



DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MER ET DE L'AQUACULTURE

**MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES**

Présenté par

**Aced Manal & Chachou Atika**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN HYDROBIOLOGIE MARINE ET CONTINENTALE**

**Spécialité : Bioressources Marines**

**THÈME**

**Étude caryologique (détermination du nombre  
de chromosomes) de quelques espèces de  
concombres de mer de la côte de Mostaganem.**

Le : ... /08/2020

DEVANT LE JURY

Président M<sup>me</sup>. BORSALI S.

MCB

U. Mostaganem

Encadreur M. MEZALI K.

Pr

U. Mostaganem

Examineur M. BOUZAZA Z.

MCB

U. Mostaganem

Invité M<sup>me</sup> LEBOUAZDA Z.

Doctorante

U. Mostaganem

*Thème réalisé au Laboratoire de protection, valorisation des ressources marines et littorales et  
systématique moléculaire PVRMLSM (Université de Mostaganem)*

## Remerciements

*Nous tenons à remercier notre encadrant **Pr. Mezali Karim** pour ces précieux conseils au moment de la rédaction et structuration de notre mémoire. Il nous a transmis tout le matériel nécessaire pour l'étude chromosomique des holothuries au niveau du laboratoire **PVRLMSM**.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury, **M<sup>me</sup>. Borsali Sofia** et à **M. Bouzaza Zoheir** qui ont accepté de présider et d'examiner notre travail.*

*Nos remerciements s'adressent également à **M<sup>me</sup> Lebouazda Zineb**, Doctorante au niveau du département des sciences de la mer et de l'Aquaculture et membre du laboratoire **LPVRML** pour son aide durant la partie expérimentale et lors de la rédaction de la partie fond et forme de ce modeste mémoire.*

*À tous nos enseignants durant nos années d'études au département des sciences de la mer et de l'aquaculture.*

*En fin, nous tenons à exprimer notre reconnaissance à tous ceux qui ont contribué de prêt ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Je dédie ce travail :*

*À ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude*

*À mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit, merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

*À mes frères et mes chères sœurs ;*

*À ma chère amie et binôme : Manel.*

*Chachou Atika*

*Je dédie ce mémoire*

*À mes chers parents ma mère et mon père*

*Pour leurs patiences, leur soutien et leurs encouragements*

*À mes frères Taher, Mohamed, Nasr al-Din et Faysal,  
Yonas ;*

*À Chaimaa, Wahiba, Ibtisam, Khawla et ma tante  
Mimouna et Salha, fatima, ainsi qu'à leurs enfants, que  
dieu les bénisse, et à la famille Aced et Asnounien général ;*

*À mon mari ;*

*À mes amies : Zahra, Maryam, Souad et Layla*

*À mon binôme et mon amie Atika.*

*Aced Manal*

## **Résumé**

Le barcoding moléculaire et les études génétiques et cytogénétiques sont très importantes et elles jouent un rôle crucial dans le développement de l'holothuriculture. La cytogénétique permet d'avoir un aperçu de matériel génétique des populations d'holothuries ainsi elle permet d'établir des cartes chromosomiques et d'inspecter toutes variations au sein des caryotypes des Holothuridés. La présente étude nous a permis de faire des expériences pour étudier le nombre de chromosomes de quelques espèces d'holothuries du genre *Holothuria* de la côte de Mostaganem. De même, elle nous a donné l'occasion de consulter les travaux précédents qui ont été menés sur les chromosomes de d'autres espèces de concombres de mer.

**Mots clés :** Holothuries, à côte de Mostaganem, Caryotype, Cytogénétique.

## **Abstract**

Molecular barcoding and genetic and cytogenetic studies are very important and they play a crucial role in the development of sea cucumber culture. Cytogenetics provide insight into the genetic material of sea cucumber populations, thus allowing chromosomal maps to be established and any variations within sea cucumber species karyotypes to be inspected. The present study allowed us to carry out experiments to study the number of chromosomes of some species of sea cucumbers of the genus *Holothuria* from the coast of Mostaganem. Likewise, it gave us the opportunity to consult the previous work that has been done on the chromosomes of other species of sea cucumbers.

**Key words:** Sea cucumbers. Coast of Mostaganem Karyotype, Cytogenetics.

## ملخص

يعتبر الترميز الجزيئي والدراسات الوراثية والخلوية مهمين للغاية ويلعبان دوراً حاسماً في تطوير زراعة خيار البحر. يوفر علم الوراثة الخلوية نظرة شاملة على المادة الوراثية لخيار البحر، مما يسمح بإنشاء خرائط الكروموسومات والصبغيات وفحص أي اختلافات في الأنماط النووية لهذا الكائن البحري. أتاحت لنا الدراسة الحالية إجراء تجارب لدراسة عدد الكروموسومات لبعض أنواع خيار البحر من جنس *Holothuria* من ساحل مستغانم. وبالمثل، فقد أتاحت لنا الفرصة لمراجعة الأعمال السابقة التي تم إجراؤها على الكروموسومات لأنواع أخرى من خيار البحر.

كلمات مفتاحية: خيار البحر، النمط النووي، علم الوراثة الخلوية.

# Sommaire

## Introduction

## Revue bibliographique

I. Généralités sur les Échinodermes.....	3
II. Holothuries .....	4
II.1. Morphologies des holothuries .....	4
II.1.1. Morphologie externe.....	4
II.1.2. Morphologie interne .....	5
II.2. Identifications des holothuries.....	6
II.3. Composition chimique de sclérites des holothuries .....	7
II.4. Holothuries du genre <i>Holothuria</i> des eaux peu profondes de la côtes Algérienne .....	8
II.4.1. <i>Holothuria (Platyperona) sanctori</i> .....	8
II.4.2. <i>Holothuria (Holothuria) tubulosa</i> .....	8
II.4.3. <i>Holothuria (Roweothuria) poli</i> .....	9
II.5. Régimes alimentaires des holothuries .....	10
II.6. Reproduction chez les holothuries .....	11
II.7. Commercialisation des holothuries.....	12
II.8. Intérêt économique des holothuries .....	13
II.9. Valeurs pharmaceutiques et nutritionnelles des biomolécules actifs issues des holothuries .....	13
III. notion de cytologie – la division cellulaire.....	14
III.1. Mitose .....	14
III.2. Méiose.....	15
III.2.1. Caractéristiques générales de la méiose .....	16
III.2.2. Les différentes étapes de la méiose.....	17

## Matériels et Méthodes

I. Zone d'étude .....	22
I.1. Hydrodynamisme.....	23
II. Méthode d'échantillonnage.....	23
II.1. Identification des holothuries .....	24
II.2. Étude des chromosomes .....	24
II.2.1. Méthode de séchage et de broyage "air drying and scraping method" .....	24

## Résultats et discussions

I. Résultats de l'étude des chromosomes des holothuries .....	32
---	----



## Conclusion

### Liste de figures

<b>Figure 1 :</b>	Cladogramme, illustrant la classification des classes d'échinodermes (Janies, 2001).	03
<b>Figure 2 :</b>	Morphologie externe d'une holothurie du genre <i>Holothuria</i> (Samyn et al., 2006).	05
<b>Figure 3 :</b>	Anatomie interne d'une holothurie du genre <i>Holothuria</i> (Samyn et al., 2006).	06
<b>Figure 4 :</b>	<i>Holothuria (P.) sanctori</i> : face dorsale et B : face ventrale (Slimane-Tamacha et Mezali, 2017).	08
<b>Figure 5 :</b>	Morphologie externe de trois espèces d'holothuries de la côte algérienne (Mansouri et al., 2016) modifiée	10
<b>Figure 6 :</b>	Schéma montrant le transit digestif d'une holothurie(Conand, 1994).	11
<b>Figure 7 :</b>	Gonades matures d'adultes <i>H. poli</i> . (Tolon et Engin, 2019).	11
<b>Figure 8 :</b>	Spécimens d' <i>Holothuria tubulosa</i> transformés en bêche -de-mer avant d'être vendus à des acheteurs chinois locaux. (Neghli et Mezali, 2019).	12
<b>Figure 9 :</b>	Dessin d'une cellule d'eucaryote animale observé au microscope optique (x 400). ( <a href="http://www.schoolmouv.fr">www.schoolmouv.fr</a> ).	14
<b>Figure 10 :</b>	Dessin d'un chromosome métaphasique (simple et double) et schéma d'interprétation. ( <a href="http://www.profsvt71.e-monsite.com">www.profsvt71.e-monsite.com</a> ).	15
<b>Figure 11 :</b>	Un dessin expliquant les étapes de la méiose (division équationnelle et division réductionnelle). ( <a href="http://www.sites.google.com">www.sites.google.com</a> ).	16
<b>Figure 12 :</b>	Évolution de la quantité d'ADN au cours de la méiose.	17
<b>Figure 13 :</b>	Carte de la zone d'étude. (Ben Abdelmalek Ramdane plage est représentée par une étoile).	22
<b>Figure 14 :</b>	Photo montrant le point de prélèvement au niveau du site de Ben	23

Abdelmalek Ramdane (ex-Ouillis).

<b>Figure 15 :</b>	Deux individus d'holothuries échantillonnés au niveau de la station d'étude. A : <i>Holothuria (H.) tubulosa</i> et B : <i>Holothuria (P.) sanctori</i> .	24
<b>Figure 16 :</b>	Détermination des poids des spécimens.	24
<b>Figure 17 :</b>	Injection de la Colchicine dans la cavitécœlomique de l'holothurie.	25
<b>Figure 18 :</b>	Isolement du liquide cœlomique et les gonades dans des boites de Pétri.	25
<b>Figure 19 :</b>	Versement des gonades dans un tamis de maille 100 µm.	26
<b>Figure 20 :</b>	Versement des gonades dans un tamis de maille 100 µm.	26
<b>Figure 21 :</b>	Séparation des composés avec la centrifugation et élimination de surnageant et l'ajoute du fixateur.	27
<b>Figure 22 :</b>	Versement des solutions sur les lames par une micropipette.	27
<b>Figure 23 :</b>	Coloration des lames par le colorant Giemsa.	28
<b>Figure 24 :</b>	Prise de photos à l'aide d'une tablette intégrée au microscope photonique.	28
<b>Figure 25 :</b>	Récapitulatif de la méthode caryologique utilisée.	31
<b>Figure 26 :</b>	Observation microscopique des lames préparées.	32

## Liste de tableaux

<b>Tableau 01 :</b>	Composition chimique des sclérites d' <i>Holothuria (Impasiens) forskali</i> d'après (Hampton, 1958).	07
<b>Tableau 02:</b>	les étapes des phases de la division réductionnelle	18
<b>Tableau 03:</b>	Résumé des travaux réalisés sur le nombre de chromosomes de quelques espèces d'Échinodermes.	33

# Introduction

Les holothuries ou « concombres de mer » constituent avec les échinides « oursins », les astérides « étoiles de mer », les ophiurides « ophiures » et les crinoïdes « lis de mer » l'embranchement des Echinodermes (Conand et Byrne, 1993). Ce sont des organismes communs de la faune benthique de tous les milieux marins et peuvent constituer jusqu'à 90% de la biomasse des écosystèmes des fonds mers et des océans (Hendler et al. 1995). Les « concombres de mer » ressemblent peu aux autres Echinodermes. Ils sont cylindriques, légèrement effilés aux extrémités et de taille très variable. Les holothuries n'ont pas de squelette développé, contrairement aux autres Echinodermes, à l'exception d'une couronne calcaire péripharyngienne (Guille et al., 1986) et d'un endosquelette très réduit qui conserve un état embryonnaire sous formes de "spicules" ou "sclérites" éparpillée dans la partie dermique du corps (Mezali, 2008). Cette macrofaune benthique se trouve dans la quasi-totalité des milieux marins, avec une diversité particulièrement riche dans les écosystèmes des récifs coralliens, les eaux tropicales peu profondes ou encore inféodée aux herbiers à *Posidonia oceanica* (Conand et Muthiga, 2007; Mezali, 2008). Ce sont des organismes dépositivores et détritivores se nourrissant des particules organiques ou de petits organismes morts ou vivants présents dans le sable ou la vase (Coulon et Jangoux, 1993). Les holothuries sont des organismes bioturbateurs. Ils contribuent, de par leur existence, au maintien des écosystèmes marins (Massin et Jangoux, 1976). De ce fait, les concombres de mer jouent un rôle important dans l'écosystème marin en aérant les couches superficielles du sédiment (Uthicke et al., 2009). De même, ils contribuent de manière intensive dans le déblaiement, le recyclage et le reconditionnement des nutriments, surtout des matières organiques (Jumars et Self, 1986). Les groupes de la classe des Echinodermes ont été bien étudiés sur le plan phylogénétique mais peu de travaux ont été réalisés sur la cytogénétique de cette classe d'invertébrés marins. Notons que, la cytogénétique est une composante de la génétique orientée vers l'étude des chromosomes. Elle fait le lien entre la cytologie et la génétique. C'est d'abord une science d'investigation (Jahier, 1992). Elle a pris une part active à la compréhension des mécanismes héréditaires et du monde animal dans sa diversité (taxonomie, phylogénie). Elle se situe avant tout en amont de la sélection. Elle participe à la connaissance du matériel génomique animal ou végétal utilisé : nombre de chromosomes, polyploïdie, allopolyploïdie etc. Elle permet d'établir les cartes chromosomiques et les variations au sein des caryotypes. Il est connu, depuis le début de ce siècle, que chaque espèce possède un jeu de chromosomes, défini par son effectif et certains paramètres morphologiques [taille, position des centromères, des constriction secondaires] (Bentama et Boursas, 2016). Le manque d'informations sur la cytogénétique des échinodermes est en partie lié aux difficultés

Inhérentes travail au chromosome des espèces appartenant à cette classe. Il est à noter, que sur les 7000 espèces d'Echinoderme, les études portant sur la cytogénétique ont été menées sur seulement 80 taxa, soit environ 1,1% des espèces décrites (Duffy et al., 2007).

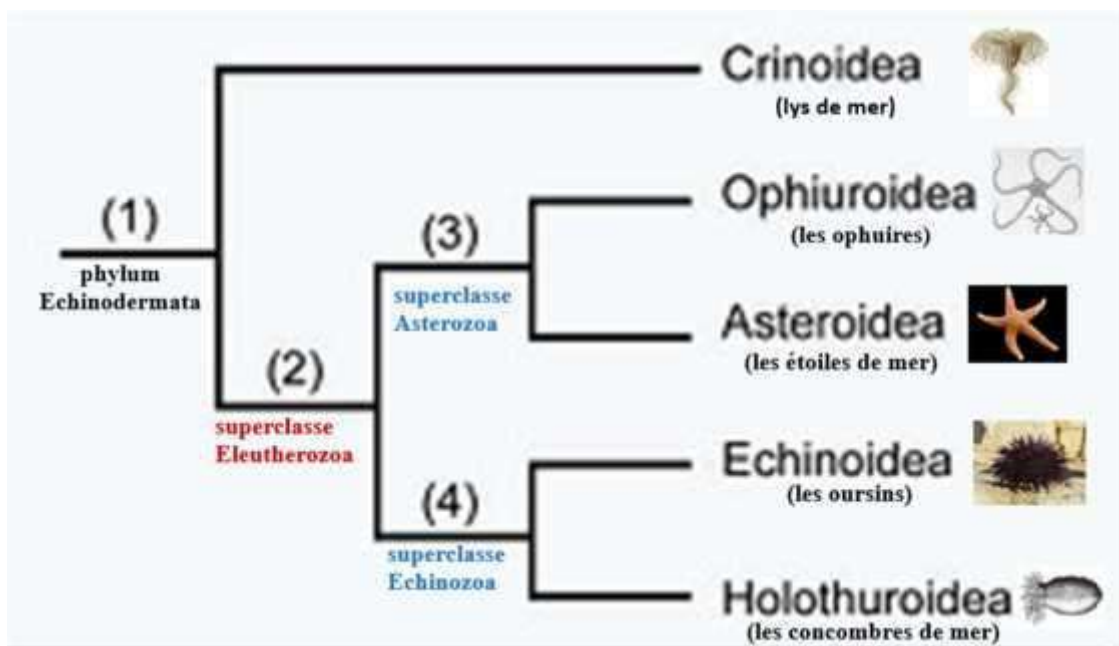
Cependant, peu d'études génétiques fondamentales ont été menées sur ces espèces. Notamment, les études chromosomiques, qui sont importantes pour la génétique et la science de la sélection des concombres de mer. Ces études cytogénétiques sont qualifiées comme rares. Dans la littérature, il n'existe que peu d'études sur les chromosomes des holothuries parmi lesquelles nous citons : les travaux de (Colombera, 1974; Colombera, 1977) sur le nombre de chromosomes de *Holothuria tubulosa* et *Cucumaria planci* et celui de (Xu, 1997) sur les chromosomes de l'holothurie *A. japonicus*.

Le but de la présente étude été de faire une étude cytogénétique (détermination du nombre de chromosomes) de quelque espèce de concombre de mer de la côte de Mostaganem.

*Revue  
Bibliographique*

## I. Généralités sur les Échinodermes

Le terme Échinoderme provient du grec « Echinodermata » et signifie littéralement « peau épineuse » (Echino = épineux ; Derme = peau ; (Lambert, 1997). Dans le règne animal, les Échinodermes sont des animaux marins, benthiques et abondants dans toutes les mers, que ce soit dans les eaux côtières ou en profondeur. Il existe environ environ 7000 espèces d'Échinodermes (Doussantousse, 2012), réunies en cinq classes différentes (**Figure 01**) : les Crinoidea (lys de mer), Astéroidea (les étoiles de mer), Ophiuroidea (les ophiures), Echinoidea (les oursins) et Holothuroidea (les concombres de mer).



**Figure 1** : Cladogramme, illustrant la classification des classes d'échinodermes (Janies, 2001).

Les Échinodermes se distinguent par certaines caractéristiques, dont les plus importantes sont:

- Une symétrie pentaradiée (d'ordre 5) parfois masquée par une symétrie bilatérale ;
- Un squelette intradermique formé de nombreuses sclérites calcaires ;
- Un système ambulacraire. Celui-ci est formé d'un système de canaux internes connectés à des extensions externes. Cet appareil particulier n'existe dans aucun autre groupe du règne animal. Il assure principalement le mouvement et la nutrition des animaux ;
- Des tissus très flexibles appelés tissu conjonctif variable qui leur permet de changer volontairement et rapidement leur rigidité.



## II. Les Holothuries

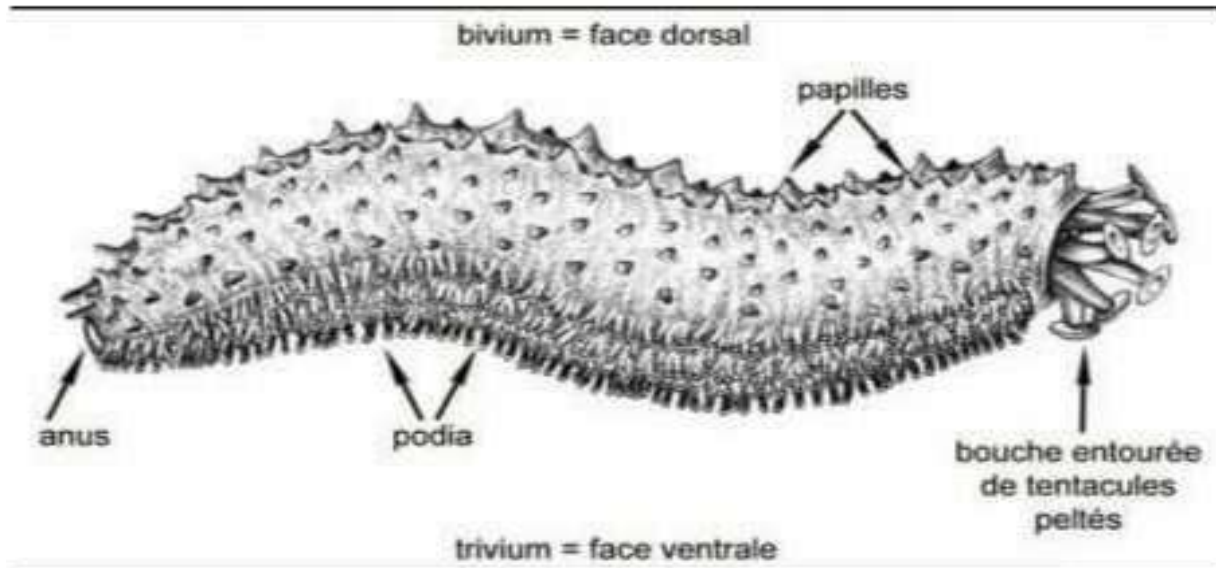
Ce sont des invertébrés sédentaires, qui occupent les habitats à substrat durs (roches, crevasses, récifs coralliens), ainsi que les milieux confinés et abrités tels que les baies, lagunes et lagons. Elles s'observent depuis les premiers mètres d'eau.

Jusqu'aux profondeurs les plus extrêmes (Mezali, 2008). En générale les espèces de concombres de mer du genre *Holothuria* sont des espèces littorales facilement accessibles aux pêcheurs. Ils sont vulnérables à la surpêche puisque leur reproduction repose sur un mécanisme de diffusion des gamètes en mer qui nécessite la présence de populations denses (Bell et al., 2008; Duvauchelle, 2010).

### II.1 Morphologies des holothuries

#### II.1.1 Morphologie externe

Le corps des holothuries peut être cylindrique, prismatique, déprimé, ovoïde ou vermiforme, mais sa forme varie suivant qu'il est contracté ou non (**Figure 2**). La symétrie bilatérale qui se traduit extérieurement par la présence de pôles antérieur (oral) et postérieur (aboral) est masquée par la disposition de 5 zones radiaires ou ambulacraires alternant avec 5 zones interradiaires où inter-ambulacraires qui s'étendent longitudinalement de la bouche à l'anus. Les zones ambulacraires sont aussi appelées radius. Trois de ces radius (trivium) sont situés sur la face ventrale qui peut être légèrement aplatie et former une sole, tandis que les deux autres (bivium) sont situés sur la face dorsale. Bouche et anus sont terminaux ou subterminaux sur la face dorsale ou ventrale (Tortonese et Vadon, 1987)



**Figure 2** : Morphologie externe d'une holothurie du genre *Holothuria* (Samyn et al., 2006).

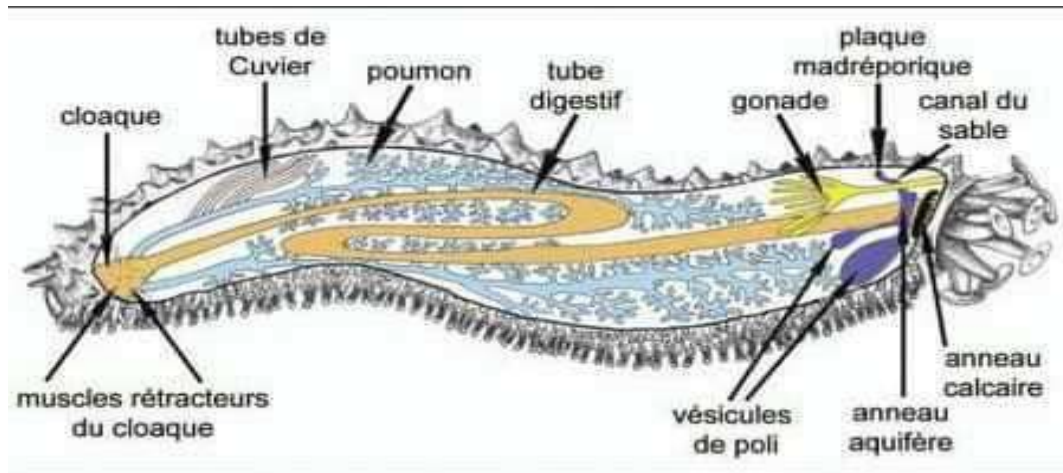
Une couronne de 10 à 30 tentacules buccaux, de taille égale, est disposée en un seul cercle autour de la bouche (**Figure 02**). Ils ont une forme de bouclier ou de parapluie (avec une rosette de lobes à leur extrémité), arborescente (avec des ramifications primaires et secondaires), plumeuse (avec des prolongements des deux côtés) ou digitée (avec un petit nombre de prolongements en forme de doigt à leur extrémité). Les tentacules sont des tubes ambulacraires ou podia modifiés et peuvent donc être plus ou moins dilatés. Les podia sont soit éparpillés sur toute la surface de l'animal, soit disposés en rangées plus ou moins régulières le long des radius ; ils peuvent manquer chez quelques espèces (**Figure 2**). Les podia dorsales sont souvent coniques, sans ventouse, et sont alors appelés papilles. Le tégument est souvent épais et dur. La forme des spicules dermiques est très variable et peut être utilisée comme caractère de détermination spécifique (Tortonese et Vadon, 1987).

## II.1.2 Morphologie interne

### Système digestif

Le système digestif est classique chez les échinodermes commence dans les tentacules, et se continue par la bouche, puis l'œsophage, ensuite la région stomacale, tout de suite il y a un rétrécissement de l'intestin, qui est dans tout le système digestif, l'organe le plus illustre il se trouve enroulé à l'intérieur du cœlome, cela montre une boucle définie, puisque d'abord il descend à la partie postérieure (un intestin mince), en parcourant la région moyenne dorsale, tout de suite il se courbe et monte à la partie antérieure ; il descend le long de la région

ventrale moyenne et la partie finale de l'intestin poursuit dans un droit de taille considérable qui débouche à un ample cloaque et finalement l'anus (Samyn et al., 2006) (**Figure 3**).



**Figure 3** : Anatomie interne d'une holothurie du genre *Holothuria* (Samyn et al., 2006).

### Appareil reproducteur

Une seule gonade existe fixée à la paroi arrière du corps et formée par un e ou deux touffes de nombreux tubes, ramifiés ou non (**Figure 03**). Un simple gonoducte, géré par le mésentère dorsal lié à un gonopore, situé sur la ligne médiane dorsale avant l'anneau tentaculaire (Hendler et al., 1995; Ruppert et Barnes, 1996). La morphologie de la gonade ramifiée présente des modifications entre les familles, et des espèces de la même famille et même entre les populations dans la forme (tubules, des nodules, sacs), la longueur, le degré de ramification, l'épaisseur et même le stade de développement (Smiley, 1988; Hamel et Mercier, 1996; Sewell et al, 1997).

## II.2 Identifications des holothuries

Les holothuries n'ont pas de squelette dur contrairement aux autres Échinodermes, à l'exception d'une couronne calcaire péripharyngienne, qui sert de support aux tentacules buccaux ainsi qu'à cinq bandes musculaires longitudinales qui parcourent tout l'animal (doublés par des muscles rétracteurs chez les Dendrochirotida) ; le tégument contient de minuscules spicules calcaires de formes très variées [tourelles, boucles, plaques perforées, ou encore des bâtonnets qui constituent souvent un excellent critère d'identification et de classification des espèces (Koehler, 1921).

### II.3 Composition chimique de sclérites des holothuries

Les sclérites des holothuries sont constitués d'un complexe de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ), de Magnésium (Mg), du Phosphate et d'éléments traces (Hampton, 1958). Le tableau 01 décrit la composition chimique des sclérites de *Holothuria (Impasiens) forskali* selon (Hampton, 1958).

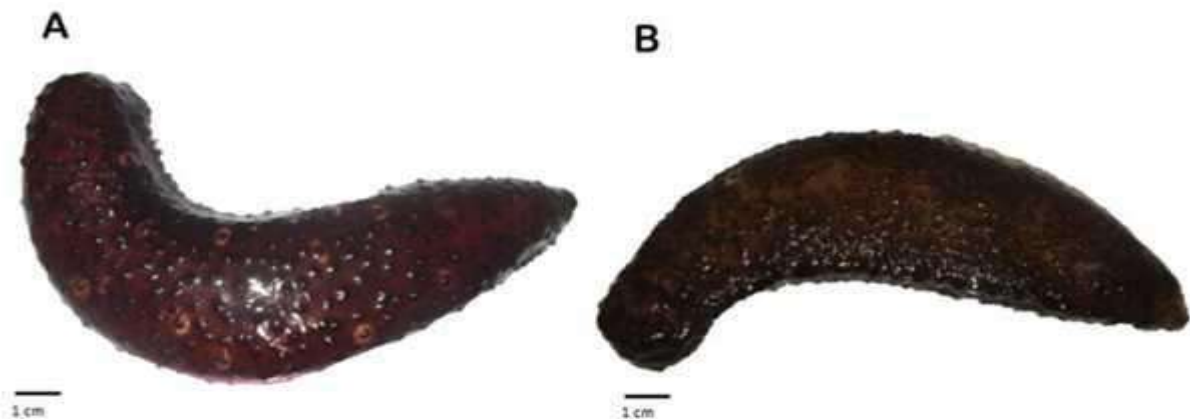
**Tableau 1 :** Composition chimique des sclérites d'*Holothuria (Impasiens) forskali* d'après (Hampton, 1958).  $\alpha$  : pourcentage pour chaque radical  $< 0.001\%$  ; m.equiv : Milliéquivalent par litre ou (mEq/l) est une unité représentant la quantité d'éléments dissoute dans un litre d'eau et égale au millième de l'équivalent de cet élément, c'est -à-dire la concentration d'une solution de n/1000.

Radicaux	Pourcentage	m.equiv
Ca	35.18	1.765
Mg	3.36	0.276
$\text{CO}_3$	60.80	2.026
$\text{PO}_4$	0.29	0.009
Cu, Fe, Pb, Sr, ZN	Traces <sup><math>\alpha</math></sup>	Total Cations 2.032
Ba, Bi, $\text{SO}_4$	-	Total Anions 2.035
Protéines	-	-
Résidus d'acides insoluble	0,01	-
Total		99.64 %

## II.4 Holothuries du genre *Holothuria* des eaux peu profondes de la côte Algérienne

### II.4.1 *Holothuria (Platyperona) sanctori*

*H. (P.) sanctori* est un "concombre de mer" de 30 cm de long et 6 cm de diamètre, de couleur brun foncé. Cependant cette espèce présente un autre morphotype qui est caractérisé par des taches blanches sur le bivium (**Figure 4**). Des études moléculaires (amplification d'ADNr16S) ont montré que les deux morphotypes de *H. sanctori* sont génétiquement identiques et par conséquent ils représentent une seule espèce (Mezali, 2008; Mezali et Francour, 2012). Ces espèces ont en commun la possibilité de pouvoir expulser des tubes de Cuvier en cas d'agression. *H. (P.) sanctori* vit dans des fonds rocheux dans les profondeurs entre 5-30 m. Cependant, elle a été observée à une profondeur de 337 m (Sibuet, 1974). Le cycle de reproduction de *H. (P.) sanctori* est saisonnier avec une période de ponte estivale entre juin et aout (Navarro et al., 2012; Mezali et al., 2014).



**Figure 4** : *Holothuria (P.) sanctori* : face dorsale et B : face ventrale (Slimane-Tamacha et Mezali, 2017).

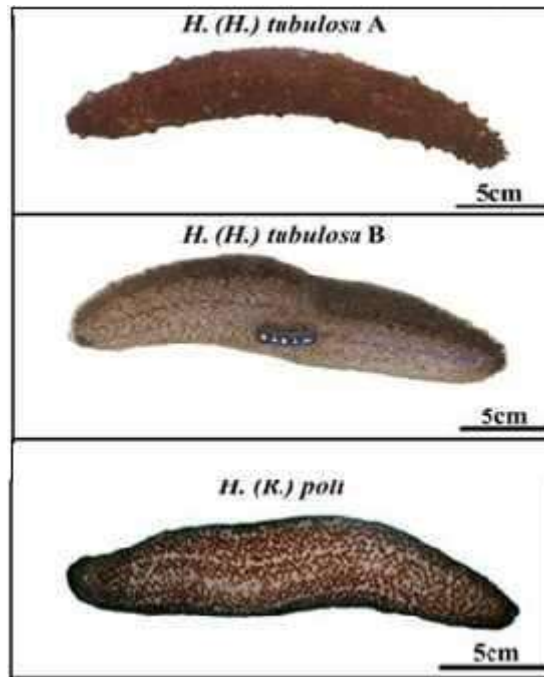
### II.4.2 *Holothuria (Holothuria) tubulosa*

Ces l'une des espèces d'holothuries les plus répandues en Méditerranée et sur la façade méridionale de l'Atlantique (Mecheta et Mezali, 2019). La taille du corps de *H. tubulosa* atteint une longueur de 35 cm et une largeur de 8cm (Brava, 2005). *Holothuria (Holothuria) tubulosa* est caractérisée par une coloration brune, son tégument comporte de nombreuses papilles de couleur foncée (jamais blanches), de grosses papilles caractéristiques, grossièrement pointues mais molles. L'épiderme de bivium sécrète un mucus protecteur salissant que l'animal

renouvelle régulièrement. Sa face ventrale est largement tapissée de trois rangées de podia qui sont les organes de locomotion. Elle ne possède pas de tubes de Cuvier. L'espèce est à sexes séparés sans dimorphisme sexuel apparent. La ponte a lieu pendant les mois de juillet, août et septembre (Despalatovic et al., 2004; Valls, 2004) quand la température de l'eau est à son maximum (Brava, 2005). Quelques spécimens amorçaient cette phase, avant d'être suivis par l'ensemble de la population. Ils se dressent sur deux tiers de leur corps pour émettre du sperme et pondre des œufs. *H. tubulosa* vit sur des fonds sablonneux ou solides très riches en sédiments. Cette espèce se nourrit de fragments organiques qu'elle récupère en ingérant de grandes quantités de sédiments. Elle se retrouve, parfois en concentrations élevées sur les fonds à substrats rocheux, à sédiments mous et dans les herbiers de Magnoliophytes, à des profondeurs qui varient entre 5 et 100 m (Belbachir et al., 2019). Cependant, l'étude systématique et phylogénétique approfondie de (Mezali, 2008; Mezali et Paulay, 2009) sur quelques espèces d'holothuries de la côte Algérienne a mis en évidence l'existence de deux morphotypes de *H. (H.) tubulosa*. Selon ces auteurs le morphotype A de *H. (H.) tubulosa* correspond à *H. (H.) tubulosa* classique précédemment décrite par (Koehler, 1921) alors que le morphotype B correspondrait à une espèce d'holothurie dont les caractéristiques sont totalement différentes à celles de *H. (H.) tubulosa* A (**Figure 5**). Ce résultat a été confirmé ultérieurement dans les révisions systématiques de (Mansouri, 2015; Mansouri et al., 2016; Mansouri et Mezali, 2017; 2018).

#### **II.4.3 *Holothuria (Roweothuria) poli***

Ce concombre de mer fréquente des fonds de 1 à 250 m de profondeur, elle mesure environ 25 cm de long et 5 cm de diamètre, ses papilles et ses podia sont blancs. Son corps a la forme d'un cylindre allongé, légèrement plat (**Figure 05**). Le tégument sécrète du mucus visqueux qui permet à l'animal de se couvrir d'un film de sable ou de divers débris organiques (fragments de feuilles mortes). Le côté ventral, gris-brun, a plusieurs podia non symétriques. La différence de couleur entre les côtés supérieur et inférieur est faible, contrairement à *Holothuria tubulosa* (Mezali, 2008). *H. (R.) poli* est rencontré dans la Méditerranée et l'Atlantique (entre le golfe de Gascogne et les îles Canaries).

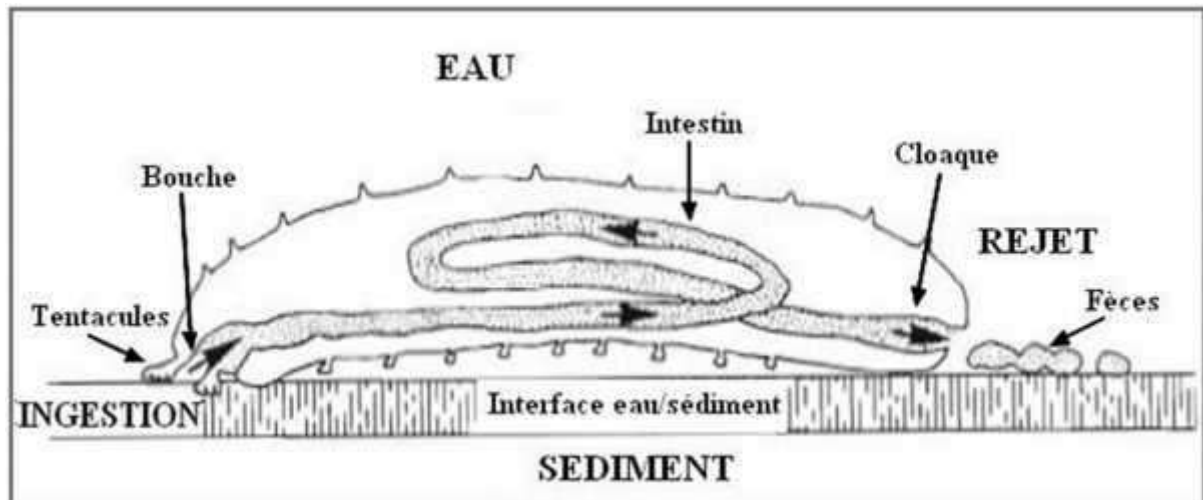


**Figure 5 :** Morphologie externe de trois espèces d'holothuries de la côte algérienne (Mezali et Francour 2012) modifiée.

## II.5 Régimes alimentaires des holothuries

Les holothuries ou les concombres de mer absorbent les dépôts de surface, les résidus et les micro-organismes associés par ses tentacules bicaux (Roberts et al., 2000) (**Figure 6**). Elles se nourrissent de plancton, de litière et de matière organique trouvés dans le sédiment, les algues ou les microalgues *Dunaliella* et *Rhodomonas* (Calva, 2002). Les sédiments engloutis par le concombre de mer sont principalement constitués de matière s inorganiques (débris coralliens, restes d'huîtres, récifs coralliens, tests rocheux et débris de fond inorganiques).

Déchets organique (phanérogames marines, en particulier les feuilles mortes ou en décomposition et les organismes morts). Micro-organismes (bactéries, diatomées, et protozoaires), ou la matière fécale expulsés par le concombre de mer lui-même ou d'autres animaux (Pawson, 1969; Massin, 1982). Le choix et la préférence des aliments dépendent de nombreux facteurs environne-mentaux, comportementaux et physiologiques. Il existe un certain nombre de rapports limités sur l'alimentation et la croissance (Franklin, 1980). Les sédiments traversent le tractus gastro-intestinal tubulaire en trois parties (descendant, puis ascendant et enfin vers le bas) avant de pénétrer dans le bassin et sont rejetés par l'anus (Mezali, 2008). La Sélectivité alimentaire est en fonction de la taille des particules collectées, ou chimiquement en fonction de leur richesse en matière organique.



**Figure 6** : Schéma montrant le transit digestif d'une holothurie (Conand, 1994).

Pendant le cycle de vie de l'holothurie, le régime alimentaire peut changer. Le temps de transit intestinal a été évalué pour trouver la quantité de sable retournée par la population. Le temps de passage du sable coloré entre la bouche et l'anus a été calculé pour plusieurs types : de 12 à 14 heures (Moriarty, 1982).

## II.6 Reproduction chez les holothuries

Le système reproducteur se compose des gonades (mâles ou femelles) et un gonopore externe, situé près de la bouche (Guille et al., 1986). Les gonades sont constituées d'un grand nombre de branches, les sexes sont séparés principalement identifiables par la couleur des gonades. Les gonades femelles sont généralement jaunes ou orange, et chez les mâles, elles sont blanches (**Figure 7**). La détermination du sexe macroscopiquement dans certains cas n'était pas facile et nécessitait des observations microscopiques (Mezali, 2008; Slimane-Tamacha et Mezali, 2017).



**Figure 7** : Gonades matures d'*H. poli*. (A) : femelle et (B) : mâle (Tolon et Engin, 2019).



Notons que, les concombres de mer sont capables de se reproduire sans passer par l'émission de gamètes. C'est pour cette raison que l'on parle de reproduction asexuée. L'animal se scinde en deux parties et chacune d'elles régénère la partie qui lui manque pour donner deux individus.(Mezali,2008).

## II.7 Commercialisation des holothuries

Les concombres de mer sont utilisées pour la pêche, ce sont aussi considéré tant que ressource nutritionnelle : ils sont appréciés pour la cuisine, et leur valeur nutritive est recherchée (la partie la plus consommée est la paroi corporelle). Le concombre de mer a été commercialisé sous forme de produit sec ou congelé (le produit est précuit avant emballage de sorte que l'acheteur n'a qu'à le réchauffer pour la consommation) C'est un produit à très long terme : il peut être transporté sur de longues distances et stocké pendant un an ou plus. Le concombre de mer est également utilisé pour préparer de nombreuses boissons enrichies, ce qui devrait améliorer les bienfaits pour la santé. Il est commercialisé sous forme de trévang ou bêche-de-mer. La commercialisation des holothuries au Maghreb vient de commencer. En Algérie, des activités pêche illicites ont été signalées ces dernières années, des réseaux clandestins sont mis en place pour la chasse et la commercialisation des holothuries, notamment au profit des communautés chinoises fondées en Algérie (**Figure 8**). Les informations recueillies auprès des pêcheurs et des plongeurs indiquent que l'exploitation a commencé en 2013 sur la côte ouest et centrale, avant de s'étendre à toute la côte algérienne. La récolte des holothuries se développe rapidement et est capable d'extraire de grandes quantités de cette faune benthique, d'où l'urgence de développer une stratégie nationale de gestion des pêcheries émergentes qui, si nous dépendons du schéma d'exploitation déjà observé dans d'autres régions du monde, sera bientôt confrontée à des défis de conservation des ressources et impact environnemental (Neghli et Mezali, 2019). Ces auteurs ont formulé des recommandations pour établir des marchés légaux pour la vente d'holothuries.



**Figure 08** : Spécimens d'*Holothuria tubulosa* transformés en bêche -de-mer avant d'être vendus à des acheteurs chinois locaux. A) Produit séché ; B) sélection de produits de qualité ; C) ensachage à vendre. (Neghli et Mezali, 2019).

## II.8 Intérêt économique des holothuries

Les espèces d'holothuries les plus recherchées en Méditerranée sont *H. (R.) poli*, *H. (H.) tubulosa*, *H. (R.) arguinensis* et *Paratichopus regalis*. Il est à noter qu'à travers le monde 66 espèces de concombres de mer sont exploitées et commercialisées (Purcell et al., 2010). Ce sont des espèces cibles de la pêche commerciale depuis les années 1990 (Aydin, 2008). En 1996 la Turquie a été le premier pays méditerranéen qui a commencé à récolter les holothuries. Actuellement, la Turquie a acquis une position de leader parmi les pays méditerranéens dans l'exportation de concombres de mer, qui sont largement distribués sur la côte égéenne. Une augmentation significative des pièges au concombres de mer a été observée en Turquie depuis l'année 1996 (Aydin, 2020). Le produit transformé est principalement exporté vers Singapour, Hong Kong et le Japon. La production est passée de 20 tonnes en 1996 à environ 80 tonnes en 2007 (Aydin, 2008), avant d'atteindre 600 tonnes en 2011 (González-Wangüemert et al, 2014) . De même, il est à signaler qu'en 2001, le Maroc a exporté avec succès 2,1 tonnes vers Hong Kong.

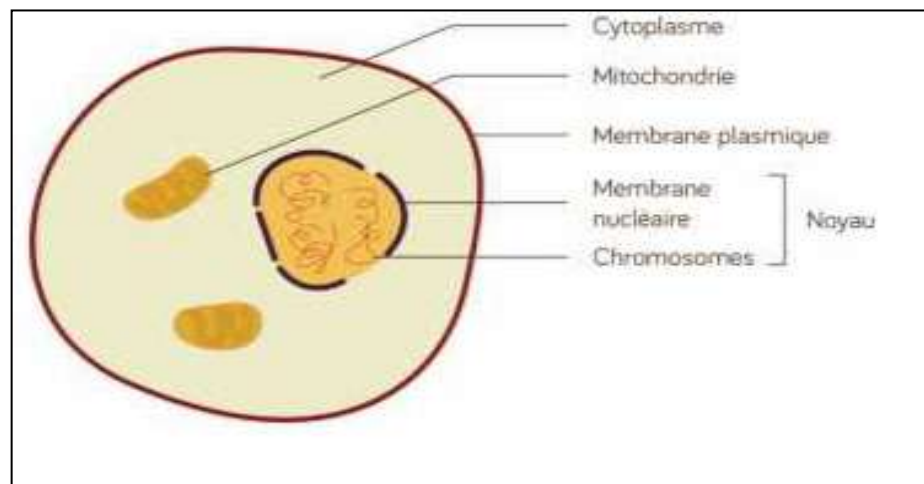
## II.9 Valeurs pharmaceutiques et nutritionnelles des biomolécules actifs issues des holothuries

Parmi les organismes marins, les concombres de mer sont une ressource naturelle intéressante pour de nouvelles substances fonctionnelles ayant des activités biologiques qui peuvent être utilisées dans les industries alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Peptides biologiquement actifs, vitamines, minéraux, acides gras, saponines, glycosides de triterpène, caroténoïdes, collagène, gélatine, sulfate de chondroïtine, acides aminés, acides gras et autres composés. Ces éléments actifs ont des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antitumorales, anticoagulantes et antivirales (Siahaan et al, 2017).

### III Notion de cytologie - la division cellulaire

#### III.1 Mitose

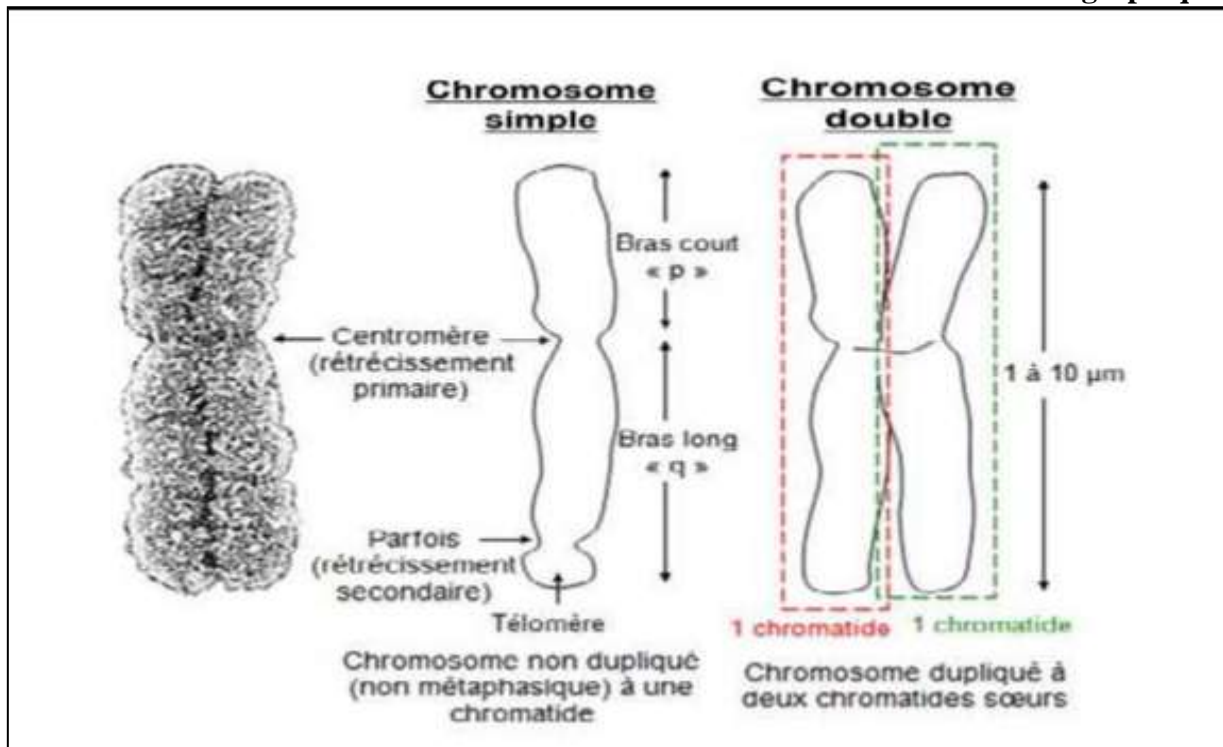
Les cellules eucaryotes possèdent toutes une organisation générale commune : elles ont toutes une membrane plasmique (doublée d'une paroi chez les végétaux), un cytoplasme et un noyau, qui contient l'information génétique (**Figure 9**). Les cellules procaryotes ne possèdent pas de noyau.



**Figure 9** : Dessin d'une cellule d'eucaryote animale observé au microscope optique (x 400). ([www.schoolmouv.fr](http://www.schoolmouv.fr)).

Une partie de l'ADN ou "gène" contient des informations responsables des caractères hérités. L'ADN n'est pas condensé (non compliqué) dans le noyau cellulaire afin que la cellule puisse le lire et l'utiliser. Mais à mesure que la division cellulaire approche, l'ADN se condense et se forme ([www.mathrix.fr](http://www.mathrix.fr)).

Les chromosomes sont doubles justes avant la division mais apparaissent simples en fin de la division. Un chromosome double est constitué de deux brins d'ADN identiques suite à un épisode de duplication précédant la division (**Figure 17**).



**Figure 10** : Chromosome métaphasique (simple et double) et schéma d'interprétation.

(www.profsvt71.e-monsite.com).

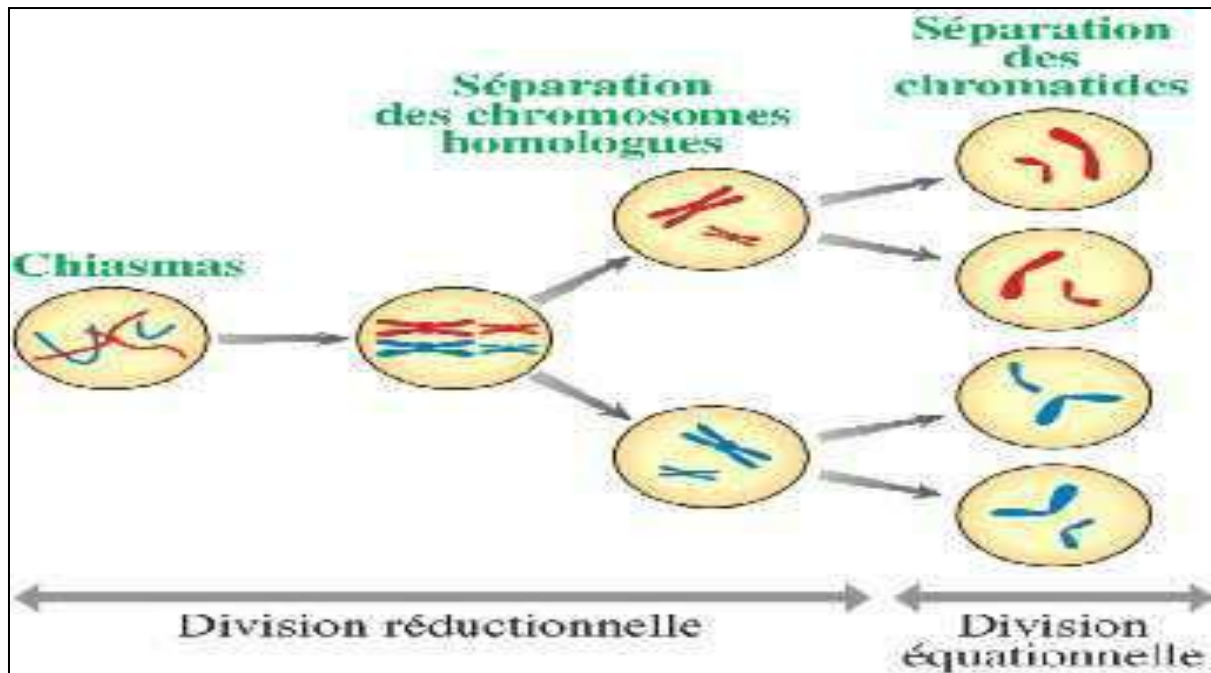
Le patrimoine génétique fait référence à tout le matériel génétique, c'est -à-dire l'ADN, qui est présent dans le noyau de toutes les cellules individuelles. Ce patrimoine génétique est transmis lors de la division cellulaire. La réplication de l'ADN, étape nécessaire avant toute division, afin de préserver l'héritage complet de chaque cellule fille. Après cela, les mutations de l'ADN sont à l'origine de la variation génétique et que l'étude du génome actuel nous permet de retracer notre histoire évolutive. Notre patrimoine génétique s'exprime sous forme de protéines issues de l'expression de ce patrimoine, des enzymes, qui sont des biomolécules aux propriétés catalytiques.

### III.2 Méiose

La méiose est la succession de deux divisions cellulaires. Cette division est précédée d'un doublement de la quantité d'ADN. Quatre cellules chromosomiques sont produites à partir d'une cellule diploïde (**Figure 11**). Cette division particulière se déroule en deux temps :

- **Une division réductionnelle** qui consiste à réduire le nombre de chromosomes en séparant les chromosomes d'une même paire : chaque cellule fille ne reçoit qu'un seul chromosome (double) de chaque sorte (paire).
- **Une division équationnelle** qui consiste à séparer les chromatides des chromosomes doubles : chacune des 2 cellules-filles va séparer les chromatides de chacun des 23

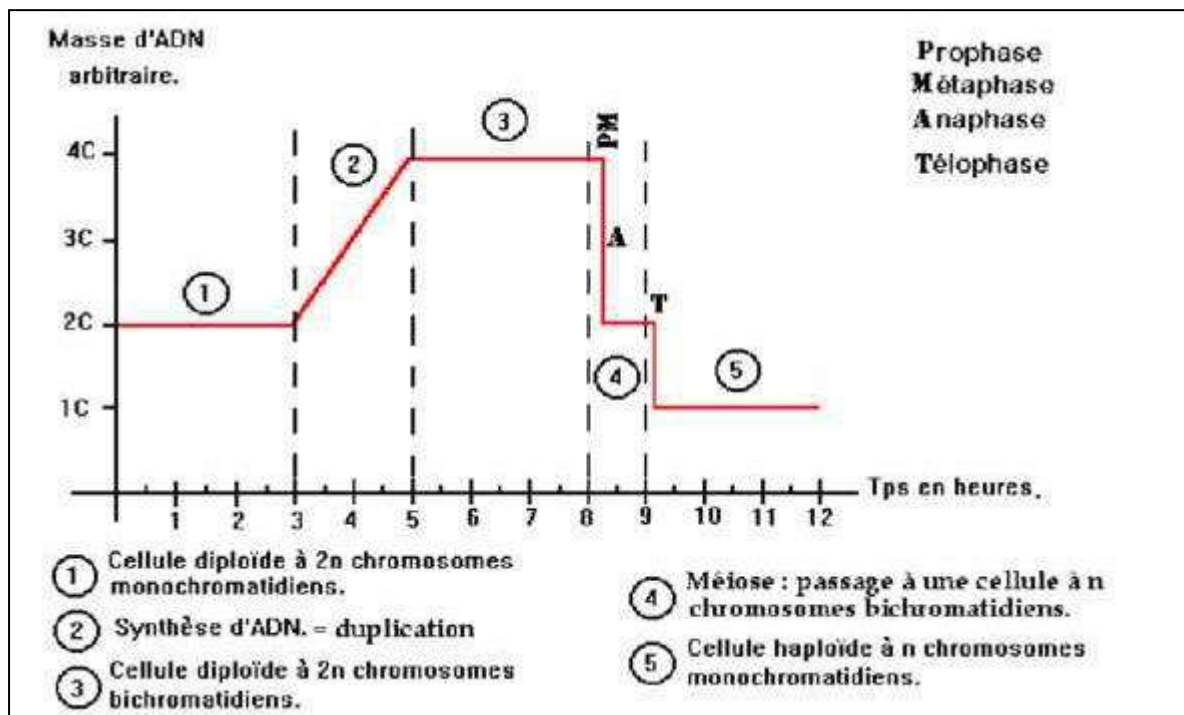
chromosomes doubles qu'elle a reçus de la première division ce qui veut dire qu'au final on obtient 4 cellules avec chacune un chromosome simple de chaque sorte.



**Figure 11:** Les étapes de la méiose (division équationnelle et division réductionnelle).  
([www.sites.google.com](http://www.sites.google.com)).

### III.2.1 Caractéristiques générales de la méiose

La méiose est le mécanisme à l'origine de la formation de cellules haploïdes : Spores chez les champignons ; Grains de pollen et ovules chez les végétaux supérieurs ; Spermatozoïdes et ovocytes chez les espèces animales ; La méiose assure le passage de la phase diploïde à la phase haploïde. Elle suit une phase de répllication de la molécule d'ADN. Suite aux deux divisions successives qui la composent, chaque cellule fille contient un lot haploïde de chromosomes (**Figure 12**).



**Figure 12 :** Évolution de la quantité d'ADN au cours de la méiose. Chaque division cellulaire comporte 4 phases successives : la prophase, la métaphase, l'anaphase et la télophase.

### III.2.2 Les différentes étapes de la méiose

#### La première division de la méiose (division réductionnelle)

La première division de la méiose est une phase réductionnelle, où le stock de chromosomes et la quantité d'ADN sont divisés par deux. Elle assure ainsi le passage de la diploïdie à l'haploïdie. Cette étape est précédée d'une phase de réplication d'ADN. Les étapes sont résumées sur le tableau suivant :

**Tableau 02 :** les étapes des phases de la division réductionnelle

Schémas d'interprétation avec  $2n=6$  chromosomes

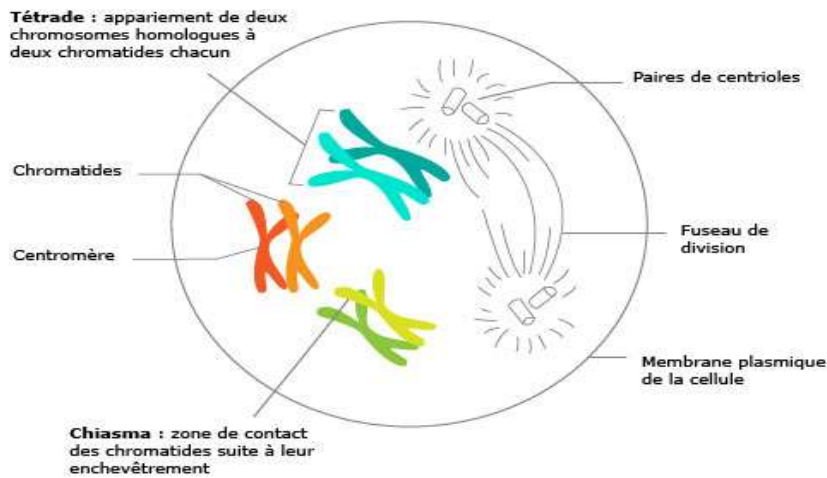


Schéma : de la prophase I ([www.maxicours.com](http://www.maxicours.com)).

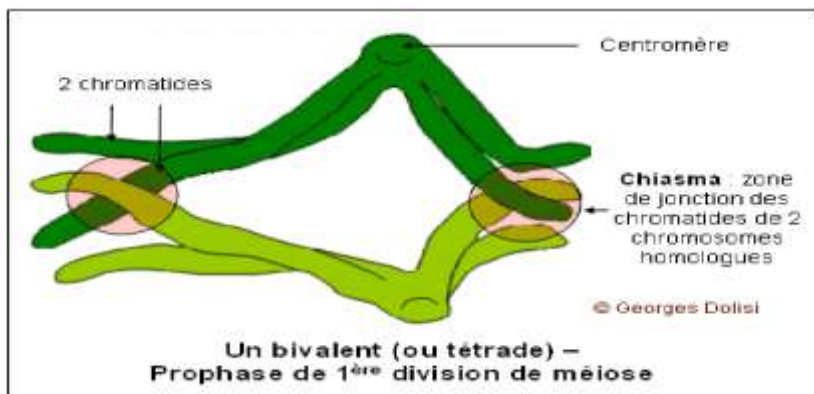


Schéma d'un bivalent ou tétrade avec chiasma

([www.svt.laurence.michel.pagesperso-orange.fr](http://www.svt.laurence.michel.pagesperso-orange.fr)).

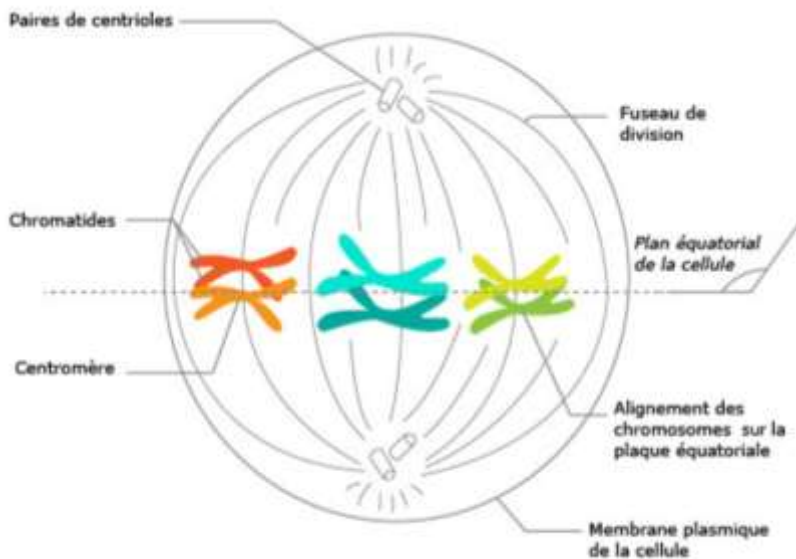


Schéma : de la métaphase I.

([www.maxicours.com](http://www.maxicours.com)).

Description des phases

**Prophase I :**

les chromosomes doubles s'individualisent et se condensent.

Les chromosomes homologues s'apparient sur toute leur longueur, s'enchevêtrent et forment des bivalents (ou tétrades) : ceux-ci sont fixés au niveau des chiasmata. On distingue alors  $n$  bivalents.

C'est au cours de cette prophase de première division de méiose que se réaliseront les brassages intra chromosomiques ou « crossing-over ».

([www.maxicours.com](http://www.maxicours.com)).

Les chromosomes sont visibles sous la forme de très longs filaments composés de deux chromatides-sœurs.

Les chromosomes homologues s'apparient.

Les chiasmata sont formés.

Les chromosomes homologues restent attachés uniquement par les chiasmata.

Les chromosomes sont complètement condensés et sont prêts pour les divisions méiotiques.

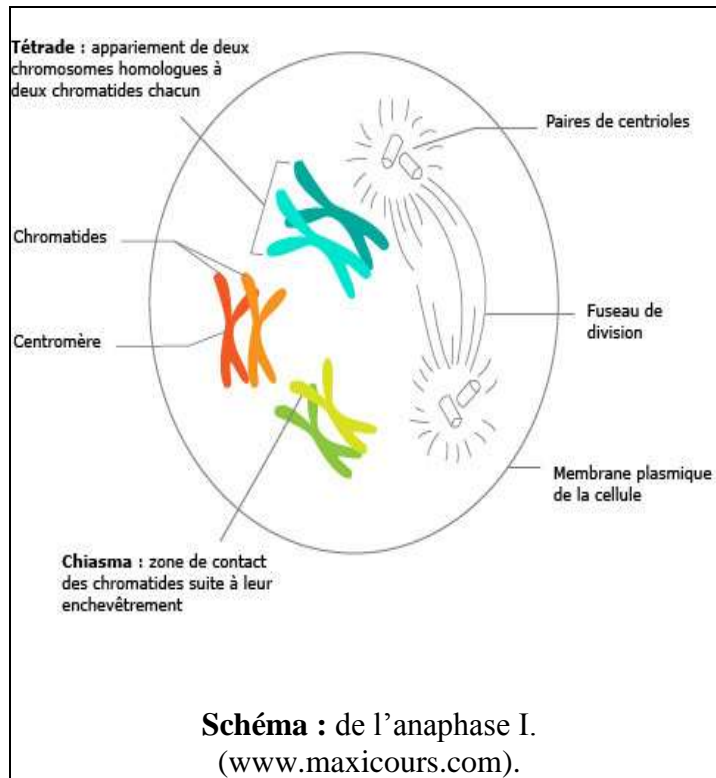
([www.svt.laurence.michel.pagesperso-orange.fr](http://www.svt.laurence.michel.pagesperso-orange.fr)).

**Métaphase I :** la condensation des chromosomes est maximale, les bivalents se disposent de façon aléatoire au niveau de la plaque équatoriale de la cellule. Les deux chromosomes de chaque paire se font face, car les centromères sont disposés de part et d'autre de cette plaque.

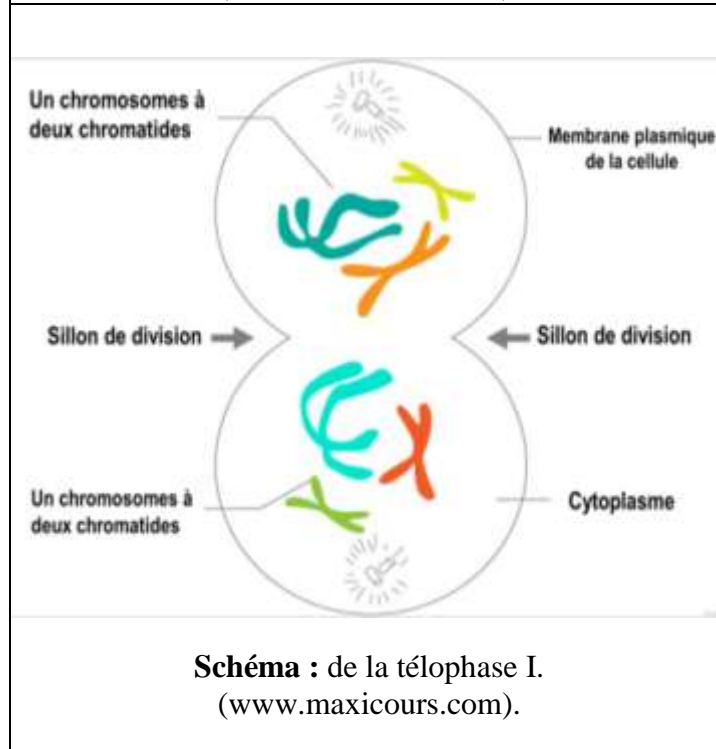
([www.maxicours.com](http://www.maxicours.com)).

Les chromosomes homologues appariés se disposent à l'équateur de la cellule sur les fuseaux de division cellulaire.

([www.svt.laurence.michel.pagesperso-orange.fr](http://www.svt.laurence.michel.pagesperso-orange.fr)).



**Anaphase I** : c'est la séparation des chromosomes homologues de chaque paire (on parle de disjonction) et leur migration vers un pôle de la cellule. Il se constitue deux lots de  $n$  chromosomes à deux chromatides vers chacun des pôles de la cellule. Il n'y a pas de division des centromères. ([www.maxicours.com](http://www.maxicours.com)). Les chromosomes homologues se disjoignent (en conservant leurs deux chromatides) suite au raccourcissement des fuseaux de division qui entraînent le centromère vers un des pôles de la cellule. ([www.svt.laurence.michel.pagespersoorange.fr](http://www.svt.laurence.michel.pagespersoorange.fr)).

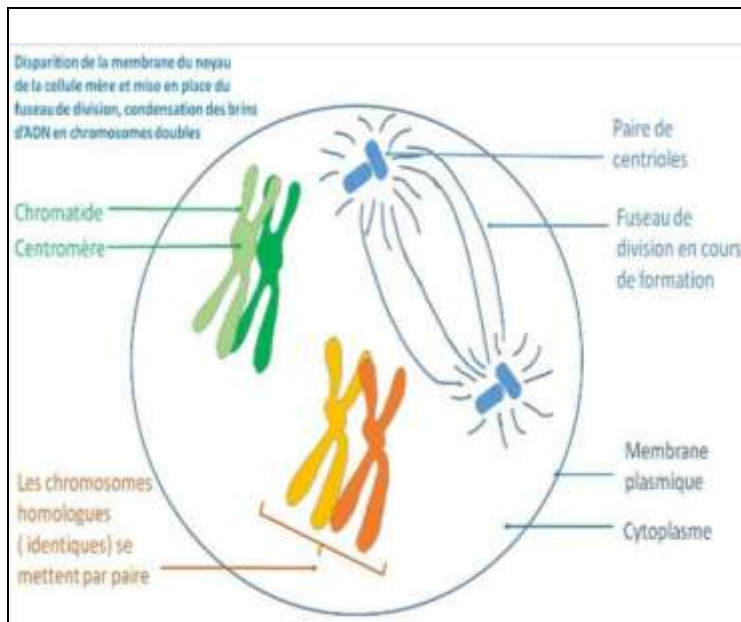


**Télophase I** : c'est la formation de deux cellules haploïdes à  $n$  chromosomes doubles. Elle correspond à la séparation de la cellule initiale en deux cellules filles renfermant chacune  $n$  chromosomes à deux chromatides. ([www.svt.laurence.michel.pagesperso-orange.fr](http://www.svt.laurence.michel.pagesperso-orange.fr)).

### Deuxième division de la méiose (division équationnelle)

Elle a toutes les caractéristiques de la mitose, mais n'est pas précédée d'une interphase. Elle se produit à partir de chaque cellule à  $n$  chromosomes doubles, deux cellules à  $n$  chromosomes simples. Les étapes sont résumées sur les Tableaux suivants :



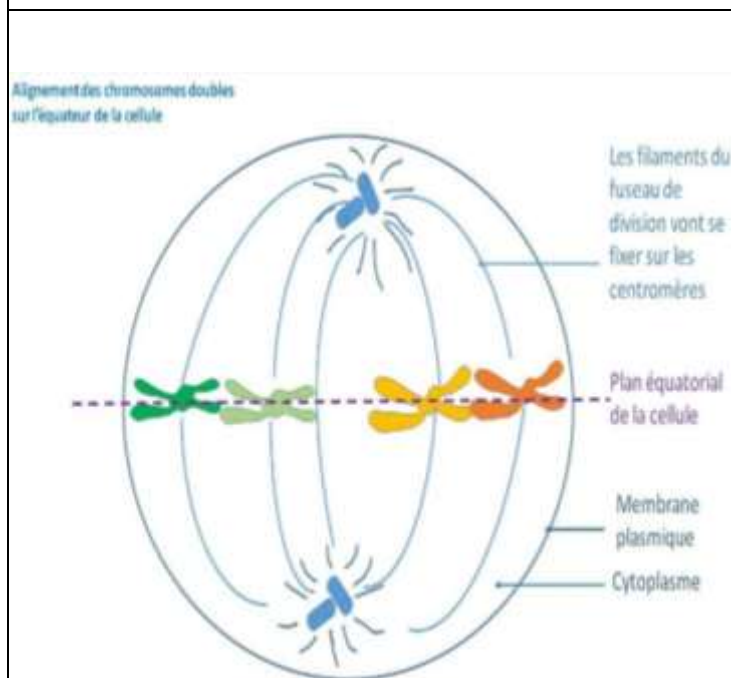


**Schéma :** de la prophase II.

(www.mathrix.fr).

**Prophase II :** Elle est caractérisée par la condensation du matériel génétique en chromosomes à deux chromatides. Entre les deux pôles de la cellule apparaît un fuseau mitotique, constitué essentiellement de fibres ou microtubules. La membrane nucléaire est visible.

(www.mathrix.fr).



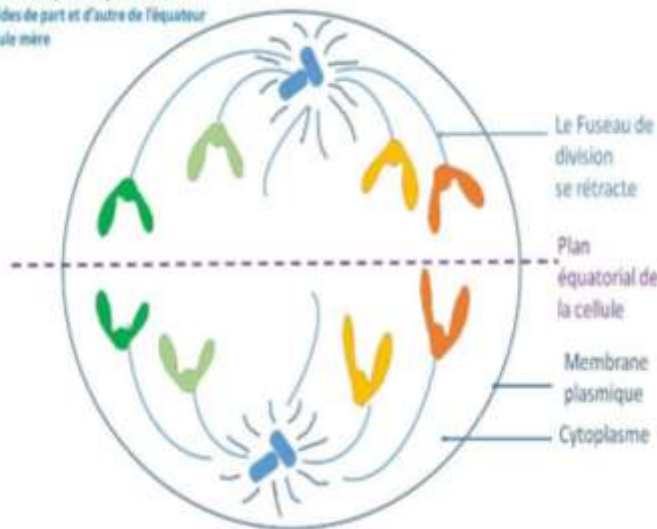
**Schéma :** de la métaphase II.

(www.mathrix.fr).

**Métaphase II :** L'enveloppe nucléaire s'est fragmentée puis a disparu. Les chromosomes sont à 2 chromatides. Ils s'attachent alors par leur centromère aux microtubules du fuseau mitotique. Ces derniers rassemblent les chromosomes à l'équateur de la cellule formant la plaque équatoriale (à mi-chemin entre les deux pôles de la cellule).

(www.mathrix.fr).

Séparation des chromosomes doubles en chromosomes simples et répartition des chromatides de part et d'autre de l'équateur de la cellule mère



**Schéma :** de l'anaphase II.

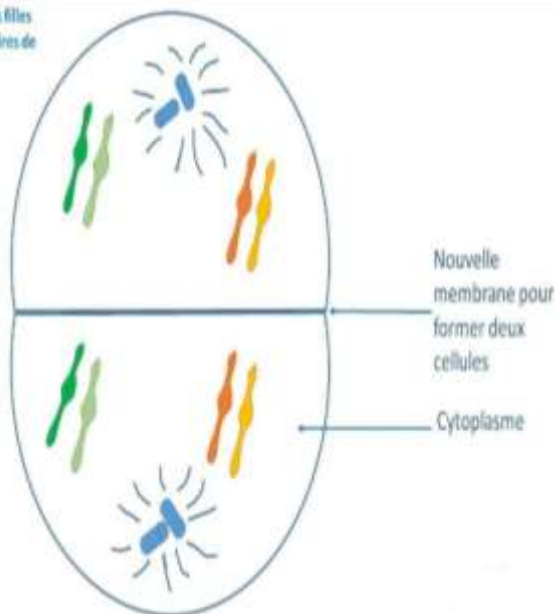
(www.mathrix.fr).

**Anaphase II :**

Les deux chromatides constituant chaque chromosome vont se séparer. En effet, les microtubules se raccourcissent, tirent chaque chromatide vers l'un des pôles de la cellule. On obtient donc deux lots identiques de chromosomes à un chromatide, l'un à chaque pôle de la cellule.

(www.mathrix.fr).

Séparation des deux cellules filles possédant chacune deux paires de chromosomes simples



**Schéma :** de la télophase II.

(www.mathrix.fr).

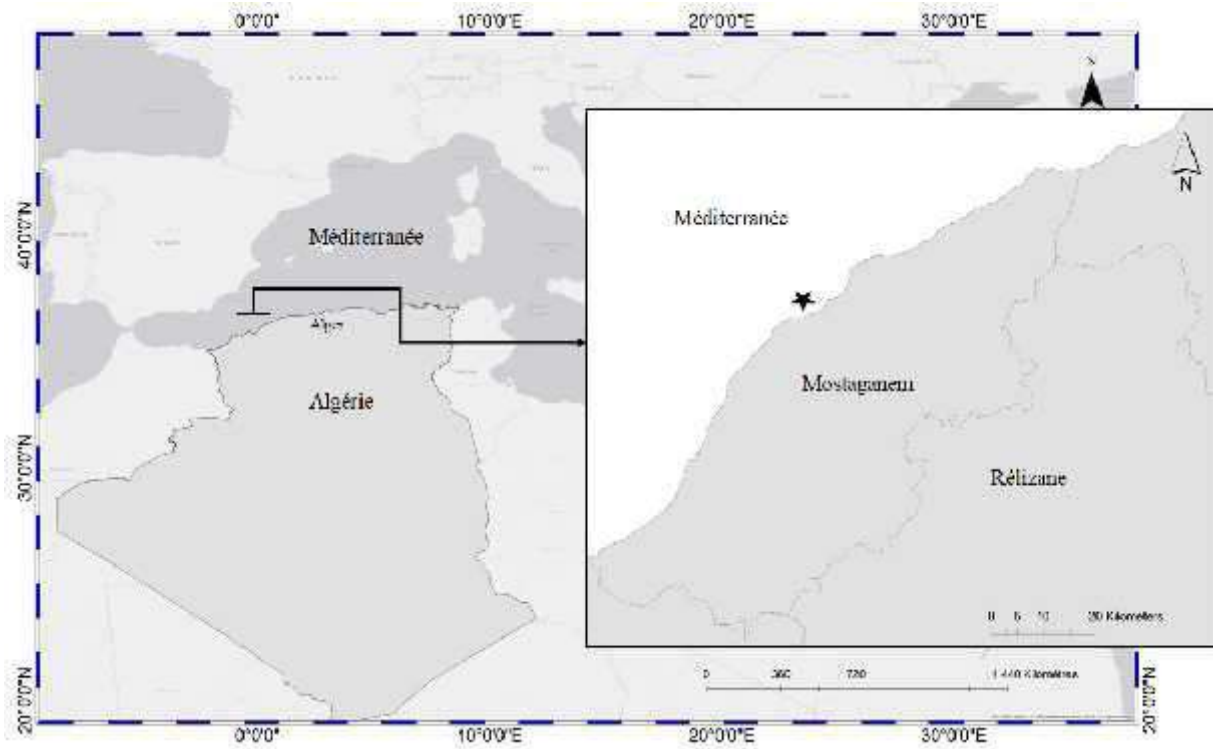
**Télophase II :** Le fuseau mitotique

disparaît. Une nouvelle enveloppe nucléaire se forme alors autour de chaque lot de chromosomes à un chromatide. Les deux lots de chromosomes se décondensent pour retrouver leur aspect interphasique (chromatine). La télophase se termine par la mise en place de deux nouvelles membranes cellulaires, une pour chaque cellule fille, ce qui divise le cytoplasme en deux parties égales : c'est la cytotélocytose. (www.mathrix.fr).

# **Matériels et Méthodes**

## I. Zone d'étude

Ben Abdelmalek Ramdane (ex-Ouillis) est une commune côtière de la wilaya de Mostaganem en Algérie. Elle est située à 35km du chef-lieu de la wilaya de Mostaganem. La commune dispose d'un littoral d'une longueur de 15 km, délimitée à l'Ouest par l'oued du Cheli f et à l'Est par le Cap-Ivi. La plage Ben Abdelmalek Ramdane s'étend sur une longueur de 5 km et une largeur moyenne de 600 mètres.



**Figure 13 :** Carte de la zone d'étude : la plage de Ben Abdelmalek Ramdane représentée par une étoile (Google earth).



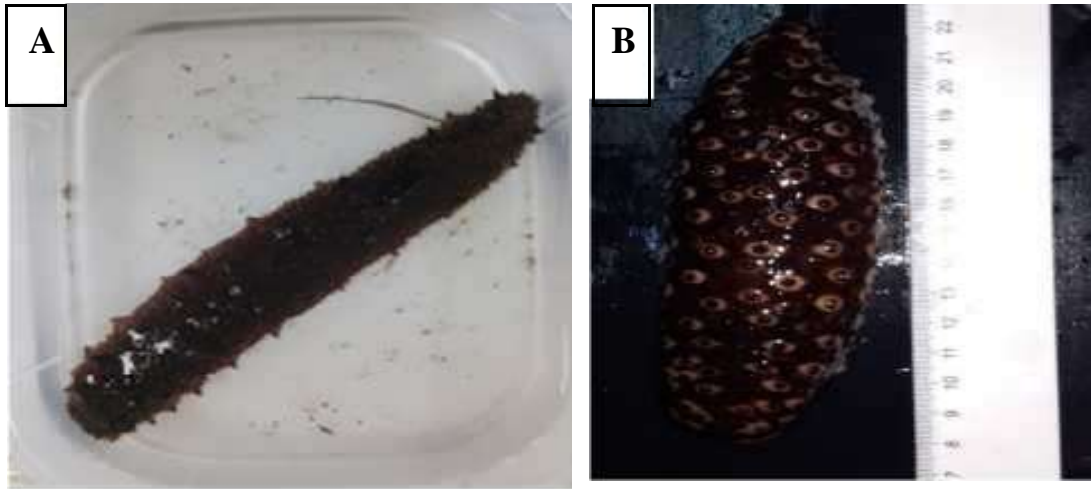
**Figure 14** : Photo montrant le site de prélèvement au niveau de la zone de Ben Abdelmalek Ramdane (ex-Ouillis), (Aced et Chachou 2020).

### **I.1 Hydrodynamisme**

Le courant dominant au large de la région côtière de Mostaganem est d'origine atlantique. Ce courant d'une épaisseur moyenne de 200km, pénètre par le d'étroit de Gibraltar et coule au niveau des côtes algériennes où il prend le nom de courant algérien. La veine de courant devient instable, formant des tourbillons cycloniques de 100Km de diamètre associé à des remontées importantes d'eaux profondes, ce qui rend ces zones très productives.

## **II. Méthode d'échantillonnage**

Les échantillons ont été prélevés en apnée au niveau de la plage de Ben Abdelmalek Ramdane. Entre février et mars 2020 sur une profondeur qui varier entre 3 et 5 m (**Figure 13& 14**). Les holothuries ciblées sont les suivantes : *Holothuria (H.) tubulosa* ; *Holothuria (R.) poli* ; et *Holothuria (P.) sanctori*. Les échantillons ont été placés dans une glacière contenant de l'eau de mer et transportés immédiatement au laboratoire Protection, Valorisation des Ressources Marines et Littorales et Systématique Moléculaire (PVRMLSM).



**Figure 15** : Deux individus d'holothuries échantillonnés au niveau de la station d'étude. A : *Holothuria (H.) tubulosa* (photo prise par Aced et Chachou 2020) et B : *Holothuria (P.) sanctori* (photo prise par Lebouazda 2020).

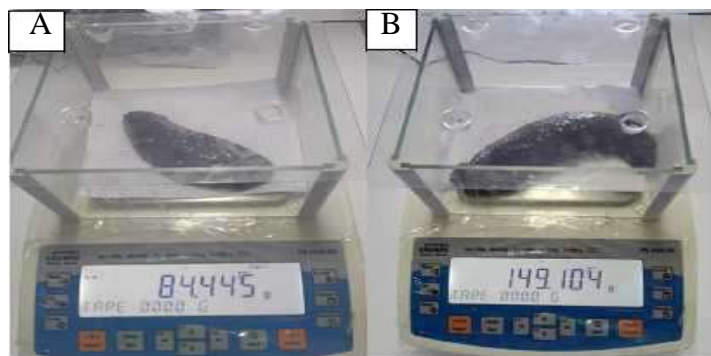
## II.1 Identification des holothuries

Pour l'identification des holothuries, nous avons examiné les éléments endosquelettiques (les sclérites) et quelques caractères morphologiques et anatomiques visibles (tel que la consistance du corps, l'existence de taches blanches et de tubes de Cuvier, nombre de tentacules, etc.).

## II.2 Étude des chromosomes

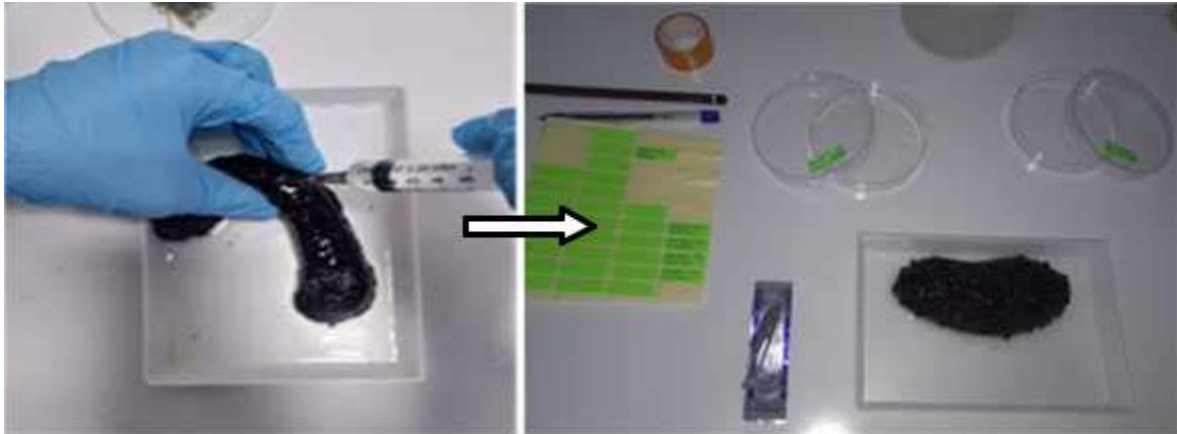
### II.2.1 Méthode de séchage et de broyage "air drying and scraping method"

Pour l'étude caryologique la méthode "air drying and scraping" d'Odierna et Caputo (1992) et de Baldanza et al., (1993) a été utilisée. Chaque individu prélevé de l'aquarium est mesuré (longueur contractée), puis pesé (poids humide du corps) (**Figure 16**).



**Figure 16** : Détermination des poids des spécimens.

On injecte grâce à une seringue une dose de colchicine\* ( $C_{22}H_{23}NO_6$ ) (7.5mg de colchicine dans 750ml d'eau distillée) au niveau de deux parties du corps de l'holothurie : la première injection au niveau de la gonade (au niveau du gonopore) et la deuxième injection au niveau du liquide cœlomique (**Figure 17**). La dose de colchicine injectée est en fonction du poids de l'animal, soit : 0.01ml de Colchicine par 1g d'individu.



**Figure 17** : Injection de la Colchicine dans la cavité cœlomique de l'holothurie.

En vue d'obtenir des métaphases, plusieurs expériences ont été réalisées en faisant varier les temps d'expositions de la colchicine. La première expérience sur un individu avec une durée d'exposition de 24 heures, la deuxième durant 12 heures et en fin une troisième pendant 3 heures. Après les injections, chaque individu est séparé dans un aquarium. Après chaque temps d'exposition, chaque individu est disséqué et son liquide cœlomique et ses gonades sont collectées. Ces derniers ont été isolés dans des boîtes de pétri (**Figure 18**).



**Figure 18** : Isolement du liquide cœlomique et les gonades dans des boîtes de pétri.

On verse dans chaque boîte de pétri une solution hypotonique (acide acétique,  $C_2H_4O_2$  à 90%). L'acide acétique est responsable du gonflement des cellules. Le contenu de chaque boîte de pétri est transvasé dans des tubes Eppendorf pendant 30 minutes. Durant ce temps on prépare le fixateur constitué d'une dose d'acide citrique pure glaciale  $C_6H_8O_7$  et 3 doses de méthanol ( $CH_4O$ ). Après 30 minutes on prend l'Eppendorf contenant les gonades qu'on verse dans un tamis de maille 100  $\mu m$  disposées sous une boîte de pétris, on broie les gonades et au fur et à mesure on ajoute le fixateur dans le tamis pendant qu'on broie (**Figure 19**). Le fixateur va étaler les chromosomes. Au fur et à mesure, on ajoute le fixateur dans l'autre tube à essai contenant le liquide cœlomique.



**Figure 19 :** Versement des gonades dans un tamis de maille 100  $\mu m$  .



**Figure 20 :** Transversement de contenu des boîtes de Petris dans des tubes Eppendorf.



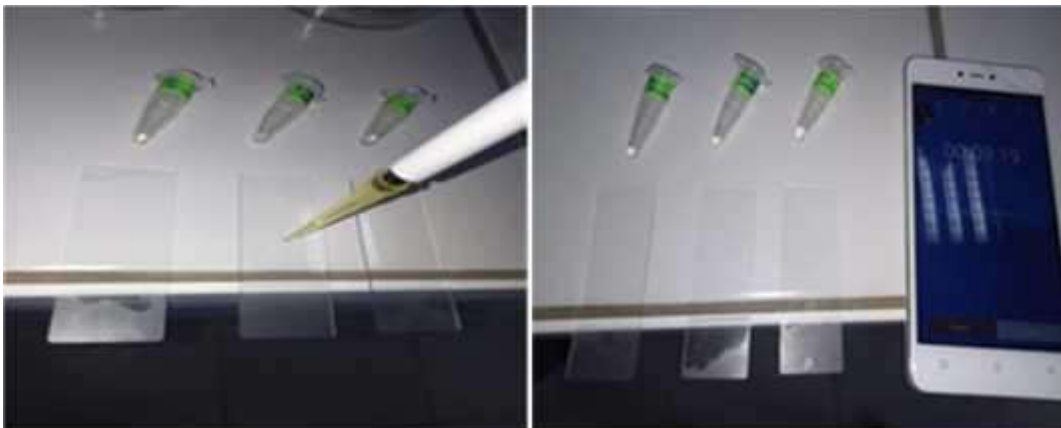
Après cela, on prend 10ml de chaque solution et on procède à une centrifugation pendant 10 minutes à 1200 tours/ mn (**Figure 21**). On répète la centrifugation 03 fois pour le liquide cœlomique et 04 fois pour les gonades en éliminant chaque fois le surnageant et en ajoutant chaque fois une petite quantité de fixateur.



**Figure 21** : Séparation des composés avec la centrifugation et élimination de surnageant et l'ajoute du fixateur.

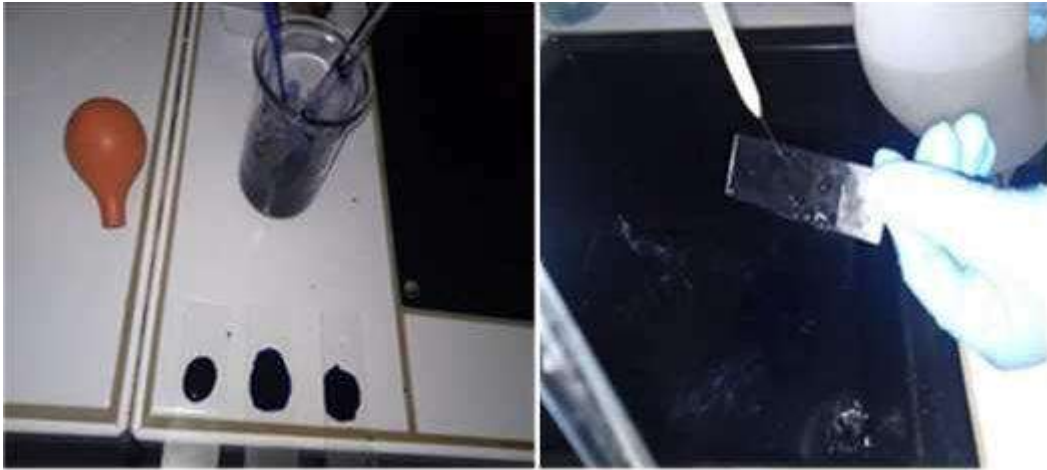
Ensuite, on prépare les lames et les lamelles de microscope qu'on nettoie avec une solution de méthanol (95%) et d'acide chlorhydrique (HCl à 37%). Les lames et lamelles sont séchées avec de papier mouchoir et on note aux préalables toutes les informations nécessaires (**Figure 22**). Les lames et lamelles sont mises dans le réfrigérateur à une température de 2°C.

On verse d'une façon verticale sur chaque lame de microscope 20µl de chaque solution avec une micropipette de la marque GILSON [**Figure 22**]. Cette opération facilite le bon étalement des chromosomes.



**Figure 22** : Versement des solutions sur les lames par une micropipette.

Une fois le processus est terminé, on laisse les lames à l'air libre pendant 10 minutes. On procède ensuite à la coloration des lames en les mettant pendant 10mn dans une boîte contenant le colorant Giemsa (5%) [Figure 23]. Après quelques minutes, on rince les lames avec de l'eau distillée pour éliminer une partie du colorant Giemsa ainsi que l'écume formée en surface.



**Figure 23** : Coloration des lames par le colorant Giemsa.

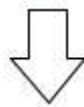
Après cela, on rince les lames avec de l'eau distillée pour éliminer une partie du colorant Giemsa ainsi que l'écume formée en surface. Les lames sont ensuite séchées en les agitant à l'air libre. A la fin on procède à l'observation et à la recherche des chromosomes sous un microscope photonique à l'objectif x40 puis à l'objectif x100 en utilisant l'huile à immersion (Figure 24).



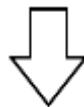
**Figure24** : Prise de photos à l'aide d'une tablette intégrée au microscope photonique.

Cette figure récapitule toutes les manipulations qui ont été réalisées pour la détermination du nombre de chromosomes d'holothuries.

Individus d'holothuries maintenues vivant en aquarium



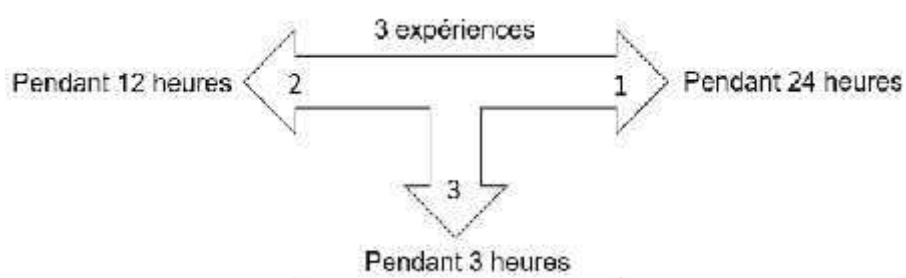
Mensuration (longueur contractée ; poids humide du corps)



Injection de colchicine (0,1 ml de colchicine/ 1g d'individu)

Gonade

Liquide cœlomique

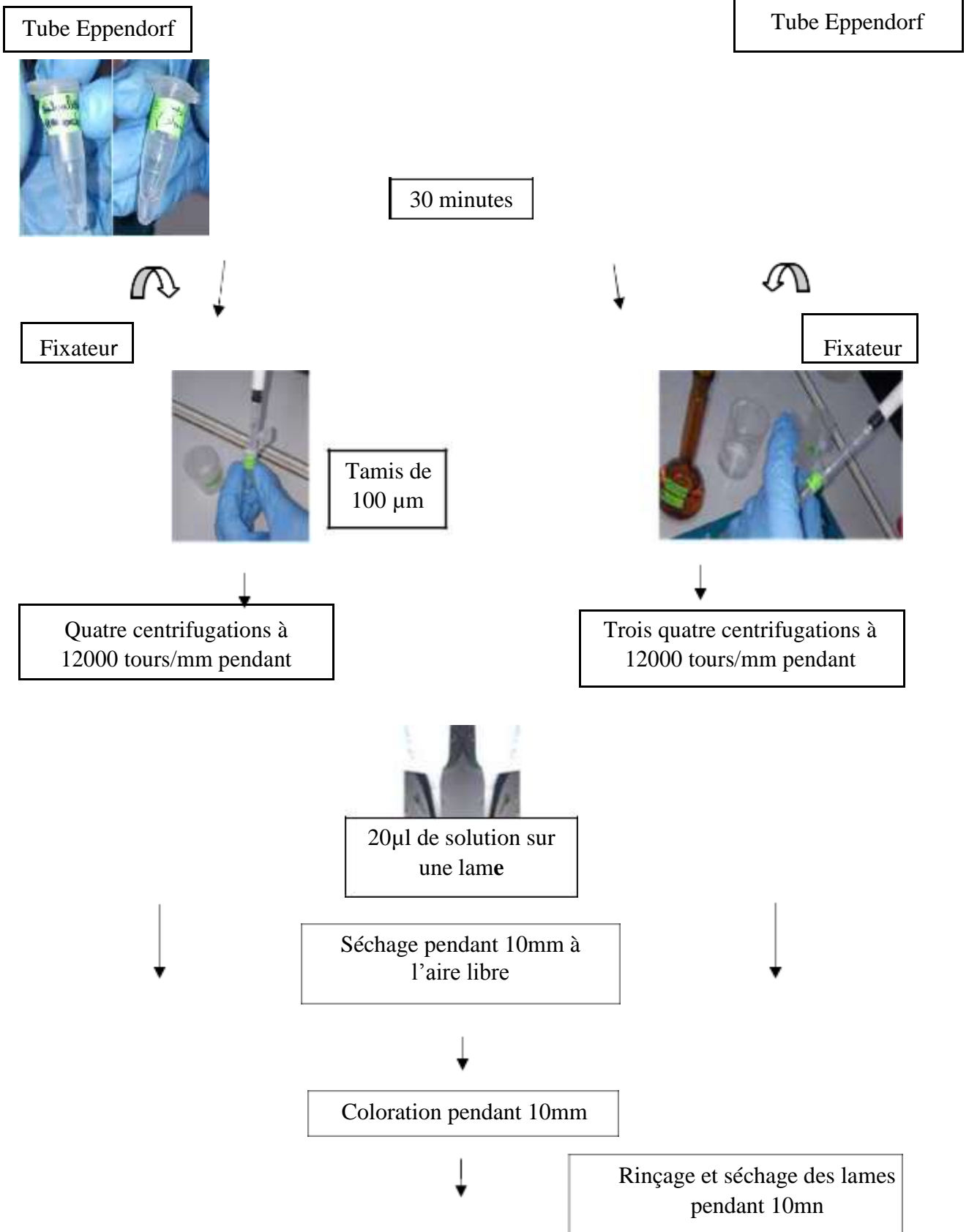


Solution hypotonique  
(acide acétique  
CH<sub>3</sub>COOH à 90 )



Solution hypotonique  
(acide acétique  
CH<sub>3</sub>COOH à 90 )

GonadeL.C



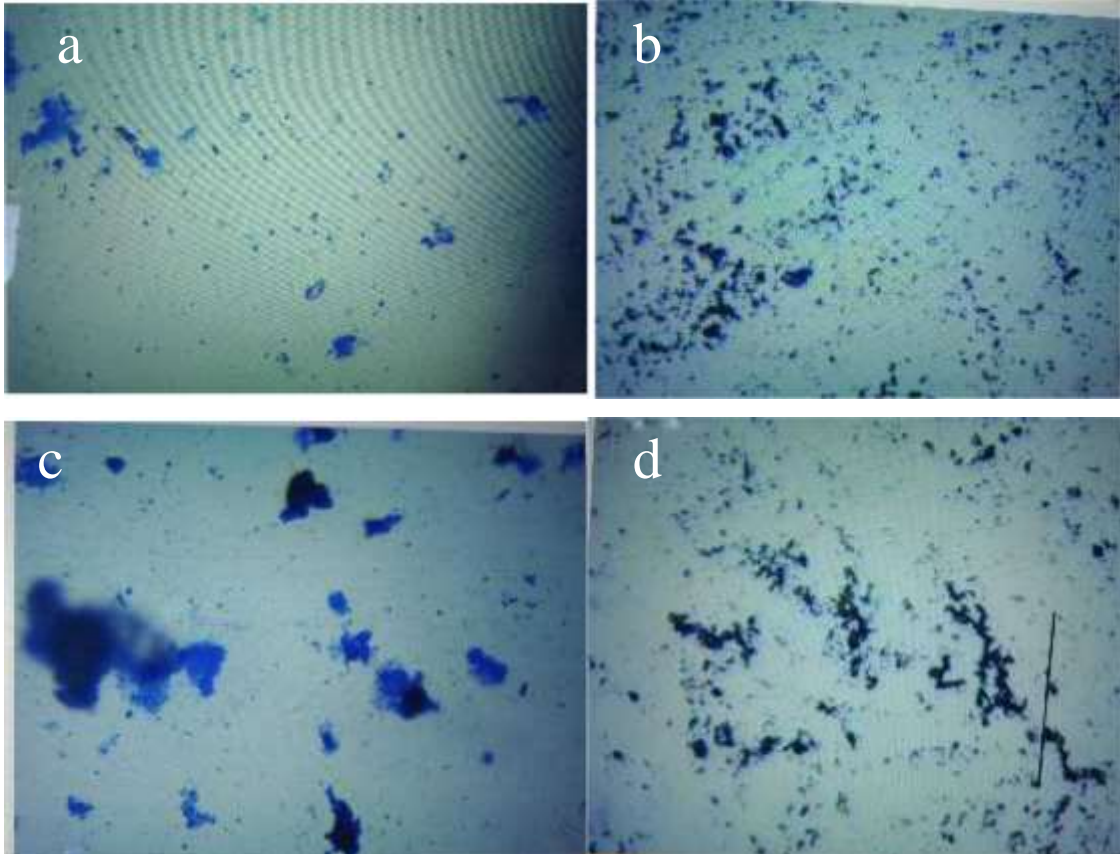


**Figure 25** : Schéma récapitulatif de la méthode caryologique utilisée .

*Résultats  
et  
discussions*

## I. Résultats de l'étude des chromosomes des holothuries

Aucune trace de chromosome n'a été observée sous le microscope (**Figure 26**). Cela est peut-être dû à une faute au niveau du protocole utilisé et au manque de réactifs. De même nous étions obligés à ~~arrêter~~ les expériences et les manipulations au niveau du laboratoire à cause de la pandémie de COVID-19.



**Figure 26** : Observation microscopique des lames préparées. a : liquide cœlomique de *H. (R.) poli* ; b : gonade de *H. (R.) poli* ; c : liquide coelomique de *H. (P.) sanctori* et d : gonade de *H. (P.) sanctori*

## II. Présentation des principaux travaux sur les chromosomes des Échinodermes

Le tableau 02 résume les principales études sur le nombre de chromosomes des espèces de la classe des Échinodermes.

**Tableau 03** : Résumé des travaux réalisés sur le nombre de chromosomes de quelques espèces d'Échinodermes.

Groupe	Espèce	Nombre de chromosomes (gonade)	Références
<b>Holothuries</b>	<i>Parastichopus regalis</i>	18	(Wilson, 1895)
	<i>Holothuria poli</i>	18	(Wilson, 1895)
	<i>Holothuria tubulosa</i>	44	(Colombera, 1974)
	<i>Cucumaria planci</i>	44	(Colombera, 1974)
<b>Echinides</b>	<i>Arbacia lixula</i>	40	(Blatzer, 1910)
	<i>Arbacia pustulosa</i>	44	(Colombera, 1974)
<b>Astérides</b>	<i>Echinaster sepositus</i>	42	(Wilson, 1895; Colombera, 1974)
	<i>Aphaelasterias japonica</i>	48	(Makino et Niiyama, 1947)
<b>Ophiures</b>	<i>Ophioderma longicauda</i>	42	(Colombera, 1974)
	<i>Ophioderma longicauda</i>	18	(Wilson, 1895)
	<i>Ophiothrix fragilis</i>	44	(Colombera, 1974)
<b>Crinoïdes</b>	<i>Antedon rosacea</i>	18	(Wilson, 1895)
	<i>Antedon rosacea</i>	42	(Colombera et Venier, 1976)
	<i>Antedon bifida</i>	18	(Chubb, 1906)



# *Conclusion*

## **Conclusion**

Cette étude a mis l'accent sur l'intérêt des études cytogénétiques sur les espèces d'Échinodermes notamment celle de la classe Holothuroidea. Cependant, à cause de la pandémie de COVID-19 nous étions incapables de terminer nos expériences au niveau du laboratoire. La détermination du nombre de chromosomes chez les holothuries rentre dans le cadre la caractérisation génétique du stock de cette macrofaune benthique. De même, ce genre d'études est crucial notamment dans les fermes où l'holothuriculture est appliquée. Avec le lancement du projet d'élevage des holothuries au niveau de la commune de Ben Abdelmalek Ramdane (ex-Ouilis) l'étude génétique et cytogénétique constitue un élément clé dans la caractérisation génétique des holothuries des fermes ou de milieux confinés afin de constater toute variation génotypique au sein de la population de concombre de mer. De même, la cytogénétique va nous permettre de faire des cartes d'identités génétiques de la bêche-de-mer de la côte algérienne afin que les produits algériens en bêche de mer rentrent en concurrence avec ceux qui existent déjà au niveau du marché mondial de trévang. Pour cela nous recommandant la standardisation du protocole des études chromosomiques ii) de travailler sur un effectif important d'holothuries et iii) de cibler les holothuries qui ont un intérêt économique.

*Références  
bibliographie*

- Aydin, Mehmet. 2008. 'The commercial sea cucumber fishery in Turkey', *SPC Beche de Mer Information Bulletin*, 28: 40-41.
- Aydin, Mehmet. 2020. 'Length-weight relationships and condition factor of four different sea cucumber species in the Aegean Sea', *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 5: 80-85.
- Baldanza, Fulvio, Gaetano Odierna, and Gennaro Viggiani. 1993. 'A new method for studying chromosomes of parasitic Hymenoptera, used on *Encarsia berlesei* (Howard)(Hymenoptera: Aphelinidae)', *Boll Lab Ent agr Filippo Silvestri*, 48: 29-34.
- Belbachir, Nor Eddine, Gilles Lepoint, and Karim Mezali. 2019. 'Comparison of isotopic niches of four sea cucumbers species (Holothuroidea: Echinodermata) inhabiting two seagrass meadows in the southwestern Mediterranean Sea (Mostaganem, Algeria)', *Belgian Journal of Zoology*, 149.
- Bell, Johann D., Steven W. Purcell, and Warwick J. Nash. 2008. 'Restoring small-scale fisheries for tropical sea cucumbers', *Ocean & Coastal Management*, 51: 589-93.
- Bentama, N , and S Boursas. 2016. 'Etude de la variation chromosomique chez l'espèce *Vicia faba* L.', *Mémoire de Master, Université des frères Mentouri, Constantine*: 72.
- Blatzer, F. 1910. 'Über die Beziehung zwischen dem Chromatin und der Entwicklung und Vererbungsrichtung bei Echinodermenbastarden', *Arch Zellforsch*, 5: 497-621.
- Brava, Costa. 2005. 'Spawning of *Holothuria tubulosa* (Holothurioidea, Echinodermata) in the Alboran Sea (Mediterranean Sea)', *Zool. baetica*, 16: 147-50.
- Calva, Laura Georgina. 2002. 'Hábitos alimenticios de algunos equinodermos. Parte 2. Erizos de Mar y Pepinos de Mar', *ContactoS*, 47: 54-63.
- Chubb, Gilbert C. 1906. 'XI. The growth of the oocyte in antedon: a morphological study in the cell-metabolism', *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*, 198: 447-505.
- Colombera, D. 1977. 'Chromosome and DNA in the evolution of echinoderms'.
- Colombera, Dario. 1974. 'Chromosome evolution in the phylum Echinodermata', *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 12: 299-308.
- Colombera, Dario, and Giuliana Venier. 1976. 'I cromosomi degli Echinodermi', *Caryologia*, 29: 35-40.
- Conand, C., and N. Muthiga. 2007. 'Commercial sea cucumbers: A review for the Western Indian Ocean', *reproductive biology*, 22: 26.
- Conand, C. 1994. 'Les holothuries: ressource halieutique des lagons'.
- Conand, C., and Byrne, M. 1993. 'A Review of Recent Developments', *Marine fisheries review*, 55: 1.

- Coulon, Pierre, and Michel Jangoux. 1993. 'Feeding rate and sediment reworking by the holothuroid *Holothuria tubulosa* (Echinodermata) in a Mediterranean seagrass bed off Ischia Island, Italy', *Marine Ecology Progress Series*: 201-04.
- Despalatovic, Marija, Ivana Grubelic, Ante Simunovic, Boris Antolic, and Ante Zuljevic. 2004. 'Reproductive biology of the holothurian *Holothuria tubulosa* (Echinodermata) in the Adriatic Sea', *Marine Biological Association of the United Kingdom. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 84: 409.
- Doussantousse, Émilie. 2012. 'Résistance aux xénobiotiques et stress environnementaux dans les coelomocytes d'échinodermes du Saint-Laurent'.
- Duffy, Lisa, Mary A. Sewell, and Brian G. Murray. 2007. 'Chromosome number and chromosome variation in embryos of *Evechinus chloroticus* (Echinoidea: Echinometridae): Is there conservation of chromosome number in the Phylum Echinodermata? New findings and a brief review', *Invertebrate Reproduction & Development*, 50: 219-31.
- Duvauchelle, Cécile. 2010. 'Développement d'un guide méthodologique de suivi de la pêcherie d'holothuries" gris" *Holothuria Scabra* dans le lagon nord-ouest de la nouvelle calédonie'.
- Franklin, Susan Elizabeth. 1980. 'The Reproductive Biology and Some Aspects of the Population Ecology of the Holothurians *Holothuria Leucospilota* (Brandt) and *Stichopus Chloronotus* (Brandt): Thesis for the Degree of Doctor of Philosophy, the University of Sydney, April 1980'.
- González-Wangüemert, Mercedes, Mehmet Aydin, and Chantal Conand. 2014. 'Assessment of sea cucumber populations from the Aegean Sea (Turkey): First insights to sustainable management of new fisheries', *Ocean & Coastal Management*, 92: 87-94.
- Guille, Alain, Pierre Laboute, and Jean-Louis Menou. 1986. *Guide des étoiles de mer, oursins et autres échinodermes du lagon de Nouvelle-Calédonie* (IRD Editions).
- Hamel, Jean-François, and Annie Mercier. 1996. 'Early development, settlement, growth, and spatial distribution of the sea cucumber *Cucumaria frondosa* (Echinodermata: Holothuroidea)', *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53: 253-71.
- Hampton, John S. 1958. 'Chemical analysis of holothurian sclerites', *Nature*, 181: 1608-09.
- Hendler, G., Jessica Eden Miller, David L. Pawson, and Porter M. Kier. 1995. "Sea Stars, Sea Urchins, and Allies: Echinoderms of Florida and the Caribbean." In.
- Jahier, Joseph. 1992. *Techniques de cytogénétique végétale* (Quae).
- Janies, Daniel. 2001. 'Phylogenetic relationships of extant echinoderm classes', *Canadian Journal of Zoology*, 79: 1232-50.
- Jumars, P. A., and R. F. L. Self. 1986. 'Gut-marker and gut-fullness methods for estimating field and laboratory effects of sediment transport on ingestion rates of deposit-feeders', *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 98: 293-310.

- Kazanidis, Georgios, Chryssanthi Antoniadou, Alexios P. Lolas, Nikos Neofitou, Dimitris Vafidis, Chariton Chintiroglou, and Christos Neofitou. 2010. 'Population dynamics and reproduction of *Holothuria tubulosa* (Holothuroidea: Echinodermata) in the Aegean Sea', *Marine Biological Association of the United Kingdom. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 90: 895.
- Koehler, R. 1921. *Faune de France: Échinodermes; R. Koehler* (Lechevalier: Fédération Française des Sociétés de Science Naturelles . Office Central de, Faunistique).
- Lambert, Philip. 1997. *Sea cucumbers of British Columbia, Southeast Alaska and Puget Sound* (UBC Press).
- Makino, Sajiro, and Hidejiro Niiyama. 1947. 'A Study of Chromosomes in Echinoderms (With 17 Textfigures)', 9: 225-32.
- Mansouri, T. 2015. 'Phylogénie et phylogéographie de quelques espèces d'holothuries aspidochirotés de la côte algérienne (Ouest et centre)', Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Sciences de la Mer.
- Mansouri, Toufik, and Karim Mezali. 2017. 'Phylogéographie de quelques espèces d'holothuries aspidochirotés de la côte algérienne'.
- Mansouri, Toufik, and Karim Mezali. 2018. 'Taxonomic status and phylogenetic relationship of some Algerian shallow-water sea cucumber species (Holothuroidea: Echinodermata) deduced from mitochondrial DNA sequences'.
- Mansouri, Toufik, Dina Lila Soualili, and Karim Mezali. 2016. 'Sur le statut taxonomique de l'holothurie aspidochirote *Holothuria* (*Holothuria*) *tubulosa* (Echinodermata: Holothuroidea) de la côte algérienne'.
- Massin, C. 1982. 'Effects of feeding on the environment: Holothuroidea', *Echinoderm nutrition*: 493-97.
- Massin, Claude, and Michel Jangoux. 1976. 'Observations écologiques sur *Holothuria tubulosa*, *H. poli* et *H. forskali* (Echinodermata, Holothuroidea) et comportement alimentaire de *H. tubulosa*', *Cah Biol Mar*, 17: 45-59.
- Mecheta, Asmaa, and Karim Mezali. 2019. 'A biometric study to determine the economic and nutritional value of sea cucumbers (Holothuroidea: Echinodermata) collected from Algeria's shallow water areas', *Beche-de-mer*, 65.
- Mezali, K, and P Francour. 2012. 'Les holothuries aspidochirotés de quelques sites des côtes algériennes: révision systématique et relations phylogénétiques', *Bulletin de la Société Zoologique de France*, 137: 177-92.
- Mezali, K, and G Paulay. 2009. 'Species limits and cryptic species in Mediterranean Sea cucumber (Holothuroidea: Echinodermata)', *Mediterranean Sea Grass Workshop 2009 Hvar, Croatie*.
- Mezali, Karim. 2008. 'Phylogénie, systématique, dynamique des populations et nutrition de quelques espèces d'holothuries aspidochirotés (Holothuroidea: Echinodermata)

- inféodées aux herbiers de posidonies de la côte Algéroise', Thèse de Doctorat, Université des sciences et de la technologie Houari-Boumédiène.
- Mezali, Karim, Dina L. Soualili, Larbi Neghli, and Chantal Conand. 2014. 'Reproductive cycle of the sea cucumber *Holothuria (Platyperona) sanctori* (Holothuroidea: Echinodermata) in the southwestern Mediterranean Sea: interpopulation variability', *Invertebrate Reproduction & Development*, 58: 179-89.
- Moriarty, D. J. W. 1982. 'Feeding of *Holothuria atra* and *Stichopus chloronotus* on bacteria, organic carbon and organic nitrogen in sediments of the Great Barrier Reef', *Marine and Freshwater Research*, 33: 255-63.
- Navarro, González , Pablo García Sanz, Sara Tuya, and Fernando. 2012. 'Reproductive biology of the sea cucumber *Holothuria sanctori* (Echinodermata: Holothuroidea)', *Scientia Marina*.
- Neghli, Larbi, and Karim Mezali. 2019. 'Algeria's sea cucumber fishery: Challenges for a new fishery', *SPC Beche-de-mer Information Bulletin*, 39: 71-75.
- Odierna, Gaetano, and Vincenzo Caputo. 1992. 'Karyological differentiation between two forms of the *Chalcides chalcides* complex (Scincidae)', *Amphibia-reptilia*, 13: 193-96.
- Pawson, David L. 1969. 'Holothuroidea from Chile report no. 46 of the Lund University Chile expedition 1948–1949', *Sarsia*, 38: 121-46.
- Purcell, Steven W., Alessandro Lovatelli, Marcelo Vasconcellos, and Yimin Ye. 2010. 'Managing sea cucumber fisheries with an ecosystem approach'.
- Roberts, D., A. Gebruk, V. Levin, and B. A. D. Manship. 2000. 'Feeding and digestive strategies in deposit-feeding holothurians', *Oceanography and Marine Biology*, 38: 257-310.
- Ruppert, Edward E., and Robert D. Barnes. 1996. *Zoología de los invertebrados*.
- Samyn, Yves, Didier VandenSpiegel, and Claude Massin. 2006. *Taxonomie des holothuries des Comores* (Koninklijk Belgisch Instituut voor Natuurwetenschappen).
- Sewell, M. A., P. A. Tyler, C. M. Young, and C. Conand. 1997. 'Ovarian Development in the Class Holothuroidea: a Reassessment of the "Tubule Recruitment Model"', *The Biological Bulletin*, 192: 17-26.
- Siahaan, Evi Amelia, Ratih Pangestuti, Hendra Munandar, and Se-Kwon Kim. 2017. 'Cosmeceuticals properties of sea cucumbers: Prospects and trends', *Cosmetics*, 4: 26.
- Sibuet, Myriam. 1974. '*Cherbonniera utriculus* gen. nov., sp. nov., petite Holothurie (Molpadonia, Molpadiidae) des vases abyssales du Nord-Est atlantique', *Comptes rendus de l'Académie des Sciences de Paris*, 279: 1443-45.
- Šimunović, Ante, Corrado Piccinetti, Marija Bartulović, and Ivana Grubelić. 2000. 'Distribution and abundance of the species *Holothuria tubulosa* Gmelin, 1788 and *Holothuria forskali* Delle Chiaje, 1823 (Holothuria, Echinodermata) in the Adriatic Sea', *Acta Adriatica*, 41: 3-16.

- Slimane-Tamacha, Farah, and Karim Mezali. 2017. 'Etude du développement macroscopique des gonades du "concombre de mer" *Holothuria (Platyperona) sanctori* (Holothuroidea : Echinodermata) dans la baie d'Oran', *VIIème Journées Scientifiques de la faculté SNV, Mostaganem*.
- Smiley, Scott. 1988. 'The dynamics of oogenesis and the annual ovarian cycle of *Stichopus californicus* (Echinodermata: Holothuroidea)', *The Biological Bulletin*, 175: 79-93.
- Tolon, Mustafa Tolga, and Serhat Engin. 2019. 'Gonadal development of the holothurian *Holothuria polii* (Delle Chiaje, 1823) in spawning period at the Aegean Sea (Mediterranean Sea)', *Su Ürünleri Dergisi* , 36: 1-1.
- Tortonese, E., and C. Vadon. 1987. 'Oursins et Holothuries', *Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche (révision I) -Méditerranée et Mer Noire. Zone de pêche*, 37: 743-60.
- Uthicke, Sven, Britta Schaffelke, and Maria Byrne. 2009. 'A boom–bust phylum? Ecological and evolutionary consequences of density variations in echinoderms', *Ecological Monographs*, 79: 3-24.
- Valls, Adrian. 2004. 'Natural spawning observation of *Holothuria tubulosa*', *SPC Beche-de-mer Information Bulletin*, 19: 40.
- Wilson Edmund Beecher. 1895. *Archoplasm, centrosome and chromatin in the sea-urchin egg*.
- Xu, W. 1997. 'A primary study on chromosomes of the sea cucumber, (*Apostichopus japonicus*)', *Fish Sci (of China)*, 16: 9-11.



## **Résumé**

Le barcoding moléculaire et les études génétiques et cytogénétiques sont très importantes et elles jouent un rôle crucial dans le développement de l'holothuriculture. La cytogénétique permet d'avoir un aperçu de matériel génétique des populations d'holothuries ainsi elle permet d'établir des cartes chromosomiques et d'inspecter toutes variations au sein des caryotypes des Holothuridés. La présente étude nous a permis de faire des expériences pour étudier le nombre de chromosomes de quelques espèces d'holothuries du genre *Holothuria* de la côte de Mostaganem. De même, elle nous a donné l'occasion de consulter les travaux précédents qui ont été menés sur les chromosomes de d'autres espèces de concombres de mer.

**Mots clés :** Holothuries, à côte de Mostaganem ,Caryotype, Cytogénétique.