

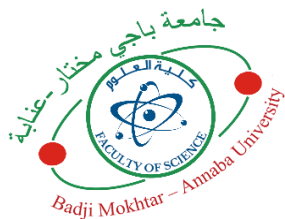
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR-  
ANNABA

جامعة باجي مختار-  
عنابة



FACULTÉ DES SCIENCES  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE  
LABORATOIRE D'EXCELLENCE DE BIOLOGIE ANIMALE  
APPLIQUÉE

Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat LMD  
Domaine : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES  
Spécialité : BIOLOGIE ANIMALE

**Intitulé**

Caractérisation morphologique, moléculaire et toxicologique des  
Polychètes du genre *Perinereis* affectés par des contaminants au  
littoral Est Algérien

**Presentée par : M<sup>lle</sup> MOUMENI Nahla**

**Directeur de thèse : Mr Tarek DAAS (Pr. Université Badji Mokhtar - Annaba)**

**Devant un jury composé de :**

Pr. Hamid BOUDJELIDA	Président	Université Badji Mokhtar Annaba
Pr. Salima CHOUAHDA	Examinatrice	Université Badji Mokhtar Annaba
Pr. Moussa HOUHAMDI	Examineur	Université 8 Mai 1945 - Guelma
Dr. Seyf Eddine MERZOUG	Examineur	Centre Universitaire de Mila

Année universitaire : 2024-2025

# **REMERCIEMENTS**

## REMERCIEMENTS

*En premier lieu, je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers Dieu, dont la guidance et le soutien m'ont accompagnée tout au long de ce parcours. Sa bienveillance m'a permis de cultiver résilience, persévérance et sérénité, éléments essentiels à l'aboutissement de cette thèse.*

*Je tiens à exprimer mes plus sincères remerciements à **Pr. Hamid BOUDJELIDA**, Président du jury et directeur du laboratoire d'excellence de biologie animale appliquée, pour l'honneur qu'il m'accorde en acceptant de présider cette soutenance de thèse. Sa disponibilité et son intérêt pour ce travail reflètent son engagement envers la recherche scientifique et académique.*

*Mes remerciements les plus chaleureux vont à mon directeur de thèse, **Pr. Tarek DAAS**, dont l'encadrement attentif et bienveillant a été une source constante de soutien tout au long de mon parcours universitaire. Depuis mes débuts en licence, en passant par le master, jusqu'à l'achèvement de ce doctorat, il a été un mentor inestimable. Sa rigueur scientifique, ses conseils éclairés et sa patience infaillible ont enrichi ce travail de recherche et renforcé mes compétences académiques et professionnelles.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à **Pr. Salima CHOUAHDA** pour avoir accepté d'évaluer cette thèse. Son expertise scientifique et ses remarques constructives contribueront sans aucun doute à enrichir ce travail. Je suis honorée de bénéficier de son regard critique et de son engagement dans cette évaluation.*

*Je remercie sincèrement **Pr. Moussa HOUHAMDI** à l'université 8 mai 1945 de Guelma pour l'intérêt qu'il porte à cette recherche. Ses observations éclairées et ses analyses pertinentes seront précieuses pour améliorer la qualité de l'étude. Je suis particulièrement reconnaissante pour le temps et l'investissement qu'il y consacre.*

*Je tiens également à exprimer mes remerciements à **Dr. Seyf Eddine MERZOUG** Maître de conférence A à l'université Abdelhafid Boussouf de Mila, pour son implication dans l'évaluation de cette thèse. Ses conseils avisés et son regard analytique seront d'une grande aide pour le perfectionnement de ce travail. Son engagement dans cette démarche scientifique est une marque d'honneur pour moi.*

*Ma reconnaissance s'adresse aussi à Pr. Ouided DAAS MAAMCHA, dont le soutien inébranlable depuis mes débuts universitaires a marqué chaque étape de mon parcours. Son écoute attentive, ses conseils avisés et son engagement généreux ont enrichi mon développement académique et personnel. Son rôle dans la réussite de cette thèse a été déterminant, et je lui en suis profondément reconnaissante.*

*Mes remerciements vont également à Pr. Nourredine SOLTANI, ancien directeur du laboratoire de biologie animale appliquée, pour son rôle clé dans l'établissement d'un cadre de recherche stimulant, propice à l'épanouissement intellectuel.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à l'ensemble des enseignants du laboratoire de biologie animale appliquée de l'Université Badji Mokhtar Annaba pour leur soutien constant et leurs échanges scientifiques enrichissants. Leur engagement et leur disponibilité ont contribué de manière significative à mon développement académique et à l'aboutissement de cette recherche.*

*Je remercie tout particulièrement Pr. Samira YEZLI TOUIKER, Dr. Djaouida ABDERAHIM, Pr Nassima REHIMI, Pr. Fatiha BENDALI- SAOUDI, Pr. Hinda BERGHICHE et Pr. Wahida AYAD pour leur rôle essentiel dans ma formation. Leur encadrement bienveillant, leurs précieux conseils et leur expertise scientifique ont été des atouts majeurs tout au long de mon parcours.*

*J'exprime également ma profonde gratitude au Pr. Choukri BAAROUR de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mohamed-Chérif Messaadia de Souk Ahras, pour sa disponibilité, ses encouragements, ses conseils scientifiques et sa précieuse collaboration, qui m'ont été d'une grande utilité au cours de mes recherches.*

*Mes remerciements s'étendent également à Dr. Ahmed Sofiane BOUDINAR au département des sciences de la mer de l'université Badji Mokhtar Annaba, dont les conseils éclairés et l'appui constant m'ont été d'une grande aide dans l'avancement de mes travaux.*

*Je suis également reconnaissante envers les anciens doctorants devenus docteurs : Dr. Saïd RAMDANI, Dr. Hiba REZZAG MAHCENE, Dr. Abdelhak SEBBIH et Dr. Naoufel BELFETMI. Leur soutien constant, le partage de leur expérience et la qualité de leurs conseils ont apporté une aide précieuse à mes travaux scientifiques et ont grandement contribué à l'avancement de ma thèse de doctorat.*

*Mes remerciements vont également à l'ensemble des doctorants et docteurs du laboratoire, ainsi qu'aux membres des autres laboratoires de l'Université Badji Mokhtar Annaba, pour leur esprit de solidarité et leur collaboration. Je tiens à souligner le soutien précieux de **Nesma Abir DAAS, Imen BALI, Amina YEZLI, Rached HADIBY, Abdelaziz FRIH et Ramzi BARAKAT**, dont l'aide, les encouragements et l'entraide ont joué un rôle significatif dans l'accomplissement de cette thèse.*

*Enfin, je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à **Mme Dalila LADJAMA**, technicienne du laboratoire, pour son professionnalisme, sa disponibilité et son soutien technique inestimable, qui ont été des atouts essentiels dans l'avancée de mon travail.*

*À toutes les personnes qui m'ont accompagnée, je témoigne ma gratitude la plus sincère pour leur soutien, leur implication et leur contribution, qui ont enrichi et facilité la réalisation de cette thèse.*

# DÉDICACES

## DÉDICACES

*Je dédie cette thèse à mes parents, dont l'amour incommensurable, les sacrifices et le soutien indéfectible ont été mes forces motrices tout au long de ce parcours. À ma mère, pour sa douceur infinie, sa sagesse et sa patience sans égales, et à mon père, pour sa générosité, ses conseils avisés et son encouragement constant.*

*Je tiens à adresser cette dédicace à mes sœurs et mes frères, pour leur affection, leurs sourires réconfortants et leur soutien indéfectible qui ont nourri mon esprit et mon cœur. À mes nièces et mes neveux, dont l'innocence et la joie de vivre ont illuminé mon quotidien et m'ont constamment rappelé l'importance de savourer les instants de bonheur pur.*

*Je dédie également cette thèse à mes ami(e)s et à tout mon entourage, dont la présence, l'amitié et les encouragements ont été une source précieuse de réconfort. Vous avez contribué à me donner la force de continuer lorsque le chemin semblait difficile.*

*Merci à chacun de vous, de tout cœur, pour avoir été à mes côtés à chaque étape de ce parcours.*

# **SOMMAIRE**

## SOMMAIRE

1. INTRODUCTION .....	1
2. MATERIEL ET METHODES .....	11
2.1 Localisation et présentation des sites d'étude .....	11
2.2 Echantillonnage et indices écologiques .....	14
2.2.1 Méthode chimique .....	14
2.2.2. Méthode mécanique .....	15
2.3 Données physico-chimiques .....	15
2.3.1 Paramètres physico-chimiques généraux.....	16
2.3.2. Paramètres physico-chimiques globaux .....	17
2.4. Les molécules contaminantes dans l'écosystème marin .....	19
2.4.1 Les produits pharmaceutiques.....	19
2.4.2 Devenir des produits pharmaceutiques après leur utilisation .....	20
2.4.3 Les résidus pharmaceutiques.....	20
2.5. Les bioindicateurs de pollution .....	28
2.6 Matériel biologique.....	29
2.6.1 Description générale et répartition géographique de l'espèce .....	29
2.6.2 Inventaire et choix de l'espèce .....	30
2.6.3 Présentation de l'espèce <i>P. cultrifera</i> .....	31
2.6.4 Habitat et Locomotion.....	32
2.6.6 Cycle Biologique.....	38
2.7 Analyse morphométrique et pondérale .....	39
2.7.1 Paramètres morphométriques .....	39
2.7.2 Analyse de la reproduction .....	40
2.8 Etude histologique .....	45
2.9 Analyse écotoxicologique et Évaluation des effets des contaminants sur <i>Perinereis cultrifera</i> .....	47
2.9.1 Évaluation de l'écotoxicité par bioessais en laboratoire .....	48
2.9.2 Protocole expérimental pour les tests de toxicité aiguë et chronique à l'acide acétylsalicylique (ASA) .....	49
2.10Analyses statistiques.....	51
3. RÉSULTATS.....	52
3.1 Analyse physico-chimique de l'eau de mer .....	52
3.1.1 Paramètres physico-chimiques généraux.....	52
3.1.2 Paramètres physico-chimiques globaux .....	56
3.2 Inventaire et indices écologiques .....	58

3.3	Détection des résidus pharmaceutiques dans l'eau de mer .....	59
3.4	Analyse de l'impact de la pollution sur les paramètres morphométriques et pondéraux.....	61
3.4.1	Taille corporelle .....	61
3.4.2	Poids corporel.....	63
3.4.3	Nombre de sétigères .....	64
3.5	Analyse de l'impact de la pollution sur la reproduction .....	66
3.5.1	Taux de maturité et Sex ratio .....	66
3.5.2	Analyse biométrique de la croissance ovocytaire.....	68
3.5.3	Fréquences de taille ovocytaire .....	72
3.5.4	Indice de maturité sexuelle (IMS) .....	75
3.5.5	Etude de l'épitoque .....	75
3.5.6	Analyse de l'impact de la pollution sur l'épithélium intestinal .....	77
3.6	Eude histologique .....	79
3.6.1	Structure ovocytaire.....	79
3.6.2	Structure de l'épithélium intestinal.....	80
3.7	Évaluation écotoxicologique des effets de l'acide acétylsalicylique sur <i>Perinereis cultrifera</i> .....	82
3.7.1	Effets de l'acide acétylsalicylique sur les paramètres morphométriques de <i>Perinereis cultrifera</i> .....	82
3.7.2	Effets de l'Exposition aigue et chronique à l'Acide Acétylsalicylique sur sur .....	85
3.7.3	Altérations histologiques induites par l'acide acétylsalicylique chez <i>Perinereis cultrifera</i> .....	87
4.	DISCUSSION .....	90
4.1	Analyse physico-chimique de l'eau de mer .....	90
4.1.1	Paramètres physico-chimique généraux .....	90
4.1.2	Paramètres physico-chimique globaux.....	92
4.2	Inventaire et indices écologiques .....	93
4.3	Détection des résidus pharmaceutiques dans l'eau de mer .....	94
4.4	Analyse de l'impact de la pollution sur les paramètres morphométriques et pondéraux.....	96
4.5	Maturité et Sex-ratio .....	97
4.6	Biométrie de la croissance ovocytaire .....	98
4.6.1	Fréquences de taille ovocytaire .....	99
4.6.2	Indice de Maturité Sexuelle.....	100
4.7	L'Épitoque .....	100

4.8	Analyse de l'impact de la pollution sur l'épithélium intestinal .....	101
4.9	Etude histologique .....	102
4.9.1	Structure ovocytaire.....	102
4.9.1	Structure de l'épithélium intestinal.....	103
4.10.1	Effets de l'acide acétylsalicylique sur les paramètres morphométriques de <i>Perinereis cultrifera</i> .....	104
4.10.2	Effets de l'Exposition aigue et chronique à l'Acide Acétylsalicylique sur sur l'Activité des marqueurs Biochimiques chez <i>Perinereis cultrifera</i> .....	105
5.	CONCLUSION .....	110
6.	RÉSUMÉS.....	113
6.1	Résumé .....	113
6.3	Abstract.....	117
7.	RÉFÉRÉNCES.....	119

# **LISTE DES FIGURES**

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b> Cartographie des sites d'échantillonnage de <i>Perinereis cultrifera</i> sur le littoral Est algérien, réalisée à l'aide du logiciel ArcGIS (Photo personnelle, 2025). .....	12
<b>Figure 2.</b> Site d'étude d'El Kala (plage la montagne) (Photo personnelle, 2025).....	13
<b>Figure 3.</b> Site d'étude d'Annaba (plage Rezgui Rachid) (Photo personnelle, 2025). .....	13
<b>Figure 4.</b> Site d'étude de Skikda (Plage Bikini) (Photo personnelle, 2025). .....	13
<b>Figure 5.</b> Méthode de récolte chimique (Photo personnelle, 2025). .....	14
<b>Figure 6.</b> Méthode de récolte mécanique (Photo personnelle, 2025).....	15
<b>Figure 7.</b> Multi-paramètre pour la mesure des paramètres physico-chimique généraux « Thermo scientific Orion 5-star » (Photo personnelle, 2025).....	17
<b>Figure 8.</b> Chromatographe Ionique avec Analyse Automatisée des Paramètres Physico-Chimiques - Système Metrohm (Photo personnelle, 2025). .....	19
<b>Figure 9.</b> Les différentes sources de la pollution marine par les résidus pharmaceutiques (Lecoq, 2023). .....	22
<b>Figure 10.</b> Transformation de l'acide acétylsalicylique dans les procédés de traitement des eaux usées (Photo personnelle, 2025). .....	25
<b>Figure 11.</b> Dosage des résidus pharmaceutiques par la chromatographie liquide couplée à la spectrophotométrie de masse en tandem (LC/ MS/MS) (Photo personnelle, 2025). .....	27
<b>Figure 12.</b> Répartition géographique de <i>Perinereis cultrifera</i> (Fauvel, 1923 ; Photo personnelle, 2025).....	30
<b>Figure 13.</b> Milieu de vie des Annélides Polychètes (Nereididae) (A) : Annélides polychètes ; (B) : Algue verte ; (C) : Algue brune ; (D) : substrat (Photo personnelle, 2025).....	33
<b>Figure 14.</b> Description morphologique de <i>Perinereis cultrifera</i> . A : région céphalique ; B : région médiane ; C : région caudale (Photo personnelle, 2023). 35	35
<b>Figure 15.</b> Organisation d'un parapode de <i>P. cultrifera</i> (GRx60) (1 : cirre ventrale, 2 : cirre dorsale, 3 : notopodium, 4 : neuropodium, 5 : acicules) (Photo personnelle, 2022).....	35
<b>Figure 16.</b> Schéma explicatif (A) et observation sous loupe binoculaire (B) d'une section transversale d'un segment moyen du corps de <i>P. cultrifera</i> (Younsi, 2014 ; Ramdani, 2016). 36	36
<b>Figure 17.</b> Cycle de développement chez le genre <i>Perinereis</i> (Blake, 2017 ; Pates & Maceren-Pates, 2022). .....	38
<b>Figure 18.</b> A : Balance de précision modèle « KERN ABJ-NM/ABS-N » ; B : Loupe binoculaire modèle « ZEISS STEMI DV4 ». .....	39
<b>Figure 19.</b> Visualisation des ovocytes (A) et amas spermatiques (B) dans le liquide cœlomique pour la la différenciation des sexes chez <i>Perinereis cultrifera</i> (Ramdani, 2016). .....	43
<b>Figure 20.</b> Microscope optique « Leica DM500 » connecté à un ordinateur équipé d'un logiciel dédié aux mesures du diamètre des ovocytes (Photo personnelle, 2025). .....	43
<b>Figure 21.</b> . Protocole simplifié des tests de toxicité par l'ASA (Gumbi et al., 2017 ; Gomes et al., 2019).....	50
<b>Figure 22.</b> Variations saisonnières de la température de l'eau de mer observées sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid), et Skikda (Bikini) au cours des quatre saisons de l'année 2022. ....	53
<b>Figure 23.</b> Variations saisonnières de la salinité de l'eau de mer observées sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid), et Skikda (Bikini) au cours des quatre saisons de l'année 2022. ....	54
<b>Figure 24.</b> Variations saisonnières de l'oxygène dissous de l'eau de mer observées sur les sites d'El- Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid), et Skikda (Bikini) au cours des quatre saisons de l'année 2022. ....	55
<b>Figure 25.</b> Variations saisonnières du pH de l'eau de mer observées sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid), et Skikda (Bikini) au cours des quatre saisons de l'année	

2022.....	56
<b>Figure 26.</b> Paramètres physico-chimiques globaux de l'eau de mer mesurés sur les sites d'El Kala, Annaba et Skikda.....	57
<b>Figure 27.</b> Chromatogramme des résidus pharmaceutiques dans les échantillons d'eau de mer provenant du site d'El Kala, en fonction de la concentration (ng/L) et du temps de rétention (min).....	60
<b>Figure 28.</b> Chromatogramme des résidus pharmaceutiques dans les échantillons d'eau de mer provenant du site d'Annaba, en fonction de la concentration (ng/L) et du temps de rétention (min).....	60
<b>Figure 29.</b> Chromatogramme des résidus pharmaceutiques dans les échantillons d'eau de mer provenant du site de Skikda, en fonction de la concentration (ng/L) et du temps de rétention (min).....	61
<b>Figure 30.</b> Variations mensuelles de la taille corporelle (mm) des femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> ( $m \pm s$ ; $n=30$ ), collectées dans les trois sites d'étude : El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid), et Skikda (Bikini) au cours de l'année 2022. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une ANOVA à un facteur, suivie du test de Tukey. ....	62
<b>Figure 31.</b> Variations mensuelles du poids corporel (g) des femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> ( $m \pm s$ ; $n=30$ ), collectées dans les trois sites d'étude : El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid), et Skikda (Bikini) au cours de l'année 2022. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une ANOVA à un facteur, suivie du test de Tukey. ....	64
<b>Figure 32.</b> Variations mensuelles du nombre de sétigères des femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> ( $m \pm s$ ; $n=30$ ), collectées dans les trois sites d'étude : El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid), et Skikda (Bikini) au cours de l'année 2022. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une ANOVA à un facteur, suivie du test de Tukey. ....	65
Figure 33. Répartition mensuelle du sex-ratio et des individus indifférenciés et sexués de <i>Perinereis cultrifera</i> (% indifférenciés ; % sexués : % femelles et % des mâles) de janvier à décembre 2022 au niveau du site d'El Kala (La montagne). ....	67
<b>Figure 34.</b> Répartition mensuelle du sex-ratio et des individus indifférenciés et sexués de <i>Perinereis cultrifera</i> (% indifférenciés ; % sexués : % femelles et % des mâles) de janvier à décembre 2022 au niveau du site d'Annaba (Rezgui Rachid). ....	67
<b>Figure 35.</b> Répartition mensuelle du sex-ratio et des individus indifférenciés de <i>Perinereis cultrifera</i> (% indifférenciés ; % sexués : % femelles et % des mâles) de janvier à décembre 2022 au niveau du site de Skikda (Bikini) ....	67
<b>Figure 36.</b> Evolution mensuelle du diamètre ovocytaire (Cohorte 1, Cohorte 2) des femelles <i>Perinereis cultrifera</i> ( $m \pm s$ ; $n=30$ ) récoltées au niveau du site d'El-Kala (La Montagne) de Janvier à Décembre de l'année 2022.....	68
<b>Figure 37.</b> Evolution mensuelle du diamètre ovocytaire (Cohorte 1, Cohorte 2) des femelles <i>Perinereis cultrifera</i> ( $m \pm s$ ; $n=30$ ) récoltées au niveau du site d'Annaba (Rezgui Rachid) de Janvier à Décembre de l'année 2022.....	69
<b>Figure 38.</b> Evolution mensuelle du diamètre ovocytaire (Cohorte 1, Cohorte 2) des femelles <i>Perinereis cultrifera</i> ( $m \pm s$ ; $n=30$ ) récoltées au niveau du site de Skikda (Bikini) de Janvier à Décembre de l'année 2022.....	69
<b>Figure 39.</b> Variation mensuelle du diamètre ovocytaire des femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> de la première cohorte, échantillonnées de Février à juin 2022 sur les 3 sites d'étude.....	70
<b>Figure 40.</b> Variation mensuelle du diamètre ovocytaire des femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> de la deuxième cohorte, échantillonnées de Février à juin 2022 sur les 3 sites d'étude.....	71
<b>Figure 41.</b> Variations mensuelles des distributions des fréquences de taille ovocytaire (%) chez les femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> prélevées au site d'El-Kala (La Montagne) au cours de l'année 2022.....	73
<b>Figure 42.</b> Variations mensuelles des distributions des fréquences de taille ovocytaire (%) chez	

les femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> prélevées au site d'Annaba (Rezgui Rachid) au cours de l'année 2022.....	74
<b>Figure 43.</b> Variations mensuelles des distributions des fréquences de taille ovocytaire (%) chez les femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> prélevées au site de Skikda (Bikini) au cours de l'année 2022.....	74
<b>Figure 44.</b> Évolution mensuelle de l'indice de maturité sexuelle des femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> collectées sur les trois sites d'étude (El-Kala, Annaba et Skikda) durant l'année 2022.....	75
<b>Figure 45.</b> Evolution mensuelle de l'état d'épitoquie chez les femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> collectées sur les trois sites d'étude (El-Kala, Annaba et Skikda) pendant la période de reproduction en 2022.....	76
<b>Figure 46.</b> Variations mensuelles des types d'épitoquie chez les femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> prélevées sur les sites d'El-Kala, Annaba et Skikda durant la période de reproduction en 2022.....	77
<b>Figure 47.</b> Variations mensuelles de l'épithélium intestinal ( $\mu\text{m}$ ) des femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> échantillonnées au niveau des trois sites d'étude (El-Kala, Annaba et Skikda) de Mars à Mai 2022.....	78
<b>Figure 48.</b> Coupe histologique sagittale d'ovocytes de femelles <i>Perinereis cultrifera</i> provenant de trois sites, El Kala : A, Annaba ; B, Skikda ; C) au cours de la reproduction (Gr X 600), montrant un développement normal dans le site moins pollué (El Kala) et un retard de reproduction dans les sites pollués (Annaba, Skikda). Co : fluide cœlomique ; mo : ovocytes matures ; imo : ovocytes immatures ; g : intestin ; m : muscle ; Dep : épithélium digestif. ....	80
<b>Figure 49.</b> Coupe histologique d'une partie du tube digestif chez <i>P. cultrifera</i> ; A : montrant un épithélium intestinal GR X 150 d'une femelle d'El Kala en plein épitoquie ; B : montrant un épithélium intestinal GR X 150 en épitoquie d'une femelle d'Annaba ; C : montrant un épithélium intestinal GR X 150 avant épitoquie d'une femelle de Skikda. Co : fluide cœlomique ; mo : ovocytes matures ; imo : ovocytes immatures ; g : intestin ; m : muscle ; Dep : épithélium digestif.....	81
<b>Figure 50.</b> Biplot de l'analyse en composantes principales (ACP) montrant les toxicités aiguë et chronique ainsi que les variables morphométriques explicatives (n = 4). Ce biplot représente les scores de l'ACP pour les variables explicatives sous forme de vecteurs colorés et les points correspondant aux dispositifs expérimentaux de toxicité. Les points situés du même côté qu'une variable donnée indiquent une forte contribution à celle-ci. La longueur des vecteurs indique l'importance de leur contribution à chaque axe. Les ellipses colorées représentant les concentrations (niveau de probabilité de 0,95) regroupent les observations liées aux types de toxicité par classe de marque. (Dim 1 : 34,2 % et Dim 2.....	83
<b>Figure 51.</b> Corrélation de Spearman réalisée sur l'épaisseur de l'épithélium digestif (DET) avec les autres variables chez les vers exposés à l'acide acétylsalicylique (en toxicité aiguë (AT) et en toxicité chronique (CT). ....	85
<b>Figure 52.</b> Variations des marqueurs biochimiques : CAT : A ( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}$ de protéine) ; GST : B ( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}$ de protéine) ; et GPx : C ( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}$ de protéine) après une exposition aiguë à l'acide acétylsalicylique ( $m \pm \text{SE}$ , n = 4). Les données sont exprimées sous forme de moyenne $\pm$ erreur standard (SE). ....	86
<b>Figure 53.</b> Variations des marqueurs biochimiques : CAT : A ( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de protéine) ; GST : B ( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de protéine) ; et GPx : C ( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de protéine) après une exposition chronique à l'acide acétylsalicylique ( $m \pm \text{SE}$ , n = 4). Les données son sont exprimées en moyenne $\pm$ erreur standard (SE).....	86

# **LISTE DES TABLEAUX**

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.</b> Types de pollution présente au niveau des zones côtières en Algérie. ....	11
<b>Tableau 2.</b> Coordonnées géographiques des sites d'étude. ....	12
<b>Tableau 3.</b> Paramètres physico chimique généraux de l'eau de mer mesurés in situ (Carstensen et al., 2019 ; Gomes & Bernardino, 2020 ; Gilson et al., 2021 ; Masanja et al., 2023 ; Protasewicz, 2024). ....	16
<b>Tableau 4.</b> Paramètres physico chimiques globaux caractérisant la matière organique Morin-Crini et al., 2017 ; cpepesc, 2022). ....	18
<b>Tableau 5.</b> Concentrations de médicaments (en µg/l) mesurées à l'entrée et à la sortie de diverses stations d'épuration (d'après Fent <i>et al.</i> , 2006 ; Collette-Bregand <i>et al.</i> , 2009). ....	22
<b>Tableau 6.</b> Exemples de résidus pharmaceutiques fréquemment détectés dans l'environnement marin (Vieno et al., 2017 ; Branchet et al., 2021 ; Castaño-Ortiz et al., 2023 ; Santarivó et al., 2023). ....	25
<b>Tableau 7.</b> Paramètres analytiques pour la détection des composés pharmaceutiques par LC/MS/MS. ....	28
<b>Tableau 8.</b> Répartition des paragnathes au niveau de différents lobes chez <i>Perinereis cultrifera</i> (Fauvel, 1923). ....	37
<b>Tableau 9.</b> Les différents stades de développement de la maturité sexuelle chez les femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> . ....	44
<b>Tableau 10.</b> Différentes étapes de l'étude histologique effectuée sur les espèces de <i>Perinereis cultrifera</i> . ....	47
<b>Tableau 11.</b> Analyse statistique des variables physico-chimiques généraux (température en °C, salinité en ppt, oxygène dissous en mg/l, pH) de l'eau de mer sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid), et Skikda (Bikini) au cours des quatre saisons de l'année 2022 : Évaluation par ANOVA à un facteur et test de Tukey. ....	52
<b>Tableau 12.</b> Paramètres physico-chimiques globaux de l'eau de mer mesurés sur les sites d'El Kala, Annaba et Skikda. ....	57
<b>Tableau 13.</b> Abondance (N), Richesse totale (S), La diversité (H'), L'équitabilité de Piélou (J') durant l'année 2023. ....	59
<b>Tableau 14.</b> Analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs (Site/Mois) de la taille corporelle des femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> récoltées en 2022 sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid) et Skikda (Bikini). ....	63
<b>Tableau 15.</b> Analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs (Site/Mois) du poids corporel des femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> récoltées en 2022 sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid) et Skikda (Bikini). ....	64
<b>Tableau 16.</b> Analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs (Site/Mois) du nombre de sétigères des femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> récoltées en 2022 sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid) et Skikda (Bikini). ....	66
<b>Tableau 17.</b> Analyse de variance à un facteur (ANOVA), suivie du test post-hoc de Tukey, portant sur le diamètre ovocytaire des femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> (moyenne ± écart-type ; n=30) échantillonnées dans les trois sites d'étude (El-Kala, Annaba et Skikda) de janvier à décembre 2022. ....	71
<b>Tableau 18.</b> Analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs (Site/Mois) du diamètre ovocytaire de la première cohorte des femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> récoltées en 2022 sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid) et Skikda (Bikini). ....	72
<b>Tableau 19.</b> Analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs (Site/Mois) du diamètre ovocytaire de la deuxième cohorte des femelles de <i>Perinereis cultrifera</i> récoltées en 2022 sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid) et Skikda (Bikini). ....	72
<b>Tableau 20.</b> Analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs (Site/Mois) de l'épithélium	

intestinal des femelles de *Perinereis cultrifera* récoltées en 2022 sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid) et Skikda (Bikini)..... 78

**Tableau 21.** Variations du poids (W), du diamètre des ovocytes (OD) et de l'épaisseur de l'épithélium digestif (DET) de *P. cultrifera* exposé à différentes concentrations d'acide acétylsalicylique ASA (Toxicité Aiguë : AT et Toxicité Chronique : CT) ( $m \pm SE$ , n=8)..... 82

# **INTRODUCTION**

## 1. INTRODUCTION

Les océans, vastes étendues d'eau couvrant plus de 70 % de la surface de la Terre, représentent un élément essentiel de notre planète qui est souvent désignée sous le nom évocateur de "planète Bleue" (Appeltans *et al.*, 2012 ; Weis, 2023). Leur importance dépasse largement leur dimension physique imposante, s'étendant à leur rôle crucial dans la régulation du climat planétaire et la préservation de la biodiversité des écosystèmes marins. Malgré cette pertinence capitale, le rôle des océans dans la dynamique environnementale globale est parfois sous-estimé ou négligé au profit d'autres aspects de l'environnement terrestre (Kumar, 2004 ; Choi, 2020 ; Greenfield, 2023).

La caractérisation du climat repose traditionnellement sur l'observation des phénomènes météorologiques et les enregistrements à long terme de la température atmosphérique. Ces éléments, considérés comme des indicateurs essentiels de l'état de l'atmosphère, exercent un impact direct sur les écosystèmes naturels terrestres et sur les activités humaines quotidiennes. Cependant, les changements dans la composition chimique de l'atmosphère, largement attribuables aux activités humaines, influent de manière significative sur le phénomène de réchauffement climatique (Priya *et al.*, 2023).

En considérant l'influence des océans sur le climat, il est possible d'affirmer que ces vastes étendues d'eau agissent comme le principal modulateur du climat terrestre. Ils absorbent près de 30% des émissions de CO<sub>2</sub> issues des activités humaines., tout en étant le principal fournisseur net d'oxygène de la planète, un rôle comparable à celui des forêts. Cette capacité d'absorption du dioxyde de carbone joue un rôle crucial en limitant l'élévation excessive de la température de surface planétaire. Ainsi, l'océan constitue le réservoir majeur de carbone, devenant ainsi un élément central dans la machine climatique mondiale. Cependant, malgré sa capacité à atténuer le réchauffement climatique, les pressions anthropiques telles que les émissions de CO<sub>2</sub>, la surexploitation des ressources et la pollution menacent les écosystèmes marins, risquant ainsi de perturber le rôle de régulateur climatique de l'océan (Leseurre, 2022 ; Battaglia, 2023).

Face à ces défis environnementaux, il est crucial de reconnaître la diversité naturelle des milieux marins, bien que souvent méconnue. Cette diversité contribue de manière significative à plusieurs services écosystémiques essentiels et avantages bénéfiques pour la société humaine, en soutenant son bien-être et en garantissant la pérennité des activités socio-économiques (Williamson et Guinder, 2021).

La biodiversité englobe le nombre, la répartition et les traits fonctionnels des individus et des espèces, ainsi que la diversité génétique intra et interspécifique, les niveaux d'organisation (populations, communautés, écosystèmes, biomes) et les interactions écologiques (trophiques, comportementales, compétitives, mutualistes et parasitaires) à différentes échelles spatiotemporelles, définissant ainsi la base des écosystèmes en tant que systèmes complexes adaptatifs (Tylianakis *et al.*, 2008 ; Levin, 2011 ; Hagstrom & Levin, 2017; Coreira et Lopes, 2023).

Les interactions entre les espèces créent un équilibre écologique essentiel, où chaque organisme contribue à des processus vitaux tels que le cycle des nutriments, la séquestration du carbone et la production d'oxygène. Le milieu marin, caractérisé par une grande variété d'habitats et d'espèces, s'étend des eaux de surface aux profondeurs abyssales, abritant une biodiversité allant des micro-organismes planctoniques aux mammifères marins imposants (Bar-On *et al.*, 2018 ; GGI Insights, 2024). Cette variété forme un réseau complexe de vie océanique, soutenant une biomasse animale supérieure à celle présente sur terre (Joyard, 2023).

La biodiversité marine est indispensable à la santé et à la résilience des écosystèmes planétaires, notamment face aux changements et aux perturbations environnementales qui affectant les océans, le déclin de la biodiversité marine est considéré comme l'un des plus graves. Ce déclin découle principalement des altérations des habitats marins (dégradation, destruction, fragmentation et perte), résultant non seulement du changement climatique, mais également des activités humaines spécifiques telles que la pêche destructive, l'aquaculture, l'enrichissement organique, l'exploitation pétrolière et gazière à grande échelle, la construction en mer d'infrastructures pour les énergies renouvelables, le développement et l'aménagement côtiers, ainsi que de l'expansion des espèces invasives, en plus des effets cumulatifs du changement climatique (Lloret *et al.*, 2024).

La mer Méditerranée, en tant qu'exemple de mer intercontinentale, s'étend sur environ 2,5 millions de kilomètres carrés. Elle est connectée à l'océan Atlantique par le détroit de Gibraltar à l'ouest, et elle se caractérise par son climat méditerranéen unique, ses eaux cristallines et ses paysages côtiers spectaculaires (Benmakhlouf, 2020). Cette région se distingue également comme un réservoir de biodiversité essentielle. La biodiversité, représentée par la variété de la vie marine, enrichit les écosystèmes en accroissant la complexité des réseaux trophiques et d'autres processus écologiques, renforçant ainsi leur

résilience face aux perturbations naturelles et humaines (Dauvin, 2023). Les réseaux trophiques marins, essentiels à l'équilibre des écosystèmes, incluent une diversité d'acteurs tels que les producteurs primaires, les herbivores, les carnivores, les prédateurs, les parasites et les décomposeurs. Ces interactions biologiques contribuent à maintenir l'équilibre écologique des mers, y compris de la Méditerranée.

Cependant, malgré sa richesse naturelle, la Méditerranée est intrinsèquement vulnérable à la pollution en raison de plusieurs facteurs environnementaux. Son schéma de circulation anti-estuarien, avec des échanges d'eau limités avec les océans Atlantique et Indien, constitue une caractéristique majeure favorisant la rétention des polluants. De plus, sa localisation géographique en tant que zone privilégiée pour les effets du changement climatique, combinée à sa biodiversité remarquable et à la présence d'un grand nombre d'espèces endémiques, accentue sa sensibilité aux perturbations environnementales (Ziveri *et al.*, 2023)

Cette fragilité est accentuée par le fait que quatre-vingts pour cent de la pollution marine proviennent de sources terrestres, pénétrant dans l'environnement aquatique à partir de diverses sources. Ces éléments s'ajoutent aux rejets directs liés à la présence de 70 à 80 % de la population mondiale vivant dans les zones côtières (Parra-Luna *et al.*, 2020 ; Ventura *et al.*, 2023). Avec environ 150 millions d'habitants sur ses côtes, la Méditerranée est soumise à une forte pression anthropique qui contribue à une augmentation rapide de la pollution marine. De plus, la région est exposée à des risques majeurs associés aux activités de navigation, y compris le transport d'hydrocarbures, en raison de son importance en tant que voie maritime hautement fréquentée. (Cozar *et al.*, 2015 ; Fossi *et al.*, 2017 ; Demeester et Mercier, 2022). Leur déversement constitue une préoccupation environnementale mondiale, avec plus de 10 000 galons signalés dans la base de données internationale. Ces incidents entraînent une détérioration des écosystèmes et des risques pour la santé humaine. La pollution marine par les hydrocarbures se divise en deux types : le déballastage, principalement produit par les pétroliers, et le dégazage, émanant des moteurs des navires. Les impacts sur les milieux marins sont considérables, malgré l'efficacité des méthodes de nettoyage. Environ 10 millions de tonnes d'hydrocarbures sont déversées annuellement en mer, provenant principalement des pétroliers, des navires, de l'exploitation offshore, des raffineries, des industries pétrochimiques, et des activités terrestres via les cours d'eau. Les résidus pétroliers peuvent causer des dommages importants en recouvrant la faune et la flore benthiques, perturbant leurs transferts alimentaires et d'oxygénation (Baillache *et al.*, 1974 ;

Michel, 1976 ; Ramade, 2000 ; Roling *et al.*, 2002 ; Pulgarin, 2012).

Le littoral algérien, s'étendant sur environ 2148 kilomètres, fait face à d'importants défis environnementaux, à l'instar de nombreuses régions côtières de la Méditerranée. Il accueille environ 37 % de la population dans une zone qui ne représente que 1,9 % du territoire national (Khelil *et al.*, 2019). Concentrée dans les 14 wilayas côtières, la population algérienne, estimée à près de 47 millions d'habitants, exerce une forte pression anthropique sur la côte (UNFPA, 2024).

Malgré la législation visant à protéger et valoriser le littoral, telle que la loi n° 02-02 du 5 février 2002, les rejets de polluants chimiques et organiques dans les eaux côtières persistent. Cette pollution représente une menace sérieuse pour la santé des baigneurs et des consommateurs de produits de la pêche. De plus, la biodiversité côtière est grandement menacée par cette dégradation environnementale, risquant une perte d'adaptabilité (Benkhedda *et al.*, 2018).

Au cours des dernières décennies, les écosystèmes marins ont vu une diversification des sources de contamination chimique. Les polluants historiques comme les hydrocarbures et les métaux lourds sont progressivement remplacés par de nouveaux contaminants émergents tels que les produits pharmaceutiques, les produits d'hygiène, les produits phytosanitaires, les biocides, les nanoparticules et les microplastiques (Faggio *et al.*, 2016 ; Pagano *et al.*, 2016, Pagano *et al.*, 2020; Stara *et al.*, 2020; Savoca *et al.*, 2021). Une fois dans l'écosystème marin, ces substances variées, présentant une diversité de propriétés physico-chimiques qui influent leur distribution, leur disponibilité et leur persistance, peuvent se propager sur de longues distances, affectant divers organismes marins via la chaîne alimentaire. Leur accumulation dans les tissus des organismes peut entraîner des dommages cellulaires et génétiques, compromettant ainsi des fonctions physiologiques essentielles comme la reproduction, la croissance et les défenses immunitaires (Vagi, 2021).

Parmi les contaminants anthropiques, les produits pharmaceutiques sont considérés comme des contaminants ubiquitaires des milieux aquatiques. Ces molécules biologiquement actives, conçues pour agir sur des cibles biologiques précises, comprennent une large variété de substances à usage humain et vétérinaire. En raison de leur pseudo-persistance, de leur activité biologique et de leur utilisation extensive, ces molécules constituent une classe de contaminants environnementaux émergente et préoccupante pour la communauté scientifique (Fent *et al.*, 2006 ; Santos *et al.*, 2010 ; Boxall *et al.*, 2012 ; Bebianno &

Gonzalez-Rey, 2015 ; Ebele *et al.*, 2016 ; Mezzelani *et al.*, 2016 ; Fekadu *et al.*, 2019 ; Branchet *et al.*, 2021).

Contrairement à certains polluants conventionnels, les résidus pharmaceutiques, fréquemment détectés dans l'environnement aquatique dans une gamme allant de quelques nanogrammes à plusieurs microgrammes connus sous le terme de micropolluants, sont continuellement délivrés à des niveaux faibles, ce qui peut entraîner une toxicité même sans taux de persistance élevés (Kümmerer, 2009 ; Verlicchi *et al.*, 2012 ; López-Serna *et al.*, 2013 ; Santos *et al.*, 2013 ; Houtman *et al.*, 2014 ; Schaidler *et al.*, 2014 ; McEachran *et al.*, 2016 ; Biel-Maeso *et al.*, 2018 ; Afsa *et al.*, 2020). Leur présence dans le milieu marin a été confirmée par plusieurs études (Bhagat *et al.*, 2023 ; Wu *et al.*, 2024), y compris au niveau du littoral algérien (Kermia & Djebbar-Fouial, 2016 ; Waleng & Nomngongo, 2022).

Conçus pour cibler des actions physiologiques spécifiques, les résidus pharmaceutiques présentent souvent une résistance à l'inactivation avant d'exercer leur effet thérapeutique prévu. Cependant, cette persistance les rend également responsables de la bioaccumulation et des effets toxiques dans les écosystèmes aquatiques et terrestres. En réaction à ces contaminants, des processus de biotransformation peuvent se déclencher, entraînant la dégradation partielle des polluants ou la formation de métabolites divers, parfois plus toxiques ou mobiles que les composés parentaux. Cette transformation rend les polluants biodisponibles, favorisant leur transfert à travers les niveaux trophiques par bioaccumulation et biomagnification et devenir dangereux pour la santé animale et humaine (Wang & Tam, 2012 ; Zenker *et al.*, 2014 ; XueLi et Hong, 2016 ; Klimaszyk & Rzymiski, 2017 ; Liang *et al.*, 2018 ; Carere *et al.*, 2019 ; Aliko *et al.*, 2021 ; Leignel *et al.*, 2023 ; Romero-Murillo *et al.*, 2023). La bioaccumulation et la biomagnification sont deux concepts cruciaux dans les évaluations des risques écologiques, permettant d'appréhender la propagation des polluants au sein des réseaux trophiques. La bioaccumulation désigne l'absorption nette d'un contaminant par un organisme à travers diverses voies d'exposition (contact, ingestion, respiration) et provenant de sources diverses (eau, sédiments, organismes consommés). Elle se produit lorsque l'absorption du contaminant dépasse la capacité de l'organisme à l'éliminer. La bioaccumulation peut conduire à la biomagnification des contaminants aux niveaux trophiques supérieurs, où la concentration du contaminant dans un organisme est plus élevée que dans son alimentation. Ce processus suppose que toute contamination aux niveaux trophiques supérieurs résulte directement de la consommation d'organismes des niveaux trophiques inférieurs, c'est-à-dire que le transfert trophique est effectif (Alexandre, 1999 ; Boethling et Mackay, 1999 ; Maher *et al.*, 2016 ;

Miller *et al.*, 2020).

Il est extrêmement important de savoir comment les éliminer de l'environnement et/ou comment effectuer leur inactivation biologique. Par conséquent, la détection, la détermination et l'analyse des destinées des médicaments et de leurs métabolites dans différents compartiments de l'environnement sont quelques-unes des principales tâches de la chimie analytique et environnementale moderne (Kumirska, 2020). Parmi les médicaments, l'acide acétylsalicylique (ASA ou aspirine), l'un des médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) les plus largement utilisés dans le monde (Gašowska-Bajger *et al.*, 2023), se distingue en étant fréquemment retrouvé dans les rejets d'eaux usées, contribuant ainsi à une présence significative dans l'environnement marins (Freitas *et al.*, 2019 ; Piedade *et al.*, 2020 ; De Marco *et al.*, 2022 ; Pagano *et al.*, 2022 ; Cunha *et al.*, 2023). Cela soulève des préoccupations en matière d'écotoxicité, en particulier envers les espèces non ciblées aquatiques. Ce médicament fait partie d'une gamme variée de substances qui comprennent également des anti-inflammatoires tels que le diclofénac ou l'ibuprofène, des antibiotiques comme l'érythromycine et l'azithromycine, des bêta-bloquants comme le métoprolol, des régulateurs lipidiques comme le gemfibrozil, des antidépresseurs comme la fluoxétine, des antiépileptiques comme la carbamazépine, des diurétiques, des antidiabétiques, des hormones synthétiques comme l'alpha- estradiol, et d'autres encore (Aliko *et al.*, 2021).

Certains de ces composés pharmaceutiques actifs peuvent également présenter des propriétés bioaccumulatives, ce qui leur permet potentiellement de pénétrer dans les chaînes alimentaires aquatiques ou terrestres et, par le biais de phénomènes de biomagnification, de devenir dangereux pour la santé animale et humaine (Zenker *et al.*, 2014 ; XueLi et Hong, 2016 ; Klimaszuk & Rzymiski, 2017 ; Carere *et al.*, 2019 ; Aliko *et al.*, 2021).

Après utilisation, les produits pharmaceutiques, figurant parmi les micropolluants les plus pertinents, se dispersent dans l'environnement sous forme de métabolites, de composés parentaux, soit sous forme conjugués des deux. (Andreozzi *et al.*, 2003 ; Dai *et al.*, 2015). Cette dispersion se produit principalement par le rejet d'effluents des stations d'épuration des eaux usées (STEP), où leur élimination est souvent inefficace. Ces substances proviennent également de sources secondaires telles que les industries pharmaceutiques, les établissements de soins de santé et les pratiques agricoles. Les processus de fabrication, les rejets hospitaliers et l'utilisation d'engrais et de pesticides contenant des substances pharmaceutiques, l'aquaculture et les pratiques vétérinaires (Daughton & Ternes, 1999 ; De Marco *et al.*, 2022 ; Hamada *et al.*, 2023). Ce processus de dispersion incontrôlée contribue à la contamination des écosystèmes

aquatiques, présentant ainsi un risque pour l'environnement et la santé humaine.

De plus, ces contaminants peuvent induire la formation de radicaux libres, tels que le superoxyde ( $O_2^-$ ) et l'hydroxyle ( $OH^-$ ), résultant en un stress oxydatif chez les organismes marins (Turrens, 2003 ; El-Beltagi & Mohamed, 2013 ; Arauz *et al.*, 2016). Les enzymes antioxydantes telles que la GST (glutathion S-transférase), la GPx (glutathion peroxydase) et la catalase neutralisent les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et préviennent ainsi les dommages oxydatifs des composants cellulaires et tissulaires (Rudenko *et al.*, 2023). Ces enzymes sont souvent utilisées comme indicateurs du stress oxydatif induit par la pollution chimique chez diverses espèces macrobenthiques (Gomes *et al.*, 2019 ; Baracchini *et al.*, 2023 ; Rodrigues *et al.*, 2024 ; Webb *et al.*, 2024).

Plusieurs espèces ont des caractéristiques qui leur permettent de détecter l'impact des perturbations dans l'environnement marin, présentant des effets aux niveaux moléculaire, biochimique, histologique, physiologique et morphologique (Au, 2004) et même aux niveaux de la structure de la communauté et de l'écosystème (Hazen *et al.*, 2019 ; Aguzzi *et al.*, 2020). Par conséquent, les stratégies d'évaluation de la pollution côtière comprennent deux approches : le suivi des substances dans les sédiments, l'eau et les matières en suspension et l'utilisation d'organismes sentinelles, tels que les macroinvertébrés (Al Mamun *et al.*, 2022 ; Mghili *et al.*, 2022), les foraminifères (Youssef *et al.*, 2021), les algues (Torres *et al.*, 2008 ; Zalewska *et al.*, 2017), les polychètes (Schuab *et al.*, 2023), les ascidies (Navon *et al.*, 2020), les échinodermes (Parra-Luna *et al.*, 2020 ; Alves *et al.*, 2021), les bivalves (Yusof *et al.*, 2004 ; Romero-Murillo *et al.*, 2017 ; Aguirre-Rubí *et al.*, 2018 ; Moncaleano-Niño *et al.*, 2021) les crustacés (Karam *et al.*, 2023) et les poissons (Bertel-Sevilla *et al.*, 2020), entre autres, sensibles aux changements environnementaux.

La compréhension des effets des contaminants, tels que les résidus pharmaceutiques, sur les organismes marins est essentielle pour élaborer des stratégies de surveillance et de gestion efficaces. Les organismes modèles, sélectionnés pour leur représentativité, sont étudiés afin de recueillir des données cruciales sur les interactions entre les produits chimiques et les processus biologiques dans l'environnement marin. Ces études permettent de mieux appréhender les réponses variables des espèces aux contaminants chimiques, influencées par leurs caractéristiques physiologiques, écologiques et génétiques (Tlili & Mouneyrac, 2021 ; Dieguez *et al.*, 2024). Dans ce contexte, l'utilisation de biomarqueurs émerge comme un outil crucial pour détecter l'exposition aux contaminants et évaluer leurs effets sur la santé des

organismes, fournissant ainsi des informations pertinentes, même lorsque la présence des contaminants est indétectable. Les biomarqueurs permettent de mesurer des réponses moléculaires, biochimiques, cellulaires, tissulaires, physiologiques ou comportementales, offrant ainsi des preuves d'exposition et d'effets des contaminants, notamment pour évaluer les effets sublétaux des polluants. Ces biomarqueurs jouent un rôle crucial dans la surveillance et l'évaluation de l'environnement marin, complétant ainsi l'analyse physico-chimique des échantillons environnementaux (Hook *et al.*, 2014 ; Lionetto *et al.*, 2021 ; Yarsan & Yipel, 2013). L'évaluation des effets des contaminants implique également l'utilisation de bioessais en laboratoire, distinguant les bioessais de toxicité aiguë et chronique en fonction de la durée et de la dose d'exposition permettant ainsi de mesurer la toxicité des substances sur des critères tels que la mortalité, la croissance, la reproduction ou les dommages à l'ADN (Crowther, 2020 ; Lecomte, 2022).

Les communautés de macroinvertébrés benthiques représentent des éléments clés des réseaux trophiques benthiques, exécutant diverses fonctions écologiques qui contribuent fréquemment au flux global de carbone, au cycle des matériaux et à la purification de l'eau dans tous les types d'écosystèmes (Sommerfield *et al.*, 1994 ; Ellingsen, 2002 ; Kuntke *et al.*, 2020 ; Sabha *et al.*, 2022). Il a été progressivement reconnu que les macroinvertébrés benthiques sont sensibles à la pollution et aux changements anthropiques, ce qui justifie leur utilisation en tant que bioindicateurs pour l'évaluation de la qualité environnementale au sein de divers programmes de surveillance et dans le cadre des recherches écotoxicologiques menées sur les environnements benthiques des estuaires et des zones côtières. (Sommerfield *et al.*, 1994 ; Ellingsen & Gray, 2002 ; Kuntke *et al.*, 2020 ; Milisa *et al.*, 2022 ; Sabha *et al.*, 2022). Diverses espèces ont été utilisées à cet effet, comprenant les porifères, les échinodermes, les coraux, les mollusques, les moules, les crustacés et les polychètes (Guemouda *et al.*, 2014 ; Meghlaoui *et al.*, 2015 ; Gasmi *et al.*, 2016 ; Ramdani *et al.*, 2020 ; Belfetmi *et al.*, 2021 ; Rezzag-Mahcene *et al.*, 2022 ; Sebbih *et al.*, 2023).

Les annélides polychètes constituent un groupe macrobenthique d'une grande abondance et diversité dans les écosystèmes marins (Pamungkas *et al.*, 2019), et une source alimentaire pour différentes espèces marines à valeur commerciale. Leur abondance avec plus de 20 000 espèces décrites (Read & Fauchald, 2018), leurs niches écologiques variées et leur interaction avec les sédiments jouent un rôle crucial dans la structure et le fonctionnement des communautés benthiques. De plus, ils contribuent activement à des processus écologiques marins tels que la bioturbation, le cycle des nutriments, la production secondaire et le flux d'énergie (Kurt *et al.*,

2021 ; Miri *et al.*, 2023).

Ces vers marins, occupant des positions écologiques clés dans les réseaux trophiques benthiques (Levin, 1984; Ambrose, 1991 ; Hutchings, 1998 ), sont considérés comme des indicateurs biologiques de la pollution marine en raison de leur exposition à long terme aux polluants et de leur adaptation aux changements environnementaux extrêmes, ainsi que de leur capacité à se reproduire dans des environnements stressants (Olsgard *et al.*, 2003; Diaz-Castaneda & Reish, 2009 ; Gasmi *et al.*, 2016).

L'annélide polychète *Perinereis cultrifera*, initialement décrite par Grûbe (1840) en mer Adriatique, doit son nom au latin "*Perinereis*", qui signifie "semblable aux annélides", en référence à sa morphologie caractéristique de ver annelé muni de pattes. Le terme "*cultrifera*" évoque quant à lui la capacité de cet organisme à creuser des galeries dans la roche, rappelant un couteau. Cette espèce est reconnue comme cosmopolite, et elle se distingue par son activité de fouisseur dans les sédiments peu profonds ainsi que par ses propriétés antibactériennes et antifongiques. *Perinereis cultrifera* est un métazoaire triploblastique présentant une morphologie vermiforme métamérisée. Sa partie dorsale affiche une coloration bronze vert à rouge clair (Grûbe, 1840), et cette espèce sédentaire trouve refuge sous les pierres ensablées ou dans les cavités et fissures des roches, cohabitant souvent avec les algues (Scaps *et al.*, 1992 ; Rouabah & Scaps, 2003 ; Younsi *et al.*, 2006 ; Majumder *et al.*, 2010 ; Jumars *et al.*, 2015 ; Park & Kim, 2017).

Plusieurs études ont été entreprises sur les annélides polychètes pour le biomonitoring de différents contaminants, notamment les résidus pharmaceutiques (Maranho *et al.*, 2014 ; Da Fonseca *et al.*, 2019 ; Gomes *et al.*, 2019) et les hydrocarbures totaux (Guemouda, 2015 ; Belfetmi *et al.*, 2021). Les recherches menées sur *Perinereis cultrifera* ont abordé des aspects écologiques (Meghaloui, 2014 ; Guemouda, 2015), éthologiques (Boisseau, 1962 ; Marcel, 1962), biologiques, physiologiques et histologiques (Ramdani *et al.*, 2021 ; Belfetmi *et al.*, 2022 ; Sebbih *et al.*, 2023), ainsi que génétiques et taxonomiques (Younsi, 2006 ; Rezzag- Mahcene *et al.*, 2022).

Cette thèse vise à explorer l'impact de la pollution marine, en particulier celle liée aux résidus pharmaceutiques, sur l'annélide polychète *Perinereis cultrifera*, utilisé comme bioindicateur dans les écosystèmes côtiers méditerranéens, avec un focus spécifique sur le littoral algérien. L'étude, menée tout au long de l'année 2022, compare trois sites situés dans l'Est algérien : deux sites pollués (Skikda et Annaba) et un site relativement préservé (El Kala). L'objectif principal est de caractériser les effets des contaminants, notamment les résidus

pharmaceutiques tels que l'acide acétylsalicylique, sur les polychètes et leur environnement marin, à travers une approche multidimensionnelle intégrant les aspects suivants :

- ✚ **Caractérisation morphométrique** : Évaluation des variations morphologiques (taille, poids, nombre de sétigères) de *P. cultrifera* en lien avec les niveaux de contamination environnementale.
- ✚ **Biologie de la reproduction** : Étude des effets des contaminants sur les cycles reproductifs, notamment par l'analyse des ovocytes, pour identifier les perturbations potentielles.
- ✚ **Caractérisation de l'épithélium intestinal** : Étude de l'épaisseur de l'épithélium intestinal de *P. cultrifera* sur chaque site pour évaluer l'impact des contaminants sur la santé digestive des polychètes.
- ✚ **Caractérisation histologique** : Investigation des modifications structurelles des ovocytes et de l'épithélium intestinal en fonction des sites, reflétant les impacts différenciés de la pollution.
- ✚ **Caractérisation écotoxicologique** : Réalisation de bioessais d'exposition aiguë et chronique à l'acide acétylsalicylique afin d'évaluer la toxicité chez *Perinereis cultrifera* à travers l'analyse des marqueurs biochimiques, l'examen histologique des tissus et l'étude des paramètres morphométriques de *Perinereis cultrifera*. Ces approches permettent d'identifier les mécanismes de détoxification, le stress oxydatif et les altérations morphologiques induites par les résidus pharmaceutiques

En combinant ces approches, cette recherche vise à mieux comprendre les réponses biologiques, morphologiques, et toxicologiques de *P. cultrifera* face aux contaminants tout en fournissant des données essentielles pour l'évaluation des risques environnementaux sur les écosystèmes marins méditerranéens.

# **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2.1 Localisation et présentation des sites d'étude

La mer Méditerranée abrite une diversité remarquable d'habitats et d'écosystèmes marins et côtiers, caractérisés par des fonctionnalités et une écologie unique. Cette richesse écologique les classe parmi les plus précieux et fragiles de la planète. Cependant, cette diversité intrinsèque, les rend particulièrement sensibles aux impacts des activités anthropiques (Moullec, 2019).

L'intense activité socio-économique concentrée sur le littoral algérien, à l'instar du bassin méditerranéen, induit une littoralisation croissante du développement. Cette concentration s'accompagne d'interactions inévitables avec les composantes physico-chimiques, biologiques et écologiques de cet écosystème fragile, le rendant d'autant plus vulnérable (CAR/ASP - PNUE/PAM, 2015)

En effet, l'Algérie, selon une étude de l'OMS (Petkova *et al.*, 2013), figure parmi les pays africains les plus touchés par la pollution environnementale. La côte algérienne subit de plein fouet les pressions anthropiques, comme le montre le tableau 1, avec une variété de sources de pollution.

**Tableau 1.** Types de pollution présente au niveau des zones côtières en Algérie.

Type de Pollution	Description
<b>Pollution Industrielle</b>	Rejets des installations industrielles contenant des produits chimiques, des métaux lourds et d'autres polluants.
<b>Pollution Urbaine</b>	Pollution générée par les zones urbaines le long de la côte, par les rejets d'égouts, les déchets solides et les ruissellements.
<b>Déchets Marins</b>	accumulation de déchets plastiques sur les plages et dans l'environnement marin.
<b>Pollution Pétrolière</b>	déversements de pétrole issus des activités maritimes et offshore.
<b>Pollution Agricole</b>	Introduction de pesticides, engrais et autres produits chimiques dans les eaux côtières par les ruissellements des terres agricoles.
<b>Pollution liée au Tourisme</b>	Contribution à la pollution par l'augmentation de la génération de déchets, le développement côtier et la pression sur les ressources naturelles.

Les sites d'étude, situés le long du littoral Est algérien, incluent El-Kala, Annaba et Skikda, chacun présentant des caractéristiques distinctes en matière de pollution et de biodiversité (Figure 1). El-Kala, un site préservé et riche en biodiversité, sert de référence (Figure 2), tandis qu'Annaba et Skikda (Figure 3 et 4), marqués par une intense activité industrielle, sont exposés à des niveaux élevés de contamination, y compris pharmaceutique, provenant de sources urbaines, industrielles et pétrochimiques (Ramdani, 2021 ; Sebbih, 2023).



**Figure 1.** Cartographie des sites d'échantillonnage de *Perinereis cultrifera* sur le littoral Est algérien, réalisée à l'aide du logiciel ArcGIS (Photo personnelle, 2025).

**Tableau 2.** Coordonnées géographiques des sites d'étude.

Sites	Latitude	Longitude
El Kala	36°54' N	8°28' E
Annaba	36°55' N	7°47' E
Skikda	36°54' N	6°53' E



**Figure 2.** Site d'étude d'El Kala (plage la montagne) (Photo personnelle, 2025).



**Figure 3.** Site d'étude d'Annaba (plage Rezgui Rachid) (Photo personnelle, 2025).



**Figure 4.** Site d'étude de Skikda (Plage Bikini) (Photo personnelle, 2025).

## 2.2 Echantillonnage et indices écologiques

Les sorties sur le terrain sont tributaires des conditions météorologiques, qui sont recueillies à partir de sources spécialisées en ligne. Deux méthodes de récolte sont mises en œuvre : une méthode chimique et une méthode mécanique de raclage. Chaque site d'échantillonnage est soumis à des récoltes mensuelles effectuées dans la zone intertidale. Les conditions idéales pour la collecte incluent une marée basse, une faible hauteur de houle (ne dépassant pas 0,3 mètre), un intervalle approprié entre les vagues et une faible vitesse de vent, inférieure à 10 km/h. Différents indices écologiques ont été déterminés dans cette étude :

Abondance (N), Richesse totale (S), La diversité (H'), L'équitabilité de Piélou (J') (les autres ont été bien détaillés par mon prédécesseur Mr SEBBIH tels que l'indice de similitude de Sørensen, Indice de similarité de Jaccard (J), Indice de Margalef (RMg) etc..)

### 2.2.1 Méthode chimique

Cette méthode décrit l'utilisation de produits chimiques tels qu'une solution d'hypochlorite de sodium à 10% ou de permanganate de potassium pour réaliser des échantillonnages marins selon une méthode d'échantillonnage aléatoire simple, suivie de la collecte visuelle des échantillons (Figure 5). Ces produits sont choisis pour leurs propriétés incitatives, qui encouragent les organismes à émerger de leurs abris sous-marins (galeries). Après la collecte, les organismes sont soigneusement lavés à l'eau de mer, puis transférés dans des récipients spécialement conçus contenant des algues fraîches pour maintenir leur humidité vitale. Cette approche, capable de récupérer des organismes entiers rapidement et en plus grand nombre, est préférable à la méthode de raclage mécanique, offrant ainsi un avantage significatif dans la préservation de l'intégrité des spécimens marins pour des études ultérieures.



**Figure 5.** Méthode de récolte chimique (Photo personnelle, 2025).

### 2.2.2. Méthode mécanique

La récolte des annélides s'effectue par délogement mécanique, où la flore et la faune sont soigneusement grattées à l'aide d'un grattoir (Figure 6). Ce processus est laborieux, chronophage et moins efficace, car il entraîne souvent la mutilation des vers. En conséquence, seuls les spécimens intacts sont ensuite utilisés pour des analyses biochimiques. Pour leur conservation, ils sont maintenus entre 4 et 12°C et placés dans des récipients contenant des algues naturelles pour reproduire leur environnement naturel. La durée de la collecte varie de 3 à 5 heures, en fonction des conditions environnementales et de la densité des organismes, avec des sessions répétées avant leur transport au laboratoire (Meghlaoui, 2015 ; Sebbih, 2023).



**Figure 6.** Méthode de récolte mécanique (Photo personnelle, 2025)

Au laboratoire, la macrofaune est d'abord séparée des autres composantes biologiques telles que les algues et les particules de sédiments. Ensuite, les organismes sont triés selon leur classification zoologique respective. Les spécimens de *Perinereis cultrifera* sont séchés et identifiés sous une loupe binoculaire, en se basant sur les critères de classification du genre *Perinereis* (Fauvel, 1923). Les paramètres morphométriques de *Perinereis cultrifera* sont évalués, tandis que les individus utilisés pour les tests de toxicité sont maintenus en aquariums sous conditions contrôlées. Les individus destinés aux analyses histologiques sont fixés dans du formol, et ceux prévus pour les études biochimiques et moléculaires sont conservés dans des solutions appropriées.

### 2.3 Données physico-chimiques

Le contrôle rigoureux des paramètres physico-chimiques constitue un pilier central pour évaluer la santé de l'environnement aquatique et la dynamique des écosystèmes, ainsi que pour

contribuer à la préservation et à la remédiation de la qualité de l'eau (Sarkar *et al.*, 2016 ; Whitehead *et al.*, 2018 ; Islam *et al.*, 2019).

### 2.3.1 Paramètres physico-chimiques généraux

Les paramètres physico-chimiques généraux de l'eau de mer ont été systématiquement mesurés *in situ* lors de chaque prélèvement pour garantir une interprétation complète des résultats. Cette démarche a été effectuée à l'aide du dispositif portable "Thermo Scientific Orion 5-star", un instrument multiparamétrique. Ces paramètres incluent la température, la salinité, l'oxygène dissous et le pH (tableau 3 ; Figure 7).

**Tableau 3.** Paramètres physico chimique généraux de l'eau de mer mesurés *in situ* (Carstensen *et al.*, 2019 ; Gomes & Bernardino, 2020 ; Gilson *et al.*, 2021 ; Masanja *et al.*, 2023 ; Protasewicz, 2024).

Paramètre	Définition	Importance
<b>Température</b>	Mesure de l'agitation moléculaire dans l'eau, exprimée en degrés Fahrenheit ou Celsius.	La température de l'eau influence directement la survie, la reproduction et la condition générale des organismes marins, régulant les taux métaboliques et les activités enzymatiques. Elle affecte également le comportement et la distribution des espèces.
<b>Salinité</b>	Concentration des sels dissous dans l'eau, exprimée en parties par millier (ppt) ou en pour mille (‰).	La salinité affecte la physiologie des organismes marins et leur capacité à réguler leur osmolarité. Les variations de salinité peuvent perturber l'équilibre ionique, la régulation osmotique et les processus de reproduction des organismes marins.
<b>Dioxygène Dissous (DO)</b>	Quantité d'oxygène dissous dans l'eau, mesurée en milligrammes par litre (mg/L).	Le DO est essentiel pour la respiration et le métabolisme des organismes marins. Des niveaux insuffisants de DO peuvent entraîner des conditions hypoxiques ou anoxiques, mettant en péril la survie, la croissance, la reproduction et la santé des organismes marins. De plus, l'oxygène dissous dans l'eau est crucial pour le processus d'oxydation des matières organiques, contribuant ainsi à l'autoépuration des écosystèmes aquatiques.
<b>pH</b>	Mesure de l'acidité ou de la basicité de l'eau, exprimée sur une échelle de 0 à 14. Un pH neutre est de 7, les valeurs inférieures indiquent une acidité croissante et les valeurs supérieures une basicité croissante.	Le pH influence directement la physiologie, la régulation ionique et la santé des organismes marins. Les variations de pH peuvent perturber l'équilibre acido-basique interne des organismes marins, affectant leur homéostasie, leur métabolisme et leur survie.
<b>La conductivité</b>	microsiemens par centimètre ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	La conductivité mesure la capacité de l'eau à conduire le courant électrique.



**Figure 7.** Multi-paramètre pour la mesure des paramètres physico-chimique généraux « Thermo scientific Orion 5-star » (Photo personnelle, 2025).

### 2.3.2. Paramètres physico-chimiques globaux

L'échantillonnage de l'eau de mer a été réalisé selon une méthode itinérante. Cette approche consiste à entrer progressivement dans la mer à partir du rivage, puis à effectuer des prélèvements successifs à différentes distances. Les échantillons ont été collectés à environ 20 cm de profondeur à l'aide de bouteilles stérilisées, en prenant soin d'éviter toute contamination de surface. Par site, trois prélèvements espacés de quelques mètres ont été effectués, permettant ainsi de couvrir une zone représentative. Cette méthode tient compte de la variabilité spatiale du milieu et garantit la fiabilité des résultats physico-chimiques.

Les paramètres physico-chimique globaux permettent de quantifier la teneur en matière organique présente dans les écosystèmes aquatiques, résultant à la fois de processus naturels et d'activités anthropiques. Ces composés proviennent de la décomposition de la biomasse, comprenant les déchets produits par les animaux, les organismes inertes et les débris végétaux. De plus, les eaux usées ainsi que les rejets provenant de l'agriculture et de l'industrie contribuent également à la charge organique présente dans ces milieux, représentant une source significative de pollution d'origine humaine. Parmi les paramètres physico chimiques globaux surveillé lors de cette étude on cite : Demande Chimique en Oxygène(DCO), Demande Biochimique en Oxygène (DBO), matière en suspension (MES), Adsorbable Organiquement Halogéné (AOX), le carbone organique total(COT) et la conductivité (Morin-Crini *et al.*, 2017 ; cpepesc, 2022) (tableau 4 ; Figure 8).

**Tableau 4.** Paramètres physico chimiques globaux caractérisant la matière organique Morin-Crini *et al.*, 2017 ; cpepesc, 2022).

Paramètre	Unité	Définition	Utilisation
<b>DCO</b>	mg/l d'oxygène	La Demande Chimique en Oxygène (DCO) correspond à la quantité d'oxygène consommée par voie chimique pour oxyder toutes les matières oxydables dans un échantillon d'eau de 1 litre.	Mesure rapide et reproductible de la pollution des effluents industriels. Moins représentative de la décomposition des matières organiques que la DBO.
<b>DBO</b>	mg/l d'oxygène	La Demande Biochimique en Oxygène (DBO5) mesure l'oxygène utilisé par les bactéries pour dégrader les matières organiques biodégradables dans l'eau	Indique la fraction biodégradable dans l'eau et représente assez fidèlement le processus naturel de dégradation. Utilisée pour évaluer la charge organique dans les eaux usées domestiques et industrielles.
<b>MES</b>	mg/l de particules	La Matière en Suspension (MES) évalue la concentration de solides particulaires, organiques et inorganiques, dans l'eau.	Utilisée pour évaluer la santé des écosystèmes marins en indiquant la quantité de sédiments et autres particules. Des niveaux élevés de MES peuvent affecter la pénétration de la lumière, la photosynthèse et les habitats marins.
<b>Nitrates</b>	mg/l d'azote	Les nitrates (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) sont des composés azotés présents dans l'eau, souvent issus de l'utilisation d'engrais agricoles et d'effluents industriels.	Indicateur clé de la pollution marine. Les nitrates perturbent les équilibres chimiques et biologiques des écosystèmes aquatiques, favorisent l'eutrophisation, et affectent la biodiversité et les processus écologiques.
<b>COT</b>	mg/l de carbone	Le Carbone Organique Total (COT) mesure la quantité de carbone présent dans la matière organique d'une eau.	Utilisé pour quantifier les composés organiques présents dans l'eau. Indicateur de la pollution organique totale.
<b>AOX</b>	µg/l d'équivalents chlore	Les composés organiques halogénés adsorbables (AOX) représentent la somme des composés organiques halogénés pouvant être adsorbés sur le charbon actif.	Utilisé pour évaluer la pollution par des composés organiques halogénés, incluant des substances allant des composés organiques volatils simples aux composés complexes.



**Figure 8.** Chromatographe Ionique avec Analyse Automatisée des Paramètres Physico-Chimiques - Système Metrohm (Photo personnelle, 2025).

## 2.4. Les molécules contaminantes dans l'écosystème marin

### 2.4.1 Les produits pharmaceutiques

Les produits pharmaceutiques sont des substances ou des combinaisons de molécules administrées aux animaux ou aux humains dans le but de modifier les fonctions métaboliques et physiologiques par des actions immunologiques et pharmacologiques à des fins thérapeutiques. Les produits pharmaceutiques incluent les médicaments, les vaccins, les agents diagnostiques et autres préparations thérapeutiques

Les principes actifs pharmaceutiques, quant à eux, sont définis comme les composants actifs d'un médicament. Ils peuvent également être composés d'autres ingrédients biologiquement actifs, souvent appelés excipients, qui sont incorporés dans de nombreux médicaments pour aider à l'absorption et augmenter la solubilité (Kumar *et al.*, 2021).

Essentiellement, les produits pharmaceutiques et les principes actifs pharmaceutiques sont des molécules qui produisent des effets biologiques lorsqu'ils sont administrés. Ils sont conçus pour provoquer des modifications des fonctions biologiques chez les humains et les animaux. Les produits pharmaceutiques sont principalement composés de molécules organiques contenant des groupes hydrocarbonés, et leurs structures moléculaires sont constituées de molécules hydrophobes et hydrophiles (Kayode-Afolayan *et al.*, 2022).

## 2.4.2 Devenir des produits pharmaceutiques après leur utilisation

Les produits pharmaceutiques peuvent emprunter trois voies principales dans l'environnement (Richardson & Bowron, 1985) :

### + Minéralisés en CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O

Les produits pharmaceutiques se dégradent complètement en dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) et en eau (H<sub>2</sub>O) dans l'environnement. Ils sont donc éliminés de manière naturelle et ne présentent pas de risque de pollution persistante.

### + Lipophiles et non dégradables

Les produits pharmaceutiques ont une affinité pour les lipides (graisses) et ne se dégradent pas facilement dans l'environnement. Ils peuvent s'accumuler dans les tissus adipeux des organismes vivants et persister dans l'environnement pendant de longues périodes, ce qui représente un risque de pollution

### + Métabolisés en forme hydrophile persistante

Les produits pharmaceutiques sont transformés en métabolites hydrophiles (solubles dans l'eau) mais qui restent persistants dans l'environnement. Ces métabolites peuvent être tout aussi toxiques que le produit pharmaceutique original et peuvent s'accumuler dans la chaîne alimentaire.

## 2.4.3 Les résidus pharmaceutiques

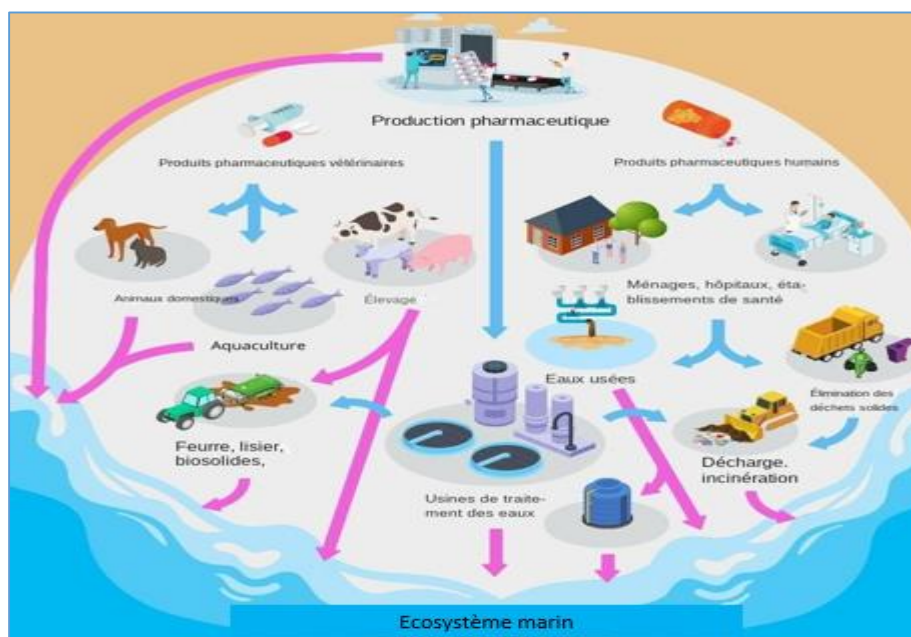
Les résidus pharmaceutiques, classés comme contaminants émergents, sont des traces de substances chimiques ou biologiques issues des produits pharmaceutiques présentes dans l'environnement après utilisation. Ils comprennent les composés actifs, leurs métabolites, produits de dégradation et excipients, et sont préoccupants en raison de leur pseudo-persistante et de leurs effets potentiellement nocifs (Osuoha *et al.*, 2023).

### 2.4.3.1 Sources de la contamination marine par les résidus pharmaceutiques

La consommation mondiale de médicaments, tant à usage humain que vétérinaire, connaît une

augmentation alarmante, atteignant des niveaux dépassant plusieurs centaines de milliers de tonnes par an (Bungau *et al.*, 2018). L'Algérie, se classant 4ème au Moyen-Orient en termes de consommation de médicaments (Benabderrahmane, 2019), illustre cette tendance croissante. Cette consommation excessive génère des conséquences néfastes sur les écosystèmes marins, une problématique environnementale majeure qui mérite une attention particulière.

L'infiltration de résidus pharmaceutiques dans les milieux marins découle principalement des pratiques médicales humaines et vétérinaires. L'administration de médicaments se traduit par leur métabolisation et leur éventuelle introduction dans l'environnement via l'assainissement résidentiel, entraînant la formation de métabolites hydrophiles. Bien que les apports médicamenteux issus du secteur hospitalier restent relativement limités, le rejet inapproprié de ces produits pharmaceutiques excédentaires augmente la charge de contaminants aquatiques. Par ailleurs, l'activité industrielle, en particulier dans les régions où la production pharmaceutique est intensive, contribue significativement à l'intrusion de ces substances dans le milieu marin. Les pratiques agro-vétérinaires, de même que la dissémination de résidus issus de l'aquaculture et de l'élevage par le biais des ruissellements et de fumures, intensifient l'accumulation des résidus médicamenteux. De surcroît, les rejets urbains, notamment ceux traités dans les stations d'épuration qui n'éliminent pas entièrement les polluants émergents (tableau 5), se révèlent être une source notable de contamination marine, particulièrement impactée par les rejets industriels des secteurs chimiques et pharmaceutiques (Nikolaou *et al.*, 2007 ; Kümmerer, 2010 ; Ebele *et al.*, 2017 ; Pereira *et al.*, 2020).



**Figure 9.** Les différentes sources de la pollution marine par les résidus pharmaceutiques (Lecoq, 2023).

**Tableau 5.** Concentrations de médicaments (en µg/l) mesurées à l'entrée et à la sortie de diverses stations d'épuration (d'après Fent *et al.*, 2006 ; Collette-Bregand *et al.*, 2009).

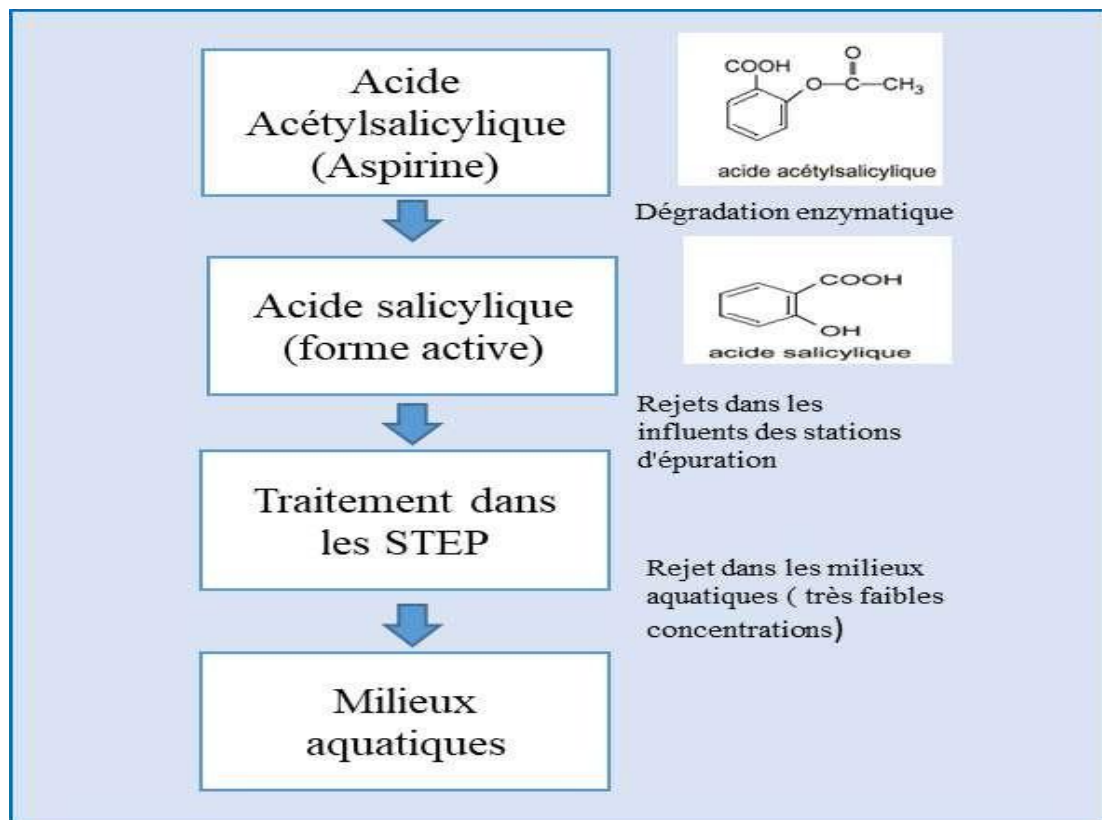
Catégorie	Substance	Concentration dans les eaux usées (µg/L)	Élimination (%)	Références
AINS, Analgésiques	Aspirine	3,2	81	Ternes <i>et al.</i> (1999)
	Naproxène	44,7 ± 12,5	40 - 100	Metcalfe <i>et al.</i> (2003a)
		1,02 ± 0,25	71 - 81	Quintana <i>et al.</i> (2005)
	Diclofénac	0,35 ± 0,05	27 - 40	Heberer (2002)
	Ibuprofène	0,33 - 1,09	23 - 47	Buser <i>et al.</i> (1999)
		0,15 ± 0,04	96	Lindqvist <i>et al.</i> (2005)
	Kétoprofène	13,1 +/- 4	78 - 100	Lindqvist <i>et al.</i> (2005)
		0,2 - 0,5	53	Taxe-Wuersch <i>et al.</i> (2005)
	Paracétamol	0,1 - 0,125	51 - 100	Lindqvist <i>et al.</i> (2005)
Dextropropoxyphène	0,03	96	Roberts & Thomas (2005)	
Bêta-bloquants	Propranolol	n.r.	90	Ternes (1998)
			71	Roberts & Thomas (2005)
Hypolipémiant	Bézafibrate	2,6	91 - 94	Quintana <i>et al.</i> (2005)
		0,42 +/- 0,03	15 - 100	Lindqvist <i>et al.</i> (2005)
	Gemfibrozil	n.r.	69	Metcalfe <i>et al.</i> (2003a)
		n.r.	69	Ternes (1998)
	Acide clofibrrique	0,15 - 0,25	0 - 15	Taxe-Wuersch <i>et al.</i> (2005)
0,34		95	Roberts & Thomas (2005)	
Neurotropes	Carbamazépine	n.r.	7 - 8	Ternes (1998)
		0,7	< 10	Metcalfe <i>et al.</i> (2003a)
Antinéoplasiques	Ifosfamide	0,007 - 0,029	n.r.	Kümmerer <i>et al.</i> (1997)
	Tamoxifène	0,15	0,20	Roberts & Thomas (2005)
Produits de contraste		0,18 - 7,5	0,14 - 8,1	Ternes & Hirsch (2000)

### 2.4.3.2 L'acide acétylsalicylique

L'acide acétylsalicylique (ASA), communément désigné par le nom commercial Aspirine, appartient au groupe des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), il est bien connu pour ses actions antalgiques, antipyrétiques, anti-inflammatoires et antithrombotiques (Schrör, 2022 ; Arif & Aggarwal, 2023). Ces effets pharmacodynamiques sont dus à l'inhibition de la biosynthèse des prostaglandines et du thromboxane, principalement médiée par l'acétylation irréversible de résidus spécifiques de sérine dans les isoenzymes cyclo-oxygénase-1 (COX-1) et COX-2 (Giménez-Bastida *et al.*, 2019). Ce médicament se distingue comme l'un des AINS ayant la plus forte consommation mondiale (Fent *et al.*, 2006a) et a été le premier produit pharmaceutique identifié dans les influents/effluents des eaux usées (Daughton & Ternes, 1999). Par conséquent, des rapports ont signalé la présence de diverses concentrations de ce médicament dans les milieux aquatiques à travers le monde (Richardson & Bowron, 1985 ; Daughton & Ternes, 1999 ; Rabiet *et al.*, 2006 ; Tambosi *et al.*, 2010 ; Lolić *et al.*, 2015). Le mécanisme de son action toxique n'a pas été entièrement élucidé (Gómez-Oliván *et al.*, 2014 ; Freitas *et al.*, 2019 ; Nunes, 2019 ; Szabelak & Bownik, 2021 ; Afsa *et al.*, 2023), mais il est connu que ce composé peut induire une toxicité chez des organismes aquatiques (Cleavers, 2004). De plus, il a été démontré que l'ASA induit un stress oxydatif chez les organismes marins (Nunes *et al.*, 2015b).

#### **Dégradation de l'acide acétylsalicylique au niveau des stations d'épuration**

L'acide acétylsalicylique est rapidement dégradé en métabolites (figure 10), en particulier dans sa forme active l'acide salicylique, détecté dans des influents de stations d'épuration (STEP) jusqu'à 54 µg/L (Ternes *et al.*, 1998). Ce composé est bien dégradé en STEP et n'est détecté qu'en très faibles concentrations dans les effluents et les milieux aquatiques.



**Figure 10.** Transformation de l'acide acétylsalicylique dans les procédés de traitement des eaux usées (Photo personnelle, 2025).

**Tableau 6.** Exemples de résidus pharmaceutiques fréquemment détectés dans l'environnement marin (Vieno *et al.*, 2017 ; Branchet *et al.*, 2021 ; Castaño-Ortiz *et al.*, 2023 ; Santarivá *et al.*, 2023).

Classe	Exemples
<b>Antibiotiques</b>	Macrolides, sulfonamides, tétracyclines, fluoroquinolones, aminoglycosides
<b>Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)</b>	Acide acétylsalicylique, ibuprofène, diclofénac, acide méfénamique
<b>Anticonvulsivants</b>	Carbamazépine, primidone
<b>Bêta-bloquants</b>	Métoprolol, propranolol, bétaxolol, bisoprolol, nadolol
<b>Bêta-agonistes</b>	Salbutamol
<b>Opioides</b>	Dextropropoxyphène
Agents de contraste radiographique	Iopromide, iopamidol, iohexol, diatrizoate
Hormones	17 $\alpha$ -éthynylestradiol, mestranol, 19-noréthistérone

### **2.4.3.3 Risque des résidus pharmaceutiques dans le milieu marin**

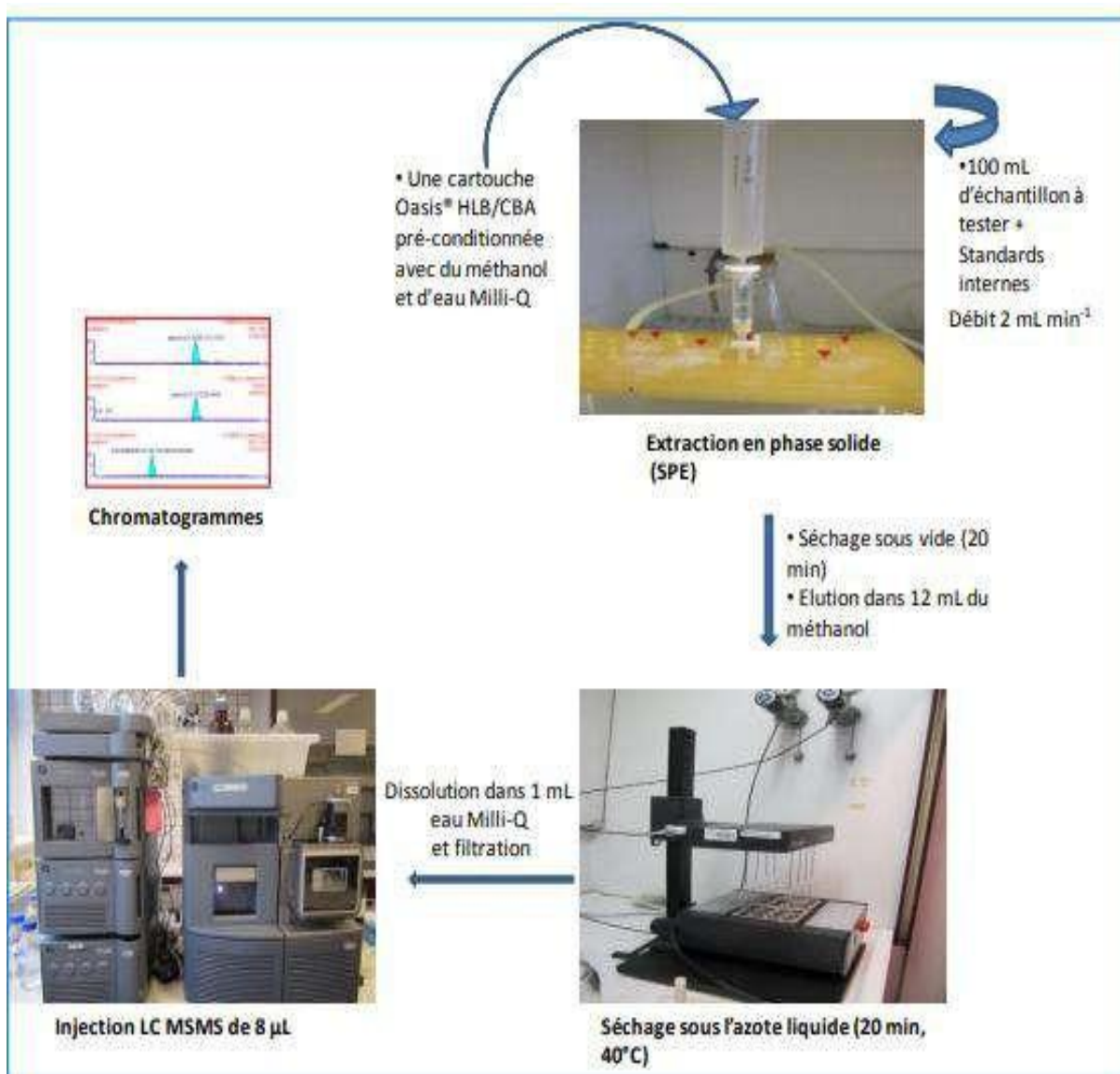
Les résidus pharmaceutiques présents dans l'écosystème marin posent des risques significatifs, incluant des effets directs et indirects sur les processus biochimiques, la perturbation du système endocrinien, le développement de la résistance antimicrobienne et la bioaccumulation des substances chez les organismes non cibles (Frédéric & Yves, 2014 ; Vasquez *et al.*, 2014). En raison de l'élimination inappropriée des produits pharmaceutiques, l'accumulation de métabolites actifs et inactifs dans l'environnement marin a été mise en évidence (Collado *et al.*, 2014). Ces composés, présents dans les eaux marines, peuvent intégrer la chaîne alimentaire via la bioaccumulation chez les organismes non cibles (Richmond *et al.*, 2018). De plus, les produits pharmaceutiques issus des activités humaines perturbent la capacité naturelle de détoxification des populations benthiques, en impactant négativement leurs processus métaboliques (Burkina *et al.*, 2015) et leur diversité (Kuzmanović *et al.*, 2016).

#### **2.4.3.3.1 Dosage des résidus pharmaceutiques**

La même technique d'échantillonnage itinérant a été appliquée pour le prélèvement de l'eau de mer destinée à l'analyse des résidus pharmaceutiques. Les prélèvements ont été réalisés à différentes distances depuis le bord de mer, à environ 20 cm de profondeur, à l'aide de bouteilles stérilisées, en veillant à éviter toute contamination. Cette méthode garantit la représentativité des échantillons et la fiabilité des résultats liés au dosage des contaminants pharmaceutiques.

##### **a) Extraction des résidus pharmaceutiques à partir de l'eau de mer**

Les standards internes sont ajoutés à une concentration de 60 ng mL<sup>-1</sup> à 100 mL d'échantillon d'eau. Une cartouche Oasis® HLB est pré-conditionnée avec 6 mL de méthanol et 6 mL d'eau Milli-Q. L'échantillon est chargé sur la cartouche avec un débit d'environ 2 mL min<sup>-1</sup>. La cartouche est rincée avec 6 mL d'eau Milli-Q et séchée sous vide pendant 20 min. Après séchage, les analytes sont élués en utilisant 12 mL de méthanol et puis évaporés à sec à 40 °C. Le résidu sec est dissous dans 1 mL d'eau Milli-Q et filtré sur 0,22 µm puis 8 µL sont injectés à la colonne CLHP (Figure 11).



**Figure 11.** Dosage des résidus pharmaceutiques par la chromatographie liquide couplée à la spectrophotométrie de masse en tandem (LC/ MS/MS) (Photo personnelle, 2025).

### b) Le procédé d'analyse

La phase mobile est constituée d'un mélange d'acide formique à 0,1% dans l'eau Milli-Q (A) et dans de l'acétonitrile (B). La composition de la phase mobile varie de manière linéaire de 1% de la phase (B) à 0 min jusqu'à 99 % à 10 min et elle revient à 1% à 14 min, après la colonne est rincée avec 99 % d'acétonitrile pendant 5 min et rééquilibrée dans les conditions de départ. Le flux est fixé à 0,4 mL min<sup>-1</sup> (Tableau 7).

**Tableau 7.** Paramètres analytiques pour la détection des composés pharmaceutiques par LC/MS/MS.

Composé	R <sup>2</sup>	LOD (ng·L <sup>-1</sup> )	LOQ (ng·L <sup>-1</sup> )	Ion Parent (m/z)	Ions Fils (m/z )	C E ( e V )
Sulfaguanidine	0,994	0,1	0,4	529,1	134,1 ; 396,0	10
Sulfadiazine	0,995	0,01	0,04	646,0	290,0 ; 530,0	10, 20
Sulfaméthoxazole	0,996	0,01	0,4	424,1	152,3 ; 292,1	10, 20
Sulfathiazole	0,993	0,01	4,0	459,1	178,1 ; 258,1	20, 30
Sulfisoxazole	0,995	0,01	4,0	455,0	152,2 ; 337,1	10
Sulfaméthizole	0,994	0,1	0,04	320,0	156,2 ; 295,0	15
Acide salicylique	0,995	0,1	0,4	360,1	241,0 ; 285,0	15
Ibuprofène	0,993	0,1	4,0	400,0	72,0 ; 345,0	20, 30
Fénoprofène	0,997	0,01	0,4	262,1	233,0 ; 276,0	10

## 2.5. Les bioindicateurs de pollution

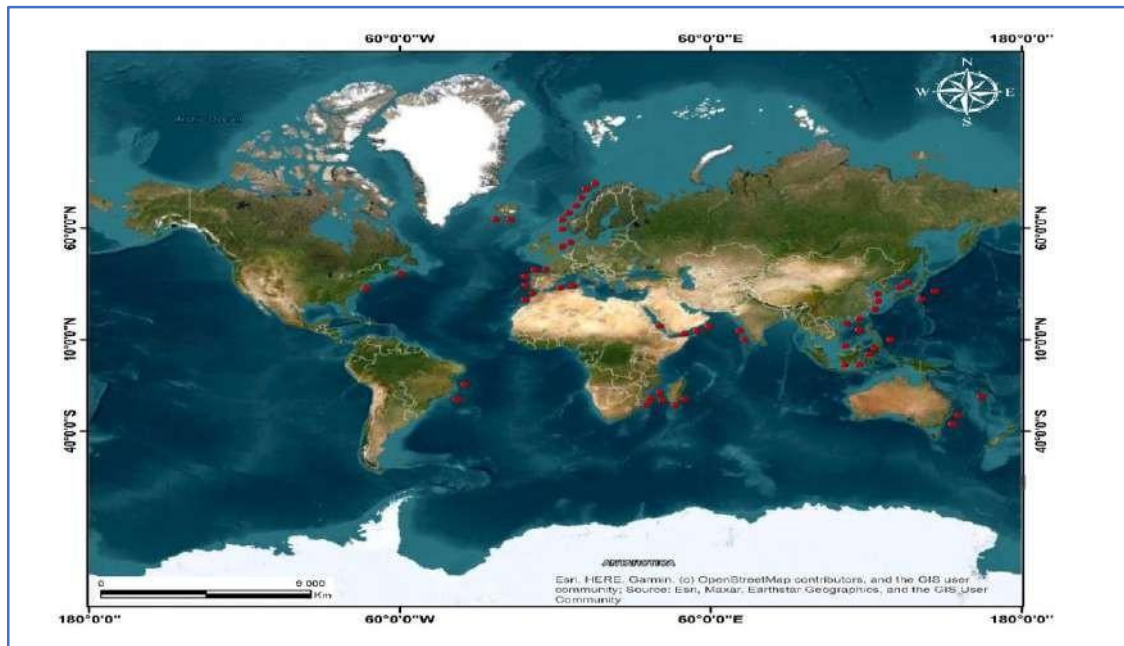
Un bioindicateur est une espèce ou un groupe d'espèces utilisé dans le biomonitoring pour indiquer les effets néfastes de la contamination. Issu de la toxicologie environnementale, le terme "bioindicateur" se réfère à un organisme ou à une réponse biologique révélant la présence de polluants par l'apparition de symptômes typiques ou de réponses mesurables. Les bioindicateurs fournissent des informations sur les altérations de l'environnement ou la quantité de polluants environnementaux en changeant physiologiquement, chimiquement ou comportementalement. Les espèces bioindicatrices sont répandues, facilement échantillonnables et présentent des réponses aux toxiques (réponses des biomarqueurs) mesurables de manière fiable et dépendant de la concentration. La pertinence des espèces bioindicatrices varie selon les milieux aquatiques, car les sensibilités des organismes aux différents contaminants sont différentes. De nombreuses études ont été menées sur l'utilisation de bioindicateurs, notamment des espèces bioaccumulateurs, pour évaluer la qualité des milieux naturels. En effet, l'accumulation de certains polluants par ces organismes facilite leur détection et leur quantification à l'aide de méthodes chimiques et/ou physiques. En outre, les espèces bioaccumultrices choisies comme bioindicateurs sont typiquement des organismes sessiles, largement répandus, relativement résistants aux substances toxiques et possèdent une longévité suffisante pour intégrer les variations de la qualité du milieu environnant. (Amiard-Triquet, 1989 ; Meghlaoui *et al.*, 2015). Plusieurs études ont utilisé différentes espèces appartenant à

différents embranchements pour le biomonitoring de la qualité des écosystèmes marins, incluant des mollusques (Le Vern, 2022), des poissons (Kumar *et al.*, 2021), des annélides (Etxabe *et al.*, 2021 ; Moumeni *et al.*, 2024), et des crustacés (Araujo *et al.*, 2020). Dans cette étude, nous avons choisi d'utiliser les annélides polychètes du genre *Perinereis*, spécifiquement *Perinereis cultrifera*, comme bioindicateurs en milieu marin. Cette espèce a été sélectionnée en raison de sa large distribution géographique, de sa capacité à résister aux toxines et à bioaccumuler certains contaminants, facilitant ainsi leur détection et quantification dans l'environnement marin (Meghaloui, 2014 ; Ramdani, 2021 ; Rezzag Mahcen, 2022, ; Sebbih, 2023).

## 2.6 Matériel biologique

### 2.6.1 Description générale et répartition géographique de l'espèce

*Perinereis cultrifera*, identifiée pour la première fois par Grube en 1840, est un polychète de la famille des Nereidae. Elle se distingue par sa pigmentation, oscillant entre le bronze vert avec des teintes dorsales de rouge clair, et mesure généralement entre 10 et 25 cm. Décrite initialement par Fauvel en 1923, cet annélide benthique est noté pour son étendue géographique substantielle (Figure 12), peuplant des zones diverses incluant la Méditerranée, le nord-ouest de l'Europe, l'Atlantique, l'océan Indien et le Pacifique. Son habitat s'étend également à des environnements variés comme les eaux tropicales et subtropicales. Les écrits de Fauvel (1923), Durchon (1957), Cazeaux (1965), et Wu *et al.* (1985) reconnaissent son cosmopolisme géographique, affirmant sa présence dans les eaux européennes, le Moyen-Orient, l'Asie, ainsi que dans le Pacifique Nord et Sud. Les observations récentes indiquent une présence le long des côtes asiatiques. Cependant, une diminution de sa population a été observée sur les côtes de la mer du Nord à la suite de conditions hivernales sévères en 1962/1963 selon les travaux de Dhainaut en 1992. Par ailleurs, cette espèce a été observée en Algérie, comme évoqué dans les travaux de Meghaloui *et al.* (2015), ainsi qu'au Maroc et en Tunisie, comme l'indiquent les études menées par Rouhi *et al.* (2008), Chouikh *et al.* (2019), Bouhedi *et al.* (2021), et Mdaini *et al.* (2022). Habituellement trouvée dans les zones intertidales utilisant les interstices rocheux pour construire des galeries, *P. cultrifera* se retrouve aussi dans les habitats subtidals, où elle se mêle aux rhodophycées et aux *Lithotamnium*.



**Figure 12.** Répartition géographique de *Perinereis cultrifera* (Fauvel, 1923 ; Photo personnelle, 2025).

### 2.6.2 Inventaire et choix de l'espèce

Au sein des systèmes marins, les Annélides polychètes jouent un rôle prépondérant dans la composition et la diversité du macrobenthos. Ils représentent entre 35% et 50% des espèces macrobenthiques, en fonction des spécificités de leur habitat. Les polychètes qui peuplent les zones littorales et côtières sont régulièrement exposés à divers agents potentiellement toxiques, incluant des rejets urbains, industriels et hospitaliers ainsi que divers produits chimiques agricoles, tels que pesticides et herbicides. Ces organismes constituent donc un instrument biologique privilégié pour le suivi écotoxicologique des contaminants et l'analyse des transferts de substances xénobiotiques dans les réseaux trophiques, ce qui les rend incontournables dans les recherches écotoxicologiques (Knox, 1977 ; Scaps, 2000).

Un inventaire taxonomique a été mené afin d'identifier les espèces présentes au sein des trois sites d'échantillonnage. Cette démarche a permis de répertorier plusieurs espèces d'annélides ainsi qu'une faune macrobenthique associée, en accord avec les classifications taxonomiques rapportées dans des études antérieures (Daas *et al.*, 2011 ; Meghlaoui *et al.*, 2015 ; Gasmi *et al.*, 2016 ; Ramdani, 2021 ; Sebbih, 2023 ; Rezzag-Mahcene *et al.*, 2023).

Le choix de l'espèce s'est porté sur *Perinereis cultrifera*, un polychète de la famille des Nereidae, couramment retrouvé dans une grande diversité d'habitats marins ou estuariens, qu'ils soient constitués de substrats sédimentaires ou rocheux. Cette espèce se distingue par sa résilience physiologique face aux fluctuations des conditions environnementales telles que la

température et la salinité et a une fonction essentielle dans les processus de bioturbation et le recyclage de la matière organique ainsi que des nutriments entre les colonnes d'eau et le sédiment. Les polychètes, notamment *P. cultrifera*, occupent une place essentielle dans la chaîne alimentaire marine, étant une source de nourriture pour les poissons, crustacés et oiseaux. Ils contribuent notamment à l'accroissement de la maturité gonadique de certaines espèces de poissons, comme en témoigne leur effet sur le poisson *Dicentrarchus labrax* (Monteiro *et al.*, 2024)

La sélection de *P. cultrifera* comme bioindicateur pour l'évaluation de la qualité environnementale du littoral Est algérien est justifiée par sa biologie et sa capacité écotoxicologique à intégrer les polluants. Cet organisme benthique vit dans des galeries creusées dans les sédiments, ce qui le met en proximité immédiate avec divers contaminants. Des études précédentes ont démontré une corrélation entre les concentrations de cuivre dans les sédiments et celles trouvées dans *P. cultrifera*. De plus, cette espèce a montré une préférence à accumuler d'autres métaux lourds, tels que le cadmium et le zinc, ainsi que l'arsenic. Ces facultés accumulatives, combinées à ses caractéristiques biologiques spécifiques, confirment son aptitude à servir d'indicateur biologique pour refléter l'état de contaminant de cette région marine (Luoma et Bryan 1982 ; Scaps *et al.*, 1998 ; Ghirardini *et al.*, 1999 ; Waring & Maher, 2005).

### 2.6.3 Présentation de l'espèce *P. cultrifera*

*Perinereis cultrifera* peuplant notre littoral Algérien, est un polychète errant de la famille Nereididae, arbore une coloration distinctive composée de teintes bronze, verte et rouge. Sa morphologie est caractérisée par une forme semi-cylindrique avec un renflement dorsal et une terminaison effilée vers la queue, mesurant entre 4 à 5 mm de largeur et 3 à 9 cm de longueur, avec un vaisseau sanguin dorsal prononcé.

Le ver est segmenté en une série de métamères, à l'exception des deux premiers qui forment la tête et le segment terminal, connu sous le nom de pygidium. Les caractéristiques antérieures comprennent des mâchoires noires, puissantes et dentées, qui facilitent la création de galeries dans les structures récifales, d'où le qualificatif '*cultrifera*'. Son régime alimentaire varie entre l'herbivore et le carnivore. La tête de l'organisme est dotée de quatre yeux disposés en trapèze, de deux antennes courtes, de quatre paires de cirres tentaculaires et d'un ensemble de paragnathes, un attribut distinctif de l'espèce. De plus, des parapodes rougeâtres bordés de

faisceaux de soies chitineuses sont répartis le long du corps, dénotant son appartenance aux polychètes en raison de la présence de ces soies chitineuses.

D'après les informations contenues dans le Registre Européen des Espèces Marines, la taxonomie reconnue du Polychète Annélide désigné sous le nom scientifique de *P. cultrifera*, tel que référencé dans les travaux de Read & Fauchald de 2016, est établie comme suit.

**Règne :** Animalia.

**Embranchement :** Annélides (Annelida).

**Classe :** Polychètes (Polychaeta).

**Sous-classe :** Errantia.

**Ordre :** Phyllodocida.

**Sous-ordre :** Nereidiformia.

**Famille :** Nereididae (Johnston, 1865).

**Sous-famille :** Nereidinae.

**Genre :** *Perinereis* (Kinberg, 1865).

**Espèce :** *Perinereis cultrifera* (Grübe, 1840).

#### **2.6.4 Habitat et Locomotion**

Les polychètes, principalement répertoriés dans les milieux marins, habitent également des écosystèmes variés tels que les habitats d'eau saumâtre et d'eau douce. Ils se retrouvent dans les plaines abyssales et peuvent être présents dans des environnements extrêmes comme à proximité de sources hydrothermales. Le mode de vie des polychètes est souvent benthique, avec des espèces se comportant de manière planctonique. La morphologie des polychètes comprend des régions corporelles distinctes avec des appendices antérieurs développés, aboutissant à leur classification en deux groupes majeurs : les errantes, qui sont mobiles et se déplacent activement, et les sédentaires, qui restent fixés dans des terriers ou à l'intérieur de tubes. Ces annélides entretiennent également des relations symbiotiques avec d'autres organismes marins. Par exemple, les syllides sont en symbiose avec diverses espèces comme les ascidies et les éponges, tandis que les polynoïdes coexistent avec les anthozoaires et d'autres polychètes.

*P. cultrifera*, initialement observée en Méditerranée, est aussi présente dans des régions tropicales et subtropicales. Cette espèce intertidale évolue dans des milieux sélectifs et

physiquement exigeants, caractérisés par des variations d'immersion, de température et de salinité, nécessitant une grande adaptabilité physiologique. La distribution géographique des espèces benthiques et intertidales telle que *P. cultrifera* est discontinu en raison de l'hétérogénéité de l'environnement, de la disponibilité limitée des ressources et des interactions biologiques avec d'autres espèces du milieu.

La locomotion des annélides polychètes implique une série de contractions musculaires coordonnées au sein de chaque segment corporel. Initialement, la contraction des muscles circulaires induit l'élargissement du segment, une diminution de son diamètre et le retrait des soies. Ces dernières interviennent alors en se rétractant pour propulser l'avant du corps. Par la suite, une contraction synchrone des muscles longitudinaux se produit, accompagnée par l'expansion des soies qui s'ancreront dans le substrat environnant, ultimement conduisant à un raccourcissement du segment qui exerce une traction vers l'avant, à l'encontre de la partie postérieure. Ce cycle de contractions se répercute séquentiellement de l'antérieur au postérieur de l'organisme, générant ainsi un déplacement progressif.

Les polychètes errants tirent avantage de leurs parapodes, lesquels favorisent une ambulation efficace à la surface des sédiments. Les mouvements ondulatoires de l'ensemble du corps transforment les parapodes en rames propices à la nage. Les soies, quant à elles, revêtent une importance capitale dans le processus locomoteur, servant d'ancrages pour générer la force nécessaire à la propulsion. Sur le littoral algérien, l'étude de ces annélides a mis en évidence leur présence dans des habitats variés, tels que les schistes et les calcaires cristallins, et leur association avec les communautés rhodophycéennes.



**Figure 13.** Milieu de vie des Annélides Polychètes (Nereididae) (A) : Annélides polychètes ; (B) : Algue verte ; (C) : Algue brune ; (D) : substrat (Photo personnelle, 2025).

## 2.6.5 Morpho-anatomie des polychètes

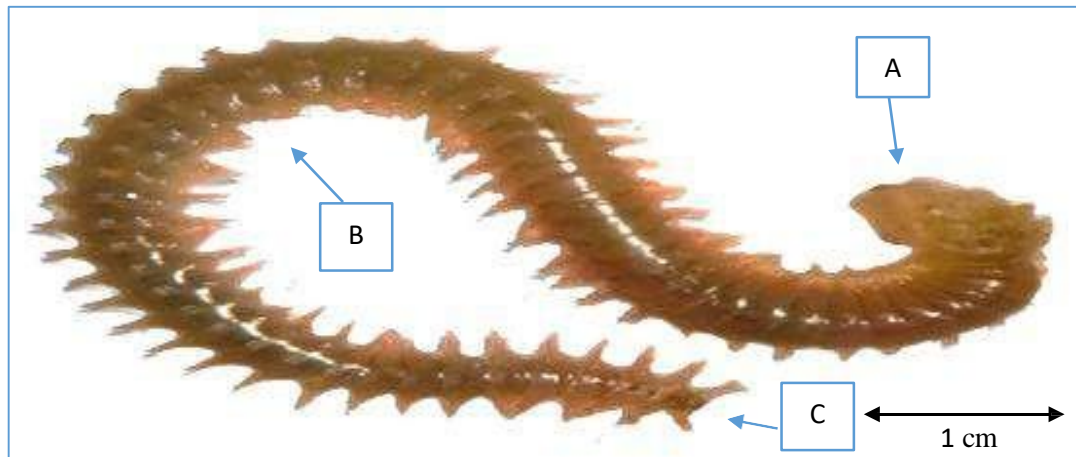
### 2.6.5.1 Morphologie externe

La morphologie des polychètes reflète une organisation segmentaire complexe divisée en trois régions primordiales : la région céphalique qui comprend le prostomium et le péristomium, la région du corps ou tronc formé de segments métamères répétés en série, et la région caudale dénommée pygidium (Figure 14 ; Figure 15).

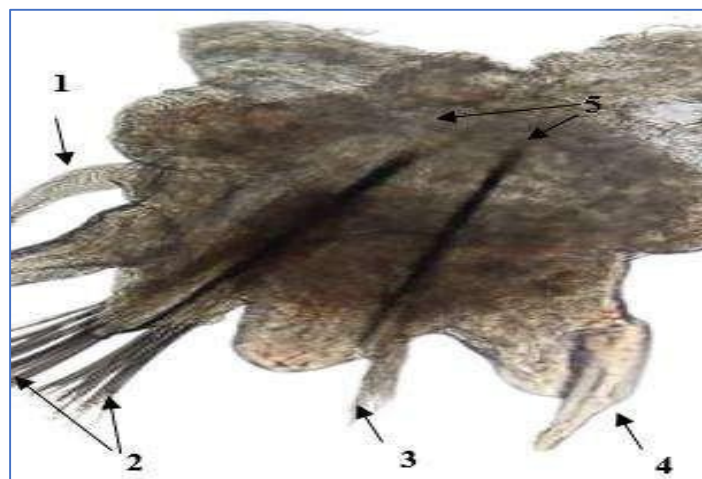
Le prostomium est la partie la plus antérieure du corps, pré-segmentaire, abritant les ganglions cérébraux essentiels pour le traitement sensoriel et neuronal. Le péristomium suit avec des extensions reconnues comme des éléments sensoriels ou locomoteurs, avec la bouche située en position ventrale derrière le péristomium. Le pygidium clôt le corps et est la scène où se façonnent de nouveaux segments à mesure que l'animal grandit.

Les segments du tronc sont des unités répétitives, chacune équipée de systèmes vitaux, comprenant le digestif, le vasculaire, le musculaire et le nerveux (Rouse & Pleijel, 2001). Les polychètes doivent leur nom aux soies chitineuses apparaissant en paires sur les côtés de chaque segment et servant de traits distinctifs pour l'identification taxinomique (Rouse & Pleijel, 2001).

La famille des Nereididae se distingue par divers traits morphologiques, notamment un pharynx réversible et antérieur du tube digestif, ainsi qu'un proboscis axial musculaire distinguant un anneau externe maxillaire, porteur de mâchoires, et un anneau interne oral. Ces deux anneaux sont subdivisés en huit zones, avec les zones I à IV identifiées sur l'anneau maxillaire et les zones V à VIII sur l'anneau oral, observables lors de l'éversion du pharynx. La cavité du pharynx elle-même se caractérise par la présence de denticules de chitine nommés paragnathes, qui se révèlent sur la face externe à l'éversion du pharynx. L'agencement de ces paragnathes sur les anneaux joue un rôle diagnostique significatif dans la classification taxinomique de la famille. De plus, on note chez les Nereididae des parapodes latéraux segmentaires consistant en un notopode dorsal et un neuropode ventral, chacun armé des noto-soies et des neuro-soies respectivement. Les représentants de cette famille sont fréquemment utilisés dans l'enseignement des annélides et des polychètes en raison de leur structure corporelle qui incarne un modèle de plan corporel idéalisé, concept clairement explicité par Rouse & Pleijel en 2001.



**Figure 14.** Description morphologique de *Perinereis cultrifera*. A : région céphalique ; B : région médiane ; C : région caudale (Photo personnelle, 2023).

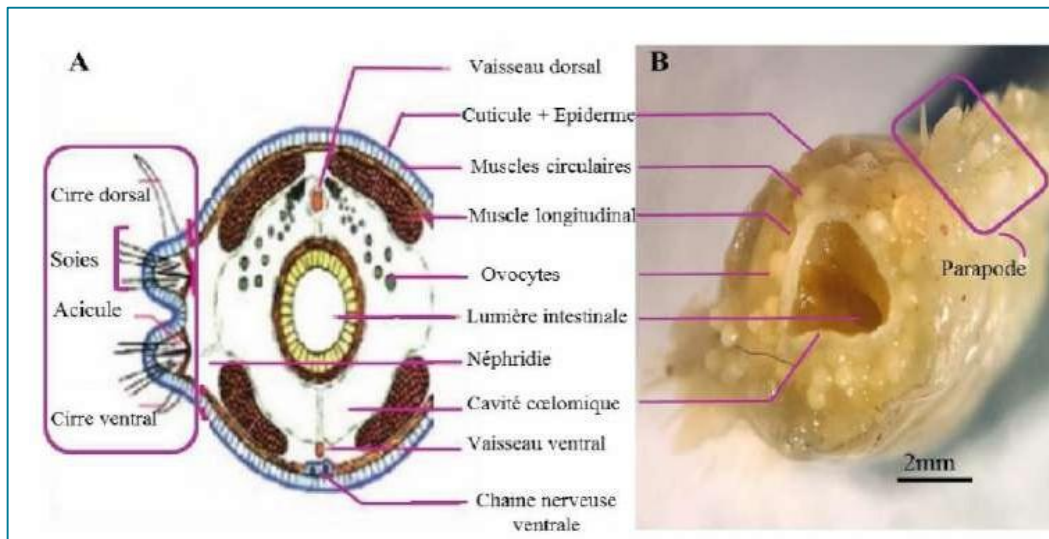


**Figure 15.** Organisation d'un parapode de *P. cultrifera* (GRx60) (1 : cirre ventrale, 2 : cirre dorsale, 3 : notopodium, 4 : neuropodium, 5 : acicules) (Photo personnelle, 2022).

### 2.6.5.2 Anatomie interne

Une section transversale réalisée au niveau du segment médian a permis de localiser les différents organes. Sous l'épiderme, une couche de musculature circulaire transversale est suivie de quatre faisceaux de muscles longitudinaux. Ce complexe musculaire facilite les mouvements ondulatoires du corps, ce qui, conjugué à l'action des muscles aciculaires agissant sur les parapodes, garantit la locomotion de l'organisme. Cette capacité de mouvement est augmentée par l'action des muscles aciculaires sur les parapodes. Le coelome de chaque segment abrite une paire de cavités coelomiques situées dans les espaces ménagés par le tissu musculaire. Le système digestif s'étend longitudinalement et se spécialise à son extrémité antérieure avec un proboscis équipé de denticules cornés appelés paragnathes, ainsi que deux structures maxillaires, les mâchoires. Le système vasculaire est clos, composé principalement d'un





vaisseau sanguin dorsal et d'un vaisseau ventral, interconnectés dans chaque segment. Les gamètes se développent librement dans le fluide coelomique, et à maturité, ils seront expulsés dans l'environnement marin pour la fécondation externe. Ces organismes ne survivent pas après avoir émis leurs produits sexuels, ce qui les caractérise comme sémelpares (Younsi, 2014 ; Ramdani, 2016).



**Figure 16.** Schéma explicatif (A) et observation sous loupe binoculaire (B) d'une section transversale d'un segment moyen du corps de *P. cultrifera* (Younsi, 2014 ; Ramdani, 2016).

L'identification du spécimen biologique repose principalement sur l'observation de sa forme et de la disposition spécifique des paragnathes, des caractéristiques essentielles pour la classification du genre *Perinereis*. En outre, l'examen des caractéristiques morphologiques des parapodes et de la structure des soies est également essentiel dans ce processus d'identification. Le processus initial implique la différenciation des Nereididae d'autres Polychaeta, en se basant sur leurs caractéristiques telles que leur forme corporelle allongée et segmentée, la présence concomitante de deux antennes, deux palpes et quatre yeux sur un prostomium distinct, quatre paires de cirres tentaculaires, une paire de mâchoires avec 4-6 denticules, ainsi que les parapodes bifurqués portant des soies composées, tel que décrit dans la monographie de Fauchald datant de 1977 sur la famille Nereididae. Dans une phase ultérieure, l'identification devient plus spécialisée et nécessite une analyse détaillée de la répartition et des motifs spécifiques des paragnathes. Fauvel, en 1923, fournit des détails sur les parapodes bifurqués de *P. cultrifera*, notant la présence de soies composées homogomphes sur les notopodes et un assortiment de soies homogomphes, hétérogomphes et des soies de type serpe sur les neuropodes.

**Tableau 8.** Répartition des paragnathes au niveau de différents lobes chez *Perinereis cultrifera* (Fauvel, 1923).

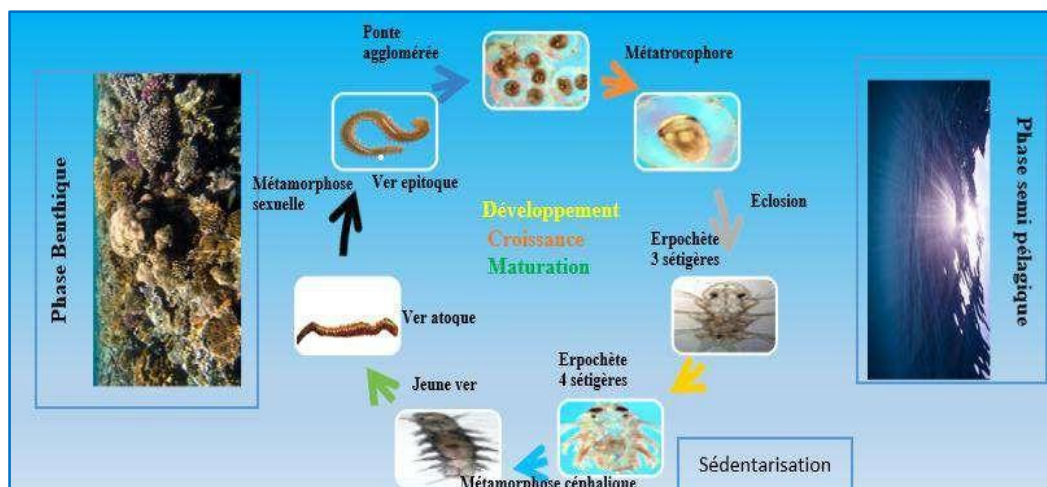
Critères d'identification		Répartition	
<b>Le lobe</b>		<b>Répartition des paragnathes</b>	
<b>I</b>		<b>1 à 3 paragnathes en ligne longitudinal.</b>	
<b>II</b>		<b>Amas à rangs obliques.</b>	
<b>III</b>		<b>Amas rectangulaires à 2 rangs.</b>	
<b>IV</b>		<b>Amas triangulaires</b>	
			
		<b>Face dorsale</b>	<b>Face ventrale</b>
<b>V</b>		<b>3 petits cônes disposés en forme de triangle, pour la détermination de l'espèce.</b>	
<b>VI</b>		<b>Un gros paragnathe de chaque côté en forme de barre transversale.</b>	
<b>VII, VIII</b>		<b>Une double rangée transversale (double collier).</b>	
			
		<b>Face dorsale</b>	<b>Face ventrale</b>
		<b>Répartition des soies</b>	
<b>Les parapodes</b> (Biramés sauf les 2 premiers métamères).		<b>Composés en arête hétérogomphe sur le notopode.</b>	<b>En serpe homogomphe et en serpe hétérogomphe sur le neuropode.</b>

## 2.6.6 Cycle Biologique

Le cycle de vie de certaines espèces polychètes s'articule autour de deux phases distinctes : une phase initiale semi-pélagique de courte durée suivie d'une période benthique prolongée (Figure 17). L'ovule possède une taille considérable et est lecitotrophe, ce qui signifie que les larves qui en émergent se développent et se nourrissent exclusivement des réserves vitellines accumulées dans l'ovule. La larve qui en résulte, nommée trochophore, ressemble à une toupie avec une couronne ciliaire qui n'est pas particulièrement développée. Cela conduit à l'émergence d'une larve métatrochophore.

Après l'éclosion, le stade initial du néréis appelé erpochète, doté de 3 segments avec des soies, marque la conclusion de la phase semi-pélagique. La larve devient alors sédentaire lorsqu'elle atteint le stade de l'erpochète de 4 segments avec des soies, perd sa couronne ciliaire et commence à manifester des caractéristiques comportementales benthiques complètes. Les jeunes vers benthiques, consistant en 10 à 11 segments métamères, adoptent les rites de vie des adultes, y compris la migration vers des zones plus basses pendant la croissance et la maturation sexuelle, au cours desquelles ils subissent des transformations liées à l'épitoquie, comme détaillé par Rouabah en 2003.

Selon Prevedelli & Simonini en 2003, les oeufs fécondés de *P. cultrifera* ont une propension à s'agglutiner en grappes qui adhèrent à un substrat, tandis que les larves sécrètent une substance visqueuse qui les fixe au substrat, réduisant ainsi leur risque d'être dispersées vers le large par les courants marins ou les marées.

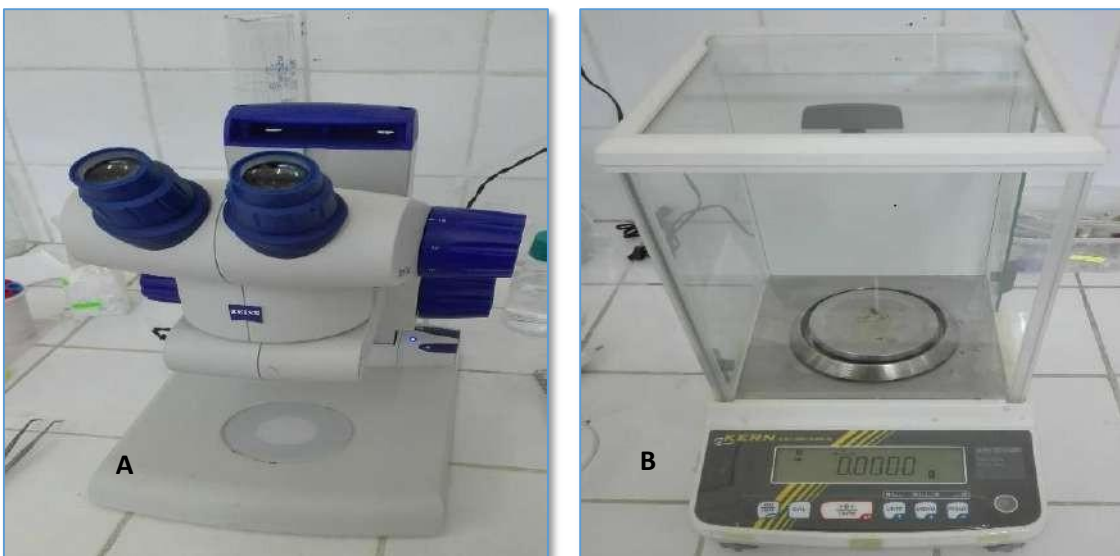


**Figure 17.** Cycle de développement chez le genre *Perinereis* (Blake, 2017 ; Pates & Maceren- Pates, 2022).

## 2.7 Analyse morphométrique et pondérale

### 2.7.1 Paramètres morphométriques

Au laboratoire, après avoir soigneusement séparé les organismes des algues et des sédiments qui leur adhèrent, les spécimens sont placés dans un récipient rempli d'eau de mer afin d'initier le processus d'identification (à noter que les spécimens sectionnés ont été exclus de l'analyse). La détermination spécifique de *P. cultrifera* repose sur l'examen de la forme et de la distribution des paragnathes, des caractéristiques essentielles pour la définition du genre *Perinereis* décrites par Fauvel en 1923. Chaque ver est ensuite placé individuellement sous une loupe binoculaire, modèle « ZEISS STEMI DV4 ». L'utilisation de deux pincettes est nécessaire : une pour immobiliser l'animal et l'autre pour appliquer une pression douce sur le prostomium afin de provoquer l'extrusion de la trompe. L'apparition de petits cônes triangulaires dans la zone V, au centre de la face dorsale de l'anneau oral, est indicative de l'espèce *cultrifera*. Par ailleurs, la présence d'un large paragnathe ressemblant à une barre transversale dans la zone VI, sur les côtés de la face, est typique du genre *Perinereis*, comme mentionné par Fauvel en 1923. Suite à l'identification, on mesure la taille corporelle des vers (en cm à l'aide d'un papier millimétré), on réalise la pesée (en g avec une balance de précision type « KERN ABJ-NM/ABS-N »), et on effectue le décompte des sétigères à l'aide de la loupe binoculaire mentionnée précédemment.



**Figure 18.** A : Balance de précision modèle « KERN ABJ-NM/ABS-N » ; B : Loupe binoculaire modèle « ZEISS STEMI DV4 ».

## 2.7.2 Analyse de la reproduction

### 2.7.2.1 Mode de reproduction

Les polychètes, une vaste classe d'annélides comprenant plus de 5000 espèces, ont suscité une abondante littérature scientifique, notamment sur leur physiologie de la reproduction, influencée par des facteurs environnementaux et endocriniens. Parmi ces polychètes, les Néréidés, largement étudiés en laboratoire, présentent des spécimens tels que *Perinereis cultrifera*, qui connaissent des transformations morphologiques significatives pendant leur période de reproduction, un phénomène appelé épitoquie, contrôlé par des hormones cérébrales. Ces transformations, comme l'augmentation de la taille des yeux et l'élargissement des parapodes, sont des indicateurs d'un effort reproducteur important. Il est également important de noter que les annélides, y compris *Perinereis cultrifera*, sont gonochoriques. La transition de l'état atoque à l'état épitoque se caractérise par l'acquisition d'un équipement locomoteur parapodial spécialisé, tandis qu'un dimorphisme sexuel se manifeste au niveau des cirres parapodiaux et du pygidium. Ces changements somatiques sont influencés par divers facteurs environnementaux et internes, y compris la température, la lumière et les mécanismes endocriniens de régulation (Prevedelli & Simonini, 2003 ; Rouabeh & Scaps, 2003).

### 2.7.2.2 Vitellogénèse : Analyse et Caractéristiques Cytologiques

#### ✚ Pré-vitellogénèse nommée aussi une première croissance

La croissance des ovocytes chez *Perinereis cultrifera* débute après la prophase de méiose, marquée par une augmentation du volume du cytoplasme et du réticulum. Ce processus s'étend sur environ deux ans, avec une augmentation significative de la taille des ovocytes, passant d'environ 30 à 40  $\mu\text{m}$  à plus de 200  $\mu\text{m}$  à maturité. Cette croissance n'est pas uniforme, avec une première année de développement relativement faible, suivie d'une augmentation plus prononcée au cours de la deuxième année, notamment pendant les mois d'hiver, conduisant à des ovocytes matures d'environ 260  $\mu\text{m}$  de diamètre (Baert, 1986).

#### ✚ Vitellogénèse ou synthèse du vitellus

Cette phase caractérise la croissance ovocytaire lente où la cellule germinale femelle stocke des substances de réserve appelées "vitellus", essentielles pour le développement embryonnaire. Initialement, ces substances, principalement glycoprotéïnes, sont encore peu nombreuses dans les ovocytes immatures. Cependant, à mesure que l'ovocyte s'élargit pour atteindre un diamètre

de 50 à 60 micromètres, il se produit une multiplication significative des globules vitellins. Parallèlement, des globules lipidiques font leur apparition et se stockent de même dans le cytoplasme. Durant la vitellogénèse, le réseau membranaire, y compris le réticulum endoplasmique et le complexe de Golgi, se dispose principalement dans la zone corticale de l'ovocyte (Baert, 1986 ; Dhainaut, 1970a).

### **Corticogénèse ou synthèse des alvéoles corticales**

Elle représente la phase accélérée de développement ovocytaire, s'étalant à travers la période hivernale qui anticipe la phase de reproduction, identifiée en tant que 'phase de croissance intense'. Au cours de cette phase conséquente, l'ovocyte, n'ayant pas encore atteint sa pleine maturité "submature", initie la génération et l'expansion d'un type inédit d'inclusion cytoplasmique : les alvéoles corticales. Ces structures, circonscrites par une membrane et possédant une texture fortement fibreuse, prennent place parmi les globules vitellins et lipidiques et se dispersent à travers le cytoplasme, s'étendant jusqu'à la région périnucléaire (Ramdani *et al.*, 2020 ; Sebbih *et al.*, 2023).

### **Maturité**

À ce stade cytologique, aucune nouvelle inclusion cytoplasmique n'est observée, ce qui suggère un arrêt apparent de la synthèse des réserves cellulaires. Cependant, une réorganisation significative des structures cytoplasmiques se produit. Les alvéoles corticales se déplacent vers le chorion cellulaire, formant une épaisse couche muqueuse de 40 à 50 µm. Les ribonucléoprotéines se concentrent autour du noyau, accompagnées de quelques lamelles de réticulum allongées et de mitochondries situées près des dictyosomes. Le vitellus et les lobules lipidiques occupent des positions intermédiaires, tandis que les corps de Golgi se trouvent à l'intérieur de la couche muqueuse, exhibant une activité phosphatase acide (Porchet, 1974). Malgré les particularités propres à chaque espèce, les différents stades de développement des ovocytes peuvent être distingués, quel que soit le type de Néréidien étudié. (Dhainaut, 1970a, b ; Porchet, 1976)

#### **2.7.2.3 Aspects ovogénétiques**

Deux types d'ovogénèse sont observés : l'ovogénèse extra-ovarienne, où les cellules germinales quittent précocement l'ovaire pour subir l'ovogénèse dans le cœlome, et l'ovogénèse intra-ovarienne, où les ovocytes restent dans l'ovaire pour la vitellogénèse (Ramdani *et al.*, 2020 ; Sebbih *et al.*, 2023). La maturité sexuelle se manifeste par des modifications anatomiques, comme une augmentation de la taille des yeux et des parapodes, et des changements

musculaires adaptatifs à la vie pélagique lors de l'épitoquie. Chez les Nereidae, l'âge de la maturité et de la reproduction est influencé par des facteurs environnementaux tels que la température et la photopériode. La durée de vie et le mode de reproduction varient selon la localisation géographique, comme observé sur le littoral algérien.

À l'issue de la gamétogenèse, l'acquisition de la maturité sexuelle induit des changements morphologiques et anatomiques distinctifs de l'épitoquie. Cela inclut l'augmentation de la taille des yeux, l'élargissement des parapodes, la formation de soies hétéronereidiennes en éventail, ainsi que des altérations musculaires dans les segments correspondants, à l'exception des 19<sup>e</sup> et 20<sup>e</sup> segments antérieurs (Bauchot-Boutin & Bobin, 1954 ; Durchon, 1967), où ils se compriment les uns contre les autres, provoquant un raccourcissement, un élargissement et un aplatissement de l'animal au niveau de l'épitoquie médiane et postérieure. Cette métamorphose prépare l'animal, devenant hétéronérien (Herbert *et al.*, 2008, à une brève vie pélagique, lui permettant de remonter à la surface pendant l'essaimage, un processus synchronisé avec le cycle lunaire, caractérisé par la danse nuptiale (Gambi & Cigliano, 2006). La fécondation est externe, la reproduction chez *P. cultrifera* est essentiellement simple, les géniteurs périssent peu de temps après l'essaimage, et les gamètes sont évacués par la rupture de la paroi corporelle (Prevedelli & Simonini, 2003).

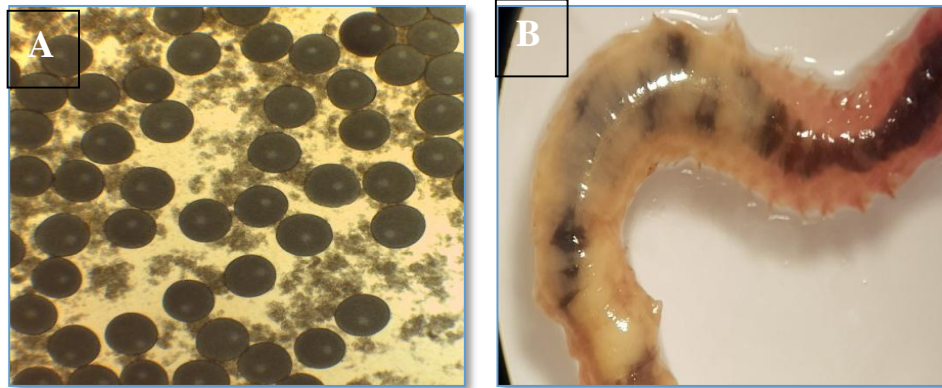
Chez les Nereidae, le moment où les individus immatures (atoquie) entrent en gamétogenèse, atteignent la maturité et se reproduisent est influencé par des facteurs environnementaux tels que la température, la photopériode et le cycle lunaire, en plus du contrôle endocrinien (Hardege *et al.*, 1990 ; P. J. Olive *et al.*, 1997).

Les études menées sur les populations côtières algériennes révèlent des variations dans le mode de reproduction et la durée de vie en fonction de la localisation géographique. Par exemple, à Alger, la durée de vie des individus ne dépasse probablement pas deux ans et ils se reproduisent par atoquie (Rouabah *et al.*, 2008a), tandis qu'à Annaba, leur durée de vie est d'environ trois ans et ils se reproduisent exclusivement par épitoquie (Daas *et al.*, 2011).

#### **2.7.2.4 Différenciation des sexes**

L'identification du sexe de tous les spécimens de *Perinereis cultrifera* collectés dans les sites d'étude d'El-Kala, Annaba et Skikda a été réalisée par un examen macroscopique du liquide cœlomique (Figure 19) après une incision courte de 3 à 4 mm près du 30<sup>ème</sup> sétigère a été pratiquée le long de la ligne médio-ventrale du corps. Trois catégories d'individus ont été distinguées en fonction de la présence ou de l'absence de gamètes dans le liquide cœlomique :

l'absence de gamètes, indiquant des vers indifférenciés ou asexués, la présence d'ovocytes sphériques de couleur jaune clair, témoignant du sexe femelle avec des ovocytes matures de grande taille visibles à travers la paroi du corps, et la présence d'amas spermatiques ou de spermatozoïdes de couleur blanc laiteux, correspondant au sexe mâle, le liquide spermatique étant plus observable sur un fond noir (Sebbih, 2023 ; Ramdani, 2016).



**Figure 19.** Visualisation des ovocytes (A) et amas spermatiques (B) dans le liquide cœlomique pour la différenciation des sexes chez *Perinereis cultrifera* (Ramdani, 2016).

#### 2.7.2.5 Diamètre ovocytaire

Pour évaluer le diamètre moyen des ovocytes (en micromètres), les femelles de *P. cultrifera* collectées à El Kala, Annaba et Skikda sont disséquées, et une ponction cœlomique est effectuée. Les spécimens de grande taille sont préférablement sélectionnés et placés sur une lame pour observation sous un microscope spécialisé connecté à un ordinateur "Leica suite LAS EZ LEICA dm 500" (Figure 20).



**Figure 20.** Microscope optique « Leica DM500 » connecté à un ordinateur équipé d'un logiciel dédié aux mesures du diamètre des ovocytes (Photo personnelle, 2025).

### 2.7.2.6 Distribution des fréquences de taille ovocytaire

Le diamètre des ovocytes récupérés de la cavité coelomique a servi de critère pour évaluer les différentes phases de maturité chez *P. cultrifera*. On a pu distinguer sept catégories d'ovocytes basées sur leur taille, en utilisant des intervalles de 50 µm pour la classification. Les ovocytes ayant achevé la vitellogénèse présentaient un diamètre entre 250 et 350 µm. Des femelles portant des ovocytes de petit calibre (moins de 50 µm de diamètre) ont été observées continuellement durant la période d'étude. Pour quantifier la distribution de la taille des ovocytes, les diamètres d'ovocytes provenant de dix femelles à maturité ont été mesurés au moyen d'un microscope Leica DM500. Le pourcentage d'ovocytes de chaque mois est égal :

$$(Nombre\ d'ovocytes\ pour\ chaque\ classe / nombre\ total\ d'ovocytes) \times 100$$

### 2.7.2.7 Indice de maturité sexuelle (IMS)

Chez la plupart des annélides polychètes le sexe ratio est grandement en faveur des femelles (environ 80 %) (Olive & Garwood, 1981 ; Mettam *et al.*, 1982), l'indice de maturité sexuelle permet d'évaluer la fécondité des femelles selon leur stade de développement. A l'aide d'un scalpel, une incision est effectuée près du 30<sup>e</sup> segment. Le contenu coelomique doit être étalé sur une lame et l'indice de maturité sexuelle a été déterminé selon la formule suivante (Durou & Mouneyrac, 2007) :

$$IMS = [(1 * n1) + (2 * n2) + (3 * n3) + (4 * n4)] / N$$

Où  $n_x$  représente le nombre d'individus au stade  $x$  et  $N$  représente la somme de  $n_x$ .

**Tableau 9.** Les différents stades de développement de la maturité sexuelle chez les femelles de *Perinereis cultrifera*.

Stade de coefficient	Stade de développement	Aspect des produits sexuels femelles	Intervalle de diamètre ovocytaires (µm)
1	Indifférencié	Les ovocytes ne sont pas présents dans la cavité coelomique.	—
2	Prolifération	Les ovocytes sont de petite taille et se trouvent dans la cavité coelomique.	15–60
3	Croissance	Les ovocytes se développent librement en suspension dans le liquide coelomique (Vitellogénèse)	65–190
4	Mature	Les ovocytes sont de grande taille et ont une forme sphérique (stade mature).	250–450

## 2.8 Etude histologique

L'étude histologique a été réalisée afin d'examiner la structure ovocytaire ainsi que l'épithélium digestif des individus de *Perinereis cultrifera* récoltés sur les trois sites d'étude, ainsi que ceux utilisés dans les essais de toxicité. Cette analyse comprend plusieurs étapes successives détaillées dans le Tableau 10. L'ensemble des traitements histologiques a été effectué au sein d'un laboratoire privé, selon le protocole standardisé propre à ce laboratoire

### **Fixation**

Cette étape a pour objectif de préserver les structures tissulaires, de durcir les échantillons et d'immobiliser les composants cellulaires et tissulaires, empêchant ainsi la décomposition bactérienne. La fixation doit inactiver les molécules, telles que les enzymes, qui pourraient altérer la morphologie des tissus, afin de prévenir la dégradation des protéines. Elle doit être réalisée immédiatement après le prélèvement, par fixation des échantillons dans un volume important de fixateur. Nos échantillons biologiques, prélevés sur des femelles de *P. cultrifera* traitées à l'acide acétylsalicylique et exposées à différentes doses de toxicité aiguë et chronique provenant d'El-Kala, ainsi que ceux issus des trois sites d'étude (El-Kala, Annaba et Skikda) entre mars et mai, ont été conservés dans du formol à 9 % pendant au moins 48 heures.

### **Inclusion**

Cette étape de l'histologie a pour but de remplacer progressivement l'eau présente dans les tissus par une substance hydrophobe, assurant ainsi la préservation des structures tissulaires lors de la coupe. Le principe de l'inclusion consiste à soumettre les échantillons à une série de traitements successifs avec différents solvants. Chaque étape prépare le tissu pour le traitement suivant et élimine les résidus du solvant précédent. Dans notre protocole, les échantillons ont d'abord été déshydratés par passage dans six bains d'alcool de concentrations croissantes (70%, 80%, et 100%) pendant une heure et demie chacun. Ils ont ensuite été immergés dans deux bains de xylène pendant une heure et demie chacun, avant de subir l'imprégnation dans deux bains de paraffine pendant deux heures. Ce processus a été automatisé à l'aide d'un appareil à 12 bains (Thermo).

### **Mise en bloc**

Cette étape implique l'enrobage des échantillons biologiques, disposés transversalement dans des moules en inox remplis de paraffine liquide chauffée à 72 °C. Les moules sont ensuite placés sur une plaque réfrigérante à -12 °C pour solidifier la paraffine et stabiliser les échantillons.

## Coupe

Les échantillons biologiques ont été coupés à une épaisseur de 5  $\mu\text{m}$  à l'aide d'un microtome (Thermo) préalablement réglé.

## Etalement des coupes

Les rubans de coupes ont été étalés sur des lames porte-objets préalablement nettoyées à l'aide d'eau gélatinée.

## Séchage

Les lames ont été séchées initialement sur une plaque chauffante de type Thermo à 45 °C pendant quelques minutes.

## Déparaffinage et coloration

Les lames ont été déparaffinées en les plongeant successivement dans trois bains d'xylène pendant quinze minutes pour les deux premières et cinq minutes pour le troisième. Elles ont ensuite été traitées dans deux bains d'alcool à 100 % pendant huit minutes pour le premier et sept minutes pour le deuxième, suivies d'un rinçage à l'eau courante pendant quatre minutes. La coloration des coupes a été réalisée avec une solution d'hématoxyline de Meyer pendant trois minutes, suivie d'un rinçage à l'eau pendant huit minutes. Ensuite, les lames ont été colorées à nouveau avec une solution d'éosine à 2 % (concentration de 10 g/L d'eau) pendant trois minutes, suivie d'un autre rinçage pendant huit minutes. Enfin, les lames ont été plongées dans un bain d'alcool à 100 % pendant une minute.

## Montage

Pour assurer leur protection, les lames colorées ont été recouvertes de lamelles. Un milieu de montage (goutte d'E-KIT) a été placé entre la lame et la lamelle pour éviter le dessèchement et garantir une conservation optimale.

## Observation

Les lames ainsi préparées ont été facilement observées sous microscope optique (Voir page suivante).

**Tableau 10.** Différentes étapes de l'étude histologique effectuée sur les espèces de *Perinereis cultrifera*.

<p><b>1- Fixation au formol et insertion dans les cassettes</b></p>	<p><b>2- Automate à 12 bains</b></p>
	
<p><b>3- Mise en bloc des échantillons</b></p>	<p><b>4- Réalisation des coupes au microtome Thermo</b></p>
	
<p><b>5- Déparaffinage, Étalement des coupes et séchage</b></p>	<p><b>6- Coloration des coupes</b></p>
	
<p><b>7- Observation des coupes sous le microscope</b></p>	
	

## 2.9 Analyse écotoxicologique et Évaluation des effets des contaminants sur *Perinereis cultrifera*

L'analyse écotoxicologique examine les effets des substances toxiques sur les organismes vivants et les écosystèmes. Elle évalue la nature, la source et l'ampleur des contaminants environnementaux, et étudie leur impact sur la santé et la dynamique des populations, ainsi que sur les interactions écologiques. Cette discipline inclut les tests de toxicité, l'évaluation de la

biodisponibilité des contaminants et l'étude des mécanismes d'action toxique, fournissant des données essentielles pour les évaluations des risques environnementaux et la gestion de la pollution.

L'évaluation écotoxicologique repose fréquemment sur des essais en laboratoire utilisant des organismes modèles dont la biologie et la sensibilité aux polluants sont bien documentées. Dans cette étude, une analyse des effets des contaminants, en particulier de l'acide acétylsalicylique, a été réalisée sur les espèces de *Perinereis cultrifera*.

### 2.9.1 Évaluation de l'écotoxicité par bioessais en laboratoire

Les bioessais en laboratoire constituent une approche expérimentale fondamentale pour mesurer l'impact toxique, ou écotoxicité, d'un ou plusieurs polluants sur des organismes vivants. Le principe consiste à impliquer l'exposition contrôlée d'un modèle vivant à une substance testée. Le modèle vivant peut-être constitué de cellules, d'organismes individuels ou de communautés d'organismes. La substance testée peut être un résidu pharmaceutique spécifique, un mélange de résidus pharmaceutiques, ou un échantillon environnemental prélevé dans des milieux aquatiques. L'exposition se déroule dans un environnement contrôlé, tel qu'un aquarium, une microplaque ou un pot, où les conditions expérimentales sont rigoureusement maintenues constantes (température, taux d'oxygène, salinité, alimentation, lumière). La durée d'exposition varie selon le type de bioessai et les objectifs de l'étude (Lecomte, 2022).

**Bioessais de toxicité aiguë** : Ces tests consistent à exposer le modèle vivant à une forte dose d'un polluant ou d'une substance extrêmement toxique sur une période relativement courte. L'objectif est d'évaluer les effets immédiats et souvent sévères de cette exposition sur les organismes testés. Les critères d'évaluation incluent généralement la mortalité, les symptômes visibles de stress, ou d'autres effets graves comme des altérations physiologiques majeures (Lecomte, 2021).

**Bioessais de toxicité chronique** : Contrairement aux bioessais aigus, les bioessais de toxicité chronique exposent les organismes à une faible dose du polluant sur une période prolongée. Cette approche vise à évaluer les effets à long terme et les réponses subtils ou cumulatifs des organismes exposés. Les critères d'évaluation dans ces tests incluent des paramètres tels que la croissance, la reproduction, le développement, la biomasse, ainsi que des indicateurs biochimiques et physiologiques plus subtils. Les bioessais de toxicité chronique sont cruciaux

pour évaluer les effets à long terme des contaminants sur les populations d'organismes et les écosystèmes dans leur ensemble (Lecomte, 2021).

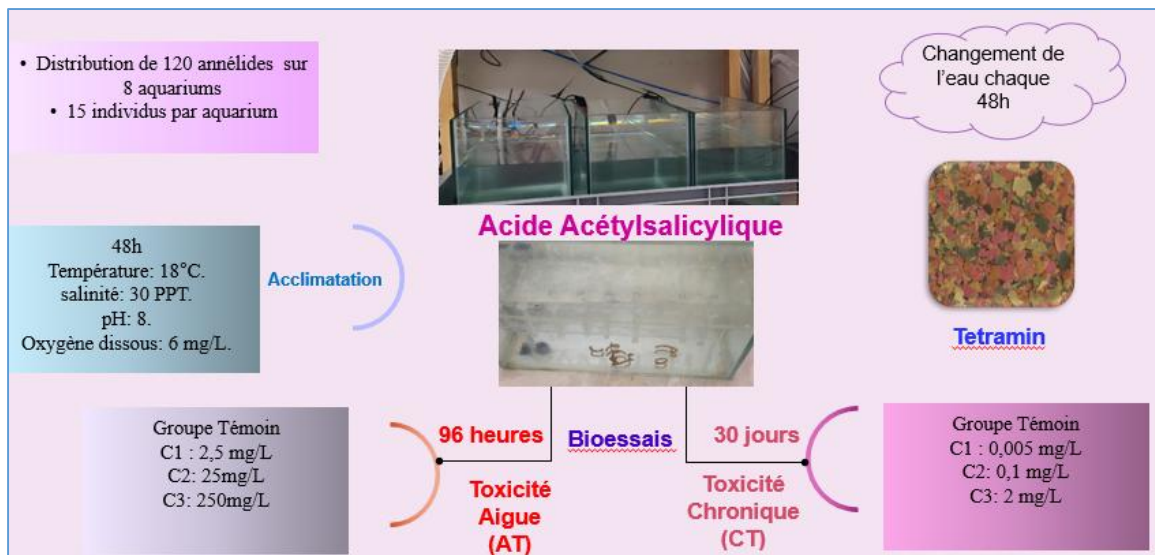
## **2.9.2 Protocole expérimental pour les tests de toxicité aiguë et chronique à l'acide acétylsalicylique (ASA)**

### **2.9.2.1 Acclimatation des individus de *Perinereis cultrifera* et préparation des tests de toxicité**

Les individus femelles sélectionnés pour les tests de toxicité à l'acide acétylsalicylique ont été soumis à une période d'acclimatation rigoureuse. Placés dans des aquariums remplis de 6 litres d'eau de mer provenant du site d'étude d'El Kala, ils ont été maintenus en laboratoire pendant 48 heures. Pendant cette période, les organismes destinés aux tests de toxicité aiguë ont été maintenus sans nourriture, tandis que ceux destinés aux tests de toxicité chronique ont été nourris tous les 48 heures avec des flocons commerciaux TetraMin. Pour simuler les conditions naturelles des annélides polychètes, l'oxygène a été fourni par des pompes à oxygène. Des galeries artificielles ont été aménagées dans les aquariums, qui étaient couverts pour éviter toute évaporation de la molécule testée.

### **2.9.2.2 Protocole expérimental pour les tests de toxicité**

Après la période d'acclimatation, les individus de *Perinereis cultrifera* ont été soumis au traitement à l'acide acétylsalicylique dans des aquariums mesurant 31× 16× 20 cm. Cent vingt individus ont été répartis sur huit aquariums, avec 15 individus par aquarium présentant une longueur moyenne de  $46,12 \pm 1,20$  mm. Deux aquariums ont servi de témoins, un pour la toxicité aiguë et l'autre pour la toxicité chronique, sans exposition à la molécule testée. Les autres aquariums ont été utilisés pour étudier les effets de l'acide acétylsalicylique à différentes concentrations, dans le cadre des tests de toxicité aiguë (AT) et de toxicité chronique (CT). Les concentrations pour les tests de toxicité aiguë variaient de 2,5 mg/L à 250 mg/L, avec une exposition pendant 96 heures. Pour les tests de toxicité chronique, les concentrations allaient de 0,005 mg/L à 2 mg/L, avec une durée d'exposition de 30 jours (Figure 21). Cette méthodologie expérimentale a été documentée dans des études antérieures (Gumbi *et al.*, 2017 ; Gomes *et al.*, 2019).



**Figure 21.** . Protocole simplifié des tests de toxicité par l'ASA (Gumbi *et al.*, 2017 ; Gomes *et al.*, 2019).

### 2.9.2.3 Évaluation des effets post-exposition

Après l'exposition, douze individus sur quinze de chaque aquarium ont été sélectionnés pour l'analyse des biomarqueurs spécifiques, tandis que les autres ont été fixés dans une solution de formol à 9 % pour des études histologiques ultérieures. Les paramètres morphométriques mesurés comprenaient le poids (g), le diamètre des ovocytes ( $\mu\text{m}$ ) et l'épaisseur de l'épithélium digestif ( $\mu\text{m}$ ) chez chaque femelle. Une analyse de corrélation a été réalisée à l'aide du coefficient de Spearman pour examiner les relations entre ces paramètres. Les activités enzymatiques ont été déterminées selon des protocoles standardisés : Claiborne (1985) pour la catalase (CAT), Habig *et al.* (1974) pour la glutathion S-transférase (GST), et Flohe & Gunzler (1984) pour la glutathion peroxydase (GPx). Les échantillons ont été homogénéisés dans des tampons spécifiques, centrifugés pour isoler les surnageants enzymatiques, puis analysés par spectrophotométrie à des longueurs d'onde définies (240 nm pour CAT, 340 nm pour GST et 412 nm pour GPx). Les activités spécifiques ont été calculées à l'aide d'équations basées sur la pente des régressions des densités optiques, les coefficients d'extinction molaire et la concentration en protéines, déterminée selon la méthode de Bradford (1976).

## 2.10 Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R, version 4.2.2 (R Core Team, 2022; Ihaka et Gentleman, 1996) pour MacOS (<http://cran.r-project.org>). Le test de Shapiro-Wilk a été utilisé pour vérifier la normalité des variables. Une analyse de variance (ANOVA) à un facteur et à deux facteurs a été réalisée pour évaluer les différences entre les groupes. En cas de significativité, le test post-hoc de Tukey a été appliqué pour comparer les moyennes. Pour les données ne respectant pas les conditions de normalité, le test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été utilisé, suivi du test de Dunn avec correction de Bonferroni pour les comparaisons multiples. Les corrélations entre les variables ont été évaluées à l'aide de la corrélation de Spearman, avec une correction de Bonferroni. Une analyse en composantes principales (PCA) a également été réalisée afin d'explorer les relations multivariées entre les variables explicatives. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard (SE) ou de moyenne  $\pm$  écart type (SD), selon le cas.

Plusieurs packages ont été utilisés pour les analyses et visualisations des données, tels que *ggplot2* (Wickham, 2016), *ggpubr* (Kassambara, 2023), *FactoMineR* (Le et al., 2008), *psych* (Revelle, 2023), *PMCMRplus* (Pohlert, 2023), et *Hmisc* (Harrell, 2023).

# RÉSULTATS

### 3. RÉSULTATS

#### 3.1 Analyse physico-chimique de l'eau de mer

##### 3.1.1 Paramètres physico-chimiques généraux

Au cours des quatre saisons de l'année 2022, à savoir l'hiver, le printemps, l'été et l'automne, les paramètres physico-chimiques de l'eau de mer ont été mesurés *in situ* sur les trois sites d'étude : El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid) et Skikda (Bikini).

**Tableau 11.** Analyse statistique des variables physico-chimiques généraux (température en °C, salinité en ppt, oxygène dissous en mg/l, pH) de l'eau de mer sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid), et Skikda (Bikini) au cours des quatre saisons de l'année 2022 : Évaluation par ANOVA à un facteur et test de Tukey.

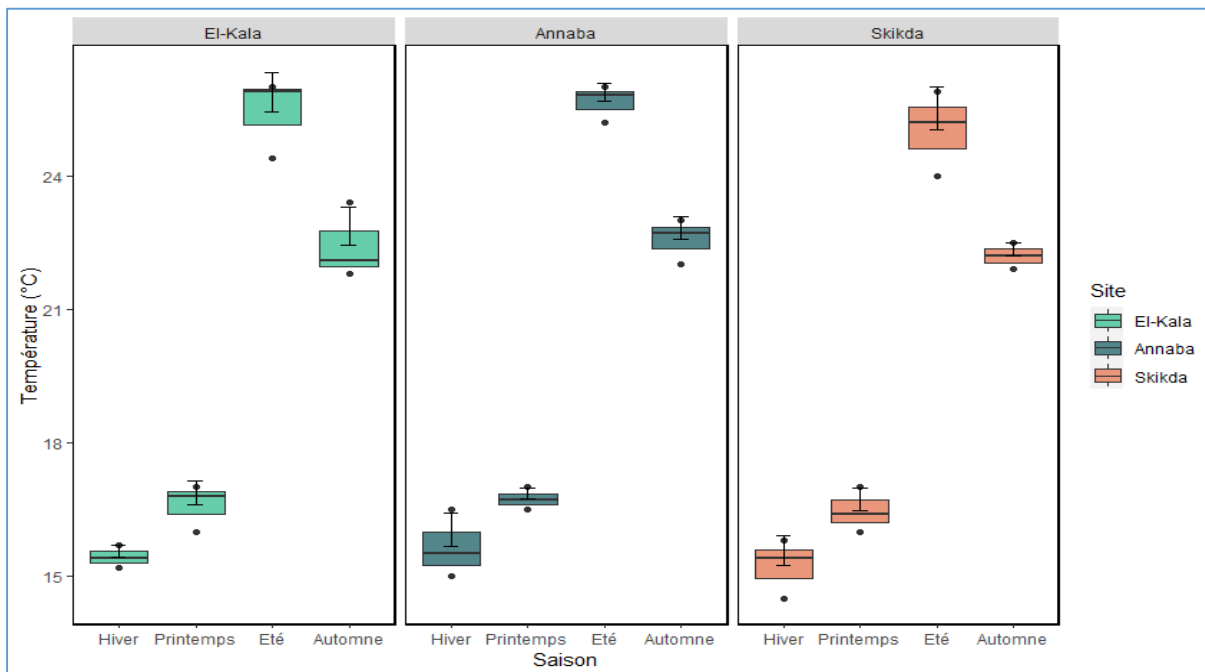
Saison paramètre	Site			P
	El-Kala	Annaba	Skikda	
	<b>Température C</b>			
<b>Hiver</b>	15,66 ± 0,76 A	15,43 ± 0,25 A	15,23 ± 0,67 A	<b>0,694 NS</b>
<b>Printemps</b>	16,73 ± 0,25 A	16,60 ± 0,53 A	16,40 ± 0,50 A	<b>0,733 NS</b>
<b>Été</b>	25,66 ± 0,42A	25,43 ± 0,90 A	25,03 ± 0,96 A	<b>0,637 NS</b>
<b>Automne</b>	22,56 ± 0,51 A	22,43 ± 0,85 A	22,20 ± 0,30 A	<b>0,760 NS</b>
	<b>Salinité</b>			
<b>Hiver</b>	31,70 ± 0,75 A	31,30 ± 0,65 A	31,50 ± 0,75 A	<b>0,802 NS</b>
<b>Printemps</b>	33,25 ± 0,49 A	33,41 ± 0,52 A	discuss ± 0,35 B	<b>0,001**</b>
<b>Été</b>	32,13 ± 0,14 A	35,57 ± 0,31 AB	35,81 ± 0,26 B	<b>0,041*</b>
<b>Automne</b>	32,49 ± 0,84 A	32,99 ± 0,14 A	32,80 ± 0,46 A	<b>0,572 NS</b>
	<b>Oxygène dissous</b>			
<b>Hiver</b>	8,57 ± 0,32 A	7,87 ± 0,23 B	7,62 ± 0,12 B	<b>0,007**</b>
<b>Printemps</b>	7,34 ± 0,47 A	6,93 ± 0,21 A	4,62 ± 0,11 B	<b>0,000***</b>
<b>Été</b>	6,84 ± 0,35 A	5,16 ± 0,05 B	3,95 ± 0,24 C	<b>0,000***</b>
<b>Automne</b>	7,73 ± 0,33 A	7,35 ± 0,01 A	7,32 ± 0,03 A	<b>0,077 NS</b>
	<b>pH</b>			
<b>Hiver</b>	8,58 ± 0,13 A	8,38 ± 0,05 A	8,52 ± 0,04 A	<b>0,069 NS</b>
<b>Printemps</b>	8,25 ± 0,05 A	8,37 ± 0,05 A	8,33 ± 0,04 A	<b>0,074 NS</b>
<b>Été</b>	7,92 ± 0,05 A	7,86 ± 0,05 A	7,68 ± 0,03 B	<b>0,002**</b>
<b>Automne</b>	8,15 ± 0,05 A	8,11 ± 0,04 A	8,20 ± 0,06 A	<b>0,184 NS</b>

NS : non significative ( $P > 0,05$ ) ; \* : très Significative ( $P < 0,05$ ) ; \*\* : hautement significative ( $P < 0,01$ ) ; \*\*\* : très hautement significative ( $P < 0,001$ ).

Les températures de l'eau de mer varient de manière similaire entre les trois sites d'étude (El-Kala, Annaba et Skikda). Toutefois, les relevés effectués à El-Kala montrent des températures

légèrement plus élevées que celles observées à Annaba et Skikda. En hiver, une baisse notable des températures est enregistrée, avec  $15,66 \pm 0,76$  °C à El-Kala,  $15,43 \pm 0,25$  °C à Annaba, et  $15,23 \pm 0,67$  °C à Skikda. Une augmentation progressive est ensuite observée au printemps, culminant en été, où les températures atteignent leurs maximums :  $25,66 \pm 0,42$  °C à El-Kala,  $25,43 \pm 0,90$  °C à Annaba, et  $25,03 \pm 0,96$  °C à Skikda (Tableau 11).

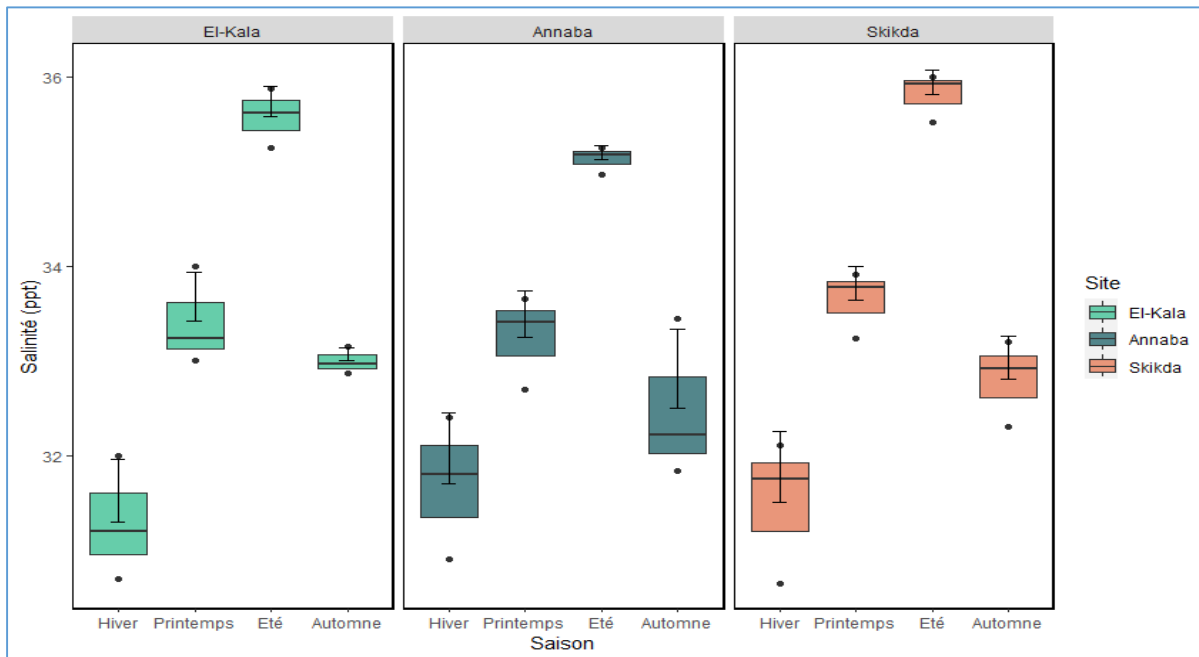
L'analyse ANOVA à un seul facteur révèle qu'il n'y a pas de différence significative entre les moyennes de température des différents sites d'étude au cours des quatre saisons ( $P > 0,05$ ). Le test de Tukey a classé les trois sites (El-Kala, Annaba et Skikda) dans un seul groupe homogène (groupe A) pour toutes les saisons, indiquant une homogénéité des températures enregistrées entre ces sites durant l'année (Tableau 11 ; Figure 22).



**Figure 22.** Variations saisonnières de la température de l'eau de mer observées sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid), et Skikda (Bikini) au cours des quatre saisons de l'année 2022.

Concernant la salinité, les mesures varient selon les saisons et les sites. En hiver, les valeurs de salinité sont relativement homogènes, avec  $31,70 \pm 0,75$  à El-Kala,  $31,30 \pm 0,65$  à Annaba, et  $31,50 \pm 0,75$  à Skikda. Au printemps, Skikda présente des valeurs plus élevées ( $33,64 \pm 0,35$ ) comparées à El-Kala ( $33,25 \pm 0,49$ ) et Annaba ( $33,41 \pm 0,52$ ). En été, la salinité atteint son maximum à Skikda ( $35,81 \pm 0,26$ ), suivie de près par Annaba ( $35,57 \pm 0,31$ ) et El-Kala ( $32,13 \pm 0,14$ ). En automne, les valeurs de salinité sont relativement similaires entre les sites, avec  $32,49 \pm 0,84$  à El-Kala,  $32,99 \pm 0,14$  à Annaba, et  $32,80 \pm 0,46$  à Skikda (Tableau 11 ; Figure 23).

L'analyse ANOVA à un facteur pour la salinité révèle qu'il n'y a pas de différence significative entre les sites en hiver et en automne ( $P > 0,05$ ). Le test de Tukey a regroupé tous les sites (El-Kala, Annaba et Skikda) dans un même groupe homogène (groupe A) pour ces saisons. En revanche, au printemps, une différence hautement significative a été observée ( $P < 0,01$ ), plaçant Skikda dans le groupe B, tandis qu'El-Kala et Annaba restaient dans le groupe A. En été, une différence très significative a été identifiée ( $P < 0,05$ ), avec El-Kala classé dans le groupe A, Annaba dans un groupe intermédiaire AB, et Skikda dans le groupe B.

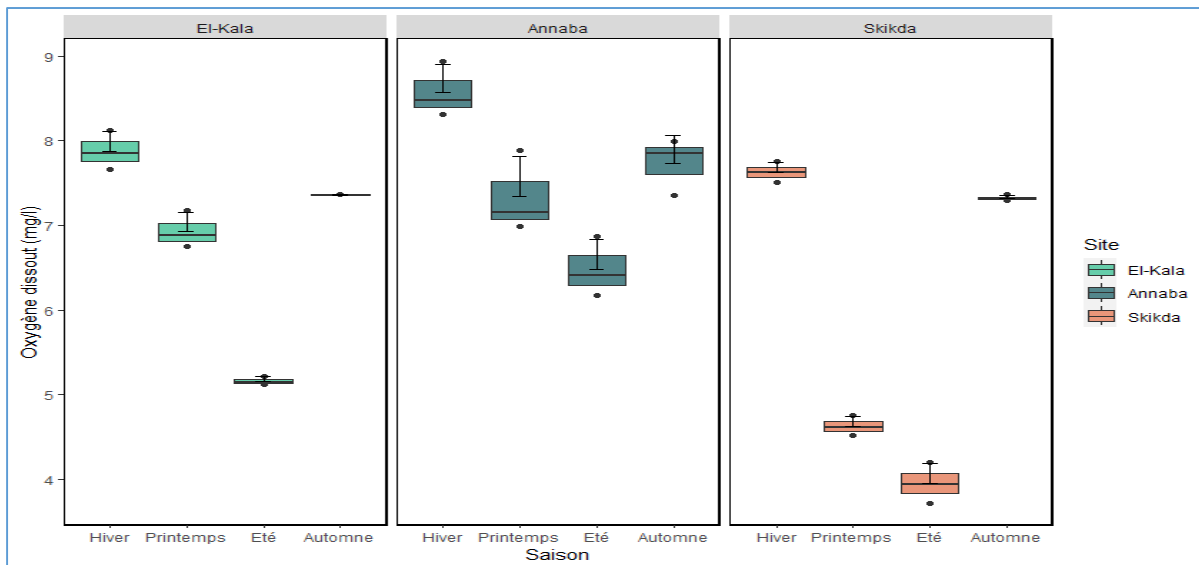


**Figure 23.** Variations saisonnières de la salinité de l'eau de mer observées sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid), et Skikda (Bikini) au cours des quatre saisons de l'année 2022.

Pour l'oxygène dissous, des variations notables sont observées entre les sites et les saisons. En hiver, El-Kala enregistre la concentration la plus élevée ( $8.57 \pm 0.32$ ), suivie par Annaba ( $7.87 \pm 0.23$ ) et Skikda ( $7.62 \pm 0.12$ ). Au printemps, la concentration est considérablement plus faible à Skikda ( $4.62 \pm 0.11$ ) comparée à El-Kala ( $7.34 \pm 0.47$ ) et Annaba ( $6.93 \pm 0.21$ ). En été, cette tendance se renforce avec les concentrations les plus basses à Skikda ( $3.95 \pm 0.24$ ), suivies par Annaba ( $5.16 \pm 0.05$ ) et El-Kala ( $6.84 \pm 0.35$ ). En automne, les valeurs d'oxygène dissous sont relativement homogènes entre les sites, avec El-Kala ( $7.73 \pm 0.33$ ), Annaba ( $7.35 \pm 0.01$ ), et Skikda ( $7.32 \pm 0.03$ ) (Tableau 11 ; Figure 24).

L'analyse ANOVA à un facteur pour l'oxygène dissous révèle qu'il n'y a pas de différence significative entre les sites en automne ( $P > 0,05$ ). Le test de Tukey a regroupé tous les sites (El-Kala, Annaba et Skikda) dans un même groupe homogène (groupe A) pour cette saison. En

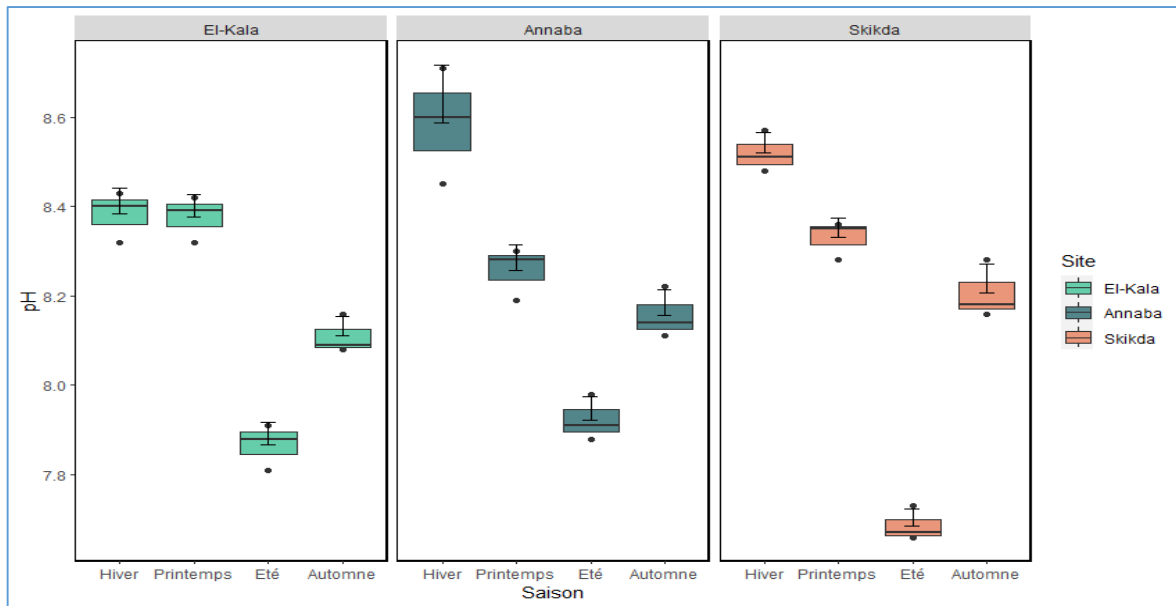
hiver, une différence hautement significative a été observée ( $P < 0,05$ ), plaçant El-Kala dans le groupe A, et Annaba ainsi que Skikda dans le groupe B. Au printemps, une différence très hautement significative a été marquée ( $P < 0,001$ ), avec El-Kala et Annaba dans le groupe A, tandis que Skikda était dans le groupe B. En été, une différence très hautement significative a également été notée ( $P < 0,001$ ), avec El-Kala dans le groupe A, Annaba dans le groupe B, et Skikda dans le groupe C.



**Figure 24.** Variations saisonnières de l'oxygène dissout de l'eau de mer observées sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid), et Skikda (Bikini) au cours des quatre saisons de l'année 2022.

Les valeurs du pH de l'eau présentent peu de variation entre les sites d'étude (El-Kala, Annaba, et Skikda). En hiver, les valeurs sont relativement proches, avec un pH de  $8,58 \pm 0,13$  à El-Kala,  $8,38 \pm 0,05$  à Annaba, et  $8,52 \pm 0,04$  à Skikda. Au printemps, les différences restent minimales, avec un pH de  $8,25 \pm 0,05$  à El-Kala,  $8,37 \pm 0,05$  à Annaba, et  $8,33 \pm 0,04$  à Skikda. En été, Skikda présente un pH légèrement plus bas ( $7,68 \pm 0,03$ ) par rapport à El-Kala ( $7,92 \pm 0,05$ ) et Annaba ( $7,86 \pm 0,05$ ). En automne, les valeurs sont homogènes entre les sites, avec El-Kala à  $8,15 \pm 0,05$ , Annaba à  $8,11 \pm 0,04$ , et Skikda à  $8,20 \pm 0,06$  (Tableau 11 ; Figure 25).

L'analyse ANOVA à un seul facteur révèle qu'il n'y a pas de différence significative entre les sites en hiver, au printemps et en automne ( $P > 0,05$ ). Le test de Tukey a regroupé tous les sites (El-Kala, Annaba et Skikda) dans un même groupe homogène (groupe A) pour ces saisons. En été, cependant, une différence hautement significative a été observée ( $P < 0,01$ ), plaçant Skikda dans le groupe B, tandis qu'El-Kala et Annaba restaient dans le groupe A.



**Figure 25.** Variations saisonnières du pH de l'eau de mer observées sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid), et Skikda (Bikini) au cours des quatre saisons de l'année 2022.

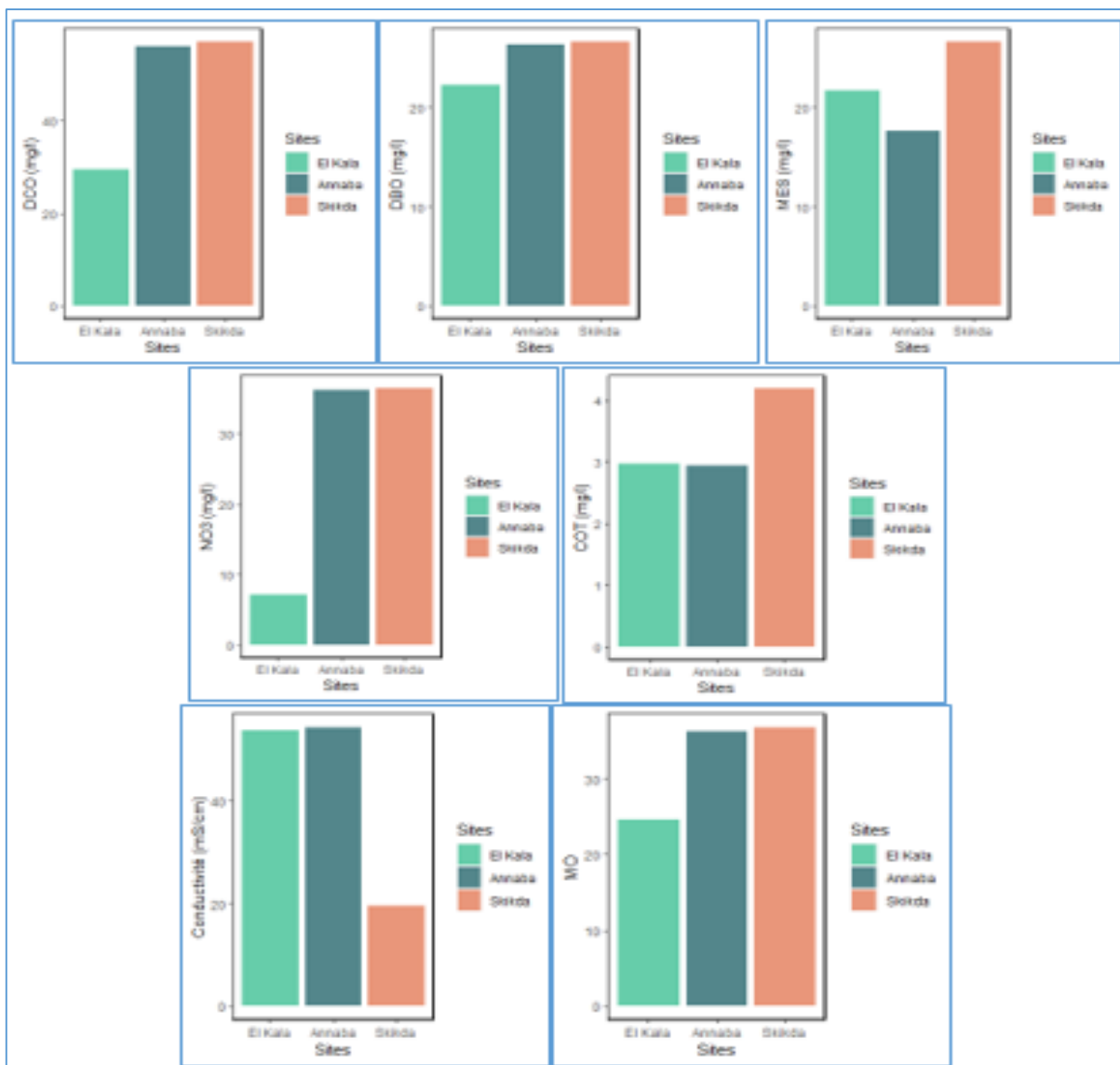
Les valeurs de conductivité ont montré des variations importantes entre les sites. Elles étaient de  $53,60 \pm 0,18$  mS/cm à El Kala,  $47,06 \pm 6,35$  mS/cm à Annaba, et  $19,36 \pm 0,33$  mS/cm à Skikda. Cette hétérogénéité traduit des différences dans les caractéristiques physico-chimiques de l'eau entre les zones étudiées.

### 3.1.2 Paramètres physico-chimiques globaux

Les résultats des paramètres physico-chimiques globaux révèlent des concentrations mesurées au site d'El-Kala de 29,10 mg/l en DCO, 22,20 mg/l en DBO, 7,04 mg/l en nitrates, 21,40 mg/l en MES, À Annaba, les valeurs sont de 53,83 mg/l en DCO, 25,33 mg/l en DBO, 34,83 mg/l en nitrates, 16,86 mg/l en MES, et  $47,06 \pm 6,35$  mS/cm en conductivité. À Skikda, les résultats indiquent une DCO de 56,60 mg/l, une DBO de 26,40 mg/l, des nitrates à 36,43 mg/l, des MES à 26,40 mg/l, et une conductivité de  $19,36 \pm 0,33$  mS/cm. Les concentrations en AOX (composés organohalogénés adsorbables) sont inférieures à 0,5 mg/l à El-Kala et Annaba, tandis qu'à Skikda, elles atteignent  $1,60 \pm 0,25$  mg/l (Tableau 12 ; Figure 26).

**Tableau 12.** Paramètres physico-chimiques globaux de l'eau de mer mesurés sur les sites d'El Kala, Annaba et Skikda.

Sites	Paramètres physico –chimiques globaux					
	DCO (mg/l)	DBO (mg/l)	MES (mg/l)	NO3 (mg/l)	COT (mg/l)	MO
El Kala	29,10 ± 0,36	22,20 ± 0,09	21,40 ± 0,23	7,04 ± 0,14	2,90 ± 0,06	24,50 ± 0,12
Annaba	53,83 ± 2,92	25,33 ± 1,36	16,86 ± 0,94	34,83 ± 1,88	2,80 ± 0,14	34,83 ± 1,88
Skikda	56,60 ± 0,54	26,40 ± 0,35	26,40 ± 0,20	36,43 ± 0,20	4 ± 0,2	36,47 ± 0,27



**Figure 26.** Paramètres physico-chimiques globaux de l'eau de mer mesurés sur les sites d'El Kala, Annaba et Skikda.

### 3.2 Inventaire et indices écologiques

Pour la famille des Nereididae, *Perinereis cultrifera* est l'espèce la plus abondante, avec une dominance à El Kala (522 individus), suivie d'Annaba (403) et de Skikda (318). D'autres espèces du genre *Perinereis* sont recensées en effectifs plus faibles, notamment *P. floridana* (77 individus à El Kala, 24 à Annaba, absente à Skikda), *P. oliveirae* (12 à El Kala, 1 à Annaba), *P. macropus* (10 à El Kala) et *P. marionii* (14 à El Kala). *P. anomala* est exclusivement observée qu'à Skikda (7 individus). En parallèle, *Platynereis dumerilii* est signalée uniquement à El Kala (12 individus). *Nereis falsa* est présente sur les trois sites, avec une abondance plus élevée à Annaba (126 individus), suivie d'El Kala (82) et de Skikda (65). *Nereis virens* est plus rare et identifiée seulement à El Kala (5 individus). Enfin, *Perinereis louizomarum* est recensée en faibles effectifs sur les trois sites (35 individus à El Kala, 8 à Annaba et 3 à Skikda). Cette répartition met en évidence des variations d'abondance selon les conditions environnementales propres à chaque site.

Outre les Nereididae, l'inventaire a également permis de recenser plusieurs espèces de mollusques, arthropodes, échinodermes et cnidaires. Parmi les mollusques, *Patella rustica* est l'espèce la plus représentée, suivie de *Patella caerulea* et *Cymbula safiana* (Patellidae). *Stramonita haemastoma* (Muricidae), *Siphonaria pectinata* (Siphonariidae), *Diodora graeca* (Fissurellidae) et *Mytilus* sp. (Mytilidae) sont également identifiés, avec une forte abondance de *Mytilus* sp. sur l'ensemble des sites.

Chez les arthropodes, plusieurs espèces de crustacés ont été répertoriées, notamment *Eriphia verrucosa* (Eriphiidae), *Pachygrapsus marmoratus* (Grapsidae) et *Eurydice pulchra* (Cirolanidae), ainsi qu'un groupe d'amphipodes non déterminés, particulièrement abondants.

Les échinodermes sont représentés par *Arbacia lixula* (Arbaciidae) et *Paracentrotus lividus* (Parechinidae), avec une présence plus marquée à El Kala. Enfin, *Anemonia viridis* (Actiniidae) est la seule espèce de cnidaire recensée, détectée uniquement à El Kala en faible abondance. Ces résultats mettent en évidence des différences de distribution et d'abondance selon les groupes taxonomiques et les sites étudiés. Ces données, collectées en collaboration avec Mr.SEBBIH en 2023, sont représentées comme suit :

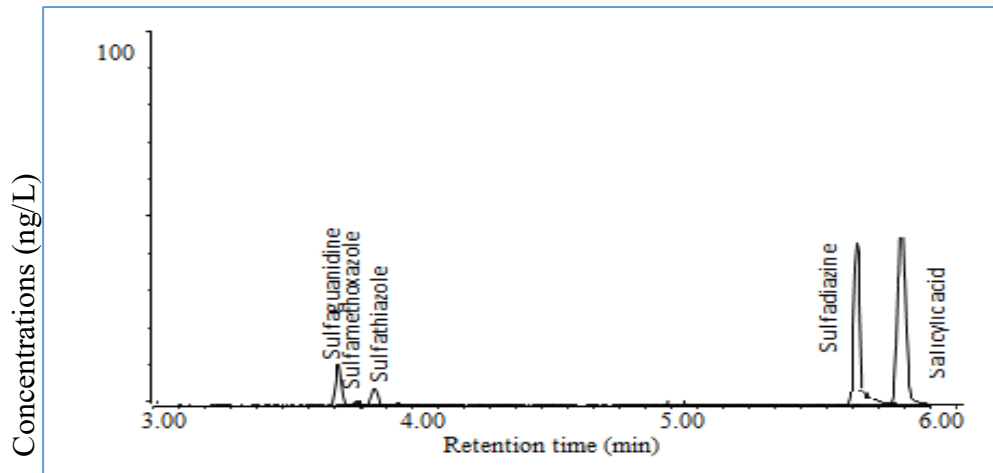
**Tableau 13.** Abondance (N), Richesse totale (S), La diversité (H'), L'équitabilité de Piélou (J') durant l'année 2023.

Sites	Indices			
	N	S	H'	J'
<b>El Kala</b>	2073	27	2,54	0,78
<b>Annaba</b>	1408	17	2,09	0,69
<b>Skikda</b>	1039	16	1,91	0,65

### 3.3 Détection des résidus pharmaceutiques dans l'eau de mer

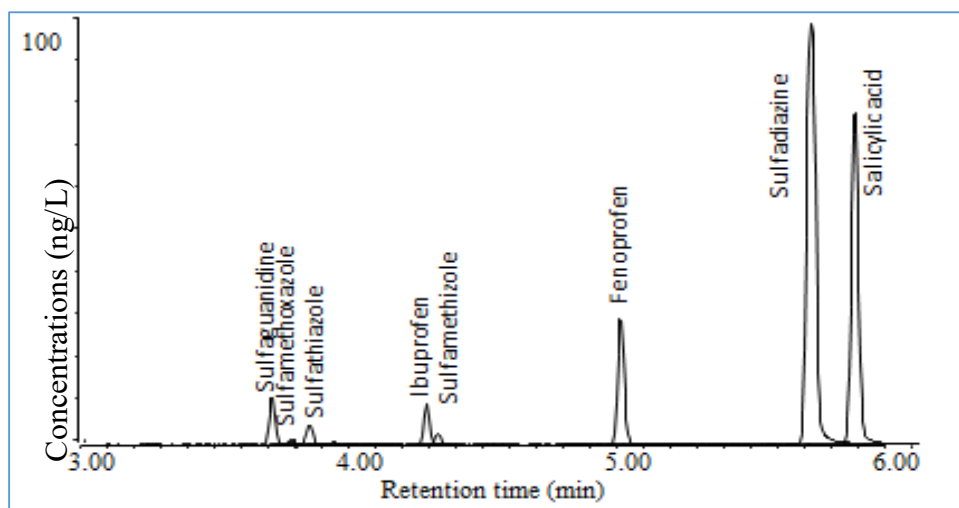
L'analyse des résidus pharmaceutiques dans les échantillons d'eau de mer prélevés sur les trois sites d'étude a été réalisée par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC/MS/MS). Les résultats révèlent la présence d'anti-inflammatoires non stéroïdiens tels que l'ibuprofène, le fénoprofène et l'acide salicylique, ainsi que plusieurs antibiotiques de la classe des sulfamides, notamment la sulfaguanidine, la sulfadiazine, le sulfaméthoxazole, le sulfathiazole et le sulfisoxazole. Une variation notable des concentrations a été observée entre les sites d'El Kala, d'Annaba et de Skikda.

Le chromatogramme obtenu pour le site d'El Kala révèle la présence de plusieurs résidus pharmaceutiques, tels que la sulfaguanidine, le sulfaméthoxazole, le sulfathiazole, la sulfadiazine et l'acide salicylique. Les temps de rétention montrent que les pics les plus faibles correspondent à la sulfaguanidine, au sulfaméthoxazole et au sulfathiazole, détectés entre 4,0 et 4,5 minutes. En revanche, les pics les plus élevés sont observés pour la sulfadiazine autour de 5,5 minutes et pour l'acide salicylique à 6 minutes, soulignant leur présence dominante. Aucun résidu de sulfaméthizole, de sulfisoxazole, d'ibuprofène ou de fénoprofène n'a été détecté dans les échantillons analysés (Figure 27).



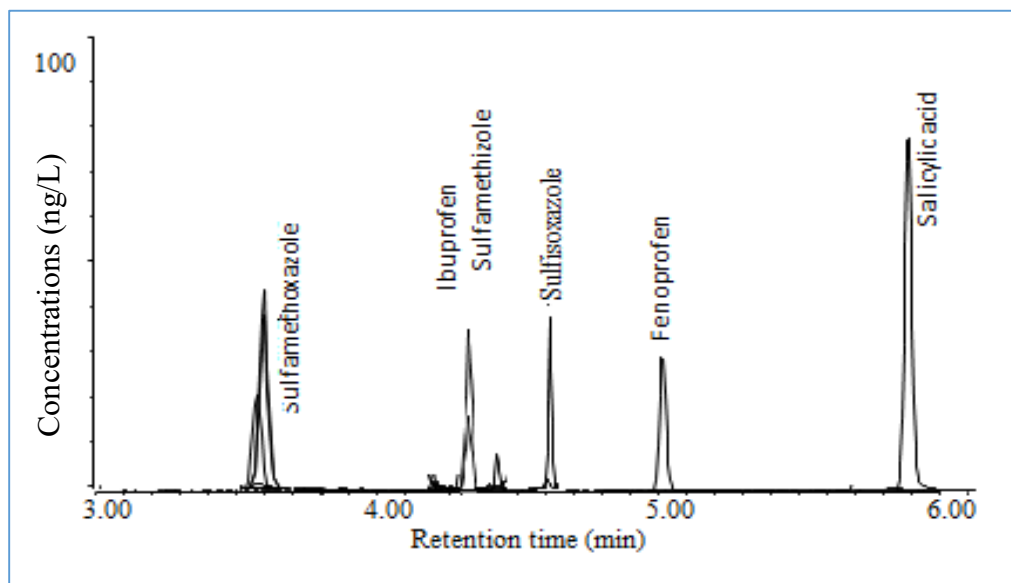
**Figure 27.** Chromatogramme des résidus pharmaceutiques dans les échantillons d'eau de mer provenant du site d'El Kala, en fonction de la concentration (ng/L) et du temps de rétention (min).

Les analyses réalisées pour le site d'Annaba révèlent la présence des résidus pharmaceutiques suivants : sulfaguandine, sulfaméthoxazole, sulfathiazole, ibuprofène, sulfaméthizole, fénopropène, sulfadiazine et acide salicylique. Les pics les plus élevés sont observés pour la sulfadiazine à 5,5 minutes et l'acide salicylique à 6,0 minutes, indiquant une présence dominante de ces composés. À l'inverse, les pics les plus faibles correspondent à la sulfaguandine, au sulfaméthoxazole et au sulfathiazole autour de 4,0 minutes, ainsi qu'à l'ibuprofène et au sulfaméthizole entre 4,4 et 4,5 minutes. Le fénopropène, détecté à 5,0 minutes, montre une intensité intermédiaire. (Figure 20)



**Figure 28.** Chromatogramme des résidus pharmaceutiques dans les échantillons d'eau de mer provenant du site d'Annaba, en fonction de la concentration (ng/L) et du temps de rétention (min).

Le chromatogramme obtenu pour le site de Skikda révèle la présence de plusieurs résidus pharmaceutiques, tels que le sulfaméthoxazole, l'ibuprofène, le sulfaméthizole, le sulfisoxazole, le fénoprophène et l'acide salicylique. Les temps de rétention montrent que le sulfaméthoxazole est détecté autour de 3,70 minutes, suivi par l'ibuprofène et le sulfaméthizole, dont les pics apparaissent entre 4,10 et 4,20 minutes. Le sulfisoxazole est identifié à 4,80 minutes, tandis que le fénoprophène est détecté à 5,20 minutes. Enfin, le pic le plus élevé est observé pour l'acide salicylique à 6,00 minutes, soulignant sa prédominance parmi les résidus analysés (Figure 29).



**Figure 29.** Chromatogramme des résidus pharmaceutiques dans les échantillons d'eau de mer provenant du site de Skikda, en fonction de la concentration (ng/L) et du temps de rétention (min).

### 3.4 Analyse de l'impact de la pollution sur les paramètres morphométriques et pondéraux

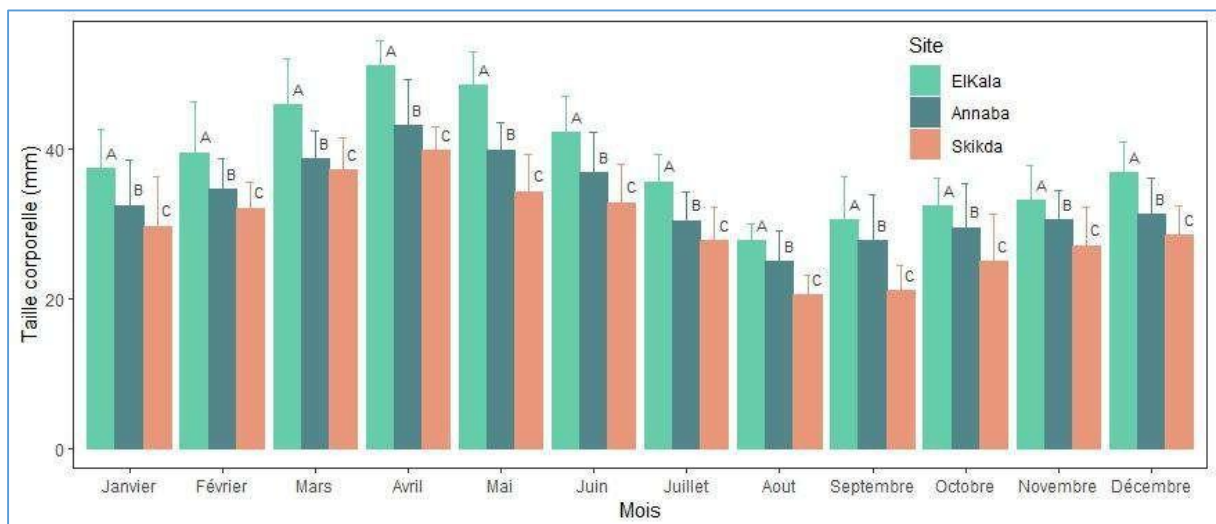
Le suivi mensuel des paramètres morphométriques et pondéraux a été réalisé chez les femelles de *Perinereis cultrifera* sur les 3 sites d'étude : La Montagne (El-Kala), Rezgui Rachid (Annaba) et Bikini (Skikda) au cours de l'année 2022.

#### 3.4.1 Taille corporelle

Au cours de la période allant de janvier à avril, une croissance graduelle de la taille corporelle des femelles de *P. cultrifera* a été constatée sur les trois sites d'étude, avec des valeurs moyennes enregistrées en avril de  $51,13 \pm 4,50$  mm à El-Kala,  $43,16 \pm 3,90$  mm à Annaba, et  $39,80 \pm 5,13$  mm à Skikda. En revanche, une réduction de la taille corporelle a été observée en août, avec des mesures de  $27,73 \pm 6,85$  mm pour El-Kala,  $25,00 \pm 4,09$  mm pour Annaba, et

20,50 ± 3,52 mm pour Skikda. Une augmentation modérée de la taille a été notée en décembre pour l'ensemble des sites (Figure 30).

L'analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) a mis en évidence des différences très hautement significatives entre les sites tout au long de l'étude ( $P < 0,001$ ). Le test de Tukey a permis de classer les sites en trois groupes distincts pour les mois de janvier, avril, mai, juin, novembre et décembre. Le site d'El-Kala, avec les tailles moyennes les plus élevées, a été attribué au groupe A. Le site d'Annaba, avec des tailles intermédiaires, a été placé dans le groupe B, tandis que le site de Skikda, affichant les tailles les plus faibles, a été classé dans le groupe C. En revanche, pour les mois de février, juillet, août, septembre et octobre, les sites ont été regroupés en deux catégories distinctes : le groupe A, comprenant le site d'El-Kala, et le groupe B, incluant les sites d'Annaba et de Skikda.



**Figure 30.** Variations mensuelles de la taille corporelle (mm) des femelles de *Perinereis cultrifera* ( $m \pm s$ ;  $n=30$ ), collectées dans les trois sites d'étude : El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid), et Skikda (Bikini) au cours de l'année 2022. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une ANOVA à un facteur, suivie du test de Tukey.

L'ANOVA à deux facteurs, appliquée aux données de taille corporelle des femelles de *P. cultrifera* collectées en 2022 sur les trois sites d'étude (El-Kala, Annaba et Skikda), révèle des effets très significatifs pour le site, le mois et leur interaction ( $P < 0,001$ ) (Tableau 14).

**Tableau 14.** Analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs (Site/Mois) de la taille corporelle des femelles de *Perinereis cultrifera* récoltées en 2022 sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid) et Skikda (Bikini).

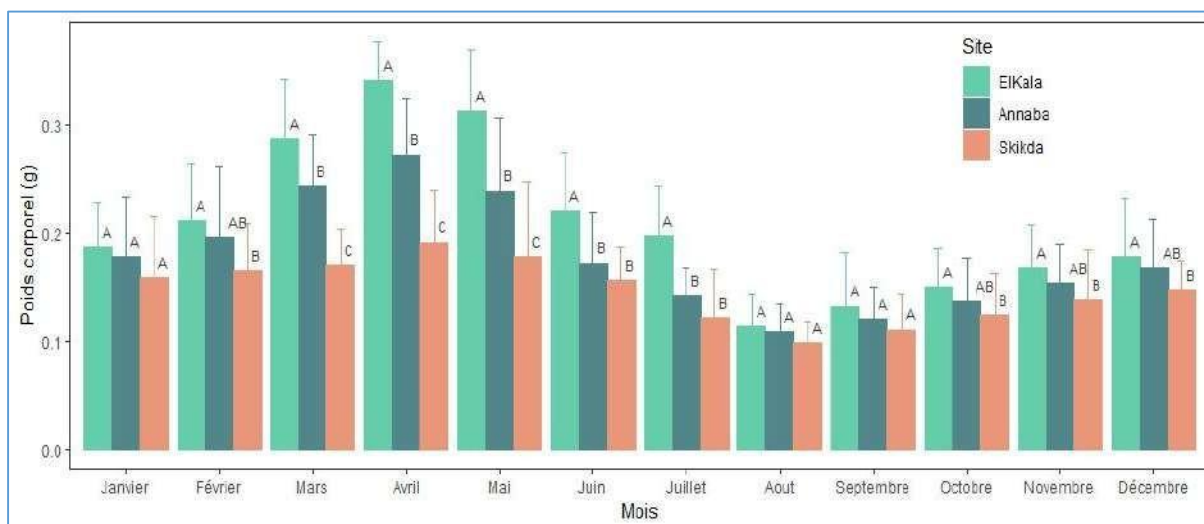
Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Site	2	13882,291	6941,145	306,103	<b>0,000***</b>
Mois	11	37558,207	3414,382	150,573	<b>0,000***</b>
Interaction site/mois	22	1202,776	54,672	2,411	<b>0,000***</b>
Erreur résiduelle	1044	23673,600	22,676		
<b>Totale</b>	<b>1079</b>	<b>76316,874</b>			

NS : non significative ( $P > 0,05$ ) ; \* : très Significative ( $P < 0,05$ ) ; \*\* : hautement significative ( $P < 0,01$ ) ; \*\*\* : très hautement significative ( $P < 0,001$ ).

### 3.4.2. Poids corporel

Le poids corporel des femelles de *P. cultrifera* a été enregistré mensuellement sur les trois sites d'étude, montrant une tendance à l'augmentation à partir de janvier, atteignant un maximum en avril :  $0,341 \pm 0,03$  g à El-Kala,  $0,272 \pm 0,05$  g à Annaba, et  $0,190 \pm 0,04$  g à Skikda. Une baisse graduelle du poids a ensuite été observée, avec des valeurs minimales en août :  $0,113 \pm 0,03$  g à El-Kala,  $0,109 \pm 0,02$  g à Annaba, et  $0,098 \pm 0,02$  g à Skikda. Une légère reprise du poids corporel a été notée à partir de septembre (Figure 31).

L'analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) a révélé des différences très hautement significatives entre les sites pour les mois de Mars, Avril, Mai, Juin et Juillet ( $P < 0,001$ ). Les mois de Janvier, Août et Septembre n'ont montré aucune différence significative ( $P > 0,05$ ). En Février, une différence hautement significative a été observée ( $P < 0,01$ ), tandis que les mois d'Octobre, Novembre et Décembre ont présenté des différences très significatives ( $P < 0,05$ )



**Figure 31.** Variations mensuelles du poids corporel (g) des femelles de *Perinereis cultrifera* ( $m \pm s$  ;  $n=30$ ), collectées dans les trois sites d'étude : El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid), et Skikda (Bikini) au cours de l'année 2022. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une ANOVA à un facteur, suivie du test de Tukey.

L'analyse de variance à deux facteurs (site et mois), effectuée sur les données du poids corporel des femelles de *P. cultrifera* collectées en 2022 sur les trois sites d'étude d'El-Kala, Annaba et Skikda a mis en évidence des effets très significatifs liés aux facteurs site, mois et leur interaction ( $P < 0,001$ ) (Tableau 15).

**Tableau 15.** Analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs (Site/Mois) du poids corporel des femelles de *Perinereis cultrifera* récoltées en 2022 sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid) et Skikda (Bikini).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Site	2	0,683	0,342	163,788	<b>0,000***</b>
Mois	11	2,446	0,222	106,602	<b>0,000***</b>
Interaction site/mois	22	,392	0,018	8,542	<b>0,000***</b>
Erreur résiduelle	1044	2,178	0,002		
Totale	1080	39,811			

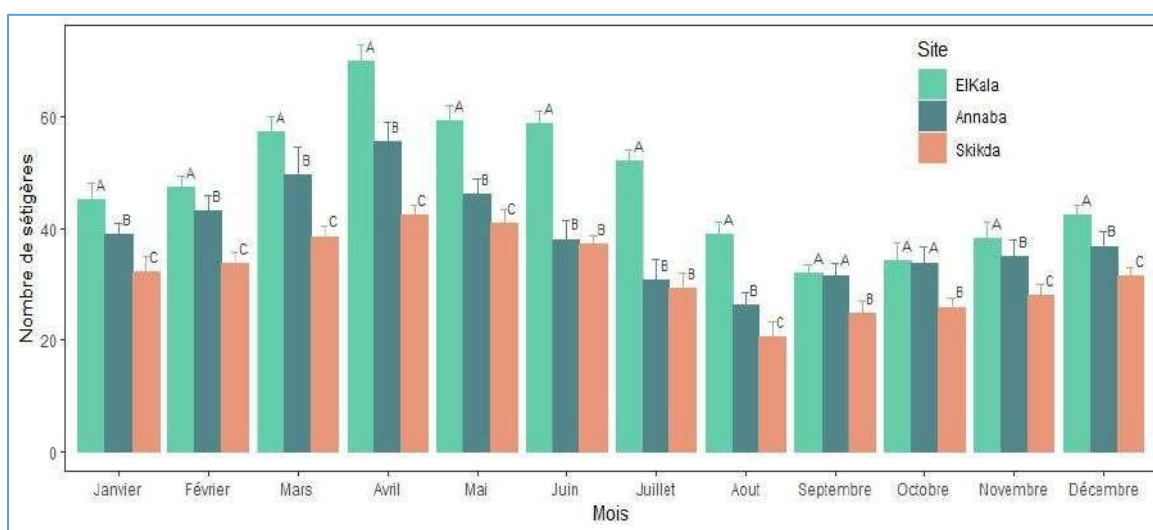
NS : non significative ( $P > 0,05$ ) ; \* : très Significative ( $P < 0,05$ ) ; \*\* : hautement significative ( $P < 0,01$ ) ; \*\*\* : très hautement significative ( $P < 0,001$ ).

### 3.4.3 Nombre de sétigères

L'analyse mensuelle du nombre de sétigères chez les femelles de *P. cultrifera* sur les trois sites d'étude (El-Kala, Annaba, Skikda) révèle une augmentation significative du nombre de sétigères à partir de Janvier, culminant en Avril avec des valeurs moyennes de  $69,83 \pm 2,98$

pour El-Kala,  $55,50 \pm 3,61$  pour Annaba, et  $42,36 \pm 1,75$  pour Skikda. Après ce pic, une diminution continue est observée, atteignant des valeurs minimales en Août et Septembre. En Décembre, une légère reprise du nombre de sétigères est notée.

L'analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) a révélé des différences très hautement significatives entre les sites pour les mois de Mars, Avril, Mai, Juin et Juillet ( $P < 0,001$ ). Les mois de Janvier, Août et Septembre n'ont montré aucune différence significative ( $P > 0,05$ ). En Février, une différence hautement significative a été observée ( $P < 0,01$ ), tandis que les mois d'Octobre, Novembre et Décembre ont présenté des différences très significatives ( $P < 0,05$ ) (Figure 32).



**Figure 32.** Variations mensuelles du nombre de sétigères des femelles de *Perinereis cultrifera* ( $m \pm s$  ;  $n=30$ ), collectées dans les trois sites d'étude : El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid), et Skikda (Bikini) au cours de l'année 2022. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une ANOVA à un facteur, suivie du test de Tukey.

L'analyse de variance à deux facteurs, prenant en compte le site et le mois, menée sur les données du nombre de sétigères des femelles de *P. cultrifera* collectées en 2022 sur les sites d'El-Kala, Annaba et Skikda, a montré des effets très hautement significatifs liés à ces deux facteurs ainsi qu'à leur interaction ( $P < 0,001$ ) (Tableau 16).

**Tableau 16.** Analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs (Site/Mois) du nombre de sétigères des femelles de *Perinereis cultrifera* récoltées en 2022 sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid) et Skikda (Bikini).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Site	2	45765,717	22882,858	943,184	<b>0,000***</b>
Mois	11	71858,981	6532,635	943,184	<b>0,000***</b>
Interaction site/mois	22	11502,728	522,851	75,489	<b>0,000***</b>
Erreur résiduelle	1044	7230,900	0,110		
Totale	1079	136358,325			

NS : non significative ( $P > 0,05$ ) ; \* : très Significative ( $P < 0,05$ ) ; \*\* : hautement significative ( $P < 0,01$ ) ; \*\*\* : très hautement significative ( $P < 0,001$ ).

### 3.5 Analyse de l'impact de la pollution sur la reproduction

#### 3.5.1 Taux de maturité et Sex ratio

L'identification des individus sexués chez *P. cultrifera*, réalisée sur des échantillons provenant des trois sites d'étude, a permis de différencier les mâles des femelles. Les fluctuations des proportions des différentes catégories échantillonnées sur les trois sites d'étude au cours de l'année 2022 sont illustrées dans les Figures 33, 34 et 35.

Une prédominance des femelles par rapport aux mâles a été observée tout au long de l'année, ce qui peut être attribué à la facilité relative de détection des ovocytes comparée à celle des amas spermatiques aux stades précoces. La proportion de femelles varie de manière significative, et les fluctuations dans la sex-ratio au fil du temps reflètent ces variations au sein de la population totale. La proportion d'individus sexués atteint son maximum entre février et mai 2022.

Dans les trois populations étudiées, la proportion maximale d'individus sexués, observée entre février et mai, atteint en moyenne 88,24 % à El-Kala (Figure 33), 78,75 % à Annaba (Figure 34), et 73,42 % à Skikda (Figure 35). À partir de juin, une diminution de cette proportion est constatée dans toutes les populations, probablement en raison de la mortalité des individus matures épitoques après la période de reproduction. Une seconde diminution est notée entre juin et août, correspondant à l'apparition d'une nouvelle génération d'individus indifférenciés sur les trois sites d'étude.

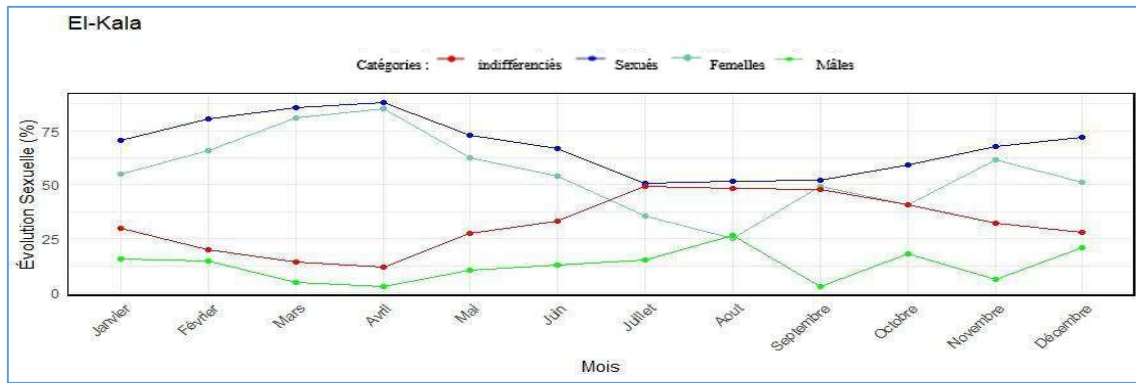


Figure 33. Répartition mensuelle du sex-ratio et des individus indifférenciés et sexués de *Perinereis cultrifera* (% indifférenciés ; % sexués : % femelles et % des mâles) de janvier à décembre 2022 au niveau du site d'El Kala (La montagne).

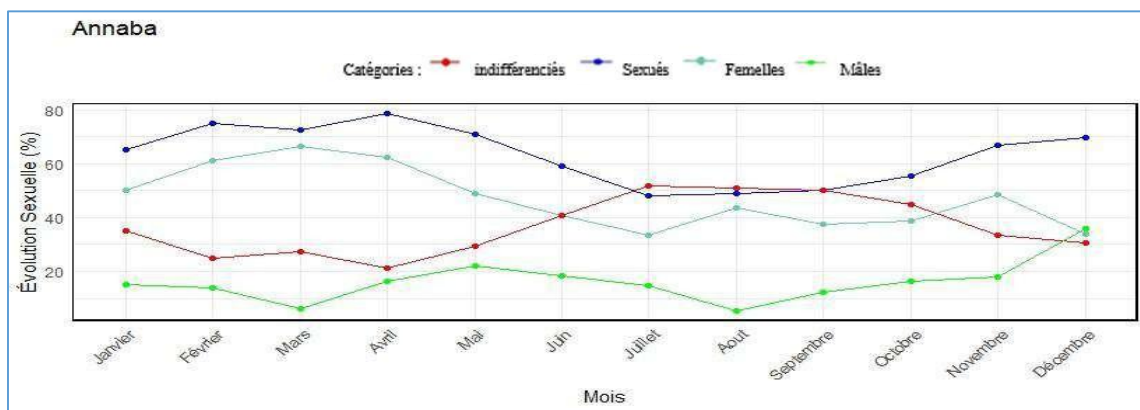


Figure 34. Répartition mensuelle du sex-ratio et des individus indifférenciés et sexués de *Perinereis cultrifera* (% indifférenciés ; % sexués : % femelles et % des mâles) de janvier à décembre 2022 au niveau du site d'Annaba (Rezgui Rachid).

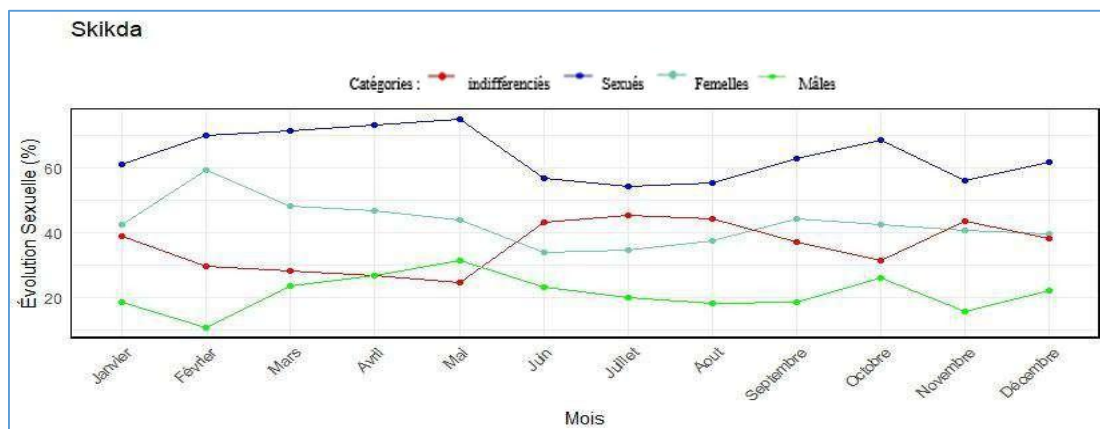
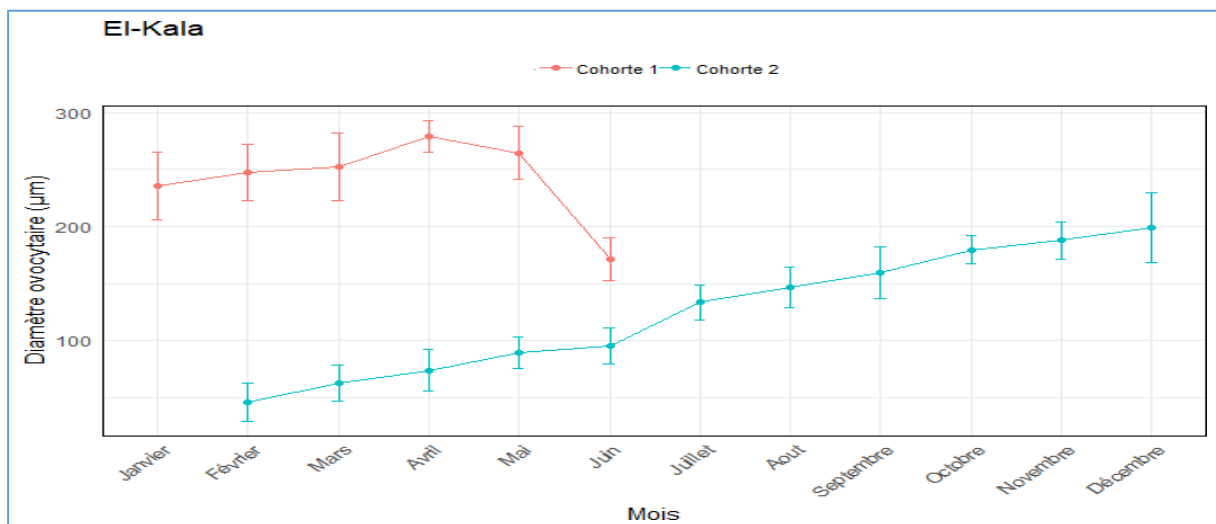


Figure 35. Répartition mensuelle du sex-ratio et des individus indifférenciés de *Perinereis cultrifera* (% indifférenciés ; % sexués : % femelles et % des mâles) de janvier à décembre 2022 au niveau du site de Skikda (Bikini)

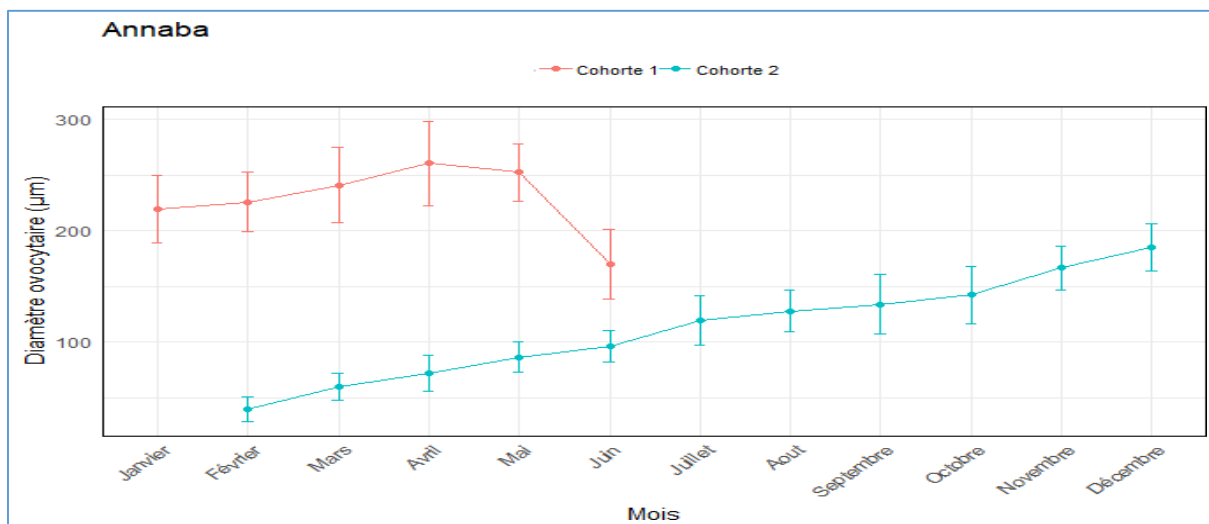
### 3.5.2 Analyse biométrique de la croissance ovocytaire

Les figures 36, 37 et 38 présentent l'évolution du diamètre ovocytaire moyen des femelles sur la période d'étude pour les populations d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid) et Skikda (Bikini). Les courbes pour les trois sites montrent une tendance similaire, avec une augmentation progressive du diamètre ovocytaire de Janvier à Avril. Entre Février et Mai, deux groupes distincts de femelles sont observés : l'un avec des ovocytes de petite taille, et l'autre avec des ovocytes de diamètre nettement plus grand. En Février, les femelles avec un diamètre ovocytaire inférieur à 50  $\mu\text{m}$  commencent à apparaître, mais elles disparaissent progressivement à mesure que les ovocytes mûrissent et atteignent des tailles plus importantes. De Mars à Mai, le diamètre ovocytaire atteint son maximum, avec des ovocytes matures mesurant plus de 200  $\mu\text{m}$ . Après Juin, les femelles avec un grand diamètre ovocytaire disparaissent, probablement en raison de la mort des femelles reproductrices. L'évolution du diamètre ovocytaire moyen au cours des mois indique que le processus de développement ovocytaire s'étale sur une période de 16 mois chez les trois populations étudiées.

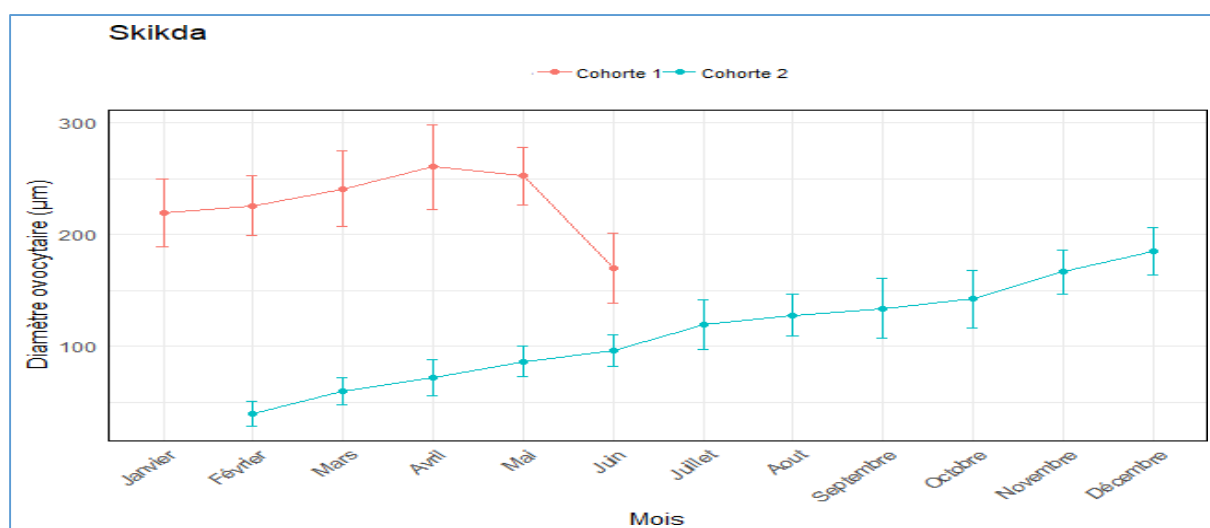
Une comparaison du diamètre ovocytaire moyen chez les femelles de *P. cultrifera* a révélé des variations significatives entre les sites d'étude. En avril, les ovocytes affichaient les diamètres moyens les plus importants à El-Kala, suivis par Annaba, puis Skikda. En revanche, en juin, les diamètres ovocytaires les plus réduits ont été mesurés à Skikda, suivis par Annaba, et enfin par El-Kala.



**Figure 36.** Evolution mensuelle du diamètre ovocytaire (Cohorte 1, Cohorte 2) des femelles *Perinereis cultrifera* ( $m \pm s$  ;  $n=30$ ) récoltées au niveau du site d'El-Kala (La Montagne) de Janvier à Décembre de l'année 2022.



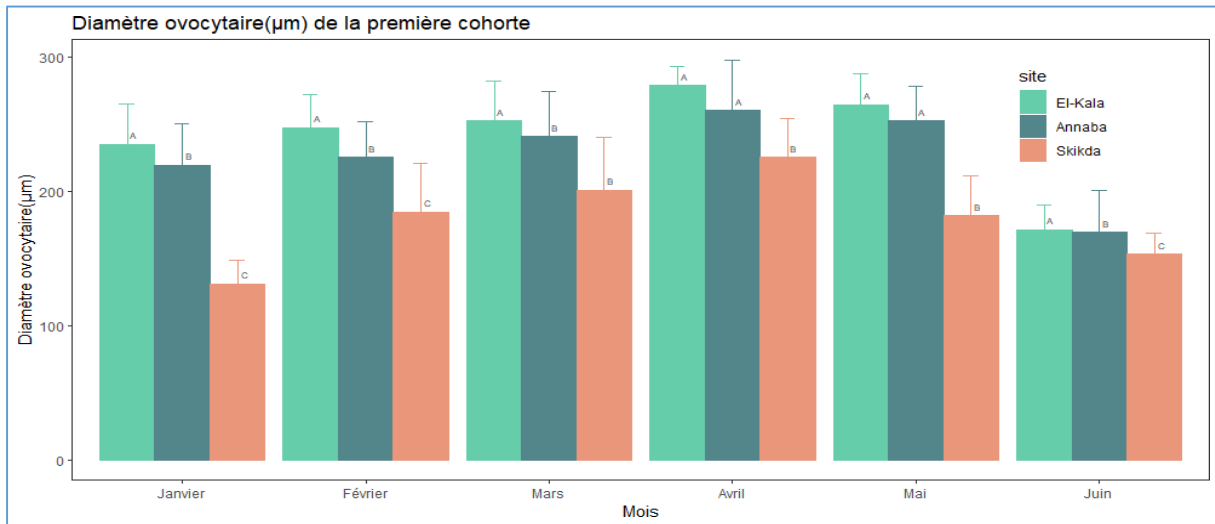
**Figure 37.** Evolution mensuelle du diamètre ovocytaire (Cohorte 1, Cohorte 2) des femelles *Perinereis cultrifera* ( $m \pm s$ ;  $n=30$ ) récoltées au niveau du site d'Annaba (Rezgui Rachid) de Janvier à Décembre de l'année 2022.



**Figure 38.** Evolution mensuelle du diamètre ovocytaire (Cohorte 1, Cohorte 2) des femelles *Perinereis cultrifera* ( $m \pm s$ ;  $n=30$ ) récoltées au niveau du site de Skikda (Bikini) de Janvier à Décembre de l'année 2022.

Pour la première cohorte, l'analyse de variance (ANOVA) à un critère a mis en évidence une différence très hautement significative ( $P < 0,001$ ) entre les sites de Janvier à Mai, ainsi qu'une différence hautement significative en Juin ( $P < 0,01$ ). Le test post-hoc de Tukey a regroupé les sites en deux catégories distinctes pour les mois de Janvier, Mars, Mai et Juin : le groupe A inclut El-Kala (La Montagne) et Annaba (Rezgui Rachid), tandis que le groupe B comprend Skikda (Bikini) (Tableau 17 ; Figure 39).

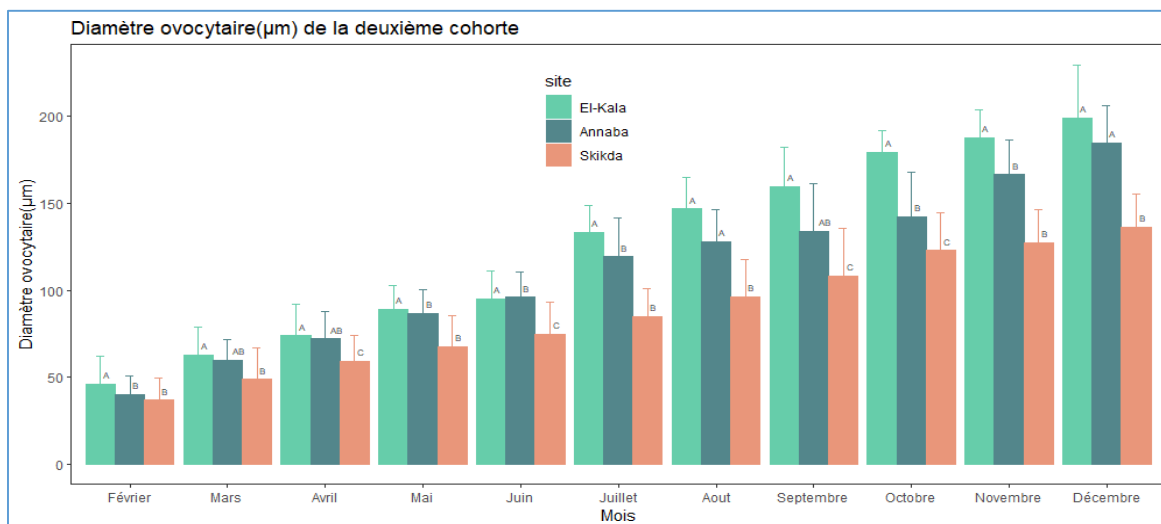
En Février et Avril, le test de Tukey a réparti les sites en trois groupes : le groupe A, correspondant à El-Kala (La Montagne), le groupe B, regroupant Annaba (Rezgui Rachid), et le groupe C, incluant Skikda (Bikini).



**Figure 39.** Variation mensuelle du diamètre ovocytaire des femelles de *Perinereis cultrifera* de la première cohorte, échantillonnées de Février à juin 2022 sur les 3 sites d'étude

Pour la deuxième cohorte, l'analyse de variance à un critère (ANOVA) a révélé une différence significative en Février ( $P < 0,05$ ), suivie de différences hautement significatives en Mars et Avril ( $P < 0,01$ ), ainsi que des différences très hautement significatives entre les sites de Mai à Décembre ( $P < 0,001$ ). Le test post-hoc de Tukey a permis de regrouper les sites en deux catégories distinctes pour les mois de Mars, Avril, Mai, Juin et Décembre : le groupe A, comprenant El-Kala (La Montagne) et Annaba (Rezgui Rachid), et le groupe B, incluant Skikda (Bikini) (Tableau 17 ; Figure 40).

En Février, le test de Tukey a réparti les sites en trois groupes : le groupe A correspondant à El-Kala (La Montagne), le groupe AB regroupant Annaba (Rezgui Rachid), et le groupe B, incluant Skikda (Bikini). En Janvier et Novembre, le test de Tukey a également identifié trois groupes : le groupe A correspondant à El-Kala (La Montagne), le groupe B regroupant Annaba (Rezgui Rachid), et le groupe C incluant Skikda (Bikini).



**Figure 40.** Variation mensuelle du diamètre ovocytaire des femelles de *Perinereis cultrifera* de la deuxième cohorte, échantillonnées de Février à juin 2022 sur les 3 sites d'étude.

**Tableau 17.** Analyse de variance à un facteur (ANOVA), suivie du test post-hoc de Tukey, portant sur le diamètre ovocytaire des femelles de *Perinereis cultrifera* (moyenne ± écart-type ; n=30) échantillonnées dans les trois sites d'étude (El-Kala, Annaba et Skikda) de janvier à décembre 2022.

	Mois	Site			P
		El-Kala	Annaba	Skikda	
Cohorte 1	Janvier	A	A	B	0,000***
	Février	A	B	C	0,000***
	Mars	A	A	B	0,000***
	Avril	A	B	C	0,000***
	Mai	A	A	B	0,000***
	Juin	A	A	B	0,005**
Cohorte 2	Février	A	AB	B	0.033*
	Mars	A	A	B	0,002**
	Avril	A	A	B	0,001**
	Mai	A	A	B	0,000***
	Juin	A	A	B	0,000***
	Juillet	A	B	C	0,000***
	Août	A	B	C	0,000***
	Septembre	A	B	C	0,000***
	Octobre	A	B	C	0,000***
	Novembre	A	B	C	0,000***
	Décembre	A	A	B	0,000***

NS : non significative ( $P > 0,05$ ) ; \* : très Significative ( $P < 0,05$ ) ; \*\* : hautement significative ( $P < 0,01$ ) ; \*\*\* : très hautement significative ( $P < 0,001$ ).

L'analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs (Site/Mois) effectuée sur la première et la deuxième cohorte a révélé des effets très hautement significatifs pour les facteurs site, mois, ainsi que leur interaction ( $P < 0,001$ ) (Tableau 18 et 19).

**Tableau 18.** Analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs (Site/Mois) du diamètre ovocytaire de la première cohorte des femelles de *Perinereis cultrifera* récoltées en 2022 sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid) et Skikda (Bikini).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Site	2	383120,578	91944,506	238,732	<b>0,000***</b>
Mois	5	459722,528	191560,289	114,586	<b>0,000***</b>
Interaction site/mois	10	79926,844	7992,684	9,961	<b>0,000***</b>
Erreur résiduelle	522	418856,900	802,408		
<b>Totale</b>	<b>540</b>	<b>26695527,000</b>			

NS : non significative ( $P > 0,05$ ) ; \* : très Significative ( $P < 0,05$ ) ; \*\* : hautement significative ( $P < 0,01$ ) ; \*\*\* : très hautement significative ( $P < 0,001$ ).

**Tableau 19.** Analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs (Site/Mois) du diamètre ovocytaire de la deuxième cohorte des femelles de *Perinereis cultrifera* récoltées en 2022 sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid) et Skikda (Bikini).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Site	2	383120,578	174268,649	493,361	<b>0,000***</b>
Mois	10	235612,382	117806,191	333,514	<b>0,000***</b>
Interaction site/mois	20	76481,596	3824,080	10,826	<b>0,000***</b>
Erreur résiduelle	957	338038,800	353,228		
<b>Totale</b>	<b>990</b>	<b>13979092,000</b>			

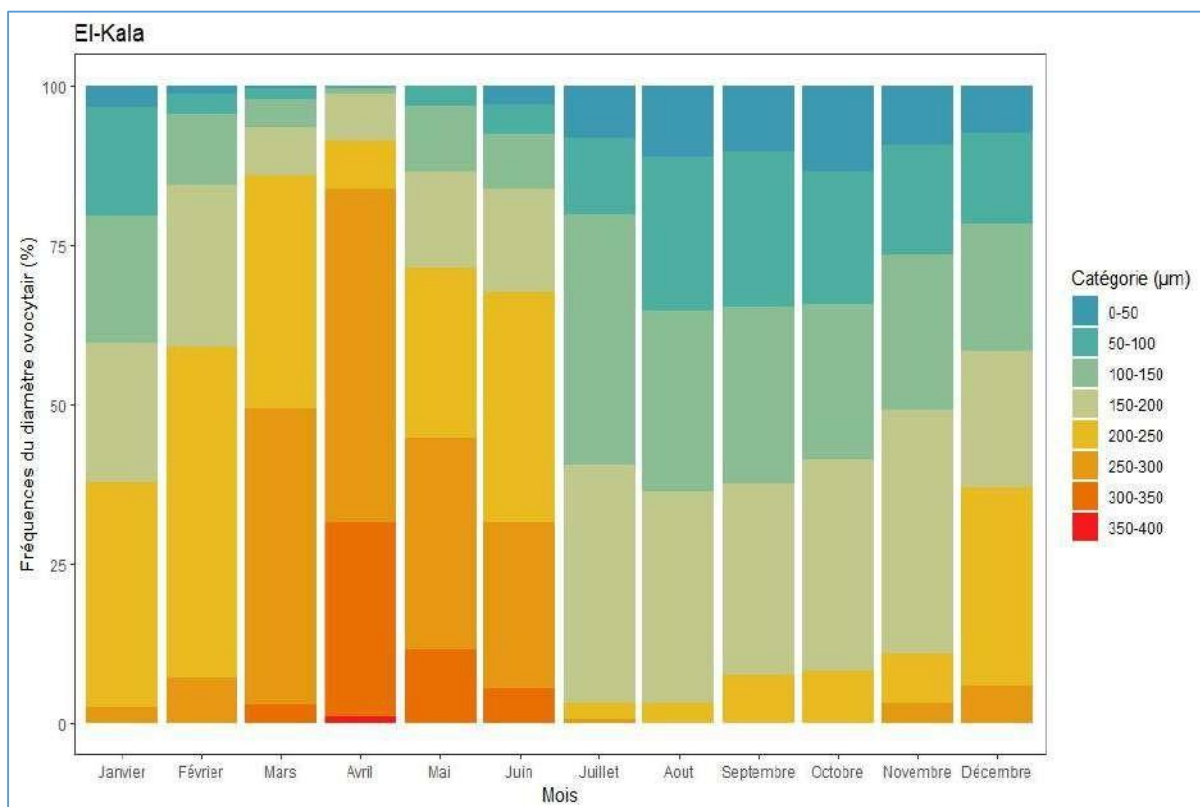
NS : non significative ( $P > 0,05$ ) ; \* : très Significative ( $P < 0,05$ ) ; \*\* : hautement significative ( $P < 0,01$ ) ; \*\*\* : très hautement significative ( $P < 0,001$ ).

### 3.5.3 Fréquences de taille ovocytaire

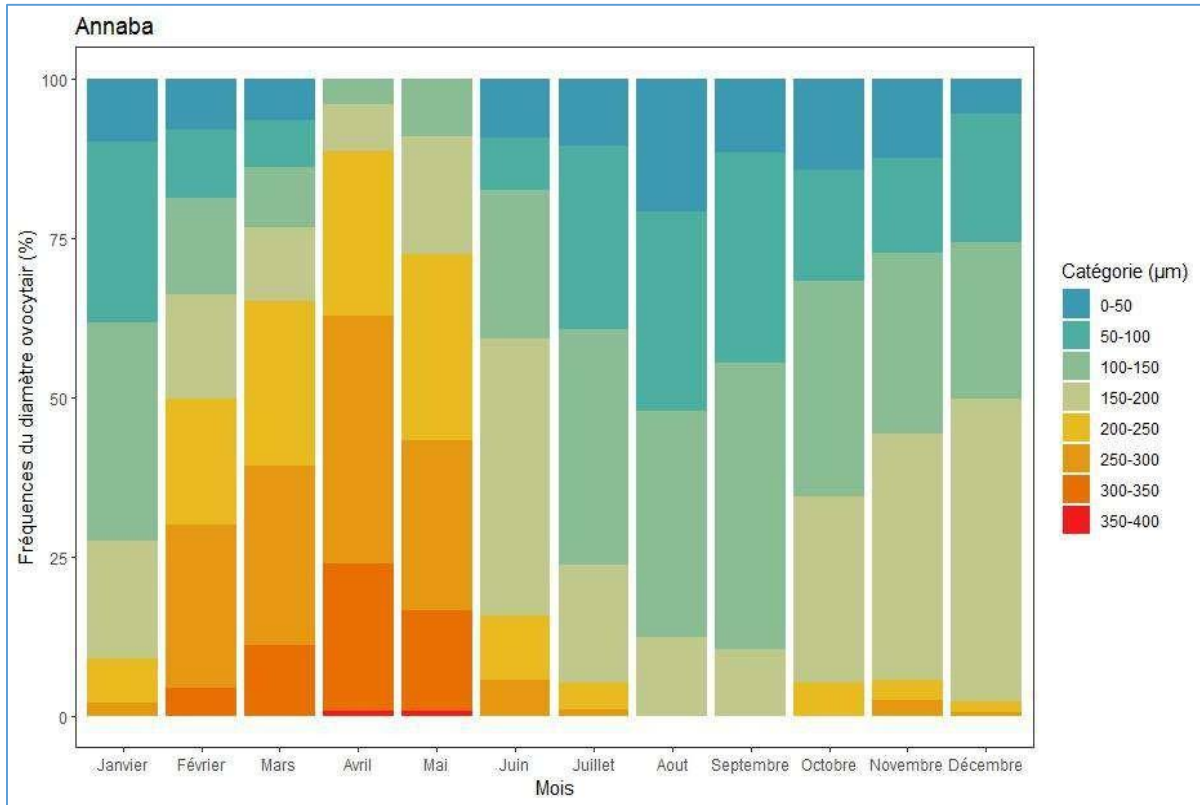
L'analyse du contenu de la cavité coelomique des femelles *P. cultrifera*, provenant de trois sites d'étude, a montré une grande diversité dans la taille des cellules reproductrices. Cette observation, combinée à la présence simultanée de cellules à différents stades de développement (pré-vitellogénèse, vitellogénèse avancée, maturité), suggère que la production des ovocytes chez cette espèce ne se fait pas de manière synchronisée.

Pour approfondir la compréhension du cycle reproductif de *P. cultrifera*, une étude détaillée de la croissance des ovocytes a été réalisée. La taille des ovocytes, mesurée dans la cavité coelomique, a été utilisée comme indicateur pour évaluer leur stade de maturation. Ainsi, sept groupes distincts ont pu être identifiés, classés selon des intervalles de taille de 50  $\mu\text{m}$ .

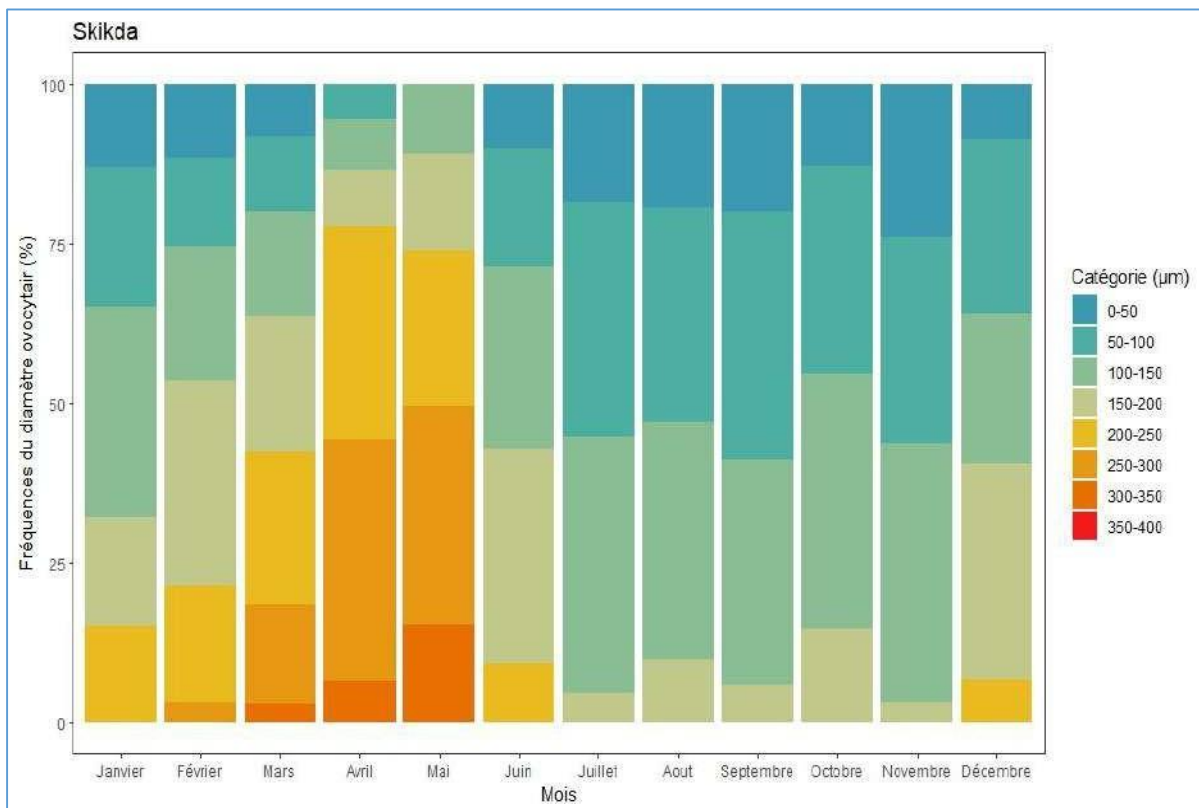
Les ovocytes ayant terminé leur vitellogenèse mesuraient entre 300 et 400  $\mu\text{m}$ . Les femelles avec de petits ovocytes (moins de 50  $\mu\text{m}$  de diamètre) ont été présentes tout au long de l'année. Le mois d'avril semble être une période clé pour la reproduction de cette espèce. En effet, c'est durant ce mois que la proportion de cellules de grande taille était la plus importante. À partir de ce mois, la diminution significative du nombre d'ovocytes matures dans la cavité coelomique a été attribuée à la libération des cellules reproductrices lors de l'essaimage. Une proportion notable de femelles contenant des ovocytes matures a été observée en mars, avril et mai, avec des pourcentages respectifs de 46,36 %, 52,46 % et 33,24 % à El-Kala (Figure 41), 28,33 %, 38,95 % et 26,57 % à Annaba (Figure 42), et 15,51 %, 37,92 % et 34,28 % à Skikda (Figure 43). En revanche, durant les périodes hivernale et estivale, les femelles portaient majoritairement des cellules de petite et moyenne taille.



**Figure 41.** Variations mensuelles des distributions des fréquences de taille ovocytaire (%) chez les femelles de *Perinereis cultrifera* prélevées au site d'El-Kala (La Montagne) au cours de l'année 2022.



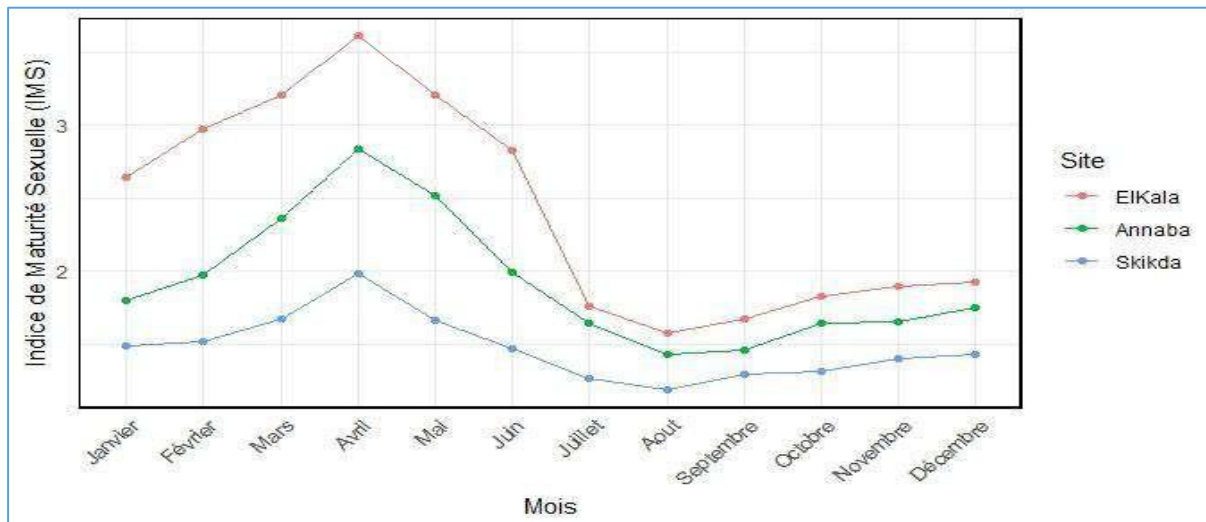
**Figure 42.** Variations mensuelles des distributions des fréquences de taille ovocytaire (%) chez les femelles de *Perinereis cultrifera* prélevées au site d'Annaba (Rezgui Rachid) au cours de l'année 2022.



**Figure 43.** Variations mensuelles des distributions des fréquences de taille ovocytaire (%) chez les femelles de *Perinereis cultrifera* prélevées au site de Skikda (Bikini) au cours de l'année 2022

### 3.5.4 Indice de maturité sexuelle (IMS)

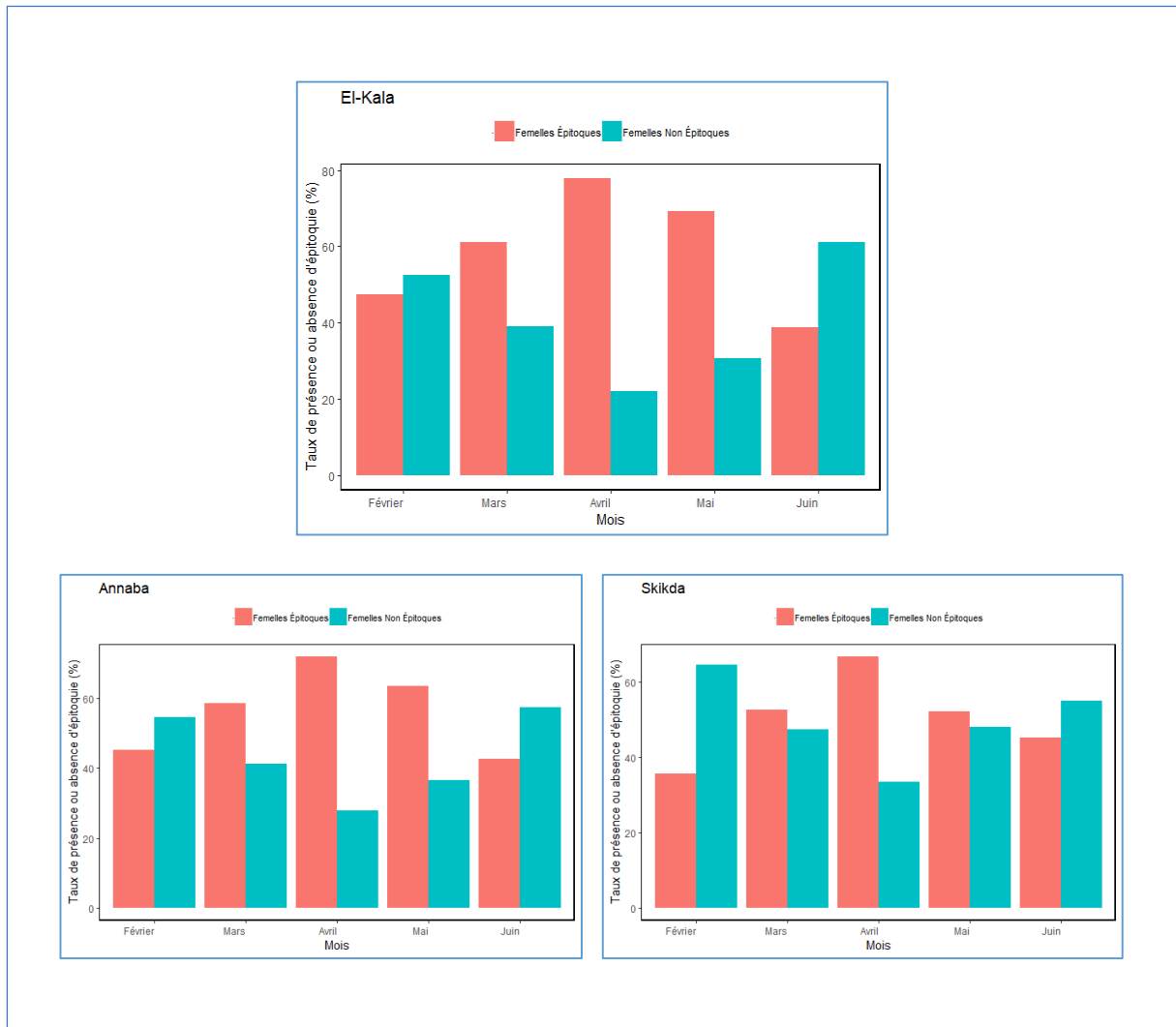
Le suivi mensuel de l'indice de maturité sexuelle des femelles de *P. cultrifera* met en évidence des tendances comparables entre les populations des trois sites étudiés. Les valeurs maximales de cet indice ont été atteintes en avril, avec des valeurs de 3,61 à El-Kala, 2,84 à Annaba et 1,98 à Skikda (Figure 44). À l'inverse, les valeurs minimales ont été enregistrées en août, s'élevant à 1,58 à El-Kala, 1,42 à Annaba et 1,18 à Skikda.



**Figure 44.** Évolution mensuelle de l'indice de maturité sexuelle des femelles de *Perinereis cultrifera* collectées sur les trois sites d'étude (El-Kala, Annaba et Skikda) durant l'année 2022.

### 3.5.5 Etude de l'épitoquie

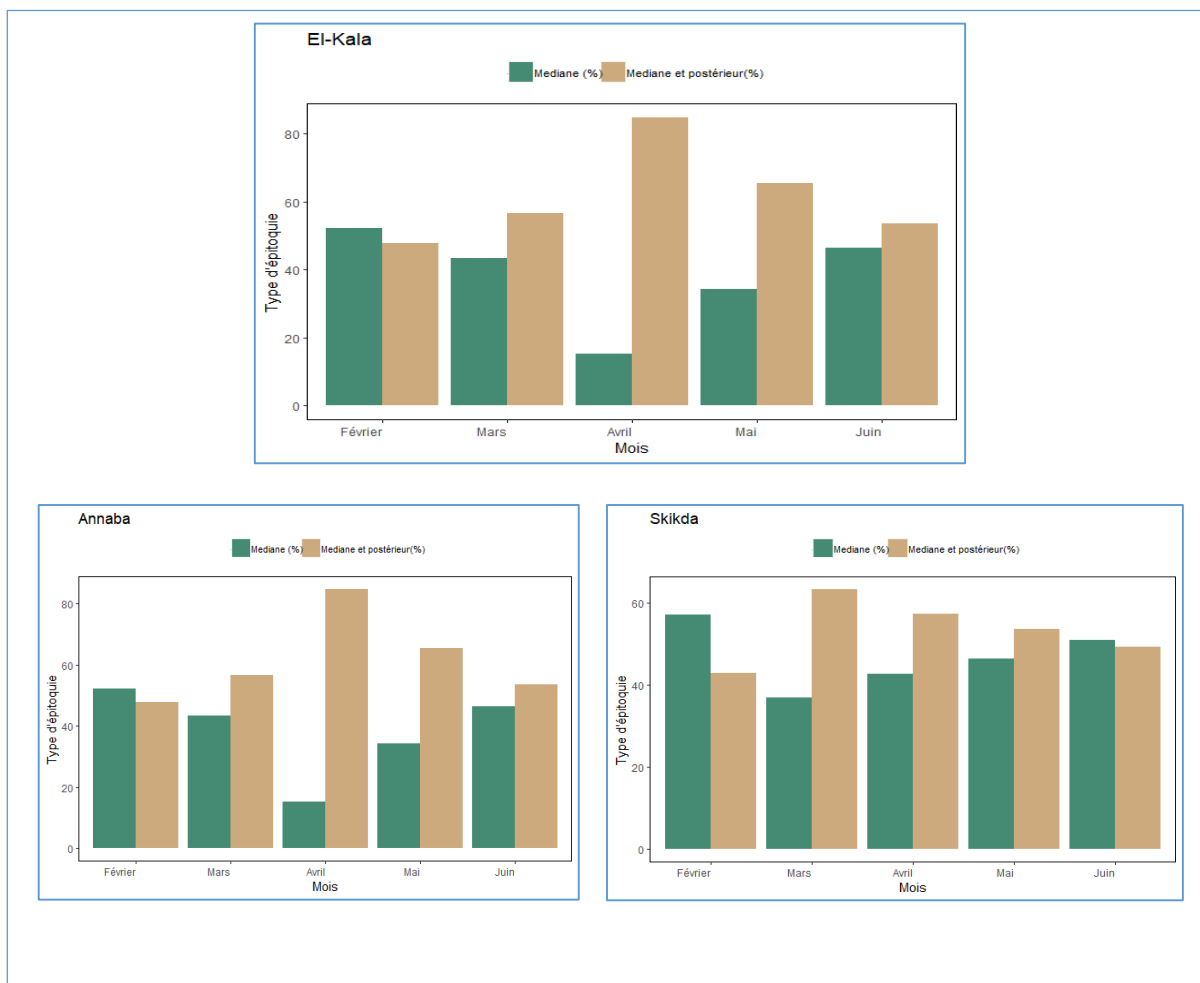
L'analyse mensuelle de l'épitoquie chez les femelles de *P. cultrifera* issues des trois sites d'étude au cours de la période de reproduction a permis de distinguer deux groupes distincts : les femelles épitoques et les femelles non épitoques. Un pic de femelles épitoques a été enregistré en avril sur les trois sites, avec des proportions atteignant respectivement 77,89 % à El-Kala, 72,00 % à Annaba et 66,66 % à Skikda. La proportion la plus faible de femelles épitoques (38,89 %) a été observée à El-Kala en juin. En ce qui concerne les femelles non épitoques, la proportion maximale (61,11 %) a été relevée en juin à El-Kala, tandis que la proportion minimale (22,11 %) a été notée en avril sur le même site (Figure 45).



**Figure 45.** Evolution mensuelle de l'état d'épitoquie chez les femelles de *Perinereis cultrifera* collectées sur les trois sites d'étude (El-Kala, Annaba et Skikda) pendant la période de reproduction en 2022.

### 3.5.5.1 Types d'épitoquie

L'évolution des types d'épitoquie chez *P. cultrifera* de février à juin sur trois sites (El-Kala, Annaba, Skikda) est démontrée dans la Figure 46. En février, l'épitoquie médiane est majoritaire sur tous les sites. En mars, une transition vers une prédominance de l'épitoquie médiane et postérieure est observée, atteignant son pic en avril, notamment à El-Kala avec 84,85 %. En mai et juin, l'épitoquie médiane augmente progressivement à nouveau, tandis que l'épitoquie médiane et postérieure diminue.



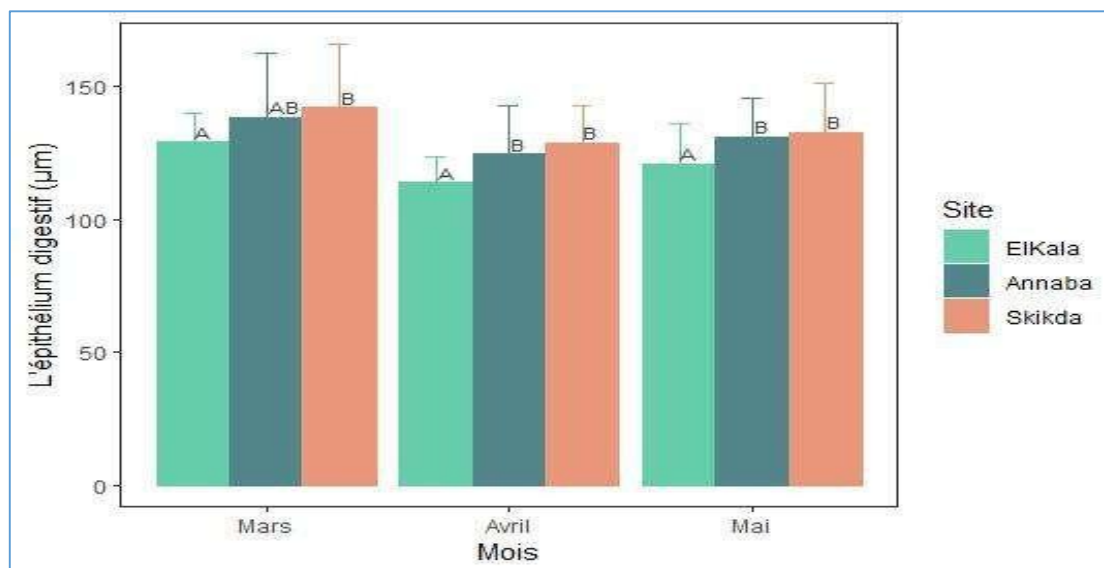
**Figure 46.** Variations mensuelles des types d'épitoque chez les femelles de *Perinereis cultrifera* prélevées sur les sites d'El-Kala, Annaba et Skikda durant la période de reproduction en 2022.

### 3.5.6 Analyse de l'impact de la pollution sur l'épithélium intestinal

Le suivi mensuel de l'épaisseur de l'épithélium intestinal chez les femelles de *Perinereis cultrifera* montre une variation entre les trois sites d'étude. En mars, les femelles de Skikda présentent la valeur la plus élevée ( $142.13 \pm 23.59$ ), tandis que celles d'El-Kala affichent une valeur plus faible ( $129 \pm 11.25$ ). En avril, une baisse marquée est observée chez les femelles d'El-Kala ( $113.73 \pm 9.79$ ), comparées à celles d'Annaba ( $124.47 \pm 18.27$ ) et de Skikda ( $128.60 \pm 14.40$ ). En mai, les femelles d'El-Kala continuent d'afficher des valeurs plus faibles ( $120.77 \pm 15.37$ ) par rapport à Annaba ( $130.93 \pm 14,92$ ) et Skikda ( $132,83 \pm 18,32$ ) (Figure 47).

L'analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) a révélé des différences significatives entre les sites pour les mois de mars, avril et mai. En mars, les variations entre El-Kala, Annaba et Skikda étaient très significatives ( $P < 0,05$ ), avec Skikda présentant les valeurs les plus élevées (groupe B), El-Kala les plus faibles (groupe A), tandis qu'Annaba se situait entre les deux, classé dans le groupe AB. En avril, les différences étaient hautement significatives ( $P < 0,01$ ),

El-Kala étant dans le groupe A avec la plus faible épaisseur de l'épithélium, tandis qu'Annaba et Skikda, aux valeurs plus élevées, se classaient dans le groupe B. En mai, les résultats ont confirmé cette tendance ( $P < 0,01$ ), avec El-Kala toujours dans le groupe A, et Annaba et Skikda regroupés dans le groupe B.



**Figure 47.** Variations mensuelles de l'épithélium intestinal ( $\mu\text{m}$ ) des femelles de *Perinereis cultrifera* échantillonnées au niveau des trois sites d'étude (El-Kala, Annaba et Skikda) de Mars à Mai 2022.

L'analyse de variance à deux facteurs, prenant en compte le site et le mois, menée sur les données de l'épithélium intestinal des femelles de *P. cultrifera* collectées en 2022 sur les sites d'El-Kala, Annaba et Skikda, a révélé des effets très hautement significatifs liés à ces deux facteurs ( $P < 0,001$ ). En revanche, leur interaction n'a pas montré de différence significative ( $P > 0,05$ ) (Tableau 20).

**Tableau 20.** Analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs (Site/Mois) de l'épithélium intestinal des femelles de *Perinereis cultrifera* récoltées en 2022 sur les sites d'El-Kala (La Montagne), Annaba (Rezgui Rachid) et Skikda (Bikini).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Site	2	8830,857	4415,428	14,650	<b>0,000***</b>
Mois	2	9209,232	4604,616	15,277	<b>0,000***</b>
Interaction site/mois	4	79,729	19,932	0,066	<b>0.992NS</b>
Erreur Résiduelle	261	78665,058	301,399		
Totale	270	4588449,000			

## 3.6 Eude histologique

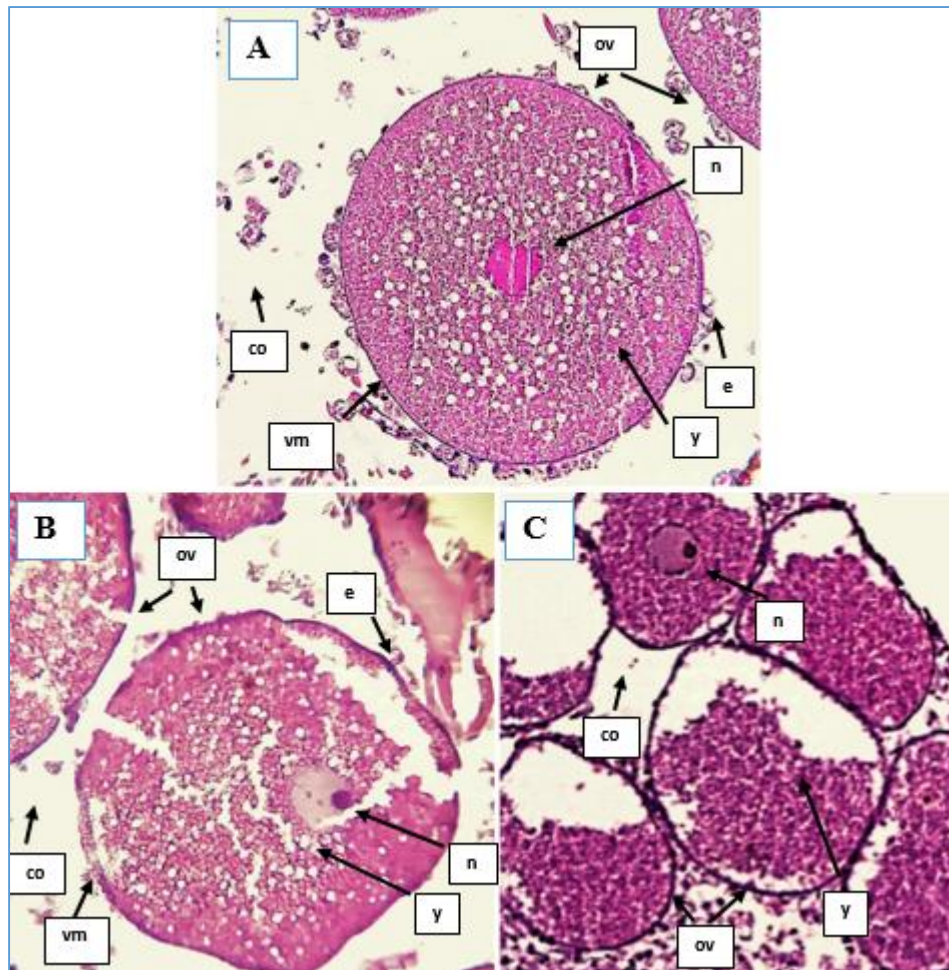
### 3.6.1 Structure ovocytaire

Des coupes histologiques ont été réalisées sur les femelles des *Perinereis cultrifera* prélevées à partir de trois sites d'étude. L'examen histologique des sections médianes révèle une ovogenèse asynchrone, caractérisée par des ovocytes présentant différents stades de vitellogenèse au sein du liquide cœlomique. Ces ovocytes sont entourés de cœlomocytes, notamment d'éléocytes, qui jouent un rôle essentiel dans le soutien nutritif de ces cellules germinales en développement.

En ce qui concerne les sites d'étude, les ovocytes des spécimens collectés à El Kala affichent une activité vitellogène particulièrement élevée (Figure 48, A). Ces ovocytes, sphériques, sont dotés d'une membrane vitelline fine et contiennent des globules vitellins denses et bien colorés, uniformément répartis dans le cytoplasme, ce qui indique une forte activité vitellogène. Ces ovocytes sont prêts à être libérés pour l'essaimage et la reproduction.

À Annaba, les ovocytes montrent une activité vitellogène légèrement moins intense. Bien que les globules vitellins soient présents, leur densité est inférieure à celle observée à El Kala, et leur répartition dans le cytoplasme est moins homogène. La membrane vitelline demeure fine, ce qui témoigne d'une maturation ovocytaire en cours, mais à un stade moins avancé que celui observé à El Kala (Figure 48, B).

Dans le cas des spécimens prélevés à Skikda, les ovocytes se trouvent au début de leur vitellogenèse. Leur diamètre est réduit, et les signes de vitellogenèse sont encore peu marqués, avec une faible présence de globules vitellins dispersés dans le cytoplasme. La membrane vitelline est également fine, indiquant un processus de maturation ovocytaire encore à ses débuts (Figure 48, C).

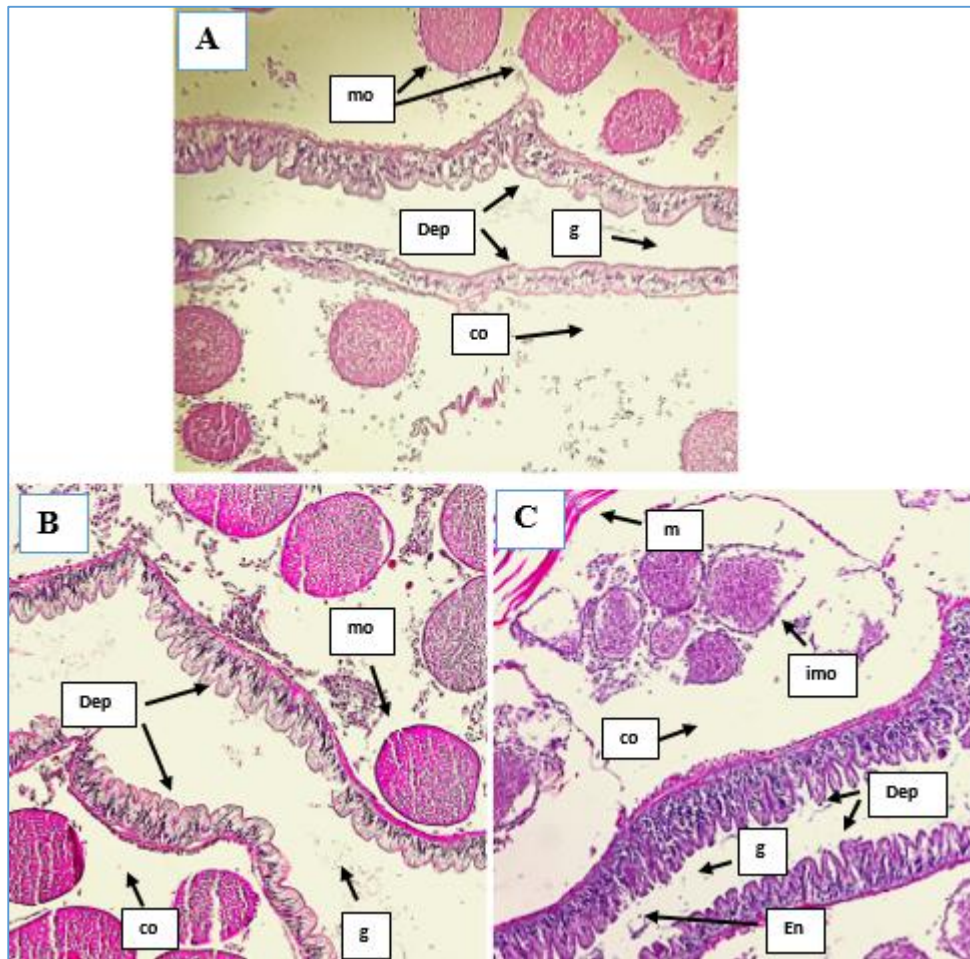


**Figure 48.** Coupe histologique sagittale d'ovocytes de femelles *Perinereis cultrifera* provenant de trois sites, El Kala : A, Annaba ; B, Skikda ; C) au cours de la reproduction (Gr X 600), montrant un développement normal dans le site moins pollué (El Kala) et un retard de reproduction dans les sites pollués (Annaba, Skikda). Co : fluide cœlomique ; mo : ovocytes matures ; imo : ovocytes immatures ; g : intestin ; m : muscle ; Dep : épithélium digestif.

### 3.6.2 Structure de l'épithélium intestinal

Comme mentionné précédemment, au cours de la reproduction, en plus des transformations somatiques désignées sous le terme d'épitoquie, des modifications anatomiques internes se produisent au niveau du tube digestif, se traduisant par une dégénérescence de l'épithélium intestinal et un arrêt de l'alimentation. Les coupes histologiques de l'épithélium intestinal de *Perinereis cultrifera* révèlent des différences marquées selon les sites de prélèvement. Chez les spécimens d'El Kala (Figure 49, A), l'épithélium intestinal apparaît fortement altéré, avec une dégénérescence marquée des cellules. Ces dernières ont perdu leurs microvillosités et se projettent dans la lumière intestinale, désormais appauvrie en nutriments. Cette dégradation avancée est un signe clair du stade final de l'épitoquie chez ces individus. À Annaba (Figure 49, B), bien que des signes de dégénérescence des cellules intestinales soient également

observés, ils sont moins prononcés que ceux d'El Kala, bien que toujours significatifs. Cela indique une installation progressive de l'épitoquie, accompagnée d'un appauvrissement de la lumière intestinale. En revanche, chez les spécimens de Skikda (Figure 49, C), l'épithélium intestinal reste intact. Les entérocytes sont bien différenciés et alignés sur une lame basale visible, et la lumière intestinale est remplie de nutriments, reflétant un état d'alimentation normal. À ce stade, l'épitoquie n'a pas encore commencé, bien que l'ovogenèse soit amorcée, comme en témoigne l'apparition de quelques ovocytes en début de vitellogénèse.



**Figure 49.** Coupe histologique d'une partie du tube digestif chez *P. cultrifera* ; A : montrant un épithélium intestinal GR X 150 d'une femelle d'El Kala en plein épitoquie ; B : montrant un épithélium intestinal GR X 150 en épitoquie d'une femelle d'Annaba ; C : montrant un épithélium intestinal GR X 150 avant épitoquie d'une femelle de Skikda. Co : fluide cœlomique ; mo : ovocytes matures ; imo : ovocytes immatures ; g : intestin ; m : muscle ; Dep : épithélium digestif.

### 3.7 Évaluation écotoxicologique des effets de l'acide acétylsalicylique sur *Perinereis cultrifera*

#### 3.7.1 Effets de l'acide acétylsalicylique sur les paramètres morphométriques de *Perinereis cultrifera*

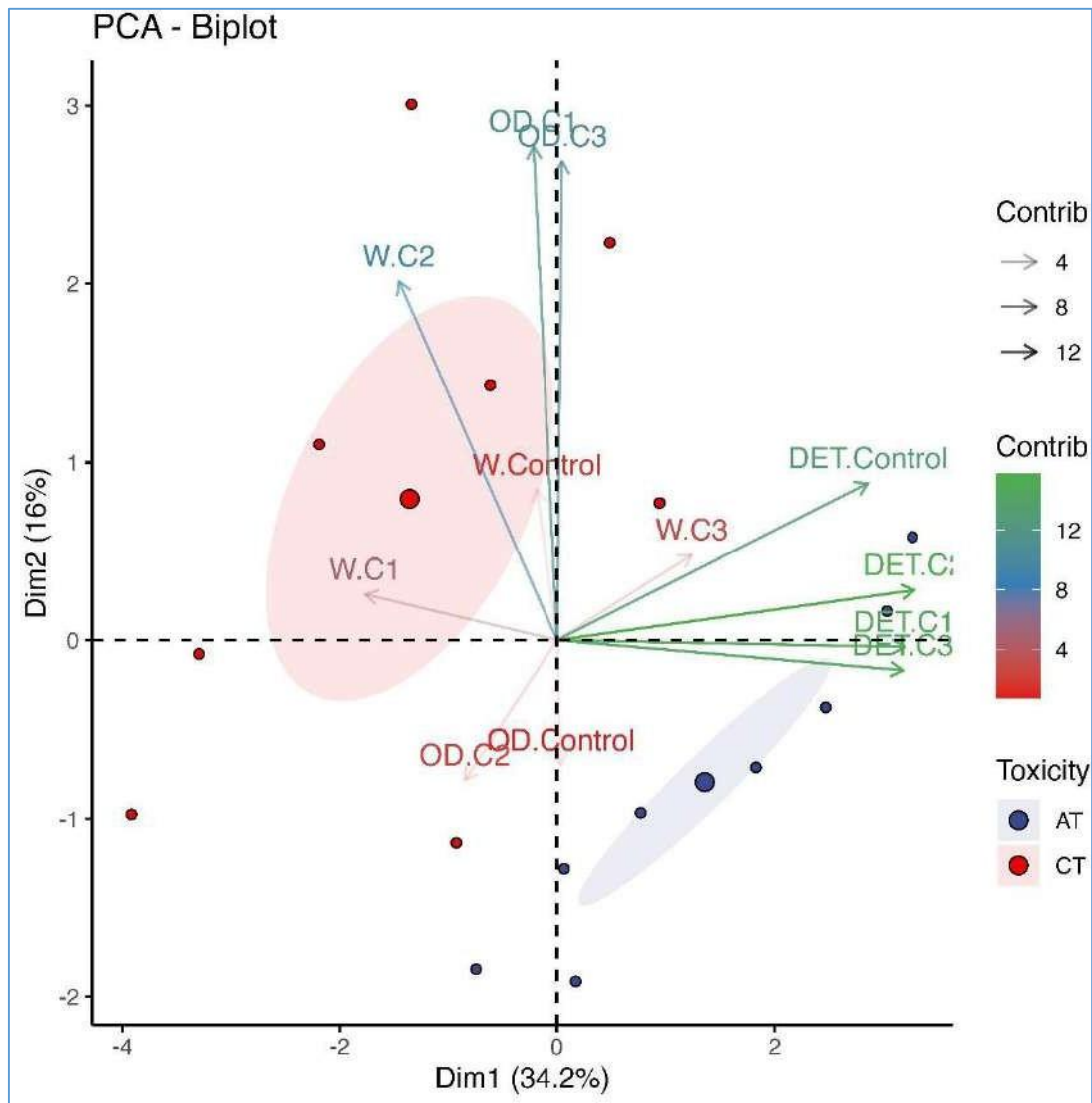
Dans cette étude, les paramètres morphométriques liés au poids (W), au diamètre des ovocytes (OD) et à l'épaisseur de l'épithélium digestif (DET) ont été utilisés comme biomarqueurs pour démontrer les effets potentiels des concentrations d'ASA sur la reproduction et la digestion de *P. cultrifera*. Les moyennes morphométriques des paramètres étudiés en fonction des concentrations d'ASA sont résumées dans le tableau 21.

**Tableau 21.** Variations du poids (W), du diamètre des ovocytes (OD) et de l'épaisseur de l'épithélium digestif (DET) de *P. cultrifera* exposé à différentes concentrations d'acide acétylsalicylique ASA (Toxicité Aiguë : AT et Toxicité Chronique : CT) ( $m \pm SE$ ,  $n=8$ ).

		Type de toxicité							
		AT				CT			
		C	C1	C2	C3	C	C1	C2	C3
Paramètres morphométriques	W (g)	0.24 $\pm 0.02$ <b>a</b>	0.16 $\pm$ 0.01 <b>ab</b>	0.15 $\pm$ 0.01 <b>b</b>	0.16 $\pm 0.01$ <b>b</b>	0.27 $\pm 0.01$ <b>a</b>	0.20 $\pm 0.02$ <b>ab</b>	0.19 $\pm 0.02$ <b>b</b>	0.15 $\pm$ 0.01 <b>b</b>
	OD ( $\mu\text{m}$ )	253.00 $\pm 8.23$ <b>a</b>	224.75 $\pm$ 5.98 <b>a</b>	221.50 $\pm$ 9.96 <b>ab</b>	169.20 $\pm$ 7.08 <b>b</b>	254.50 $\pm$ 6.52 <b>a</b>	246.88 $\pm 10.06$ <b>a</b>	217.25 $\pm$ 7.32 <b>ab</b>	193.75 $\pm$ 5.71 <b>b</b>
	DET ( $\mu\text{m}$ )	163.62 $\pm 4.80$ <b>a</b>	152.62 $\pm$ 4.69 <b>ab</b>	144.75 $\pm 3.94$ <b>ab</b>	140.12 $\pm$ 3.90 <b>b</b>	151.00 $\pm$ 7.44 <b>a</b>	134.62 $\pm$ 3.10 <b>ab</b>	125.75 $\pm$ 4.20 <b>ab</b>	119.12 $\pm$ 3.87 <b>b</b>

Note: C: Groupe témoin (0 mg/L) ; C1 (AT : 2,5 mg/L ; CT : 0,005 mg/L) ; C2 (AT : 25 mg/L ; CT : 0,1 mg/L) ; C3 (AT : 250 mg/L ; CT : 2 mg/L).  
Pour chaque paramètre, des lettres différentes indiquent des différences significatives (test de Dunn) entre concentrations.

Les résultats ont montré que les valeurs les plus élevées de presque tous les paramètres morphométriques, tant pour la toxicité aiguë que chronique, ont été observées dans les groupes témoins, et qu'elles ont diminué progressivement avec l'augmentation des concentrations d'exposition. De plus, les valeurs de poids (W), de diamètre des ovocytes (OD) et d'épaisseur de l'épithélium digestif (DET) étaient significativement plus élevées (test de Kruskal-Wallis,  $p = 0,00$ ) dans les groupes traités par rapport aux groupes témoins. Par ailleurs, une différence hautement significative a été mise en évidence pour le DET en relation avec la toxicité chronique et aiguë (test de Kruskal-Wallis,  $p = 0,01$ ) (Tableau 21). Ce résultat est clairement visible sur le premier axe de l'analyse en composantes principales (ACP) (Figure 50).



**Figure 50.** Biplot de l'analyse en composantes principales (ACP) montrant les toxicités aiguë et chronique ainsi que les variables morphométriques explicatives (n = 4). Ce biplot représente les scores de l'ACP pour les variables explicatives sous forme de vecteurs colorés et les points correspondant aux dispositifs expérimentaux de toxicité. Les points situés du même côté qu'une variable donnée indiquent une forte contribution à celle-ci. La longueur des vecteurs indique l'importance de leur contribution à chaque axe. Les ellipses colorées représentant les concentrations (niveau de probabilité de 0,95) regroupent les observations liées aux types de toxicité par classe de marque. (Dim 1 : 34,2 % et Dim 2 : 16,0 %).

De manière synthétique, l'analyse en composantes principales (ACP) réalisée sur les données de toxicité ainsi que sur les mesures morphométriques et de poids a révélé des corrélations distinctes entre les variables d'épaisseur de l'épithélium digestif (DET), de diamètre des ovocytes (OD) et de poids (W) en relation avec la toxicité aiguë (AT) et la toxicité chronique (CT) (Figure 50). L'ACP a mis en évidence deux composantes pertinentes expliquant 50,2 % de la variance totale des données.

La première composante (Dim1) représentait à elle seule 34,2 % de la variance et affichait une

forte corrélation positive, notamment avec DET : DET.control ( $r = +0,84$  ;  $\cos^2 = 0,72$ ), DET.C1 ( $r = +0,94$  ;  $\cos^2 = 0,89$ ), DET.C2 ( $r = +0,97$  ;  $\cos^2 = 0,94$ ) et DET.C3 ( $r = +0,94$  ;  $\cos^2 = 0,88$ ).

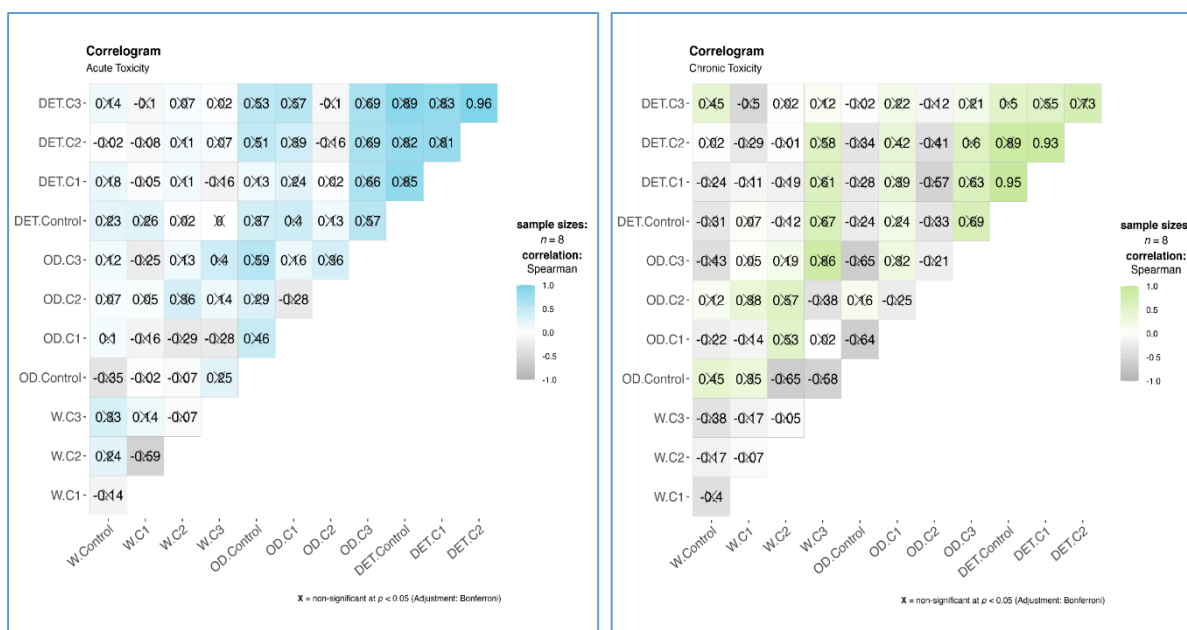
En revanche, la deuxième composante (PC2) expliquait seulement 16 % de la variance totale des données et était également corrélée positivement avec OD.C1 ( $r = +0,82$  ;  $\cos^2 = 0,67$ ), OD.C3 ( $r = +0,79$  ;  $\cos^2 = 0,63$ ) et W.C2 ( $r = +0,59$  ;  $\cos^2 = 0,35$ ).

De plus, la première dimension (Dim1) indique clairement une distinction entre la toxicité aiguë et la toxicité chronique, où le paramètre morphométrique contribuant le plus à cette différence est le DET. Cela suggère que l'épithélium digestif est plus épais dans le cadre de la toxicité aiguë. En revanche, la deuxième dimension (Dim2) pourrait expliquer que la toxicité chronique est principalement caractérisée par des valeurs très élevées de poids (W) et de diamètre des ovocytes (OD) ; néanmoins, la part d'inertie sur cet axe est relativement faible (16 %). En conclusion, le biplot obtenu montre une partition distincte dans notre dispositif expérimental de toxicité selon le premier axe de l'ACP et, secondairement, selon le deuxième axe.

Une analyse de corrélation de Spearman a également été effectuée afin d'identifier les relations entre les différents paramètres morphométriques, à savoir W, OD et DET, chez les annélides polychètes exposés à la toxicité aiguë et chronique de l'acide acétylsalicylique (ASA) (Figure 51).

L'analyse de corrélation de Spearman a révélé qu'en toxicité aiguë (AT), l'épaisseur de l'épithélium digestif (DET.C3) était fortement corrélée avec DET.C2, DET.C1 et DET.C, avec des coefficients de corrélation significatifs de  $r = 0,96$  ;  $r = 0,83$  et  $r = 0,80$ , respectivement. De plus, une forte corrélation positive a été observée entre DET.C2 et DET.C1 ( $r = 0,81$ ), ainsi qu'entre DET.C2 et DET.C ( $r = 0,82$ ). La corrélation entre DET.C1 et DET.C était également très forte, avec un coefficient de  $r = 0,85$ .

Concernant la toxicité chronique (CT), une corrélation positive ( $r = 0,93$ ) a été identifiée entre DET.C2 et DET.C1, ainsi qu'entre DET.C2 et DET.C ( $r = 0,89$ ), tandis qu'une autre corrélation positive ( $r = 0,95$ ) a été observée entre DET.C1 et DET.C (Figure 51). Pour la toxicité aiguë, une corrélation non significative a été enregistrée chez les individus traités à différentes concentrations pour les diamètres des ovocytes entre OD.C3 et OD.C ( $r = 0,59$ ) et pour le poids entre W.C3 et W.C ( $r = 0,33$ ). D'autre part, pour la toxicité chronique, une corrélation positive non significative a été enregistrée entre OD.C3 et W.C3 ( $r = 0,86$ ).



**Figure 51.** Corrélation de Spearman réalisée sur l'épaisseur de l'épithélium digestif (DET) avec les autres variables chez les vers exposés à l'acide acétylsalicylique (en toxicité aiguë (AT) et en toxicité chronique (CT)).

### 3.7.2 Effets de l'Exposition aigue et chronique à l'Acide Acétylsalicylique sur sur l'Activité des marqueurs Biochimiques chez *Perinereis cultrifera*

#### 3.7.2.1 Activité de la Catalase (CAT)

Au cours de cette étude, nous avons constaté que l'activité de la catalase (CAT) augmentait chez les vers contaminés. En effet, les valeurs les plus élevées ont été obtenues à la concentration maximale d'acide acétylsalicylique (ASA) ( $1,9 \pm 0,04 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de protéine et  $1,52 \pm 0,02 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de protéine respectivement pour la toxicité aiguë (AT) et la toxicité chronique (CT)). La comparaison de l'activité de la CAT par le test de Kruskal-Wallis (KW) entre les concentrations a révélé des différences significatives ( $p < 0,05$ ), ainsi que des différences observées entre les deux types de toxicité étudiés (Figure 52 et 53).

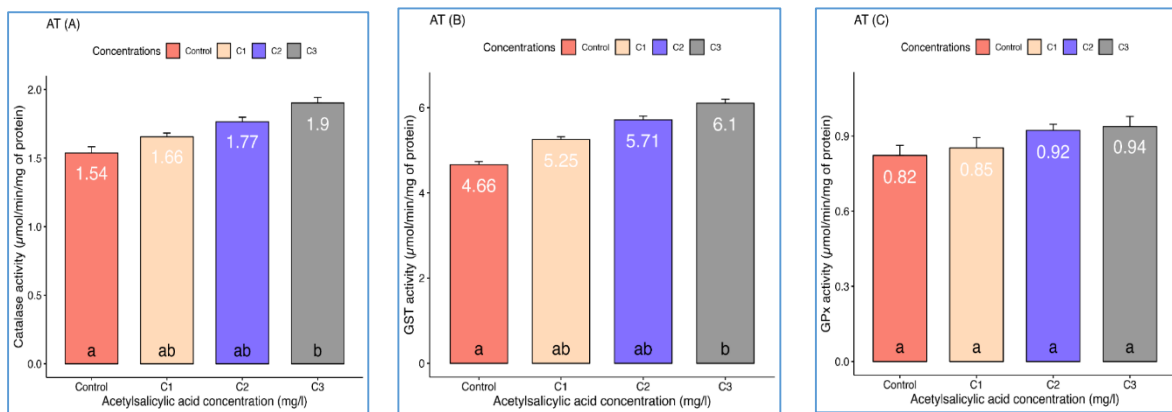
#### 3.7.2.2 Activité de la glutathion S-transférase (GST)

Les valeurs les plus basses de l'activité de la GST variaient respectivement entre la toxicité aiguë et chronique ( $4,66 \pm 0,07$  et  $4,49 \pm 0,08 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de protéine) et ont été observées chez *P. cultrifera* exposés aux plus faibles concentrations d'ASA. L'activité de la GST a ensuite augmenté progressivement avec l'augmentation de la concentration d'exposition pour atteindre ses valeurs maximales (AT :  $6,1 \pm 0,09 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de protéine ; CT :  $5,81 \pm 0,06 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de protéine) à la concentration la plus élevée. La toxicité chronique et aiguë induite par l'ASA a montré des différences significatives (test de KW,  $p < 0,05$ ) entre les différentes

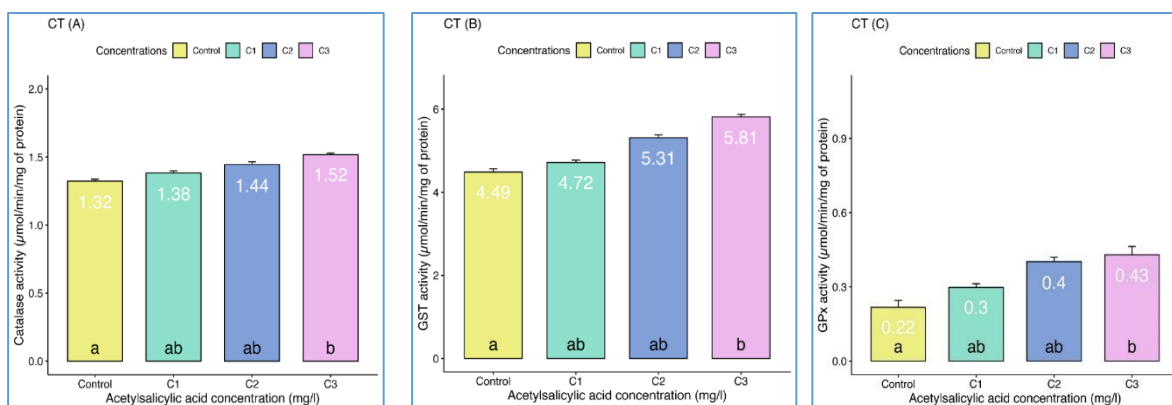
concentrations, où l'induction a été observée à partir de C2 pour la CT et de C3 pour l'AT (Figure 52 et 53).

### 3.7.2.3 Activité de la glutathion peroxydase (GPx)

L'activité de la GPx variait considérablement selon les concentrations d'ASA, avec une augmentation progressive de l'activité de la GPx observée avec l'augmentation des concentrations. Aucune différence significative n'a été observée entre les organismes contaminés par l'ASA durant toute la période d'exposition aiguë (test de KW,  $p > 0,05$ ). De plus, dans le cas de la toxicité chronique, l'activité de la GPx a fortement augmenté à C1, où la comparaison par le test de KW a révélé des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre toutes les concentrations (Figure 52 et 53).



**Figure 52.** Variations des marqueurs biochimiques : CAT : A ( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}$  de protéine) ; GST : B ( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}$  de protéine) ; et GPx : C ( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}$  de protéine) après une exposition aiguë à l'acide acétylsalicylique ( $m \pm \text{SE}$ ,  $n = 4$ ). Les données sont exprimées sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard (SE).



**Figure 53.** Variations des marqueurs biochimiques : CAT : A ( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de protéine) ; GST : B ( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de protéine) ; et GPx : C ( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de protéine) après une exposition chronique à l'acide acétylsalicylique ( $m \pm \text{SE}$ ,  $n = 4$ ). Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  erreur standard (SE).

### 3.7.3 Altérations histologiques induites par l'acide acétylsalicylique chez *Perinereis cultrifera*

Au cours des deux périodes de toxicité, une tendance similaire est notée concernant le poids (W), qui connaît une réduction progressive. Cette diminution débute à C1 (2,5 mg/L) pour la toxicité aiguë et à C1 (0,005 mg/L) pour la toxicité chronique, atteignant sa valeur minimale à C3 pour les deux tests de toxicité. Parallèlement à cette variation du poids, le diamètre des ovocytes varie également depuis l'administration de C1 dans les deux types de toxicité, enregistrant les plus faibles diamètres à la fin des périodes d'étude. À ce stade, le diamètre mesure 169,20  $\mu\text{m}$  à C3 = 2,5 mg/L et 193,75  $\mu\text{m}$  à C3 = 250 mg/L (Figure 54).

Les observations histologiques des échantillons témoins révèlent une asynchronisation de la croissance des ovocytes, où les cellules sont entourées d'une membrane fine. Dans les ovocytes, on constate la présence de grains de vitellus très denses entourant le noyau situé au centre de l'ovocyte (Figure 54 A, B).

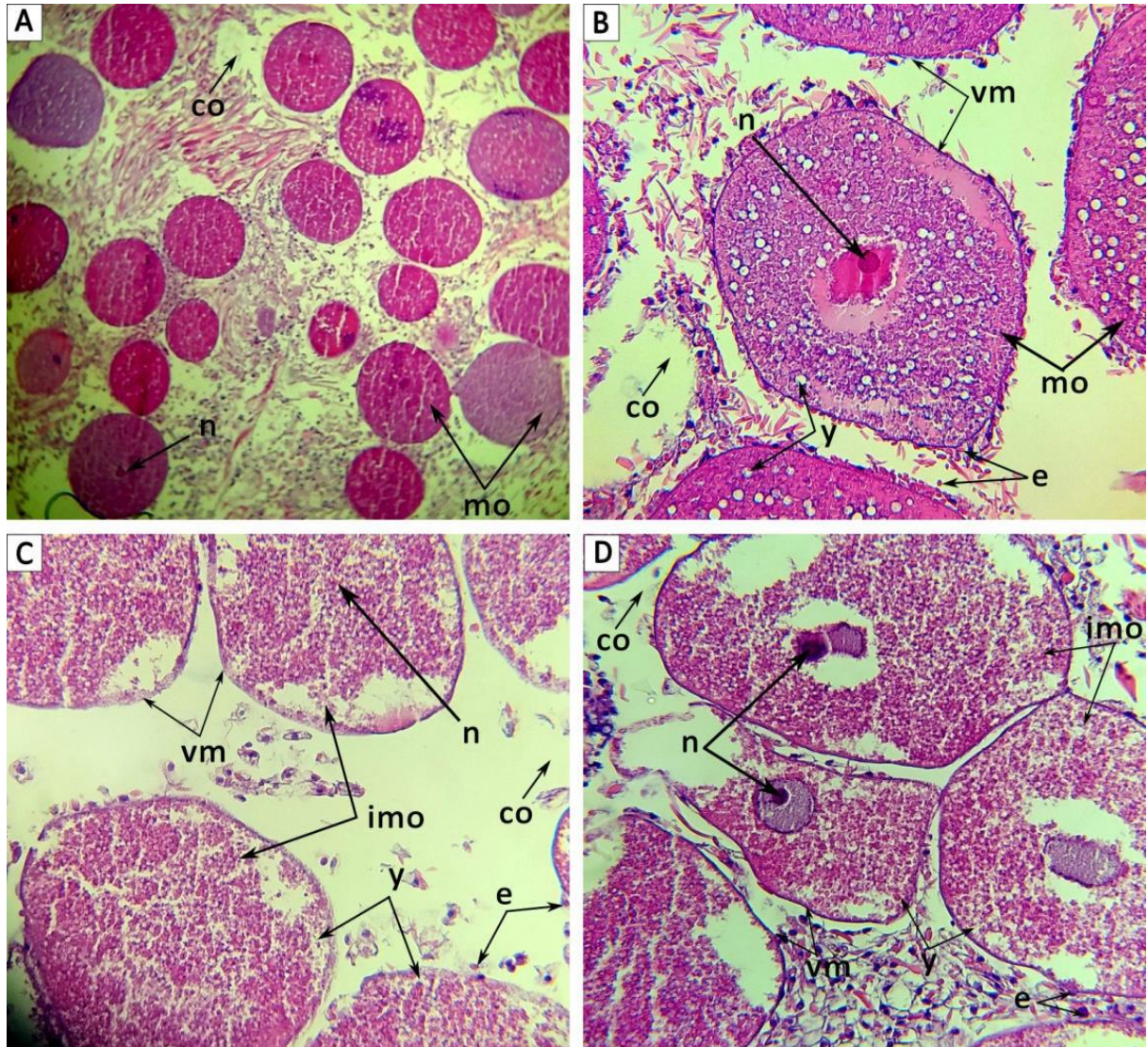
Après exposition des femelles à l'acide acétylsalicylique (ASA) à différentes concentrations lors des tests de toxicité aiguë et chronique, une dégradation des ovocytes est observée, se traduisant par une diminution de la quantité de grains de vitellus et leur absence en périphérie des cellules chez les femelles traitées avec C3 (250 mg/L) en toxicité aiguë après 96 heures de traitement (Figure 54 C).

De plus, cette réduction des grains de vitellus est encore plus marquée chez les femelles traitées avec C3 (2 mg/L) après 30 jours de traitement, où une résorption se produit à la périphérie et au centre des ovocytes (Figure 54 D).

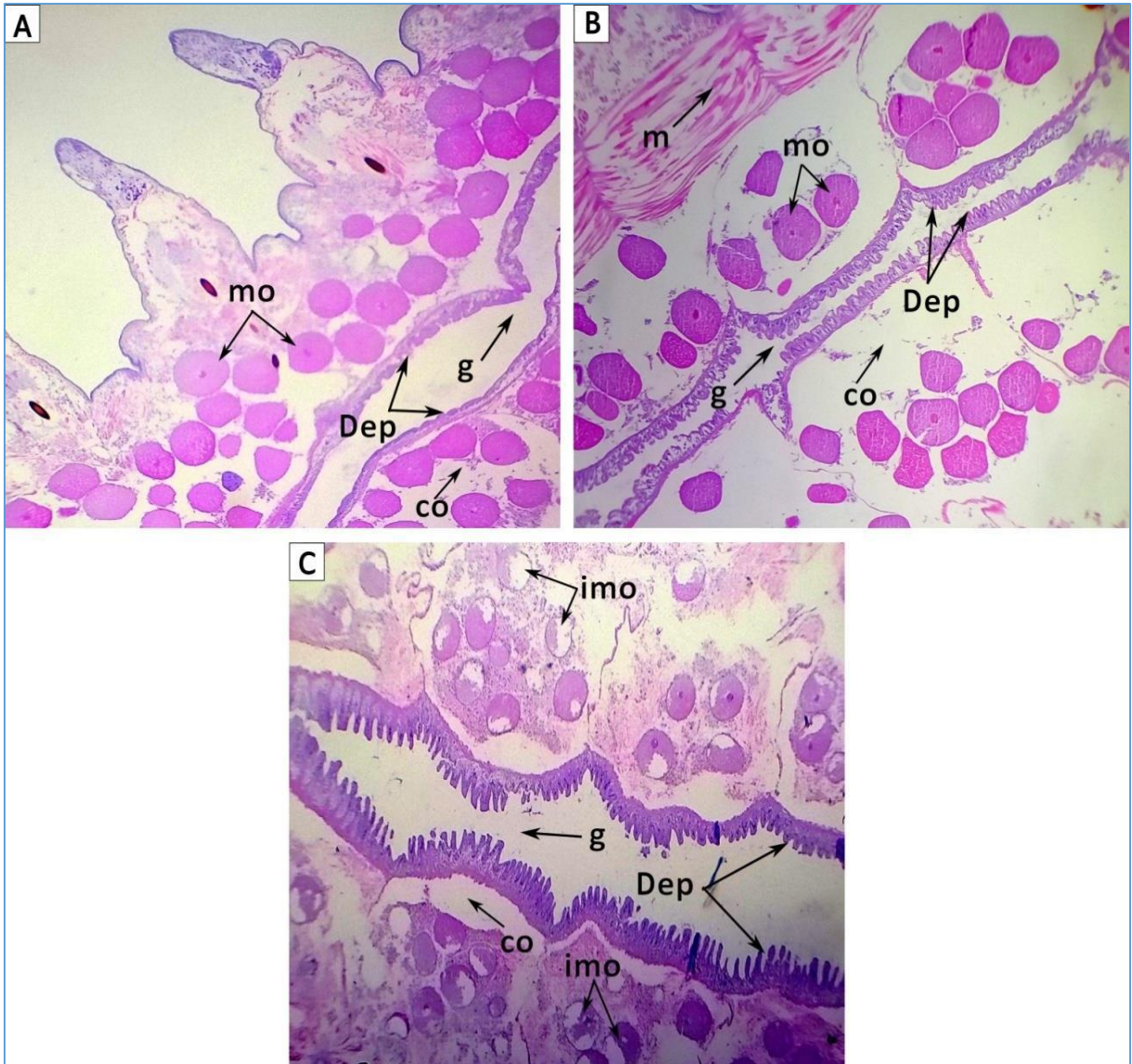
Les coupes histologiques réalisées sur les échantillons témoins permettent de reconnaître un intestin central large, entouré de muscles dorsaux longitudinaux situés à la base des parapodes, ainsi que la présence d'ovocytes dans le fluide cœlomique (Figure 55).

En réponse à l'exposition à l'ASA, on observe un épithélium digestif plus fin et résorbé (Figure 55 B), accompagné d'une réduction du nombre d'ovocytes, qui présentent de petits diamètres (Figure 54 C). Par ailleurs, au niveau des coupes histologiques des femelles exposées à C3 (2 mg/L) d'ASA, une altération chronique affecte l'épithélium digestif, le rendant plus fin et irrégulier (119,12  $\mu\text{m}$ ), entouré d'un nombre beaucoup réduit d'ovocytes immatures (Figure 56 C).

Une différence statistiquement significative est observée uniquement pour l'épaisseur de l'épithélium digestif (DET), en particulier lors de l'exposition à la toxicité aiguë. En revanche, pour les autres paramètres morphométriques tels que le poids (W) et le diamètre des ovocytes (OD), aucune différence significative n'est constatée.



**Figure 54.** Organisation histologique du fluide coelomique de *Perinereis cultrifera*, illustrant les différences entre le groupe témoin et les tests de toxicité aiguë et chronique à l'acide acétylsalicylique (ASA) ;(A) Groupe témoin (vitellogenèse asynchrone), Gr X150 ; (B) Ovocyte mature avec grains de vitellus, Gr X600 ; (C) Ovocytes immatures après exposition à C3 d'ASA en toxicité aiguë (TA), Gr X600 ;(D) Ovocytes immatures après exposition à C3 d'ASA en toxicité chronique (TC), Gr X600. Co : fluide coelomique ; mo : ovocytes matures ; imo : ovocytes immatures ; g : intestin ; m : muscle ; Dep : épithélium digestif.



**Figure 55.** Sections histologiques de l'épithélium digestif de *Perinereis cultrifera* après exposition à l'acide acétylsalicylique (ASA). (A) : Groupe témoin, X60 ; (B) : Épithélium digestif et ovocytes matures après exposition à C3 d'ASA en toxicité aiguë, X60 ; (C) : Épithélium digestif irrégulier et ovocytes immatures après exposition à C3 d'ASA en toxicité chronique, X150. Co : fluide cœlomique ; mo : ovocytes matures ; imo : ovocytes immatures ; g : intestin ; m : muscle ; Dep : épithélium digestif.

# **DISCUSSION**

## 4. DISCUSSION

### 4.1 Analyse physico-chimique de l'eau de mer

#### 4.1.1 Paramètres physico-chimique généraux

Le changement climatique exerce une influence considérable sur les conditions physico-chimiques des écosystèmes aquatiques, amplifiant la toxicité et la mobilité des polluants, ainsi que leurs effets délétères sur les organismes marins. Les espèces des zones estuariennes et côtières se trouvent particulièrement exposées à ces mutations, ce qui impacte la structure des communautés et le fonctionnement des écosystèmes. L'interaction entre le changement climatique et la pollution accentue les menaces pesant sur la biodiversité et les services écosystémiques (Kibria *et al.*, 2021). Les paramètres physico-chimiques, qu'ils soient généraux ou globaux (Morin-Crini *et al.*, 2017), sont indispensables pour le monitoring de la qualité des écosystèmes marins, en mettant l'accent sur nos sites d'étude.

La température est un élément déterminant qui influence directement le métabolisme, l'immunité et les besoins en oxygène des organismes aquatiques. Des variations thermiques, même minimales, peuvent entraîner une augmentation de la demande en oxygène, des changements métaboliques, ainsi qu'une diminution de l'appétit et de l'immunité (Dawood, 2021 ; Mitra *et al.*, 2022). De plus, une élévation des températures réduit la solubilité de l'oxygène dans l'eau, perturbant ainsi le métabolisme aérobie et entravant la croissance et la reproduction des espèces (Cheng *et al.*, 2020). Ces perturbations physiologiques affectent la distribution, la migration, la fécondité et l'abondance des espèces aquatiques, augmentant ainsi les risques de bioaccumulation de toxines dans la chaîne alimentaire et menaçant l'équilibre des écosystèmes (Mir *et al.*, 2019 ; Nagelkerken & Munday, 2016).

Ces effets sur la température soulignent l'importance d'examiner également d'autres paramètres, comme la salinité, qui jouent un rôle tout aussi crucial dans la santé des écosystèmes marins. En effet, la salinité est un paramètre environnemental fondamental dans la dynamique des écosystèmes aquatiques. Sa variation, due à divers facteurs tels que les changements climatiques, l'évaporation, les apports en eau douce et les activités humaines, peut influencer la physiologie des organismes marins et les interactions écologiques. Une salinité élevée peut résulter d'une forte évaporation ou d'une faible entrée d'eau douce, tandis qu'une salinité plus faible est souvent causée par des précipitations ou des apports fluviaux (Lorrain-Soligon *et al.*, 2023).

Les fluctuations de salinité observées entre les différents sites étudiés révèlent des différences saisonnières significatives. Les niveaux les plus élevés ont été notés à Skikda, atteignant 35,81

$\pm 0,26$  en été, probablement dus à une évaporation accrue en raison des températures élevées. À l'opposé, El-Kala affiche des niveaux plus bas en hiver ( $31,30 \pm 0,65$ ), suggérant une influence des apports en eau douce liés aux précipitations saisonnières.

Concernant le pH, ce paramètre influence les processus biogéochimiques marins et agit comme un facteur clé dans les réactions physiologiques. Les variations de pH peuvent avoir des conséquences importantes, notamment pour les organismes à squelette de carbonate de calcium, qui risquent de se dissoudre en présence d'ions hydrogène libres. Une diminution du pH perturbe des processus cruciaux, tels que la construction des récifs et les interactions entre consommateurs et ressources (Simon & Beevers, 1952 ; Rugebregt *et al.*, 2023).

Les valeurs de pH relevées dans les trois sites montrent une stabilité relative au fil des saisons, à l'exception de l'été, où une diminution marquée est observée à Skikda. Les valeurs d'hiver varient légèrement, avec un pH compris entre  $8,38 \pm 0,05$  à Annaba et  $8,58 \pm 0,13$  à El-Kala, tandis qu'en été, Skikda présente une chute significative à  $7,68 \pm 0,03$ . Ces fluctuations pourraient résulter d'apports anthropiques ou d'une augmentation du CO<sub>2</sub> dissous.

La concentration en oxygène dissous (DO) est essentielle pour la respiration des organismes aquatiques, provenant principalement de l'absorption atmosphérique et de la photosynthèse des végétaux aquatiques. Son maintien est vital pour la santé des espèces aérobies (Di Biagio *et al.*, 2023).

Les observations réalisées mettent en évidence des variations notables des niveaux de DO entre les sites et au cours des différentes saisons. En hiver, El-Kala affiche la concentration la plus élevée ( $8,57 \pm 0,32$ ), tandis que Skikda montre des niveaux alarmants au printemps et en été ( $3,95 \pm 0,24$ ). Cette situation indique une consommation accrue de DO, souvent causée par une décomposition organique excessive ou une circulation d'eau insuffisante. En automne, les concentrations de DO deviennent plus homogènes, suggérant une possible normalisation des niveaux d'oxygène. Toutefois, cette tendance à une consommation plus importante à Skikda souligne la nécessité d'un suivi régulier, car une insuffisance en oxygène pourrait compromettre

la santé des écosystèmes marins.

Les résultats liés à la conductivité révèlent une variation significative entre les trois sites étudiés, traduisant des différences en termes de salinité et de composition ionique de l'eau. La conductivité élevée enregistrée à El Kala et Annaba pourrait être liée à une salinité plus importante, tandis que la faible conductivité observée à Skikda suggère une dilution de l'eau de mer par des apports d'eau douce, possiblement d'origine continentale ou liés à des rejets anthropiques.

#### 4.1.2 Paramètres physico-chimique globaux

Les résultats des paramètres physico-chimiques globaux révèlent des différences marquées entre les trois sites étudiés, reflétant les niveaux de pollution associés à chaque site. À El Kala, les valeurs mesurées de DCO (29,10 mg/L), DBO (22,20 mg/L), nitrates (7,04 mg/L), MES (21,40 mg/L), AOX (inférieur à 0,5 mg/L) suggèrent un environnement relativement préservé. Grâce à son éloignement des sources de contamination industrielle et à son statut de Réserve mondiale de la biosphère (UNESCO, 1990), El Kala bénéficie d'une biodiversité stable, avec de faibles concentrations en polluants et une conductivité indicative d'un bon équilibre ionique naturel, signe d'une absence d'effluents industriels (Lemessa *et al.*, 2023).

Annaba présente des valeurs plus élevées de DCO (53,83 mg/L), DBO (25,33 mg/L), nitrates (34,83 mg/L) et MES (16,86 mg/L), tandis que le niveau d'AOX reste faible (inférieur à 0,5 mg/L) et que la conductivité augmente, atteignant environ 15 mS/cm. Cette élévation peut être liée à l'influence des activités industrielles, comme le complexe sidérurgique d'El-Hadjar et les rejets urbains non traités, qui augmentent la concentration d'ions dissous dans l'eau, affectant ainsi la conductivité et accentuant la pollution générale du site. La forte concentration en nitrates, due aux activités agricoles et au ruissellement urbain, contribue à une eutrophisation accrue, menaçant l'équilibre écologique (Howarth, 2008 ; Lan *et al.*, 2024). La hausse simultanée de la DBO et de la DCO, indicatives de la présence de matière organique décomposable, reflète un besoin accru en oxygène dans cette zone plus polluée (Lemessa *et al.*, 2023).

Le site de Skikda est le plus affecté par la pollution, avec une DCO de 56,60 mg/L, une DBO de 26,40 mg/L, des nitrates de 36,43 mg/L, des MES de 26,40 mg/L, une conductivité de 19,36 ± 0,33 mS/cm et un AOX de 1,60 ± 0,25 mg/L. Ces résultats montrent une contamination

intense, principalement causée par les rejets du complexe pétrochimique et de la raffinerie de pétrole. Les valeurs élevées de MES augmentent la turbidité, réduisant la pénétration de la lumière, ce qui affecte la photosynthèse des plantes aquatiques, essentielles pour l'écosystème (Bilotta *et al.*, 2008). La conductivité élevée, associée à des concentrations élevées en AOX, témoigne de la présence d'effluents riches en ions et en composés organohalogénés, augmentant ainsi les risques de toxicité pour la faune marine (Sylvius, 2023). Ainsi, l'augmentation progressive des valeurs de DCO, DBO, nitrates, MES, AOX et de la conductivité entre El Kala, Annaba et Skikda met en évidence un gradient de pollution influencé par l'industrialisation et les activités humaines. Les données obtenues s'alignent avec les recherches antérieures menées par Guemouda *et al.* (2014), Snani *et al.* (2015), Ramdani (2020), Rezzag Mahcene *et al.* (2022) et Sebbih (2023) consolidant ainsi la validité de nos résultats.

#### 4.2 Inventaire et indices écologiques

Les différentes espèces d'Annélides Polychètes occupant le même biotope que *Perinereis cultrifera* se répartissent avec une prédominance du genre *Perinereis* (*P. floridana*, *P. macropus*, *P. marioni*, *P. oliveira*, *P. louizomarum*), ainsi que *Pseudonereis anomala*, *Platynereis dumerilii*, *Nereis falsa* et *Nereis virens*. Nos résultats montrent une diversité plus élevée à El Kala par rapport aux deux autres sites, Annaba et Skikda, ce qui confirme les tendances rapportées dans les études antérieures (Daas *et al.*, 2011 ; Meghlaoui *et al.*, 2015 ; Gasmi *et al.*, 2016 ; Ramdani, 2021 ; Sebbih, 2023 ; Rezzag-Mahcene *et al.*, 2023). Par ailleurs, au niveau du littoral ouest algérien, *Nereis pelagica* et *Nereis falsa* sont plus représentatives de cette région (Kies *et al.*, 2020), mettant en évidence une répartition spatiale différenciée des polychètes le long du littoral algérien.

La dominance des polychètes à El Kala suggère des conditions environnementales plus favorables et un moindre impact anthropique. *Perinereis cultrifera* y est l'espèce dominante avec des effectifs nettement supérieurs à ceux des autres espèces du même groupe, et la faune macrobenthique associée y est également plus abondante. Ces observations sont corroborées par les indices écologiques, qui montrent une diversité spécifique plus élevée ( $S = 27$ ,  $H' = 2,54$ ) et une répartition plus équilibrée des espèces ( $J' = 0,78$ ) à El Kala. En revanche, Annaba et Skikda enregistrent une baisse du nombre d'individus ainsi qu'une richesse spécifique et une diversité plus faibles ( $S = 17$  et  $16$ ,  $H' = 2,09$  et  $1,91$ ), avec une dominance plus marquée de certaines espèces ( $J' = 0,69$  et  $0,65$  respectivement). Ces résultats suggèrent un impact

anthropique plus important à Annaba et Skikda, renforçant ainsi l'hypothèse selon laquelle El Kala constitue le site le mieux préservé parmi les trois étudiés.

Il convient de noter que les travaux de doctorat de Sebbih (2023) ont recensé un grand nombre de polychètes et d'espèces macrobenthiques sur les mêmes sites d'étude. De plus, une nouvelle espèce de Néréidé a été identifiée et enregistrée au MNHN de Paris sous l'appellation *Perinereis louizomarum* (Rezzag –Mahcene *et al.*, 2023), enrichissant ainsi la biodiversité connue des annélides polychètes dans les sites étudiés.

#### **4.3 Détection des résidus pharmaceutiques dans l'eau de mer**

Les résidus pharmaceutiques, conçus pour être chimiquement stables dans l'organisme afin de garantir leur efficacité thérapeutique, sont généralement peu éliminés et libérés de manière continue dans l'environnement, où ils se comportent comme des composés pseudo-persistants. Cette persistance constitue une préoccupation croissante, notamment dans les écosystèmes marins, où les résidus provenant des zones côtières se retrouvent fréquemment. Leur présence, leur persistance et leur distribution dans ces milieux suscitent un intérêt scientifique particulier en raison de leurs effets potentiels sur les organismes aquatiques et sur la qualité des écosystèmes (Fabbri *et al.*, 2023).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont couramment détectés dans les écosystèmes aquatiques, y compris marins, avec des concentrations variant de 0,7 à 11 165 ng/L. Leur ubiquité est due à leur large prescription et à leur disponibilité en vente libre. Ils se retrouvent principalement dans les eaux usées municipales, où leurs niveaux surpassent ceux des eaux de surface et souterraines. Des études en Chine et en Algérie montrent leur présence dans les zones côtières et marines (Santos *et al.*, 2010 ; Świacka *et al.*, 2019 ; Blasco & Trombini, 2023 ; Pires *et al.*, 2024).

Les propriétés physico-chimiques des AINS influencent leur introduction et leur persistance dans les stations d'épuration et les milieux aquatiques. Des facteurs comme la densité de population, le nombre d'établissements hospitaliers, la présence d'industries pharmaceutiques, et les réglementations influencent également les concentrations de résidus.

Parallèlement, l'usage croissant d'antibiotiques, tant vétérinaires qu'humains, est lié à une demande accrue en protéines animales, entraînant une excrétion partielle de ces substances. Cela contribue à la pollution aquatique via les eaux usées et les aquafarms (Carvalho et Santos,

2016 ; Zhao *et al.*, 2019 ; Kovalakova *et al.*, 2020). Les macrolides, sulfamides et quinolones sont parmi les antibiotiques les plus persistants dans les écosystèmes aquatiques (Li *et al.*, 2020). Les effluents d'élevage et d'aquaculture sont des sources importantes de pollution, avec des concentrations de sulfaméthoxazole atteignant jusqu'à 54,83 mg/L, bien au-dessus des niveaux naturels (Thiebault, 2020). Par exemple, dans les eaux de surface de Nairobi, la sulfadiazine atteint 840 ng/L, et des rivières brésiliennes montrent des concentrations de sulfaméthoxazole jusqu'à 2,42 µg/L (Arsand *et al.*, 2020 ; Ngigi *et al.*, 2020).

Les écosystèmes marins subissent également cette pollution. Des études révèlent des concentrations fréquentes de sulfamides, de fluoroquinolones et de macrolides dans les zones aquacoles proches des côtes de la mer Jaune, de la mer de Bohai et de la Méditerranée, avec des taux de détection atteignant parfois 100 % (Afsa *et al.*, 2020). La présence ubiquitaire de sulfamides comme la sulfaguanidine, la sulfadiazine et le sulfaméthoxazole souligne leur persistance environnementale et les risques pour la biodiversité marine.

L'analyse des échantillons d'eau de mer prélevés à El Kala, Annaba et Skikda révèle la présence d'AINS (ibuprofène, fénoprofène, acide salicylique) et d'antibiotiques de la classe des sulfonamides (sulfaguanidine, sulfadiazine, sulfaméthoxazole, sulfathiazole, sulfisoxazole). Les résultats montrent une contamination de l'écosystème marin par ces résidus, avec des variations selon les sites.

Le site d'El Kala, réserve de biosphère classée par l'UNESCO (1990), présente des niveaux de contamination relativement faibles. Cela est dû à sa faible densité démographique et à l'absence d'industries pharmaceutiques locales, limitant l'impact des rejets anthropiques. En tant que zone protégée, les activités polluantes y sont restreintes, maintenant les concentrations de résidus à des niveaux inférieurs.

À l'inverse, Annaba montre les concentrations les plus élevées de résidus pharmaceutiques. Ville densément peuplée et pôle industriel majeur en Algérie, elle subit une accumulation de contaminants due à des facteurs tels que la densité de population (Adeleye *et al.*, 2022), le nombre d'établissements hospitaliers et l'intensité des activités agricoles. Les résidus pharmaceutiques sont souvent détectés à des niveaux plus élevés dans les eaux usées municipales que dans les eaux de surface ou souterraines, soulevant des préoccupations sur leurs effets toxiques sur la faune marine et le risque de résistance bactérienne (Baran *et al.*, 2006).

Le site de Skikda présente également des résidus pharmaceutiques à des niveaux modérés. Bien que son secteur pharmaceutique soit moins développé qu'à Annaba, des traces de résidus reflètent l'influence des rejets urbains et de l'activité industrielle sur la qualité de l'eau marine.

#### **4.4 Analyse de l'impact de la pollution sur les paramètres morphométriques et pondéraux**

Les contaminants, quelle que soit leur origine, perturbent les fonctions physiologiques des organismes marins, impactant leur croissance et leur reproduction. En réponse, ces organismes mettent en place des mécanismes d'adaptation, comme la biotransformation des toxines, pour maintenir un équilibre homéostatique. Toutefois, cette adaptation mobilise des ressources énergétiques importantes, entraînant souvent une diminution de la croissance et une sensibilité accrue aux stress environnementaux (Wirgin & Waldman, 2004 ; Meyer & Di Giulio, 2003). Les variations observées dans la dépense énergétique témoignent des changements dans l'allocation des ressources, influencés par l'adaptation aux polluants (Le Gal *et al.*, 1997). Ainsi, l'analyse des caractéristiques morphométriques de *Perinereis cultrifera* constitue un indicateur utile pour évaluer l'impact des contaminants sur son développement et sa reproduction.

L'évaluation mensuelle des paramètres biométriques révèle une dynamique comparable dans les populations femelles issues des sites d'El-Kala, Annaba, et Skikda. L'analyse de la taille corporelle des individus indique une augmentation marquée, atteignant des niveaux maximaux durant les mois de mars et avril, suivie d'une diminution en mai. Les femelles d'El-Kala se distinguent par des tailles corporelles systématiquement supérieures à celles des femelles des sites d'Annaba et de Skikda, bien que les trois populations présentent des évolutions comparables. En outre, les individus échantillonnés à Skikda, un site contaminé, affichent des tailles nettement inférieures à celles des individus d'El-Kala, qui est considéré comme relativement sain. Il est également à noter que le nombre de sétigères suit une tendance proportionnelle à la taille des individus, reflétant ainsi des patterns de croissance similaires.

Une diminution de la taille moyenne des individus de *Nereis*, un genre de la famille des Nerididae, a été constatée en fonction du gradient de pollution, comme le soulignent Dutrieux *et al.* (1989). En outre, une étude axée sur la résistance de *Nereis diversicolor* aux métaux a démontré une baisse notable des facteurs de croissance par rapport à une population dépourvue de cette résistance (Pook *et al.*, 2009). De plus, selon les zones géographiques, les traits

morphométriques de *P. cultrifera* et d'autres espèces de Nereidae montrent d'importantes variations (Rouabah & Scaps, 2003 ; Rouhi *et al.*, 2008). Les paramètres biométriques des populations varient selon leur localisation géographique, affichant un poids moyen allant de 0,11 à 6,6 g pour les régions de la côte atlantique française, le nord de la mer, la Tunisie, la côte marocaine d'El Jadida et Alexandrie en Égypte (Cazaux, 1965 ; Scaps *et al.*, 1992a ; Zghal & Ben Amor, 1989 ; Rouhi *et al.*, 2008 ; Hamdy *et al.*, 2020).

Le poids des organismes augmente progressivement au cours des premiers mois de l'étude, atteignant un pic en mars et avril, suivi d'une baisse en mai, qui correspond au début de la différenciation sexuelle. Cette évolution est en accord avec les fluctuations mensuelles observées pour la taille corporelle, suggérant une forte corrélation entre ces deux paramètres biométriques. Des recherches antérieures indiquent qu'une exposition aux contaminants environnementaux peut ralentir la croissance de certaines espèces de bivalves (Peteiro *et al.*, 2006) et entraîner une perte de poids, attribuable à la mobilisation des réserves énergétiques pour les processus de détoxification (Modassir & Ansari, 2000).

Malgré une évolution biométrique similaire entre les trois sites, les femelles d'El-Kala présentent des valeurs de poids systématiquement plus élevées que celles d'Annaba et de Skikda. Ces résultats sont en accord avec des études sur *Nereis diversicolor*, qui montrent que les organismes des sites contaminés n'atteignent pas les valeurs biométriques des individus provenant de sites non contaminés. De plus, il est confirmé que les vers exposés à des environnements stressants présentent un gain de poids limité (Durou *et al.*, 2007, 2008 ; Gillet *et al.*, 2008).

La variabilité des populations peut résulter de facteurs endogènes, tout en étant également influencée par des paramètres environnementaux. Des études antérieures ont démontré que la composition de la population évolue en fonction de la profondeur des eaux. Selon Scaps *et al.* (1992a), les spécimens adultes de grande taille, présentant des caractéristiques sexuelles distinctes, sont majoritairement localisés sur les fonds marins où se développe l'algue *Fucus serratus*. En revanche, les individus de petite taille se rencontrent principalement dans les zones supérieures de ce même habitat. De plus, Miron & Desrosiers (1990) ont mis en évidence des tendances similaires dans la répartition de la population de *Nereis virens*.

#### **4.5 Maturité et Sex-ratio**

Des individus présentant une différenciation sexuelle ont été recensés chaque mois au sein des

trois populations échantillonnées sur différents sites. Leur proportion a culminé entre février et mai, période durant laquelle la majorité des spécimens était sexuellement mature et apte à la reproduction. En revanche, une prévalence élevée d'individus indifférenciés a été notée de juin à septembre, coïncidant avec une diminution substantielle de la population mature, résultant de la mortalité probable des géniteurs. Nos findings soutiennent les recherches antérieures sur *P. cultrifera* effectuées en Algérie (A. Rouabah & Scaps, 2003 ; L. Rouabah *et al.*, 2008 ; Ramdani *et al.*, 2020). Ces auteurs suggèrent qu'une augmentation de la proportion d'individus des deux sexes est associée à la période de reproduction la plus active, ainsi qu'à la différenciation sexuelle des individus de la deuxième génération. Parallèlement à l'accroissement de la proportion d'individus immatures, cette dynamique indique l'émergence d'une nouvelle cohorte d'individus indifférenciés.

Les résultats relatifs au sex-ratio montrent un déséquilibre en faveur des femelles chez les Néréides, comme l'indiquent plusieurs études (Durou *et al.*, 2008 ; El Barhoumi *et al.*, 2013 ; Hamdy *et al.*, 2020 ; Ramdani *et al.*, 2020). Ce phénomène pourrait être attribué aux difficultés d'identification des plaques spermatiques (Rouabah & Scaps, 2003 ; L. Rouabah *et al.*, 2008a). Dans nos observations, un schéma similaire a été noté dans les trois populations de *P. cultrifera*, révélant également une prédominance des individus femelles par rapport aux mâles. Toutefois, nos résultats diffèrent de ceux rapportés par Prevedelli & Simonini (2003), qui ont documenté une sex-ratio équilibrée dans une population de *P. cultrifera* provenant d'un habitat saumâtre.

#### **4.6 Biométrie de la croissance ovocytaire**

Les résultats de notre étude sont en accord avec ceux d'A. Rouabah et Scaps (2003) concernant le cycle ovogénétique de *P. cultrifera* à Annaba. Ces auteurs ont observé une période de croissance des ovocytes d'une durée de 16 mois, suivie d'une phase de reproduction s'étendant de fin avril à début mai. Ils ont également identifié deux groupes de femelles au cours de l'ovogenèse : l'un avec des ovocytes de grande taille et l'autre avec des ovocytes de plus petite taille. Cette différenciation a été confirmée par L. Rouabah *et al.* (2008b), qui ont noté que la maturation des ovocytes se produit entre 9 et 12 mois après l'apparition des ovogonies.

L'observation d'une seconde ponte chez *P. cultrifera* explique nos résultats, en concordance avec les travaux de L. Rouabah *et al.* (2008b), qui ont établi que la reproduction dans la baie d'Alger se produit tout au long de l'année, avec une intensité marquée de mars à mai. Pour *Nereis virens*, le processus d'ovogenèse s'étale sur environ un an et demi, se répartissant en

trois phases : une phase initiale de développement lent, une phase intermédiaire où les ovocytes voient leur taille multipliée par six, et une phase finale durant laquelle ils atteignent leur maturation complète (Hoeger *et al.*, 1999). Des modèles similaires d'ovogenèse ont également été observés chez la majorité des néréides (Zribi *et al.*, 2007).

En outre, chez *P. macropus*, les ovocytes sont classés en trois groupes selon leur taille : prévitellogénèse, vitellogénèse, et un stade de maturité finale où ils atteignent leur diamètre maximal. Il est à noter que le diamètre des ovocytes observé chez les femelles des sites d'Annaba et de Skikda était considérablement plus petit que celui mesuré chez les femelles d'El-Kala. Cette différence pourrait suggérer un stockage de réserves durant le processus d'ovogénèse, qui semble moins efficace dans ces populations. De plus, les résultats observés en juin et juillet pourraient être attribués à l'émergence de femelles appartenant à une nouvelle génération en pleine ovogénèse.

Nos résultats diffèrent de ceux rapportés par Hamdy *et al.* (2020), qui ont noté que l'activité gonadique de *P. cultrifera* atteignait son maximum durant la saison estivale. La reproduction de *P. cultrifera* se caractérise par un mode épitoque, avec une durée de vie d'environ trois ans (Herpin, 1925 ; Cazaux, 1965). Dans le bassin d'Arcachon, la période de ponte se situe généralement entre la fin avril et le début juin, bien qu'elle puisse varier d'une année à l'autre et selon les sites, sous l'influence de facteurs environnementaux tels que la température.

Des observations réalisées en Manche indiquent une saison de reproduction allant de mai à juillet (Herpin, 1925). Toutefois, nos données révèlent une proportion significative de femelles présentant des ovocytes dès le mois de mars, ce qui suggère que la période de reproduction pourrait s'étendre de janvier à avril.

*P. cultrifera* est largement répandu le long des côtes méditerranéennes et est couramment employé dans les recherches maritimes (Scaps *et al.*, 2000 ; Guemouda *et al.*, 2014). Il est également crucial de souligner que, pour de nombreuses espèces de polychètes, la gamétogenèse et la libération des gamètes sont souvent corrélées aux variations thermiques (Giangrande & Petraroli, 1991 ; Olive, 1995 ; Olive *et al.*, 1997).

#### 4.6.1 Fréquences de taille ovocytaire

L'analyse biométrique des ovocytes de *P. cultrifera* révèle une large variation de taille au sein de la cavité cœlomique, indiquant une ovogenèse non synchronisée. Pour caractériser cette diversité, le diamètre des ovocytes a été utilisé comme critère de maturation, permettant de

définir huit classes de taille, espacées de 50  $\mu\text{m}$ . Les ovocytes ayant terminé la vitellogenèse présentait des diamètres de 250 à 400  $\mu\text{m}$ , tandis que les femelles avec des ovocytes de moins de 50  $\mu\text{m}$  ont été observées tout au long de l'année, suggérant une période de reproduction principale de mars à mai. Ces observations rejoignent les résultats de Ramdani *et al.* (2020) et El Barhoumi *et al.* (2013).

#### 4.6.2 Indice de Maturité Sexuelle

Chez les Nereidae, le processus ovogénique se distingue par la libre suspension des ovocytes dans le fluide cœlomique des femelles. L'évaluation du diamètre ovocytaire permet de discerner les stades de maturation sexuelle. Cependant, certaines recherches, comme celle de Schroeder *et al.* (1977), indiquent que la morphologie ovocytaire pourrait servir d'indicateur plus fin de la maturation, notamment en raison de sa corrélation avec les fluctuations hormonales.

Dans le cadre de cette étude, la maturation sexuelle des femelles a été subdivisée en quatre stades, définis par une analyse microscopique du fluide cœlomique. Au stade 1, aucune cellule germinale n'est identifiable dans la cavité cœlomique. Le stade 2 se caractérise par la présence de cellules germinales reliées par des ponts cytoplasmiques, sans initiation de la méiose. L'apparition d'ovocytes primaires dans le fluide cœlomique marque le début de la méiose à ce stade, bien que des amas oogoniaux persistent, avec des diamètres minimaux de 15 à 20  $\mu\text{m}$ . Dans le stade de croissance (stade 3), les ovocytes amorcent la vitellogenèse, assimilant des ressources du fluide cœlomique et variant en taille de 65 à 190  $\mu\text{m}$ . Au stade final (stade 4), les ovocytes matures atteignent un diamètre d'au moins 250  $\mu\text{m}$ , signalant leur aptitude à la fécondation. Ces résultats confirment les observations de Ramdani *et al.* (2020) pour la même espèce, ainsi que celles de Durou & Mouneyrac (2007) sur *Nereis diversicolor*, montrant que l'indice de maturité sexuelle atteint son apogée durant la période de reproduction et fluctue selon les conditions environnementales.

#### 4.7 L'Épitoquie

Chez la majorité des espèces de néréides, la reproduction est marquée par une métamorphose majeure, connue sous le nom d'épitoquie, qui entraîne des transformations profondes de la structure musculaire. Au cours de ce processus, les fibres musculaires longitudinales ne se développent pas à partir de cellules indifférenciées, ou myoblastes, mais se modifient à partir des fibres musculaires préexistantes. Ces fibres subissent alors une différenciation qui peut être synchronisée. La différenciation et le remodelage musculaire se produisent ainsi en parallèle,

sans passage par une dédifférenciation totale (Wissocq, 1977).

Les transformations morphologiques associées à l'état épitoque deviennent discernables chez les femelles de *P. cultrifera* sur le site d'El-Kala dès février. En avril, 83,33 % des individus examinés manifestent des caractéristiques épitoques, se distinguant par une pigmentation verte et des ovocytes de taille considérable dans le liquide coelomique. Cette proportion chute à 71,66 % en mai. La prédominance notable de femelles épitoques avec de grands ovocytes durant les récoltes d'avril, suivie d'un déclin en mai, indique que la période de reproduction s'étend de la fin avril au début mai.

Chez ce polychète, la dynamique reproductive est orchestrée par une interaction sophistiquée entre des stimuli environnementaux et des mécanismes neuroendocriniens complexes (Cassier *et al.*, 1997). L'épitoque, manifestation d'une maturation différenciée, est finement régulée par des facteurs neuroendocriniens (Durchon & Joly, 1978) agissant à travers le ganglion cérébral et des cellules neuro-sécrétrices spécialisées. La nereïdine, hormone cérébrale d'action inhibitrice, joue un rôle clé en freinant les processus de gamétogenèse chez les deux sexes et en modulant les transformations somatiques associées à l'épitoque. Ce contrôle neuroendocrinien favorise l'expression alternative de deux formes d'épitoque distinctes : une épitoque purement médiane et une épitoque mixte, intégrant les segments médians et postérieurs. Ces résultats viennent étayer les conclusions de Younsi *et al.* (2010) et de Ramdani *et al.* (2020), renforçant ainsi la compréhension des mécanismes neuroendocriniens de la reproduction chez les polychètes.

#### **4.8 Analyse de l'impact de la pollution sur l'épithélium intestinal**

Les résultats qui concerne l'épithélium digestif montrent une diminution de l'épaisseur de l'épithélium intestinal chez les femelles de *Perinereis cultrifera*, due aux transformations induites par l'épitoque et aux processus de dégénérescence cellulaire associés. Dakhama *et al.* (1985) ont observé que cette réduction s'accompagne d'une désorganisation des microvillosités et d'une prolifération des vacuoles, ajustements qui permettent une réallocation énergétique pour la reproduction.

Les variations d'épaisseur entre les sites suggèrent une influence des conditions environnementales sur l'intensité de la dégénérescence épithéliale. En mars, Skikda présente l'épaisseur la plus élevée ( $142,13 \pm 23,59 \mu\text{m}$ ), tandis qu'El-Kala, site moins pollué, affiche une valeur plus basse ( $129 \pm 11,25 \mu\text{m}$ ), indiquant une meilleure préparation à la reproduction. En

avril, un amincissement notable est enregistré à El-Kala ( $113,73 \pm 9,79 \mu\text{m}$ ), confirmant l'ajustement morphologique propre à cette période reproductive. À l'inverse, les sites pollués d'Annaba et Skikda montrent des valeurs plus élevées, suggérant un retard dans l'épithélium causé par la pollution. En mai, cette tendance se poursuit, avec une épaisseur encore réduite à El-Kala ( $120,77 \pm 15,37 \mu\text{m}$ ), tandis qu'Annaba et Skikda présentent des augmentations légères, probablement liées à une atténuation de la dégénérescence sous l'effet de la pollution.

Ces résultats s'inscrivent dans la lignée des recherches antérieures qui révèlent que les contaminants, dont la toxicité pour la vie marine est bien établie, peuvent induire des altérations physiologiques, des dysfonctionnements reproducteurs et, dans certains cas, entraîner la mortalité des organismes marins (Pagano *et al.*, 2023).

## 4.9 Etude histologique

### 4.9.1 Structure ovocytaire

L'examen histologique du coelome des femelles de *P. cultrifera* en avril offre des perspectives approfondies sur le cycle de maturation des ovocytes de cette espèce. Les résultats indiquent que la reproduction se concentre surtout au printemps et que la croissance ovocytaire suit un rythme asynchrone. Chez un même individu, on observe des ovocytes à divers stades de vitellogenèse. Ce type de croissance, également noté chez d'autres espèces comme *Platynereis dumerilii* (Fischer & Dorresteijn, 2004), est aussi présent chez des Néréidés apparentés, tels que *Perinereis macropus*, où l'on retrouve tous les stades de vitellogenèse au sein d'un même organisme (Zribi *et al.*, 2007). Les recherches antérieures indiquent que le métabolisme ovocytaire suit deux phases distinctes. Dans la première, l'ovocyte accumule des réserves lipidiques, puis protéiques ; la seconde phase se caractérise par une accumulation majoritairement glucidique (Porchet & Dhainaut, 1969). Les ganglions cérébroïdes libèrent une hormone régulant le développement des ovocytes en exerçant une double fonction : inhiber partiellement leur croissance tout en étant essentielle à leur métabolisme (Porchet, 1974). En outre, des études cytologiques montrent que les globules vitellins en formation sont localisés près des dictyosomes. Les vésicules présentes, semblables à celles produites par l'appareil de Golgi, suggèrent un transfert des protéines depuis les dictyosomes vers les globules protéiques, illustrant ainsi le rôle de l'appareil de Golgi dans la formation du vitellus (Caro & Palade, 1964 ; Jamieson & Palade, 1967). Les travaux de Baert *et al.* (1985) révèlent que les globules lipidiques représentent environ 16,4 % du poids de l'ovocyte, constitués principalement de triglycérides et de stérols libres. Parmi les acides aminés essentiels, la glutamine, la leucine et

l'alanine jouent un rôle central dans la composition des vitellines, à l'instar de ce qui est observé chez les insectes (Hagedorn & Kunkel, 1979) et chez *N. virens* (Fisher & Tabor, 1977).

Ces résultats révèlent des ovocytes présentant une faible teneur en globules vitellins, ce qui suggère un ralentissement du transfert des constituants vitellins vers les ovocytes des femelles des sites pollués d'Annaba et de Skikda. Ce phénomène pourrait être lié à la présence de divers polluants dans ces milieux (métaux lourds, résidus pharmaceutiques, pollution anthropique, et autres contaminants encore mal documentés).

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette observation : une altération de la synthèse de l'hormone cérébrale, une imperméabilité accrue de la membrane vitelline entravant la diffusion des matériaux vitellins, ou encore une dérégulation des éléocytes qui semblent prioriser les réponses immunitaires face au stress environnemental. En revanche, les ovocytes des femelles provenant d'El-Kala, un site moins pollué avec un hydrodynamisme plus marqué, montrent une abondance de globules vitellins bien colorés, principalement concentrés en périphérie de la membrane vitelline et répartis dans le cytoplasme autour d'un noyau volumineux et très actif, accompagné d'un nucléole bien visible dans certains cas. Cette observation indique un déroulement optimal de la vitellogenèse, favorisé par des conditions environnementales plus propices et une réduction notable de la charge polluante.

#### **4.9.1 Structure de l'épithélium intestinal**

Les analyses révèlent que l'épitoquie chez les Néréidiens, un processus clé dans le cycle reproductif, entraîne des modifications substantielles de l'épithélium intestinal. Dès les premières phases, cet épithélium montre une réduction marquée de son épaisseur, avec une désorganisation progressive des cellules apicales, une dégradation des microvillosités et une fragmentation des organites. On observe une accumulation de glycogène dans le cytoplasme sous-jacent (Dakhama *et al.*, 1985). La dégénérescence cellulaire s'intensifie avec la formation de vacuoles et des altérations des dictyosomes, qui se dilatent et accumulent un matériau dense. À maturité, l'épithélium intestinal s'amincit drastiquement ; certaines cellules montrent une vacuolisation autophagique prononcée et un noyau pycnotique avant de se détacher dans la lumière intestinale.

Chez les femelles du site d'El-Kala, un milieu hydrodynamiquement actif et moins pollué, l'épithélium intestinal présente une dégénérescence avancée et une épaisseur réduite, signe d'un arrêt de l'absorption nutritive. À l'opposé, les femelles issues des sites plus pollués d'Annaba

et de Skikda conservent un épithélium épais et structuré, avec des entérocytes distincts et bien alignés, et une lumière intestinale riche en éléments nutritifs, témoignant d'une alimentation encore active. Dans ces environnements contaminés, le processus d'épitoquie semble retardé, bien que la vitellogenèse progresse à un rythme plus lent. Ces observations suggèrent que l'épithélium intestinal des Néréidiens est particulièrement vulnérable aux altérations environnementales : la pollution entrave son amincissement et sa dégénérescence, retardant ainsi l'épitoquie et perturbant l'achèvement du cycle reproductif.

#### **4.10 Évaluation écotoxicologique des effets de l'acide acétylsalicylique sur *Perinereis cultrifera***

##### **4.10.1 Effets de l'acide acétylsalicylique sur les paramètres morphométriques de *Perinereis cultrifera***

L'étude des paramètres morphométriques, à savoir le poids (W), le diamètre des ovocytes (OD) et l'épaisseur de l'épithélium digestif (DET), a été réalisée sur les femelles de *Perinereis cultrifera* afin de détecter un éventuel effet de l'exposition à l'acide acétylsalicylique (ASA) sur les fonctions de reproduction et de digestion de l'espèce cible, lors d'expositions toxiques aiguës et chroniques. Les effets toxicologiques de l'ASA sur *P. cultrifera*, après exposition à différentes concentrations, ont montré des valeurs les plus élevées pour la toxicité aiguë et chronique dans les groupes témoins, diminuant progressivement avec l'augmentation de la concentration d'exposition. Toutefois, les deux fonctions physiologiques ciblées dans notre expérience sont la reproduction et la digestion. Les organismes peuvent augmenter leurs chances de survie dans un environnement pollué en développant une résistance grâce à une réponse évolutive face aux polluants.

Pendant l'exposition expérimentale, une diminution progressive a été observée sur les paramètres W, OD et DET pour les différentes concentrations d'ASA durant l'exposition aiguë (AT), montrant une corrélation positive entre eux. Ce résultat est en accord avec une étude sur l'effet du stress environnemental chez les annélides polychètes dans les villes de Skikda et El Kala (Guemouda *et al.*, 2014), qui a révélé l'impact de la pollution sur le poids et la longueur des femelles de *P. cultrifera*. Une diminution significative du poids et du diamètre des ovocytes a été observée dès la première concentration d'exposition, devenant plus marquée en fin d'exposition à l'ASA lors de la toxicité chronique (CT), période correspondant à la différenciation sexuelle. Les femelles sélectionnées pour notre expérience avaient un diamètre ovocytaire variant entre 220 et 250  $\mu\text{m}$ . Par ailleurs, selon Ramdani *et al.* (2020), le processus

de croissance ovocytaire chez *P. cultrifera* est asynchrone, avec une fonction reproductrice plus intense de mars à mai. Les ovocytes mettent entre 9 et 12 mois à atteindre leur maturité, avec un diamètre de maturité entre 250 et 350  $\mu\text{m}$ .

En général, les vers colonisant un environnement perturbé présentent une phase de gain de poids réduite (Durou *et al.*, 2007, 2008 ; Gillet *et al.*, 2008 ; Mouneyrac *et al.*, 2009). Cependant, l'évolution de cette résistance est souvent accompagnée d'une expression physique, telle qu'une réduction de la reproduction et de la croissance (Wirgin & Waldman, 2004) ou une tolérance réduite face à divers agents de stress (Meyer & De Giulio, 2003). Outre l'effet de l'ASA, ces perturbations pourraient être dues aux hormones et aux facteurs abiotiques (température, salinité, alimentation, etc.), confirmant que les vers vivant dans des environnements perturbés ont une phase de gain de poids réduite (Durou *et al.*, 2007, 2008 ; Gillet *et al.*, 2008 ; Mouneyrac *et al.*, 2009).

À cet effet, la glande digestive des moules a été sélectionnée comme organe cible en raison de ses fonctions vitales dans les processus d'accumulation, de biotransformation et de détoxification des xénobiotiques (Cappello *et al.*, 2018). De plus, ces femelles ont été exposées à l'ASA au début de la période de reproduction de cette espèce, qui coïncide avec le mois de mars. Comme mentionné par Costa *et al.* (1998), une activité reproductive continue tout au long de l'année a été observée, au cours de laquelle le tube digestif est réabsorbé et l'alimentation cesse, comme c'est le cas pour cette espèce et d'autres Nereididae durant la période de maturité sexuelle (Golding & Yuwono, 1994 ; Last & Olive, 1999 ; Belfetmi *et al.*, 2021).

#### **4.10.2 Effets de l'Exposition aigue et chronique à l'Acide Acétylsalicylique sur sur l'Activité des marqueurs Biochimiques chez *Perinereis cultrifera***

Les côtes algériennes, à l'instar de plusieurs zones humides méditerranéennes, sont soumises à une pression croissante des activités anthropiques, incluant l'urbanisation, l'industrie, la pollution, l'aquaculture, le tourisme et la surpêche. Le littoral est particulièrement vulnérable à une variété de contaminants et micropolluants déversés directement dans les mers et océans, auxquels s'ajoutent ceux libérés dans l'atmosphère et drainés par les sols et les cours d'eau (Bensouda & Soltani-Mazouni, 2014). Les invertébrés, notamment les annélides, sont des vecteurs essentiels de contaminants entre les compartiments environnementaux (eau, aliments ou sédiments) et les niveaux trophiques supérieurs (Cattaneo *et al.*, 2009). Les polychètes, comme *P. cultrifera* (Grübe, 1840), sont couramment utilisés dans les études écotoxicologiques

en raison de leur grande sensibilité aux contaminants organiques (Bouraoui *et al.*, 2009). De nombreux auteurs ont observé que différentes espèces de bivalves exposées à la pollution environnementale peuvent connaître une croissance ralentie (Peteiro *et al.*, 2006). Les changements des facteurs environnementaux auxquels ces organismes aquatiques sont soumis sont généralement progressifs, rythmiques et prévisibles (Ahamefula, 2014).

Les biomarqueurs sont relativement efficaces pour révéler la toxicité globale de mélanges complexes, en particulier ceux situés à un haut niveau d'organisation biologique, comme les biomarqueurs physiologiques liés à la croissance ou à la reproduction des organismes.

Dans ce travail, l'évaluation de l'effet biologique de l'acide acétylsalicylique (ASA) chez les polychètes lors d'expositions aiguës et chroniques a permis de recueillir des informations précieuses sur l'effet pharmaceutique sur les organismes aquatiques. Les polychètes, tout comme les moules, sont reconnus comme bioindicateurs valides dans le domaine de l'écotoxicologie, en raison de leur capacité à générer une vaste gamme de réponses biologiques suite à une exposition aux composés chimiques (Dean, 2008 ; Vassalli *et al.*, 2015 ; Piscopo *et al.*, 2018 ; Świacka *et al.*, 2019 ; Cappello *et al.*, 2021 ; Caliani *et al.*, 2022).

Les côtes algériennes, semblables à de nombreuses zones humides méditerranéennes, sont soumises à une intensification des activités anthropiques, induisant une pression environnementale accrue. Cette pression résulte de facteurs divers tels que l'industrialisation, l'urbanisation, l'aquaculture, le tourisme, la pollution et la surpêche. La vulnérabilité des côtes à une grande variété de contaminants et micropolluants, souvent déversés dans les océans et les mers, est amplifiée par des polluants additionnels rejetés dans l'atmosphère et transportés par les sols et les rivières (Bensouda & Soltani-Mazouni, 2014).

Les résultats de notre étude indiquent que les organismes exposés à des concentrations élevées d'ASA pendant une courte durée (toxicité aiguë : 2,5 mg/L, 25 mg/L et 250 mg/L) ont présenté une augmentation de l'activité de la catalase (CAT). Cette réponse peut être considérée comme un mécanisme de défense contre un excès de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et pour prévenir les dommages causés par la peroxydation lipidique. Une augmentation significative de l'activité de CAT a également été observée chez l'oligochète *Lumbriculus variegatus* exposé à des sédiments contaminés, même après une seule journée d'exposition (Contardo-Jara & Wiegand, 2008). En revanche, chez les organismes exposés à l'ASA sur une longue période de 30 jours (toxicité chronique : 0,005 mg/L, 0,1 mg/L et 2 mg/L), une augmentation de l'activité de CAT a été notée, visant à éliminer

les excès de ROS pour prévenir de nouveaux dommages. La CAT fournit également des informations sur le statut de réponse au stress oxydatif des organismes, protégeant la cellule contre les oxyradicaux induits par de nombreux facteurs (Winston & Di Giulio, 1991).

L'augmentation de l'activité GST au niveau C1 suite à une exposition aiguë et chronique à l'ASA, respectivement à 2,5 mg/L pour 96 h et 0,001 mg/L pour 30 jours, est similaire à celle observée par Freitas *et al.* (2019) chez les moules exposées à des concentrations plus élevées d'acide salicylique pendant 28 jours. La présence d'effets concernant l'activité des GST, après des expositions aiguës et chroniques, suggère que, suite à l'exposition à l'ASA, le mécanisme de détoxification de *H. diversicolor*, notamment par conjugaison avec le GSH, a été activé. Comme illustré dans les Figures 53 et 54, les activités GST de *P. cultrifera* exposé à l'ASA augmentaient en fonction du temps. Le niveau d'activité GST le plus élevé a été observé après 24 h d'exposition, et maintenu à un niveau élevé sur 96 h. En revanche, Praskova *et al.* (2012) ont étudié les effets aigus (96 h) de l'ASA chez *Danio rerio*, aux concentrations de 340 mg/L, 380 mg/L et 420 mg/L, et ont obtenu une activité GST plus élevée. Nunes *et al.* (2015) ont rapporté que l'activité des GST chez les poissons pourrait ne pas être influencée par l'acide salicylique (SA).

De plus, De Luca-Abbott *et al.* (2005) ont démontré des réponses des biomarqueurs dépendant des espèces en montrant que les GST et CAT avaient des réponses plus importantes que d'autres biomarqueurs antioxydants chez la palourde de Manille *Ruditapes philippinarum* comparé à la moule aux lèvres vertes *Perna viridis*.

Les activités de la glutathion peroxydase (GPx) de *P. cultrifera* étaient fortement augmentées après 96 h d'exposition chronique aux concentrations de 0,1 mg/L et 2 mg/L pendant 30 jours. Nunes *et al.* (2015) ont montré une augmentation de l'activité de la GPx dans le foie et les branchies de *Salmo trutta fario*. De même, Zivna *et al.* (2013) ont observé une augmentation de l'activité de la GPx chez le poisson *Danio rerio* exposé à l'ASA. Ici, les données sur l'activité de la GPx ont révélé une différence significative chez les polychètes exposés à l'ASA à des concentrations supérieures à 0,005 mg/L (C1) pendant 30 jours. Cela pourrait être lié à l'activité de détoxification du GST, l'enzyme de biotransformation de phase II la plus importante (Manduzio *et al.*, 2004). Les réactions catalysées par la GPx impliquent la réduction d'un peroxyde en alcool correspondant, en convertissant simultanément le glutathion réduit en glutathion disulfure par oxydation (Moreira *et al.*, 2006).

Dans cette étude, aucune différence significative n'a été observée au niveau de la GPx après une exposition aiguë. Chez *P. cultrifera*, la GPx était légèrement augmentée lors de l'exposition chronique à l'ASA. Une hypothèse avancée par Zivna *et al.* (2016) est liée à la possibilité que certaines concentrations d'ASA puissent entraîner des dommages au niveau mitochondrial.

#### **4.10.3 Altérations histologiques induites par l'acide acétylsalicylique chez *Perinereis cultrifera***

L'étude histologique offre une meilleure présentation des réactions morpho-anatomiques des organes affectés par la contamination. Dans cette étude, des altérations ont été observées dans certains tissus exposés à l'acide acétylsalicylique (ASA) à différentes concentrations. Le poids et le diamètre des ovocytes ont diminué de manière drastique dès la première concentration administrée dans les deux tests de toxicité. En plus de l'effet de l'ASA, cette diminution pourrait être liée à d'autres facteurs, tels que l'adaptation, la température et la photopériode.

Des études antérieures ont montré que les individus de *P. cultrifera* collectés dans des environnements pollués présentent des paramètres morphométriques réduits par rapport à ceux prélevés dans des environnements plus sains (Ramdani *et al.*, 2020 ; Belfetmi *et al.*, 2021 ; Rezzag Mahcene *et al.*, 2022 ; Sebbih *et al.*, 2023). D'autres travaux ont également démontré que les changements dans le calendrier de la ponte et le cycle de vie des polychètes pourraient être une conséquence de facteurs climatiques et de température (Ait Alla *et al.*, 2006).

Les mesures biométriques montrent une évolution similaire, et la croissance ovocytaire est asynchrone. Cependant, chez des espèces apparentées comme *Platynereis dumerilli* (Fisher et Donesteijer, 2004) et *Nereis virens* (Hoeger *et al.*, 1999), la croissance ovocytaire est synchrone. Dans nos tests de toxicité, les effets de l'ASA sur le diamètre des ovocytes (OD) montrent les valeurs moyennes les plus basses de ce paramètre à 96 h et à 30 jours, avec respectivement 169,20 µm et 193,75 µm, et une faible distribution des grains de vitellus. Ces valeurs atteignent environ 200 µm, correspondant à la phase de maturité, dernier stade avant la reproduction, période qui coïncide avec notre période d'étude (février-mars). Ce résultat corrobore que les individus de *P. cultrifera* se reproduisent exclusivement par épitoquie à partir de mars (Daas *et al.*, 2011), et que *Nereis diversicolor* vivant dans des environnements perturbés présentent une phase de gain de poids réduite (Durou *et al.*, 2008 ; Mouneyrac *et al.*, 2009).

En ce qui concerne l'épaisseur de l'épithélium digestif (DET), la moyenne la plus basse a été enregistrée de C2 à C3 lors de la toxicité chronique (de  $125,75 \pm 4,20 \mu\text{m}$  à  $119,12 \mu\text{m}$ ), contrairement à la toxicité aiguë, où la réduction de l'épaisseur était progressive et significative. En revanche, dans les tissus branchiaux des moules, l'ASA n'a provoqué aucune altération morphologique lors d'une exposition chronique de 12 jours (Giuseppe di Marco *et al.*, 2022).

L'exposition de *P. cultrifera* aux concentrations d'ASA a causé une dégénérescence des ovocytes (CT/C2-C3 :  $217,25 \pm 7,32 \mu\text{m}$  et  $193,75 \pm 5,71 \mu\text{m}$ ) ainsi qu'une résorption de l'épithélium digestif. *P. cultrifera*, étant une espèce omnivore (Scaps, 2002), préfère les algues, les diatomées et les détritits (Goerke, 1971). L'épaisseur réduite de l'épithélium digestif pourrait suggérer sa dégénérescence, ce qui pourrait être interprété comme une dégénérescence cellulaire induite, un processus potentiellement lié à l'épitoquie dans la reproduction. Une étude connexe a révélé que les changements intestinaux associés à l'épitoquie illustrent un exemple de dégénérescence cellulaire programmée (Dakhama *et al.*, 1985).

# CONCLUSION

## 5. CONCLUSION

Les écosystèmes marins côtiers, déjà vulnérables à la pollution d'origine anthropique et aux variations climatiques, subissent des perturbations affectant la physiologie, la croissance, la reproduction et la santé des organismes. Cette étude, menée en 2022 sur le littoral Est algérien, a examiné l'impact des contaminants environnementaux, notamment les résidus pharmaceutiques, sur *Perinereis cultrifera*, un polychète bio-indicateur. Pour cela, une approche intégrée a été adoptée, combinant l'analyse des paramètres physico-chimiques de l'eau de mer, un inventaire des annélides polychètes, l'évaluation des indices écologiques et une analyse chromatographique des contaminants. Par ailleurs, des analyses morphométriques, histologiques, ainsi que des études sur la reproduction, les ovocytes et l'épithélium intestinal ont été réalisées, suivies de tests de toxicité sur *Perinereis cultrifera* par l'ASA. Les résultats ont mis en évidence des effets significatifs de la pollution, soulignant l'importance d'une surveillance accrue des écosystèmes marins pour préserver la biodiversité et maintenir l'équilibre biologique.

Les analyses physico-chimiques de l'eau montrent que le changement climatique et les activités humaines influencent les écosystèmes marins côtiers ce qui impacte la physiologie des organismes. Les sites étudiés révèlent un gradient de pollution : El Kala reste préservé, tandis qu'Annaba et surtout Skikda subissent une pollution élevée due aux activités industrielles. Skikda, particulièrement touché par les rejets pétrochimiques, connaît une eutrophisation et une diminution de la photosynthèse, justifiant un suivi écologique accru.

Les résultats de l'inventaire des annélides polychètes et de la faune macrobenthique associée confirment qu'El Kala est le site le mieux préservé, avec une abondance plus élevée. En revanche, la diminution observée à Annaba et Skikda traduit une influence plus marquée des pressions anthropiques. Cette tendance est également mise en évidence par les indices écologiques, qui révèlent une diversité spécifique plus élevée et une répartition plus équilibrée des espèces à El Kala, tandis qu'Annaba et Skikda présentent des valeurs plus faibles, suggérant un impact environnemental plus important.

L'analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC/MS/MS) a révélé la présence de plusieurs résidus pharmaceutiques, incluant des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) tels que l'ibuprofène, le fénoprophène et l'acide salicylique, ainsi que des antibiotiques de la classe des sulfonamides, comme la sulfaguanidine, la

sulfadiazine, le sulfaméthoxazole, le sulfathiazole et le sulfisoxazole. Les niveaux de contamination varient selon les sites : faibles à El Kala, modérés à Skikda et les plus élevés à Annaba, en lien avec sa densité démographique et industrielle.

Les contaminants perturbent les fonctions physiologiques, contraignant les organismes à mobiliser leurs ressources énergétiques vers la détoxification, au détriment de leur développement. Les mesures biométriques montrent que les femelles des sites moins pollués, comme El Kala, présentent des valeurs plus élevées en poids, taille corporelle et nombre de sétigères que celles des sites plus contaminés, comme Annaba et Skikda. Ces résultats illustrent l'influence marquée de la pollution sur les caractéristiques morphométriques et la dynamique des populations.

L'analyse de la maturité, du sex-ratio révèle un déséquilibre en faveur des femelles dans les trois populations étudiées. Concernant l'épitoquie, l'observation d'un type médian et postérieur plus fréquent chez les femelles d'El-Kala, comparé à celles d'Annaba et de Skikda, suggère une fécondité plus élevée et une activité reproductive plus intense dans cet environnement moins pollué.

À El-Kala, la taille plus importante des ovocytes suggère un meilleur stockage des réserves durant l'ovogénèse, tandis qu'à Annaba et Skikda, leur plus petite taille reflète des conditions de maturation moins optimales. La période de reproduction, concentrée entre mars et mai, varie en fonction des conditions environnementales, illustrant l'influence des facteurs écologiques et anthropiques sur le cycle biologique de l'espèce. Parallèlement, l'analyse de l'épithélium intestinal montre une diminution de son épaisseur, influencée par l'épitoquie et les processus de dégénérescence cellulaire. Cette réduction, plus marquée dans les sites moins pollués, traduit une réallocation énergétique en faveur de la reproduction, tandis que dans les sites plus contaminés, un retard dans ce processus est observé, suggérant que la pollution altère le cycle normal de transformation physiologique et compromet l'adaptation reproductive de l'espèce. L'étude histologique montre également que, dans les sites les plus contaminés, la faible teneur en globules vitellins indique un ralentissement du transfert des constituants vitellins, probablement en raison de perturbations hormonales ou d'une réponse au stress environnemental. Ces résultats soulignent la sensibilité de *P. cultrifera* aux contaminants côtiers et l'impact de la pollution sur ses processus reproductifs.

Des tests de toxicité aiguë et chronique ont été menés sur des femelles de *Perinereis cultrifera* afin d'évaluer les effets de l'acide acétylsalicylique (ASA). Les données ont été collectées à l'aide d'une approche combinant différents biomarqueurs (CAT, GST, GPx) et une analyse histologique pour évaluer les dommages tissulaires. Les résultats ont révélé une augmentation de l'activité de la catalase (CAT), indiquant une réponse de défense contre le stress oxydatif. Une régulation positive de la glutathion-S-transférase (GST) a été observée, avec des niveaux maximaux constants tout au long de l'étude. L'activité de la glutathion peroxydase (GPx) a légèrement augmenté lors de l'exposition chronique. Enfin, une diminution significative du poids et du diamètre des ovocytes a été notée, avec une croissance asynchrone des ovocytes.

Enfin, l'amincissement de l'épithélium digestif observé dans les tests chroniques pourrait indiquer une dégénérescence cellulaire, suggérant un processus lié à l'épitoquie dans le cadre de la reproduction.

# RÉSUMÉS

## 6. RÉSUMÉS

### 6.1 Résumé

Les polychètes, notamment *Perinereis cultrifera*, sont des modèles clés pour les études écotoxicologiques en Algérie, notamment pour évaluer l'impact des polluants marins. Cette étude évalue la qualité environnementale de trois sites côtiers algériens (El Kala, Annaba et Skikda) en examinant l'impact des polluants sur la physiologie et la reproduction de *P. cultrifera*. Des tests de toxicité aiguë (96 h) et chronique (30 jours) de l'acide acétylsalicylique (ASA) ont été réalisés sur les femelles de *P. cultrifera* prélevées à El Kala.

Les variations des paramètres physico-chimiques de l'eau de mer reflètent principalement des fluctuations saisonnières pour les paramètres généraux, tandis que les paramètres globaux sont davantage affectés par le degré de pollution propre à chaque site.

L'inventaire des annélides polychètes, de la faune macrobenthique associée et l'analyse des indices écologiques révèlent une biodiversité plus riche et équilibrée à El Kala, suggérant un environnement mieux préservé. En revanche, Annaba et Skikda présentent un déséquilibre écologique sous l'effet des pressions anthropiques.

Des résidus pharmaceutiques, notamment des anti-inflammatoires et des antibiotiques, ont été détectés par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC/MS/MS), avec des niveaux de contamination variables : faibles à El Kala, moyens à Skikda et élevés à Annaba.

Les analyses morphométriques et pondérales indiquent une influence directe de la pollution sur la croissance et la dynamique des populations de *P. cultrifera*. Les spécimens des zones moins polluées affichent des valeurs supérieures en termes de taille corporelle, de poids et de nombre de sétigères, en comparaison avec ceux issus des zones plus contaminées, illustrant ainsi l'impact négatif de la pollution sur cette espèce.

L'analyse des paramètres de maturité sexuelle et de reproduction révèle une prédominance des femelles sur les trois sites étudiés. Les données indiquent que la structure ovocytaire varie en fonction des conditions environnementales spécifiques à chaque site, avec une asynchronie et de légères variations de diamètre observées à El-Kala. L'évaluation de l'indice de maturité sexuelle et de la répartition des tailles d'ovocytes suggère une fécondité plus élevée chez les

femelles d'El-Kala par rapport à celles d'Annaba et de Skikda. Par ailleurs, l'observation du processus d'épitoque met en évidence une différenciation chez les femelles, qui adoptent majoritairement une épitoque médiane et postérieure au cours de la reproduction.

L'analyse histologique des ovocytes de *Perinereis cultrifera* révèle une asynchronie dans la maturation et une accumulation réduite des globules vitellins chez les femelles des sites pollués d'Annaba et de Skikda, suggérant un impact négatif de la pollution sur la vitellogenèse. Par ailleurs, l'épithélium intestinal subit une dégénérescence avancée dans les zones moins polluées, tandis qu'il reste épais et fonctionnel dans les sites contaminés, indiquant un retard dans le processus d'épitoque et une perturbation du cycle reproductif sous l'effet des polluants environnementaux.

L'exposition à l'acide acétylsalicylique (ASA) dans le cadre des tests de toxicité aiguë (96 h) et chronique (30 jours) a induit des perturbations enzymatiques et histologiques notables chez *P. cultrifera*. Une augmentation significative de l'activité de la catalase (CAT) et des enzymes impliquées dans le système de défense antioxydant, telles que la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion S-transférase (GST), a été observée, traduisant une réponse au stress oxydatif induit par l'ASA. Cette activation enzymatique suggère un mécanisme de défense visant à neutraliser l'excès de radicaux libres générés par l'exposition aux contaminants.

Par ailleurs, l'examen histologique a révélé des altérations marquées au niveau des tissus reproducteurs et digestifs. Chez les femelles exposées, une diminution du diamètre des ovocytes a été constatée, accompagnée d'une raréfaction des grains vitellins, indiquant un ralentissement de la vitellogenèse et une possible réduction du potentiel reproducteur. De plus, l'épithélium digestif des individus traités présentait un amincissement prononcé et des signes de résorption, suggérant un impact direct sur les fonctions d'absorption et de métabolisme. Cette dégradation tissulaire pourrait être le reflet d'une redistribution des ressources énergétiques vers les mécanismes de détoxification et de réparation cellulaire, au détriment des processus physiologiques essentiels tels que la reproduction et la digestion. Ces résultats mettent en évidence l'effet délétère de l'ASA sur *P. cultrifera*, soulignant le rôle des résidus pharmaceutiques dans la perturbation des équilibres biologiques des organismes marins.

**Mots clés :** *Perinereis cultrifera*, contaminants, résidus pharmaceutiques, acide acétylsalicylique, (LC/MS/MS), stress oxydatif, Histologie.

## 6.2 ملخص

أصبحت الحلقات عديدة الأشواك، وخاصة *Perinereis cultrifera*، نماذج أساسية في الدراسات الإيكوتوكسيولوجية، لا سيما لتقييم تأثير الملوثات البحرية. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الجودة البيئية لثلاثة مواقع ساحلية جزائرية (القالبة، عنابة، وسكيدة) من خلال دراسة تأثير الملوثات على فسيولوجيا وتكاثر *P. cultrifera*. تم إجراء اختبارات السمية الحادة (96 ساعة) والمزمنة (30 يوماً) لحمض الأسيتيل ساليسيليك (ASA) على إناث *P. cultrifera* المأخوذة من القالبة.

تعكس التغيرات في المعايير الفيزيائية-الكيميائية لمياه البحر بشكل رئيسي التقلبات الموسمية بالنسبة للمعايير العامة، في حين تتأثر المعايير الإجمالية بدرجة التلوث الخاصة بكل موقع.

يكشف جرد أنواع الحلقات عديدة الأشواك واللافقاريات القاعية المصاحبة، بالإضافة إلى تحليل المؤشرات البيئية، عن تنوع بيولوجي أكثر ثراءً وتوازناً في منطقة القالبة، مما يشير إلى بيئة أكثر حفاظاً. في المقابل، تُظهر منطقتا عنابة وسكيدة اختلالاً بيئياً نتيجة الضغوط الأنثروبوجينية.

تم الكشف عن بقايا صيدلانية، بما في ذلك مضادات الالتهاب الحيوية والمضادات الحيوية، باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء المقرونة بمطياف الكتلة المزدوج (LC/MS/MS)، حيث أظهرت مستويات تلوث متفاوتة: منخفضة في القالبة، متوسطة في سكيدة، ومرتفعة في عنابة.

أظهرت التحاليل المورفومترية والوزنية تأثيراً مباشراً للتلوث على نمو وتوزيع تجمعات *P. cultrifera*، فقد سجلت العينات من المناطق الأقل تلوثاً قيماً أعلى من حيث طول الجسم، الوزن، وعدد الحلقات مقارنةً بتلك القادمة من المناطق الأكثر تلوثاً، مما يبرز التأثير السلبي للتلوث على هذه الأنواع.

كشفت دراسة معايير النضج الجنسي والتكاثر عن هيمنة الإناث في المواقع الثلاثة المدروسة. وأظهرت البيانات أن بنية البويضات تختلف وفقاً للظروف البيئية لكل موقع، مع عدم تزامن طفيف (Asynchronie) وتغيرات طفيفة في القطر في القالبة. كما يشير تقييم مؤشر النضج الجنسي وتوزيع أحجام البويضات إلى خصوبة أعلى لدى إناث القالبة مقارنةً بإناث عنابة وسكيدة. علاوة على ذلك، أظهرت دراسة عملية الإبيتوكيا (Epitoque) وجود تمايز لدى الإناث، حيث تتبنى معظمها إبيتوكيا متوسطة وخلفية خلال فترة التكاثر. (Epitoque postérieure et médiane).

كشفت الدراسات النسيجية لبويضات *P. cultrifera* عن عدم تزامن في النضج وانخفاض تراكم الحبيبات المحيية (globules vitellins) لدى الإناث من المواقع الملوثة في عنابة وسكيدة، مما يشير إلى تأثير سلبي للتلوث على عملية تكوين المح (Vitéllogénèse) بالإضافة إلى ذلك، أظهر النسيج الطلائي المعوي تدهوراً متقدماً في المناطق الأكثر تلوثاً، بينما ظل سميكاً ووظيفياً في المواقع الأقل تلوثاً، مما يدل على تأخر في عملية الإبيتوكيا واضطراب في الدورة التكاثرية نتيجة لتأثير الملوثات البيئية.

أدت التعرضات لحمض الأسيتيل ساليسيليك (ASA) في اختبارات السمية الحادة (96 ساعة) والمزمنة (30 يوماً) إلى اضطرابات إنزيمية ونسيجية ملحوظة لدى *P. cultrifera*، حيث لوحظت زيادة كبيرة في نشاط الكاتالاز (CAT) والإنزيمات المشاركة في نظام الدفاع المضاد للأكسدة، مثل إنزيم الجلوتاثيون بيروكسيداز (GPx) وإنزيم الجلوتاثيون-S

ترانسفيراز (GST) ، مما يعكس استجابة للإجهاد التأكسدي الناتج عن ASA. يشير هذا التنشيط الإنزيمي إلى آلية دفاع تهدف إلى تحييد فائض الجذور الحرة الناتجة عن التعرض للملوثات.

علاوة على ذلك، كشفت الفحوصات النسيجية عن تغيرات كبيرة في الأنسجة التناسلية والهضمية. حيث لوحظ انخفاض في قطر البويضات لدى الإناث المعرضات، مصحوبًا بندرة الحبيبات المحية، مما يشير إلى تباطؤ عملية تكوين المح وانخفاض محتمل في القدرة الإنجابية. بالإضافة إلى ذلك، أظهر النسيج الطلائي المعوي لدى الكائنات المعالجة ترققًا ملحوظًا وعلامات امتصاص، مما يشير إلى تأثير مباشر على وظائف الامتصاص والتمثيل الغذائي. قد تعكس هذه التغيرات النسيجية إعادة توزيع الموارد الطاقوية نحو آليات إزالة السموم وإصلاح الخلايا، على حساب العمليات الفسيولوجية الأساسية مثل التكاثر والهضم. تسلط هذه النتائج الضوء على التأثير الضار لـ ASA على *P. cultrifera* ، مما يشير إلى دور المخلفات الصيدلانية في اضطراب التوازنات البيولوجية للكائنات البحرية.

**الكلمات المفتاحية:** *Perinereis cultrifera* الملوثات، بقايا الأدوية، حمض الأسيتيل ساليسيليك، LC/MS/MS، الإجهاد التأكسدي، علم الأنسجة.

### 6.3 Abstract

Polychaetes, particularly *Perinereis cultrifera*, are key models for ecotoxicological studies in Algeria, especially for assessing the impact of marine pollutants. This study evaluates the environmental quality of three Algerian coastal sites (El Kala, Annaba, and Skikda) by examining the effects of pollutants on the physiology and reproduction of *P. cultrifera*. Acute (96-hour) and chronic (30-day) toxicity tests of acetylsalicylic acid (ASA) were conducted on female *P. cultrifera* collected from El Kala.

Variations in seawater physico-chemical parameters primarily reflect seasonal fluctuations for general parameters, while global parameters are more affected by the pollution level specific to each site.

The inventory of polychaete annelids, associated macrobenthic fauna, and the analysis of ecological indices reveal a richer and more balanced biodiversity in El Kala, suggesting a better-preserved environment. In contrast, Annaba and Skikda exhibit ecological imbalance due to anthropogenic pressures.

Pharmaceutical residues, including anti-inflammatory drugs and antibiotics, were detected using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC/MS/MS), with contamination levels varying across sites: low in El Kala, moderate in Skikda, and high in Annaba.

Morphometric and weight analyses indicate a direct influence of pollution on the growth and population dynamics of *P. cultrifera*. Specimens from less polluted areas exhibited higher values in terms of body size, weight, and the number of setigers compared to those from more contaminated areas, highlighting the negative impact of pollution on this species.

The analysis of sexual maturity and reproductive parameters reveals a predominance of females across the three study sites. The data indicate that oocyte structure varies according to the specific environmental conditions of each site, with asynchrony and slight diameter variations observed in El Kala. The evaluation of the sexual maturity index and oocyte size distribution suggests higher fecundity in females from El Kala compared to those from Annaba and Skikda. Additionally, the observation of the epitoky process highlights differentiation in females, who predominantly adopt median and posterior epitoky during reproduction. Histological analysis of *P. cultrifera* oocytes reveals asynchrony in maturation and reduced vitelline granule

accumulation in females from the polluted sites of Annaba and Skikda, suggesting a negative impact of pollution on vitellogenesis. Moreover, the intestinal epithelium undergoes advanced degeneration in less polluted areas, whereas it remains thick and functional in contaminated sites, indicating a delay in the epitoky process and a disruption of the reproductive cycle due to environmental pollutants.

Exposure to acetylsalicylic acid (ASA) in acute (96-hour) and chronic (30-day) toxicity tests induced significant enzymatic and histological disturbances in *P. cultrifera*. A significant increase in the activity of catalase (CAT) and antioxidant defense system enzymes, such as glutathione peroxidase (GPx) and glutathione S-transferase (GST), was observed, indicating a response to ASA-induced oxidative stress. This enzymatic activation suggests a defense mechanism aimed at neutralizing the excess free radicals generated by contaminant exposure.

Furthermore, histological examination revealed marked alterations in reproductive and digestive tissues. In exposed females, a reduction in oocyte diameter was observed, accompanied by a scarcity of vitelline granules, indicating a slowdown in vitellogenesis and a potential decline in reproductive capacity. Additionally, the digestive epithelium of treated individuals exhibited significant thinning and signs of resorption, suggesting a direct impact on absorption and metabolic functions. This tissue degradation may reflect an energy resource redistribution toward detoxification and cellular repair mechanisms at the expense of essential physiological processes such as reproduction and digestion. These findings highlight the detrimental effects of ASA on *P. cultrifera*, underscoring the role of pharmaceutical residues in disrupting the biological balance of marine organisms.

**Keywords :** *Perinereis cultrifera*, contaminants, pharmaceutical residues, acetylsalicylic acid, (LC/MS/MS), oxidative stress, histology.

# RÉFÉRENCES

## 7. RÉFÉRÉNCES

1. Adeleye, A. S., Xue, J., Zhao, Y., Taylor, A. A., Zenobio, J. E., Sun, Y., Han, Z., Salawu, O. A., & Zhu, Y. (2022). Abundance, fate, and effects of pharmaceuticals and personal care products in aquatic environments. *Journal of Hazardous Materials*, 424, 127284.
2. Afsa, S., De Marco, G., Cristaldi, A., Giannetto, A., Galati, M., Billè, B., Oliveri Conti, G., Ben Mansour, H., Ferrante, M., & Cappello, T. (2023). Single and combined effects of caffeine and salicylic acid on mussel *Mytilus galloprovincialis*: Changes at histomorphological, molecular, and biochemical levels. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 101, 104167.
3. Aguzzi, J., Chatzievangelou, D., Company, J. B., Thomsen, L., Marini, S., Bonofiglio, F., Juanes, F., Rountree, R., Berry, A., Chumbinho, R., Lordan, C., Doyle, J., del Rio, J., Navarro, J., De Leo, F. C., Bahamon, N., García, J. A., Danovaro, R., Francescangeli, M., Lopez-Vazquez, V., & Gaughan, P. (2020). The potential of video imagery from worldwide cabled observatory networks to provide information supporting fish-stock and biodiversity assessment. *ICES Journal of Marine Science*, 77(7-8), 2396-2410.
4. Ahamefula, N. J. (2014). Physiological responses of some benthic macroinvertebrates to environmental hypoxia. *WebPub Journal of Scientific Research*, 2(3), 26-30.
5. Ait Alla, A., Gillet, P., Deutsch, B., Moukrim, A., & Bergayou, H. (2006). Response of *Nereis diversicolor* (Polychaeta, Nereidae) populations to reduced wastewater discharge in the polluted estuary of Oued Souss, Bay of Agadir, Morocco. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 70, 633-642.
6. Al Mamun, A., Akhtar, A., Kamal, A. H. M., AftabUddin, S., Islam, M. S., & Sharifuzzaman, S. M. (2022). Assessment of benthic macroinvertebrates as potential bioindicators of anthropogenic disturbance in southeast Bangladesh coast. *Marine Pollution Bulletin*, 184, 114217.
7. Aliko, V., Korriku, R. S., Pagano, M., & Faggio, C. (2021). Double-edged sword: Fluoxetine and ibuprofen as development jeopardizers and apoptosis' inducers in common toad, *Bufo bufo*, tadpoles. *Science of the Total Environment*, 776, 145945.
8. Álvarez-Muñoz, D., Llorca, M., Blasco, J., & Barceló, D. (2016). Contaminants in the marine environment. In *Marine Ecotoxicology* (pp. 1-34). Elsevier.
9. Ambrose Jr., W. G. (1991). Are infaunal predators important in structuring marine soft-bottom communities? *American Zoologist*, 31(6), 849-860.
10. Amiard-Triquet, C. (1989). Bioaccumulation et nocivité relatives de quelques polluants métalliques à l'égard des espèces marines. *Bulletin d'Écologie*, 20(2), 129-151.
11. Andreozzi, R., Raffaele, M., & Nicklas, P. (2003). Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere*, 50(10), 1319-1330.
12. Appeltans, W., Ahyong, S. T., Anderson, G., Angel, M. V., Artois, T., Bailly, N., ... & Costello, M. J. (2012). The magnitude of global marine species diversity. *Current Biology*, 22(23), 2189-2202.
13. Araujo, G. S., Gusso-Choueri, P. K., Favaro, D. I. T., Rocha, R. C. C., Saint'Pierre, T. D., Hauser-Davis, R. A., Braz, B., Santelli, R. E., Freire, A. S., Machado, W. T. V., Cruz, A. C. F., & Abessa, D. M. S. (2020). Metal-associated biomarker responses in crabs from a marine protected area in Southeastern Brazil. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 78, 463-477.
14. Arauz, J., Ramos-Tovar, E., & Muriel, P. (2016). Redox state and methods to evaluate oxidative stress in liver damage: From bench to bedside. *Annals of Hepatology*, 15(2), 160-173.

15. Arif, H., & Aggarwal, S. (2023, July 5). Salicylic acid (Aspirin). In *StatPearls* [Internet]. Treasure Island, FL: StatPearls Publishing.
16. Arpin-Pont, L., Bueno, M. J. M., Gomez, E., & Fenet, H. (2016). Occurrence of PPCPs in the marine environment: A review. *Environmental Science and Pollution Research International*, 23, 4978–4991.
17. Baert, J. L. (1986). Vitellin and vitellogenesis in the polychaete *Perinereis cultrifera*. In *International Society of Invertebrate Reproduction, 4th International Symposium* (pp. 207-214).
18. Baillache, J., & Duclaux, X. (1974). Les pétroliers à ballast séparés. *Editions nouveautés techniques maritimes*.
19. Baracchini, C., Messenger, L., Stocker, P., & Leignel, V. (2023). The impacts of the multispecies approach to caffeine on marine invertebrates. *Toxics*, 12(1), 29.
20. Baran, W., Sochacka, J., & Wardas, W. (2006). Toxicity and biodegradability of sulfonamides and products of their photocatalytic degradation in aqueous solutions. *Chemosphere*, 65(8), 1295-1299.
21. Bar-On, Y. M., Phillips, R., & Milo, R. (2018). The biomass distribution on Earth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(25), 6506-6511.
22. Battaglia, F. M. (2023). Climate change and the ocean: The disruption of the coral reef. In *Blue Planet Law: The Ecology of Our Economic and Technological World* (pp. 121-130). Cham: Springer International Publishing.
23. Bauchot-Boutin, M. L., & Bobin, G. (1954). Modifications hétéronéréidiennes des parapodes, des soies et des bulbes sétigères chez *Perinereis cultrifera* (Grübe) (Annélide Polychète). *Archives d'Anatomie Microscopique et de Morphologie Expérimentale*, 43, 137-162.
24. Bebianno, M. J., & Gonzalez-Rey, M. (2015). Ecotoxicological risk of personal care products and pharmaceuticals. In *Aquatic Ecotoxicology* (pp. 383-416).
25. Belfetmi, N. Z. (2022). Impact de la pollution du sédiment et de l'eau de mer sur la physiologie de modèle de la faune macrobenthique du littoral Est d'Algérie : activité alimentaire et stress oxydatif (Thèse de doctorat). Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie.
26. Belfetmi, N. Z., Daas, T., & Maamcha, O. (2021). The effects of total hydrocarbons on the polychaete *Perinereis cultrifera* (Grübe, 1840): Impacts on morphometric aspects and biochemical markers.
27. Belfetmi, N. Z., Daas, T., & Maamcha, O. (2021). The effects of total hydrocarbons on the polychaete *Perinereis cultrifera* (Grübe, 1840): Impacts on morphometric aspects and biochemical markers. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation - Bioflux*, 14(3), 1464-1477.
28. Belfetmi, N. Z., Daas, T., Maamcha, O. (2021): The effects of total hydrocarbons on the Polychaete *Perinereis cultrifera* (Grübe, 1840): impacts on morphometric aspects and biochemical markers. – *Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation Bioflux* 14(3): 1464-1477.
29. Belhouari, B. (2018). Assessment of the state of littoral waters in Algeria: Guidelines and recommendations. *Environmental and Water Sciences, Public Health, and Territorial Intelligence Journal*, 2(1), 41-44.
30. Benabderrahmane, A. (2019). L'Algérie "occupe la 4e place dans la région du Moyen-Orient en termes de consommation de médicaments" selon les données de l'Institut mondial des informations sur les industries pharmaceutiques. *Algérie Presse Service*.
31. Benmakhlof, M. (2020). La Méditerranée, mer la plus polluée du monde. *National Geographic France*.
32. Bensouda, L., & Soltani-Mazouni, N. (2014). Measure of oxidative stress and neurotoxicity biomarkers in *Donax trunculus* from the Gulf of Annaba (Algeria): Case of the year 2012. *Annual Research & Review in Biology*, 4, 1902–1914.
33. Bhagat, D. S., Gurnule, W. B., Bumbrah, G. S., Koinkar, P., & Chawla, P. A. (2023). Recent advances in biomedical applications of biogenic nanomaterials. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 24(1), 86-100.

34. Biel-Maeso, M., Baena-Nogueras, R. M., Corada-Fernández, C., & Lara-Martín, P. A. (2018). Occurrence, distribution and environmental risk of pharmaceutically active compounds (PhACs) in coastal and ocean waters from the Gulf of Cadiz (SW Spain). *Science of the Total Environment*, 612, 649-659.
35. Bilotta, G. S., Brazier, R. E., Haygarth, P. M., Macleod, C. J. A., Butler, P., Granger, S., Krueger, T., Freer, J., & Quinton, J. (2008). Rethinking the contribution of drained and undrained grasslands to sediment-related water quality problems. *Journal of Environmental Quality*, 37(3), 906-914.
36. Bindoff, N. L., Cheung, W. W. L., Kairo, J. G., Arístegui, J., Guinder, V. A., Hallberg, R., ... & Williamson, P. (2019). Changing ocean, marine ecosystems, and dependent communities. In H.-O. Pörtner, D. C. Roberts, V. Masson-Delmotte, P. Zhai, M. Tignor, E. Poloczanska, ... & N. M. Weyer (Eds.), *IPCC Special Report on the Ocean and Cryosphere in a Changing Climate* (pp. 447-587). Cambridge University Press.
37. Blaise, C., Gagné, F., & Burgeot, T. (2016). Three simple biomarkers useful in conducting water quality assessments with bivalve mollusks. *Environmental Science and Pollution Research*, 112, 452-458.
38. Blake, J. A. (2017). Larval development of Polychaeta from the northern California coast. Fourteen additional species together with seasonality of planktic larvae over a 5-year period. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 97(5), 1081-1133.
39. Blasco, J., & Trombini, C. (2023). Ibuprofen and diclofenac in the marine environment—a critical review of their occurrence and potential risk for invertebrate species. *Water Emerging Contaminants & Nanoplastics*, 2(3), N-A.
40. Boethling, R. S., & Mackay, D. (2000). Property estimation methods for chemicals. *Environmental and Health Science*, 189.
41. Boisseau, J. P. (1962). Contribution à la faune du bassin d'Arcachon. Annélides, Sipunculien, Echiuriens. *Proceedings of the Société Linneenne de Bordeaux*, 99, 113–126.
42. Bouhedi, M., Antit, M., Chaibi, M., Perrein-Ettajani, H., Gillet, P., & Azzouna, A. (2021). Assessment of trace element accumulation on the Tunisian coasts using biochemical biomarkers in *Perinereis cultrifera*. *Scientia Marina*, 85(2), 91-102.
43. Bouraoui, Z., Banni, M., Ghedira, J., Clerandau, C., Narbonne, J. F., & Boussetta, H. (2009). Evaluation of enzymatic biomarkers and lipoperoxidation level in *Hediste diversicolor* exposed to copper and benzo[a]pyrene. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(7), 1893-1900.
44. Box, A., Sureda, A., Galgani, F., Pons, A., & Deudero, S. (2007). Assessment of environmental pollution at Balearic Islands beaches using *Donax trunculus* as bioindicator. *Marine Pollution Bulletin*, 54(6), 809-816.
45. Boxall, A. B. A., Rudd, M. A., Brooks, B. W., Caldwell, D. J., Choi, K., Hickmann, S., Innes, E., Ostapyk, K., Staveley, J. P., Verslycke, T., Ankley, G. T., Beazley, K. F., Belanger, S. E., Berninger, J. P., Carriquiriborde, P., Coors, A., DeLeo, P. C., Dyer, S. D., Ericson, J. F., ... Van Der Kraak, G. (2012). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: What are the big questions? *Environmental Health Perspectives*, 120(9), 1221–1229.
46. Branchet, P., Arpin-Pont, L., Piram, A., Boissery, P., Wong-Wah-Chung, P., & Doumenq, P. (2021). Pharmaceuticals in the marine environment: What are the present challenges in their monitoring? *Science of the Total Environment*, 766, 142644.
47. Bungau, S., Tit, D. M., Fodor, K., Cioca, G., Agop, M., Iovan, C., Cseppento, D. C. N., Bumbu, A., & Bustea, C. (2018). Aspects regarding pharmaceutical waste management in Romania. *Sustainability*, 10, 2788.
48. Burkina, V., Zlabek, V., & Zamaratskaia, G. (2015). Effects of pharmaceuticals present in the aquatic environment on Phase I metabolism in fish. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40(2), 430-444.

49. Buser, H. R., Poiger, T., & Müller, M. D. (1999). Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and wastewater. *Environmental Science & Technology*, 33(15), 2529-2535.
50. Caliani, I., De Marco, G., Cappello, T., Giannetto, A., Mancini, G., Ancora, S., Maisano, M., Parrino, V., Cappello, S., Bianchi, N., Oliva, S., Luciani, A., Mauceri, A., & Leonzio, C. (2022). Assessment of the effectiveness of a novel BioFilm-Membrane BioReactor oil-polluted wastewater treatment technology by applying biomarkers in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Toxicology*, 243, 106059.
51. Calibrone, A. L. (1985). *Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*. CRC Press.
52. Cappello, T., De Marco, G., Oliveri Conti, G., Giannetto, A., Ferrante, M., Mauceri, A., & Maisano, M. (2021). Time-dependent metabolic disorders induced by short-term exposure to polystyrene microplastics in the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 209, 111780.
53. Cappello, T., Giannetto, A., Parrino, V., Maisano, M., Oliva, S., De Marco, G., Guerriero, G., Mauceri, A., & Fasulo, S. (2018). Baseline levels of metabolites in different tissues of mussel *Mytilus galloprovincialis* (Bivalvia: Mytilidae). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part D: Genomics and Proteomics*, 26, 32–39.
54. Carere, M., Antoccia, A., Buschini, A., Frenzilli, G., Marcon, F., Andreoli, C., Gorbi, G., Suppa, A., Montalbano, S., Prota, V., De Battistis, F., Guidi, P., Bernardeschi, M., Palumbo, M., Scarcelli, V., Colasanti, M., D'Ezio, V., Persichini, T., Scalici, M., Sgura, A., & Mancini, L. (2021). An integrated approach for chemical water quality assessment of an urban river stretch through effect-based methods and emerging pollutants analysis with a focus on genotoxicity. *Journal of Environmental Management*, 300, 113549.
55. Caro, L. G., & Palade, G. E. (1964). Protein synthesis, storage, and discharge in the pancreatic exocrine cell: an autoradiographic study. *The Journal of Cell Biology*, 20(3), 473–495.
56. Carvalho, I. T., & Santos, L. (2016). Antibiotics in the Aquatic Environments: A Review of the European Scenario. *Environment International*, 94, 736-757.
57. Castaño-Ortiz, J. M., Gil-Solsona, R., Ospina-Alvarez, N., García-Pimentel, M. D. M., León, V. M., Santos, L. H. M. L. M., ... & Rodríguez-Mozaz, S. (2023). Bioaccumulation and fate of pharmaceuticals in a Mediterranean coastal lagoon: Temporal variation and impact of a flash flood event. *Environmental Research*, 228, 115887.
58. Cattaneo, A. G., Gornati, R., Chiriva-Internati, M., & Bernardini, G. (2009). Use of nanomaterials: The role of invertebrate testing. *Invertebrate Survival Journal*, 6(1), 78-97.
59. Cazaux C., 1965. Evolution de *Perinereis cultrifera* (Grübe) au cours d'un cycle annuel à Procès-Verbaux de la Société Linnéenne de Bordeaux, 101 : 1-18.
60. Chahouri, A., Yacoubi, B., Moukrim, A., & Banaoui, A. (2023). Bivalve molluscs as bioindicators of multiple stressors in the marine environment: Recent advances. *Continental Shelf Research*, 264, 105056.
61. Chandurvelan, R., Marsden, I. D., Glover, C. N., & Gaw, S. (2015). Assessment of a mussel as a metal bioindicator of coastal contamination: Relationships between metal bioaccumulation and multiple biomarker responses. *Science of the Total Environment*, 511, 663-675.
62. Cheng, L., Abraham, J., Zhu, J., Trenberth, K. E., Fasullo, J., Boyer, T., Locarnini, R., Zhang, B., Yu, F., Wan, L., Chen, X., Song, X., Liu, Y., & Mann, M. E. (2020). Record-setting ocean warmth continued in 2019. *State of the Planet*, 1, 1–13.
63. Choi, H., Park, M., Son, G., Jeong, J., Park, J., Mo, K., & Kang, P. (2020). Real-time significant wave height estimation from raw ocean images based on 2D and 3D deep neural networks. *Ocean Engineering*, 201, 107129.

64. Chouikh, N., Gillet, P., Langston, W. J., Cheggour, M., Maarouf, A., & Mouabad, A. (2019). First investigation of the composition and spatial distribution of polychaete feeding guilds from Essaouira protected coastal area (Atlantic coast of Morocco). *Applied Ecology and Environmental Research*, *17*(2), 3231-3249.
65. Cleuvers, M. (2004). Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *59*(3), 309-315.
66. Collado, N., Rodriguez-Mozaz, S., Gros, M., Rubirola, A., Barceló, D., Comas, J., Rodriguez-Roda, I., & Buttiglieri, G. (2014). Pharmaceuticals occurrence in a WWTP with significant industrial contribution and its input into the river system. *Environmental Pollution*, *185*, 202–212.
67. Commission de Protection des Eaux, du Patrimoine, de l'Environnement, du Sous-sol et des Chiroptères de Franche Comté. (2022). Paramètres physiques et chimiques des eaux et substances. CPEPESC. Retrieved from <https://cpepesc.org/6-nature-et-pollutions/2-eaux-et-milieus-aquatiques-sources-de-pollutions-et-atteintes/2-qualite-des-eaux-pollutions-etat-des-cours-deau/2-bonne-qualite-ou-pollution-des-eaux/parametres-physiques-et-chimiques-de-leau-indicateurs-des-pollutions/les-differents-parametres-physiques-et-chimiques-des-eaux-et-commentaires/>
68. Contardo-Jara, V., & Wiegand, C. (2008). Biotransformation and antioxidant enzymes of *Lumbriculus variegatus* as biomarkers of contaminated sediment exposure. *Chemosphere*, *70*, 1879-1888.
69. Correia, A. M., & Lopes, L. F. (2023). Revisiting biodiversity and ecosystem functioning through the lens of complex adaptive systems. *Diversity*, *15*(8), 895.
70. Cossu, C., Doyotte, A., Babut, M., Exinger, A., & Vasseur, P. (2000). Antioxidant biomarkers in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, in response to different contamination profiles of aquatic sediments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *45*(2), 106–121.
71. Cózar, A., Sanz-Martín, M., Martí, E., González-Gordillo, J. I., Ubeda, B., Gálvez, J. Á., Irigoien, X., & Duarte, C. M. (2015). Plastic accumulation in the Mediterranean Sea. *PloS One*, *10*(4), e0121762.
72. Crowther, C. (2020). *Assessing the impacts of metals and radionuclides on marine mussels: Proteomics and ecotoxicological approaches* (Doctoral dissertation, University of Plymouth).
73. Cunha, M., Silva, M. G., De Marchi, L., Morgado, R. G., Esteves, V. I., Meucci, V., Battaglia, F., Soares, A. M. M., Pretti, C., & Freitas, R. (2023). Toxic effects of a mixture of pharmaceuticals in *Mytilus galloprovincialis*: The case of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol and salicylic acid. *Environmental Pollution*, *324*, 121070.
74. da Fonseca, T. G., Abessa, D. M., & Bebianno, M. J. (2019). Effects of mixtures of anticancer drugs in the benthic polychaete *Nereis diversicolor*. *Environmental Pollution*, *252*, 1180-1192.
75. Daas, T., Younsi, M., Daas-Maamcha, O., Gillet, P., & Scaps, P. (2011). Reproduction, population dynamics, and production of *Nereis falsa* (Nereididae: Polychaeta) on the rocky coast of El-Kala National Park, Algerian. *Helgoland Marine Research*, *65*, 165–173.
76. Dai, G., Wang, B., Huang, J., Dong, R., Deng, S., & Yu, G. (2015). Occurrence and source apportionment of pharmaceuticals and personal care products in the Beiyun River of Beijing, China. *Chemosphere*, *119*, 1033-1039.
77. Dakhama, A., Dhainaut, A., & Bonet, F. (1985). Dégénérescence cellulaire intestinale chez l'Annélide Polychète *Perinereis cultrifera* au cours de l'épitoquie et après ablation du cerveau. *Journal of Reproduction Nutrition Développement*, *25*(3), 555-566.

78. Daughton, C. G., & Ternes, T. A. (1999). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? *Environmental Health Perspectives*, 107(6), 907-938.
79. Dauvin, J. C. (2023). Érosion de la biodiversité marine, méprise ou réalité: le cas des invertébrés marins benthiques en Manche (Atlantique Nord-Est). *VertigO*, 23(1), 1-32.
80. Dawood, M. A. (2021). Nutritional immunity of fish intestines: Important insights for sustainable aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), 642-663.
81. De Jesus Gaffney, V., Almeida, C. M., Rodrigues, A., Ferreira, E., Benoliel, M. J., & Cardoso, V. V. (2015). Occurrence of pharmaceuticals in a water supply system and related human health risk assessment. *Water Research*, 72, 199-208.
82. De Luca-Abbott, S. B., Richardson, B. J., McClellan, K. E., Zheng, G. J., Martin, M., & Lam, P. K. (2005). Field validation of antioxidant enzyme biomarkers in mussels (*Perna viridis*) and clams (*Ruditapes philippinarum*) transplanted in Hong Kong coastal waters. *Marine Pollution Bulletin*, 51(8-12), 694-707.
83. De Marco, G., Afsa, S., Galati, M., Billè, B., Parrino, V., Ben Mansour, H., & Cappello, T. (2022). Comparison of cellular mechanisms induced by pharmaceutical exposure to caffeine and its combination with salicylic acid in mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 93, 103888.
84. Dean, H. K. (2008). The use of polychaetes (*Annelida*) as indicator species of marine pollution: A review. *Revista de Biologia Tropical*, 56(4), 11-38.
85. Demeester, M.-L., & Mercier, V. (éds.). (2022). *La mer Méditerranée* (Vol. 1). Presses universitaires d'Aix-Marseille.
86. Dhainaut, A. (1970a). *Contribution à l'étude de la gamétogenèse des Néréidiens dans les conditions naturelles et en l'absence d'hormone cérébrale* (Doctoral dissertation, Université de Lille).
87. Dhainaut, A. (1970b). Étude cytochimique et ultrastructurale de l'évolution ovocytaire de *Nereis pelagica* L. (*Annélide Polychète*): L'ovogenèse naturelle. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, 96, 375-389.
88. Dhainaut, A. (1984). Aspects cytophysiologiques des coelomocytes de Néréidiens (*Annélides Polychètes*). *Archives d'Anatomie Microscopique*, 73, 133-150.
89. Di Biagio, V., Martellucci, R., Menna, M., Teruzzi, A., Amadio, C., Mauri, E., & Cossarini, G. (2023). Dissolved oxygen as an indicator of multiple drivers of the marine ecosystem: The southern Adriatic Sea case study. *State of the Planet*, 1, 1-13.
90. Díaz-Castañeda, V., & Reish, D. (2009). Polychaetes in environmental studies. *Annelids in Modern Biology*, 7, 203-227.
91. Dieguez, L. V., Mauffret, A., & Brooks, S. (2024). Model organisms in marine pollution. *Frontiers in Marine Science*, 11, 1402991.
92. Dinno, A. (2017). *dunn.test: Dunn's Test of Multiple Comparisons Using Rank Sums* (Version 1.3.5) [R package]. CRAN.
93. Durchon, M. (1967). Rôle du système nerveux dans la régénération chez les Annélides. *Bulletin de la Société Zoologique de France*, 92, 319-331.
94. Durchon, M., & Porchet, M. (1971). Premières données quantitatives sur l'activité endocrine du cerveau des Néréidiens au cours de leur cycle sexuel. *General and Comparative Endocrinology*, 16(3), 555-565.
95. Durou, C., & Mouneyrac, C. (2007). Linking steroid hormone levels to sexual maturity index and energy reserves in *Nereis diversicolor* from clean and polluted estuaries. *General and Comparative Endocrinology*, 150(1), 106-113.
96. Durou, C., Mouneyrac, C., & Amiard-Triquet, C. (2008). Environmental quality assessment in estuarine ecosystems: Use of biometric measurements and fecundity of the ragworm *Nereis diversicolor* (*Polychaeta, Nereididae*). *Water Research*, 42(8-9), 2157-2165.

97. Durou, C., Poirier, L., Amiard, J. C., Budzinski, H., Gnassia-Barelli, M., Lemenach, K., Peluhet, L., Mouneyrac, C., Roméo, M., & Amiard-Triquet, C. (2007). Biomonitoring in a clean and a multi-contaminated estuary based on biomarkers and chemical analyses in the endobenthic worm *Nereis diversicolor*. *Environmental Pollution*, 148(2), 445-458.
98. Dutrieux, E. (1989). Approche descriptive et expérimentale de l'impact des hydrocarbures sur la mangrove : le cas du delta de la Mahakam (*Bornéo, Indonésie*). Thèse de Doctorat de l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc. Montpellier, 276 p.
99. Ebele, A. J., Abdallah, M. A. E., & Harrad, S. (2017). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. *Emerging Contaminants*, 3(1), 1-16.
100. El-Beltagi, H. S., & Mohamed, H. I. (2013). Reactive oxygen species, lipid peroxidation and antioxidative defense mechanism. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41(1), 44-57.
101. Ellingsen, K., & Gray, J. S. (2002). Spatial patterns of benthic diversity: Is there a latitudinal gradient along the Norwegian continental shelf? *Journal of Animal Ecology*, 71(3), 373-389.
102. eteiro, L. G., Babarro, J. M. F., Labarta, U., & Fernández-Reiriz, M. J. (2006). Growth of *Mytilus galloprovincialis* after the Prestige oil spill. *ICES Journal of Marine Science*, 63(6), 1005–1013.
103. Etxabe, A. G., Pini, J. M., Short, S., Cunha, L., Kille, P., & Watson, G. J. (2021). Identifying conserved polychaete molecular markers of metal exposure: Comparative analyses using the *Alitta virens* (Annelida, Lophotrochozoa) transcriptome. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 240, 108913.
104. Fabbri, E., Valbonesi, P., & Moon, T. W. (2023). Pharmaceuticals in the marine environment: occurrence, fate, and biological effects. In *Contaminants of Emerging Concern in the Marine Environment* (pp. 11-71). Elsevier.
105. Faggio, C., Pagano, M., Alampì, R., Vazzana, I., & Felice, M. R. (2016). Cytotoxicity, haemolymphatic parameters, and oxidative stress following exposure to sub-lethal concentrations of quaternium-15 in *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Toxicology*, 180, 258-265.
106. Fauchald, K. (1977). *THE POLYCHAETE WORMS* Definitions and Keys to the Orders, Families and Genera.
107. Fauvel, P. (1923). *Polychètes errants* [Wandering Polychaetes]. - In: *Faune de France*. 4. Lechevaliers, Paris.
108. Fekadu, S., Alemayehu, E., Dewil, R., & Van der Bruggen, B. (2019). Pharmaceuticals in freshwater aquatic environments: A comparison of the African and European challenge. *Science of the Total Environment*, 654, 324-337.
109. Fekadu, S., Alemayehu, E., Dewil, R., & Van der Bruggen, B. (2019). Pharmaceuticals in freshwater aquatic environments: A comparison of the African and European challenge. *Science of The Total Environment*, 654, 324-337.
110. Fent, K., Escher, C., Caminada, D. (2006a). Estrogenic activity of pharmaceuticals and pharmaceutical mixtures in a yeast reporter gene system. *Reproductive Toxicology*, 22, 175–185.
111. Fent, K., Weston, A. A., Caminada, D. (2006b). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, 76(2), 122-159.
112. Ferreira, C. S. G., Nunes, B. A., de Melo Henriques-Almeida, J. M., & Guilhermino, L. (2007). Acute toxicity of oxytetracycline and florfenicol to the microalgae *Tetraselmis chuii* and to the crustacean *Artemia parthenogenetica*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67, 452–458.

113. Fidalgo E Costa, P., Sardá, R., Cancela da Fonseca, L. (1998). Life cycle, growth, and production of the polychaete *Nereis diversicolor* O.F. Müller in three lagoonal estuarine systems of the southwestern Portuguese coast (Odeceixe, Aljezur, and Carrapateira). *Écologie*, 29, 523-533.
114. Fischer, A., Dorresteijs, A. (2004). The polychaete *Platynereis dumerilii* (Annelida): a laboratory animal with spiralian cleavage, lifelong segment proliferation, and a mixed benthic/pelagic life cycle. *Bioessays*, 26(3), 314-325.
115. Flohé, L., Günzler, W. A. (1984). Assays of glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology*, 105, 114-121.
116. Fossi, M. C., Romeo, T., Baini, M., Panti, C., Marsili, L., Campani, T., Canese, S., Galgani, F., Druon, J.-N., Airoldi, S., Taddei, S., Fattorini, M., Brandini, C., & Lapucci, C. (2017). Plastic debris occurrence, convergence areas and fin whales feeding ground in the Mediterranean marine protected area Pelagos sanctuary: a modeling approach. *Frontiers in Marine Science*, 4, 254370.
117. Frédéric, O., & Yves, P. (2014). Pharmaceuticals in hospital wastewater: their ecotoxicity and contribution to the environmental hazard of the effluent. *Chemosphere*, 115, 31-39.
118. Freitas, R., Silvestro, S., Coppola, F., Meucci, V., Battaglia, F., Intorre, L., Soares, A.M.V.M., Pretti, C., Faggio, C. (2019). Biochemical and physiological responses induced in *Mytilus galloprovincialis* after a chronic exposure to salicylic acid. *Aquatic Toxicology*, 214, 105258.
119. Gambi, M. C., & Cigliano, M. (2006). Observations on reproductive features of three species of *Eunicidae* (Polychaeta) associated with *Posidonia oceanica* seagrass meadows in the Mediterranean Sea. *Scientia Marina*, 70(S3), 301-308.
120. Gaşowska-Bajger, B., Sosnowska, K., Gaşowska-Bodnar, A., & Bodnar, L. (2023). The effect of acetylsalicylic acid, as a representative non-steroidal anti-inflammatory drug, on the activity of myeloperoxidase. *Pharmaceuticals*, 16(7), 1012.
121. Ghirardini, A. V., Birkemeyer, T., Novelli, A. A., Delaney, E., Pavoni, B., & Ghetti, P. F. (1999). An integrated approach to sediment quality assessment: The Venetian lagoon as a case study. *Aquatic Ecosystem Health and Management*, 2(4), 435-447.
122. Giangrande, A., & Petraroli, A. (1991). Reproduction, larval development, and post-larval growth of *Naineris laevigata* (Polychaeta, Orbiniidae) in the Mediterranean Sea. *Marine Biology*, 111, 299-305.
123. Gillet, P., Mouloud, M., Durou, C., & Deutsch, B. (2008). Response of *Nereis diversicolor* population (Polychaeta, Nereididae) to the population impact-Authie and Seine estuaries (France). *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 76, 201-210.
124. Giménez-Bastida, J. A., Boeglin, W. E., Boutaud, O., Malkowski, M. G., & Schneider, C. (2019). Residual cyclooxygenase activity of aspirin-acetylated COX-2 forms 15R-prostaglandins that inhibit platelet aggregation. *FASEB Journal*, 33(1), 1033-104.
125. Goerke, H. (1971). Die Ernährungsweise der *Nereis* Arten (Polychaeta, Nereidae) der deutschen Küsten. *Veröffentlichungen des Instituts für Meeresforschung in Bremerhaven*, 13, 1-50.
126. Golding, D. W., & Yumono, E. (1994). Latent capacities for gametogenic cycling in the semelparous invertebrate *Nereis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 91, 11777-11781.
127. Gomes, I. B., Madureira, D., Simões, L. C., & Simões, M. (2019). The effects of pharmaceutical and personal care products on the behavior of *Burkholderia cepacia* isolated from drinking water. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 141, 87-93.

128. Gómez-Oliván, L. M., Galar-Martínez, M., García-Medina, S., Valdés-Alanís, A., Islas-Flores, H., & Neri-Cruz, N. (2014). Genotoxic response and oxidative stress induced by diclofenac, ibuprofen, and naproxen in *Daphnia magna*. *Drug and Chemical Toxicology*, 37(4), 391-399.
129. González-Delgado, S., Lozano-Bilbao, E., Hardisson, A., Paz, S., González-Weller, D., Rubio, C., & Gutiérrez, Á. J. (2024). Metal concentrations in echinoderms: Assessing bioindicator potential and ecological implications. *Marine Pollution Bulletin*, 205, 116619.
130. Grube, A. E. (1840). *Actinians, echinoderms and worms of the Adriatic and Mediterranean Seas*, Described from Personal Collections. J. H. Bon, Königsberg.
131. Guemouda, M., Meghlaoui, Z., Daas, T., Daas-Maamcha, O., & Scaps, P. (2014). Monitoring pollution in East Algerian coasts using biochemical markers in the polychaete annelid *Perinereis cultrifera*. *Annals of Biological Research*, 5(2), 31–40.
132. Gumbi, B. P., Moodley, B., Birungi, G., & Ndungu, P. G. (2017). Detection and quantification of acidic drug residues in South African surface water using gas chromatography-mass spectrometry. *Chemosphere*, 168, 1042–1050.
133. Gürlük, S. (2009). Economic growth, industrial pollution, and human development in the Mediterranean region. *Ecological Economics*, 68(8-9), 2327-2335.
134. Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249(22), 7130–7139.
135. Hagstrom, G. I., & Levin, S. A. (2017). Marine ecosystems as complex adaptive systems: emergent patterns, critical transitions, and public goods. *Ecosystems*, 20, 458-476.
136. Hamdy, R., Dorgham, M. M., Al-Rashidy, H. H., & Atta, M. M. (2020). Biometry and reproduction of three polychaete species from Egyptian coasts. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 24(7).
137. Hardege, J. D., Bartels-Hardege, H. D., Zeeck, E., & Grimm, F. T. (1990). Induction of swarming of *Nereis succinea*. In *Marine Biology* (Vol. 104). Springer-Verlag.
138. Harrell Jr, F. (2023). *Hmisc: Harrell Miscellaneous* (R package version 5.1-1). Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/package=Hmisc>
139. Hawash, H. B., Moneer, A. A., Galhoum, A. A., Elgarahy, A. M., Mohamed, W. A., Samy, M., El-Seedi, H. R., Gaballah, M. S., Mubarak, M. F., & Attia, N. F. (2023). Occurrence and spatial distribution of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the aquatic environment, their characteristics, and adopted legislations. *Journal of Water Process Engineering*, 52, 103490.
140. Hazen, E. L., Abrahms, B., Brodie, S., Carroll, G., Jacox, M. G., Savoca, M. S., Scales, K. L., Sydeman, W. J., & Bograd, S. J. (2019). Marine top predators as climate and ecosystem sentinels. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 17(10), 565-574.
141. Heberer, T. (2002). Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters*, 131(1-2), 5-17.
142. Herbert, C. E., Breton, S., Lemieux, H., & Blier, P. U. (2008). Epitoky in *Nereis (Neanthes) virens* (Polychaeta: Nereididae): A story.
143. Herpin, R. (1925). Recherches biologiques sur la reproduction et le développement de quelques annélides polychètes. *Bulletin de la Société des Sciences Naturelles de l'Ouest de la France*, 4, xxx–250.
144. Hoeger, U., Rebscher, N., & Geier, G. (1999). Metabolite supply in oocytes of *Nereis virens*: role of nucleosides. In Dorresteijn, A. W. C., & Westheide, W. (Eds.),

- Reproductive Strategies and Developmental Patterns in Annelids, Developments in Hydrobiology*. Springer, Dordrecht.
145. Hook, S. E., Gallagher, E. P., & Batley, G. E. (2014). The role of biomarkers in the assessment of aquatic ecosystem health. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 10(3), 327-341.
  146. Houtman, C. J., Kroesbergen, J., Lekkerkerker-Teunissen, K., & van der Hoek, J. P. (2014). Human health risk assessment of the mixture of pharmaceuticals in Dutch drinking water and its sources based on frequent monitoring data. *Science of the Total Environment*, 496, 54-62.
  147. Howarth, R. W. (2008). Coastal nitrogen pollution: A review of sources and trends globally and regionally. *Harmful Algae*, 8(1), 14-20.
  148. Hutchings, P. (1998). Biodiversity and functioning of polychaetes in benthic sediments. *Biodiversity & Conservation*, 7, 1133-1145.
  149. Ihaka, R., & Gentleman, R. (1996). R: a language for data analysis and graphics. *Computational and Graphical Statistics*, 5, 299-314.
  150. Intergovernmental Oceanographic Commission. (2022). *Ocean & Climate Village: reconnecting people to the ocean; a travelling exhibition*.
  151. Islam, M. S., Afroz, R., & Mia, M. B. (2019). Investigation of surface water quality of the Buriganga river in Bangladesh: laboratory and spatial analysis approaches. *Dhaka University Journal of Biological Sciences*, 28(2), 147-158.
  152. Johnston, G. (1865). A catalogue of the British non-parasitical worms in the collection of the British Museum. Order of the Trustees.
  153. Joyard, J. (2024). Répartition de la biomasse sur la planète. *Encyclopédie de l'Environnement*. Retrieved November 1, 2024, from <https://www.encyclopedie-environnement.org/vivant/repartition-biomasse-planete/>
  154. Jumars, P. A., Dorgan, K. M., & Lindsay, S. M. (2015). Diet of worms emended: an update of polychaete feeding guilds. *Annual Review of Marine Science*, 7(1), 497-520.
  155. Karadirek, I. E., Aktas, K., & Topkaya, B. (2019). Environmental pollution of the Mediterranean Sea: Evaluation of research activities in the Mediterranean Sea countries. *Fresenius Environmental Bulletin*, 28(2), 867-872.
  156. Karam, Q., Guerhazi, W., Subrahmanyam, M. N. V., Al-Enezi, Y., Ali, M., Leignel, V., & Annabi-Trabelsi, N. (2023). *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758) as a sentinel species to assess trace metal occurrence: A case study of Kuwait waters (Northwestern Arabian Gulf). *Toxics*, 11(5), 426.
  157. Kassambara, A. (2023). *ggcorrplot: Visualization of a Correlation Matrix using 'ggplot2'*. R package version 0.1.4.1. Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/package=ggcorrplot>
  158. Kassambara, A. (2023). *ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots*. R package version 0.6.0. Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr>
  159. Kermia, A. E. B., & Djebbar-Fouial, D. (2016). The occurrence of diclofenac in the particulate phase of wastewaters. *Algerian Journal of Environmental Science and Technology*, 2(2).
  160. Khelil, N., Larid, M., Grimes, S., Le Berre, I., & Peuziat, I. (2019). Challenges and opportunities in promoting integrated coastal zone management in Algeria: Demonstration from the Algiers coast. *Ocean & Coastal Management*, 168, 185-196.
  161. Kibria, M. G., Masuk, N. I., Safayet, R., Nguyen, H. Q., & Mourshed, M. (2023). Plastic waste: challenges and opportunities to mitigate pollution and effective management. *International Journal of Environmental Research*, 17(1), 20.
  162. Knox, G. A. (1977). The Antarctic polychaete fauna: its characteristics, distribution patterns, and evolution. *Adaptation within Antarctic Ecosystems*, 1111-1127.

163. Kookana, R. S., Williams, M., Boxall, A. B., Larsson, D. G., Gaw, S., Choi, K., Yamamoto, H., Thatikonda, S., Zhu, Y. G., & Carriquiriborde, P. (2014). Potential ecological footprints of active pharmaceutical ingredients: An examination of risk factors in low-, middle- and high-income countries. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1656), 20130586.
164. Kovalakova, P., Cizmas, L., McDonald, T. J., Marsalek, B., Feng, M., & Sharma, V. K. (2020). Occurrence and toxicity of antibiotics in the aquatic environment: A review. *Chemosphere*, 251, 126351.
165. Kumar, R., Verma, A., Shome, A., Sinha, R., Sinha, S., Jha, P. K., Kumar, R., Kumar, P., Shubham, Das, S., Sharma, P., & Vara Prasad, P. V. (2021). Impacts of plastic pollution on ecosystem services, sustainable development goals, and need to focus on circular economy and policy interventions. *Sustainability*, 13(17).
166. Kumirska, J. (2020). Special Issue "Pharmaceutical Residues in the Environment." *Molecules*, 25(12), 2941.
167. Kümmerer, K. (2010). Pharmaceuticals in the environment. *Annual Review of Environment and Resources*, 35(1), 57-75.
168. Kümmerer, K., Steger-Hartmann, T., & Meyer, M. (1997). Biodegradability of the anti-tumour agent ifosfamide and its occurrence in hospital effluents and communal sewage. *Water Research*, 31(11), 2705-2710.
169. Kuntke, F., de Jonge, N., Hesselsøe, M., & Nielsen, J. L. (2020). Stream water quality assessment by metabarcoding of invertebrates. *Ecological Indicators*, 111, 105982.
170. Kurt, G., Rezzag-Mahcene, H., Kus, S., Daas, T., & Villalobos-Guerrero, T. F. (2021). First record of the Lessepsian nereidid *Pseudonereis anomala* Gravier, 1899 (Annelida: Nereididae) in the western Mediterranean Sea. *Cahiers de Biologie Marine*, 62, 17-26.
171. Kuzmanović, M., López-Doval, J. C., De Castro-Català, N., Guasch, H., Petrović, M., Muñoz, I., Ginebreda, A., & Barceló, D. (2016). Ecotoxicological risk assessment of chemical pollution in four Iberian river basins and its relationship with the aquatic macroinvertebrate community status. *Science of the Total Environment*, 540, 324–333.
172. Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J. C., & Ramade, F. (Eds). (1997). *Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux*. Paris, Masson, 241-286.
173. Lan, J., Liu, P., Hu, X., & Zhu, S. (2024). Harmful algal blooms in eutrophic marine environments: causes, monitoring, and treatment. *Water*, 16(17), 2525.
174. Last, K. S., & Olive, P. J. W. (1999). Photoperiodic control of growth and segment proliferation by *Nereis (Neanthes) virens* in relation to state of maturity and season. *Marine Biology*, 134, 191–199.
175. Le Gal, Y., Lagadic, L., Le Bras, S., & Caquet, T. (1997). Charge énergétique en adénylates (CEA) et autres biomarqueurs associés au métabolisme énergétique.
176. Le Vern, L. (2022). Biomonitoring of two marine mollusks, the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and the limpet *Patella* sp. in three North Corsican ports and inter-annual comparisons.
177. Le, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). FactoMineR: An R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1–18.
178. Lecoq, M. (2023). How do medicines end up in our water and can we stop it? In partnership with The European Commission. *Euronews*.
179. Leseurre, C. (2022). Mécanismes de contrôle de l'absorption de CO<sub>2</sub> anthropique et de l'acidification des eaux dans les océans Atlantique Nord et Indien Austral (Doctoral dissertation, Sorbonne Université).
180. Levin, L. A. (1984). Life history and dispersal patterns in a dense infaunal polychaete assemblage: community structure and response to disturbance. *Ecology*, 65(4), 1185-1200.

181. Liang, Z., & Li, Q. X. (2018).  $\pi$ -Cation interactions in molecular recognition: Perspectives on pharmaceuticals and pesticides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(13), 3315-3323.
182. Lindqvist, N., Tuhkanen, T., & Kronberg, L. (2005). Occurrence of acidic pharmaceuticals in raw and treated sewages and in receiving waters. *Water Research*, 39(11), 2219-2228.
183. Lionetto, F., & Esposito Corcione, C. (2021). An overview of the sorption studies of contaminants on poly (Ethylene Terephthalate) microplastics in the marine environment. *Journal of Marine Science and Engineering*, 9(4), 445.
184. Livingstone, D. R. (2001). Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 42(8), 656-666.
185. Lloret, J., García-de-Vinuesa, A., & Demestre, M. (2024). How human health and well-being depends on healthy marine habitats in the Mediterranean: A review. *Heliyon*, 10(2).
186. Lolić, A., Paíga, P., Santos, L. H. M. L. M., Ramos, S., Correia, M., & Delerue-Matos, C. (2015). Assessment of non-steroidal anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in seawaters of North of Portugal: Occurrence and environmental risk. *Science of The Total Environment*, 508, 240-250.
187. López-Serna, R., Kasprzyk-Hordern, B., Petrović, M., & Barceló, D. (2013). Multi-residue enantiomeric analysis of pharmaceuticals and their active metabolites in the Guadalquivir River basin (South Spain) by chiral liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405, 5859-5873.
188. Lorrain-Soligon, L. (2023). Conséquences de l'augmentation de la salinité sur la faune des marais littoraux : le cas des amphibiens (Doctoral dissertation, Université de La Rochelle). *Université de La Rochelle*.
189. Luoma, S. N., Bryan, G. W., & Langston, W. J. (1982). Scavenging of heavy metals from particulates by brown seaweed. *Marine Pollution Bulletin*, 13(11), 394-396.
190. Madikizela, L. M., Tavengwa, N. T., & Chimuka, L. (2017). Status of pharmaceuticals in African water bodies: Occurrence, removal and analytical methods. *Journal of Environmental Management*, 193, 211-220.
191. Mahcene, H. R., Denis, F., Meziane, T., Maamcha, O., & Daas, T. (2022). General structure of Nereids of the East Coast of Algeria. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 15(1), 282-293.
192. Maher, W. A., Taylor, A. M., Batley, G. E., & Simpson, S. L. (2016). Bioaccumulation. In S. L. Simpson & G. E. Batley (Eds.), *Sediment Quality Assessment: A Practical Guide* (2nd ed., pp. 123-156). CSIRO Publishing.
193. Majumdar, D., Buch, V., Macwan, P., & Patel, J. (2010). Possible utilization of acrylic paint and copper phthalocyanine pigment sludge for vermiculture. *Waste Management & Research*, 28(5), 423-429.
194. Manduzio, H., Monsinjon, T., Galap, C., Leboulenger, F., & Rocher, B. (2004). Seasonal variations in antioxidant defences in blue mussels (*Mytilus edulis*) collected from a polluted area: major contributions in gills of an inducible isoform of Cu/Zn-superoxide dismutase and of glutathione S-transferase. *Aquatic Toxicology*, 70(1), 83-93.
195. Maranhão, L. A., Baena-Nogueras, R. M., Lara-Martín, P. A., DelValls, T. A., & Martín-Díaz, M. L. (2014). Bioavailability, oxidative stress, neurotoxicity and genotoxicity of pharmaceuticals bound to marine sediments. The use of the polychaete *Hediste diversicolor* as bioindicator species. *Environmental Research*, 134, 353-365.

196. Marcel, R. (1962). Cycle annuel de *Perinereis cultrifera* Grube (Annélide Polychète) à Alger. *Memoires de la Société des Sciences Naturelles et Mathématiques de Cherbourg*, 49, 39-54.
197. McEachran, A. D., Shea, D., Bodnar, W., & Nichols, E. G. (2016). Pharmaceutical occurrence in groundwater and surface waters in forests land-applied with municipal wastewater. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35(4), 898-905.
198. Mdaini, Z., El Cafsi, M., & Gagne, J. P. (2020). Seasonal trace metal contents in sediments and in the polychaete annelid *Marphysa sanguinea* (Montagu, 1813) in Tunis lagoon. *Cahiers de Biologie Marine*, 61(1), 9–24.
199. Meghlaoui, Z., Daas, T., Snani, M., Daas-Maamcha, O., & Scaps, P. (2015). Annual variations of the presence of Nereididae (Annelida: Polychaeta) from intertidal rocky shores along the east coast of Algeria. *Check List*, 11(6), 1808-1808.
200. Metcalfe, C. D., Koenig, B. G., Bennie, D. T., Servos, M., Ternes, T. A., & Hirsch, R. (2003). Occurrence of neutral and acidic drugs in the effluents of Canadian sewage treatment plants. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22, 2872–2880.
201. Mettam, C., Santhanam, V., & Havard, M. S. (1982). The oogenic cycle of *Nereis diversicolor* under natural conditions. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 62, 109-120.
202. Meyer, J. N., & De Giulio, R. T. (2003). Heritable adaptation and fitness costs in killifish (*Fundulus heteroclitus*) inhabiting a polluted estuary. *Ecological Applications*, 13, 490–503.
203. Mezzelani, A., Raggi, M. E., Marabotti, A., & Milanesi, L. (2016). Ochratoxin A as possible factor triggering autism and its male prevalence via epigenetic mechanism. *Nutritional Neuroscience*, 19(1), 43-46.
204. Mezzelani, M., Gorbi, S., & Regoli, F. (2018). Pharmaceuticals in the aquatic environments: Evidence of emerged threat and future challenges for marine organisms. *Marine Environmental Research*, 140, 41-60.
205. Mghili, B., De-la-Torre, G. E., Analla, M., & Aksissou, M. (2022). Marine macroinvertebrates fouled in marine anthropogenic litter in the Moroccan Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin*, 185, 114266.
206. Miliša, M., Stubbington, R., Datry, T., Cid, N., Bonada, N., Šumanović, M., & Milošević, D. (2022). Taxon-specific sensitivities to flow intermittence reveal macroinvertebrates as potential bioindicators of intermittent rivers and streams. *Science of the Total Environment*, 804, 150022.
207. Miller, M. E., Hamann, M., & Kroon, F. J. (2020). Bioaccumulation and biomagnification of microplastics in marine organisms: A review and meta-analysis of current data. *PloS One*, 15(10), e0240792.
208. Miron, G. Y., & Desrosiers, G. L. (1990). Distributions and population structures of polychaetes in the lower St. Lawrence Estuary, with special reference to environmental factors. In *Marine Biology*, 105(Vol. 105).
209. Mitra, A., Zaman, S., Mitra, A., & Zaman, S. (2020). Basics of Ecosystem. *Environmental Science - A Ground Zero Observation on the Indian Subcontinent*, 87-116.
210. Modassir, Y., & Ansari, A. (2000). Effect of petroleum hydrocarbon on physiological and biochemical parameters in an estuarine clam (*Paphia malabarica*). *Fishery Technology*, 37, 40-45.
211. Monteiro, M., Costa, R. S., Sousa, V., Marques, A., Sá, T., Thoresen, L., Aldaghi, S. A., Costamagna, M., Perucca, M., Kousoulaki, K., & Valente, L. M. P. (2024). Towards sustainable aquaculture: Assessing polychaete meal (*Alitta virens*) as an effective fishmeal alternative in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) diets. *Aquaculture*, 579, 740257.

212. Moreira, S. M., Lima, I., Ribeiro, R., & Guilhermino, L. (2006). Effects of estuarine sediment contamination on feeding and on key physiological functions of the polychaete *Hediste diversicolor*: laboratory and in situ assays. *Aquatic Toxicology*, 78(2), 186–201.
213. Morin-Crini, N., Crini, G., & Roy, L. (2017). *Eaux industrielles contaminées*. Presses universitaires de Franche-Comté.
214. Mortazavi, M. S., Sharifian, S., Nozar, S. L. M., Koohkan, H., & Dehghani, R. (2024). Introducing bio-indicator fish of the Persian Gulf based on health risk assessment of 27 commercial species. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 83, 127373.
215. Moumeni, N., Sebbih, A., Maamcha, O., Barour, C., & Daas, T. (2024). Effects of commonly therapeutic drug (acetylsalicylic acid) toxicity in terms of biomarkers determined and histological alterations in *Perinereis cultrifera* (Annelida: Polychaeta). *Applied Ecology and Environmental Research*, 22(5), 4185-4206.
216. Mouneyrac, C., Durou, C., Gillet, P., Hummel, H., & Amiard-Triquet, C. (2009). Linking energy metabolism, reproduction, abundance and structure of *Nereis diversicolor* populations. In C. Amiard-Triquet & P. S. Rainbow (Eds.), *Environmental Assessment of Estuarine Ecosystems: A Case Study* (p. 370). Taylor & Francis Group, LLC CRC Press.
217. Nagelkerken, I., & Munday, P. L. (2016). Animal behaviour shapes the ecological effects of ocean acidification and warming: Moving from individual to community-level responses. *Global Change Biology*, 22(3), 974–989.
218. Natalotto, A., Sureda, A., Maisano, M., Spanò, N., Mauceri, A., & Deudero, S. (2015). Biomarkers of environmental stress in gills of *Pinna nobilis* (Linnaeus 1758) from Balearic Island. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122, 9-16.
219. Navon, G., Kaplan, A., Avisar, D., & Shenkar, N. (2020). Assessing pharmaceutical contamination along the Mediterranean and Red Sea coasts of Israel: Ascidiaceans (*Chordata, Ascidiacea*) as bioindicators. *Marine Pollution Bulletin*, 160, 111510.
220. Ngigi, A. N., Magu, M. M., & Muendo, B. M. (2020). Occurrence of antibiotics residues in hospital wastewater, wastewater treatment plant, and in surface water in Nairobi County, Kenya. *Environmental Monitoring and Assessment*, 192(1), 18.
221. Nikolaou, A., Meric, S., & Fatta, D. (2007). Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387(4), 1225-1234.
222. Nunes, B., Campos, J. C., Gomes, R., Braga, M. R., Ramos, A. S., Antunes, S. C., & Correia, A. T. (2015). Ecotoxicological effects of salicylic acid in the freshwater fish *Salmo trutta fario*: antioxidant mechanisms and histological alterations. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 667–678.
223. Nunes, B., Verde, M. F., & Soares, A. M. V. M. (2015b). Biochemical effects of the pharmaceutical drug paracetamol on *Anguilla anguilla*. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(15), 11574–11584.
224. Nunes, C. N., Dos Anjos, V. E., & Quináia, S. P. (2019). Are there pharmaceutical compounds in sediments or in water? Determination of the distribution coefficient of benzodiazepine drugs in aquatic environment. *Pollution*, 251, 522-529.
225. Olive, P. J. W. (1995). Annual breeding cycles in marine invertebrates and environmental temperature: Probing the proximate and ultimate causes of reproductive patterns. *Invertebrate Reproduction & Development*, 27(1), 61–70.
226. Olive, P. J. W., & Garwood, P. R. (1981). Gametogenic cycle and population structure of *Nereis (Hediste) diversicolor* and *Nereis (Nereis) pelagica* from North East England. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*.
227. Olive, P. J., Porter, J. S., Sandeman, N. J., Wright, N. H., & Bentley, M. G. (1997). Variable spawning success of *Nephtys hombergi* (Annelida: Polychaeta) in

- response to environmental variation: A life history homeostasis? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 215, 237–249.
228. Olsgard, F., Brattegard, T., & Holthe, T. (2003). Polychaetes as surrogates for marine biodiversity: lower taxonomic resolution and indicator groups. *Biodiversity & Conservation*, 12, 1033-1049.
229. Osuoha, J. O., Anyanwu, B. O., & Ejileugha, C. (2023). Pharmaceuticals and personal care products as emerging contaminants: Need for combined treatment strategy. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 9, 100206.
230. Pagano, M., Capillo, G., Sanfilippo, M., Palato, S., Trischitta, F., Manganaro, A., & Faggio, C. (2016). Evaluation of functionality and biological responses of *Mytilus galloprovincialis* after exposure to quaternium-15 (methenamine 3-chloroallylochloride). *Molecules*, 21(2), 144.
231. Pagano, M., Savoca, S., Impellitteri, F., Albano, M., Capillo, G., & Faggio, C. (2022). Toxicological evaluation of acetylsalicylic acid in non-target organisms: chronic exposure on *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819). *Frontiers in Physiology*, 13, 920952.
232. Pagano, M., Stara, A., Aliko, V., & Faggio, C. (2020). Impact of neonicotinoids to aquatic invertebrates—in vitro studies on *Mytilus galloprovincialis*: A review. *Journal of Marine Science and Engineering*, 8(10), 801.
233. Pamungkas, J., Glasby, C. J., Read, G. B., Wilson, S. P., & Costello, M. J. (2019). Progress and perspectives in the discovery of polychaete worms (*Annelida*) of the world. *Helgoland Marine Research*, 73(1), 1-10.
234. Park, T., & Kim, W. (2017). Description of a new species for Asian populations of the “Cosmopolitan” *Perinereis cultrifera* (Annelida: Nereididae). *Zoological Science*, 34(3), 252-260.
235. Parra-Luna, M., Martín-Pozo, L., Hidalgo, F., & Zafra-Gómez, A. (2020). Common sea urchin (*Paracentrotus lividus*) and sea cucumber of the genus *Holothuria* as bioindicators of pollution in the study of chemical contaminants in aquatic media. *Ecological Indicators*, 113, 106185.
236. Pascoe, D., Karntanut, W., & Müller, C. T. (2003). Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian *Hydra vulgaris*. *Chemosphere*, 51(6), 521–528.
237. Pates, G., & Maceren-Pates, M. (2022). Notes on the morphological changes in the oocyte of the polychaete *Perinereis wilsoni* (Glasby and Hsieh 2006) from spawning to the early larval stage. *Invertebrate Reproduction & Development*, 66(1), 40-49.
238. Pereira, L. M., Davies, K. K., den Belder, E., Ferrier, S., Karlsson-Vinkhuyzen, S., Kim, H., ... & Lundquist, C. J. (2020). Developing multiscale and integrative nature–people scenarios using the Nature Futures Framework. *People and Nature*, 2(4), 1172-1195.
239. Petkova, E. P., Jack, D. W., Volavka-Close, N. H., & Kinney, P. L. (2013). Particulate matter pollution in African cities. *Air Quality, Atmosphere & Health*, 6(3), 603–614.
240. Piedade, F., Bio, S., & Nunes, B. (2020). Effects of common pharmaceutical drugs (paracetamol and acetylsalicylic acid) short-term exposure on biomarkers of the mussel *Mytilus* spp. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 73, 103276.
241. Pires, P., Pereira, A. M., Pena, A., & Silva, L. J. (2024). Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in the Aquatic Environment and Bivalves: The State of the Art. *Toxics*, 12(6), 415.
242. Piscopo, N. J., Mueller, K. P., Das, A., Hematti, P., Murphy, W. L., Palecek, S. P., Capitini, C. M., & Saha, K. (2018). Bioengineering solutions for manufacturing challenges in CAR T cells. *Biotechnology Journal*, 13(2), 10.
243. PNUE-PAM-CAR/ASP. (1995). *Protocole relatif aux Aires Spécialement Protégées et à la Diversité Biologique en Méditerranée (Barcelone, 1995)*. CAR/ASP

244. Pohlert, T. (2023). PMCMRplus: Calculate Pairwise Multiple Comparisons of Mean Rank Sums Extended. R package version 1.9.7. <https://CRAN.R-project.org/package=PMCMRplus>
245. Pook, C., Lewis, C., & Galloway, T. (2009). The metabolic and fitness costs associated with metal resistance in *Nereis diversicolor*. *Marine Pollution Bulletin*, 58(7), 1063–1071. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.02.003>
246. Porchet, M. (1974). Activité endocrine cérébrale chez les *Nereidae*: Données quantitatives, influence sur la teneur en glucides des ovocytes et du liquide coelomique, mécanisme régulateur de la sécrétion hormonale. Thèse de Doctorat en Sciences naturelles, Université de Lille, 222p.
247. Porchet, M. (1976). Données actuelles sur le contrôle endocrine de la maturation génitale des Néréidiens (Annélides Polychètes). *Annales de Biologie*, 7-8, 329-377.
248. Praskova, E., Zivna, D., Stepanova, S., Sevcikova, M., Blahova, J., Marsalek, P., Siroka, Z., Voslarova, E., & Svobodova, Z. (2012). Acute toxicity of acetylsalicylic acid to juvenile and embryonic stages of *Danio rerio*. *Neuroendocrinology Letters*, 33(3), 72-76.
249. Prevedelli, D., & Simonini, R. (2003). Life cycles in brackish habitats: adaptive strategies of some polychaetes from the Venice lagoon. *Oceanologica Acta*, 26.
250. Priya, T. P. T., Ayesha, A., & Srivastava, P. (2023). Mapping of climate change hotspots in Indian Western Himalayas. In *Earth Resources and Environmental Remote Sensing/GIS Applications XIV* (Vol. 12734, pp. 429-437). SPIE.
251. Pulgarin, A. (2012). Méthodes pour la datation des hydrocarbures déversés dans l'environnement. Université de Sherbrooke, Québec, Canada. PP.12-16.
252. Qiao, M., Ying, G. G., Singer, A. C., & Zhu, Y. G. (2018). Review of antibiotic resistance in China and its environment. *Environmental International*, 110, 160–172.
253. Qu, P., Pang, M., Wang, P., Ma, X., Zhang, Z., Wang, Z., & Gong, Y. (2022). Bioaccumulation of mercury along continuous fauna trophic levels in the Yellow River Estuary and adjacent sea indicated by nitrogen stable isotopes. *Journal of Hazardous Materials*, 432, 128631.
254. Quintana, J. B., Weiss, S., & Reemtsma, T. (2005). Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceuticals and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor. *Water Research*, 39(12), 2654-2664.
255. R Core Team. (2022). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
256. Rabiet, M., Togola, A., Brissaud, F., Seidel, J. L., Budzinski, H., & Elbaz-Poulichet, F. (2006). Consequences of treated water recycling as regards pharmaceuticals and drugs in surface and ground waters of a medium-sized Mediterranean catchment. *Environmental Science & Technology*, 40(17), 5282-5288.
257. Ramade, F. (2000). *Dictionnaire encyclopédique des pollutions*. Paris: Ediscience International, 640 p.
258. Ramdani, M. S., Rezzag-Mahcene, H., Daas-Maamcha, O., Daas, T., & Denis, F. (2020). Effects of environmental stress on the growth and reproduction of *Perinereis cultrifera* (Annelida, Polychaeta) from the eastern coasts of Algeria. *Biodiversity Journal*, 11(2), 505–526.
259. Ramdani, S. (2020). *Étude qualitative et quantitative de la macrofaune annélide du littoral Est algérien : Biologie, reproduction, histophysiologie et bioaccumulation* (Thèse de doctorat). Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie.
260. Read, G., & Fauchald, K. (2015). World Polychaeta Database. *World Register of Marine Species*.

261. Read, G., & Fauchald, K. (2018). World Polychaeta Database. Chrysopetalidae Ehlers, 1864.
262. Regoli, F., & Principato, G. (1995). Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis* exposed to metals in different field and laboratory conditions. Implications for a proper use of biochemical markers. *Aquatic Toxicology*, *31*, 143–164.
263. Regoli, F., Pellegrini, D., Winston, G. W., Gorbi, S., Giuliani, S., Virno-Lamberti, C., & Bompadre, S. (2002). Application of biomarkers for assessing the biological impact of dredged materials in the Mediterranean: the relationship between antioxidant responses and susceptibility to oxidative stress in the red mullet (*Mullus barbatus*). *Marine Pollution Bulletin*, *44*, 912–922.
264. Revelle, W. (2023). *psych: Procedures for Psychological, Psychometric, and Personality Research*. Northwestern University, Evanston, Illinois. R package version 2.3.6. <https://CRAN.R-project.org/package=psych>
265. Rezzag Mahcene, H., Denis, F., Meziane, T., Maamcha, O., & Daas, T. (2022). General structure of Nereids of the East Coast of Algeria. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, *15*(1), 282–293.
266. Rezzag Mahcene, H., Denis, F., Meziane, T., Maamcha, O., Daas, T. (2022): General structure of Nereids of the East Coast of Algeria. – *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation* *15*(1): 282-293.
267. Richardson, M. L., & Bowron, J. M. (1985). The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *37*(1), 1-12.
268. Richardson, M. L., & Bowron, J. M. (1985). The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *37*(1), 1-12.
269. Richmond, E. K., Rosi, E. J., Walters, D. M., Fick, J., Hamilton, S. K., Brodin, T., Sundelin, A., & Grace, M. R. (2018). A diverse suite of pharmaceuticals contaminates stream and riparian food webs. *Nature Communications*, *9*, 4491.
270. Roberts, P. H., & Thomas, K. V. (2006). The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment. *Science of the Total Environment*, *356*(1-3), 143-153.
271. RoLing, W. F., Milner, M. G., Jones, D. M., Lee, K., Daniel, F., Swannell, R. J., & Head, I. M. (2002). Robust hydrocarbon degradation and dynamics of bacterial communities during nutrient-enhanced oil spill bioremediation. *Applied and Environmental Microbiology*, *68*(11), 5537-5548.
272. Romero-Murillo, P., Gallego, J. L., & Leignel, V. (2023). Marine pollution and advances in biomonitoring in Cartagena Bay in the Colombian Caribbean. *Toxics*, *11*(7), 631.
273. Rouabah, A., & Scaps, P. (2003). Life cycle and population dynamics of the polychaete *Perinereis cultrifera* from the Algerian Mediterranean coast. *Marine Ecology*, *24*(2), 85–99.
274. Rouabah, L., Rouabah, A., Ferroudj, S., & Scaps, P. (2008a). Comparison of the life cycles of two populations of the polychaete *Perinereis cultrifera* from the Bay of Algiers (Mediterranean Sea). *Scientia Marina*, *72*(4), 767–778.
275. Rouabah, L., Rouabah, A., Ferroudj, S., & Scaps, P. (2008b). Comparison of the life cycles of two populations of the polychaete *Perinereis cultrifera* from the Bay of Algiers (Mediterranean Sea). *Scientia Marina*, *72*(4), 767–778.
276. Rouhi, A., Sifi, J., Gillet, P., & Deutsch, B. (2008). Reproduction and population dynamics of *Perinereis cultrifera* (Polychaeta: Nereididae) of the Atlantic coast, El Jadida, Morocco. *Cahiers de Biologie Marine*, *49*, 151-160.

277. Rouse, G., & Pleijel, F. (2001). *Polychaetes*. Oxford University Press.
278. Rudenko, N. N., Vetoshkina, D. V., Marenkova, T. V., & Borisova-Mubarakshina, M. M. (2023). Antioxidants of non-enzymatic nature: Their function in higher plant cells and the ways of boosting their biosynthesis. *Antioxidants*, 12(11), 2014.
279. Rugebregt, M. J., Opier, R. D. A., Abdul, M. S., Triyulianti, I., Kesaulya, I., Widiaratih, R., Sunuddin, A., & Kalambo, Y. (2023, May). Changes in pH associated with temperature and salinity in the Banda Sea. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 1163, No. 1, p. 012001). IOP Publishing.
280. Rzymiski, P., Drewek, A., & Klimaszuk, P. (2017). Pharmaceutical pollution of the aquatic environment: An emerging and enormous challenge. *Limnological Review*, 17(2), 97-107.
281. Sabha, I., Hamid, A., Bhat, S. U., & Islam, S. T. (2022). Water quality and anthropogenic impact assessment using macroinvertebrates as bioindicators in a stream ecosystem. *Water, Air, & Soil Pollution*, 233(9), 387.
282. Santarivová, M., Zadinová, K., Vostrá-Vydrová, H., Kolářová, M. F., Kurhan, S., & Chaloupková, H. (2023). Effect of environmental concentration of carbamazepine on the behaviour and gene expression of laboratory rats. *Animals*, 13(13), 2097.
283. Santos, L. H. M. L. M., Araújo, A. N., Fachini, A., Pena, A., Delerue-Matos, C., & Montenegro, M. C. B. S. M. (2010). Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, 175(1-3), 45–95.
284. Santos, L. H., Gros, M., Rodriguez-Mozaz, S., Delerue-Matos, C., Pena, A., Barceló, D., & Montenegro, M. C. B. (2013). Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: Identification of ecologically relevant pharmaceuticals. *Science of the Total Environment*, 461, 302-316.
285. Santovito, G., Piccinni, E., Cassino, A., Irato, P., & Albergoni, V. (2005). Antioxidant responses of the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*, to environmental variability of dissolved oxygen. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 140, 321-329.
286. Sarkar, A., Lehto, S. M., Harty, S., Dinan, T. G., Cryan, J. F., & Burnet, P. W. (2016). Psychobiotics and the manipulation of bacteria–gut–brain signals. *Trends in Neurosciences*, 39(11), 763-781.
287. Sato, T., Qadir, M., Yamamoto, S., Endo, T., & Zahoor, A. (2013). Global, regional, and country level need for data on wastewater generation, treatment, and use. *Agricultural Water Management*, 130, 1–13.
288. Savoca, S., Matanović, K., D'Angelo, G., Vetri, V., Anselmo, S., Bottari, T., Mancuso, M., Kužir, S., Spanò, N., Capillo, G., Di Paola, D., Valić, D., & Gjurčević, E. (2021). Ingestion of plastic and non-plastic microfibers by farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and common carp (*Cyprinus carpio*) at different life stages. *Science of the Total Environment*, 782, 146851.
289. Scaps, P. (2002). A review of the biology, ecology, and potential use of the common ragworm *Hediste diversicolor* (O. F. Müller) (Annelida: Polychaeta). *Hydrobiologia*, 470, 203–218.
290. Scaps, P., Brenot, S., Retiere, C., & Desrosiers, G. (1998). Space occupation by the polychaetous annelid *Perinereis cultrifera*: Influence of substratum heterogeneity and intraspecific interactions on burrow structure. In *Marine Biology Association U.K* (Vol. 78).
291. Scaps, P., Retière, C., Desrosiers, G., & Miron, G. (1992). Dynamique d'une population de *Perinereis cultrifera* (Grübe) de la côte Nord Bretagne. *Cahiers de Biologie Marine*, 33, 477-477.

292. Scaps, P., Rouabah, A., & Lepre, A. (2000). Morphological and biochemical evidence that *Perinereis cultrifera* (Polychaeta: Nereididae) is a complex of species.
293. Schaidler, L. A., Rudel, R. A., Ackerman, J. M., Dunagan, S. C., & Brody, J. G. (2014). Pharmaceuticals, perfluorosurfactants, and other organic wastewater compounds in public drinking water wells in a shallow sand and gravel aquifer. *Science of the Total Environment*, 468, 384-393.
294. Schaub, J. M., Quirino, W. P., de Paula, M. S., Milagres, M. R., Motta, D. G., Zamprogno, G. C., Otegui, M. B. P., Ocaris, E. R. Y., & da Costa, M. B. (2023). Abundance of microplastic in different coastal areas using *Phragmatopoma caudata* (Kroyer in Morch, 1863) (Polychaeta: Sabelariidae) as an indicator. *Science of the Total Environment*, 880, 163219.
295. Schrör, K. (2022). *Acetylsalicylic acid*. Berlin, Boston: De Gruyter.
296. Sebbih, A. (2023). *Étude de la reproduction d'une espèce sentinelle dans la côte Est du pays : Aspects bioécologique, physiologique et histopathologique* (Thèse de doctorat). Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie.
297. Sebbih, A., Moumeni, N., Belfetmi, N. Z., Daas, T., & Maamcha, O. (2023). Marine pollution effects on the reproduction process of *Perinereis cultrifera* (Annelida, Polychaeta) in Algeria. *Biosystems Diversity*, 31(1), 113-122.
298. Semedo, M., Reis-Henriques, M. A., Rey-Salgueiro, L., Oliveira, M., Delerue-Matos, C., Morais, S., et al. (2012). Metal accumulation and oxidative stress biomarkers in octopus (*Octopus vulgaris*) from Northwest Atlantic. *Science of the Total Environment*, 433, 230-237.
299. Simon, E. W., & Beevers, H. (1951). The quantitative relationship between pH and the activity of weak acids and bases in biological experiments. *Science*, 114(2953), 124–126.
300. Singh, B., Lal, S., & Arora, M. K. (2024). Achieving sustainability eliminating marine pollution and fulfilling SDG-14: A global legal framework. *National Journal of Environmental Law*, 7(1), 94-96.
301. Somerfield, P. J., Gee, J. M., & Warwick, R. M. (1994). Benthic community structure in relation to an instantaneous discharge of wastewater from a tin mine. *Marine Pollution Bulletin*, 28(6), 363-369.
302. Stara, A., Pagano, M., Capillo, G., Fabrello, J., Sandoval, M., Albano, M., Zuskova, E., Velisek, J., Matozzo, V., & Faggio, C. (2020). Acute effects of neonicotinoid insecticides on *Mytilus galloprovincialis*: A case study with the active compound thiacloprid and the commercial formulation Calypso 480 SC. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 203, 110980.
303. Sureda, A., Box, A., Tejada, S., Blanco, A., Caixach, J., & Deudero, S. (2011). Biochemical responses of *Mytilus galloprovincialis* as biomarkers of acute environmental pollution caused by the Don Pedro oil spill (Eivissa Island, Spain). *Aquatic Toxicology*, 101(3-4), 540-549.
304. Świacka, K., Szaniawska, A., & Caban, M. (2019). Evaluation of bioconcentration and metabolism of diclofenac in mussels *Mytilus trossulus* - laboratory study. *Marine Pollution Bulletin*, 141, 249–255.
305. Sylvius, L., Ferrer, F., Lemus, C., Ravin, J. S., & Morin, S. (2023). Contribution to the study of seawater desalination effluents: chemical and toxicological analysis of a discharge after using a mixing basin (Martinique). *Desalination and Water Treatment*, 316, 22-33.
306. Szabelak, A., & Bownik, A. (2021). Behavioral and physiological responses of *Daphnia magna* to salicylic acid. *Chemosphere*, 270, 128660.

307. Tauxe-Wuersch, A., De Alencastro, L. F., Grandjean, D., & Tarradellas, J. (2005). Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. *Water Research*, 39(9), 1761-1772.
308. Ternes, T. A. (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research*, 32(11), 3245-3260.
309. Ternes, T. A., & Hirsch, R. (2000). Occurrence and behavior of X-ray contrast media in sewage facilities and the aquatic environment. *Environmental Science & Technology*, 34(13), 2741-2748.
310. Ternes, T. A., Kreckel, P., & Mueller, J. (1999). Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants—II. Aerobic batch experiments with activated sludge. *Science of the Total Environment*, 225(1-2), 91-99.
311. Tlili, S., & Mouneyrac, C. (2021). New challenges of marine ecotoxicology in a global change context. *Marine Pollution Bulletin*, 166, 112242.
312. Togola, A., & Budzinski, H. (2008). Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. *Journal of Chromatography A*, 1177(1), 150-158.
313. Torres, M. A., Barros, M. P., Campos, S. C., Pinto, E., Rajamani, S., Sayre, R. T., & Colepicolo, P. (2008). Biochemical biomarkers in algae and marine pollution: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71(1), 1-15.
314. Turrens, J. F. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of Physiology*, 552(2), 335-344.
315. Tylianakis, J. M., Didham, R. K., Bascompte, J., & Wardle, D. A. (2008). Global change and species interactions in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 11, 1351-1363.
316. United Nations (Ed.). (2017). Arctic Ocean. In *The First Global Integrated Marine Assessment: World Ocean Assessment I* (pp. 705–728). Cambridge University Press.
317. Vagi, M. C., Petsas, A. S., & Kostopoulou, M. N. (2021). Potential effects of persistent organic contaminants on marine biota: A review on recent research. *Water*, 13(18), 2488.
318. Vasquez, M. I., Lambrianides, A., Schneider, M., Kümmerer, K., & Fatta-Kassinos, D. (2014). Environmental side effects of pharmaceutical cocktails: What we know and what we should know. *Journal of Hazardous Materials*, 279, 169-189.
319. Vassalli, A., Li, S., & Tafti, M. (2015). Comment on “Antibodies to influenza nucleoprotein cross-react with human hypocretin receptor 2.” *Science Translational Medicine*, 7(314), 314le2.
320. Ventura, D., Grosso, L., Pensa, D., Casoli, E., Mancini, G., Valente, T., Scardi, M., & Rakaj, A. (2023). Coastal benthic habitat mapping and monitoring by integrating aerial and water surface low-cost drones. *Frontiers in Marine Science*, 9, 1096594.
321. Verlicchi, P., Al Aukidy, M., & Zambello, E. (2012). Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load, and environmental risk after a secondary treatment—a review. *Science of the Total Environment*, 429, 123-155.
322. Vieno, N., Hallgren, P., Wallberg, P., Pyhälä, M., Zandaryaa, S., & Baltic Marine Environment Protection Commission. (2017). Pharmaceuticals in the aquatic environment of the Baltic Sea region: A status report (Vol. 1). UNESCO Publishing.
323. Waleng, N. J., & Nomngongo, P. N. (2022). Occurrence of pharmaceuticals in the environmental waters: African and Asian perspectives. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 4, 50-66.
324. Waring, J., & Maher, W. (2005). Arsenic bioaccumulation and species in marine polychaeta. *Applied Organometallic Chemistry*, 19(8), 917–929.
325. Weis, D., Harpp, K. S., Harrison, L. N., Boyet, M., Chauvel, C., Farnetani, C. G., Finlayson, V. A., Lee, K. K. M., Parai, R., Shahar, A., & Williamson, N. M. B. (2023).

- Earth's mantle composition revealed by mantle plumes. *Nature Reviews Earth & Environment*, 4(9), 604-625.
326. Whitehead, P., Bussi, G., Hossain, M. A., Dolk, M., Das, P., Comber, S., Peters, R., Charles, K. J., Hope, R., & Hossain, M. S. (2018). Restoring water quality in the polluted Turag-Tongi-Balu river system, Dhaka: Modelling nutrient and total coliform intervention strategies. *Science of the Total Environment*, 631, 223–232.
327. Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.
328. Williamson, P., & Guinder, V. A. (2021). Effect of climate change on marine ecosystems. In T. Letcher (Ed.), *The Impacts of Climate Change: A Comprehensive Study of Physical, Biophysical, Social, and Political Issues* (pp. 115-176). Elsevier.
329. Winston, G. W., & Di Giulio, R. T. (1991). Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*, 19, 137-161.
330. Wirgin, I., & Waldman, J. R. (2004). Resistance to contaminants in North American fish populations. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 552, 73–100.
331. World Bank. (2024). *World Bank list of economies*. Retrieved February 14, 2024, from <https://databank.worldbank.org/data/download/site-content/CLASS.xls>
332. Wu, B. L., Sun, R. P., & Yang, D. J. (1985). *Nereididae (Polychaetous Annelids) of the Chinese coast*. China Ocean Press Beijing Springer Verlag Berlin.
333. Yarsan, E., & Yipel, M. (2013). The important terms of marine pollution: biomarkers and biomonitoring, bioaccumulation, bioconcentration, biomagnification. *J Mol Biomark Diagn S*, 1(2).
334. Youssef, M., El-Sorogy, A., Al-Kahtany, K., & Saleh, M. (2021). Benthic foraminifera as bio-indicators of coastal marine environmental contamination in the Red Sea-Gulf of Aqaba, Saudi Arabia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 106(6), 1033-1043.
335. Zalewska, T., & Danowska, B. (2017). Marine environment status assessment based on macrophytobenthic plants as bio-indicators of heavy metals pollution. *Marine Pollution Bulletin*, 118(1-2), 281-288.
336. Zenker, A., Cicero, M. R., Prestinaci, F., Bottoni, P., & Carere, M. (2014). Bioaccumulation and biomagnification potential of pharmaceuticals with a focus to the aquatic environment. *Journal of environmental management*, 133, 378-387.
337. Zghal, F., & Ben Amor, Z. (1989). Sur la présence en Méditerranée de la race épitoque de *Perinereis cultrifera* (Polychètes). *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, 66(3-4), 293–301.
338. Zhao, Y., Lin, S., Choi, J.-W., Bediako, J. K., Song, M.-H., Kim, J.-A., Cho, C.-W., & Yun, Y.-S. (2019). Prediction of adsorption properties for ionic and neutral pharmaceuticals and pharmaceutical intermediates on activated charcoal from aqueous solution via LFER model. *Chemical Engineering Journal*, 362, 199–206.
339. Ziveri, P., Gray, W. R., Anglada-Ortiz, G., Manno, C., Grelaud, M., Incarbona, A., Rae, J. W. B., Subhas, A. V., Pallacks, S., White, A., Adkins, J. F., & Berelson, W. (2023). Pelagic calcium carbonate production and shallow dissolution in the North Pacific Ocean. *Nature Communications*, 14(1), 805.
340. Zivna D, Plhalova L, Praskova E, Stepanova S, Siroka Z, Sevcikova M, Blahova J, Bartoskova M, Marsalek P, Skoric M, Svobodova Z. (2013) : Oxidative stress parameters in fish after subchronic exposure to acetylsalicylic acid. – *Neuro Endocrinol Lett* 34(2) :116-22
341. Zivna, D., Blahova, J., Siroka, Z., Plhalova, L., Marsalek, P., Doubkova, V., Zelinska, G., Vecerek, V., Tichy, F., Sehonova, P., Svobodova, Z. (2016) : The effects of salicylic acid on juvenile zebrafish (*Danio rerio*) under flow-through conditions. – *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 97(3): 323–330.

342. Zribi, S., Zghal, F., & Tekaya, S. (2007). Ovogenèse de *Perinereis macropus* Claparède 1870 (Annélide, Polychète) dans le golfe de Gabès (Tunisie). *Comptes Rendus. Biologies*, 330, 199-204.

# **ANNEXE**

# EFFECTS OF COMMONLY THERAPEUTIC DRUG (ACETYLSALICYLIC ACID) TOXICITY IN TERMS OF BIOMARKERS DETERMINED AND HISTOLOGICAL ALTERATIONS IN *PERINEREIS CULTRIFERA* (ANNELIDA: POLYCHAETA)

MOUMENI, N.<sup>1</sup> – SEBBIH, A.<sup>1</sup> – MAAMCHA, O.<sup>1</sup> – BAROUR, C.<sup>2</sup> – DAAS, T.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Applied Animal Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Badji Mokhtar University, Annaba 23000, Algeria

<sup>2</sup>Laboratory of Aquatic and Terrestrial Ecosystems (LEAT), Department of Biology, Faculty of Natural and Life Sciences, Mohamed Cherif Messaâdia University, BP1553, Annaba Road, Souk Ahras, Algeria

\*Corresponding author

e-mail: tarek63daas@yahoo.fr; phone: +213-55-007-0781

(Received 2<sup>nd</sup> Mar 2024; accepted 8<sup>th</sup> Jul 2024)

**Abstract.** The Mediterranean Sea is one of the busiest areas worldwide in terms of considerable anthropogenic disturbances, such as pollution by pharmaceuticals. Acetylsalicylic acid (ASA) is one of the most persistent non-steroidal anti-inflammatory drugs affecting aquatic organisms in seawater. This study was therefore designed to elucidate the biological effects of acetylsalicylic acid through short-term and long-term exposures (Acute Toxicity: AT and Chronic Toxicity: CT) to polychaetes *Perinereis cultrifera* as a non-target organism in the Algerian east coast. During an acute (96 h) and chronic period (30 days), Polychaetes were exposed to three concentrations of Acetylsalicylic acid for each treatment. The present work also aimed to assess the acute and chronic effects of acetylsalicylic acid on selected oxidative stress biomarkers [catalase: CAT, glutathione peroxidase: GPx and glutathione S-transferase: GST], as well as histological alterations in the oocyte structure and the digestive epithelium. Overall, the obtained results showed that acetylsalicylic acid significantly changed the activity of catalase and biomarkers related to the redox status of the organisms in each toxicity. In response to acetylsalicylic acid exposure, we observed a thinner and resorbed digestive epithelium with a reduction in the number and the diameters of oocytes which manifests by a weakness in the amount of yolk-grains.

**Keywords:** therapeutic drug, *Perinereis cultrifera*, toxicity, histological study, oxidative stress biomarkers

## Introduction

The Mediterranean Sea is bordered by 21 countries, located on three continents with a total population of around 500 million in 2016 (Karadirek et al., 2019). Marine ecosystems exhibit a high susceptibility to pollution due to increased anthropogenic activities (Chandurvelan et al., 2015). Thereby, various complex mixtures of contaminants found in these zones are often the principal factors causing degradation of water quality (Blaise et al., 2016).

The Mediterranean basin includes high income and lower to upper-middle income countries having key differences covering factors such as population and demographics economic growth and industrialization, pharmaceutical manufacture and prescriptions, treatment, disposal and reuse of waste and wastewater (Gürlük, 2009; Kookana et al., 2014). Seventy percent of wastewater is generated in high income countries, such as France, Italy, followed by upper-middle income countries 38% such as Algeria, Croatia, Turkey and lower-middle income countries 30% such as Morocco, Syria and Tunisia

(Sato et al., 2013; Madikizela et al., 2017; World Bank List of Economies, 2017). Chronic exposure to trace levels of pharmaceutical mixtures can be substantial and may cause possible threats to the aquatic environment (Fent et al., 2006a) and also to human health (de Jesus Gaffney et al., 2015), with adverse effects such as antibiotic resistance (Qiao et al., 2018; Sabri et al., 2018), and endocrine disruptive conditions (Fent et al., 2006b).

Pharmaceutical active compounds (PhACs) play a major role as an essential medical treatment for humans and other animals. It is estimated that hundreds of tons of PhACs are consumed annually and the numbers are increasing year by year (Fekadu et al., 2019). PhACs are complex, organic molecules presenting different physico-chemical and biological properties. They are classified according to therapeutic aim, including analgesics and anti-inflammatory drugs, antibiotics, beta-blockers, lipid regulators, contraceptives, neuractive compounds, and many others (Alvarez-Muñoz et al., 2016). Hundreds of PhACs have already been found in the marine environment, ranging from low ng/L to a few µg/L (Fent et al., 2006a; Aspin-Pont et al., 2016). Mezzelani et al. (2018) presented data from over 20 countries regarding various PhACs concentrations detected in seawater samples, irregular high concentrations have been detected in marine waters on several occasions (Togola and Budzinski, 2008).

The ASA is a non-steroidal anti-inflammatory, antipyretic, and analgesic drug (Pascoe et al., 2003). These non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) stand out to be the group of drugs with the highest worldwide consumption (Fent et al., 2006a). This drug was the first identified pharmaceutical sewage influent/effluent (Daughton and Ternes, 1999). Therefore, there are reports of the presence of various concentrations of this drug in aquatic media around the globe (Richardson and Bowron, 1985; Daughton and Ternes, 1999; Rabiet et al., 2006; Tambosi et al., 2010; Lolić et al., 2015). The mechanism of its toxic action has not been fully elucidated (Gómez-Oliván et al., 2014; Freitas et al., 2019; Nunes, 2019; Szabelak and Bownik, 2021; Afsa et al., 2023) but it is known that this compound may induce toxicity in organisms like, for example, *Daphnia magna* (Cleuvers, 2004). In addition, ASA has been shown to induce oxidative stress in fish (Nunes et al., 2015b).

The presence of different contaminants is a possible source of oxidative stress and could induce variations in antioxidant enzyme activities (Santovito et al., 2005). Differences in antioxidant enzyme activities have been observed among populations of invertebrate marine organisms from polluted and unpolluted areas (Regoli and Principato, 1995; Livingstone, 2001; Box et al., 2007; Natalotto et al., 2015). The use of biomarkers to analyze the effects of exposure to chemical contaminants in the aquatic environment is more extended in the actuality (Cossu et al., 2000; Regoli et al., 2002; Ferreira et al., 2007; Sureda et al., 2011; Semedo et al., 2012; Natalotto et al., 2015).

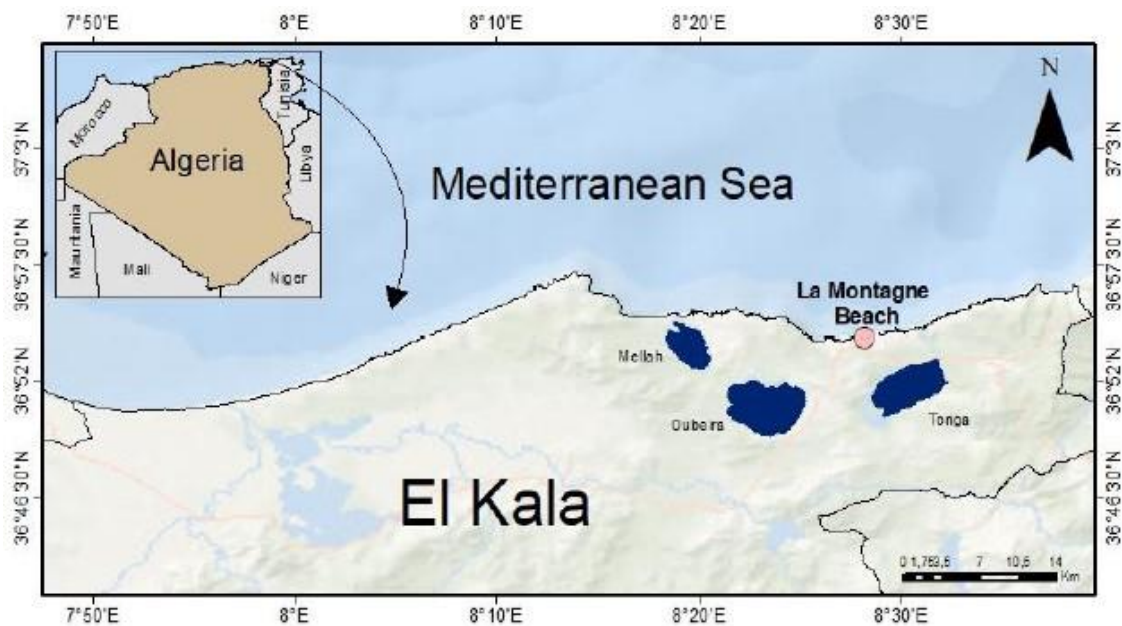
The aim of this study is to evaluate the acute and chronic toxicity in the laboratory on the Polychaete *P. cultrifera* by analyzing the weight, the oocyte diameter and the response of the antioxidant enzyme activities (CAT, GST and GPx). In addition, a histological study was also carried out to examine the oocyte structure and the digestive epithelium thickness.

## Material and methods

### Study site

Sampling operation was carried out on a beach called la Montagne (36° 53'53.33" N, 08°27'3.28" W) located in a town called El-Kala in El-Tarf City, eastern Algerian coast

(Fig. 1). El-Kala is bordered on the North by the Mediterranean Sea, on the East by the Algerian-Tunisian border, on the West by the plains of Annaba City and on the South by the mountains of the Medjerda. The sampling site was classified as a biosphere reserve by UNESCO in 1990, it is also considered as a reference site (Belfetmi et al., 2020; Ramdani et al., 2021).



**Figure 1.** The sampling geographic location in the north-east of Algeria

### ***Worms maintenance and experimental plan***

The *P. cultrifera* individuals were chosen as an assay organism due to their wide geographical distribution but also for their abundance and availability.

The sampling method is a simple random technic; it consists of taking random samples on an area of 1 m<sup>2</sup> quadrat. The superficial layer of the rock which shelters Polychaete annelids as well as a very rich fauna and flora in terms of diversity was harvested by hand using a scraper at low tide (0.1 m) in the intertidal zone. The hole sample was placed in a glass container including seawater from the study site, then stored and transported in a cooler to the laboratory. Worms were rinsed with seawater of the original site then dried and identified under a binocular magnifying glass based on the shape and distribution of the paragnaths which are key elements in the description of the genus *Perinereis* (Fauvel, 1923). The females worms were placed under laboratory water-controlled conditions using a multiparameter oximeter (Multi 340i/SET), maintaining temperature at 18°C, salinity 30 PPT, pH 8, dissolved oxygen 6 mg/L.

The selected individuals for the ASA toxicity testing were placed in aquariums filled with water (6 L per aquarium) in the laboratory for 48 h before experimentation (the acclimatization period) and a 12-h light/dark cycle was also maintained. Organisms were not fed during the acclimatization period as well as for acute toxicity; in contrast to chronic toxicity, individuals were fed every 48 hours with a commercial food in flakes of TetraMin. The oxygen supply was provided by oxygen pumps, in order to simulate the natural conditions of the Polychaete annelid environment. Artificial

galleries were placed within the aquariums; the latter was covered in order to avoid the risk of evaporation of the tested molecule.

After the acclimatization period, the treatment of *P. cultrifera* adults with ASA was conducted in aquariums (31× 16× 20 cm) as follows: distribution of 120 individuals over 8 aquariums at the rate of 15 individuals per aquarium. The first one served as a control for acute toxicity and the second one served as a control for CT, in these two aquariums there was no exposure to the tested molecule. Individuals in the remaining aquariums were exposed to ascending concentrations (C) of ASA in order to study the effect of AT (Aquarium 1: 2.5 mg/L, Aquarium 2: 25 mg/L, Aquarium 3: 250 mg/L, and that for 96 h for the different concentrations) and CT (Aquarium 4: 0.005 mg/L, Aquarium 5: 0.1 mg/L, Aquarium 6: 2 mg/L, for 30 days for the different concentrations) (Gomes et al., 2019; Gumbi et al., 2017).

After exposure, 12 of the 15 individuals in each aquarium were intended for biomarkers determination while the rest were stored in formalin solution (9%) until histological study. The weight (W: the fresh weight wiped), oocyte diameter (OD) and digestive epithelium thickness (DET) were calculated for each female and its correlation was assessed by using the Spearman coefficient.

### **Biochemical markers**

#### *Catalase (CAT)*

The activity of catalase (CAT) (200  $\mu$ L of tissue homogenate, in a total volume of 1000  $\mu$ L) was determined according to (Caliborne, 1985), method that monitors the decomposition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (final concentration of 500 mM) at  $\lambda$  equal to 240 nm and using a spectrophotometric (“Agilent Technologies” type CARY 60 UV-Vis.). This activity was expressed in  $\mu$ M of hydrolyzed substrate per minute per milligram of protein.

#### *Glutathione S-transferase (GST)*

Glutathione S-transferase (GST) activity was measured according to Habig et al. (1974) using 1-chloro 2, 4 - dinitrobenzene (CDNB) as the substrate in a final reaction mixture containing 1 mmol CDNB and 5  $\mu$ M reduced glutathione activity was measured at 340 nm in a visible/UV spectrophotometer (“Agilent Technologies” type CARY 60 UV-Vis.).

#### *Glutathione peroxidase (GPx)*

Glutathione peroxidase (GPx) activity was assayed according to the method of Flohé and Günzler (1984). This method is based on the reduction of hydrogen peroxide in the presence of reduced glutathione (GSH) which is transformed into oxidized glutathione (GSSG) under the action of GPx. The enzymatic activity was expressed in  $\mu$ M of GSH per minute per milligram of protein. The protein content was measured according to the Bradford method using the BSA as a standard.

### **Histological processing**

Seaworms from each concentration were taken and sacrificed by cutting off the head. A body portion was fixed for 48 h in formalin solution (9%). The experimental tissue was dehydrated, using a series of increasing ethanol concentrations (70%, 80%, 90% and 95%), embedded in paraffin wax (72°C), and manually sectioned with a microtome

(Thermo Scientific) to obtain histological slices of 5  $\mu\text{m}$ . After rehydration in decreasing series of ethanol, the sections were stained with hematoxylin-eosin then mounted on glass slides and examined under a “Leica DM500” microscope at  $\times 60$ ,  $\times 150$  and  $\times 600$  magnifications to examine our tissues specimens.

### Data analysis

All our statistical analyses were performed using R, version 4.2.2 (R Core Team, 2022; Ihaka and Gentleman, 1996) for MacOS (<http://cran.r-project.org>). Shapiro-Wilk test was used to test variables normality. The influence of both acute and chronic toxicity on the biomarkers, morphometric and weight parameters was assessed by the nonparametric Kruskal-Wallis (KW) rank sum test. The KW test was followed by the nonparametric pairwise Dunn’s test (with Bonferroni adjusted *p-value*) to find post-hoc statistical differences at  $\alpha = 0.05$  as significant level. Correlations between variables were also calculated by using Spearman’s nonparametric correlation (with Bonferroni adjusted *p-value*). Data were expressed as mean  $\pm$  standard error (se). Finally, we carried out also a multivariate analysis by applying a principal component analysis (PCA as ordination technique) to characterize our toxicity experimental apparatus by the observed-effects on the explanatory variables. Several R packages were also used in our statistical analysis and to plot data results such as ‘ggplot2’ (Wickham, 2016), ‘ggcorrplot’ (Kassambara, 2019), ‘FactoMineR’ (Le et al., 2008), ‘dunn.test’ (Dinno, 2017), ‘Hmisc’ R package (Harrell, 2023), ‘ggpubr’ (Kassambara, 2023), ‘psych’ (Revelle, 2023), and ‘PMCMRplus’ (Pohlert, 2023).

## Results

### Morphometric parameters

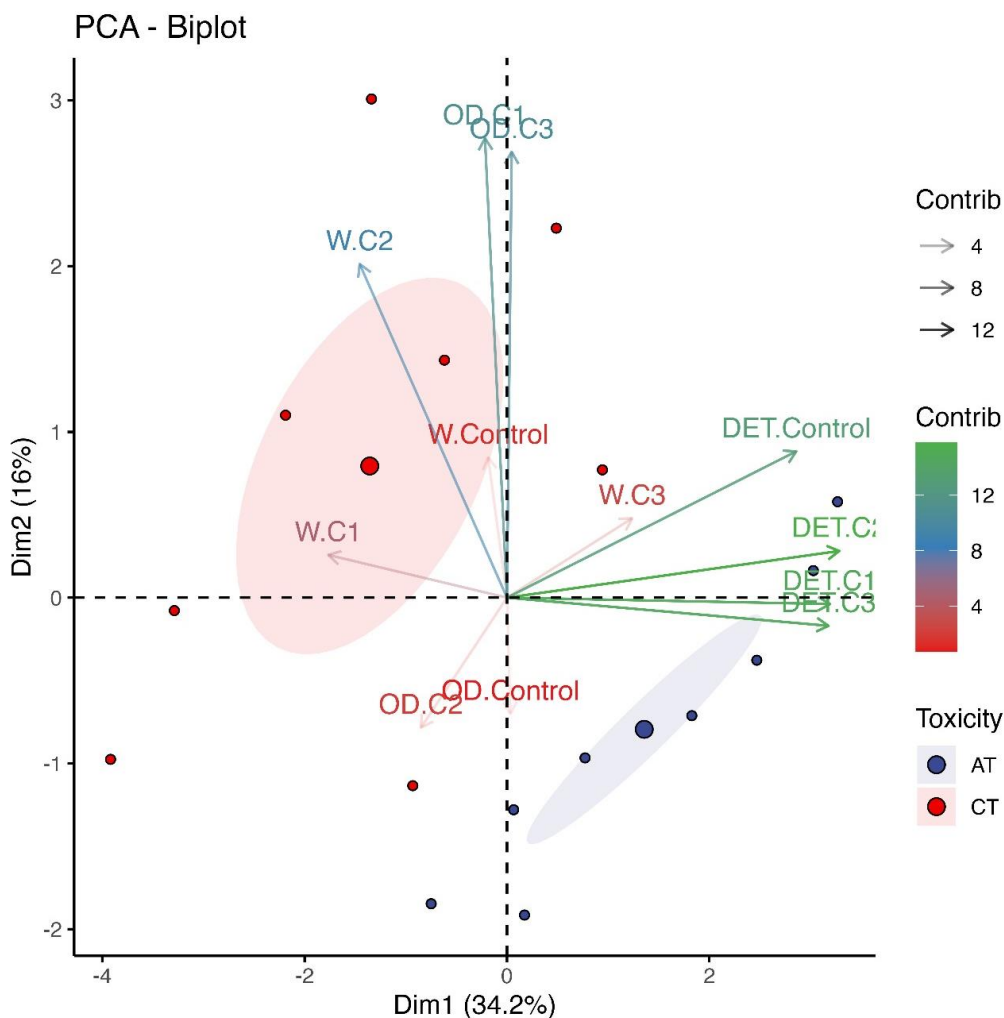
In this research paper, morphometric parameters related to weight (W), oocyte diameter (OD) and digestive epithelium thickness (DET) were used as biomarkers to demonstrate the possible effects of ASA concentrations on the reproduction and the digestion of *P. cultrifera*. The Morphometric averages of the parameters studied by concentrations of ASA are summarized in *Table 1*.

**Table 1.** Variations in weight (W), oocyte diameter (OD) and digestive epithelium thickness (DET) of *P. cultrifera* exposed to different concentrations of acetylsalicylic acid ASA (acute toxicity: AT and chronic toxicity: CT) ( $m \pm SE$ ,  $n = 8$ )

		Type of toxicity							
		AT				CT			
		C	2.5 mg/L	25 mg/L	250 mg/L	C	0.005 mg/L	0.1 mg/L	2 mg/L
Morphometric parameters	W (g)	0.24 $\pm$ 0.02 <b>a</b>	0.16 $\pm$ 0.01 <b>ab</b>	0.15 $\pm$ 0.01 <b>b</b>	0.16 $\pm$ 0.01 <b>b</b>	0.27 $\pm$ 0.01 <b>a</b>	0.20 $\pm$ 0.02 <b>ab</b>	0.19 $\pm$ 0.02 <b>b</b>	0.15 $\pm$ 0.01 <b>b</b>
	OD ( $\mu\text{m}$ )	253.00 $\pm$ 8.23 <b>a</b>	224.75 $\pm$ 5.98 <b>a</b>	221.50 $\pm$ 9.96 <b>ab</b>	169.20 $\pm$ 7.08 <b>b</b>	254.50 $\pm$ 6.52 <b>a</b>	246.88 $\pm$ 10.06 <b>a</b>	217.25 $\pm$ 7.32 <b>ab</b>	193.75 $\pm$ 5.71 <b>b</b>
	DET ( $\mu\text{m}$ )	163.62 $\pm$ 4.80 <b>a</b>	152.62 $\pm$ 4.69 <b>ab</b>	144.75 $\pm$ 3.94 <b>ab</b>	140.12 $\pm$ 3.90 <b>b</b>	151.00 $\pm$ 7.44 <b>a</b>	134.62 $\pm$ 3.10 <b>ab</b>	125.75 $\pm$ 4.20 <b>ab</b>	119.12 $\pm$ 3.87 <b>b</b>

C: Control Group (0 mg/L); C1(AT: 2.5 mg/L; CT: 0.005 mg/L); C2 (AT: 25 mg/L; CT: 0.1 mg/L); C3 (AT: 250 mg/L; CT: 2 mg/L). For each parameter, the different letters indicate significant differences (Dunn’s test) between concentrations

Results revealed that the highest values of practically all the morphometric parameters, for both acute and chronic toxicity, were observed in the control groups and decreased progressively with each exposure concentration. In addition, W, OD and DET were significantly higher (KW test,  $p = 0.00$ ) in the treated groups compared to the control groups. While, a highly significant difference was highlighted for the DET by chronic and acute toxicity (KW test,  $p = 0.01$ ) (Table 1). This result is clearly visible on the 1<sup>st</sup> axis of the PCA (Fig. 2).



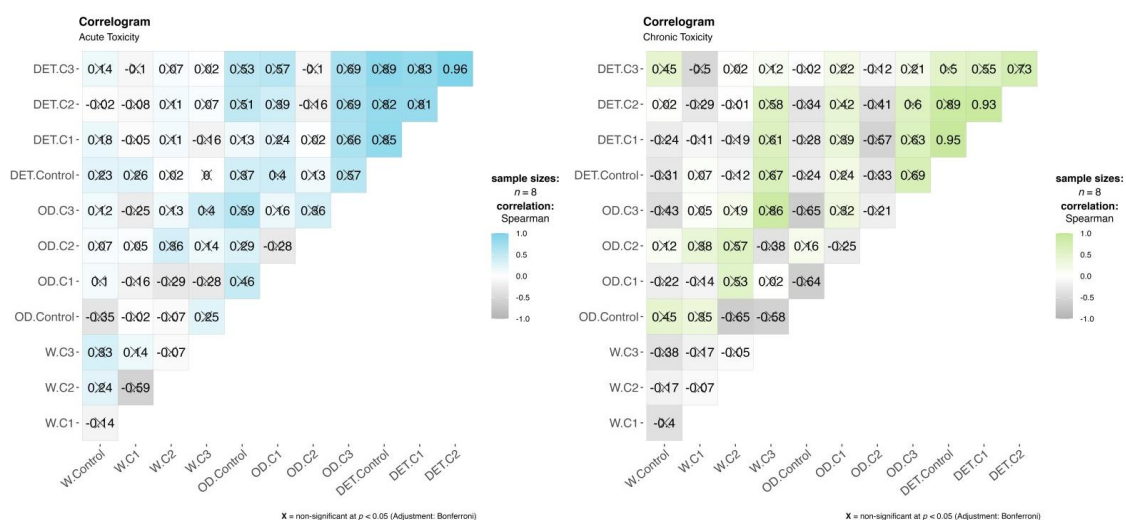
**Figure 2.** Principal component analysis (PCA) biplot of acute and chronic toxicity and explanatory morphometric variables ( $n = 4$ ). The biplot shows the PCA scores of the explanatory variables as vectors (in colors) and the toxicity experimental apparatus as points. Points on the same side as a given variable should be interpreted as having a high contribution on it. The magnitude of the vectors shows the strength of their contribution to each axis. Colored concentration ellipses (0.95 probability level) show the observation related to the toxicity type grouped by mark class. (Dim 1: 34.2% and Dim 2 = 16.0%)

In a synthetic way, PCA (ordination technique) carried out on the toxicity data and the morphometric and weight measurements showed different patterns of correlations between DET, OD and W variables in relation to AT and CT (Fig. 2). In addition, the PCA resulted in two relevant components that accounted for 50.2% of data variance

(total inertia). On the one hand, Dim1 alone represented by 34.2% of the variance and showed strongly positive correlation especially with DET:DET.control ( $r = +0.84$ ;  $\cos^2 = 0.72$ ), DET.C1 ( $r = +0.94$ ;  $\cos^2 = 0.89$ ), DET.C2 ( $r = +0.97$ ;  $\cos^2 = 0.94$ ) and DET.C3 ( $r = +0.94$ ;  $\cos^2 = 0.88$ ). On the other hand, PC2 just explained 16% of the total data variance and it was also positively correlated with OD.C1 ( $r = +0.82$ ;  $\cos^2 = 0.67$ ), OD.C3 ( $r = +0.79$ ;  $\cos^2 = 0.63$ ) and W.C2 ( $r = +0.59$ ;  $\cos^2 = 0.35$ ).

Moreover, the Dim1 (1<sup>st</sup> axis) clearly indicates a clear distinction between AT and CT where the morphometric parameter that contributes much more to this difference is DET. This latter states that the digestive epithelium is thicker in AT. Also, the Dim2 (2<sup>nd</sup> axis) could explain that CT is mainly characterized by very high values for W and OD; but unfortunately, the amount of inertia on this axis is weak (16%). In conclusion, the resultant biplot showed distinct partitioning in our toxicity experimental apparatus according to the first PCA axis and in a secondary way by the second PCA axis.

A Spearman correlation analysis was also performed to identify relationships between the different morphometric parameters, W, OD and DET of Polychaete annelids exposed to acute and chronic toxicity to ASA (Fig. 3).



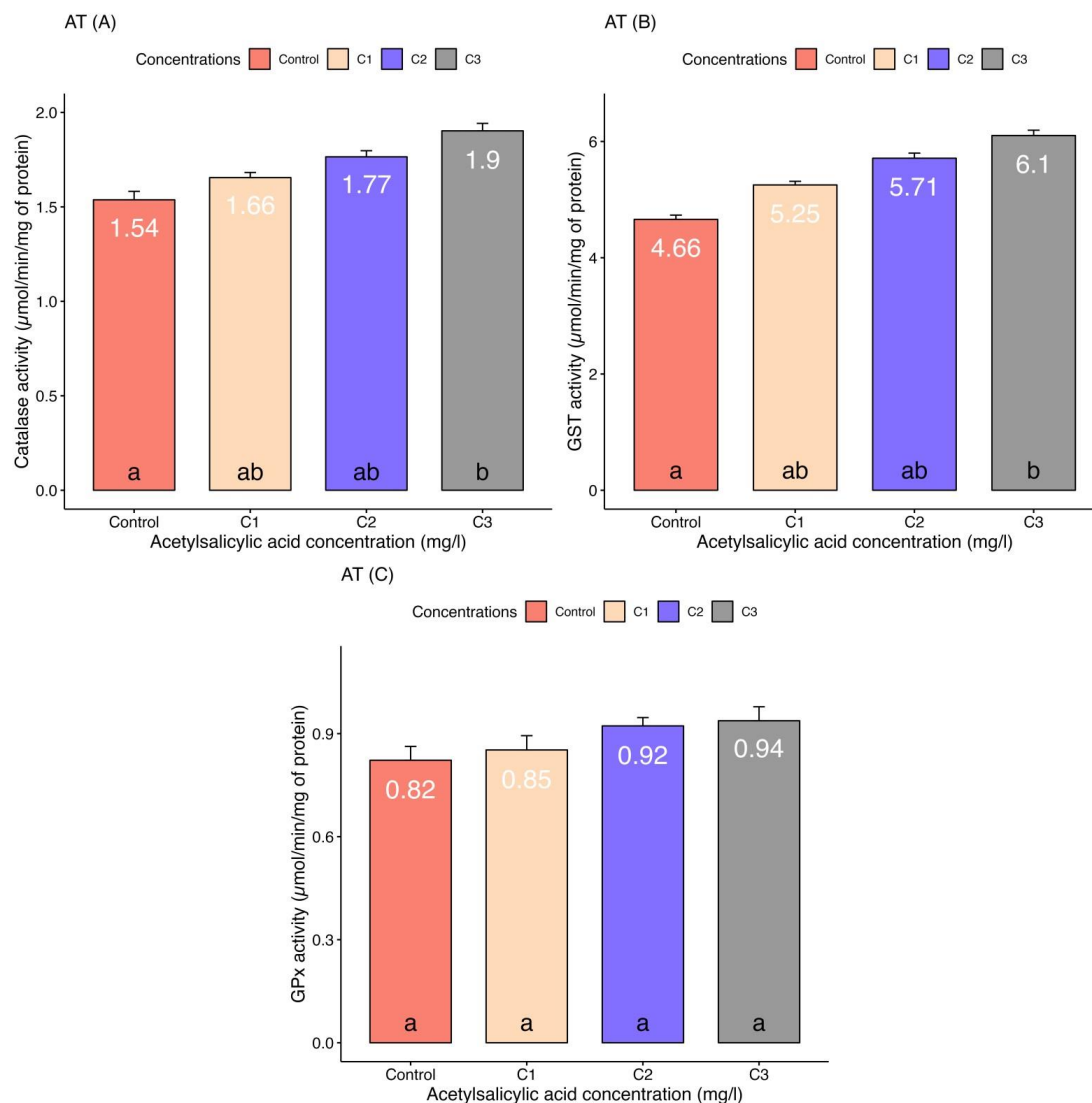
**Figure 3.** Spearman correlation carried out on DET with the other variables in worms exposed to acetylsalicylic acid (in AT and CT)

The Spearman's correlation analysis showed that in AT, DET.C3 was strongly correlated with DET.C2, DET.C1, and with DET.C with a significant correlation coefficient of  $r = 0.96$ ;  $r = 0.83$  and  $r = 0.8$  respectively. Additionally, a strongly positive correlation was revealed between DET.C2 and DET.C1 ( $r = 0.81$ ) as well as between DET.C2 and DET.C ( $r = 0.82$ ). Moreover, the correlation between DET.C1 and DET.C was also very strong with a coefficient of  $r = 0.85$ . Regarding CT, a positive correlation ( $r = 0.93$ ) was identified between DET.C2 and DET.C1 and also between DET.C2 and DET.C ( $r = 0.89$ ), and another positive correlation ( $r = 0.95$ ) was observed between DET.C1 and DET.C (Fig. 3). For AT, a non-significant correlation is recorded in individuals treated at different concentrations for oocyte diameters between OD.C3 and OD.C ( $r = 0.59$ ) and for weight between W.C3 and W.C ( $r = 0.33$ ). On the other hand, for the chronic toxicity a non-significant positive correlation was recorded between OD.C3 and W.C3 ( $r = 0.86$ ).

## Biochemical markers

### CAT activity

During this study, we found that CAT activity increased in contaminated worms. Indeed, the highest values were obtained at the highest ASA concentration ( $1.9 \pm 0.04 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  protein and  $1.52 \pm 0.02 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  protein respectively for AT and CT). Comparison of CAT activity by the KW test between the concentrations revealed a significant differences ( $p < 0.05$ ) and also observed within the two studied toxicities (Figs. 4 and 5).



**Figure 4.** Variations in biochemical markers; CAT: A ( $\mu\text{mol}^{-1} \text{min}^{-1} \text{mg}$  protein); GST: B ( $\mu\text{mol}^{-1} \text{min}^{-1} \text{mg}$  protein); and GPx: C ( $\mu\text{mol}^{-1} \text{min}^{-1} \text{mg}$  protein) after acute exposure to acetylsalicylic acid ( $m \pm SE$ ,  $n = 4$ ). Data are expressed as mean  $\pm$  standard error (SE)

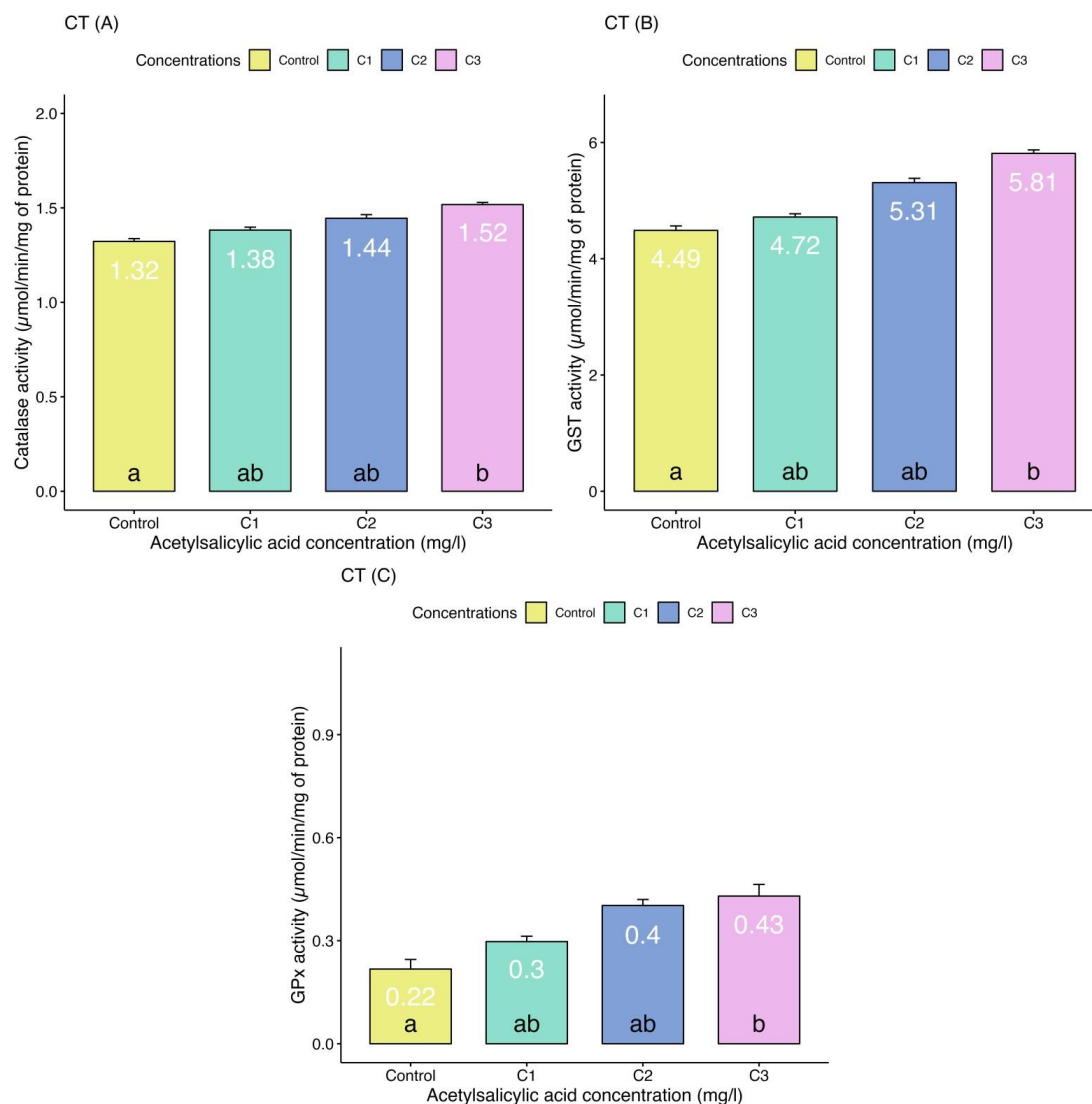
### GST activity

The lowest values of GST activity vary respectively between acute and chronic toxicity ( $4.66 \pm 0.07$ ,  $4.49 \pm 0.08 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  protein) were observed in *P.*

*cultrifera* exposed to the lowest ASA concentrations, then GST activity increased gradually with increasing exposure concentration to reach its maximum values (AT:  $6.1 \pm 0.09 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$ ; CT:  $5.81 \pm 0.06 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$ ) in the highest concentration. The chronic and acute toxicity by ASA showed a significant differences (KW test,  $p < 0.05$ ) between the different concentrations where the induction is observed from C2 for the CT and C3 for the AT (Figs.4 and 5).

### GPx activity

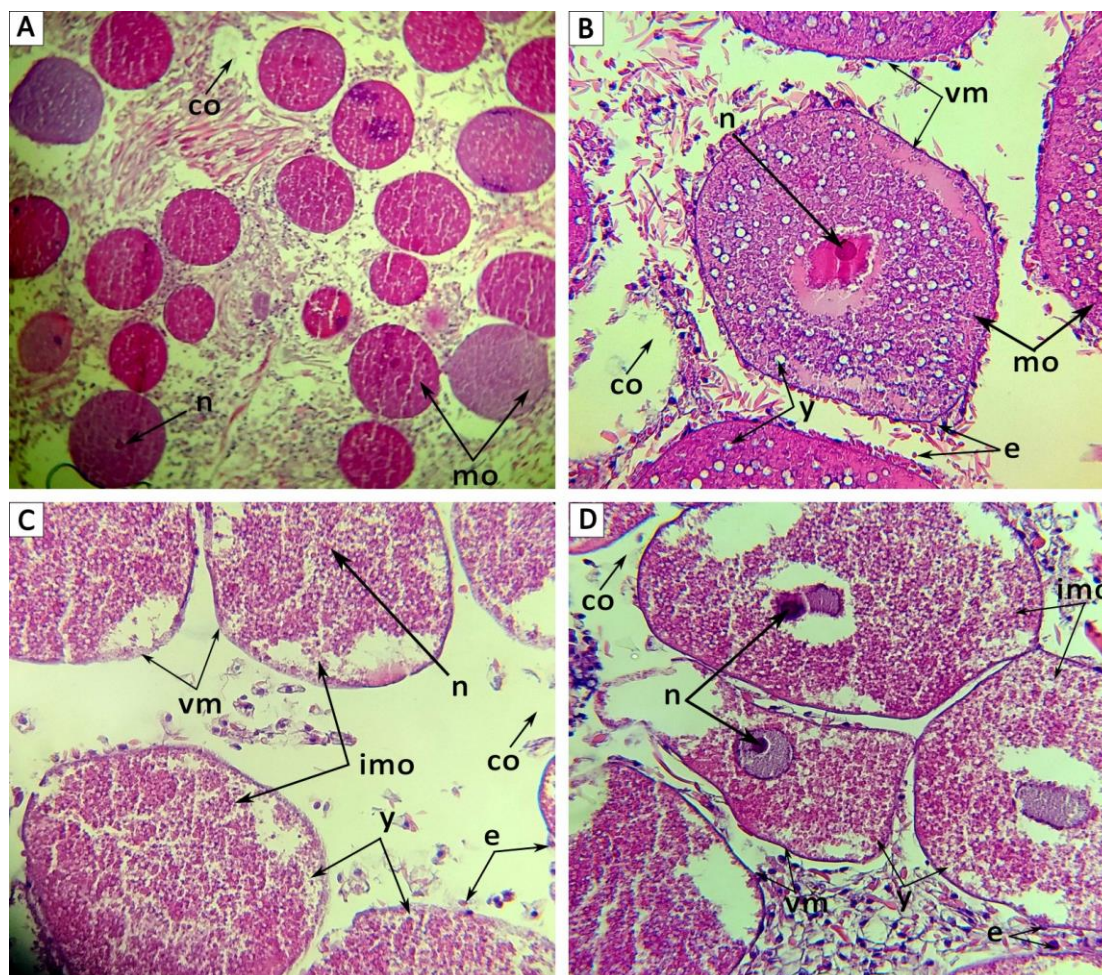
GPx activity varied greatly among ASA concentrations, where a gradual increase in GPx activity was noticed with the increase in concentrations. No significant differences were observed between contaminated organisms by ASA during all AT period (KW test,  $p > 0.05$ ). Moreover, in the CT, GPx was highly increased at C1 where the comparison by the KW test revealed a significant differences ( $p < 0.05$ ) between all concentrations (Figs. 4 and 5).



**Figure 5.** Variations in biochemical markers; CAT: A ( $\mu\text{mol}^{-1} \text{min}^{-1} \text{mg protein}$ ); GST: B ( $\mu\text{mol}^{-1} \text{min}^{-1} \text{mg protein}$ ); and GPx: C ( $\mu\text{mol}^{-1} \text{min}^{-1} \text{mg protein}$ ) after chronic exposure to acetylsalicylic acid ( $m \pm SE$ ,  $n = 4$ ). Data are expressed as mean  $\pm$  standard error (SE)

### Histological examination

During the two periods of toxicity, the same trend was recorded for the W which underwent a progressive reduction during the toxicity from C1 (2.5 mg/L) in acute toxicity and from C1 (0.005 mg/L) in chronic toxicity to reach its lowest value in C3 and this jointly for the two toxicity tests. To this difference in weight is added the oocyte diameter which varies since the administration of C1 of the two toxicities, recording the lowest diameters at the end of the study periods with a diameter of 169.20  $\mu\text{m}$  in C3 = 2.5 mg/L and 193.75  $\mu\text{m}$  in C3 = 250 mg/L (Fig. 6).



**Figure 6.** Representative histological organization of coelomic fluid of *Perinereis cultrifera* from control group to different exposure tests at ASA. (A) Control group (Asynchronous vitellogenesis), X150. (B) Mature oocyte with yolk-grains, X600. (C) Immatures oocytes after C3 exposure of ASA at AT, X600. (D) Immature oocytes after C3 exposure of ASA at CT, X600. co, coelomic fluid; mo, mature oocytes; imo, immatures oocytes; vm, vitelline membrane; n, nucleus; e, eleocytes; y, yolk-grains

Histological observations show in controls an asynchronization of oocyte growth where the cells are surrounded by a thin membrane. In the oocytes, we see the presence of very dense yolk-grains surrounding the nucleus in the center of oocyte (Fig. 6A, B).

After exposure of females to ASA at different concentrations during two toxicities tests (acute and chronic), a deterioration of the oocytes was showed results in a

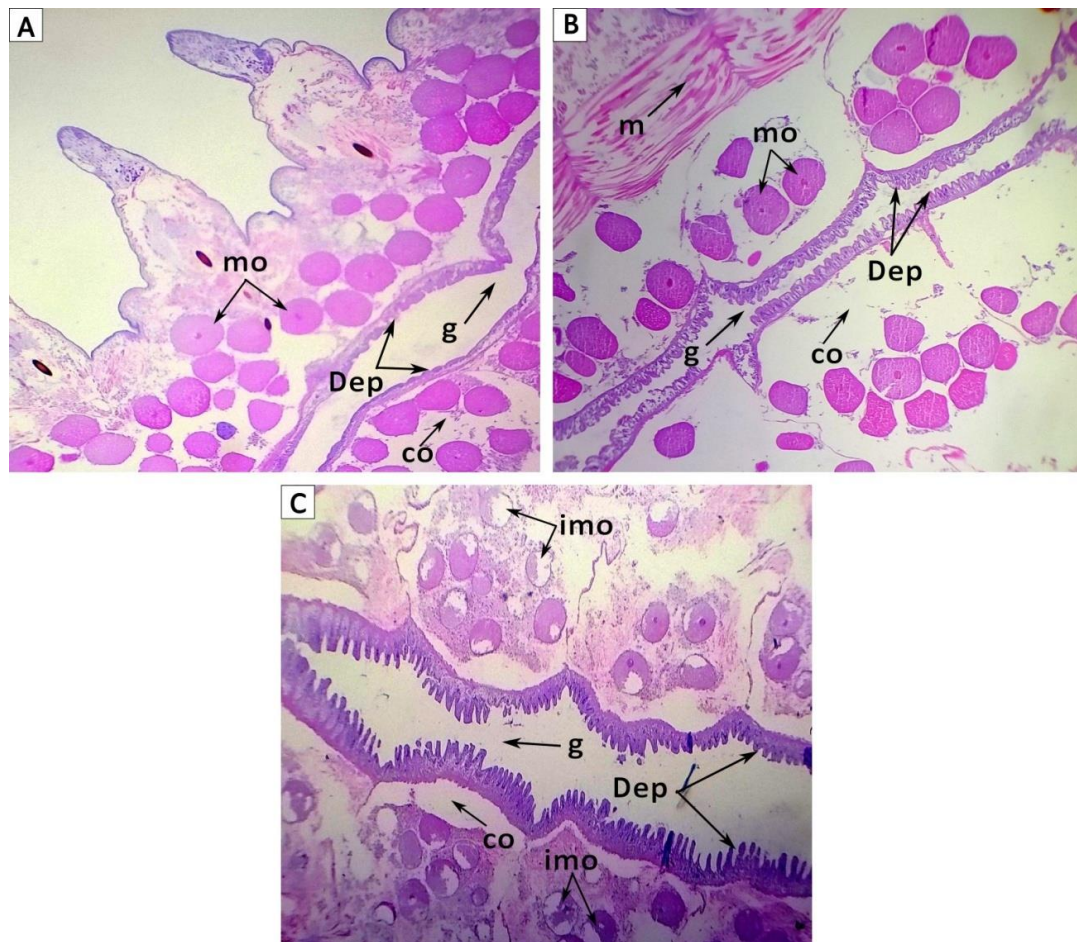
weakness in the quantity of yolk-grains and their absence at the periphery of the cells in females treated with C3 (250 mg/L) in acute toxicity at 96 h of treatment (Fig. 6C).

Furthermore, this reduction in yolk-grains is even greater in females treated with C3 (2 mg/L) after 30 days of treatment where resorption occurs at the periphery and in the center of the oocytes (Fig. 6D).

The histological sections carried out in the controls allowed the recognition of a large central gut surrounded by the longitudinal dorsal muscle located at the base of the paprapods and the presence of oocytes in the coelomic fluid (Fig. 7).

In response to ASA exposure, we observe a thinner and resorbed digestive epithelium (Fig. 7B) with a reduction in the number of oocytes which have small oocyte diameters (Fig. 6C). On the other hand, and at the level of the histological sections of females exposed to C3 (2 mg/L) of ASA, a chronic alteration affects the thinner and irregular digestive epithelium (119.12  $\mu$ m) surrounded by much fewer immature oocytes (Fig. 7C).

It was observed a statistically significant difference only for the DET, particularly when exposed to AT. However, for the other morphometric parameters such as W and OD, no significant differences were observed.



**Figure 7.** Digestive epithelium histological sections of *Perinereis cultrifera* after exposure to ASA. (A) Control group, X60. (B) Digestive epithelium and matures oocytes after C3 exposure of ASA at AT, X60. (C) irregular digestive epithelium and immatures oocytes after C3 exposure of ASA at CT, X150. co, coelomic fluid; mo, mature oocytes; imo, immature oocytes; g, gut; m, muscle; Dep, digestive epithelium

## Discussion

### *Relationship between morphometric parameters*

The study of morphometric parameters; W, OD and DET thickness were carried out for the females individuals of *P. cultrifera* in order to detect a possible effect of exposure of ASA at acute and chronic toxicity on reproduction and digestion functions of the target species. The toxicological effects of ASA on *P. cultrifera*, after exposure to different concentrations, where the highest values for both acute and chronic toxicity, were observed in the control groups and decreased progressively with increasing exposure concentration. However, the two physiological functions targeted in our experiment are reproduction and digestion. Organisms can increase their survival process in an environment polluted by development of resistance with an evolutionary response to pollutants.

Throughout the experimental exposure, a progressive decrease response was recorded on W, OD and DET for the different concentrations of ASA during AT where it is showing a positive correlation between them. This is in agreement with a study carried out showing the effect of environmental stress on Polychaete annelids in Skikda and El Kala cities (Guemouda et al., 2014), by revealing the existence of a pollution effect on weight and length in females of *P. cultrifera*. A significant decrease in weight and oocyte diameter was observed after exposure to the first concentration and which becomes more significant for individuals at the end of the ASA exposure in CT. This corresponds, obviously, with the sexual differentiation period. The females chosen for our experiment are characterized by OD varying from 220 to 250  $\mu\text{m}$ . Furthermore, according to Ramdani et al. (2020), the oocyte growth process is asynchronous in *P. cultrifera* and its reproduction function is more intense from March to May; however, the oocytes take 9 to 12 months to mature and their diameter at maturity is between 250 and 350  $\mu\text{m}$ .

In general, the worms that colonize a disturbed environment have a reduced weight gain stage (Durou et al., 2007, 2008; Gillet et al., 2008; Mouneyrac et al., 2009). However, the evolution of this resistance is usually accompanied by an expression physical form, such as reduction of reproduction, growth (Wirgin and Waldman, 2004) or reduced tolerance to various stressors (Meyer and De Giulio, 2003).

In addition to the effect of ASA, these disruptions could be due to the hormones and the abiotic factors (Temperature, Salinity, Food, etc.). They also confirmed that worms living in disturbed environments have a reduced weight gain stage (Durou et al., 2007, 2008; Gillet et al., 2008; Mouneyrac et al., 2009).

To this aim, mussel digestive gland was selected as target organ because it plays vital functions in the accumulation, biotransformation and detoxification processes of xenobiotics (Cappello et al., 2018). Also, these females were treated with ASA during the start of the reproductive period of this species which overlaps the March month. As stated by Costa et al. (1998), the existence of a noticed continuous reproductive activity all year long, in which the gut was reabsorbed and feeding ceased, as observed for this species and other Nereididae during its sexual maturity period (Golding and Yuwono, 1994; Last and Olive, 1999; Belfetmi et al., 2021).

### *Biomarkers responses*

The Algerian coasts like several Mediterranean wetlands are subject to an increasing pressure in the anthropogenic activities (urbanization, industry, pollution, aquaculture,

tourism and overfishing). The littoral is highly vulnerable to a wide assortment of contaminants and micropollutants directly released into the seas and oceans, to which are added those released into the air and drained by soils and rivers (Bensouda and Soltani-Mazouni, 2014). Invertebrates, in particular worms, are essential vectors of contaminants from environmental compartments (water, food or sediment) to higher trophic levels (Cattaneo et al., 2009). Polychaetes such as *P. cultrifera* (Grübe, 1840) are commonly used in ecotoxicological studies because of their high sensitivity towards organic contamination (Bouraoui et al., 2009). Many authors have observed that different species of bivalves exposed to environmental pollution may have slow growth (Peteiro et al., 2006). Changes in environmental factors imposed on these aquatic lives are usually gradual, rhythmic and predictable (Ahamefula, 2014).

Biomarkers are relatively effective in revealing overall toxicity of complex mixtures, particularly those that are at a high level of a biological organization such as physiological biomarkers relating to the growth or reproduction of organisms.

In this work, the evaluation of the biological effect of ASA in Polychaetes during an acute and chronic exposure allowed us to collect valuable information about a pharmaceutical effect on aquatic organisms. Polychaetes as the mussels were reconfirmed as valid bioindicators in the ecotoxicology field; owing to their ability to elaborate a wide range of biological responses following exposure to chemical compounds (Dean, 2008; Vassalli et al., 2015; Piscopo et al., 2018; Świacka et al., 2019; Cappello et al., 2021; Caliani et al., 2022).

The Algerian coasts, which are akin to numerous other wetlands in the Mediterranean regions, are experiencing a surge in anthropogenic activities that are exerting pressure on them. This pressure is a result of various factors such as industrialization, urbanization, aquaculture, tourism, pollution, and overfishing. The vulnerability of the coast to a variety of contaminants and micropollutants that are frequently released into the oceans and seas, is heightened by the additional pollutants that are discharged into the atmosphere and carried through the soil and rivers (Bensouda and Soltani-Mazouni, 2014).

The results of our study indicate that organisms which were exposed to high concentrations of ASA for a short period of time (acute toxicity 2.5 mg/L, 25 mg/L and 250 mg/L) showed an increased level of CAT activity. This response may be considered a defense mechanism against an excess of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and to prevent damage caused by lipid peroxidation. Similarly, significantly increase of CAT activity was shown in the Oligochaete *Lumbriculus variegatus* exposed to contaminated sediment even at one day exposure (Contardo-Jara and Wiegand, 2008). On the other hand, in the case of organisms which were exposed to ASA over a long period of time for 30 days (chronic toxicity 0.005 mg/L, 0.1 mg/L and 2 mg/L), an increase in CAT activity was reported. This increase was aimed at eliminating excessive ROS to prevent further damage. CAT also gives information on the oxidative stress response status of organisms, as this is protecting the cell against oxyradicals induced by numerous factors (Winston and Di Giulio, 1991).

The rise in GST at C1 at acute and chronic exposure for ASA respectively at 2.5 mg/L for 96 h and 0.001 mg/L for 30 days, similar to what was documented by Freitas et al. (2019) in Mussels exposed to higher SA concentrations for 28 days. The presence of effects concerning the activity of GSTs, after both acute and chronic exposures, suggests that following exposure to ASA, the detoxifying system mechanism of *H. diversicolor*, namely through GSH conjugation, was activated. As shown in

Figures 4 and 5, GST activities of *P. cultrifera* exposed to ASA were time dependently upregulated. The highest level of GST activity was observed after 24 h of exposure, and maintained a high level of activity over 96 h after exposure. By contrast, Praskova et al. (2012) investigated the acute (96 h) effects of ASA in *Danio rerio*, at concentrations of 340 mg/L, 380 mg/L, and 420 mg/L, and obtained higher GST activity. Nunes et al. (2015) reported that the activity of GSTs in fish may not be influenced by salicylic acid (SA).

De Luca-Abbott et al. (2005) demonstrated species-dependent biomarker responses by showing that GST and CAT had great responses than other antioxidant biomarkers in the Manila clam *Ruditapes philippinarum* when compared to the green-lipped mussel *Perna perna*.

The GPx activities of *P. cultrifera* was highly increased after 96 h of chronic exposure chronically exposed to the concentrations 0.1 mg/L and 2 mg/L for 30 days. Nunes et al. (2015) showing an increase in the activity of GPx in the liver and gills of *Salmo truttafario*. Also, Zivna et al. (2013) obtained an increase in the activity of GPx in the fish *Danio rerio* exposed to ASA. Herein, Data on GPx activity revealed a significant difference in Polychaetes by exposure to ASA at concentrations above 0.005 mg/L (C1) for 30 days. This could be related to the detoxifying activity of GST, the most important phase II biotransformation enzyme (Manduzio et al., 2004). The reactions catalyzed by GPx involve the reduction of a peroxide to its corresponding alcohol, by simultaneously converting reduced glutathione to glutathione disulfide, by oxidation (Moreira et al., 2006).

In this study, no significant differences were observed in terms of GPx after acute exposure. In *P. cultrifera*, GPx was slightly increased at chronic exposure by ASA. A further hypothesis advanced by Zivna et al. (2016) is related to the possibility of certain concentrations of ASA to lead to damage at the mitochondrial level.

### ***Oocytes and gut histology***

Histological analysis provides a better presentation of the morpho-anatomical reactions of the organs affected by contamination. In this study, alterations were recorded in certain tissues exposed to ASA at different concentrations.

The weight and the oocyte diameter decreased drastically after the first concentration administered in the two toxicity studies. Apart from the effect of ASA, this decrease may be related to other factors such as adaptation, temperature and photo period.

Similarly, the studies examining the effects of contaminants on the growth and reproduction of *P. cultrifera* have shown that individuals collected in polluted environments have reduced morphometric parameters compared with those collected in healthier environments (Ramdani et al., 2020; Belfetmi et al., 2021; Rezzag Mahcene et al., 2022; Sebbih et al., 2023). Also, other work has demonstrated that change in timing of spawning and life cycle of Polychaetes could be a consequence of temperature and to climate factors (Ait Alla et al., 2006).

The biometric measurements show a similar evolution and that oocyte growth is asynchronous. Moreover, in related species such as *Platynereis dumerilli* (Fisher et Donesteijer, 2004) and *Nereis virens* (Hoeger et al., 1999), oocyte growth is synchronous.

The effect of ASA during the two toxicity tests on the OD presents the lowest averages of this parameter at 96 h and 30 days with respectively 169.20  $\mu\text{m}$  and 193.75  $\mu\text{m}$  as well as a low distribution of yolk-grains. These values reach

approximately 200  $\mu\text{m}$ , the diameter marking the maturity phase, the last stage before reproduction which coincides with our study period (February-March). This result corroborates that individuals of *P. cultrifera* reproduced exclusively by epitok from March (Daas et al., 2011) and that *Nereis diversicolor* living in disturbed environments have a reduced weight gain stage (Durou et al., 2008; Mouneyrac et al., 2009).

As for the DET, it was found that the most significantly low average was that obtained from C2 to C3 during chronic toxicity ( $125.75 \pm 4.20 \mu\text{m}$  to  $119.12 \mu\text{m}$ ), unlike AT where the reduction in thickness was gradual and significant.

On the other hand, in mussel gills tissues during the 12 days chronic exposure, SA did not cause any morphological alterations (Giuseppe di Marco et al., 2022).

To this aim, DET of *P. cultrifera* was damaged after the C3 of ASA by maintaining a decrease in the thickness of the digestive epithelium and especially in chronic toxicity which could also be due to its diet by flakes of TetraMin.

It is well known that *P. cultrifera* as an omnivore species (Scaps, 2002) prefers algae, diatoms and detritus (Goerke, 1971). Exposure to these concentrations of ASA caused degeneration of oocytes (CT/C2-C3:  $217.25 \pm 7.32 \mu\text{m}$  and  $193.75 \pm 5.71 \mu\text{m}$ ) and resorption of the digestive epithelium. The existence of a noticed continuous reproductive activity throughout the year (Costa et al., 1998), in which the gut was reabsorbed and feeding ceased, as observed for this species and other Nereididae during its sexual maturity period (Golding and Yumono, 1994; Last and Olive, 1999).

The thickness of the digestive epithelium could suggest its degeneration, which can be translated into the induction of cellular degeneration, a process that could be linked to epitoky in reproduction. A related study revealed that the intestinal changes associated with epitoky illustrate an example of programmed cellular degeneration (Dakhamaet al., 1985).

## Conclusion

The impact of PhAcS on non-target marine organisms was clarified through our study on adult female individuals of *P. cultrifera* (Nereidae). The present work made it possible to assess the risk of environmental contamination by determining the toxicological effects after exposure of individuals to ASA. Two forms of toxicity tests were applied: Acute (2.5 mg/L, 25 mg/L and 250 mg/L) and Chronic (0.005 mg/L, 0.1 mg/L and 2 mg/L). Data was obtained from a multi-biomarker approach (CAT, GST and GPx) following the effect of ASA exposure on tissue damage levels.

The results showed increased CAT activity after acute and chronic exposures. This response may be considered a defense mechanism against an excess of  $\text{H}_2\text{O}_2$  preventing damage caused by lipid peroxidation. The GST activities of *P. cultrifera* exposed to ASA were dose-dependently upregulated. The highest level of GST activity was observed and maintained during the study. Also, GPx was slightly increased during chronic exposure to ASA but no significant differences were observed after acute exposure.

The weight and the oocyte diameter decreased drastically after the first concentration was administered in the two toxicity studies. The biometric measurements showed a similar evolution and that oocyte growth was asynchronous. The effect of ASA during the two toxicity tests on the oocyte diameter presented the lowest averages of this parameter at 96 h and 30 days. For the DET, it was found that the most significantly low average was obtained at C3 during chronic toxicity, unlike acute toxicity where the

reduction in thickness was gradual and significant. The thickness of the digestive epithelium could suggest its degeneration, which can be translated into the induction of cellular degeneration, a process that could be linked to epitoky in reproduction.

**Acknowledgements.** The authors are very thankful to the Laboratory of Applied Animal Biology staff for their assistance during this study, who have facilitated the achievement of this scientific contribution and to anonym reviewers to improve the manuscript.

## REFERENCES

- [1] Afsa, S., De Marco, G., Cristaldi, A., Giannetto, A., Galati, M., Billè, B., Oliveri Conti, G., Ben Mansour, H., Ferrante, M., Cappello, T. (2023): Single and combined effects of caffeine and salicylic acid on mussel *Mytilus galloprovincialis*: changes at histomorphological, molecular, and biochemical levels. – *Environmental Toxicology and Pharmacology* 101: 104167. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2023.104167>.
- [2] Ahamefula, N. J. (2014): Physiological responses of some benthic macroinvertebrates to environmental hypoxia. – *WebPub Journal of Scientific Research* 2(3): 26-30.
- [3] Ait Alla, A., Gillet, P., Deutsch, B., Moukrim, A., Bergayou, H. (2006): Response of *Nereis diversicolor* (Polychaeta, Nereidae) populations to reduced wastewater discharge in the polluted estuary of Oued Souss, Bay of Agadir, Morocco. – *Estuarine Coastal and Shelf Science* 70: 633-642. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2006.01.028>.
- [4] Álvarez-Muñoz, D., Llorca, M., Blasco, J., Barceló, D. (2016): Contaminants in the Marine Environment. – In: Blasco, J. et al. (eds.) *Marine Ecotoxicology*. Elsevier, Amsterdam, pp. 1-34. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803371-5.00001-1>.
- [5] Arpin-Pont, L., Bueno, M. J. M., Gomez, E., Fenet, H. (2016): Occurrence of PPCPs in the marine environment: a review. – *Environmental Science and Pollution Research International* 23: 4978-4991. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3617-x>.
- [6] Belfetmi, N. Z., Daas, T., Maamcha, O. (2021): The effects of total hydrocarbons on the Polychaete *Perinereis cultrifera* (Grübe, 1840): impacts on morphometric aspects and biochemical markers. – *Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation Bioflux* 14(3): 1464-1477.
- [7] Bensouda, L., Soltani-Mazouni, N. (2014): Measure of oxidative stress and neurotoxicity biomarkers in *Donax trunculus* from the Gulf of Annaba (Algeria): case of the year 2012. – *Annual Research & Review in Biology* 4: 1902-1914. <https://doi.org/10.9734/ARRB/2014/7318>.
- [8] Blaise, C., Gagné, F., Burgeot, T. (2016): Three simple biomarkers useful in conducting water quality assessments with bivalve mollusks. – *Environmental Science and Pollution Research* 112: 452-458. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6908-6>.
- [9] Bouraoui, Z., Banni, M., Ghedira, J., Clerandau, C., Narbonne, J. F., Boussetta, H. (2009): Evaluation of enzymatic biomarkers and lipoperoxidation level in *Hediste diversicolor* exposed to copper and benzo[a]pyrene. – *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72(7): 1893-1898. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.05.011>.
- [10] Box, A., Sureda, A., Galgani, F., Pons, A., Deudero, S. (2007): Assessment of environmental pollution at Balearic Islands applying oxidative stress biomarkers in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. – *Comparative Biochemistry and Physiology C: Toxicology & Pharmacology* 146(4): 531-539. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2007.06.006>.
- [11] Caliani, I., De Marco, G., Cappello, T., Giannetto, A., Mancini, G., Ancora, S., Maisano, M., Parrino, V., Cappello, S., Bianchi, N., Oliva, S., Luciani, A., Mauceri, A., Leonzio, C. (2022): Assessment of the effectiveness of a novel BioFilm-Membrane BioReactor oil-polluted wastewater treatment technology by applying biomarkers in the mussel *Mytilus*

- galloprovincialis*. – Aquatic Toxicology 243: 106059.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.106059>.
- [12] Calibrone, A. L. (1985): Handbook of Methods for Oxygen Radical Research. – CRC Press, Boca Raton, FL.
- [13] Cappello, T., Giannetto, A., Parrino, V., Maisano, M., Oliva, S., De Marco, G., Guerriero, G., Mauceri, A., Fasulo, S. (2018): Baseline levels of metabolites in different tissues of mussel *Mytilus galloprovincialis* (Bivalvia: Mytilidae). – Comparative Biochemistry and Physiology, Part D: Genomics and Proteomics 26: 32-39.  
<https://doi.org/10.1016/j.cbd.2018.03.005>.
- [14] Cappello, T., De Marco, G., Oliveri Conti, G., Giannetto, A., Ferrante, M., Mauceri, A., Maisano, M. (2021): Time-dependent metabolic disorders induced by short-term exposure to polystyrene microplastics in the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. – Ecotoxicology and Environmental Safety 209: 111780.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111780>.
- [15] Cattaneo, A. G., Gornati, R., Chiriva-Internati, M., Bernardini, G. (2009): of nanomaterials: the role of invertebrate testing. – Invertebrate Survival Journal 6(1): 78-97.
- [16] Chandurvelan, R., Marsden, I. D., Glover, C. N., Gaw, S. (2015): Assessment of a mussel as a metal bioindicator of coastal contamination: relationships between metal bioaccumulation and multiple biomarker responses. – Science of the Total Environment 511: 663-675. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.12.064>.
- [17] Cleuvers, M. (2004): Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. – Ecotoxicology and Environmental Safety 59(3): 309-15. [https://doi.org/10.1016/s0147-6513\(03\)00141-6](https://doi.org/10.1016/s0147-6513(03)00141-6).
- [18] Contardo-Jara, V., Wiegand, C. (2008): Biotransformation and antioxidant enzymes of *Lumbriculus variegatus* as biomarkers of contaminated sediment exposure. – Chemosphere 70: 1879-1888. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.07.072>.
- [19] Cossu, C., Doyotte, A., Babut, M., Exinger, A., Vasseur, P. (2000): Antioxidant biomarkers in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, in response to different contamination profiles of aquatic sediments. – Ecotoxicology and Environmental Safety 45(2): 106-121.  
<https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1842>.
- [20] Costa, P., Sardá, R., Cancela da Fonseca, L. (1998): Life cycle, growth, and production of the polychaete *Nereis diversicolor* O.F. Müller in three lagoonal estuarine systems of the southwestern Portuguese coast (Odeceixe, Aljezur, and Carrapateira). – Écologie 29: 523-533.
- [21] Daas, T., Younsi, M., Daas-Maamcha, O., Gillet, P., Scaps, P. (2011): Reproduction, population dynamics, and production of *Nereis falsa* (Nereididae: Polychaeta) on the rocky coast of El-Kala National Park, Algerian. – Helgoland Marine Research 65: 165-173. <https://doi.org/10.1007/s10152-010-0212-5>.
- [22] Dakhama, A., Dhainaut, A., Bonet, F. (1985): Dégénérescence cellulaire intestinale chez l'Annélide Polychète *Perinereis cultrifera* au cours de l'épitoquie et après ablation du cerveau. – Journal of Reproduction Nutrition Développement 25(3): 555-566.
- [23] Daughton, C. G., Ternes, T. A. (1999): Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? – Environmental Health Perspectives 107(6): 907-938. <https://doi.org/10.1289/ehp.99107s6907>.
- [24] De Jesus Gaffney, V., Almeida, C. M., Rodrigues, A., Ferreira, E., Benoliel, M. J., Cardoso, V. V. (2015): Occurrence of pharmaceuticals in a water supply system and related human health risk assessment. – Water Research 72: 199-208.  
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.10.027>.
- [25] De Luca-Abbott, S. B., Richardson, B. J., McClellan, K. E., Zheng, G. J., Martin, M., Lam, P. K. (2005): Field validation of antioxidant enzyme biomarkers in mussels (*Perna viridis*) and clams (*Ruditapes philippinarum*) transplanted in Hong Kong coastal waters. –

- Marine Pollution Bulletin 51(8-12): 694-707.  
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.01.010>.
- [26] De Marco, G., Afsa, S., Galati, M., Billè, B., Parrino, V., Ben Mansour, H., Cappello, T. (2022): Comparison of cellular mechanisms induced by pharmaceutical exposure to caffeine and its combination with salicylic acid in mussel *Mytilus galloprovincialis*. – Environmental Toxicology and Pharmacology 93: 103888. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2022.103888>.
- [27] Dean, H. K. (2008): The use of polychaetes (Annelida) as indicator species of marine pollution: a review. – Revista de biologia tropical 56(4): 11-38.
- [28] Dinno, A. (2017): dunn.test: Dunn's test of multiple comparisons using rank sums. – R Package Version 1.3.5. <https://CRAN.R-project.org/package=dunn.test>.
- [29] Durou, C., Poirier, L., Amiard, J. C., Budzinski, H., Gnassia-Barelli, M., Lemenach, K., Peluhet, L., Mouneyrac, C., Roméo, M., Amiard-Triquet, C. (2007): Biomonitoring in a clean and a multi-contaminated estuary based on biomarkers and chemical analyses in the endobenthic worm *Nereis diversicolor*. – Environmental Pollution 148(2): 445-58. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.12.022>.
- [30] Durou, C., Mouneyrac, C., Amiard-Triquet, C. (2008): Environmental quality assessment in estuarine ecosystems: use of biometric measurements and fecundity of the ragworm *Nereis diversicolor* (Polychaeta, Nereididae). – Water Research 42(8-9): 2157-2165. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.11.028>.
- [31] Fauvel, P. (1923): Polychètes errants [Wandering Polychaetes]. – In: Faune de France. 4. Lechevaliers, Paris.
- [32] Fekadu, S., Alemayehu, E., Dewil, R., Van der Bruggen, B. (2019): Pharmaceuticals in freshwater aquatic environments: a comparison of the African and European challenge. – Science of the Total Environment 654: 324-337. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.072>.
- [33] Fent, K., Escher, C., Caminada, D. (2006a): Estrogenic activity of pharmaceuticals and pharmaceutical mixtures in a yeast reporter gene system. – Reproductive Toxicology 22: 175-185. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2006.04.010>.
- [34] Fent, K., Weston, A. A., Caminada, D. (2006b): Ecotoxicology of human pharmaceuticals. – Aquatic Toxicology 76(2): 122-159. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.09.009>.
- [35] Ferreira, C. S. G., Nunes, B. A., de Melo Henriques-Almeida, J. M., Guilhermino, L. (2007): Acute toxicity of oxytetracycline and florfenicol to the microalgae *Tetraselmis chuii* and to the crustacean *Artemia parthenogenetica*. – Ecotoxicology and Environmental Safety 67: 452-458. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.10.006>.
- [36] Fischer, A., Dorresteijn, A. (2004): The polychaete *Platynereis dumerilii* (Annelida): a laboratory animal with spiralian cleavage, lifelong segment proliferation, and a mixed benthic/pelagic life cycle. – Bioessays 26(3): 314-325. <https://doi.org/10.1002/bies.10409>.
- [37] Flohé, L., Günzler, W. A. (1984): Assays of glutathione peroxidase. – Methods in Enzymology 105: 114-121. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05015-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05015-1).
- [38] Freitas, R., Silvestro, S., Coppola, F., Meucci, V., Battaglia, F., Intorre, L., Soares, A. M. V. M., Pretti, C., Faggio, C. (2019): Biochemical and physiological responses induced in *Mytilus galloprovincialis* after a chronic exposure to salicylic acid. – Aquatic Toxicology 214: 105258. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.105258>.
- [39] Gillet, P., Mouloud, M., Durou, C., Deutsch, B. (2008): Response of *Nereis diversicolor* population (Polychaeta, Nereididae) to the population impact-Authie and Seine estuaries (France). – Estuarine Coastal and Shelf Science 76: 201-210. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2007.07.004>.
- [40] Goerke, H. (1971): Die Ernährungsweise der *Nereis Arten* (Polychaeta, Nereididae) der deutschen Küsten. – Veröffentlichungen des Instituts für Meeresforschung in Bremerhaven 13: 1-50.

- [41] Golding, D. W., Yumono, E. (1994): Latent capacities for gametogenic cycling in the semelparous invertebrate *Nereis*. – Proceedings of the National Academy of Sciences USA 91: 11777-11781. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.25.11777>.
- [42] Gomes, I. B., Madureira, D., Simões, L. C., Simões, M. (2019): The effects of pharmaceutical and personal care products on the behavior of *Burkholderia cepacia* isolated from drinking water. – International Biodeterioration & Biodegradation 141: 87-93. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.03.018>.
- [43] Gómez-Oliván, L. M., Galar-Martínez, M., García-Medina, S., Valdés-Alanís, A., Islas-Flores, H., Neri-Cruz, N. (2014): Genotoxic response and oxidative stress induced by diclofenac, ibuprofen, and naproxen in *Daphnia magna*. – Drug and Chemical Toxicology 37(4): 391-399. <https://doi.org/10.3109/01480545.2013.870191>.
- [44] Grube, A. E. (1840): Actinians, Echinoderms and Worms of the Adriatic and Mediterranean Seas, Described from Personal Collections. – J. H. Bon, Königsberg.
- [45] Guemouda, M., Meghlaoui, Z., Daas, T., Daas-Maamcha, O., Scaps, P. (2014): Monitoring pollution in East Algerian Coasts using biochemical markers in the polychaete annelid *Perinereis cultrifera*. – Annals of Biological Research 5(2): 31-40.
- [46] Gumbi, B. P., Moodley, B., Birungi, G., Ndungu, P. G. (2017): Detection and quantification of acidic drug residues in South African surface water using gas chromatography-mass spectrometry. – Chemosphere 168: 1042-1050. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.03.018>.
- [47] Gürlük, S. (2009): Economic growth, industrial pollution and human development in the Mediterranean Region. – Ecological Economics 68(8-9): 2327-2335. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2009.03.001>.
- [48] Habig, W. H., Pabst, M. J., Jakoby, W. B. (1974): Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. – Journal of Biological Chemistry 249(22): 7130-7139. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)42083-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)42083-8).
- [49] Harrell Jr, F. (2023): Hmisc: Harrell Miscellaneous. – R Package Version 5.1-1. <https://CRAN.R-project.org/package=Hmisc>.
- [50] Hoeger, U., Rebscher, N., Geier, G. (1999): Metabolite Supply in Oocytes of *Nereis Virens*: Role of Nucleosides. – In: Dorresteyn, A. W. C., Westheide, W. (eds.) Reproductive Strategies and Developmental Patterns in Annelids. Developments in Hydrobiology. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-2887-4\\_8](https://doi.org/10.1007/978-94-017-2887-4_8).
- [51] Ihaka, R., Gentleman, R. (1996): R: a language for data analysis and graphics. – Computational and Graphical Statistics 5: 299-314.
- [52] Karadirek, I. E., Aktas, K., Topkaya, B. (2019): Environmental pollution of the Mediterranean Sea: evaluation of research activities in the Mediterranean Sea countries. – Fresenius Environmental Bulletin 28(2): 867-872.
- [53] Kassambara, A. (2019): ggcorrplot: Visualization of a Correlation Matrix using ‘ggplot2’. – R Package Version 0.1.4.1. <https://CRAN.R-project.org/package=ggcorrplot>.
- [54] Kassambara, A. (2023): ggpubr: ‘ggplot2’ Based Publication Ready Plots. – R Package Version 0.6.0. <https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr>.
- [55] Kookana, R. S., Williams, M., Boxall, A. B., Larsson, D. G., Gaw, S., Choi, K., Yamamoto, H., Thatikonda, S., Zhu, Y. G., Carriquiriborde, P. (2014): Potential ecological footprints of active pharmaceutical ingredients: an examination of risk factors in low-, middle- and high-income countries. – Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 369(1656): 20130586. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0586>.
- [56] Last, K. S., Olive, P. J. W. (1999): Photoperiodic control of growth and segment proliferation by *Nereis* (Neanthes) *virens* in relation to state of maturity and season. – Marine Biology 134: 191-199. <https://doi.org/10.1007/s002270050537>.
- [57] Le, S., Josse, J., and Husson, F. (2008): FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. – Journal of Statistical Software 25(1): 1-18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>.

- [58] Livingstone, D. R. (2001): Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. – *Marine Pollution Bulletin* 42(8): 656-666. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(01\)00060-1](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00060-1).
- [59] Lolić, A., Paiga, P., Santos, L. H. M. L. M., Ramos, S., Correia, M., Delerue-Matos, C. (2015): Assessment of non-steroidal anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in seawaters of North of Portugal: occurrence and environmental risk. – *Science of the Total Environment* 508: 240-250. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.11.097>.
- [60] Madikizela, L. M., Tavengwa, N. T., Chimuka, L. (2017): Status of pharmaceuticals in African water bodies: occurrence, removal and analytical methods. – *Journal of Environmental Management* 193: 211-220. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.02.022>.
- [61] Manduzio, H., Monsinjon, T., Galap, C., Leboulenger, F., Rocher, B. (2004): Seasonal variations in antioxidant defences in blue mussels (*Mytilus edulis*) collected from a polluted area: major contributions in gills of an inducible isoform of Cu/Zn-superoxide dismutase and of glutathione S-transferase. – *Aquatic Toxicology* 70(1): 83-93. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.07.003>.
- [62] Meyer, J. N., De Giulio, R. T. (2003): Heritable adaptation and fitness costs in killifish (*Fundulus heteroclitus*) inhabiting a polluted estuary. – *Ecological Applications* 13: 490-503. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2003\)013\[0490:HAAFCI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2003)013[0490:HAAFCI]2.0.CO;2).
- [63] Mezzelani, M., Gorbi, S., Regoli, F. (2018): Pharmaceuticals in the aquatic environments: evidence of emerged threat and future challenges for marine organisms. – *Marine Environmental Research* 140: 41-60. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.05.001>.
- [64] Moreira, S. M., Lima, I., Ribeiro, R., Guilhermino, L. (2006): Effects of estuarine sediment contamination on feeding and on key physiological functions of the polychaete *Hedistidiversicolor*: laboratory and in situ assays. – *Aquatic Toxicology* 78(2): 186-201. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.03.001>.
- [65] Mouneyrac, C., Durou, C., Gillet, P., Hummel, H., Amiard-Triquet, C. (2009): Linking Energy Metabolism, Reproduction, Abundance and Structure of *Nereis diversicolor* Populations. – In: Amiard-Triquet, C., Rainbow, P. S. (éd.). *Environmental Assessment of Estuarine Ecosystems: A Case Study*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- [66] Natalotto, A., Sureda, A., Maisano, M., Spanò, N., Mauceri, A., Deudero, S. (2015): Biomarkers of environmental stress in gills of *Pinna nobilis* (Linnaeus 1758) from Balearic Island. – *Ecotoxicology and Environmental Safety* 122: 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.06.035>.
- [67] Nunes, B., Campos, J. C., Gomes, R., Braga, M. R., Ramos, A. S., Antunes, S. C., Correia, A. T. (2015a): Ecotoxicological effects of salicylic acid in the freshwater fish *Salmo trutta fario*: antioxidant mechanisms and histological alterations. – *Environmental Science and Pollution Research* 22: 667-678. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3337-2>.
- [68] Nunes, B., Verde, M. F., Soares, A. M. V. M. (2015b): Biochemical effects of the pharmaceutical drug paracetamol on *Anguilla anguilla*. – *Environmental Science and Pollution Research* 22(15): 11574-11584. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4329-6>.
- [69] Nunes, C. N., Dos Anjos, V. E., Quinária, S. P. (2019): Are there pharmaceutical compounds in sediments or in water? Determination of the distribution coefficient of benzodiazepine drugs in aquatic environment. – *Pollution* 251: 522-529. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.015>.
- [70] Pascoe, D., Karntanut, W., Müller, C. T. (2003): Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian *Hydra vulgaris*. – *Chemosphere* 51(6): 521-528. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00860-3](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00860-3).
- [71] Peteiro, L. G., Babarro, J. M. F., Labarta, U., Fernández-Reiriz, M. J. (2006): Growth of *Mytilus galloprovincialis* after the Prestige oil spill. – *ICES Journal of Marine Science* 63(6): 1005-1013. <https://doi.org/10.1016/j.icesjms.2006.03.010>.
- [72] Piscopo, N. J., Mueller, K. P., Das, A., Hematti, P., Murphy, W. L., Palecek, S. P., Capitini, C. M., Saha, K. (2018): Bioengineering solutions for manufacturing challenges

- in CAR T cells. – *Biotechnology Journal* 13(2): 10.  
<https://doi.org/10.1002/biot.201700095>.
- [73] Pohlert, T. (2023): PMCMRplus: Calculate Pairwise Multiple Comparisons of Mean Rank Sums Extended. – R Package Version 1.9.7. <https://CRAN.R-project.org/package=PMCMRplus>.
- [74] Praskova, E., Zivna, D., Stepanova, S., Sevcikova, M., Blahova, J., Marsalek, P., Siroka, Z., Voslarova, E., Svobodova, Z. (2012): Acute toxicity of acetylsalicylic acid to juvenile and embryonic stages of *Danio rerio*. – *Neuroendocrinology Letters* 33(3): 72-76.
- [75] Qiao, M., Ying, G. G., Singer, A. C., Zhu, Y. G. (2018): Review of antibiotic resistance in China and its environment. – *Environmental International* 110: 160-172.  
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.10.016>.
- [76] R Core Team (2022): R: A Language and Environment for Statistical Computing. – R Foundation for Statistical Computing, Vienna. URL <https://www.R-project.org/>.
- [77] Rabiet, M., Togola, A., Brissaud, F., Seidel, J. L., Budzinski, H., Elbaz-Poulichet, F. (2006): Consequences of treated water recycling as regards pharmaceuticals and drugs in surface and ground waters of a medium-sized Mediterranean catchment. – *Environmental Science and Technology* 40(17): 5282-5288. <https://doi.org/10.1021/es060528p>.
- [78] Ramdani, M. S., Rezzag-Mahcene, H., Daas-Maamcha, O., Daas, T., Denis, F. (2020): Effects of environmental stress on the growth and the reproduction of *Perinereis cultrifera* (Annelida, Polychaeta) from the eastern coasts of Algeria. – *Biodiversity Journal* 11(2): 505-526.
- [79] Regoli, F., Pellegrini, D., Winston, G. W., Gorbi, S., Giuliani, S., Virno-Lamberti, C., Bompadre, S. (2002): Application of biomarkers for assessing the biological impact of dredged materials in the Mediterranean: the relationship between antioxidant responses and susceptibility to oxidative stress in the red mullet (*Mullus barbatus*). – *Marine Pollution Bulletin* 44: 912-922. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00120-0](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00120-0).
- [80] Regoli, F., Principato, G. (1995): Glutathione, glutathione-dependant and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis* exposed to metals in different field and laboratory condition. Implications for a proper use of biochemical markers. – *Aquatic Toxicology* 31: 143-164. [http://dx.doi.org/10.1016/0166-445X\(94\)00064-W](http://dx.doi.org/10.1016/0166-445X(94)00064-W).
- [81] Revelle, W. (2023): psych: Procedures for Psychological, Psychometric, and Personality Research. – Northwestern University, Evanston, IL. R Package Version 2.3.6. <https://CRAN.R-project.org/package=psych>.
- [82] Rezzag Mahcene, H., Denis, F., Meziane, T., Maamcha, O., Daas, T. (2022): General structure of Nereids of the East Coast of Algeria. – *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation* 15(1): 282-293.
- [83] Richardson, M. L., Bowron, J. M. (1985): The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. – *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 37(1): 1-12. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1985.tb04922.x>.
- [84] Santovito, G., Piccinni, E., Cassino, A., Irato, P., Albergoni, V. (2005): Antioxidant responses of the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*, to environmental variability of dissolved oxygen. – *Comparative Biochemistry and Physiology* 140: 321-329. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.02.015>.
- [85] Sato, T., Qadir, M., Yamamoto, S., Endo, T., Zahoor, A. (2013): Global, regional, and country level need for data on wastewater generation, treatment, and use. – *Agricultural Water Management* 130: 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2013.08.007>.
- [86] Scaps, P. (2002): A review of the biology, ecology and potential use of the common ragworm *Hediste diversicolor* (O. F. Müller) (Annelida: Polychaeta). – *Hydrobiologia* 470: 203-218.
- [87] Sebbih, A., Moumeni, N., Belfetmi, N. Z., Daas, T., Maamcha, O. (2023): Marine pollution effects on the reproduction process of *Perinereis cultrifera* (Annelida, Polychaeta) in Algeria. – *Biosystems Diversity* 31(1): 113-122. <https://doi.org/10.15421/012312>.

- [88] Semedo, M., Reis-Henriques, M. A., Rey-Salgueiro, L., Oliveira, M., Delerue-Matos, C., Morais, S., et al. (2012): Metal accumulation and oxidative stress biomarkers in octopus (*Octopus vulgaris*) from Northwest Atlantic. – *Science of the Total Environment* 433: 230-237. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.06.058>.
- [89] Sureda, A., Box, A., Tejada, S., Blanco, A., Caixach, J., Deudero, S. (2011): Biochemical responses of *Mytilus galloprovincialis* as biomarkers of acute environmental pollution caused by the Don Pedro oil spill (Eivissa Island, Spain). – *Aquatic Toxicology* 101(3-4): 540-549. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.12.011>.
- [90] Świacka, K., Szaniawska, A., Caban, M. (2019): Evaluation of bioconcentration and metabolism of diclofenac in mussels *Mytilus trossulus*- laboratory study. – *Marine Pollution Bulletin* 141: 249-255. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.02.050>.
- [91] Szabelak, A., Bownik, A. (2021): Behavioral and physiological responses of *Daphnia magna* to salicylic acid. – *Chemosphere* 270: 128660. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128660>.
- [92] Togola, A., Budzinski, H. (2008): Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. – *Journal of Chromatography A* 1177(1): 150-158. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.10.105>.
- [93] Vassalli, A., Li, S., Tafti, M. (2015): Comment on “Antibodies to influenza nucleoprotein cross-react with human hypocretin receptor 2”. – *Science Translational Medicine* 7(314): 314le2. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aad2353>.
- [94] Wickham, H. (2016): ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. – Springer-Verlag, New York.
- [95] Winston, G. W., Di Giulio, R. T. (1991): Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. – *Aquatic Toxicology* 19: 137-161. [http://dx.doi.org/10.1016/0166-445X\(91\)90033-6](http://dx.doi.org/10.1016/0166-445X(91)90033-6).
- [96] Wirgin, I., Waldman, J. R. (2004): Resistance to contaminants in North American fish populations. – *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 552: 73-100. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2004.06.005>.
- [97] World Bank List of Economies (2017): WWW Document. – [databank.worldbank.org/data/download/site-content/CLASS.xls](http://databank.worldbank.org/data/download/site-content/CLASS.xls). Access date: 14 February 2024.
- [98] Zivna, D., Plhalova L., Praskova, E., Stepanova, S., Siroka, Z., Sevcikova, M., Blahova, J., Bartoskova, M., Marsalek, P., Skoric, M., Svobodova, Z. (2013): Oxidative stress parameters in fish after subchronic exposure to acetylsalicylic acid. – *Neuro Endocrinol Lett* 34(2): 116-22.
- [99] Zivna, D., Blahova, J., Siroka, Z., Plhalova, L., Marsalek, P., Doubkova, V., Zelinska, G., Vecerek, V., Tichy, F., Sehonova, P., Svobodova, Z. (2016): The effects of salicylic acid on juvenile zebrafish (*Danio rerio*) under flow-through conditions. – *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 97(3): 323-330. <https://doi.org/10.1007/s00128-016-1877-5>.