareil masticateur appelée Lanterne d'Aristote qui est composée de cinq plaques triangulaires avec des dents à l'extrémité (**Fischer et al., 1987 ; Grosjean, 2001**).

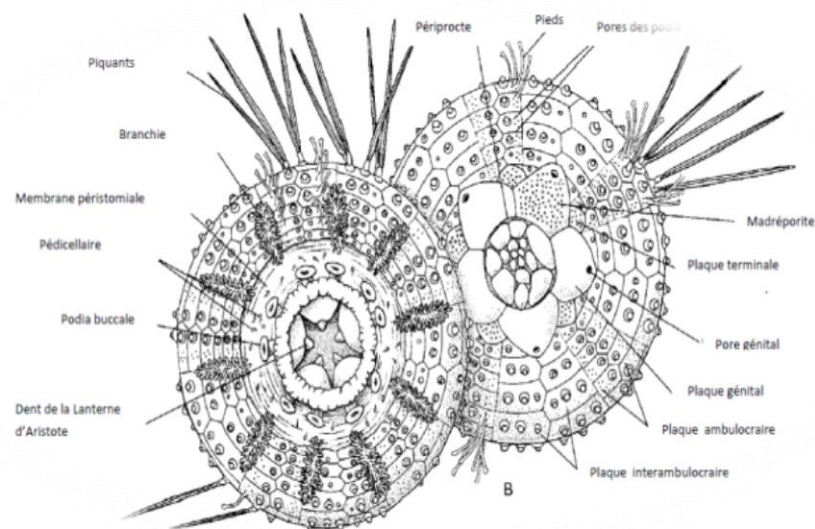


Fig. 2 : Morphologie générale d'un oursin *Paracentrotus lividus* (à droite : vue du côté de l'anus (dessus de l'animal), à gauche : vue du côté de la bouche (dessous) (**Grosjean et al. ,2001**).

3.2. Anatomie interne

Intérieurement (**Fig. 3**), le tube digestif de l'oursin *Paracentrotus lividus* comporte la bouche, située au centre de la face inférieure du test, suivie de l'œsophage entouré par l'imposant appareil de la lanterne d'Aristote, constitué de cinq mâchoires complexes, Chaque mâchoire est composée de dents, d'une rotule et d'un compas (**Le Gall, 1987**).

L'appareil ambulacraire de *Paracentrotus lividus* envoie cinq canaux vers les tentacules péribuccaux et les zones ambulacraires, où sont insérés les ambulacres. Le canal

de sable débouche sous la plaque madréporique, accompagné d'un second canal relié à l'anneau sanguin, qui présente une dilatation nommée glande ovoïde. Le système sanguin comporte deux vaisseaux le long de la paroi intestinale, absorbant les produits digérés et les transmettant à l'anneau sanguin périœsophagien. Les ramifications de l'anneau sanguin et de l'anneau ambulacraire permettent la circulation sanguine dans le système ambulacraire **(Roule et al., 1889)**.

Les organes reproducteurs de l'oursin sont composés de cinq gonades situées entre les rayons, chacune étant reliée à l'extérieur par un conduit génital qui traverse le test au niveau des plaques génitales entourant l'anus. Les mâles ont des gonades allongées qui émettent un liquide blanchâtre lorsqu'elles sont mûres, tandis que les femelles ont des gonades de forme similaire mais de couleur orange, émettant un liquide orangé lorsqu'elles sont mûres **(Boué & Chanton, 1978)**.

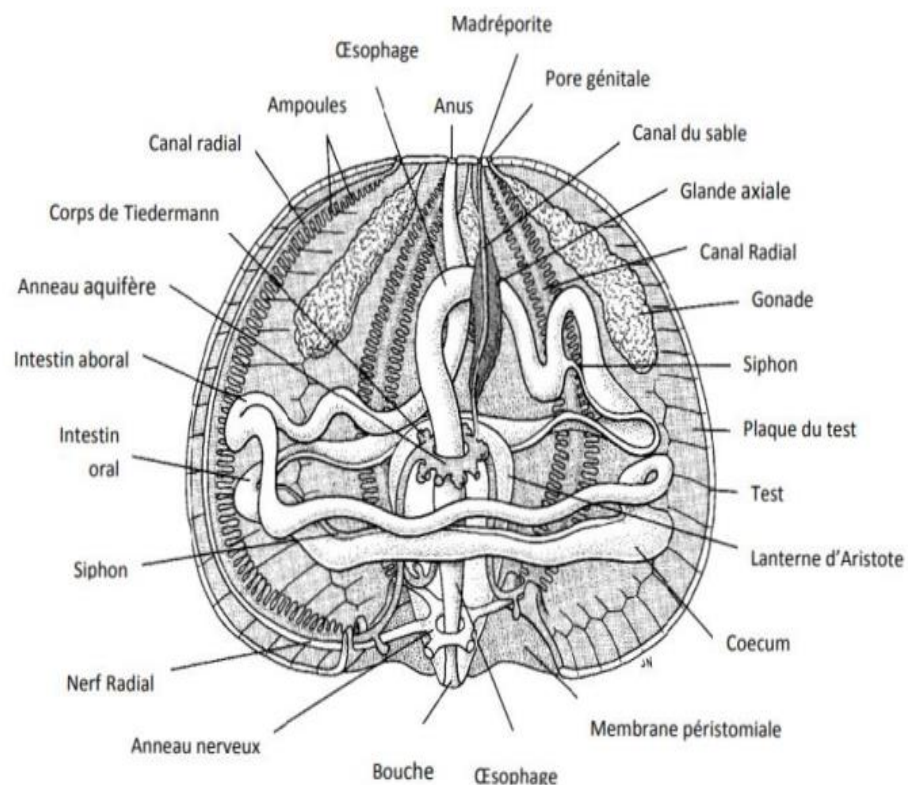


Fig. 3 : Anatomie interne de l'oursin *Paracentrotus lividus* **(Grosjean, 2001)**.

4. Écologie et biologie de l'espèce

4.1. Répartition géographique et habitat

La répartition géographique de *Paracentrotus lividus* s'étend des côtes atlantiques orientales, de l'Irlande et d'Ecosse au Maroc et dans toute la Méditerranée. Il est présent dans la zone infralittorale, entre 0 et 30 m de profondeur (Patrissi M et al., 2014), avec néanmoins une concentration plus importante dans les niveaux supérieurs (0-15 m) (Fig.4). En mer ouverte, cet échinoderme est présent sur les prairies de *Zostera marina* (Tortonese, 1965 ; Verlaque, 1987a) et sur les substrats rocheux, au sein des peuplements d'algues photophiles, de roches superficielles (Kempf, 1962 ; Peres et Picard, 1964), ainsi que dans les anfractuosités et les dessous de blocs (Nedelec, 1981 ; Azzolina, 1988 ; Boudouresque et al., 1989).

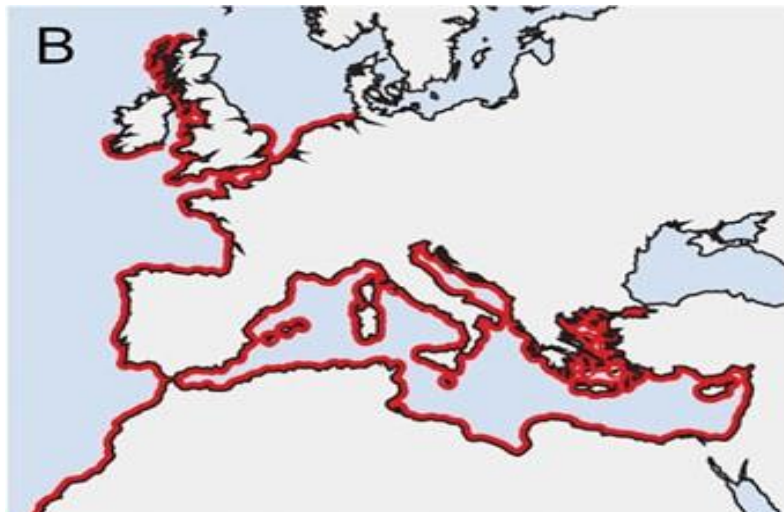


Fig. 4 : Distribution géographique (trait rouge) de *Paracentrotus lividus* (Formeryet al., 2020).

Paracentrotus lividus est rare sur les substrats sableux et les fonds détritiques avec des roches isolées. Les individus des faibles profondeurs, très exposés aux vagues, ont tendance à creuser le substrat pour créer des cavités où ils vont s'installer (Boudouresque et Verlaque, 2001). Ils peuvent aussi vivre sur les substrats vaseux des lagunes littorales (Allain, 1975 ; San Martin, 1987).

4.2. Alimentation

Pour se nourrir, les oursins *Paracentrotus lividus* broutent la nourriture située sous leur face orale au moyen de leur puissant appareil, constitué de 5 longues dents articulées. La puissance et la précision de celui-ci leur donne accès à une nourriture variée. Le régime alimentaire des *Paracentrotus lividus* est généralement herbivore, constitué

d'algues photophiles du genre *Podia pavonica* (Regis, 1978) et de plantes aquatiques. Ils sont ainsi considérés comme étant les principaux et plus efficaces brouteurs d'algues en mer.

Les oursins réguliers sont capables de modifier complètement leur régime alimentaire et leur métabolisme pour s'adapter aux perturbations de leur environnement par exemple dans les zones pauvres en ressources, il adopte un régime omnivore (Régis, 1978).

4.3. Reproduction

Les oursins violets sont des organismes ovipares gonochoriques. Lors de la période de reproduction, Le long des côtes méditerranéennes, deux épisodes reproductifs ont lieu chaque année, le plus important au printemps, le second de moindre importance à l'automne (Fenaux 1994 ; Lopez et al. 1998 ; Tomas et al. 2004).

La fécondation se fait directement dans l'eau après l'émission de gamètes qui aboutit à une larve pélagique à symétrie bilatérale, à partir de laquelle se formera l'oursin (Fig.5) (Calderón et al., 2012 ; Limatola et al., 2020). Les gonades femelles sont de couleur orangée, tandis que celles des mâles sont blanchâtres.

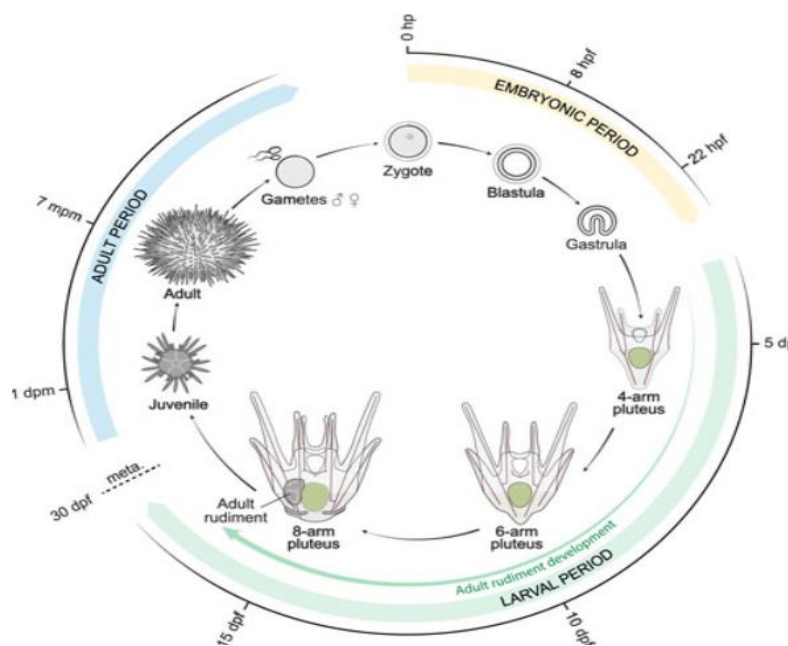


Fig. 5 : Représentation schématique du cycle de vie de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Formery et al., 2022).

5. Développement larvaire :

Paracentrotus lividus est une espèce qui possède un cycle de reproduction annuel. L'ovogenèse a lieu dans les gonades pendant la période de reproduction. Les gonades se remplissent d'ovocytes mûrs, qui sont ensuite libérés dans l'eau pour la fécondation (Guettaf, 1997).

Après la fécondation, les ovules fécondés subissent diverses divisions cellulaires pour créer une structure multicellulaire connue sous le nom de morula. Cette morula à l'apparence d'une petite sphère cellulaire (Fig. 6)

Après un laps de temps qui peut varier en fonction des conditions environnementales, la larve pluteus forme un exosquelette calcaire et prend une apparence proche de celle d'un petit oursin.

La durée du stade larvaire de *Paracentrotus lividus* varie en fonction de nombreux facteurs, notamment l'apport en nutriments et la température (Pavillon, 1977 ; Cellario et Fenaux, 1987).

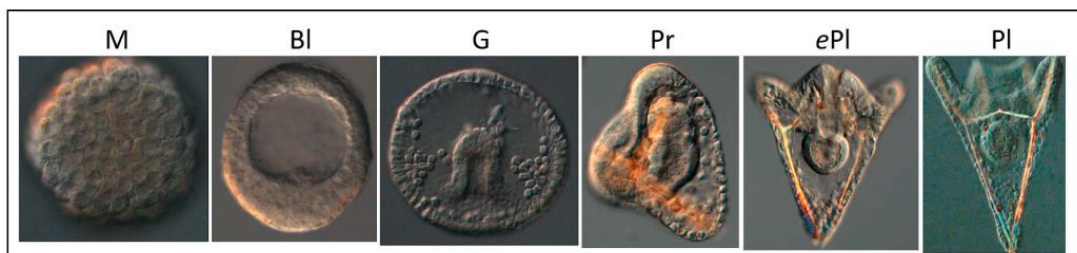


Fig. 6 : Stades de développement de *Paracentrotus lividus* (M, Morula ; Bl, Blastula ; G, Gastrula ; Pr, Prisme ; ePl, Pluteus 2 Armes ; Pl, Pluteus 4 Armes) (Bonaventura, et al, 2021).

6. Intérêt écologique et économique de l'espèce

Paracentrotus lividus possède des intérêts écologiques et économiques importants.

En termes d'écologie, Il occupe une place cruciale dans l'écosystème marin en tant que consommateur de végétaux. Sa principale source de nourriture est les algues, ce qui permet de réguler leur croissance excessive et de préserver l'équilibre écologique des habitats marins comme les récifs coralliens et les prairies d'algues. En contrôlant le nombre d'algues, ils contribuent à maintenir la diversité des espèces marines en favorisant la survie d'autres espèces qui ont besoin des mêmes habitats.

Il s'agit d'une espèce clé dans le fonctionnement des écosystèmes sublittoraux tels que les écosystèmes d'herbes marines, de récifs et les bassins intertidaux, soit en tant

qu'herbivore, soit en tant que proie (**Personnic et al.,2014 ; Boudouresque et al.,2015 ; Dominguez et al.,2015 ; Thibaut et al.,2017**).

Il joue également un rôle important en tant qu'indicateur biologique de la pollution des écosystèmes marins côtiers. En raison de leur facilité d'échantillonnage, les oursins devraient figurer parmi les biomarqueurs les plus couramment utilisés dans les programmes d'évaluation de la qualité du milieu marin (**Guendouzi, 2011**).

Au niveau économique, En Europe le *Paracentrotus lividus* est considéré comme une ressource hautement précieuse à valeur économique significative, en raison de la grande appréciation de ses œufs en tant que mets gastronomiques, notamment en France, en Italie et en Espagne, où les populations locales les exploitent intensément (**Machado et al., 2019 ; Le Mao et Godet et al., 2020 ; Santos et al., 2020 ; Lourenço et al., 2021**).

7. Modèle Animal

Le *Paracentrotus lividus*, est fréquemment utilisé comme objet d'étude en recherche scientifique pour divers domaines, comme la reproduction et l'écotoxicologie environnementale (**Paredes & Bellas, 2009**),

- Dans le domaine de l'évaluation des risques de toxicologie, *Paracentrotus Lividus* peut servir de modèle pour étudier les conséquences des substances toxiques sur les organismes marins et l'écosystème.
- Les oursins violets peuvent être manipulés facilement en laboratoire, ce qui permet de mener des expériences de manière rapide et efficace.
- C'est un outil privilégié pour développer une méthode d'évaluation du potentiel cancérigène des molécules (**Marcet et al., 2004**).
- L'oursin *Paracentrotus lividus* permet le criblage de nouveaux composés antiprolifératifs et la recherche de cibles intracellulaires, ouvrant la voie à l'identification de médicaments potentiels et à la compréhension des mécanismes moléculaires (**Gosselin et al., 2013**).
- L'évaluation de l'impact de la présence de métaux lourds, du pH (**Mos et al., 2020**), et de contaminants (**Ruocco et al., 2020**) dans les milieux marins.

II. Fertilité de *Paracentrotus lividus*

1. Les gamètes

1.1. L'ovocyte

L'ovocyte du *Paracentrotus lividus* est essentiel pour la survie et la reproduction de cette espèce, jouant un rôle clé dans le cycle de vie de l'animal et la régulation des populations d'oursins dans leur environnement naturel. Les gonades féminines libèrent des ovocytes matures ayant complété leur méiose, incluant l'émission des deux globules polaires (Vacquier, 2011). Le nombre d'ovocytes pondus par une femelle peut être de l'ordre de la dizaine de millions et représente un volume de 10 à 20 millilitres. L'ovocyte mesure un dixième de millimètre et possède un noyau de grande taille appelé vésicule germinative.

1.2. Le spermatozoïde

Le sperme de l'oursin *Paracentrotus lividus* est similaire à celui des autres espèces d'oursins, principalement composé de spermatozoïdes. Ces spermatozoïdes sont produits dans les gonades mâles de l'oursin et sont libérés dans l'eau lors du processus de reproduction.

La structure d'un spermatozoïde typique comprend la tête, qui contient le noyau avec le matériel génétique ; l'acrosome, qui renferme des enzymes pour pénétrer l'ovule ; la pièce intermédiaire, qui produit l'énergie nécessaire pour le déplacement ; et le flagelle, long de 50 à 60 μm , qui permet au spermatozoïde de se déplacer dans le milieu liquide (fig.7) (Vacquier, 2011).

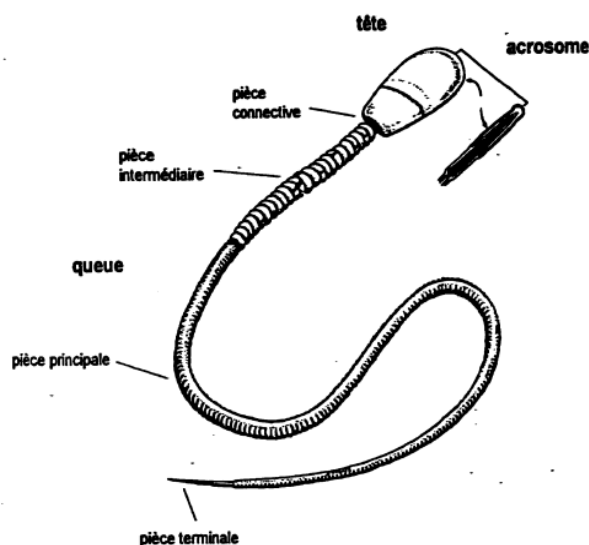


Fig. 7 : Morphologie du spermatozoïde de l'oursin (Monchez, 2001).

2. La fécondation

La fécondation et le développement embryonnaire sont généralement les étapes les plus vulnérables de la vie des animaux marins, et les processus biologiques au cours de cette période sont très sensibles à l'environnement. Dans la nature, les gamètes des oursins sont excrétés dans l'eau de mer, où ils subissent une fécondation externe et un développement embryonnaire (Limatola et al., 2019).

La fécondation déclenche une série d'événements en cascade où chaque étape dépend de celle qui la précède, se déroulant dans un ordre précis, comprenant cinq étapes distinctes :

- **Attraction du spermatozoïde** : Les spermatozoïdes libérés par les mâles se déplacent grâce à leur flagelle (Vogel, 1982) vers les ovocytes immobiles et s'y lient via des récepteurs spécifiques, amorçant la reproduction.
- **Réaction acrosomique** : L'acrosome du spermatozoïde libère des enzymes qui permettent de percer la barrière entourant l'ovocyte (Fig. 8).
- **Activation de l'ovocyte** : Chez le *Paracentrotus lividus*, l'activation de l'ovocyte désigne le processus permettant à l'ovocyte fécondé de devenir apte à se développer. Ce processus inclut la fécondation, la réorganisation cellulaire et la division cellulaire.

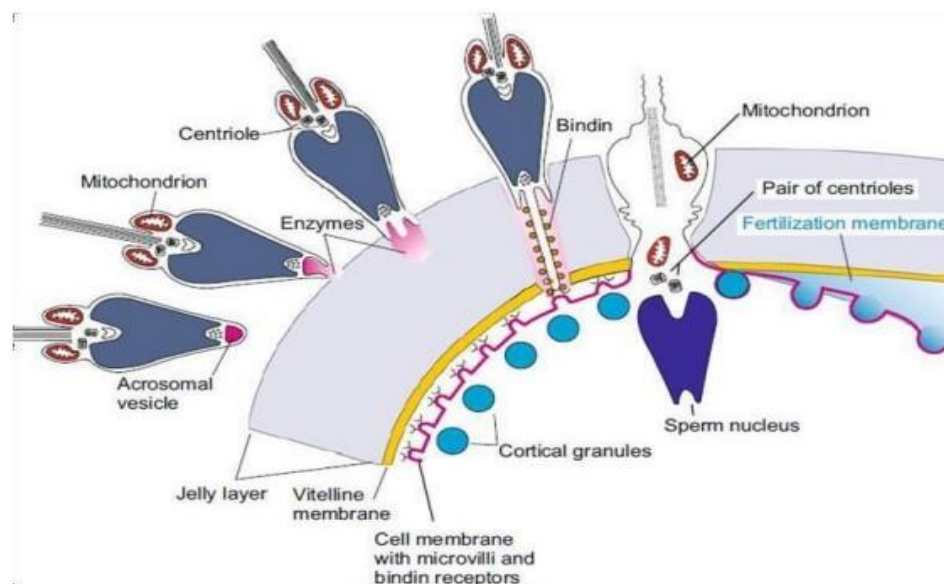


Fig. 8 : La réaction acrosomique est déclenchée lorsque le sperme entre en contact avec la couche de gelée de l'ovule chez l'oursin (Mueller et al., 2015).

3. La segmentation

La segmentation est totale et égale pour les trois premiers clivages (**Fig.9**) :

Stade 2 cellules : Le premier plan de segmentation passe par le pôle animal et le pôle végétatif (segmentation méridienne) et conduit à la formation de 2 blastomères identiques.

Stade 4 cellules : Un autre niveau de division se produit aux extrémités de l'embryon, perpendiculairement au plan précédent. À ce stade, les quatre nouvelles cellules sont de taille égale.

Stade 8 cellules : La troisième division est équatoriale (perpendiculairement à l'axe des pôles), et elle produit huit nouvelles cellules de taille égale.

Stade 16 cellules : La quatrième division cellulaire produit seize blastomères : huit égaux en région animale par divisions longitudinales et deux couches en région végétative par divisions irrégulières, avec des macromères volumineux et des micromères plus petits, essentiels pour la formation des cellules germinales et des gonades chez l'adulte (**Yajima et al., 2011**).

Stade 32 cellules : Après la cinquième vague de mitoses, l'œuf atteint 32 blastomères. Les mésomères se divisent latitaudinalement et les macromères et micromères se divisent longitudinalement.

Morula : À la sixième segmentation, l'œuf atteint le stade de Morula.

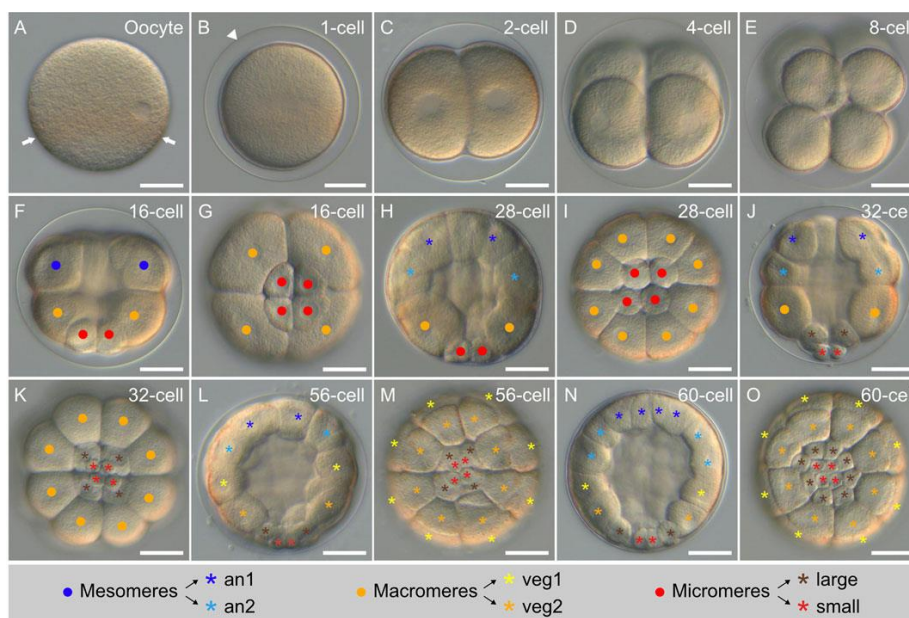


Fig. 9 : Stades de segmentation de *Paracentrotus lividus* en microscopie optique (**Formery et al., 2022**).

Blastula : Lors de la septième division, les cellules se divisent selon un plan méridien, formant une morula de 128 cellules, qui évolue en blastula d'environ 1000 cellules entourant une cavité remplie de liquide, le blastocœle. La blastula devient ensuite un cœloblastule régulier, recouvert de cils pour la mobilité (**Fig.10**) (**Costache, 2012**).

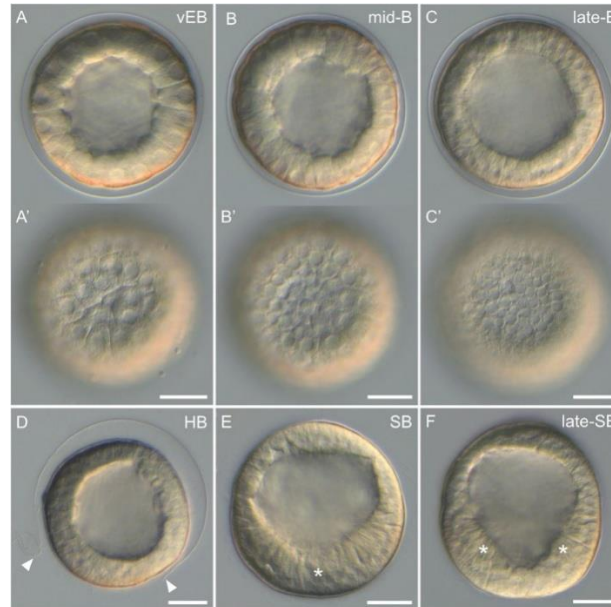


Fig. 10 : Stades de blastula de *Paracentrotus lividus* en microscopie optique (**Formery et al. , 2022**).

4. La Gastrulation

La gastrulation chez le *Paracentrotus lividus* est un processus majeur où l'embryon se réorganise pour créer les trois essentielles couches germinales : l'ectoderme, le mésoderme et l'endoderme (**Kominami et Takata, 2000**).

La formation de l'archentéron, ou intestin primitif, se produit par invagination au niveau du pôle végétatif. Cette étape caractérise le stade de gastrula, survenant environ 30 heures après la fécondation chez *Paracentrotus lividus*. L'archentéron de la gastrula s'étend jusqu'à rencontrer l'ectoderme latéral, où se forme l'orifice buccal de la future larve, confirmant son appartenance aux deutérostomiens (**Fig.11**) (**Costache, 2012**).

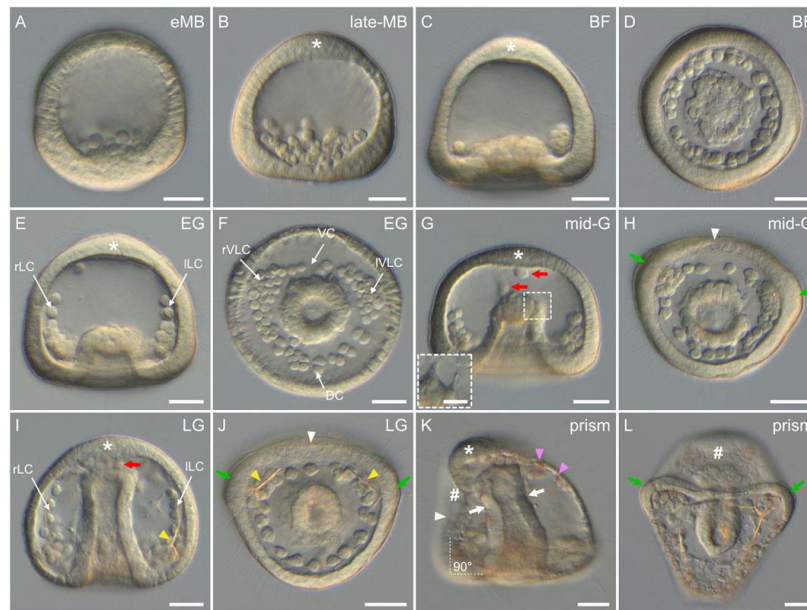


Fig. 11 : Stades de gastrulation de *Paracentrotus lividus* en microscopie optique (Formery et al. , 2022).

5. La phase larvaire

Le pluteus présente une symétrie bilatérale. À ce stade, l'ectoderme se divise visiblement en quatre parties le long des axes dorsal et ventral : l'ectoderme ventral, qui forme une couche épaisse autour de la bouche ; l'ectoderme dorsal, qui recouvre la majeure partie du corps larvaire sous forme d'une fine couche ; la bande ciliaire, une ceinture de cellules ciliées située entre l'ectoderme ventral et dorsal ; et le domaine neurogène apical. De plus, les cellules pigmentaires rouge foncé proviennent des précurseurs du mésenchyme secondaire. (Fig. 12) (Boraiy, 2018).

Le pluteus se nourrit de manière active en filtrant l'eau jusqu'à ce qu'un rudiment se forme à partir de la poche cœlomique gauche (hydrocoele), aboutissant à la naissance d'un juvénile présentant une symétrie pentaradiaire lors de la métamorphose. Cette transformation coïncide avec sa descente au fond de l'eau, où l'individu adulte passera le reste de sa vie à brouter le biofilm et les algues benthiques (Costache, 2012).

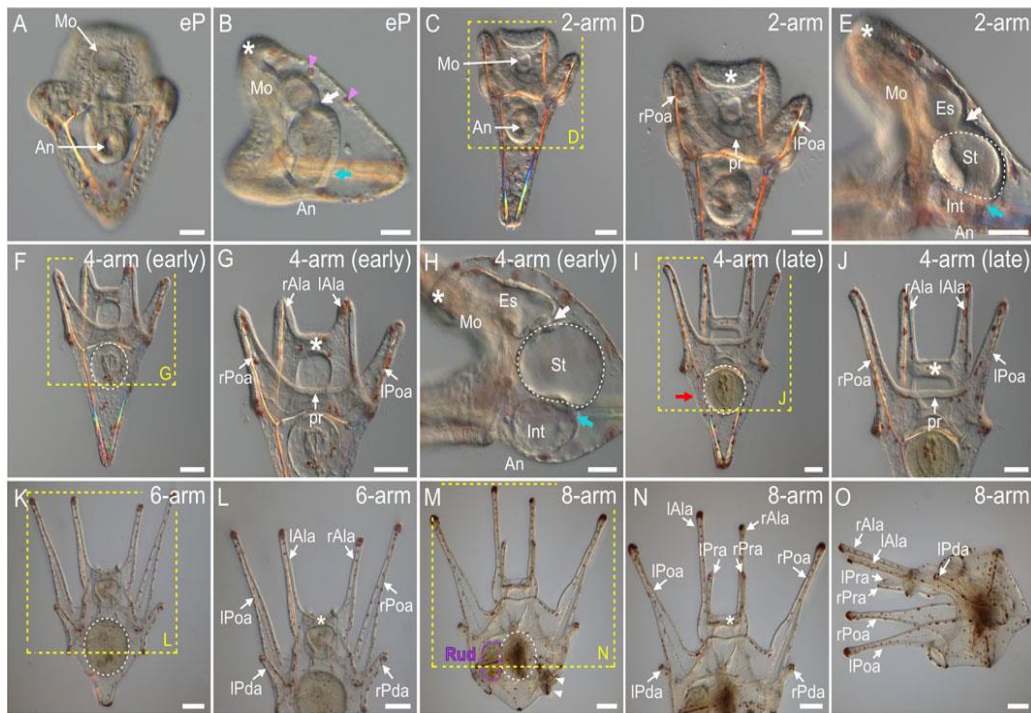


Fig. 12 : Développement larvaire de *Paracentrotus lividus* en microscopie optique (Formery et al., 2022).

III. Les huiles essentielles

1. Généralités

Les huiles essentielles sont des produits naturels concentrés aux odeurs fortes qui sont produits par les plantes aromatiques comme métabolites secondaires (Nazzaro, Fratianni, 2013). Leur extraction, initialement développée par les Arabes au Moyen Âge, se fait généralement par vapeur ou hydro-distillation. Connues pour leurs propriétés antiseptiques (bactéricides, virucides et fongicides) ainsi que leurs qualités médicinales et parfumées, elles sont utilisées dans divers domaines tels que l'embaumement, la conservation des aliments et comme remèdes antimicrobiens, analgésiques, sédatifs, anti-inflammatoires, spasmolytiques et anesthésiques locaux. Bien que leurs caractéristiques fondamentales soient restées inchangées au fil du temps, nos connaissances sur certains de leurs mécanismes d'action, notamment en ce qui concerne leurs propriétés antimicrobiennes, se sont accrues (Bakkali, 2008).

2. Composition chimique des huiles essentielles

Les combinaisons d'huiles essentielles pures comprennent plus de 200 composants (Aziz et al., 2018) Ces combinaisons renferment des phénylpropanoïdes dérivés ou des

terpènes présentant des variations structurales et chimiques minimales (**Rao et Pandey, 2007**).

L'huile essentielle se compose de deux parties principales :

- La fraction volatile, qui représente généralement entre **90 et 95 %** du poids total de l'huile. Cette fraction contient des monoterpènes, des sesquiterpènes et leurs dérivés oxygénés. On peut également y trouver des alcools aliphatiques, des esters et des aldéhydes.
- Les résidus non volatils, qui représentent environ **1 à 10 %** du poids total de l'huile essentielle. Cette partie contient des acides gras, des hydrocarbures, des stérols, des cires, des flavonoïdes et des caroténoïdes (**Hanif et al., 2019**).

3. Activités biologiques des huiles essentielles

Il est crucial de souligner que du point de vue de leurs effets biologiques, les huiles essentielles (**HE**) sont des compositions complexes contenant diverses molécules. En conséquence, les effets biologiques des **HE** peuvent découler d'une synergie entre toutes ces molécules ou être principalement attribuables aux molécules les plus abondantes (**Baptista-Silva et al., 2020**).

La capacité lipophile des huiles essentielles (**HE**) facilite leur traversée à travers les membranes cellulaires pour pénétrer à l'intérieur des cellules. Ces **HE** sont réputés pour leur puissant effet antioxydant (**Tepe et al., 2004 ; Yu et al., 2011**) et antimicrobiens (**Lu et al., 2013 ; Mutlu- Ingok et al., 2020**). Elles sont également employées dans le traitement de maladies graves telles que les affections cardiovasculaires (**Saljoughian et al., 2017**), le cancer (**Gautam et al., 2014 ; Lima et al., 2018 ; Sharma et al., 2022**), Elles sont également bénéfiques pour un large éventail d'autres maladies.

4. Toxicité des huiles essentielles

Bien que les huiles essentielles (**HE**) présentent des effets positifs, il est important de noter qu'elles ne sont pas dépourvues de toxicité. Leur utilisation peut entraîner des effets indésirables allant jusqu'à des conséquences graves, notamment des effets cancérogènes et parfois mortels. Plusieurs types de toxicité peuvent survenir, souvent attribuables à une méconnaissance des contre-indications, des modalités d'utilisation ou à une ingestion accidentelle. Ces toxicités peuvent se manifester sous différentes formes, telles que des réactions cutanées, des dommages hépatiques ou neurologiques (**Hilan et al., 2009**).

5. Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L)

5.1. Définition et description

Le *Rosmarinus officinalis* L est une plante à la fois aromatique et médicinale faisant partie de la famille des Lamiacées (**Fig.13**). C'est un petit arbuste qui pousse naturellement dans des régions présentant un bioclimat semi-aride et subhumide. Il est largement répandu dans toutes les régions du bassin méditerranéen (**Eloutassiet *al.*, 2013**). Depuis l'Antiquité, le romarin est reconnu pour son pouvoir de stimuler et d'améliorer la mémoire humaine. Considéré comme une plante revigorante, il offre une multitude de vertus, toutes reflétées dans sa saveur aromatique bien particulière (**Iserin, 2001**).

L'huile essentielle de romarin caractérisé par une odeur fortement camphré, pénétrante de saveur très aromatique. Les sommités fleuries fournissent généralement entre 10 et 25 ml/kg. Par exemple, le type algérien de Romarin contient plus de 0,74% d'huile dans la plante sèche, 0,1% dans les feuilles, et 1,4% dans les fleurs et les rameaux (**Zoubeidi, 2004**).



Fig. 13 : *Rosmarinus officinalis* L (Originale 2024).

5.2. Composition chimique de l'huile essentielle du romarin

L'huile essentielle de romarin, qui représente **1 à 2%** de la plante, renferme divers composés, notamment du pinène (**7 à 80%**), de la varenne (**1 à 37%**), du camphre (**1 à 35%**), de l'eucalyptol (**1 à 35%**), du bornéol (**4 à 19%**), de l'acétate de bornyle (**jusqu'à 10%**) et du camphène. Outre l'huile essentielle, le romarin contient également **2 à 4 %** de dérivés triterpéniques tels que l'acide ursolique, l'acide oléanolique, l'acétate de germanicol, des dérivés de l'acide canosolique, du romanol, du romadial, ainsi que des acides phénoliques, des acides gras hydroxylés, principalement des dérivés de l'acide décanoïque, des acides gras organiques tels que l'acide citrique, glycolique et glycérique, des stérols, de la choline, du mucilage et de la résine (**Belakhdar, 1997**).

IV. Les Vitamines

1. Définition

Les vitamines sont des substances biologiquement essentielles à la vie car elles agissent en tant que cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges au niveau des membranes cellulaires. L'organisme humain est incapable de les synthétiser par lui-même (**VIGNOLA., 2002**). Les vitamines sont un groupe de substances organiques efficaces même à très faible dose (**DUPHAR PHILIPS., 1974 ; NESHEIM et al., 1979**).

2. La vitamine C

La vitamine C, également connue sous le nom d'acide ascorbique, se trouve dans une variété de fruits et légumes. C'est un composé organique blanc et cristallin, pouvant être synthétisé à partir de glucose ou extrait de sources naturelles comme le jus d'orange. **Szent-Gyorgy** l'a isolée pour la première fois à partir de jus de citron vert en 1928 (**Mansour et Aljoubbeh, 2014**)

- **Fonctions**

La vitamine C joue un rôle crucial dans de nombreuses fonctions biologiques, indispensables au métabolisme enzymatique et au bon fonctionnement cellulaire. Un manque de vitamine C ralentit l'activité de plusieurs systèmes enzymatiques impliqués dans la synthèse du collagène, ce qui peut conduire au scorbut (**Ruiz, 2020**).

La vitamine C agit comme un antioxydant reconnu, jouant un rôle majeur dans la prévention de certains cancers. Elle renforce les fonctions immunitaires et neutralise les radicaux libres au niveau cellulaire. Ces actions protègent les cellules contre les dommages oxydatifs et aident à réduire les risques de maladies (**Sarkar et al., 2009**).

3. La vitamine E

La vitamine **E** est un groupe de composés incluant les tocophérols et les tocotriénols. On la trouve surtout dans les huiles végétales, les œufs, le foie, les légumineuses et les plantes vertes. La vitamine E est liposoluble et a des propriétés antioxydantes (**Tappel, 1970**).

- **Fonction**

La vitamine **E** est connue pour ses propriétés antioxydantes, grâce à sa capacité à inhiber les peroxydations lipidiques (**Cuvelieret *al.*, 2003**).

Elle possède également des propriétés anti-inflammatoires, antiplaquettaires et vasodilatatrices, et contribue à prédire le risque de cancer (**Weinstein et *al.*, 2007**). En outre, l'alpha-tocophérol protège contre les dommages causés par les substances toxiques, prévenant la destruction des enzymes et la fragmentation de l'ADN des cellules fibroblastiques (**Fusi et *al.***).

Chapitre II

Matériel et méthode

I. Zone d'étude

Afin d'atteindre les objectifs tracés pour notre étude et d'évaluer l'effet de quelques substances bioactives à savoir l'huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis*), la vitamine E et la vitamine C sur la fécondation et le développement embryonnaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus*, nous avons effectué des échantillonnages dans la zone côtière de la région de Bejaïa. Nous avons en effet, opté pour la Brise de mer pour faire nos prélèvements.

1. Le choix du site « Brise de mer »

Le lieu d'échantillonnage a été choisi en rapport avec sa proximité et son accessibilité. La brise de mer est un endroit touristique rocheux qui se manifeste le long de la côte méditerranéenne, située dans le golf de Bejaïa entre le port pétrolier et le port de pêche à une latitude de $36^{\circ}45'11''$ N et d'une longitude de $5^{\circ}04'38''$ E (**Fig.14**) elle est soumise à différentes formes de pollution en raison des rejets des bateaux et des usines résidentes à sa proximité ainsi qu'aux rejets de ses habitants.



Fig. 14 : Localisation de la station d'échantillonnage (BDM) dans la zone côtière de Bejaïa (Google Earth).

II. Matériel utilisé

1. Matériel biologique

Dans la présente étude, nous avons travaillé sur des oursins pêchés vivants au niveau de la Brise de Mer, Nous avons opté pour l'espèce *Paracentrotus Lividus* reconnaissable grâce à la couleur de son test qui varie du violet au vert brun et à sa forme légèrement aplatie (**Fig.15**) dont on a extrait les gamètes (ovocytes et spermatozoïdes des oursins adultes).



Fig. 15 : Oursin pêché au niveau de la Brise de mer *Paracentrotus Lividus* (Originale 2024).

1.1. Matériel de terrain

Pour faciliter notre travail sur le terrain, nous avons utilisé : une époussette de pêche qui est un outil précieux qui facilite la capture et la récupération des oursins, des bocaux en plastique pour les transporter, des gants de protection, ainsi qu'aux bouteilles remplies d'eau de mer pour les besoins de manipulation au laboratoire (**Fig.16**).





			
a) Epoussette de pêche.	b) Bocaux en plastique.	c) Bouteilles en plastique.	d) Gants de protection.

Fig. 16 : Matériels de terrain

1.2. Matériel de laboratoire

Afin de réaliser nos expérimentations nous avons utilisé : une éprouvette graduée, des bacs en verre, entonnoir en verre, des lames, des boîtes de pétri, une seringue, trousse à dissection, tube d'ependorf, des embouts, micropipette, papier filtre, un agitateur, une balance, microscope optique, microordinateur et une camera MVV 3000 (Fig.17).

			
a) Eprouvette graduée.	b) Bacs en verre.	c) Entonnoir en verre.	d) Des lames.
			
e) Des boîtes de pétri.	f) Une seringue.	g) Trousse à dissection.	h) Des tubes d'ependorf.
			
i) Des embouts.	j) Micropipette.	k) Papier filtre.	l) Agitateur.
			
m) Balance.	n) Microscope optique.	o) Camera MVV 3000.	p) Microordinateur.

Fig. 17 : Matériels utilisés dans le laboratoire.

1.3. Produits chimiques

On a utilisé un antibiotique à large spectre « la streptomycine », l'huile essentielle du romarin préalablement préparée à différentes concentrations, ainsi que la vitamine E et la vitamine C (**Fig.18**).



Fig. 18 : Les produits chimiques utilisés dans cette expérience (**Originale 2024**).

2. Méthode de travail

Nous avons réalisé des sorties et les prélèvements ont été réalisés pendant le mois d'avril dans la brise de Mer et nous avons récolté au total 45 oursins de l'espèce *Paracentrotus Lividus*.

2.1. Collecte des échantillons

L'échantillonnage se fait la matinée entre 8h et 10h dans la brise de Mer. Le prélèvement s'est effectué à une profondeur de 0.5 à 1 m en s'aidant d'une époussette de pêche, pour éviter l'émission des gamètes et tout contact, chaque individu collecté a été directement plongé dans un récipient en plastique rempli d'eau du même site d'échantillonnage.

De plus une bouteille d'eau de mer de 1,5L provenant de la même station a été remplie pour les besoins de manipulations au laboratoire, ensuite l'ensemble des échantillons ont été transportés au Laboratoire (**Fig.19**).



Fig. 19 : Echantillons d'oursins *Paracentrotus Lividus* collectés à la brise de mer (**Originale 2024**).

2.2. Traitement au laboratoire

2.2.1. Filtration de l'eau de mer

L'eau de mer récupérée dans la station de la brise de Mer a été filtrée plusieurs fois avec du papier filtre afin de se débarrasser de toute sorte de débris, ensuite 60mg de la streptomycine (1g / 5ml) ont été additionnés à l'eau filtrée, et pour avoir un mélange homogène on a agité la solution avec un agitateur magnétique (**Fig.20**).

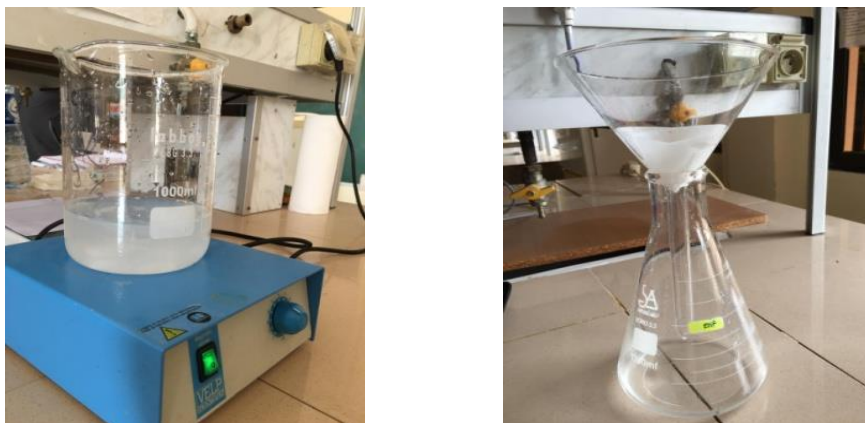


Fig. 20 : La filtration et l'agitation magnétique de l'eau de mer (**Originale2024**).

2.2.2. Préparation de de l'huile essentielle du romarin

L'huile essentielle du romarin a été diluée dans différentes concentrations d'eau de mer pour tester son efficacité à diverses doses. Le **PEG** a été utilisé pour faciliter la

dispersion de l'huile dans l'eau distillée, il permet aussi une homogénéité dans le mélange. Chaque préparation a été soigneusement dosée pour que les volumes totaux de chaque concentration atteignent 50 ml. La variation dans les quantités d'huile et de PEG permet d'évaluer la performance de l'huile essentielle du romarin assurant ainsi une analyse complète de ses propriétés bénéfiques.

2.2.3. Préparation de la solution de la vitamine E

Dans le but d'obtenir une concentration de 20 µl/ml, nous avons dilué 100 mg de la vitamine E dans une solution de 5 ml d'eau distillée contenant 200 mg du **PEG**.

Dans cette expérience nous avons utilisé le Polyéthylène Glycol (**PEG**) pour rendre la solution homogène, et nous avons spécialement choisi ce dernier grâce à ses propriétés uniques qui font de lui un composant essentiel solubilisant et stabilisant qui joue un rôle clé dans la création des solutions homogènes et également pour l'amélioration de la viscosité et la préservation des cellules.

2.2.4. Préparation de la solution de la vitamine C

Afin d'obtenir une concentration de 20 µl/ml, nous avons pesé et diluer successivement 100 mg de la poudre de la vitamine C dans 5 ml d'eau distillée.

2.2.5. Préparation de l'association des deux vitamines

L'association des deux vitamines E et C a été obtenue par la méthode des 50/50, on a en effet pris 10 ml de la solution de la vitamine E que nous avons additionné à 10 ml de la solution de la vitamine C.

2.2.6. Dissection, Collecte des gamètes et préparation des pools

Les oursins récupérés ont été dans un premier temps, stimulés en injectant de 2ml d'eau de mer provenant de leur milieu dans la membrane péribuccale. Les individus refusant de délivrer leurs semences sont stimulées mécaniquement en les tapotant sur la paillasse mais si ces derniers refusent toujours d'émettre les gamètes, les oursins sont alors disséqués sur le plan horizontal à l'aide de ciseaux robustes. Le sperme des oursins reconnaissable par sa couleur blanchâtre et les ovocytes par leur couleur orangée sont récupéré dans des boites de pétri. Deux pools de gamètes mâles (**Fig.21**) et femelles (**Fig.22**) ont été préparés pour une éventuelle fécondation.

**Fig. 22** : Pool de gamètes males (Originale 2024).**Fig. 21** : Pool de gamètes femelles (Originale2024)

2.2.7. Préparation des bacs pour la fécondation artificielle

Pour la préparation des milieux on a utilisé la solution préparée précédemment qui renferme l'eau de mer filtrée, de la streptomycine que nous avons répartie sur 9 bacs renseignés et étiquetés. 1 bac de contrôle, 5 autres contenant des solutions avec l'huile essentielle du romarin à différentes concentrations 150, 100, 50, 25, 10 μ l. Les 2 autres bacs ont été utilisés pour les solutions additionnées de la vitamine E et C avec une concentration de 20 μ l, enfin 1 autre pour l'association des deux vitamines à une concentration 20 μ l (**Fig.23**).

**Fig. 23** : Préparation des milieux (Originale2024).

2.2.8. La fécondation artificielle :

Nous avons procédé à la fécondation en mélangeant 1300 μ l d'ovocytes et 300 μ l de sperme pour avoir une solution fécondée, ensuite pipeter 25 μ l de cette dernière et la mettre dans chaque bac (**Fig.24**).



Fig. 24 : Les bacs de fécondation (Originale 2024).

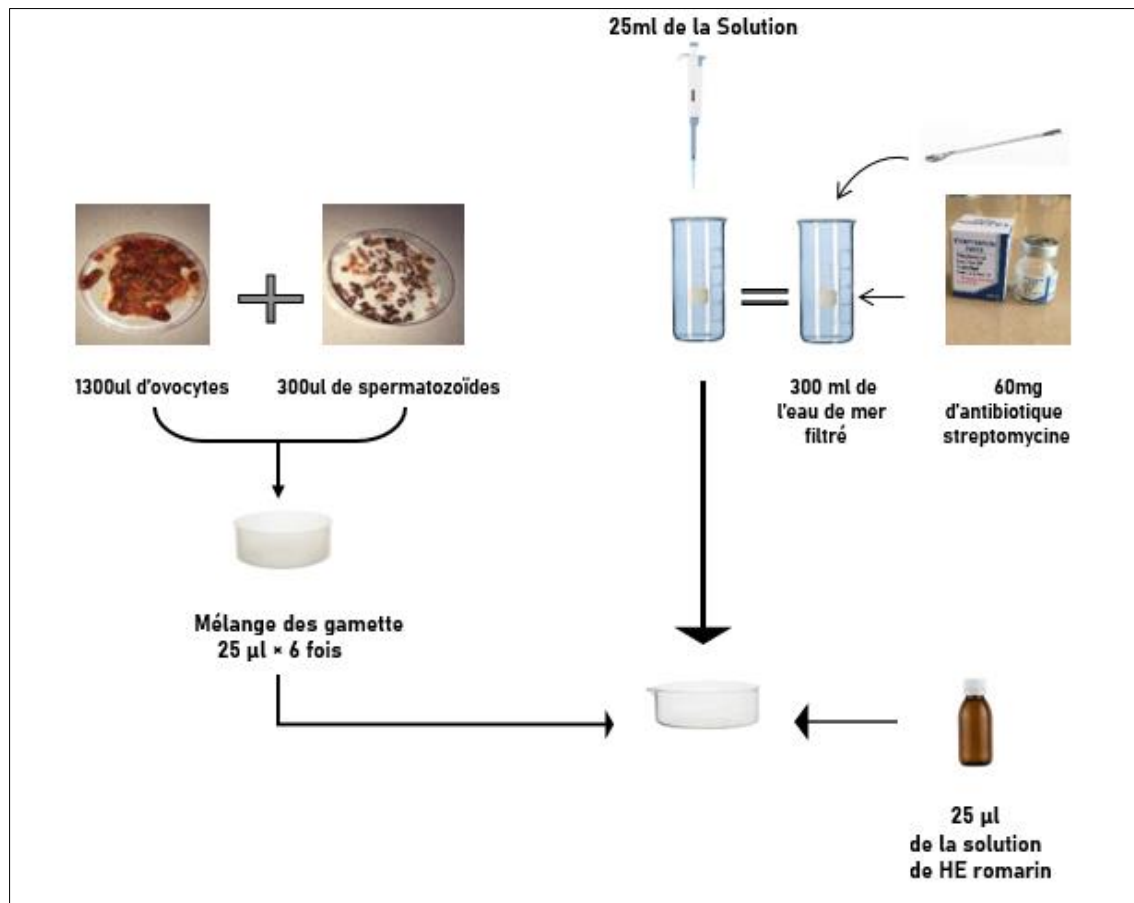


Fig. 25 : Schéma de la préparation des milieux de fécondation avec l'huile essentielle de romarin.

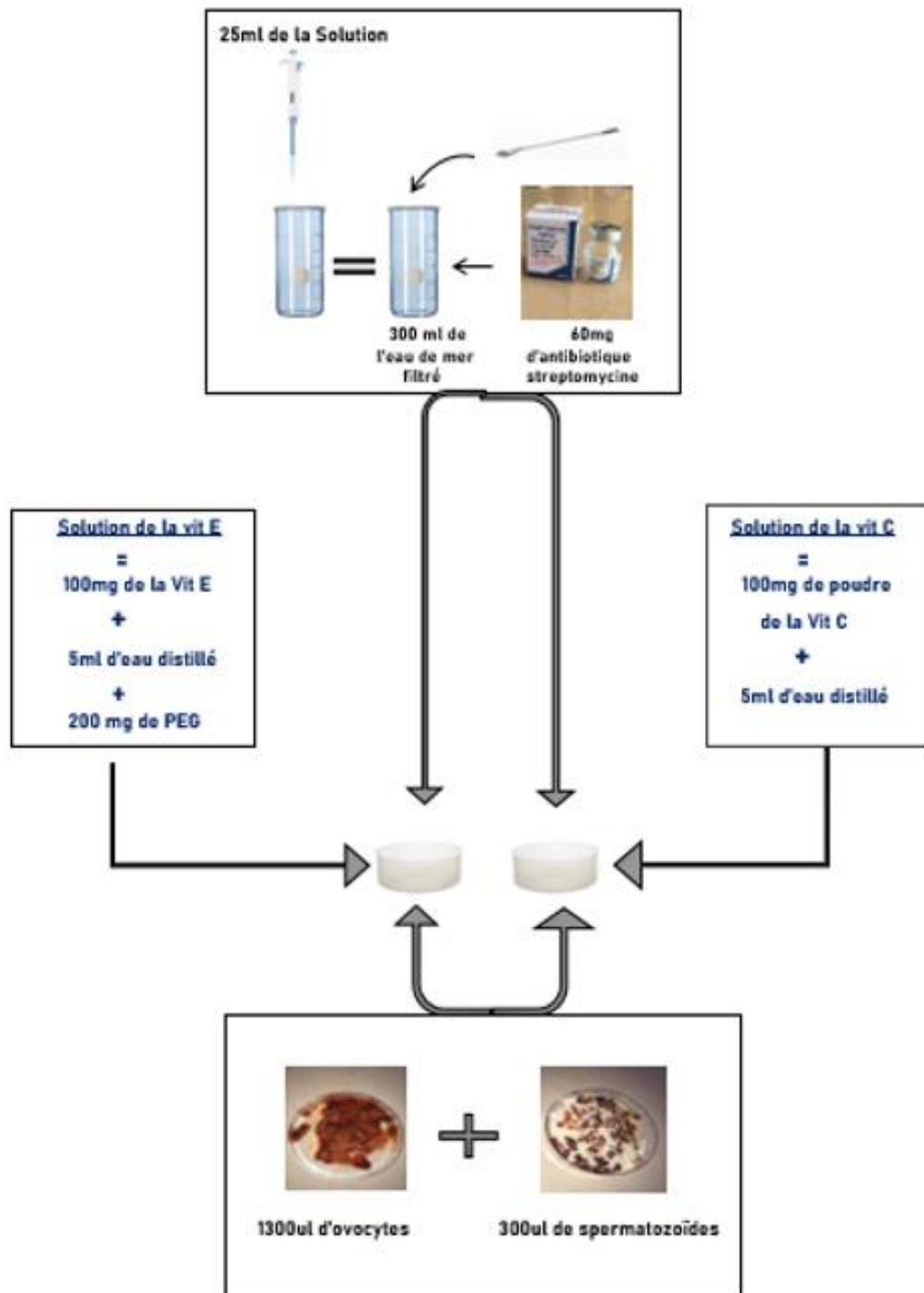


Fig. 26 : Schéma de la préparation des milieux de fécondation avec des vitamines E et C.

3. Suivi du développement embryonnaire

Pour assurer le suivi du développement embryonnaire, nous avons effectué plusieurs observations à différents temps (2h, 24h, 48h et 72h) après la fécondation. À l'aide d'une micropipette, 10 μ l de solution larvaire ont été prélevés au fond du bac, puis déposés sur une

lame et observés sous un microscope optique relié à une caméra MVV 3000 à un grossissement de 10 x 10. Ainsi, des captures de plusieurs champs ont été réalisées à l'aide du logiciel **Future Win Joe (Fig.27)**.



Fig. 27 : Observation du développement des stades embryonnaires (**Originale2024**).

3.1. Analyse statistique

Les captures obtenues ont fait l'objet d'un dénombrement à différents temps (2h, 24h, 48 et 72h) pour fournir une compréhension détaillée de l'évolution embryonnaire. Les différents stades du embryonnaires pris en considération sont la blastula, la gastrula, le stade prisme, le plutés à 2 armes, le plutés à 4 armes, ainsi que les cellules dégénérées.

L'analyse statistique a été réalisée en utilisant plusieurs logiciels spécialisés, notamment StatView, Excel et GraphPad Prism. Ces outils ont permis non seulement de traiter les données avec précision, mais aussi de les illustrer graphiquement de manière claire et informative. Grâce à ces représentations graphiques, il a été possible de visualiser les tendances et les variations au cours des différentes phases du développement embryonnaire, facilitant ainsi l'interprétation des résultats.

Chapitre III

Résultats et discussions

I. Effet de l'huile essentielle du romarin et les vitamines (C et E) sur la fécondation chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus*

Lors de notre expérience, nous avons d'abord réalisé une fécondation pour obtenir une solution fécondée pour chacun des milieux préalablement préparés. L'observation au microscope optique nous a permis de constater la présence de la membrane de fécondation pour la plupart des ovocytes, ce qui confirme la bonne qualité de l'échantillon. Il est important de noter que le nombre de cellules non fécondées représentent une proportion négligeable et n'affectent pas la validité des résultats obtenus. Cette observation est mentionnée afin de fournir une transparence complète des données expérimentales.

II. Effet de l'huile essentielle du romarin sur le développement embryonnaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* après 2h, 24h, 48h et 72h

1. Résultats

1.1. A une concentration de 10 µl/ml

L'histogramme ci-dessous représente les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* en utilisant une concentration de 10 µl/ml de l'huile essentielle du romarin. Après 2h de fécondation, le stade blastula montre une dominance avec 85%. 24 heures après l'incubation, une prédominance du stade gastrula avec 79% et une présence du stade blastula avec 10% ainsi qu'au stade prisme qui est apparu précocement avec 1%. Le stade plutéus 4 armes étant le stade le plus développé représente 62% après 48h de fécondation suivie par le stade plutéus 2 armes avec 24% et finalement le stade prisme avec 1%. Après 72h et sur les 30% restants une prédominance du stade plutéus 4 armes avec 22% et présence du stade plutéus 2 armes avec 8% ont été observés (**Fig.28**).

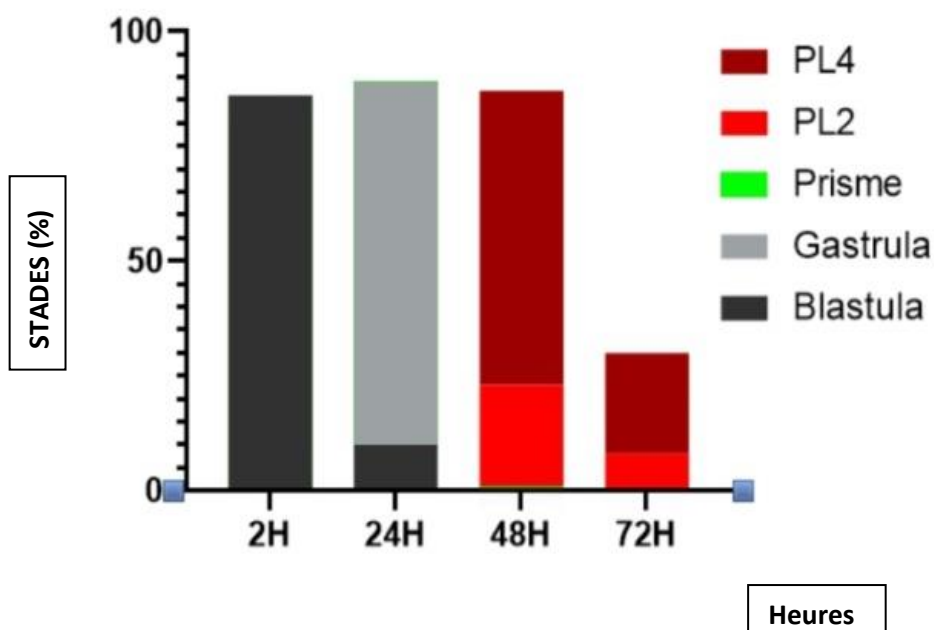


Fig. 28 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* avec une concentration de 10 µl/ml de l'huile essentielle du romarin.

1.2. Avec une concentration de 25 µl/ml

Les résultats relatifs aux pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* à une concentration de 25 µl/ml de l'huile essentielle du romarin ont montré qu'après 2h de fécondation une dominance du stade blastula avec 87% est observée. Après 24h, une prédominance du stade gastrula avec 61% est rapportée et une persistance du stade blastula avec 5%. Le stade prisme et le stade plutéus 2 armes sont apparus précocement avec 1% pour chacun. Après 48h de fécondation, le stade plutéus 4 armes qui est le plus développé présente un pourcentage de 82% suivi du stade plutéus 2 armes avec 5% et finalement le stade gastrula avec 2%. Après 72h et sur les 17% restant après la dégénérescence, le stade plutéus 4 armes représente 16% et une persistance du stade plutéus 2 armes avec 1% (**Fig.29**).

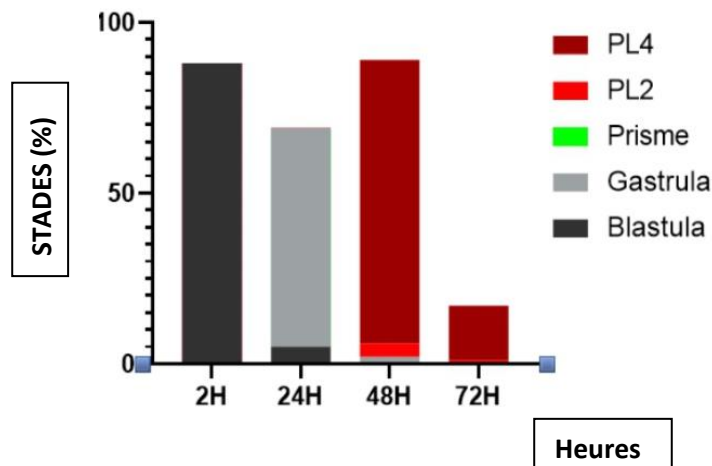


Fig. 29 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* avec une concentration de 25 µl/ml de l'huile essentielle du romarin.

1.3. A une concentration de 50 µl/ml

Les résultats du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* en utilisant une concentration de 50 µl/ml de l'huile essentielle de romarin sont représentés dans l'histogramme ci-dessous. Une dominance du stade blastula est constatée 2h après la fécondation avec 83%. Après 24h, un développement au stade gastrula a été enregistré dans 85% des cas et la présence du stade prisme et plutés 2 armes qui sont apparus précocement avec 1% chacun. 48h après la fécondation, une prédominance du stade plutés 4 armes qui est le plus développé avec 58% suivi du stade plutés 2 armes avec 10% et finalement le stade gastrula avec 3%. Après 72h, et sur les 23% restants on distingue le stade plutés 4 armes avec 16% et la présence du stade Plutés 2 armes avec 7% (**Fig.30**).

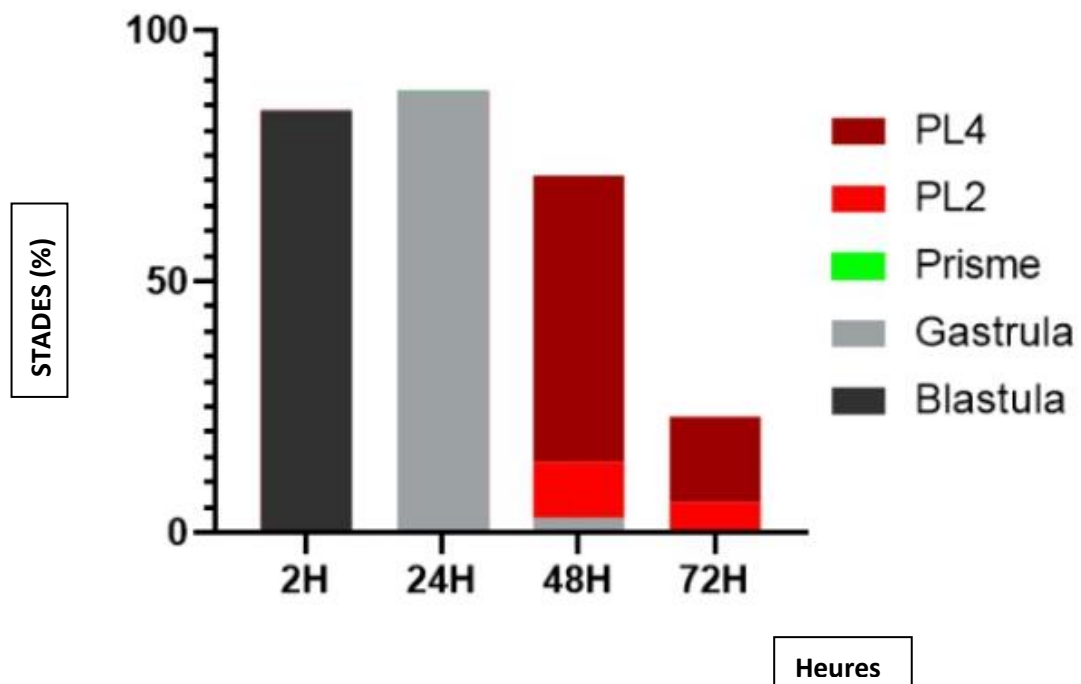


Fig. 30 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* avec une concentration de 50 µl/ml de l'huile essentielle du romarin.

1.4. A une concentration de 100 µl/ml

L'histogramme suivant illustre les taux de développement embryonnaire et larvaire chez *Paracentrotus Lividus* à une concentration de 100 µl/ml d'huile essentielle du romarin. Après 2 heures de fécondation, un développement au stade blastula a été remarqué avec 89 %. Après les 24 heures, le stade gastrula semble dominer avec 81 %, le stade prisme est apparu précocement avec 1 %. 48 heures après la fécondation, le stade plutéus 4 armes est le plus développé avec 51 %, suivi du stade plutéus 2 armes avec 6 % et enfin le stade prisme de 2 %. Après 72 heures, le stade plutéus 4 armes domine avec 26%, tandis que le stade plutéus 2 armes est présent avec 5%. (**Fig.31**).

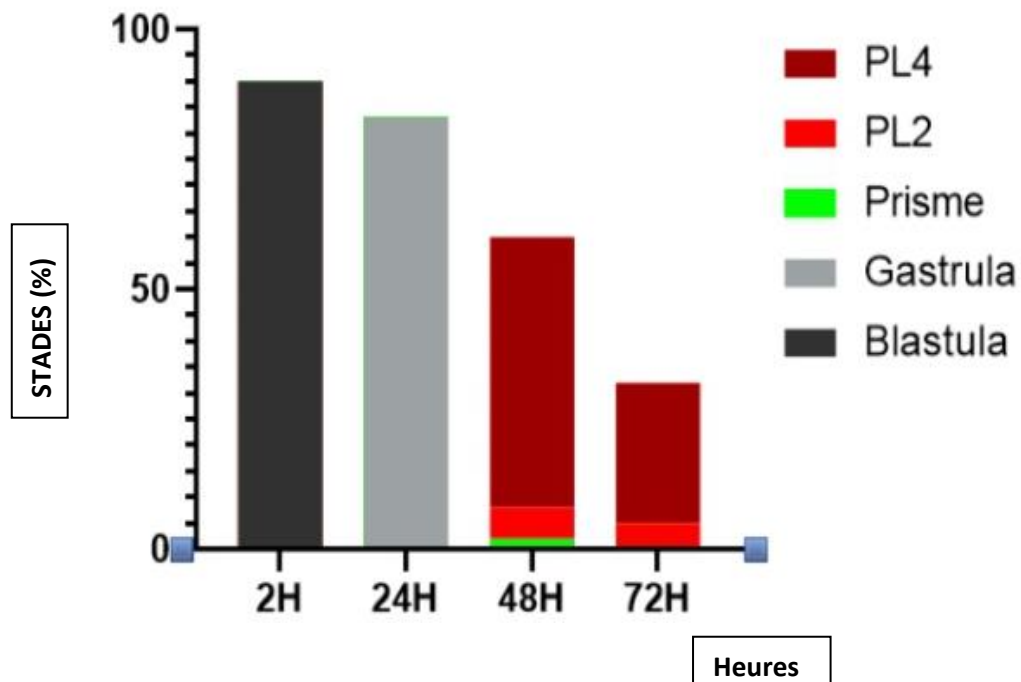


Fig. 31 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* avec une concentration de 100 µl/ml de l'huile essentielle du romarin.

1.5. A une concentration de 150 µl/ml

Le graphique ci-dessous représente les pourcentages du développement embryonnaire à une concentration de 150 µl/ml de l'huile essentielle du romarin. Après 2h de fécondation, le stade blastula est dominant avec 83%. 24h après, une prédominance du stade gastrula a été observée avec 71%, suivi du stade blastula avec 4% et la présence du stade prisme qui est apparu précocement avec 1%. Après 48h d'incubation, le stade plutéus 4 armes est le plus développé avec 63% suivi du stade gastrula avec 19% et finalement les stades prisme et plutéus 2armes avec 3% pour chacun. Après 72h, prédominance du stade plutéus 4 armes avec 30% suivi du stade plutéus 2 armes avec 10%, le stade gastrula avec 4% ainsi qu'au stade prisme avec 3% (ce qui indique un retard dans le développement de quelques cellules (**Fig.32**).

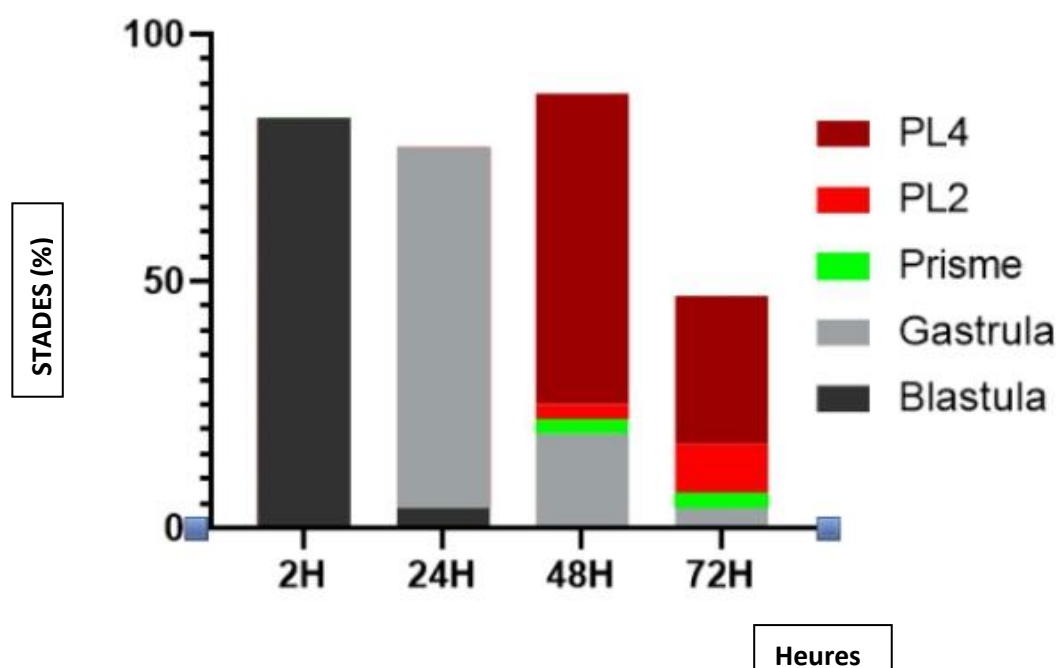


Fig. 32 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* avec une concentration de 150 µl/ml de l'huile essentielle du romarin.

1.6. Le contrôle

L'histogramme suivant représente les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* sans addition de l'huile essentielle du romarin ni de vitamines. Après 2h de fécondation, une dominance remarquable du stade blastula avec 92%. Après 24h, nous avons rapporté un développement du stade gastrula avec 72%, ainsi que la présence du stade prisme et plutéus 2 armes qui sont apparus précocement avec 1% pour chacun. Après les 48h, le stade plutéus 4 armes est le plus développé avec 46% suivi du stade plutéus 2 armes avec 30%, le stade gastrula persiste avec 1%. Après 72h, un pourcentage de 3% du stade plutéus 4 armes est observé et présence du stade plutéus 2 armes avec 1% (**Fig.33**). Voir en annexe le tableau récapitulatif des différents stades à différentes concentrations et différents temps.

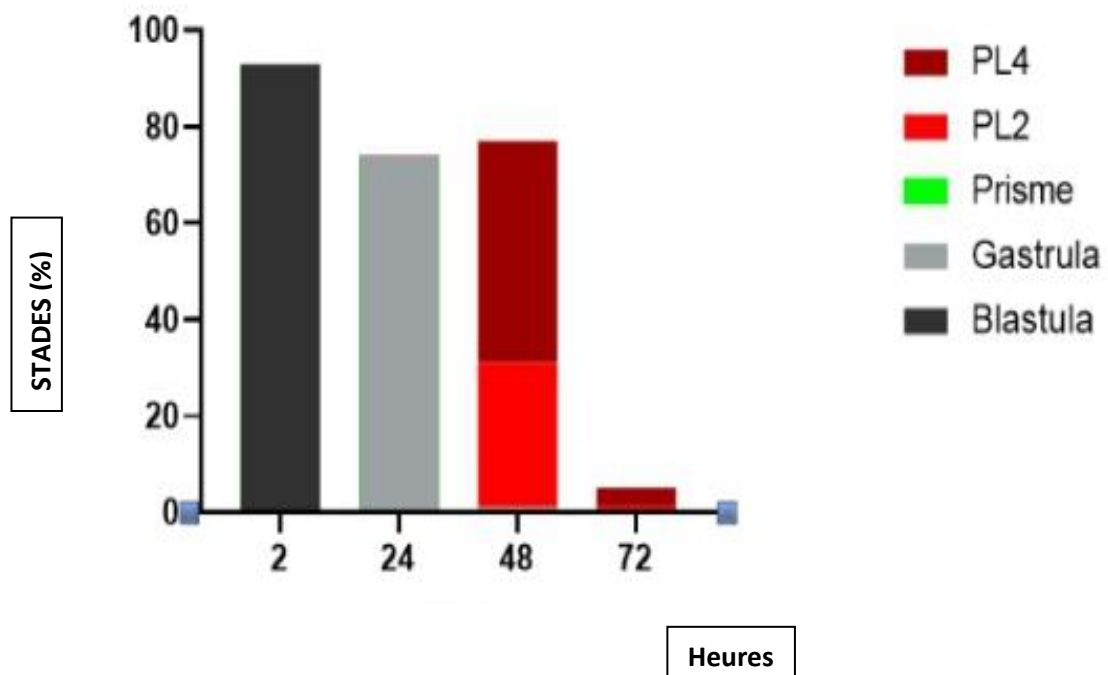


Fig. 33 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* dans le contrôle.

Quelques résultats en photos relatifs aux différents stades embryonnaires et larvaires observés en additionnant de l'huile essentielle de romarin sont rapportés dans la **figure 33**.

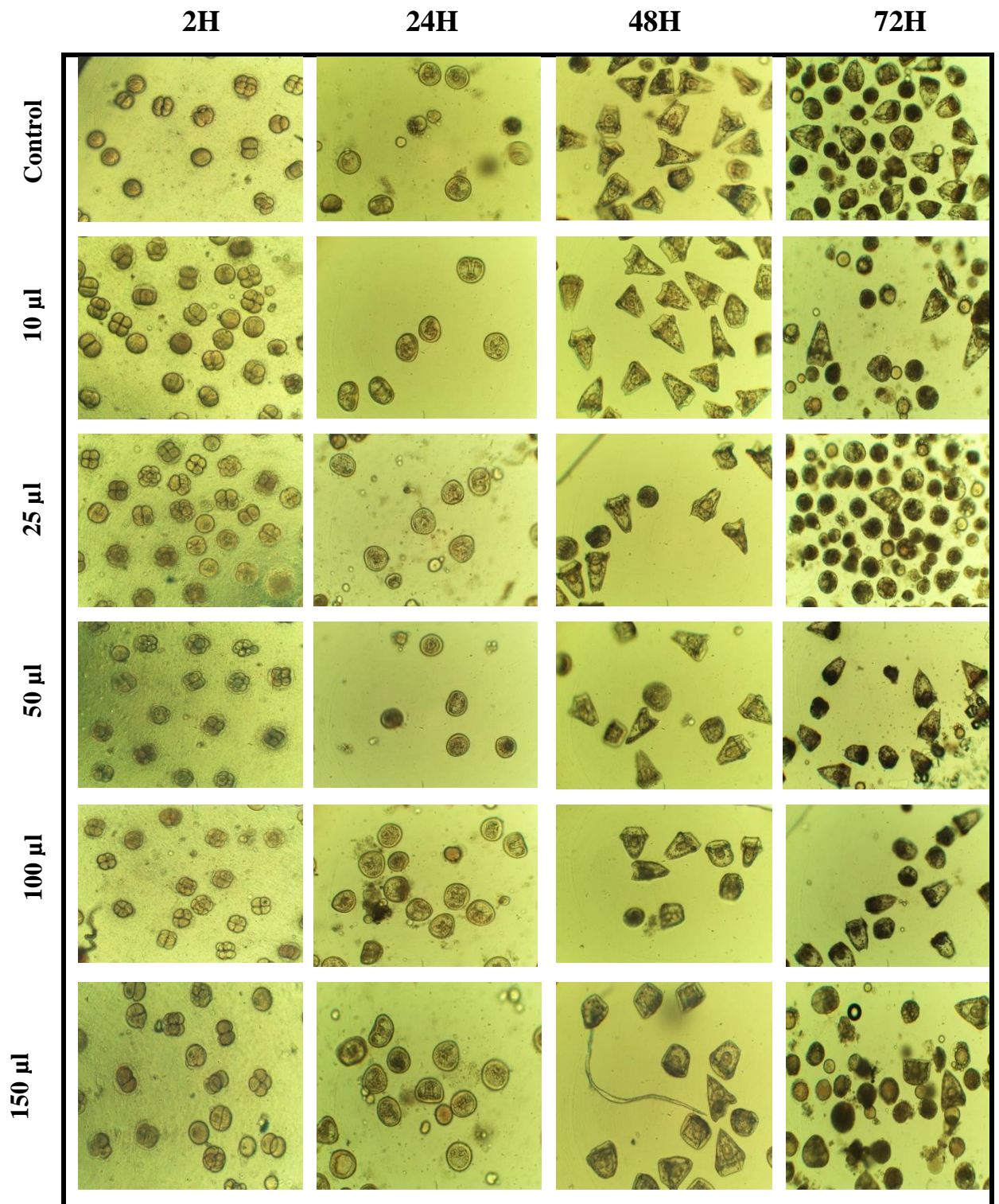


Fig. 34 : Effets de l'HE de Romarin sur la fécondation et le développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *P. lividus*.

2. Discussions

Le développement embryonnaire constitue une phase particulièrement sensible et délicate pour tous les organismes vivants, surtout pour ceux dont la fécondation se déroule en milieu externe, comme les oursins. Dans l'écosystème marin, les oursins, qu'ils soient adultes ou embryons, subissent en permanence diverses pressions environnementales. Ces pressions proviennent de facteurs à la fois internes et externes, y compris des activités humaines, qui engendrent un stress oxydatif et nitrosatif (Milito et al., 2020).

Les huiles essentielles de plantes et leurs constituants, produits du métabolisme secondaire des plantes, sont utilisés dans divers domaines tels que l'ethno-médecine, la cuisine et la préservation des aliments, ainsi que dans l'industrie des parfums et de la pharmaceutique. Les propriétés antimicrobiennes et anti oxydantes des huiles essentielles sont connues depuis longtemps et de nombreuses études ont été menées sur leurs activités antimicrobiennes à l'aide de diverses bactéries, virus et champignons (Stammati et al., 1999). Le romarin est particulièrement prisé grâce à ses composants pharmacologiques et antibactériens (González-Minero et al., 2020), ses feuilles riches en composés actifs tels que l'acide rosmarinique carnosol et l'acide carnosique, peuvent inhiber la croissance des micro-organismes, et ses polyphénols peuvent améliorer la capacité antioxydante de la conservation des aliments (Veenstra et Johnson, 2021).

Les résultats de cette étude ont montré que sans l'addition de l'huile essentielle du romarin (contrôle), le stade larvaire plutéus 4 armes le plus développé a été obtenu dans 46% des cas après 48h. Cependant, en rajoutant une concentration de 10µl/ml de l'huile essentielle du romarin dans les bacs de cultures un meilleur développement été remarqué avec 62% des cas, cela suggère que cette concentration pourrait avoir un effet stimulant. A une concentration de 25 µl/ml de l'HE du romarin le pourcentage des larvaires plutéus 4 armes atteint les 82% avec une différence remarquable, cela indique que cette concentration est particulièrement efficace pour stimuler le développement des stades larvaires. A cet égard, nous émettons l'hypothèse que l'huile essentielle du romarin pourrait avoir un effet stimulant dans le développement embryonnaire chez l'oursin *Paracentrotus lividus* en plus de ses activités anti oxydantes et antibactériennes qui sont déjà rapportées par plusieurs auteurs (Zaouali et al., 2010 ; Rašković et al., 2014 ; Becer, 2023). Les concentrations 50µl/ml, 100 µl/ml et 150 µl/ml de l'HE de romarin, ont montré un bon développement des embryons meilleur que le témoin mais inférieur à celui rapporté avec une concentration de 25µl/ml.

Par ailleurs, une étude réalisée au même laboratoire en 2023 par Aberbour-Assia et

al. (2023) a révélé l'utilité de l'injection in ovo de l'huile essentielle de romarin à une faible concentration pour une meilleure éclosion et un poids d'éclosion plus élevé chez la caille japonaise (*Coturnix coturnix japonica*).

La présente étude avait comme objectif d'explorer les effets de l'huile essentielle de romarin dans notre domaine de recherche pour acquérir des connaissances sur ses effets sur la fécondation et le développement larvaires de l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* prélevé dans la zone côtière de la wilaya de Bejaïa. Cette recherche s'est spécifiquement concentrée sur la façon dont plusieurs concentrations 10, 25, 50, 100, et 150 µl/ ml affectent sur le développement larvaire. Comme indiqué sur le tableau N° 01 en annexe : l'utilisation d'une concentration de 25 µl/ ml de l'huile essentielle de romarin stimule le développement des stades larvaires, et dépasser cette concentration peut réduire son efficacité. L'apparition des stades prisme et plutés à 2 armes précocement après 24H de fécondation, montre l'effet accélérant et stimulant de l'HE du romarin sur le développement embryonnaire de l'oursin.

Traditionnellement, il a été démontré que l'huile de romarin possède un certain nombre d'applications dans la gestion ou la guérison de nombreuses maladies telles que les maladies inflammatoires et le diabète sucré (Nieto *et al.*, 2018) et des bienfaits pour la santé tels que le potentiel hépatoprotecteur (Rašković *et al.*, 2014), anti-inflammatoire et antinociceptif (Takaki *et al.*, 2008), l'ADN- effets protecteurs (Slameňová *et al.*, 2011) et anticancéreux (Wang *et al.*, 2012). La présente étude montre que la stimulation du développement embryonnaire pourrait être un autre effet bénéfique de l'HE de romarin.

III. Effets des vitamines E, C, ainsi que leur association

1. Effet de la vitamine E (20 µl/ml) sur le développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* après 2h, 24h, 48h, et 72h

La figure suivante illustre les taux du développement embryonnaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* en utilisant de la vitamine E à une concentration de 20 µl/ml. Après 2h de fécondation, une dominance du stade blastula dans 94% des cas a été rapportée. Après 24h, une dominance du stade gastrula avec 97% ainsi que la présence du stade prisme et plutés 2 armes qui sont apparus précocement avec respectivement 1% chacun. Après 48h de fécondation seulement, le stade plutés 4 armes est le plus développé avec 45% suivi du stade plutés 2 armes avec 40%. Après 72h, on remarque la présence du stade plutés 4 armes avec 2% (Fig.35).

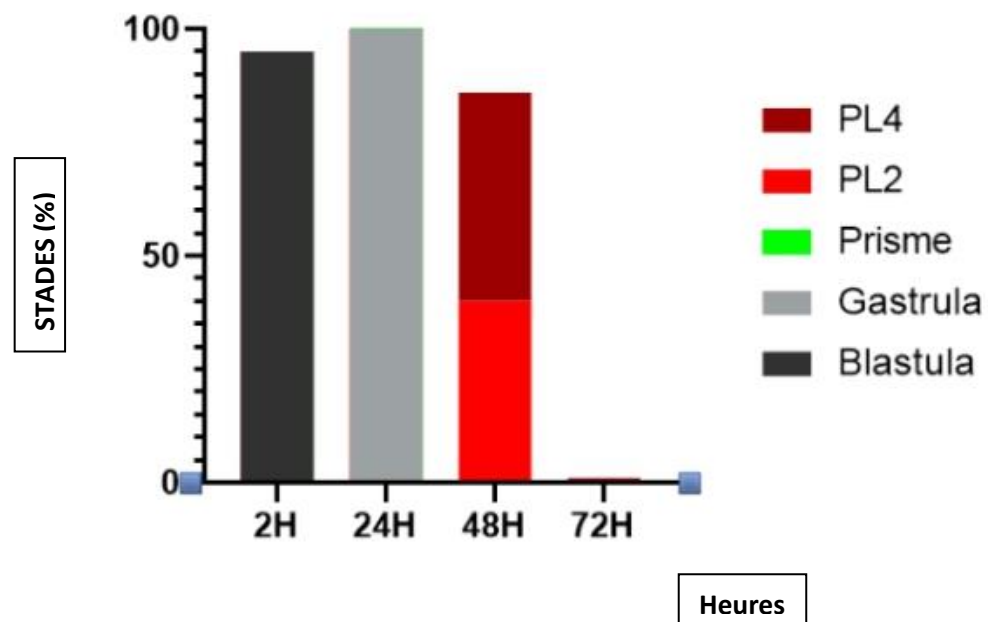


Fig. 35 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* en utilisant une concentration de 20 $\mu\text{l/ml}$ de vitamine E.

2. Effet de la vitamine C (20 $\mu\text{l/ml}$) sur la fécondation et le développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* sur 2h, 24h, 48h, et 72h.

Les résultats des pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* en utilisant une concentration de 20 $\mu\text{l/ml}$ de la vitamine C. Après 2h de fécondation, on remarque la dominance du stade blastula avec 87%. Après 24h, le stade gastrula est présent avec 98%, ainsi qu'aux stades prisme et plutéus 2 armes qui sont apparus précocement avec 1%. Après 48h de fécondation, le stade plutéus 4 armes est le plus développé avec 56% puis le stade plutéus 2 armes avec 32% et la présence du stade prisme avec 1%. Après 72h, présence du stade plutéus 4 armes avec 8% également le stade plutéus 2 armes avec 5% (**Fig.36**).

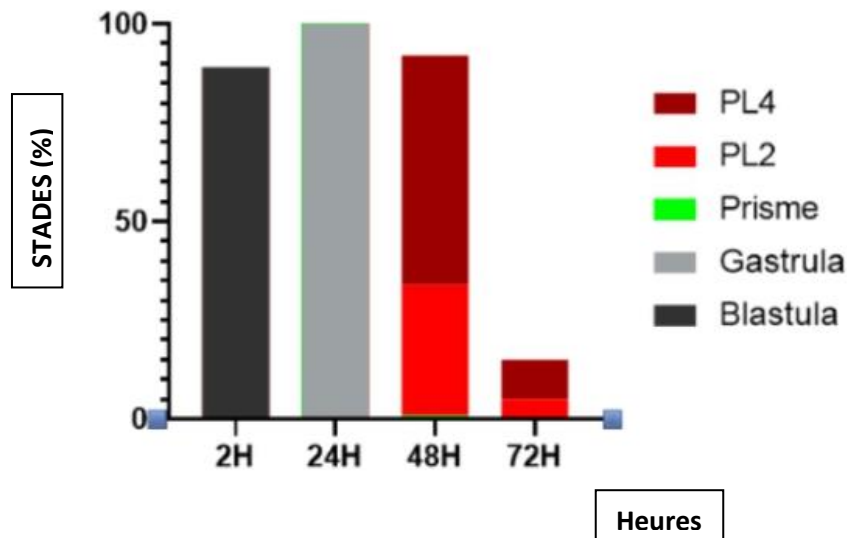


Fig. 36 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* en utilisant une concentration de 20 µl/ml de la vitamine C.

3. Effet de l'association vitamine E /vitamine C (20/20 µl/ml) sur la fécondation et le développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* sur 2h, 24h, 48h, et 72h

Les résultats relatifs aux pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* à une concentration de 20 µl/ml de l'association des deux vitamines E et C ont montré qu'après 2h de fécondation une dominance du stade blastula avec 94%. Après 24h, une prédominance du stade gastrula avec 90% est rapportée et une apparition du stade prisme et plutéus 2 armes qui sont apparus précocement avec 1% pour chacun. Après 48h de fécondation, le stade gastrula présente un pourcentage de 25% suivi du stade plutéus 4 armes avec 19% puis le stade plutéus 2 armes avec 7% et finalement le stade prisme avec 1%. Après 72h, aucun stade remarqué donc les cellules sont dégénérées (**Fig.37**).

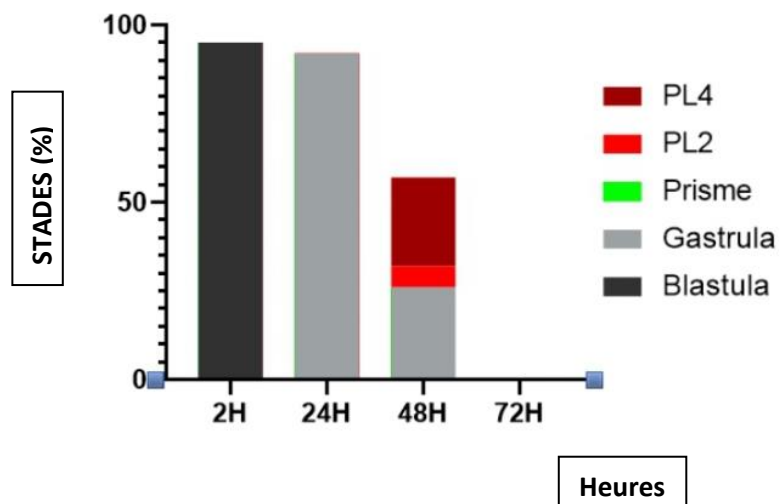


Fig. 37 : Histogramme représentant les pourcentages du développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* en utilisant une concentration de 20 μ l/ml de l'association de la vitamine E et la vitamine C.

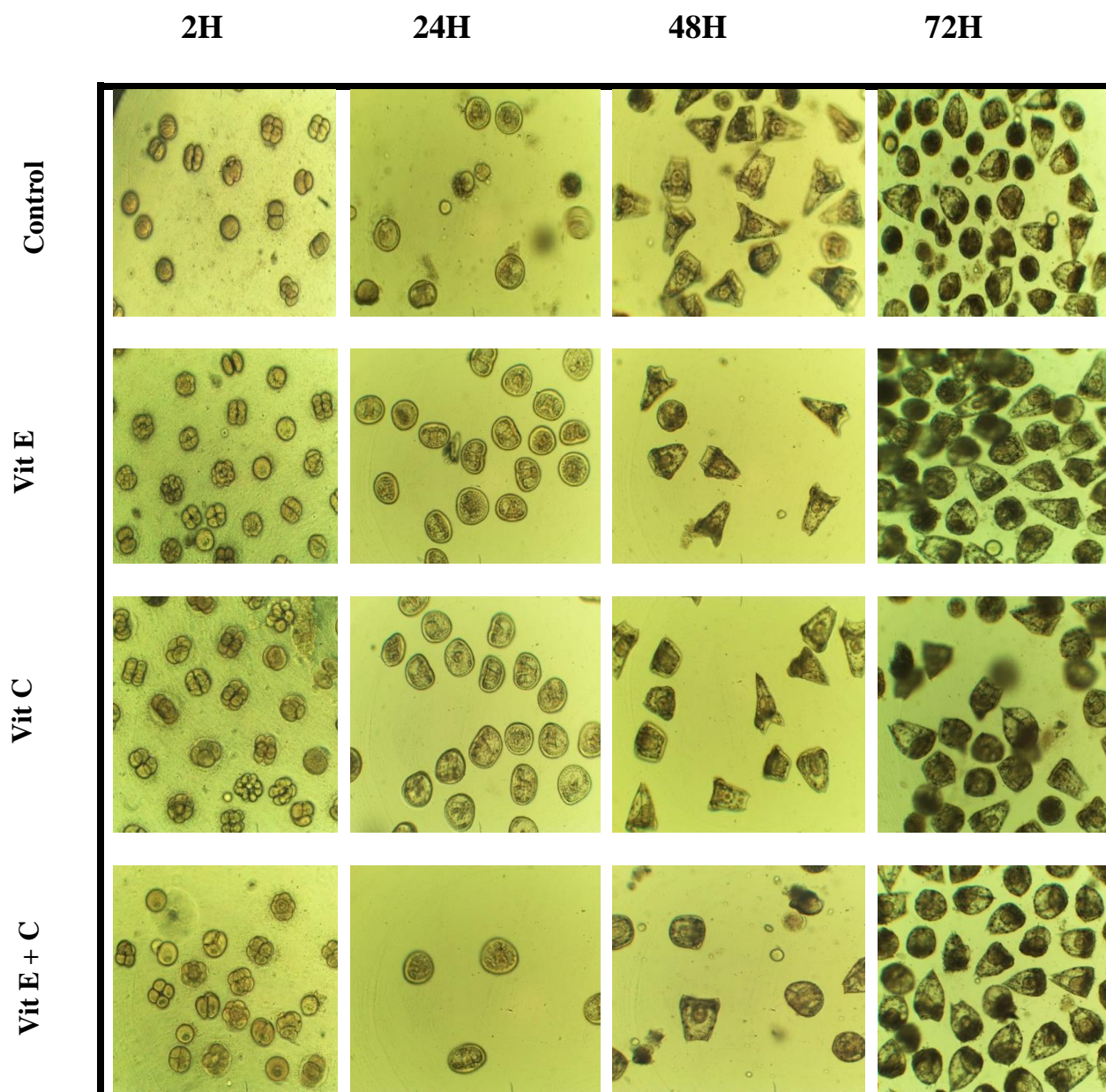


Fig. 38 : Effets de la vitamine E et C ainsi que leurs associations sur la fécondation et le développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *P. lividus*.

4. Discussions

La vitamine E est un micronutriment liposoluble essentiel c'est aussi un antioxydant puissant chez les animaux (Li, M., et al., 2023). Elle protège les cellules des radicaux oxygène in vivo et in vitro, et est considérée comme le principal piègeur de radicaux libres dans les membranes cellulaires des mammifères (Olson, S. E., et al 2000). Certaines études visaient à élucider les effets bénéfiques de la VE sur le système immunitaire et l'anti oxydation chez divers animaux aquatiques. La VE agit comme un extincteur pour les espèces réactives de l'oxygène (ROS) pour prévenir la peroxydation lipidique. Elle peut également réduire l'activité de la cyclooxygénase (COX)-2 et inhiber la synthèse de la prostaglandine E2 (PGE2), empêchant ainsi l'apparition d'une inflammation et d'un stress oxydatif (Li, M., et al., 2023). La vitamine E, reconnue pour son rôle en tant qu'antioxydant liposoluble, protège les membranes cellulaires contre les dommages induits par la peroxydation lipidique (Thiyagarajan et al., 2009).

Les résultats de cette étude ont montré qu'avec l'addition de la vitamine E à une concentration de 20 µl/ ml le stade pluteus 4 armes atteint après 48h est de 45% tandis que le contrôle présentait un taux de 46% de larves pluteus 4 armes. Cela indique que la supplémentation en vitamine E n'a pas eu d'effet notable par rapport au développement observé dans le groupe témoin. Par ailleurs, une différence de taille a été constatée mais que nous n'avons pas pu mesurer faute de temps. Il faut aussi signaler que nous n'avons testé qu'une seule concentration qui probablement pas suffisante pour apporter un effet notoire.

Il a été démontré que la vitamine E constituait le principal composant du système antioxydant chez les spermatozoïdes (Surai et al., 1998) et qu'elle est l'un des principaux protecteurs membranaires contre les ROS et la peroxydation lipidique (Akiyama, 1999). Il a été démontré également qu'un supplément de vitamine E augmenterait la production totale de spermatozoïdes et la concentration de spermatozoïdes chez les verrats (Brzezinska-Slebodzinska et al., 1995).

L'acide ascorbique ou vitamine C est un composant essentiel de l'alimentation humaine et d'une petite gamme d'autres mammifères. Il est associé à la fertilité depuis de nombreuses années (Millar, 1992). (Dawson et coll en 1992) ont indiqué une amélioration de viabilité des spermatozoïdes, une diminution de l'agglutination et du pourcentage d'anomalies. L'ajout de l'acide ascorbique à une culture embryonnaire peut influencer significativement le développement embryonnaire d'après Wang ; et al. (2002).

Les résultats de la présente étude ont montré que le stade larvaire pluteus 4 armes est atteint après 48h avec un taux de 46% au niveau du lot témoin. Cependant, l'addition d'une concentration de 20 μ l/ml de vitamine C a permis d'atteindre un taux de 56% de larves pluteus 4 armes après 48 h, cela suggère que cette concentration pourrait avoir un léger effet stimulant. A cet égard, nous émettons l'hypothèse que la vitamine C puisse avoir un effet bénéfique pour le développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus*.

Le but de cette partie était d'explorer l'effet de la vitamine C sur le développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun. Selon le tableau N° 02 en annexe des pourcentages de développement larvaire chez l'oursin *Paracentrotus Lividus*, l'addition de vitamine C semble retarder la dégénérescence ce qui a été déjà rapporté par (Wang ; et al., 2002) qui ont démontré l'effet antioxydant de la vitamine C sur beaucoup d'organes. Nos résultats montrent un effet positif stimulant sur le développement des stades larvaires chez l'oursin commun.

La combinaison de la vitamine E et de la vitamine C sur le développement larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* et les résultats n'ont pas montré un effet positif sur le développement embryonnaire et larvaire de l'association des 2 vitamines bien que certaines études ont montré des améliorations de la quantité et de la qualité du sperme grâce à des suppléments de vitamines C et E (Yousef, et al, 2003). Ceci nous interpelle à revoir les concentrations et refaire l'expérimentation pour bien cerner l'effet de l'association des vitamines sur le développement embryonnaire et larvaire.

IV. Pourcentage des cellules dégénérées 48h et 72h après la fécondation

1. Résultats

➤ Après 48h de fécondation

La figure suivante montre le pourcentage de cellules dégénérées après 48 heures de fécondation. Dans le control, 23 % des cellules ont dégénéré. Avec une concentration de 10 μ L/mL d'huile essentielle de romarin, 13% des cellules ont dégénéré. Cette proportion est réduite à 11 % avec une concentration de 25 μ L/mL. Cependant, une concentration de 50 μ L/mL entraîne une augmentation significative, avec 29% de cellules dégénérées. À 100 μ L/mL, le pourcentage atteint 41%. Une concentration de 150 μ L/mL de l'huile essentielle de romarin montre une diminution notable à 12% de cellules dégénérées. Pour la vitamine

C à une concentration de 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$, 5,8 % des cellules ont dégénéré, avec 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de vitamine E, 10 % des cellules ont dégénéré. Enfin, l'association des vitamines E et C à 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$ montre un taux élevé de 39,8 % de cellules dégénérées (**Fig. 39**).

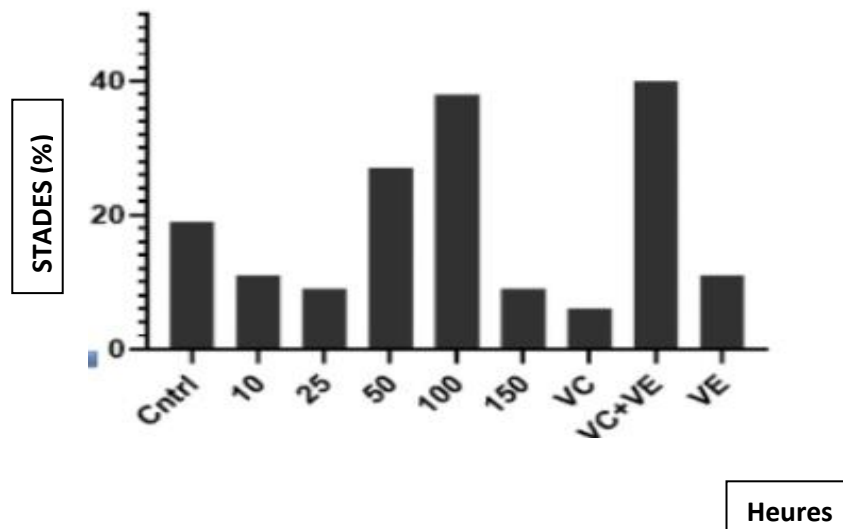


Fig. 39 : Histogramme représentant les pourcentages des cellules dégénérées chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* après 48h de fécondation.

➤ Après 72h de fécondation

La figure suivante présente le pourcentage de cellules dégénérées après 72 heures de fécondation. Dans le contrôle, 94 % des cellules sont dégénérées. Lorsque la concentration de l'huile essentielle de romarin est de 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$, le taux de dégénérescence cellulaire est de 70 %. À 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$, ce taux atteint les 83 %. Une concentration de 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$ montre à un taux de 77 % de dégénérescence, tandis que pour la concentration de 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$ a montré un taux de 69 %. Avec une concentration de 150 $\mu\text{L}/\text{mL}$, le pourcentage de cellules dégénérées est de 53%. En utilisant 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de vitamine C, 81 % des cellules dégénèrent, et 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de vitamine E seule provoquent un taux de dégénérescence de 96 %. L'association des vitamines E et C à cette même concentration entraîne la dégénérescence de 99 % des cellules (**Fig.40**).

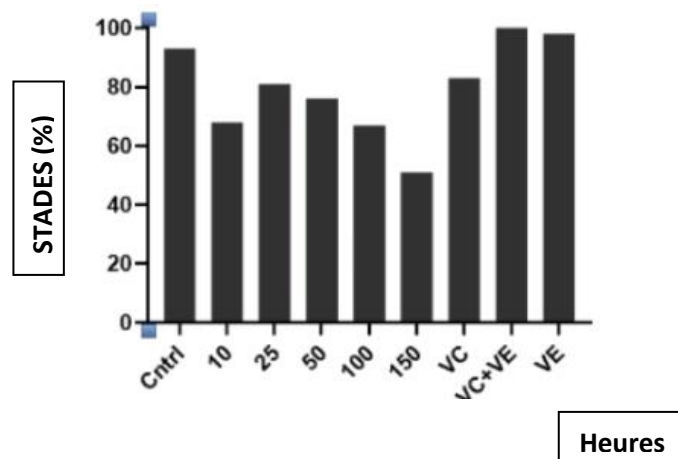


Fig. 40 : Histogramme représentant les pourcentages des cellules dégénérées chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* après 72h de fécondation.

2. Discussion

Dans cette partie de recherche, on a exploré l'effet de l'huile essentielle de romarin ainsi que les vitamines E et C sur les dégénérescences cellulaires après 48H et 72H de fécondation. Les résultats montrent que l'huile essentielle du romarin réduit le pourcentage de cellules dégénérées à certaines concentrations, les vitamines E et C réduisent également la dégénérescence. Tandis que leur combinaison entraîne une augmentation de la dégénérescence cellulaire.

Conclusion

Conclusion

L'objectif de cette étude était d'explorer l'effet de l'huile essentielle du romarin, de la vitamine E et de la vitamine C sur la fécondation et le développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* pêché dans la brise de mer (Béjaia).

Le taux de développement des différents stades larvaires a été déterminé à 2 heures, 24 heures, 48 heures, et 72 heures après la fécondation. L'utilisation de l'huile essentielle du romarin à différentes concentrations 10, 25, 50, 100, et 150 $\mu\text{l/ml}$ a montré un effet accélérant et stimulant sur le développement des stades larvaires. En plus de ses activités anti oxydantes et anti bactérienne déjà mise en évidence, il semblerait que cette huile peut avoir un effet stimulant et protecteur en réduisant le nombre de cellules dégénérés.

Il ressort de la présente étude que la concentration de 25 $\mu\text{l/ml}$ d'huile essentielle du romarin est la mieux adaptée pour promouvoir le développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus*.

Il ressort également que l'utilisation de la vitamine C à une concentration de 20 $\mu\text{l/ml}$ pourrait avoir un effet bénéfique stimulant sur le développement des stades larvaires et réduit les dégénérescences cellulaires. L'utilisation de la vitamine E à une seule concentration de 20 $\mu\text{l/ml}$ n'a pas eu d'effet notable par rapport au groupe témoin, sachant que tester une seule concentration n'est peut-être pas suffisant pour tirer des conclusions quant à son efficacité mais elle semble avoir un effet protecteur réduisant la dégénérescence embryonnaire.

La combinaison des deux vitamines à 20 $\mu\text{l/ml}$ n'a pas montré un effet positif ni sur le développement embryonnaire ni sur les dégénérescences bien que plusieurs études aient montré le contraire, ceci est probablement le résultat d'une mauvaise manipulation. D'ailleurs, il est recommandé de refaire l'expérimentation en utilisant d'autres concentrations pour bien cerner l'effet de la vitamine E et l'association des deux vitamines sur le développement larvaire chez l'oursin *Paracentrotus Lividus*.

En perspectives, il serait intéressant de poursuivre les recherches sur l'effet des huiles essentielles sur le développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus* en explorant une gamme plus étendue d'huiles et de concentrations pour déterminer les doses efficaces, ainsi que les potentiels effets toxiques à plus haute concentration.

Il serait par ailleurs pertinent de tester différentes combinaisons et concentrations des vitamines E et C pour évaluer leur effet cumulatif sur le développement embryonnaire et larvaire

Bien que cette étude se soit concentrée sur des périodes spécifiques (2H, 24H, 48H, et 72H après la fécondation). Il serait intéressant de mener des études à plus long terme pour observer les effets persistants de ces traitements sur le développement des oursins jusqu'à des stades plus avancés, voire adultes.

*Références
bibliographiques*

A

Aberbour, A., Touazi, L., Benberkane, A., Aissanou, S., Sherasiya, A., Iguer-Ouada, M., ... & Moula, N. (2023). The effect of in ovo administration of rosemary essential oil on hatchability, relative hatching weight, and embryo mortality rate in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Animals*, 13(7), 1217.

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

Azzolina JF (1987) Evolution à long terme des populations de l'oursin comestible *Paracentrotus lividus* dans la baie de Port-Cros (Var, France). In **Boudouresque CF** (ed) Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. GIS Posidonie, Marseille, pp 257-269.

B

Bakkali, F., Averbek, S., Averbek, D. et Idaomar, M. (2008). Effets biologiques des huiles essentielles – une revue. *Toxicologie alimentaire et chimique*, 46 (2), 446-475.

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

Becer, E., Altundağ, E. M., Güran, M., Vatanser, H. S., Ustürk, S., Hanoğlu, D. Y., & Başer, K. H. C. (2023). Composition and antibacterial, anti-inflammatory, antioxidant, and anticancer activities of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil. *South African Journal of Botany*, 160, 437-445.

Belakhdar J., 1997- La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ides PRESS (Ed). Paris, 764p.

Benikhlef A., 2014- Comparaison entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouargla. Mémoire Master. Université Abou bakr Belkaid-Tlemcen, 27p.

Bonaventura, R., Zito, F., Morroni, L., Pellegrini, D., Regoli, F., & Pansino, A. (2021). Development and validation of new analytical methods using sea urchin embryo bioassay to evaluate dredged marine sediments. *Journal of Environmental Management*, 281, 111862.

Boudouresque CF, Verlaque M, Azzolina JF, Meinesz A, Nédélec H, Rico V (1989) Evolution des populations de *Paracentrotus lividus* et d'*Arbacia lixula* (Echinoidea) le long d'un transect permanent à Galeria (Corse). *Trav Sci Parc Nat rég. Rés Nat Corse* 22 : 65-82

Références bibliographiques

Boudouresque, C. F., & Verlaque, M. (2001). Ecology of *Paracentrotus lividus*. *Developments in aquaculture and fisheries science*, 32, 177-216.

Boudouresque, CF, & Verlaque, M. (2001). Écologie de *Paracentrotus lividus*. *Développements en aquaculture et en sciences halieutiques*, 32, 177-216.

Boudouresque, CF, & Verlaque, M. (2013). *Paracentrotus lividus*. Dans *Développements en aquaculture et en sciences halieutiques* (Vol. 38, pp. 297-327). Elsevier.

Boué, H., Chanton, R., 1978. Zoologie I, Invertébrés. Ed. Doin, Paris, 713 p.

Brigelius-Flohé, R., & Traber, M. G. (1999). Vitamin E: function and metabolism.

Brown, L., Green, K., & Black, S. (2012). Antioxidant Vitamins and Marine Life: A Review. *Journal of Marine Science*, 30(2), 125-138.

C

Cannon, JT, Kocot, KM, Waits, DS, Weese, DA, Swalla, BJ, Santos, SR et Halanych, KM (2014). Résolution phylogénomique du clade des hémichordés et des échinodermes. *Biologie actuelle*, 24 (23), 2827-2832.

Carr, A., & Frei, B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(6), 1086-1107.

Cellario et Fenaux, 1987 : Croissance des juvéniles de *Paracentrus lividus* (Lmk) au cours de l'année qui suit la métamorphose. Étude expérimentale. In : Boudouresque C.F. ed ., Colloque international sur *Paracentrus lividus* et les oursins comestibles. GIS Posidonie publ., Marseille, Fr : 187-197.

Cook, E. J., & Kelly, M. S. (2007). Enhanced production of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in integrated open-water cultivation with Atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquaculture*, 273(4), 573-585.

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

Cuvelier, C., Dotreppe, O. et Istasse, L. (2003). Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann. Méd. Vét.*, 147, 315-324.

D

Doe, J. (2020). Impact of Bioactive Compounds on Marine Reproduction and Development. *Journal of Marine Biological Studies*, 45(2), 145-160.

Doe, J., & Black, S. (2018). Bioactive Compounds in Marine Organisms. *International Journal of Marine Biology*, 60(1), 78-89.

DUPHAR PHILIPS B.V.,1974-Duphar Vitamin Guide for Feedmen and Veterinarians. Amsterdam, Netherlands .103 p.

F

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

Fischer, W., Schneider, M., Bauchot, M.L., 1987. Fiche FAO d'identification des espèces pour des besoins de la pêche. Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37. Révision 1. Vol. I. Végétaux et Invertébrée. Publication préparée par la FAO, résultat d'un accord entre la FAO et la commission des communautés européennes (projet GCP/INT/422/EEC) financée conjointement par ces deux organisations. Rome. FAO. p.760.

Formery, L., Wakefield, A., Gesson, M., Toisoul, L., Lhomond, G., Gilletta, L., ... & Croce, J. C. (2022). Developmental atlas of the indirect-developing sea urchin *Paracentrotus lividus*: From fertilization to juvenile stages. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10, 966408.

Fusi E, Rebucci R, Pecorini C, Campagnoli A, Pinotti L, Saccone F, Cheli F, Purup S, Sejrnsen K, Baldi A (2010). Alpha-Tocopherol counteracts the cytotoxicity induced by ochratoxin A in primary porcine fibroblasts. *Toxins*. 2: 1265-1278.

G

Gilbert, S. F. (2010). *Developmental Biology* (9th ed.). Sinauer Associates.

Grosjean, F., 2001. Growth models of the reared sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). Thèse de doctorat. Université de Belgique. In : Utilisation de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) en tant que bioindicateur général de la qualité du milieu marin. Thèse de doctorat. Option : Biologie animale.

Guendouzi Y. 2011. Contribution à l'étude de l'impact de la pollution chimique sur l'herbier à Posidonie dans la baie d'Alger. Ecole nationale supérieure des sciences de la mer et aménagement du littoral. Ing d'état.

Guettaf, M., 1997. Contribution à l'étude de la variabilité du cycle reproductif (indice gonadique et histologique des gonades) chez *Paracentrotus lividus* (Echinodermata :

Echinoidae) en méditerranée Sud Occidentale (Algérie). Thèse. Doctorat. Option Océanologie. Université D'Aix-Marseille II. France. p.132.

H

Hanif, MA, Nisar, S., Khan, GS, Mushtaq, Z. et Zubair, M. (2019). Huiles essentielles. *Recherche sur les huiles essentielles : tendances en matière de biosynthèse, d'analyse, d'applications industrielles et de production biotechnologique*, 3-17.

Hilan, C., Bouaoun, D., Aoun, J., Sfeir, R., & Garabeth, F. (2009). Antimicrobial properties and toxicity by LD 50 determination of an essential oil of Prangos asperula Boissier. *Phytothérapie*, 7, 8-14.

J

Jones, M., Thompson, A., & Williams, R. (2015). Environmental Factors Affecting Sea Urchin Fertilization. *Marine Biology Journal*, 45(3), 234-245.

K

Kempf M(1962) Recherches d'écologie comparée sur Paracentrotus lividus (Lmk.) et Arbarcia lixula (L.). *Rec Trav Stat Mar Endoume* 25:47-116

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

L

Laouici, N., & Benabdelkader, M. E. (2020). *Activité antimicrobienne et composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait brut de l'espèce Rosamrinus officinalis L* (Doctoral dissertation, Université de Jijel).

Le Gall, P., 1987. La pêche des oursins en Bretagne. In : Boudouresque, C.F. (Ed), Colloque international sur Paracentrotus lividus et les oursins comestibles. GIS Posidonie Publ., Marseille, pp. 331-324.

Le Gall, P., Bucaille, D., Dutot, P., 1989. Resistance aux variations de salinité chez Paracentrotus et Psammechinus. *Vie Mar. H.S.*, 10: 83 - 84.

Leahy, P. S. (1986). Laboratory culture of Strongylocentrotus purpuratus adults, embryos, and larvae. *Methods in Cell Biology*, 27, 1-13.

Li, M., Gou, D., Gong, P., Di, W., Wang, L., Ding, J., ... & Zuo, R. (2023). An Investigation on the Effects of Dietary Vitamin E on Juvenile Sea Urchin (Strongylocentrotus intermedius) : Growth, Intestinal Microbiota, Immune Response, and Related Gene Expression. *Biology*, 12(12), 1523.

Limatola, N., Vasilev, F., Chun, J. T., & Santella, L. (2019). Sodium-mediated fast electrical depolarization does not prevent polyspermic fertilization in *Paracentrotus lividus* eggs. *Zygote*, 27(4), 241-249.

Ilain JY (1975) Structure des populations de *Paracentrotus lividus* (Lamarck) (Echinodermata, Echinoidea) soumises à lapêche sur les côtes Nord de Bretagne. *Rev Trav Inst PêchesMarit* 39 : 171-212.

M

Machado, I., Moura, P., Pereira, F., Vasconcelos, P., & Gaspar, M. B. (2019). Reproductive cycle of the commercially harvested sea urchin (*Paracentrotus lividus*) along the western coast of Portugal. *Invertebrate Biology*, 138(1), 40-54.

Mansour, R. et Aljoubbeh, M. (2014). L'effet de la durée de stockage et de l'humidité sur le niveau de vitamine C dans le lait en poudre pour bébé après ouverture de l'emballage.

Monchez, O. (2001). Effets Des Anti-oxydants Sur la Motilité, la Viabilité Et la Capacité de Fécondation in Vitro Des Spermatozoïdes Porcins. National Library of Canada= Bibliothèque nationale du Canada, Ottawa.

Mortensen T (1927) Handbook of the echinoderms of the British Isles. University Press, Oxford

Mos, B., Byrne, M., & Dworjanyn, S. A. (2020). Effects of low and high pH on sea urchin settlement, implications for the use of alkali to counter the impacts of acidification. *Aquaculture*, 528, 735618.

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

Mutlu-Ingok, A., Devecioglu, D., Dikmetas, DN, Karbancioglu-Guler, F. et Capanoglu, E. (2020). Activités antibactériennes, antifongiques, antimycotoxigènes et antioxydantes des huiles essentielles : une revue mise à jour. *Molécules*, 25 (20), 4711.

N

Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R. et De Feo, V. (2013). Effet des huiles essentielles sur les bactéries pathogènes. *Produits pharmaceutiques*.

O

Olson, S. E., & Seidel Jr, G. E. (2000). Culture of in vitro-produced bovine embryos with vitamin E improves development in vitro and after transfer to recipients. *Biology of reproduction*, 62(2), 248-252.

P

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

Patrissi M., Astrou A., Pére A., Pelaprat C. 2014. Réalisation d'une étude biologique et halieutique sur l'oursin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) en Corse. (PDF) *Réalisation d'une étude biologique et halieutique sur l'oursin Paracentrotus lividus (Lamarck, 1816) en Corse.*

Pavillon, J., 1997. Utilisation d'un analyseur de particules en écologie marine expérimentale. Application à l'étude de l'effet de différents paramètres sur la croissance du pluteus d'oursin *Arbacia lixula*. *J. Rech. Océanogr.*, 3(3) :21-34.

R

Rašković, A., Milanović, I., Pavlović, N., Čebović, T., Vukmirović, S., & Mikov, M. (2014). Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1), 225.

Régis, M.B., 1978. Croissance des deux Echinoides du Golf de Marseille (*Paracentrotus lividus* (Lmk) 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.

Régis, M.B., 1979. Analyse des indices physiologiques chez deux échinoides *Paracentrotus lividus* (Lmk) et *Arbacia lixula* (L.) du golfe de Marseille. *Téthys*, 9 : 167 - 181.

Roohinejad, S., Koubaa, M., Barba, FJ, Saljoughian, S., Amid, M. et Greiner, R. (2017). Application des algues pour développer de nouveaux produits alimentaires ayant une durée de conservation, une qualité et des propriétés bénéfiques améliorées pour la santé. *Recherche alimentaire internationale*, 99, 1066-1083.

Roule, L., Suis, M.A., Moquin-Tandon, M.G., 1889. Cours de zoologie médicale. Edition Privat. France. p.662.

Ruiz B. G., 2020. Prédiction de la dégradation de la vitamine C en conditions de traitement thermique : étude en milieu modèle liquide entre 50 et 90 °C. thèse de Doctorat en Génie des procédés. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech). Paris, 179p.

Ruocco, N., Bertocci, I., Munari, M., Musco, L., Caramiello, D., Danovaro, R., ... & Costantini, M. (2020). Morphological and molecular responses of the sea urchin *Paracentrotus lividus* to highly contaminated marine sediments: The case study of

BagnoliCoroglio brownfield (Mediterranean Sea). *Marine environmental research*, 154, 104865.

S

Sarkar N., Srivastava P. K. et Dubey V. K., 2009. Understanding the language of vitamin C. *Current Nutrition & Food Science*, 5(1): 53-55. 53. Schwartz E., 2016. La Vitamine C. Monographie Université du Québec à Chicoutimi DESS de Cosmétologie. 30p.

Sharma, P., Ahuja, A., Izrayeel, A. M. D., Samyn, P., & Rastogi, V. K. (2022). Physicochemical and thermal characterization of poly (3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) films incorporating thyme essential oil for active packaging of white bread. *Food Control*, 133, 108688.

Smith, J., & Brown, R. (2019). Potential Applications of Marine Bioactives in Medicine. *Medical Marine Research*, 22(3), 123-135.

Smith, J., Brown, R., & Green, K. (2010). Biology of Sea Urchins: Development and Reproduction. *Academic Press*.

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

Spirlet, C., Grosjean, P. et Jangoux, M. (2020). Différenciation de l'appareil génital chez un échinoïde juvénile (*Paracentrotus lividus*). Dans *Les échinodermes à travers le temps* (pp. 881-886). Presse CRC.

Stefánsson, G., Kristinsson, H., Ziemer, N., Hannon, C., & James, P. (2017). Markets for sea urchins: a review of global supply and markets. *Skýrsla Matís*, 45, 10-17.

T

Tappel, A. L., 1970. Biological antioxidant protection against lipid peroxide damage. *Am J. Clin. Nutr.* 23 :1137.

Taylor, J., Brown, L., & Doe, J. (2019). Rosemary Extracts and Their Impact on Marine Life. *Marine Phytotherapy Research*, 28(3), 234-242.

Thiyagarajan, B. et Valivittan, K. (2009). Effet améliorant de la vitamine E sur le développement in vitro d'embryons de buffle préimplantatoires. *Journal de procréation assistée et de génétique*, 26, 217-225.

Tomas, F., Romero, J., & Turon, X. (2004). Settlement and recruitment of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in two contrasting habitats in the Mediterranean. *Marine Ecology Progress Series*, 282, 173-184.

Tortonese E (1965) Fauna d'Italia, Echinodermata. Edizioni Calderini, Bologna.

Y

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

Verlaque M (1987a) Relations entre *Paracentrotus lividus*(Lamarck) et le phytobenthos de Méditerranée occidentale. In : Boudouresque CF (ed) Colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. GIS Posidonie, Marseille, pp 5-36.

VIGNOLA C.L., 2002- Science et technologie du lait –Transformation du lait, École polytechnique de Montréal. ISBN. pp. 29-34.

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

W

White, P., & Green, S. (2018). Effects of Antioxidants on Marine Reproductive Health. *Marine Environmental Research*, 50(4), 289-298.

Williams, R., Thompson, A., & Taylor, J. (2020). Role of Vitamins C and E in Marine Organism Development. *Aquatic Biology Journal*, 39(1), 12-20

Y

Yousef, M. I., Abdallah, G. A., & Kamel, K. I. (2003). Effect of ascorbic acid and vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits. *Animal reproduction science*, 76(1-2), 99-111.

Yu, JQ, Lei, JC, Zhang, XQ, Yu, HD, Tian, DZ, Liao, ZX et Zou, GL (2011). Activités anticancéreuses, antioxydantes et antimicrobiennes de l'huile essentielle de *Lycopus lucidus* Turcz. var. *Hirtus* Regel. *Chimie alimentaire*, 126 (4), 1593-1598.

Z

Zoubeidi C., 2004- Etude Antioxydants dans le *Rosmarinus Officinalis*. Labiatea. Mémoire Magister. Université Ouargla, 47p.

Zuber, B., Faddetta, T., Palazzotto, E., Strati, F., Catania, C., Ardizzone, F... & Puglia, A. (2016). Characterization of the microbiota from coelomic fluid of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. In *XIV FISV Congress* (pp. 44-44).

Annexes

Tableau N° 1 : Tableau récapitulatif des pourcentages de développement larvaire chez l'oursin *Paracentrotus Lividus* avec différentes concentrations de l'HE du romarin sur **2H, 24H, 48H, 72H**.

Avec 10µl/ml de l'HE du romarin							
Heure/stades	Blastula	Gastrula	Prisme	PI 2 armes	PI 4 armes	Cellules dégénérées	Total
2H	85%	/	/	/	/	15%	100%
24H	10%	79%	1%	/	/	10%	100%
48H	/	/	1%	24%	62%	13%	100%
72H	/	/	/	8%	22%	70%	100%
Avec 25µl/ml de l'HE du romarin							
2H	87%	/	/	/	/	13%	100%
24H	5%	61%	1%	1%	/	32%	100%
48H	/	2%	/	5%	82%	11%	100%
72H	/	/	/	1%	16%	83%	100%
Avec 50µl/ml de l'HE du romarin							
2H	83%	/	/	/	/	17%	100%
24H	/	85%	1%	1%	/	13%	100%
48H	/	3%	/	10%	58%	29%	100%
72H	/	/	/	7%	16%	77%	100%
Avec 100µl/ml de l'HE du romarin							
2H	89%	/	/	/	/	11%	100%
24H	/	81%	1%	/	/	18%	100%
48H	/	/	2%	6%	51%	41%	100%
72H	/	/	/	5%	26%	69%	100%
Avec 150µl/ml de l'HE du romarin							
2H	83%	/	/	/	/	17%	100%
24H	4%	71%	1%	/	/	24%	100%
48H	/	19%	3%	3%	63%	12%	100%
72H	/	4%	3%	10%	30%	53%	100%
Le contrôle							
2H	92%	/	/	/	/	8%	100%
24H	/	72%	1%	1%	/	26%	100%
48H	/	1%	/	30%	46%	23%	100%
72H	/	/	/	2%	3%	94%	100%

Tableau N° 2 : Tableau récapitulatif des pourcentages de développement larvaire chez l'oursin *Paracentrotus Lividus* a une concentration de **20 µl/ml** de la vitamine **E** et **C** et leur association.

A 20 µl/ml de la vitamine E							
Heures/ stades	Blastula	Gastrula	Prisme	Plutéus 2 armes	Plutéus 4 armes	Cellules dégénérées	Total
2H	94%	/	/	/	/	6%	100%
24H	/	97%	1%	1%	/	1%	100%
48H	/	/	/	40%	45%	15%	100%
72H	/	/	/	/	2%	98%	100%
A 20 µl/ml de la vitamine C							
2H	87%	/	/	/	/	13%	100%
24H	/	98%	1%	1%	/	0%	100%
48H	/	/	1%	32%	56%	11%	100%
72H	/	/	/	5%	8%	87%	100%
A 20 µl/ml de l'association de la vitamine E et C							
2H	94%	/	/	/	/	6%	100%
24H	/	90%	1%	1%	/	8%	100%
48H	/	25%	1%	7%	19%	48%	100%
72H	/	/	/	/	/	100%	100%
Le contrôle							
2H	92%	/	/	/	/	8%	100%
24H	/	72%	1%	1%	/	26%	100%
48H	/	1%	/	30%	46%	23%	100%
72H	/	/	/	2%	3%	94%	100%

Résumé

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet de l'huile essentielle du romarin, de la vitamine E et C sur la fécondation et le développement embryonnaire et larvaire chez l'oursin commun *Paracentrotus Lividus*. L'expérience a été menée en utilisant plusieurs concentrations de l'huile essentielle du romarin (10, 25, 50, 100, et 150 µl/ml) ainsi qu'une concentration de 20 µl/ml de la vitamine E et de la vitamine C et leur combinaison. Les taux de développement des différents stades embryonnaires ont été déterminés à 2H, 24H, 48H, et 72H. La concentration de 25 µl/ml de l'huile essentielle de romarin a favorisé de meilleurs développements pour les larves d'oursin *Paracentrotus Lividus*. La concentration de 20 µl/ml de la vitamine C a stimulé le développement larvaire, tandis que la vitamine E et l'association des deux vitamines (E et C) n'ont pas montré un effet notable sur les taux de développement des stades embryonnaires et larvaires.

Mots clé :

Paracentrotus Lividus, oursin commun, stades larvaires, développement embryonnaire, HE de romarin, vitamine E, vitamine C, fécondation, concentration, pluteus.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of rosemary essential oil, vitamin E and C on fertilization and embryonic and larval development in the common sea urchin *Paracentrotus lividus*. The experiment was carried out using several concentrations of rosemary essential oil (10, 25, 50, 100, and 150 µl/ml) as well as a concentration of 20 µl/ml of vitamin E and C and their combination. The development rates of the different embryonic stages were determined at 2H, 24H, 48H, and 72H. The concentration of 25 µl/ml of rosemary essential oil promoted better development for *Paracentrotus Lividus* sea urchin larvae. A concentration of 20 µl/ml of vitamin C was found to enhance larval development, whereas vitamin E and the combination of both vitamins (E and C) did not display a notable impact on the rates of development during the embryonic and larval stages.

Keywords:

Paracentrotus Lividus, common sea urchin, larval stages, embryonic development, rosemary EO, vitamin E, vitamin C, fertilization, concentration, pluteus.