

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار – عنابة



UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA  
FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MER

## THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences  
Intitulé

# Impact des perturbateurs environnementaux sur un organisme sentinelle dans le golfe d'Annaba (cas des spongiaires)

Auteur : M<sup>me</sup> BENSAFIA Nabila

Soutenue publiquement le 31 Décembre 2018

Membres du jury :

Prof. Brahim DRAREDJA	Président	(Université Badji-Mokhtar, Annaba)
Dr. Wyllia KHATI	Directrice de thèse	(Université Chadli Bendjedid, El-Tarf)
Prof. Farid DERBAL	Co-directeur de thèse	(Université Badji-Mokhtar, Annaba)
Prof. Hichem NASRI	Examineur	(Université Chadli Bendjedid, El-Tarf)
Prof. Njoud GRARA	Examinatrice	(Université 8 Mai 1945, Guelma)
Prof. Kheireddine OUALI	Examineur	(Université Badji-Mokhtar, Annaba)

Année universitaire 2018-2019

# Remerciements

Après plusieurs années, le temps est venu où ce travail de recherche touche à sa fin. Au cours de ces longues années, nous avons tenté de répondre à un besoin d'informations sur la réponse des organismes marins face aux actions anthropiques le long du littoral Est algérien, via l'utilisation d'un excellent modèle biologique qui est l'éponge.

Cette étude est le fruit d'un effort conjugué de nombreuses personnes ayant intervenu à un moment ou à un autre pour apporter une assistance technique, un conseil, une orientation, un soutien moral ou simplement un encouragement. Sans eux, cette thèse n'aurait pu être conduite convenablement, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Mes remerciements s'adressent en premier lieu à «الله», qui m'a donné le courage, la force et la patience pour mener à terme ce travail de recherche.

J'exprime mes vifs remerciements à Monsieur *Brahim DRAREDJA*, Professeur à l'université de Badji-Mokhtar-Annaba, qui malgré ses nombreuses occupations, m'a fait l'honneur de présider mon jury.

Je témoigne ma profonde reconnaissance à Madame *Wyllia KHATI*, Maître de conférences à l'Université Chadli Bendjdid- El-Tarf, pour avoir bien voulu accepter de diriger cette thèse. Qu'elle trouve ici le témoignage de mon dévouement sincère et mon grand respect. Je vous remercie pour vos conseils, vos encouragements, vos remarques ainsi que vos critiques pertinentes et constructives. Merci de m'avoir permis de partager ses connaissances de la phase expérimentale à la phase rédactionnelle.

J'adresse de chaleureux remerciements et reconnaissance à mon co-Directeur de thèse, Monsieur *Farid DERBAL*, Chef de Département des Sciences de la Mer et Professeur à l'université de Badji Mokhtar-Annaba, pour son grand soutien tout au long de mon travail de recherche. Son aide m'a été très précieuse aussi bien sur le terrain que durant la rédaction de la thèse et la publication... *MILLE MERCIS MON PROFESSEUR !*

Je tiens à remercier Monsieur *Hichem NASRI*, Professeur et Doyen à l'Université de Chadli Bendjdid- El-Tarf, pour le grand honneur qu'il m'a fait en acceptant d'examiner ce travail, malgré ses lourdes responsabilités administratives.

Je tiens également à présenter mes remerciements à Madame *Ndjoud GRARA*, Professeur à l'Université du 8 Mai 1945-Guelma, qui m'a honorée de sa participation à ce jury.

Toute ma gratitude à Monsieur *Kheireddine OUALI*, Professeur à l'université de Badji Mokhtar- Annaba, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire « Bio-surveillance Environnementale » et permis de réaliser une grande partie de mes expérimentations. Je le

remercie vivement pour son aide et ses encouragements lors de la réalisation de ce travail et pour l'honneur qu'il me fait de participer au jury d'examen de cette thèse.

C'est avec de profonds sentiments de reconnaissance et un très grand respect que je remercie Monsieur *Alexander ERESKOVSKY*, Directeur de recherche CNRS et Monsieur *Jean VACELET*, Directeur de recherche CNRS émérite à l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie Marine et Continentale (IMBE)-Marseille, pour m'avoir accueilli chaleureusement dans leur établissement. Je tiens à leur exprimer ma profonde gratitude pour avoir consacré du temps et avoir mis à ma disposition tous les moyens nécessaires qui m'ont permis la finalisation d'une partie importante de ma thèse durant mes séjours à Marseille.

Un merci tout particulier à Monsieur *Idris YAHYAOUI*, Maître de conférences à l'Université de Bejaïa pour son aide précieuse dans les analyses des métaux traces.

Un grand merci à mes collègues, *Naouel OUALI*, *Amina DAHEL* et *Marja TAHRI*, de l'Université de Chadli Bendjedid-El tarf pour leur soutien et leurs encouragements, les jours de déprime. Aussi, je vous remercie vivement pour votre aide lors de la réalisation de ce travail.

Je remercie également, *Yassa GOUTAL*, *Lazhar TICHATI* et *Sana BESNACI* d'avoir accepté de me consacrer une partie de leur temps pour m'aider et partager leurs connaissances au laboratoire.

A mon amie et collègue, *Mounira RACHEDI*, j'adresse ma profonde gratitude pour la compréhension qu'elle a toujours eu à mon égard...pour sa disponibilité, sa collaboration et son aide dans la partie statistique, j'exprime un GRAND MERCI !

A Monsieur *Mourad BENSOUILAH*, Professeur à l'université de Badji-Mokhtar-Annaba et Directeur du laboratoire d'Ecobiologie des Milieux Marins et Littoraux (EMMAL). Qu'il trouve ici l'expression de mes sincères remerciements pour ses qualités humaines, ses conseils et orientations.

D'un point de vue plus personnel, ce travail, j'ai aussi pu le réaliser grâce à ma famille et mes amis qui se reconnaîtront.

Enfin, je garde le meilleur pour la fin, ma famille proche : mes parents, mes frères et mes sœurs et ma très chère Tata Warda. En effet, si j'ai pu réaliser ce travail et arriver à ce niveau d'études, c'est en premier lieu grâce à mes parents. Ils ont su me transmettre une éducation, un savoir et un goût du travail; ce qui m'a permis d'arriver là où j'en suis aujourd'hui.

Je réserve les dernières lignes à mon mari et mes deux filles, vous avez su m'aimer et m'encourager au quotidien...Il y a eu des épreuves difficiles, mais aussi des grands moments de bonheur...et aujourd'hui, je suis persuadé que le meilleur reste à venir!

# Sommaire

Remerciements	
Sommaire	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
<b>INTRODUCTION GÉNÉRALE</b> .....	<b>1</b>
<b>Généralités</b> .....	<b>7</b>
1- ELEMENTS TRACES METALLIQUES .....	8
1.1 Pollution marine .....	8
1.2. Eléments traces métalliques (ETM) .....	8
1.2.1. ETM en milieu marin .....	9
1.2.2. ETM en Méditerranée .....	10
1.2.3. Présentation des Eléments Traces Métalliques étudiés .....	11
1.2.4. Bioaccumulation et bioamplification .....	12
2- BIOMARQUEURS.....	14
2.1. Définition .....	14
2.2. Différentes classes de biomarqueurs .....	15
2.3. Notion de bioindicateur et d'espèce sentinelle.....	16
2.4. Evaluation des risques de contamination des milieux aquatiques.....	17
2.5. Avantages et limites de l'utilisation des biomarqueurs .....	18
2.6. Description des marqueurs biologiques .....	19
3- PRESENTATION DU MODELE BIOLOGIQUE UTILISE: LES SPONGIAIRES .....	21
3.1. Taxonomie.....	22
3.2. Organisation morphologique et anatomique .....	25
3.3. Reproduction .....	26
3.4. Nutrition .....	27
3.5. Exploitation et valorisation économique.....	28
3.6. Rôles écologiques.....	28
4- PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE : LE GOLFE D'ANNABA.....	30
<b>Chapitre I: Inventaire des spongiaires du golfe d'Annaba</b> .....	<b>33</b>
1. INTRODUCTION.....	34
2. MATERIEL & METHODES .....	35
2.1 Prélèvement des éponges .....	35
2.2. Etude taxonomique.....	35

2.2.1 Préparation des charpentes .....	35
2.2.2 Préparation des microspicules .....	36
3. RESULTATS .....	36
3.1. Diversité et classification des espèces décrites .....	36
3.2. Caractéristiques des espèces inventoriées .....	37
3.2.1. <i>Chondrosia reniformis</i> (Nardo, 1833).....	37
3.2.2. <i>Chondrilla nucula</i> (Schmidt, 1862) .....	38
3.2.3. <i>Petrosia clavata</i> (Esper, 1794).....	39
3.2.4. <i>Petrosia fisciformis</i> (Poiret, 1789) .....	39
3.2.5. <i>Axinella verrucosa</i> (Esper, 1794).....	40
3.2.6. <i>Crambe crambe</i> (Schmidt, 1862) .....	40
3.2.7. <i>Ircinia fasciculata</i> (Pallas, 1766) .....	41
3.2.8. <i>Sarcotragus foetidus</i> (Schmidt, 1862).....	42
3.2.9. <i>Sarcotragus spinosulus</i> (Schmidt, 1862) .....	42
4. DISCUSSION .....	43
<b>Chapitre II : Eléments Traces Métalliques .....</b>	<b>45</b>
1. INTRODUCTION.....	46
2. MATERIEL & METHODES .....	48
2.1. Choix et localisation des stations d'échantillonnage.....	48
2.2. Matériel biologique: <i>Sarcotragus spinosulus</i> .....	50
2.3. Mesures des paramètres physico-chimiques de l'eau .....	51
2.4. Collecte et traitement des échantillons .....	52
2.4.1. Méthode de prélèvement des éponges.....	52
2.4.2. Traitements et analyse chimiques des éponges .....	53
2.5. Traitement statistique .....	53
3. RESULTATS .....	53
3.1. Paramètres physicochimiques .....	53
3.1.1. Température .....	54
3.1.2. Salinité.....	55
3.1.3. Potentiel d'hydrogène .....	55
3.2. Variations saisonnières des ETM dans les tissus .....	56
3.2.1. Cuivre (Cu).....	56
3.2.2. Zinc (Zn) .....	57
3.2.3. Plomb (Pb).....	58
3.2.4. Cadmium (Cd).....	59

4. DISCUSSION .....	60
<b>Chapitre III : Biomarqueurs du stress anti oxydant .....</b>	<b>67</b>
1. INTRODUCTION.....	68
2. MATERIEL & METHODES.....	69
2.1. Choix et localisation des stations d'échantillonnage.....	69
2.2. Matériel biologique .....	70
2.3. Collecte et traitement des échantillons.....	70
2.4. Préparation de l'homogénat .....	70
2.5. Dosage des protéines.....	70
2.6. Mesure des biomarqueurs.....	71
2.6.1. Dosage du glutathion (GSH).....	71
2.6.2. Dosage du glutathion-S-transférase (GST) .....	72
2.6.3. Dosage du malondialdéhyde (MDA) .....	73
2.7. Analyses statistiques .....	74
3. RESULTATS .....	74
3.1. Concentrations de glutathion (GSH).....	74
3.2. Activité enzymatique du glutathion S-transférase (GST) .....	75
3.3. Concentration du malondialdéhyde (MDA).....	76
4. DISCUSSION .....	77
<b>Chapitre IV : Cycle de vie .....</b>	<b>82</b>
1. INTRODUCTION.....	83
2. MATERIEL & METHODES.....	84
2.1. Echantillonnage.....	84
2.2 Fixation des échantillons.....	84
2.3. Technique histologique .....	85
2.4. Observation microscopique.....	86
3. RESULTATS .....	86
3.1. Observation générale.....	86
3.2. Cycle de reproduction .....	87
3.3. Gamétogenèse et développement embryonnaire.....	88
3.3.1. Spermatogénèse.....	88
3.3.2. Ovogénèse .....	89
3.3.3. Embryogénèse .....	89
3.3.4. Développement larvaire .....	90
4. DISCUSSION .....	91

<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>94</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>94</b>
<b>RESUMES.....</b>	<b>94</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>94</b>

## Liste des figures

Figure 1. Exemple de bioamplification du mercure dans le milieu aquatique (source : <a href="https://ressources.uved.fr/modules/moduleRisques/Pollutions_atmospheriques_2-2-2(30-04-07)/html/5.html">https://ressources.uved.fr/modules/moduleRisques/Pollutions_atmospheriques_2-2-2(30-04-07)/html/5.html</a> ).	13
Figure 2. Schéma de synthèse des effets écotoxicologiques (Poisson <i>et al.</i> , 2011).	14
Figure 3. Photos montrant la diversité morphologique et de couleur chez les Spongiaires (1. <i>Polymastia agglutinans</i> , 2. <i>Spirastrella cunctatrix</i> , 3. <i>Oscarella lobularis</i> , 4. <i>Tethya aurantium</i> , 5. <i>Clathrina clathrus</i> , 6. <i>Hymedesmia paupertas</i> ) (source : <a href="http://www.mer-littoral.org">www.mer-littoral.org</a> ).	22
Figure 4. Différentes formes de spicules ( <a href="http://www.universalis.fr">www.universalis.fr</a> ).	23
Figure 5. Exemples de quelques Calcisponges (à gauche : <i>Ascandra falcata</i> ; à droite : <i>Clathrina cerebrum</i> ) ( <a href="http://www.mer-littoral.org">www.mer-littoral.org</a> ).	24
Figure 6. Exemple d'éponge siliceuse ( <a href="http://www.mer-littoral.org">www.mer-littoral.org</a> ).	24
Figure 7. Exemple d'éponge de verre ( <a href="http://www.mer-littoral.org">www.mer-littoral.org</a> ).	25
Figure 8. Organisation générale des spongiaires : (a) coupe transversale d'une éponge et d'un choanocyte (Manuel <i>et al.</i> , 2003).	25
Figure 9. Processus de nutrition par filtration de l'eau chez l'éponge (syconoïde ou leuconoïde) (Vacelet, 2016). a: pore inhalant; b: particule organique; c: particule inorganique; d et f: amibocyte (phagocyte); e: choanocyte; g: vacuole digestive; h: corbeille vibratile; i: pore exhalant.	27
Figure 10. Présentation du golfe d'Annaba (Derbal <i>et al.</i> , 2007).	31
Figure 11. Différents rejets dans le golfe d'Annaba (Belabed <i>et al.</i> , 2013, modifié).	31
Figure 12. Représentation des ordres par rapport au nombre d'espèces d'éponges.	37
Figure 13. Photo de <i>Chondrosia reniformis</i> (Nardo, 1833) (cliché : Derbal, 2013).	38
Figure 14. Photo de <i>Chondrilla nucula</i> en période de reproduction (Schmidt, 1862) (cliché : Derbal, 2013).	38
Figure 15. Coupe histologique présentant la charpente (à gauche) et les spicules (à droite) de <i>Petrosia clavata</i> (clichés : Bensafia, 2018).	39
Figure 16. Photo de <i>Petrosia ficiformis</i> (Poiret, 1789) (cliché : Derbal, 2013).	39
Figure 17. Photo d' <i>Axinella verrucosa</i> (Esper, 1794) (cliché : Derbal, 2014).	40
Figure 18. Photo de <i>Crambe crambe</i> (Schmidt, 1862) (cliché : Derbal, 2014).	40
Figure 19. Photo de <i>Ircinia fasciculata</i> (Pallas, 1766) (cliché : Derbal, 2013).	41
Figure 20. Coupe histologique représentant la charpente d' <i>Ircinia fasciculata</i> (Schmidt, 1862) (cliché : Bensafia, 2018).	41

Figure 21. Photo de <i>Sarcotragus foetidus</i> (Schmidt, 1862) (Bensafia, 2018). .....	42
Figure 22. Photo de <i>Sarcotragus spinosulus</i> (Schmidt, 1862) (cliché: Derbal, 2015).....	43
Figure 23. Coupe histologique présentant les fibres primaires et secondaires chez <i>Sarcotragus spinosulus</i> (Schmidt, 1862) (cliché : Bensafia, 2018). .....	43
Figure 24. Localisation des stations d'échantillonnage (Google Earth modifié).....	48
Figure 25. Lieu de prélèvement des échantillons d'éponge au niveau de la station Alzon (cliché Derbal, 2015). .....	49
Figure 26. Lieu de prélèvement des échantillons d'éponge à la station Cap de Garde (cliché Derbal, 2015). .....	49
Figure 27. Morphologie de <i>Sarcotragus</i> (à gauche) avec détail des filaments microscopiques (à droite) caractérisant l'éponge du genre <i>Sarcotragus</i> . Coupe réalisée au niveau du mésohyle (x 5), a : fibre primaire, b : fibre secondaire, c: filaments (Vacelet, 1959). .....	50
Figure 28. Méthode de prélèvement d'un échantillon de <i>Sarcotragus spinosulus</i> (cliché : Derbal, 2017). .....	52
Figure 29. Evolution saisonnière de la température des eaux de surface dans les deux stations prospectées du golfe d'Annaba. ....	54
Figure 30. Evolution saisonnière de la salinité des eaux de surface dans les deux stations prospectées du golfe d'Annaba. ....	55
Tableau 6. Résultats de l'ANOVA à un facteur contrôlé des variations de salinité des eaux du golfe d'Annaba dans les stations prospectées. ....	55
Figure 31. Evolution saisonnière du pH des eaux de surface dans les deux stations prospectées du golfe d'Annaba. ....	56
Figure 32. Variations spatio-temporelles des teneurs en cuivre (Cu) dans les tissus de <i>Sarcotragus spinosulus</i> échantillonné dans le golfe d'Annaba. ....	57
Figure 33. Variations spatio-temporelles des teneurs en zinc (Zinc) dans les tissus de <i>Sarcotragus spinosulus</i> échantillonné dans le golfe d'Annaba. ....	58
Figure 34. Variations spatio-temporelles des teneurs en plomb (Pb) dans les tissus de <i>Sarcotragus spinosulus</i> échantillonné dans le golfe d'Annaba. ....	59
Figure 35. Variations spatio-temporelles des teneurs en cadmium (Cd) dans les tissus de <i>Sarcotragus spinosulus</i> échantillonné dans le golfe d'Annaba. ....	60
Tableau 12. Comparaison des variations physico-chimiques dans le golfe d'Annaba. ....	62
Figure 36. Concentration du glutathion réduit dans les tissus de <i>Sarcotragus spinosulus</i> du golfe d'Annaba. ....	74

Figure 37. Variation des activités du glutathion S-transférase dans les tissus de <i>Sarcotragus spinosulus</i> échantillonné dans le golfe d'Annaba.....	75
Figure 38. Concentrations du malondialdéhyde dans les tissus de <i>Sarcotragus spinosulus</i> échantillonné dans le golfe d'Annaba.....	76
Figure 39. Coupe histologique mettant en évidence le caractère hermaphrodite de <i>Sarcotragus spinosulus</i> du golfe d'Annaba. ....	87
Figure 40. Cycle de reproduction de <i>Sarcotragus spinosulus</i> échantillonné dans le golfe d'Annaba (2016/2017).....	88
Figure 41. Coupe histologique mettant en évidence la spermatogénèse chez <i>Sarcotragus spinosulus</i> du golfe d'Annaba (Octobre, Individu 2). ....	88
Figure 42. Coupe histologique montrant un ovocyte (à gauche) et un autre en période de prévitellogénèse (Aout, individu 4) (à droite). ....	89
Figure 43. Coupe histologique montrant un ovocyte en vitellogénèse (Aout, individu 5). ....	89
Figure 44. Coupe histologique représentant le stade morula de la phase embryonnaire (Novembre, individu 2). ....	90
Figure 45. Coupe histologique représentant un stade embryonnaire avancé (Février, ind. 1). ....	90
Figure 46. Coupe histologique représentant le stade larvaire de <i>Sarcotragus spinosulus</i> du golfe d'Annaba (Mai, individu 1). ....	91

## Liste des tableaux

Tableau 1. Sources anthropiques de quelques ETM (Abed, 2011).....	9
Tableau 2. Position taxonomique des espèces inventoriées au niveau du golfe d'Annaba.....	36
Tableau 3. Planning saisonnier de l'échantillonnage de <i>Sarcotragus spinosulus</i> dans le golfe d'Annaba.....	52
Tableau 4. Résultats de l'ANOVA à un facteur contrôlé des variations de la température des eaux du golfe d'Annaba dans les stations prospectées. ....	54
Tableau 5. Résultats de l'ANOVA à un facteur contrôlé des variations de salinité des eaux du golfe d'Annaba dans les stations prospectées.....	55
Tableau 6. Résultats de l'ANOVA à un facteur contrôlé des variations du pH des eaux du golfe d'Annaba dans les stations prospectées.....	56
Tableau 7. Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des ETM (Cu) analysés dans les tissus de <i>S. spinosulus</i> du golfe d'Annaba.....	57
Tableau 8. Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des ETM (Zn) analysés dans les tissus de <i>Sarcotragus spinosulus</i> du golfe d'Annaba.	58
Tableau 9. Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des ETM (Pb) analysés dans les tissus de <i>S. spinosulus</i> du golfe d'Annaba. ....	59
Tableau 10. Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des de ETM (Cd) analysés dans les tissus de <i>Sarcotragus spinosulus</i> échantillonné dans le golfe d'Annaba. ....	60
Tableau 11. Comparaison des variations physico-chimiques dans le golfe d'Annaba .....	62
Tableau 12. Concentrations des ETM dans les tissus de <i>S. spinosulus</i> dans différentes régions de la Méditerranée. ....	64
Tableau 13. Concentrations métalliques en poids sec ( $\mu\text{g/g p.s}$ ) dosées dans les tissus de différentes espèces d'éponges colonisant différentes régions méditerranéennes. ...	66
Tableau 14. Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) glutathion réduit dans les tissus de <i>Sarcotragus spinosulus</i> échantillonnés dans le golfe d'Annaba. ....	75
Tableau 15. Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) de l'activité spécifique du GST dans les tissus de <i>Sarcotragus spinosulus</i> échantillonné dans le golfe d'Annaba. ....	76
Tableau 16. Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) de la concentration de MDA dans les tissus de <i>Sarcotragus spinosulus</i> échantillonné dans le golfe d'Annaba. ....	77

Tableau 17 : Eléments reproducteurs observés dans les échantillons prélevés de <i>Sarcotragus spinosulus</i> . .....	87
Tableau 18. Tableau comparatif entre les différents stades de la gamétogénèse et du développement embryonnaire de <i>S spinosulus</i> dans différentes régions. ....	93

# Liste des abréviations

**‰** : Pour mille

**µm** : Micromole

**ANOVA**: ANalysis Of VAriance

**BBC** : Bleu Brillant de Commassie

**[C]** : Concentration

**CDNB**: 1-Chloro2, 4-di nitrobenzene

**CdSe** : Cadmium Sélénium

**CeO<sub>2</sub>-NPs** : Nanoparticules d'oxyde de cérium

**CNT** : Nanotube de carbone

**DO** : Densité Optique

**DTNB** : Acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque

**ED** : Eau Distillée

**EDTA** : Éthylène Diamine Tétra-Acétique

**ENM** : Engineered Nanomaterial

**ETM** : Élément Trace Métallique

**GS-DNP**: 1-S-Glutathionyl 2-4 Dinitrobenzene

**GSH** : Glutathion réduit

**GSSG** : Glutathion oxydé

**GST** : Glutathion-S-transférase

**MDA** : Malondialdehyde

**nmol** : Nanomole

**P** : Seuil de signification

**PEC** : Concentrations prévisibles dans l'environnement

**pH** : Potentiel Hydrogène

**ROS**: Reactive Oxygen Species

**SD** : Déviation standard

**SSA** : Acide sulfosalicylique

**TBA** : Acide thiobarbiturique

**TCA** : Acide trichloracétique

**INTRODUCTION**

**GÉNÉRALE**

Au cours des dernières décennies, l'anthropisation progressive des zones côtières dans le monde a entraîné des changements notables de la qualité biologique et chimique des eaux côtières. A l'origine, les raisons qui ont poussé l'Homme à conquérir le littoral sont diverses : pêche, commerce, guerre, transport, etc. De nos jours, le tourisme vient s'ajouter à ces raisons ainsi que l'héliotropisme, c'est-à-dire là où les personnes vont préférentiellement venir s'installer dans les régions les plus ensoleillées (Oursel, 2013). Actuellement, 60 % de la population mondiale vit à moins de 60 km des côtes et l'urbanisation littorale risque de s'amplifier, puisqu'on attend 75 % de la population mondiale sur les côtes en 2025. L'essentiel des problèmes rencontrés en zones côtières sont le résultat direct de l'accroissement des activités humaines issues de la croissance industrielle et de la croissance démographique (Amara, 2011).

Les océans et les mers du globe apparaissant à l'homme comme des réservoirs d'eaux salées infinies et inépuisables. Chacun pouvait Jadis utiliser l'océan sans crainte comme poubelle du monde, maltraiter physiquement les littoraux, y déverser tous les déchets, toxiques ou non. Cette illusion a disparu par la connaissance des limites de la taille et des pouvoirs des océans ; d'ailleurs ces limites ne sont pas loin d'être atteintes pour plusieurs zones cotières où se déversent les rejets urbains, industriels et agricoles. Pour les mers fermées et semi-fermées, les menaces sont inversement proportionnelles à leur dimension. Bordées par les nations industrielles, la mer Baltique, la mer du Nord, la Manche et la Méditerranée sont soumises à de nombreuses pollutions potentielles d'autant que l'hydrodynamisme y est faible (Feller, 1998) .

L'ensemble des travaux scientifiques réalisés au cours de ces dernières décennies ont démontré l'existence de perturbations environnementales plus ou moins conséquentes le long du littoral méditerranéen: dégradation des écosystèmes et des habitats, tropicalisation, eutrophisation, contaminations chimiques et toxicologiques (Durrieu de Madron *et al.*, 2011; Tessier *et al.*, 2011 ; Maceda-Veiga *et al.*, 2012). D'ailleurs, le bassin méditerranéen a été classé par le PNUE comme l'un des cinq régions du monde où les problèmes environnementaux sont les plus graves (Ramade, 1992), alors qu'il est classé parmi les sept mers les plus menacées (Boudouresque, 1996). Tout autour du bassin méditerranéen sont dispersées une large gamme d'activités industrielles, allant de l'exploitation minière aux produits manufacturés, créant un certain nombre de « points critiques de pollutions », où les rejets et les émissions de contaminants provenant des complexes industriels et des grands ports commerciaux impliquent d'importantes menaces environnementales. Les substances

rejetées en mer au cours des deux dernières décennies sont distribuées aussi bien en surface qu'en profondeur et, vu la lenteur de renouvellement des eaux méditerranéennes (de 80 à 100 ans), persistent en grande partie jusqu'à nos jours. Toutes les sources de pollution (industrielle, agricole, urbaine, etc.) ont affecté les zones les plus productives de la Méditerranée en particulier les estuaires et les eaux côtières peu profondes (Thiboutot *et al.*, 2004; Wingfors *et al.*, 2006).

Parmi les nombreux composés déversés en milieu côtier, les éléments traces métalliques (ETM) constituent une des sources majeures de contamination du fait de leur accumulation potentielle à long terme dans les sols et sédiments. Les ETM sont des constituants naturels de l'écorce terrestre mais peuvent entrer dans les systèmes aquatiques par des sources ponctuelles (effluents industriels et urbains) et diffuses (eaux de ruissellement, dépôts atmosphériques secs et humides), sous formes particulières, dissoutes et colloïdales (Di Leonardo *et al.*, 2009; Weber *et al.*, 2009; Rocha *et al.*, 2011). Certains ETM sont essentiels à la vie des organismes, mais tous sont potentiellement biologiquement toxiques si leurs concentrations dépassent un seuil critique. C'est pourquoi l'évaluation des quantités des métaux lourds présents dans les écosystèmes et dans les organismes devient une préoccupation majeure des écotoxicologistes (Huang *et al.*, 2007).

L'impact de ces substances sur l'environnement est complexe, tant leurs actions toxiques peuvent être directes ou indirectes sur les individus, les populations ou les écosystèmes, autant que les phénomènes de synergie et le déclenchement des effets complexes sont possibles (Devauchelles, 2002). Cette situation a conduit à diversifier les approches permettant d'appréhender l'état de la pollution des milieux côtiers. Diverses stratégies ont été développées et mises en œuvre depuis la fin des années 70 (Goldberg, 1986). Elles concernent des approches complémentaires : les unes en écotoxicologie proprement dite et les autres à caractère biogéochimique dont le but est l'évaluation de la contamination, c'est-à-dire l'importance de la dissémination de l'apport anthropique. Aujourd'hui, deux approches complémentaires sont utilisées comme indicateurs de la pollution: les biomarqueurs et les bioindicateurs (Valavanidis *et al.*, 2006).

Les biomarqueurs ont fait leur apparition en écotoxicologie au cours des années 1980. Initialement décrit comme la réponse d'une structure ou d'une fonction biochimique ou physiologique « normale » à la présence d'un xénobiotique, la multiplication des investigations autour de cette thématique a engendré de nombreuses définitions de la notion de biomarqueur (Huggett *et al.*, 1992; National Research Council, 1987; Timbrell *et al.*,

1994). Nous retiendrons ici celle énoncée par Lagadic *et al.* (1997) qui définissent un biomarqueur comme un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance à caractère polluant. Les biomarqueurs présentent l'avantage d'une évaluation intégrée dans le temps, de l'exposition ou de l'effet des polluants environnementaux biodisponibles, qu'ils s'agissent de molécules mères ou de produits de dégradation, seuls ou en mélanges. Ils restituent, à un instant donné, une image intégrative des variations qualitatives et quantitatives de la contamination. Ils sont aussi susceptibles de refléter l'exposition des organismes à des polluants rapidement métabolisables et peu accumulables (Stegeman *et al.*, 1992; Lagadic *et al.*, 1997). Un bioindicateur peut être un individu, une partie d'individu ou même une communauté d'individus renfermant de l'information sur la qualité du milieu. Étant donné la non-spécificité des réactions de la plupart des organismes en présence d'un stress environnemental, la tâche d'un bioindicateur est davantage de mettre en évidence les effets physiologiques affectant les organismes sous l'influence de conditions environnementales stressantes que de mesurer directement les concentrations des différents polluants impliqués (Fränzle, 2003). Dans ce contexte un bioindicateur peut être défini comme une espèce qui, par son absence, sa présence, son abondance ou sa distribution, nous fournit des informations de nature qualitative sur l'état d'un environnement ou d'une partie de celui-ci (Kaiser, 2001; Markert *et al.*, 2003). L'utilisation de bioindicateurs choisis au sein des communautés marines affectées représente un des moyens d'évaluer l'impact anthropique sur les écosystèmes marins et de prévenir les situations critiques par la mise en place d'outils de restauration et de conservation (Usseglio-Polatera *et al.*, 2000; Burger *et al.*, 2006; Key *et al.*, 2006). La macrofaune benthique représente une fraction importante de la richesse, de la diversité et de l'abondance dans les communautés marines. De plus, la majorité de ces organismes possèdent un certain nombre de caractéristiques qui en font d'excellents bioindicateurs de la qualité du milieu marin et leur importance a déjà été soulignée par de nombreux travaux (Fresi *et al.*, 2005; Hyland, 2005; Liehr *et al.*, 2005; Occhipinti-Ambrogi, 2005; Rumohr, 2005). A ce jour, les bivalves restent les bioindicateurs cosmopolites les plus évidents. Cependant, l'utilisation d'une seule espèce pour la surveillance de l'environnement, a été soulignée dans de nombreuses publications (Soule, 1988; Phillips & Rainbow, 1993). Aujourd'hui, l'utilisation de plusieurs espèces, représentant différents niveaux trophiques ou différentes stratégies de nutrition a

progressivement été considérée comme absolument nécessaire pour une meilleure évaluation de l'impact des polluants sur l'environnement (Perez *et al.*, 2000).

Les spongiaires présentent un mode de vie, en particulier une éthologie alimentaire, qui pourrait en faire d'excellents bio-indicateurs dans les grilles de qualité utilisées pour le diagnostic de l'état de santé de l'environnement marin (Perez *et al.*, 2003). Ces invertébrés présentant une organisation très primitive, se nourrissent par la fraction dissoute et d'une partie de la matière en suspension dans l'eau. Elles ont la capacité de filtrer rapidement leur propre volume d'eau. Ce mode de développement les amène ainsi à concentrer fortement les contaminants présents dans le milieu aquatique (Basuyaux *et al.*, 2013). En effet, les spongiaires sont des bio-accumulateurs de polluants pouvant fournir des indications comparables à celles des mollusques bivalves des milieux superficiels, comme les moules et les huîtres, mais sur un plus vaste gradient vertical. Au-delà de simple dosage de polluants, il paraît possible de distinguer les polluants véhiculés par les matières en suspensions de ces présents sous forme dissoute (Perez *et al.*, 2003). De nombreux travaux sur les spongiaires s'accordent à considérer les éponges comme bioindicateurs potentiels de la contamination par les métaux traces pour les raisons suivantes: (1) performance de filtration de ces organismes filtreurs très simples, (2) leur large distribution horizontale et verticale dans toutes les mers du globe, (3) leur incapacité de se déplacer (organismes sessiles), (4) leur accumulation des éléments traces (cuivre, zinc, cadmium, etc.) et (5) leur tolérance des niveaux de contamination assez élevés ce qui offre un matériel idéal pour les analyses (Nakhle, 2003).

La protection des zones côtières est, en effet, un des enjeux majeurs pour les pays possédant une façade maritime. Afin de connaître l'évolution de la contamination chimique côtière, des programmes de suivi (ou de "monitorage") ont été mis en œuvre par de nombreux pays. Les scientifiques ont proposé ainsi des stratégies pour estimer les quantités de substances et d'éléments présents et introduits dans le milieu marin de sources anthropiques et naturelles. C'est ainsi qu'ont été mis en place des programmes de suivi qui prennent en considération les produits xénobiotiques (le plus souvent organique) mais aussi les métaux traces (métaux lourds) (c.f. Réseaux de la NOAA aux Etats-Unis et le Réseau d'observation de la qualité des eaux en France : [www.ifremer.fr/envlit/surveillance](http://www.ifremer.fr/envlit/surveillance)) (Nakhle, 2003).

Sur les côtes algériennes, la bioaccumulation qualitative et quantitative des différents agents contaminants minéraux et organiques a été décrite chez quelques téléostéens, comme le mullet *Mugil cephalus* (Ouali *et al.*, 2018) et surtout les invertébrés marins, comme les mollusques bivalves et gastéropodes (Bouderbala *et al.*, 1996; Dermeche, 1998; Aoudjit,

2001; Boutiba *et al.*, 2003; Beldi *et al.*, 2006; Taleb & Boutiba, 2007; Khati *et al.*, 2012; Boucetta *et al.*, 2016; Boujema *et al.*, 2016; Merad et Soltani, 2017), les échinides (Amri *et al.*, 2017) et les crustacés (Soltani *et al.*, 2012). La majorité de ces auteurs se sont intéressés à une faune marine vagile ayant la faculté d'effectuer des déplacements plus au moins importants aussi bien verticalement qu'horizontalement, ce qui pourrait sous-estimer les capacités bioaccumulatrices des métaux lourds chez cette catégorie d'organismes macrozoobenthiques. Il est certain que les processus bioaccumulateurs des polluants métalliques soient plus significatifs chez les espèces fixes, comme c'est le cas des spongiaires. En effet, la grande majorité de ces organismes sont suspensivores et utilisent une plus large gamme de particules (bactéries, débris organiques, microalgues) y compris les matières organiques dissoutes. De ce fait, ils peuvent refléter les niveaux de contamination, à la fois des compartiments dissous et particulaires. Plusieurs exemples ont d'ailleurs montré le potentiel de ces organismes comme indicateurs écologiques, bioaccumulateurs de polluants et matrice de recherche de marqueurs biochimiques (Perez *et al.*, 2000; Bacyaux *et al.*, 2013; Gentric *et al.*, 2016). Compte tenu de leur large distribution géographique et bathymétrique, de leur faible niveau de différenciation tissulaire, de leur capacité à assimiler à la fois du dissous et du particulaire, ces invertébrés marins peuvent apporter des informations complémentaires aux bivalves et même pallier certaines de leurs limites (Perez *et al.*, 2000).

Dans le cadre de la biosurveillance du golfe d'Annaba, cette thèse a pour objectif, le suivi et l'évaluation de la qualité de ces eaux, en utilisant pour la première fois les spongiaires comme indicateur environnemental, en se basant d'une part, sur une approche multi-marqueurs (dosage du GSH, de la GST et du MDA), et d'autre part, sur l'estimation des teneurs et de la biodisponibilité des éléments traces métalliques (Cu, Zn, Pb et Cu) dans les tissus de l'éponge *Sarcotragus spinosulus*.

Afin d'atteindre nos objectifs, le manuscrit de la thèse a été organisé de la manière suivante:

- En premier lieu, des informations générales sont présentées. Elles mettent en revue des généralités relatives à la pollution marine, à la contamination chimique par les ETM, sur les notions sur les biomarqueurs et l'utilisation des organismes bioindicateurs en biosurveillance. Un intérêt particulier est accordé à la description des caractéristiques générales des spongiaires.

- Le premier chapitre est un inventaire préliminaire des spongiaires colonisant l'étage infralittoral (0-40 m) du golfe d'Annaba (entre Cap de Garde et plage le Lever de l'Aurore), réalisé en plongée sous-marine avec scaphandre.
- Le second chapitre est consacré à la détermination de la qualité écotoxicologique par le dosage de certains éléments traces métalliques à savoir le cuivre, le zinc, le plomb et le cadmium dans les tissus de l'éponge *S. spinosulus*.
- Le troisième chapitre est une estimation du niveau de la pollution à l'aide de marqueurs biochimiques, basée sur le dosage de certains biomarqueurs du stress oxydant.
- Un quatrième chapitre fait état du cycle de vie de l'éponge *S. spinosulus* en mettant l'accès sur son cycle sexuel.

Enfin, nous terminerons ce manuscrit par une conclusion et des perspectives.

# GENERALITES

## 1- ELEMENTS TRACES METALLIQUES

### 1.1 Pollution marine

La pollution marine est un fait inévitable résultant non seulement des rejets d'origine naturelle mais de tous les produits rejetés en mers et les océans en conséquence des actions anthropiques. Ces produits, souvent délétères, sont acheminés directement (voie atmosphérique, pluies, navires) ou indirectement (cours d'eaux, fleuves, eaux souterraines, charriage, oueds, etc.) vers la mer. Les trois principales matrices marines concernées par la pollution sont l'eau, le sédiment et le biote. L'action humaine sur l'environnement marin peut se traduire par différents types de pollution: physique, chimique, organique, biotique (phytoplancton toxique), génétique (invasions d'espèces d'élevage), invasion biologique marine (crustacés, plancton, macrophytes, mollusques, poissons, etc.), macrodéchets (plastique), et sans oublier les pollutions imputables au trafic maritime. L'impact de ces derniers dépend de leurs ampleurs et de leurs nocivités, mais également des capacités d'absorption et de résilience des différents écosystèmes.

La Méditerranée est l'un des milieux marins et côtiers les plus riches en biodiversité (*hot spot* de la biodiversité) mais aussi l'un des plus vulnérables au monde du fait de son exposition à tout un ensemble de nuisances dont 80 % sont d'origine terrestre (Anonyme, 2011). Elle est particulièrement exposée au déversement d'eaux de ruissellement chargées de contaminants chimiques (organiques et inorganiques), qui constitue actuellement un problème majeur (MeHSIP, 2016). En effet, la présence de ces éléments dans l'environnement marin, notamment dans les denrées alimentaires ou dans les produits de la pêche représente un risque potentiel pour la santé humaine. Il en résulte une demande croissante en moyen d'analyse car il est nécessaire de pouvoir identifier les polluants chimiques présents dans l'environnement et de les quantifier au niveau de traces et d'ultra traces à l'aide des méthodes d'analyses fiables, sensibles et reproductibles.

### 1.2. Eléments traces métalliques (ETM)

Un métal est une matière issue le plus souvent d'un minerai (Gérard, 2001). Il est qualifié de "lourd" si sa masse volumique est supérieure à  $5 \text{ g/cm}^3$  et s'il présente des risques de toxicité chez les organismes vivants. Les métaux sont présents dans tous les compartiments de l'environnement, mais en général en quantités insignifiantes et sont alors qualifiés de "Métaux Traces" ou "Eléments Traces Métalliques" (ETM) (Fourest, 1993).

Certains, appelés oligo-éléments, sont nécessaires au développement des organismes (ex : Zn, Cu, Mn, Ni, Fe, B, Co ...), d'autres toxiques à très faible dose et n'ont aucune fonction biologique essentielle (ex : Cd, Hg, Pb) (Mirghffari, 1998).

### 1.2.1. ETM en milieu marin

La présence d'ETM dans le milieu marin résulte de processus naturels, principalement via l'érosion des sols et des roches (Ralph et *al.*, 2006), mais également des dépôts atmosphériques, comme les poussières provenant des éruptions volcaniques et des incendies de forêts (Joiris et *al.*, 1999). Leur présence est issue également de l'activité anthropique avec les rejets urbains, les effluents industriels, les exploitations minières et les activités agricoles (Ralph et *al.*, 2006), ce qui augmente leurs concentrations dans les écosystèmes aquatiques. Leurs utilisations sont multiples et très diversifiées et les sources de contamination le sont par conséquent aussi (Tab.1).

La biodisponibilité des ETM dans le milieu marin est influencée par de nombreux paramètres biotiques et abiotiques, comme le pH de l'eau et des sédiments, la taille des particules en suspension, le potentiel redox, la matière organique dissoute, la température de l'eau, la salinité et la concentration des autres métaux (Ralph et *al.*, 2006). Ces paramètres physico-chimiques ont une grande influence sur les phénomènes de disponibilité des ETM. En effet, ceux-ci peuvent rester en solution, être adsorbés sur des particules sédimentaires, précipiter sur le fond ou être absorbés par les organismes et s'accumuler ainsi dans leurs tissus jusqu'à atteindre des concentrations toxiques (Ralph et *al.*, 2006).

**Tableau 1.** Sources anthropiques de quelques ETM (Abed, 2011).

Eléments	Sources anthropiques
Cr	Aciers et aciers inoxydables
Fe (alliages)	Aciers et aciers inoxydables
Ni	Aciers et aciers inoxydables
Cu	Electroniques, fongicides
Zn	Galvanisation de l'acier
As	Produits phytosanitaires
Ag	Bijouterie, argenterie, monnaies, miroirs, électriques et électroniques
Cd	Batteries d'accumulateurs
Au	Bijouterie, objets précieux, contacts électriques, dentisterie
Hg	Amalgames dentaires, piles électriques
Ti	Réacteurs chimiques (en raison de son inertie chimique) et confection de prothèses
Pb	Additif dans les carburants, batteries d'accumulateurs, tuyauteries, soudures, peintures anticorrosion et les munitions
U	Quilles de certains bateaux, munitions anti-blindage (uranium appauvri)

### 1.2.2. ETM en Méditerranée

Du fait de ses dimensions réduites, les cycles biogéochimiques des ETM introduits en Méditerranée sont en grande partie régis par les apports atmosphériques et les échanges à travers les détroits (Migon *et al.*, 2002), eux-mêmes régis essentiellement par des apports européens naturels et anthropiques sur lesquels les poussières sahariennes sont superposées (Guerzoni *et al.*, 1999). Le climat méditerranéen et sa météorologie déterminent fortement la partition (dissoute ou particulaire) dans laquelle ces ETM atmosphériques pénètrent à la surface de la mer (Migon *et al.*, 1997). Les premières mesures fiables d'apports atmosphériques et telluriques d'ETM en Méditerranée, réalisées par le programme des Nations Unies pour l'environnement (PNUE ou UNEP, 1984), ont révélé des profils verticaux des ETM très différents en Méditerranée de ceux mesurés dans les océans Atlantique et Pacifique (Ruiz-Pino *et al.*, 1990a, b; Ruiz-Pino *et al.*, 1991). En effet, dans ces océans, les profils verticaux de Zn et Cd, tout comme les éléments nutritifs, sont faiblement présents en surface, alors que leurs concentrations sont plus élevées en profondeur. En revanche, les ETM en Méditerranée sont plus fortement présents dans les couches supérieures que dans les couches inférieures et à des concentrations relativement stables. Ce constat est une des conséquences des particularités de cette mer qui est (1) semi-fermée, (2) chaude et salée, (3) entourée de trois continents (facteur favorisant les apports atmosphériques et telluriques), (4) avec des marées généralement de faible amplitude (< 60 cm), (5) ayant un bilan hydrique négatif du fait d'une importante évaporation, malgré les apports hydriques assurés par les fleuves (principalement le Nil, le Rhône, le Pô et l'Ebre) et les précipitations et où (6) le renouvellement de sa masse d'eau superficielle via le détroit de Gibraltar est très lent (70 à 100 ans) (Casas, 2005). Ces caractéristiques ont ainsi permis aux chercheurs d'analyser l'évolution de la concentration des éléments traces métalliques, comme l'Hg, le Cd, le Pb, le Cu et le Zn provenant de l'atmosphère et des rivières, d'origine essentielle anthropique. Les apports d'ETM par voie atmosphérique dans le bassin occidental montrent que les concentrations en ETM sont quasiment homogènes et sont d'origine européenne et saharienne (Guerzoni *et al.*, 1997; Guieu *et al.*, 1997).

Concernant les apports d'ETM par les rivières et principalement le Rhône pour le bassin occidental, le transport particulaire est supérieur au transport dissous lui-même étant inférieur à l'apport dissous par l'atmosphère. Ceci s'explique par le fait que les mesures géochimiques dans le milieu marin concernent principalement le stock dissous dans la colonne d'eau, permettant ainsi de quantifier les apports dissous à l'échelle spatio-

temporelle. Du fait du léger apport dissous fourni par les rivières, l'atmosphère serait donc par la pollution anthropique, le principal vecteur d'apports dissous à la mer. Concernant l'apport particulaire par l'atmosphère et les rivières, il est supposé qu'une importante partie se piège finalement dans le sédiment, hormis une très faible fraction « reprise » par l'activité biologique (Abed, 2011).

### 1.2.3. Présentation des Eléments Traces Métalliques étudiés

- **Cuivre (Cu)**

Cet élément existe à l'état natif dans l'écorce terrestre, mais se trouve surtout sous forme de sulfures CuS et Cu<sub>2</sub>S. Ses émissions dans l'environnement peuvent être d'origine naturelle (érosion, volcanisme, végétation), mais sa présence dans l'eau est surtout d'origine anthropique (industries de la métallurgie et du bois, produits phytosanitaires, incinération des ordures ménagères, fabrication de fertilisants, etc.) (Chiffolleau *et al.*, 2001). Le cuivre est indispensable au métabolisme des êtres vivants (Clemens, 2001; Munoz-Olivas & Cámara, 2001), comme chez les crustacés où il constitue un pigment respiratoire (hémocyanine) au lieu du fer. La toxicité vis-à-vis des organismes marins dépend de la forme chimique du cuivre et de son état d'oxydation (Nakhle, 2005).

- **Zinc (Zn)**

C'est un élément naturellement présent dans l'écorce terrestre principalement sous forme de sulfure, dans les roches magmatiques, les sédiments argileux et les schistes. Les émissions dans l'environnement peuvent avoir une origine naturelle (érosion, volcanisme, incendies de forêts), mais les principaux apports sont anthropiques (sources minières et industrielles, épandages agricoles, sources urbaines, peintures anti-fouling, etc.). Dans les zones portuaires, le zinc est introduit à partir de la dissolution des anodes destinées à la protection des coques de bateaux contre la corrosion (Chiffolleau *et al.*, 2001), mais également par les peintures antifouling, un composé ne faisant pas l'objet d'une réglementation à l'inverse d'autres biocides comme le cuivre (Cu). C'est un métal dit essentiel puisqu'il est impliqué dans de nombreux processus physiologiques. A de fortes concentrations, il devient toxique pour les végétaux et les animaux (Hemalatha *et al.*, 2007; Lafabrie, 2007).

- **Plomb (Pb)**

Naturellement présent dans l'environnement du fait des activités volcaniques et de l'érosion des sols, les principales sources sont d'origine anthropique. Le plomb se retrouve dans les milieux marins principalement par voie atmosphérique. Il provient des fonderies, des

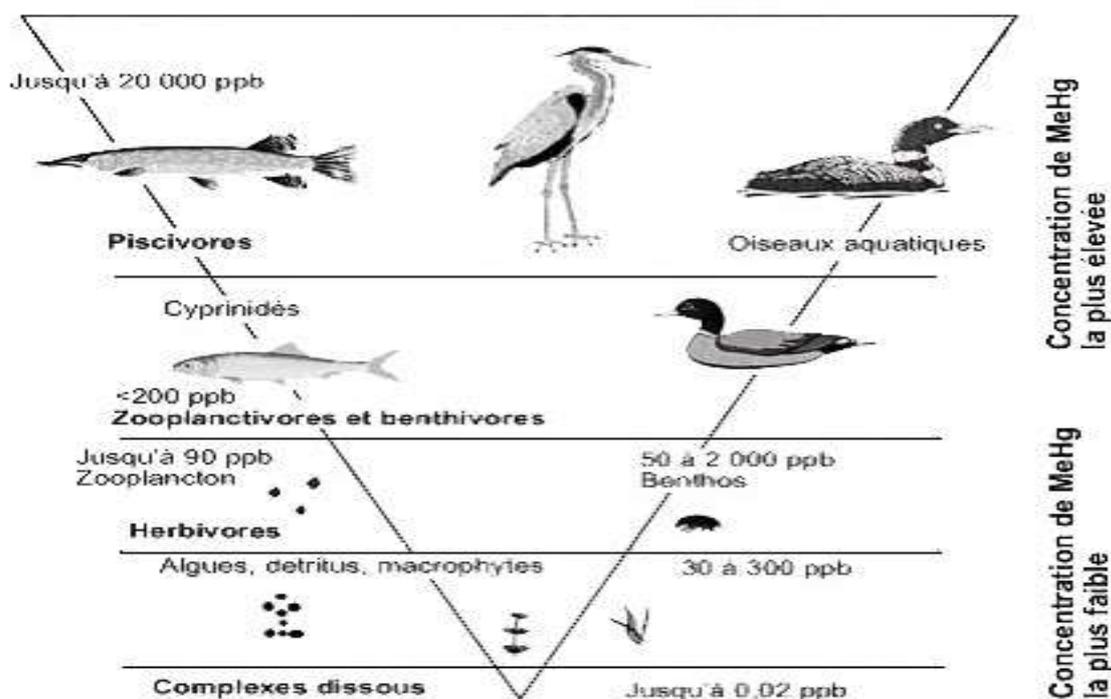
industries de la métallurgie, de la combustion du charbon, de l'incinération des déchets et des gaz d'échappement des véhicules (Gagneux-Moreaux, 2006), mais également par voie terrestre lors du lessivage des zones urbanisées. Il fait partie des ETM (Eléments en Traces Métalliques) non essentiels (Miquel, 2001; Turkmen *et al.*, 2005). Cet élément peut être bio-amplifié dans les systèmes biologiques devenant un potentiel contaminant pour les différents maillons trophiques (Amiard *et al.*, 1987).

- **Cadmium (Cd)**

Naturellement présent dans l'environnement du fait des activités volcaniques et de l'érosion des sols, les principales sources sont d'origine anthropique. Le cadmium est présent dans les milieux marins par voie atmosphérique (fumées ou poussières des fonderies et des produits d'incinération des matériaux recouverts de cadmium) ou par voie terrestre (lessivage des terrains agricoles renfermant des engrais). Sa demi-vie biologique peut aller de 10 à 30 ans (Nriagu & Pacyna, 1988). Enfin, il fait partie des contaminants métalliques les plus toxiques et son cycle naturel est l'un des plus perturbé par l'activité humaine (Gonzalez *et al.*, 1999).

#### **1.2.4. Bioaccumulation et bioamplification**

De nombreux êtres vivants, sinon l'ensemble, peuvent accumuler puis amplifier le contaminant peu ou non biodégradable (Bourrinet *et al.*, 2008). Les polluants métalliques non biodégradables, peuvent ainsi affecter la vie aquatique et entraîner un dysfonctionnement des réseaux trophiques pélagique et benthique (Fig. 1). Depuis les autotrophes, le risque de contamination s'amplifie au fur et à mesure que l'on remonte à travers les niveaux de la chaîne trophique (Sirven, 2006).



**Figure 1.** Exemple de **bioamplification** du mercure dans le milieu aquatique (source : [https://ressources.uved.fr/modules/moduleRisques/Pollutions\\_atmospheriques\\_2-2-2\(30-04-07\)/html/5.html](https://ressources.uved.fr/modules/moduleRisques/Pollutions_atmospheriques_2-2-2(30-04-07)/html/5.html)).

La bioaccumulation est le processus d'assimilation et de concentration des métaux lourds dans l'organisme. Le processus se déroule en 3 temps : assimilation, bioaccumulation par l'individu (bioconcentration) et bioaccumulation entre individus (bioamplification).

#### a. Assimilation

Il existe deux voies principales d'exposition aux polluants : la voie externe (par contact) qui provoque un phénomène d'adsorption et la voie interne par assimilation ou absorption (Bourrinet *et al.*, 2008).

#### b. Bioconcentration

Tous les métaux lourds en général sont concernés par la bioconcentration (bioaccumulation par l'individu), mais plus particulièrement le mercure, lorsqu'il est présent sous forme organique (méthyl-mercure) (Bourrinet *et al.*, 2008).

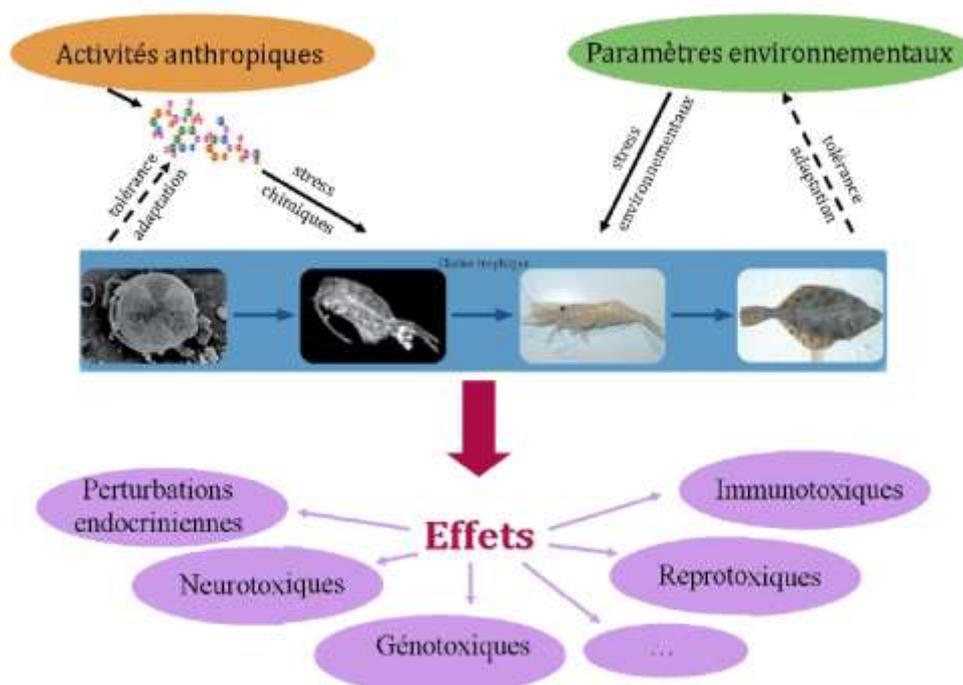
#### c. Bioamplification

Les transferts trophiques de métaux (bioaccumulation entre individus) suivent un processus classique. Le polluant, présent dans les algues et micro-organismes est ingéré par un herbivore, lui-même proie d'un carnivore, lui-même proie d'un super-carnivore, animal ou homme. En bout de chaîne alimentaire, le consommateur final aura bioaccumulé les formes solubles des métaux (Bourrinet *et al.*, 2008).

## 2- BIOMARQUEURS

### 2.1. Définition

C'est dans les années 1980 que la notion de biomarqueurs prend forme. Cette période voit se dérouler les premiers symposiums internationaux sur les réponses aux polluants des animaux marins (Pollutant Responses *in* Marine Animals, 1981) et les tests écotoxicologiques dans l'environnement marin (1983) ainsi que divers programmes (Groupement Interface Chimie-Biologie des Ecosystèmes Marins, 1987) (Narbonne, 2000). Après cette phase de développement, les biomarqueurs ont trouvé leur définition (workshop sur les biomarqueurs organisé par la Société de Toxicologie et de Chimie de l'Environnement (SETAC, 1989) : « *Ce sont des variations biochimiques, physiologiques, histologiques ou morphologiques, mesurées chez des organismes exposés à des conditions de stress liées à la présence de substances chimiques dans l'environnement* » (Huggett *et al.*, 1992). Ils représentent la réponse biologique initiale des organismes face aux perturbations ou contaminations du milieu récepteur. En conséquence, ils sont en général plus sensibles que les paramètres mesurés à un niveau supérieur d'organisation biologique tel que l'organe, l'individu ou la population (Stegeman *et al.*, 1992). Parmi les effets induits par les activités anthropiques et/ou les paramètres environnementaux observés au niveau des organismes, on retrouve les perturbations endocriniennes, les effets neurotoxiques, génotoxiques, reprotoxiques, immunotoxiques, etc (Fig. 2).



**Figure 2.** Schéma de synthèse des effets écotoxicologiques (Poisson *et al.*, 2011).

## 2.2. Différentes classes de biomarqueurs

On distingue traditionnellement 3 classes de biomarqueurs (NRC 1987 & Who 1993 *in* Van Der Oost, 2003) :

\* *Les biomarqueurs d'exposition* renseignent sur la présence (et éventuellement sur la quantité présente) dans un organisme donné d'une substance exogène ou de ses métabolites, ou d'un produit résultant de l'interaction entre un xénobiotique et une molécule-cible. Généralement, il est possible d'établir un lien entre le degré d'exposition externe et le niveau de réponse interne. Un exemple de biomarqueur d'exposition est l'induction des mono-oxygénases hépatiques à cytochrome P450 par une exposition aux PCBs, par exemple chez la caille japonaise *Coturnix coturnix japonica* (Stouvenakers *et al.*, 1996) ou chez la moule *Mytilus galloprovincialis* (Livingstone *et al.*, 1997). En outre, la bioaccumulation de certains polluants environnementaux persistants dans les tissus animaux peut également être considérée comme un biomarqueur d'exposition à ces polluants (Van Der Oost, 2003).

\* *Les biomarqueurs d'effets* diagnostiquent un dépassement, pouvant être transitoire, des capacités de régulation de l'organisme entraînant des conséquences sur la viabilité (cellules, tissu, individu). Parmi les biomarqueurs d'effet, nous retrouvons les dommages à l'ADN résultant de l'effet génotoxique de certains contaminants, la diminution de la stabilité membranaire ou encore l'induction ou l'inhibition des enzymes antioxydantes. La modification par les PCBs de l'ultrastructure hépatique du barbeau *Barbus galloprovincialis* par suite d'une contamination par le benzo[a]pyrène (Akcha *et al.*, 2000) sont des exemples de biomarqueurs d'effet.

\* *Les biomarqueurs de sensibilité* montrent la capacité innée ou acquise d'un organisme à répondre à une exposition à un xénobiotique spécifique. Cette classe inclut les facteurs génétiques et les changements de récepteurs qui altèrent la sensibilité d'un organisme à cette exposition. Ainsi, Hong et Yang (1997) ont montré que le polymorphisme génétique des cytochromes P450 chez les êtres humains peut être considéré comme un biomarqueur de sensibilité vis-à-vis de l'induction de cancers par des polluants environnementaux.

D'après Zhou *et al.* (2008), un organisme bioindicateur doit présenter idéalement les caractéristiques suivantes :

- le biomarqueur doit être relié de façon causale à des effets au niveau populationnel ou écologique ;
- être capable d'accumuler les polluants à des niveaux élevés sans que ceux-ci ne conduisent à sa mortalité ;

- avoir une mobilité réduite afin de refléter une contamination localisée du milieu ;
- être abondant et présenter une grande distribution pour un échantillonnage répétitif ;
- avoir une durée de vie assez longue pour la comparaison des effets et des niveaux de contamination entre les différents stades de développement ;
- fournir suffisamment de tissus biologiques pour d'éventuelles recherches d'impacts sur des différents niveaux biologiques ;
- être faciles à pêcher et à maintenir au laboratoire ;
- vivre dans l'eau ;
- occuper une position importante dans la chaîne trophique ;
- présenter des relations effet-dose.

### 2.3. Notion de bioindicateur et d'espèce sentinelle

Un *bioindicateur* est un organisme (ou partie d'un organisme ou une communauté d'individus) qui renseigne sur la qualité de l'environnement (ou partie de l'environnement) (Li *et al.*, 2010). Lorsque ce dernier est présent au sein de l'écosystème, il est qualifié d'espèce sentinelle (surveillance passive). Il peut y être introduit de façon standardisée (surveillance active) par encagement (*caging*). D'après Lagadic *et al.* (1998) et Lagadic et Caquet (1996), un bioindicateur peut aussi être un organisme qui, par sa disparition ou par sa présence et/ou son abondance, renseigne sur l'état de santé d'un milieu (dans ce cas appelé aussi : indicateur biologique). Nous pouvons ainsi distinguer des espèces «pollusensibles» (bioindicateurs négatifs) et des espèces «pollurésistantes» ou «pollutolérantes» (bioindicateurs positifs). Des outils tels que les indices biocénotiques reposent sur ce principe et permettent d'évaluer la structure et la santé d'un écosystème à un instant donné. Cependant, le recensement des différentes espèces peuplant un écosystème donné présente une tâche lourde avec plusieurs limites : il apporte peu ou aucune information sur la cause réelle de la disparition des espèces (prédation, facteurs abiotiques, etc.), sur les contaminants éventuellement responsables de la mortalité des individus ou sur les mécanismes de toxicité ayant conduit à leur mort.

La surveillance biologique de l'environnement, ou «*biomonitoring*», a pour objectif d'intégrer l'ensemble des paramètres de l'environnement intervenant en conditions naturelles (température, oxygène dissous, interactions polluants-milieu) en utilisant les espèces sentinelles comme outil et de fournir des informations exhaustives sur les effets de la

contamination chimique du milieu, car les tests de toxicité réalisés en laboratoire ne prennent pas en compte l'influence de ces multiples paramètres (Smolders *et al.*, 2004).

L'*espèce sentinelle* se définit comme une espèce constituant un témoin de la pollution environnementale par la mesure de variations biologiques individuelles ou sub-individuelles (contrairement aux bioindicateurs, basés sur la simple présence/absence ou l'abondance des organismes), engendrées par des niveaux de contamination de l'organisme sub-létaux (toxicité chronique). Les paramètres biologiques mesurés chez les espèces sentinelles ne sont autre que les biomarqueurs évoqués précédemment (Ramade, 1992; Walker *et al.*, 2001). L'avantage des espèces sentinelles par rapport aux espèces indicatrices (bioindicateurs) est donc qu'elles constituent une approche prédictive, et qu'elles sont sensibles à des doses plus faibles de toxiques (Ramade, 1992).

Les organismes sentinelles prélevés dans un milieu doivent être représentatifs de ce milieu et remplir plusieurs conditions pour refléter les effets d'une exposition de faible intensité mais sur une longue période. Une espèce sentinelle doit ainsi être sédentaire sur la zone d'étude afin que les biomarqueurs étudiés soient directement corrélés avec le niveau de pollution du site.

La taille de la population doit être représentative pour éviter que les prélèvements réguliers n'impactent la structure et la densité de la population. Les organismes sentinelles doivent aussi posséder une aire de dispersion large et déterminée permettant d'effectuer des comparaisons des résultats entre les sites. Afin d'étudier les effets chroniques de la contamination chimique du milieu, la longévité de ces organismes doit être suffisamment longue, de l'ordre de plusieurs années. Ces organismes doivent également présenter une résistance aux polluants afin que les niveaux d'expression des biomarqueurs soient détectables. Bien que résistantes aux contaminants, les espèces sentinelles doivent présenter une certaine sensibilité face aux contaminants afin de permettre l'établissement de relations dose/effet. Enfin, la biologie de l'espèce doit être suffisamment connue pour différencier le signal du bruit de fond.

#### **2.4. Evaluation des risques de contamination des milieux aquatiques**

Les mesures des paramètres physiques, chimiques et bactériologiques de l'eau renseignent sur la qualité de cette ressource (Li *et al.*, 2010), mais leur caractère ponctuel ne permettra pas de révéler d'éventuelles perturbations perpétrées en dehors des périodes de mesures. De même, ces techniques ne renseignent pas sur l'état des organismes aquatiques ni

sur les conséquences écologiques engendrées par les changements survenus dans ces écosystèmes. Dans le cas d'une pollution métallique, la mesure des concentrations des métaux dans le biotope (eau, sédiment) peut révéler l'existence d'une pollution, mais ne met pas en évidence le degré d'accumulation des métaux par les organismes, ni la toxicité engendrée sur les individus et l'écosystème (Zhou *et al.*, 2008). En conséquent, ces dernières études écotoxicologiques se sont développées afin de mettre en place des outils permettant une meilleure évaluation de l'état écologique des milieux (Gillet, 2018). Celles-ci passent notamment par la recherche de bioindicateur ou d'espèces sentinelles servant de support pour la mesure de marqueurs biologiques (biomarqueurs). Ces derniers reflèteront le degré des atteintes de l'environnement.

## **2.5. Avantages et limites de l'utilisation des biomarqueurs**

Les biomarqueurs sont des outils mis en œuvre pour établir un diagnostic de risque environnemental. Ils constituent un signal précoce de l'effet de la contamination sur les organismes. Leur usage et intérêt dans la détermination du risque environnemental sont devenus incontournables, toutefois le manque de connaissance sur les mécanismes physiologiques et fonctionnels et le comportement de certains organismes aquatiques sentinelles utilisés limitent fortement l'utilisation optimale de ces outils.

L'utilisation des biomarqueurs peut s'avérer très pertinente dans certaines conditions, mais pas dans d'autres, induisant ainsi à un diagnostic erroné. Un biomarqueur unique ne permet pas de rendre compte de l'ensemble des contaminants présents dans les écosystèmes et susceptible de perturber l'état de santé des organismes qui y vivent. Afin de prendre en compte la grande diversité des contaminants et la multiplicité de leurs effets, il est apparu nécessaire de recourir à une approche multi-biomarqueurs basée sur la mesure de plusieurs biomarqueurs complémentaires (Blaise *et al.*, 2002 ; Galloway *et al.*, 2004).

Les biomarqueurs sont plus particulièrement conçus pour l'évaluation d'un risque écotoxicologique et visent à rechercher la signature biologique de l'impact ou de la présence d'un contaminant dans une structure vivante. Le biomarqueur parfait et universel n'existe pas.

Un biomarqueur peut s'avérer très pertinent dans certaines conditions, mais ne pas répondre, voire induire un diagnostic erroné. Ces conditions varient en fonction de plusieurs paramètres qu'il est inconcevable de présumer de la pertinence d'un biomarqueur dans toutes les situations possibles, parfaitement claires et définies.

Les mélanges de substances et les contaminations multiples impliquent de potentiels synergies et antagonismes, ce qui complexifie déjà grandement la compréhension des faits. Néanmoins, de nombreux autres facteurs sont susceptibles d'influencer la physiologie d'un organisme et donc la réponse d'un biomarqueur. Parmi eux, il est possible de distinguer notamment des facteurs intrinsèques, tels que l'âge, le sexe, le statut reproducteur ou les caractéristiques génétiques de l'espèce sentinelle. Enfin, d'autres facteurs extrinsèques exercent une influence sur la réponse des biomarqueurs, qu'il s'agisse d'interactions biotiques (compétition intra- ou interspécifique, prédation, parasitisme...) ou encore de facteurs abiotiques, tels que la température ou la salinité (Amiard *et al.*, 1998).

Si l'influence de ces facteurs peut être en partie limitée ou, à défaut, correctement appréhendée en conditions contrôlées, l'interprétation de la réponse des biomarqueurs devient extrêmement plus délicate en milieu naturel (Amiard *et al.*, 1998). Ainsi, les efforts soutenus de standardisation sont généralement restés vains, tant la définition de la gamme de réponses pouvant être considérée comme « normale » pour un organisme s'avère difficile, voire impossible à établir (Brown *et al.*, 2004).

## 2.6. Description des marqueurs biologiques

- **Glutathion réduit (GSH)**

Les anti-oxydants non enzymatiques comme le glutathion (GSH), les vitamines A et E, l'acide ascorbique, le  $\beta$ -carotène, l'interféron  $\beta$  ou les oses simples ont la capacité de fixer ou de détruire les espèces radicalaires (Cossu *et al.*, 1997a,b).

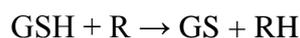
Le L- $\gamma$ -glutamyl-L-cystéinyglycine, plus couramment nommé glutathion, est un thiol non protéique de faible masse moléculaire, présent en abondance dans les cellules eucaryotes (Penninckx, 2000). Comme son nom scientifique le suggère, le glutathion est composé d'acide glutamique, de cystéine et de glycine.

La biosynthèse de ce tripeptide se réalise à l'aide de deux réactions enzymatiques consécutives, chacune d'entre elles nécessitant la présence d'une molécule d'ATP (Meister, 1994). La première réaction permet de lier le glutamate à la cystéine pour former du  $\gamma$ -Glu-Cys. Cette réaction est catalysée par la  $\gamma$ -glutamyl-cystéine ligase ( $\gamma$ -GCL), enzyme hétérodimérique composée d'une sous-unité catalytique (GCLc) de 73 kDa et d'une sous-unité de régulation (GCLm) de 27.7 kDa (Seelig *et al.*, 1984; Coffinet *et al.*, 2008; Ventura-Lima *et al.*, 2009). La deuxième réaction, catalysée par la glutathion synthétase, permet de lier la  $\gamma$ -Glu-Cys avec de la Glycine pour former le glutathion réduit.

Il a été montré que le glutathion était lui-même capable de réguler sa biosynthèse, en inhibant ou en stimulant l'activité de la GCL (Richman & Meister, 1975; Iles & Liu, 2005). Cependant, de nombreux facteurs peuvent limiter sa biosynthèse, comme la concentration en GCL (Griffith, 1999 ; Chen *et al.*, 2005), ainsi que la disponibilité des substrats comme l'ATP, la Cystéine, le Glutamate, ou encore la Glycine.

Le glutathion est retrouvé en abondance dans le cytoplasme des cellules, et particulièrement dans les hépatocytes, dans lesquels il peut être présent sous sa forme oxydée (GSSG) ou réduite (GSH). Selon Meister (1988), la forme réduite, qui représente la forme active, est dominante à 90%.

Le glutathion, à l'état réduit (GSH), intervient en tant que donneur d'électrons dans les processus de défense antioxydants (Valko *et al.*, 2007). Grâce à son groupement thiol (-SH) présent sur le résidu cystéinyl, le GSH est capable d'inactiver de manière directe les espèces radicalaires en les neutralisant. Cette «neutralisation» se réalise par un simple transfert d'électrons selon la réaction suivante (DeLeve & Kaplowitz, 1991; Luperchio *et al.*, 1996):



De manière plus indirecte, le GSH intervient également comme substrat pour de nombreuses enzymes anti-oxydantes comme les glutathion peroxydases ou les glutathion S-transférases.

- **Glutathion-S transférase**

Les glutathion-S transférases (GST) représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles essentiellement cytosoliques, impliquées dans des opérations diverses de transport et de biosynthèse intracellulaires (George, 1990). Toutefois, la fonction des GST la plus étudiée, concernant les programmes de suivi environnementaux, demeure leur activité de catalyse des réactions de conjugaison entre des groupements hydrophiles endogènes (glutathion), et des molécules réactives comportant des sites électrophiles, capables de réagir avec des macromolécules comme les acides nucléiques (ARN, ADN). A ce titre, les GST font partie des mécanismes de défense des cellules contre des stress chimiques et sont qualifiées d'enzymes de phase II parce qu'elles interviennent généralement à la suite des enzymes de phase I (cytochrome P450) qui oxydent les xénobiotiques les rendant parfois plus actif biologiquement (ex HAPs).

Une grande variété de composés chimiques induit les GST, parmi lesquels certains inducteurs des cytochromes P450 tels que les HAPs et les PCBs. Ainsi des études *in situ* et expérimentales ont montré que les GST pouvaient être induites par différentes classes de

contaminants. Ainsi, Damiens *et al.* (2004) ont montré que des expositions au malathion et au carbofuran induisaient l'expression de la GST chez des larves d'huîtres. De plus, il a été démontré que l'expression de la GST au niveau de la glande digestive et des branchies d'un mollusque bivalve est proportionnelle à la concentration en HAPs dans les tissus (Gowland *et al.*, 2002; Rocher *et al.*, 2006).

Les GST ont été mises en évidence dans la plupart des êtres vivants tels que les mollusques (Fitzpatrick *et al.*, 1997; Blanchette & Singh, 1999), les crustacés (Keeran & Lee, 1987; Leblanc & Cochrane, 1987) et les poissons (George & Young, 1988; Martínez-Lara *et al.*, 1997; Pérez-López *et al.*, 2000). Bien que nos connaissances sur ces enzymes chez les poissons soient limitées, leur intérêt en tant que biomarqueurs de contamination par les contaminants de type HAP, PCB et pesticides dans les écosystèmes marins et dulçaquicoles a été démontré (Boryslawskyj *et al.*, 1988, Narbonne, 1993).

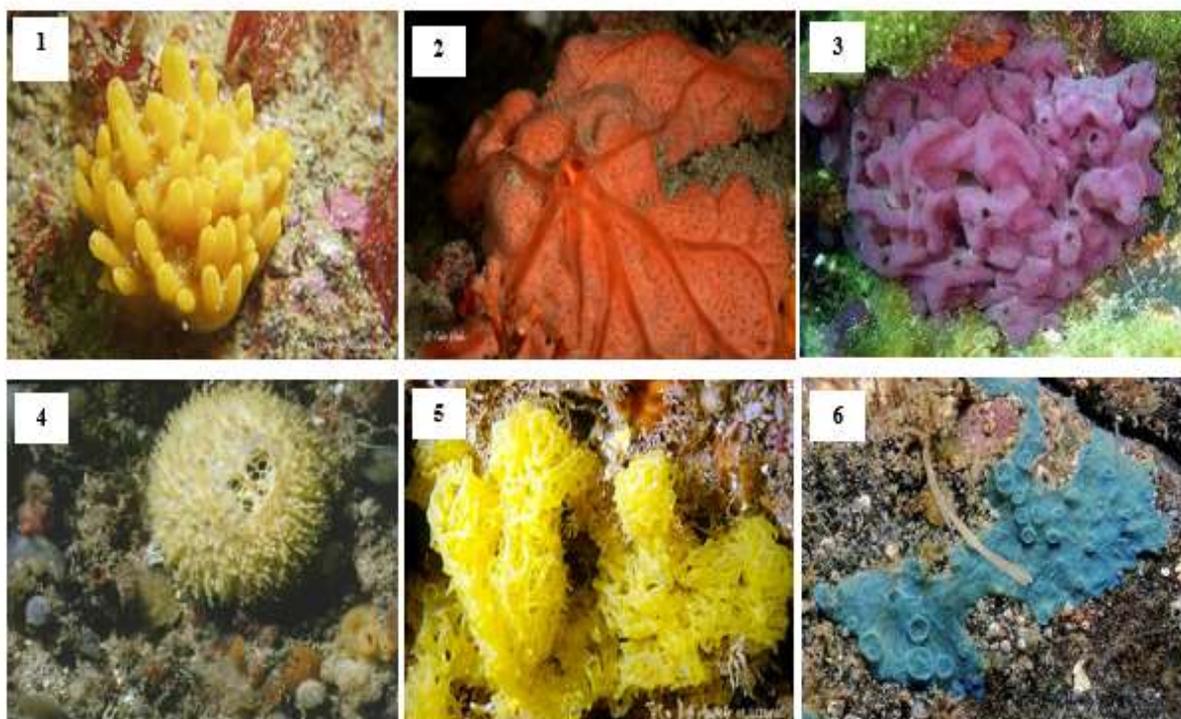
- **Malonedialdéhyde (MDA)**

Le MDA est une expression de la lipoperoxydation (Sunderman, 1985; Pompella *et al.*, 1987). L'utilisation de ce composé comme biomarqueur de stress oxydatif en général, et en peroxydation lipidique en particulier, est largement répandu. Le MDA est un produit des réactions de peroxydation lipidique qui se forme lors de l'attaque des lipides polyinsaturés (de la famille n-6) par des espèces réactives de l'oxygène générées dans certaines conditions de stress, en particulier avec des contaminants organiques (HAP, PCB, pesticides) et inorganiques (métaux de transition). Les hydroperoxydes ainsi formés se décomposent en intermédiaires radicalaires et en aldéhydes dont un des représentants les plus réactifs est le malonedialdéhyde (MDA). Le MDA est un agent alkylant puissant capable de réagir avec les macromolécules biologiques. Le dosage de ce composé présente donc un intérêt certain chez les animaux soumis à des contaminations multiples (Narbonne *et al.*, 1991, Pellerin-Massicote, 1994). Confirmé par l'étude Viarengo *et al.* (1989) de fortes teneurs en MDA chez les moules *Mytilus edulis* et *M. galloprovincialis* après une semaine d'exposition au cuivre.

### **3- PRESENTATION DU MODELE BIOLOGIQUE UTILISE: LES SPONGIAIRES**

Adaptés à une grande diversité de niches écologiques, les spongiaires sont retrouvés depuis le littoral marin jusqu'aux zones abyssales et sont également présents dans les eaux douces (moins de 1% des espèces). Plus de 8553 espèces d'éponges ont été décrites (Van Soest *et al.*, 2012) possédant une grande diversité de formes et de couleurs (Fig. 3). Les éponges marines peuvent constituer l'organisme macro-benthique majoritaire et représenter

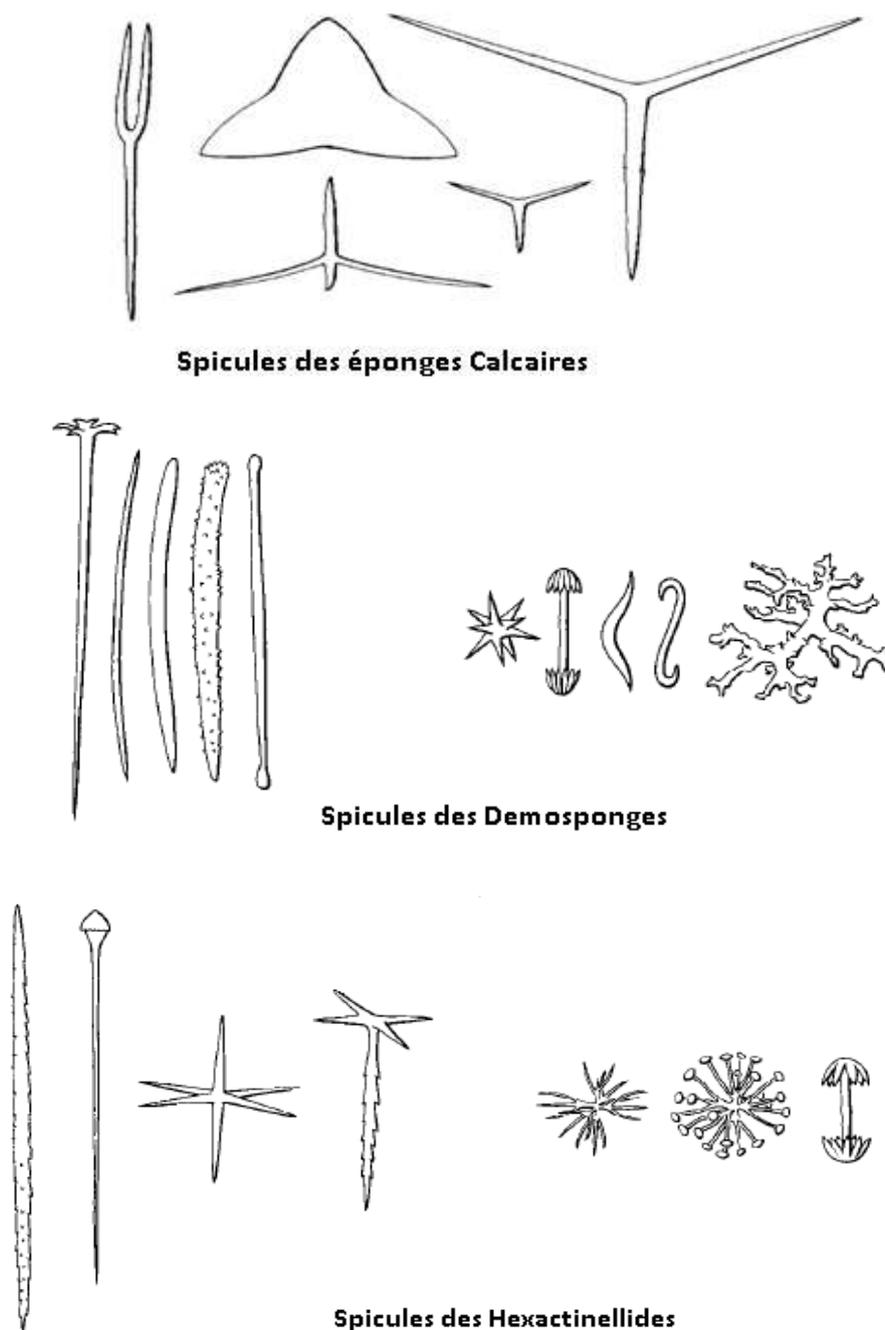
près de 80% de la biomasse de certains habitats comme au niveau des régions polaires (Bergquist, 2001).



**Figure 3.** Photos montrant la diversité morphologique et de couleur chez les Spongiaires (1. *Polymastia agglutinans*, 2. *Spirastrella cunctatrix*, 3. *Oscarella lobularis*, 4. *Tethya aurantium*, 5. *Clathrina clathrus*, 6. *Hymedesmia paupertas*) (source : [www.mer-littoral.org](http://www.mer-littoral.org)).

### 3.1. Taxonomie

La systématique des spongiaires (phylum Porifera) repose principalement sur la forme des microspicules. Ces dernières sont des éléments microscopiques sécrétés par les scléroblastes (cellules spécialisées du mésohyle) et contribuent à la rigidité structurale des éponges. Leur nature (calcite ou silice) et forme (Fig. 4) définissent la position taxonomique des éponges.



**Figure 4.** Différentes formes de spicules ([www.universalis.fr](http://www.universalis.fr)).

Les spongiaires sont composés de 4 classes : les éponges calcaires *Calcarea* (Bowerbank, 1864) et les éponges siliceuses : *Demospongiae* (Sollas, 1885) (regroupant près de 95% des éponges), *Hexactinellida* (Schmidt, 1870) et *Homoscleromorpha* (Dendy, 1905) :

- Les éponges calcaires ou *Calcispongia* (Bowerbank, 1864) possèdent un "squelette" constitué de carbonate de calcium (spicules calcaires). De taille réduite (< 10 cm), les calcisponges sont plus abondantes et plus diversifiées dans les eaux peu profondes (< -100 m) (Fig. 5).



**Figure 5.** Exemples de quelques Calcisponges (à gauche : *Ascandra falcata*; à droite : *Clathrina cerebrum*) ([www.mer-littoral.org](http://www.mer-littoral.org)).

- Les éponges siliceuses présentent un "squelette" constitué de spicules de silice. Elles sont également classées selon la forme des spicules :

- Les Démosponges *Desmospongia* (Sollas, 1885) regroupent près de 85% des éponges majoritairement marines (exemple : éponge de toilette *Spongia officinalis*). Le "squelette" est constitué de fibres de spongine et/ou des spicules de silice hydratée mono ou tetraxoniques (Fig. 6).



**Figure 6.** Exemple d'éponge siliceuse ([www.mer-littoral.org](http://www.mer-littoral.org)).

- Les *Hexactinellides Hexactinellida* (Schmidt, 1870) ou éponges de verre possèdent des spicules siliceux à trois axes perpendiculaires et six pointes : les triaxones hexactines à l'origine du nom de cette classe. Ces spicules n'existent pas chez les Démosponges. Par association, elles confèrent à l'éponge une structure rigide. Les Hexactinellides sont principalement retrouvées en zone bathyale entre - 200 et - 600 m et sont exclusivement des éponges marines. Ces éponges représentent probablement le groupe le plus évolué.

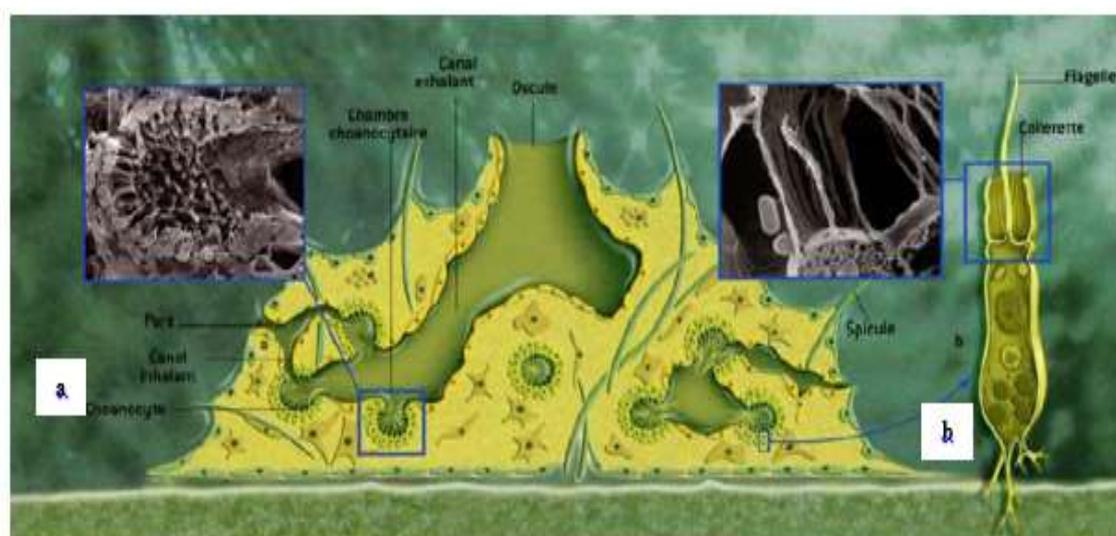


**Figure 7.** Exemple d'éponge de verre ([www.mer-littoral.org](http://www.mer-littoral.org)).

- *Les Homoscleromorpha* (Dendy, 1905) récemment reconnue comme quatrième classe à la suite d'études phylogénétiques poussées (Gazave *et al.*, 2010). Cette classe est composée de deux familles distinctes : les Plakinidae et les Oscarellidae.

### 3.2. Organisation morphologique et anatomique

D'organisation très simple, les éponges sont des animaux multicellulaires, ne possédant ni tissu ni organe différencié et sont, de ce fait, les métazoaires les plus primitifs apparus au Précambrien il y a de 500 millions d'années (Vacelet, 2016). Animaux diploblastiques, les éponges sont constituées de deux couches de cellules appelées pinacoderme et choanoderme séparées par le mésohyle. Le pinacoderme est perforé d'une multitude de petits pores ou *ostia* (Fig. 8) d'où l'étymologie du nom *Porifera* donné au groupe des éponges (latin *porus* signifiant petit orifice et verbe *ferre* signifiant porter) (Vacelet, 2016).



**Figure 8.** Organisation générale des spongiaires : (a) coupe transversale d'une éponge et d'un choanocyte (Manuel *et al.*, 2003).

Organismes sessiles vivant fixés sur différents types de substrat, les éponges se nourrissent, pour la grande majorité d'entre-elles, par filtration de larges volumes d'eau, jusqu'à 24 m<sup>3</sup>/kg/jour (Vogel, 1977). L'eau environnante chargée de particules nutritives en suspension, pénètre dans l'éponge via les ostia. Puis, celle-ci circule au sein des tissus par un réseau de canaux inhalants jusqu'à atteindre les chambres choanocytaires tapissées de choanocytes. Il s'agit de cellules à collerette munies d'un flagelle (Fig. 8a). Les mouvements du flagelle assurent la circulation de l'eau au sein de l'éponge (Harrison & Cowden, 1976; Simpson, 1984). La collerette quant à elle est composée de microvillosités qui captent les particules nutritives. Les bactéries (cyanobactéries et bactéries hétérotrophes) et microalgues phagocytées par un autre type cellulaire, les archaeocytes, satisfont les besoins alimentaires des éponges (Reiswig, 1975b). Le taux de capture des bactéries présentes dans l'eau filtrée peut atteindre jusqu'à 96% (Reiswig, 1975a; Pile, 1997; Turon *et al.*, 1997; Wehrl *et al.*, 2007). L'eau rejoint ensuite un réseau de canaux exhalants avant de quitter l'éponge via l'oscule.

### 3.3. Reproduction

Deux types de reproduction ont été décrits au sein du phylum des Porifères : asexuée et sexuée.

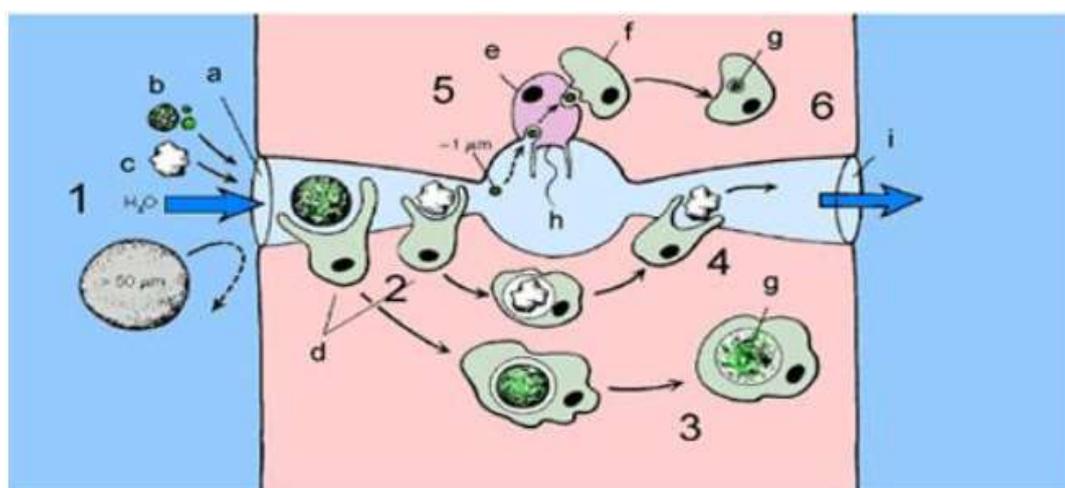
La reproduction asexuée est facilitée par l'extraordinaire pouvoir de régénération des éponges. Un simple fragment peut régénérer une éponge. Bien plus, des cellules d'éponges dissociées par passage à travers une fine gaze sont capables de se réorganiser en une multitude de petites éponges fonctionnelles (Lavrov & Kosevich, 2017). Dans la nature, la reproduction asexuée est très répandue chez les éponges d'eau douce, mais aussi assez fréquente chez les marines. Ce peut être un simple bourgeonnement externe ou un bourgeonnement interne appelé « gemmulation ». Les gemmules sont constituées d'un massif de cellules indifférenciées entourées d'une coque isolante constituée de spicule et de spongine. Ce sont des formes de résistance permettant aux éponges d'eau douce de traverser les périodes de froid ou de sécheresse. La gemmulation existe que chez les Démosponges d'eau douce (Ereskovsky, 2010).

La reproduction sexuée quant à elle survient par fusion des gamètes mâles et femelles. Une grande majorité des espèces d'éponge sont hermaphrodites du fait de la présence des deux gamètes à deux périodes différentes (Simpson, 1984). Les ovocytes d'une éponge sont fécondés par des spermatozoïdes émis par des individus différents. Selon les espèces, la

fécondation a lieu dans l'eau, les éponges sont alors « ovipares » (représentant de Démospoges) ou à l'intérieur des tissus de la mère, les éponges sont alors « vivipares ou encore incubantes » (représentant la majorité de Démospoges et toutes les éponges des classes Homoscleromorpha, Calcarea et Hexactinellida). Les larves pélagiques de moins de 1 mm de longueur sont ciliées et nagent librement quelques heures avant de se fixer et de se métamorphoser (Manuel *et al.*, 2003).

### 3.4. Nutrition

Les chambres choanocytaires tolèrent un courant d'eau grâce au battement de leur flagelle. Le dioxyde et les particules alimentaires (dinoflagellés, bactéries, particules organiques détritiques...) sont capturés par ces choanocytes, les particules adhèrent au mucus des choanocytes, le mucus transportant à son tour les particules et les enferment par phagocytose dans le choanocyte (Vacelet, 2016). La digestion est intracellulaire mais elle n'a pas lieu dans les choanocytes. La vacuole digestive contenant le mucus et les particules alimentaires (vésicule) est transférée à l'amibocyte, à l'intérieur duquel cette vésicule se fusionne à un lysosome où la digestion a lieu. Les éléments nutritifs sont redistribués par les amibocytes, qui se déplacent soit vers la paroi extérieure pour nourrir les pinacocytes, soit vers la paroi interne pour nourrir les choanocytes. Les déchets sont évacués par les pores exhalants (Vacelet, 2016).



**Figure 9.** Processus de nutrition par filtration de l'eau chez l'éponge (syconoïde ou leuconoïde) (Vacelet, 2016). a: pore inhalant; b: particule organique; c: particule inorganique; d et f: amibocyte (phagocyte); e: choanocyte; g: vacuole digestive; h: corbeille vibratile; i: pore exhalant.

### 3.5. Exploitation et valorisation économique

Les éponges sont bien connues du grand public pour leur utilisation domestique, bien que les véritables éponges naturelles soient aujourd'hui devenues rares. L'exploitation des éponges a débuté en Méditerranée chez les civilisations Phéniciennes et Egyptiennes il y a environ 2000 ans (Chiavarà, 1920), puis chez les grecs, les romains et les crétois. Actuellement, la Tunisie, la Grèce et la Lybie sont les principaux pays producteurs à l'échelle de la Méditerranée (Milanese *et al.*, 2008), avec l'Égypte et la Turquie (Pronzato & Manconi, 2008).

En Algérie, les éponges ne sont pas exploitées même si elles sont inscrites comme étant un produit d'intérêt économique au même titre que d'autres invertébrés, comme c'est le cas du corail rouge *Corallium rubrum*. L'espèce couramment exploitée est *Spongia officinalis*, la véritable éponge de toilette, et *Hippospongia communis* ou éponge de cheval, ainsi nommée car, de consistance plus rigide que l'éponge de toilette, elle était surtout utilisée pour les travaux domestiques. De nombreuses espèces semblent être menacées aujourd'hui du fait de leur sur-exploitation. La production méditerranéenne est passée de 150 tonnes en 1977 à 2 tonnes en 1990 (Manuel *et al.*, 2003).

En aquaculture, les éponges marines sont de plus en plus proposées et étudiées (Pronzato *et al.*, 1998; Werner *et al.*, 1999; Huang *et al.*, 2016). Nous citerons le cas du composé Peluroside A isolé de l'éponge *Mycale hentscheli* actuellement en essais précliniques. Ce composé présente des propriétés anticancéreuses à l'activité similaire à celle du Paclitaxel (Taxol®). Actuellement, en essais précliniques deux alternatives ont été mises en place afin d'assurer la production d'une quantité suffisante de principe actif (Jin & Taylor, 2005) et des études sont en cours afin de déterminer si sa synthèse chimique est une possibilité économiquement viable. Une autre possibilité est l'aquaculture de *M. hentscheli* montrant des résultats encourageants. Il a été montré que 200 kg d'éponge fourniraient 2 grammes pur de Peluroside A (Page *et al.*, 2005).

### 3.6. Rôles écologiques

Les éponges ont un fort impact écologique dans les milieux océaniques. En effet, elles filtrent d'importants volumes d'eau (Hentschel *et al.*, 2006) et participent au recyclage des nutriments, aux cycles biogéochimiques, à l'épuration des micro-organismes présents dans la colonne d'eau, à la production de métabolites spécifiques et peuvent aussi servir de

---

nourriture pour certains prédateurs, comme les mollusques nudibranches et les poissons (Wulff, 2001; Piel, 2009).

Les éponges marines produisent de nombreux métabolites secondaires à travers des processus physiologiques normaux, présentant un intérêt pharmaceutique grâce à leurs activités biologiques potentielles (Faulkner, 2000). La complexité structurale ainsi que l'abondance de ces métabolites admettent que leur synthèse se produit selon des coûts métaboliques de l'organisme, leur redevant de fournir par la suite un certain bénéfice à l'éponge (Paul, 1992; Pawlik, 1993; McClintock *et al.*, 2001). Les métabolites secondaires peuvent agir en tant qu'inhibiteurs du biofouling (Henrikson & Pawlik, 1995, 1996) et de la croissance de micro-organisme (Newbold *et al.*, 1999; Zea *et al.*, 1999) et empêchent la dégradation causée par les radiations ultra-violettes (Paul, 1992), ou bien agissent en tant qu'agents allélopatiques (Sullivan *et al.*, 1983; Porter & Targett, 1988; Engel & Pawlik, 2000). Leur fonction la plus hypothétique est la dissuasion des prédateurs (Pawlik, 1993; Pawlik *et al.*, 1995; Chanas *et al.*, 1996; Wilson *et al.*, 1999; Waddell & Pawlik, 2000a, b).

Des perturbations imposées sur l'organisme telles que les changements environnementaux, les stress physiologique, stress abiotique et nutritionnel, la mutation et les événements transgéniques peuvent causer des changements dans le métabolome. Ainsi, des altérations au niveau du génome, de la transcription des gènes, du niveau d'expression et des modifications post-traductionnelles des protéines, ainsi que du métabolisme primaire et secondaire reflètent une adaptation aux stimuli environnementaux.

De nombreuses études ont tenté d'évaluer le rôle écologique des métabolites secondaires produits par les Irciniidae, en particulier des furanoterpènes (classe A, B, C) qui sont constitués d'une partie acide tétronique (FTA). Ils semblent être impliqués dans la défense contre la prédation (Burns *et al.*, 2003). Pawlik *et al.* (1995) montrent que sur les extraits organiques de 71 éponges Caraïbes, trois espèces du genre *Ircinia* (*I. felix*, *I. strobilina* et *I. campana*) sont les moins comestibles pour le prédateur généraliste téléostéen *Thalassoma bifasciatum*. Ces études ont révélé plus tard l'existence d'un gradient de concentration de FTA au niveau de l'éponge et une forte influence de l'éclairage sur la concentration. Ainsi, chez *Ircinia felix*, la quantité de FTA est plus importante dans les couches profondes de l'éponge qu'au voisinage de la surface. Par ailleurs, les espèces produisent plus de FTA lorsqu'elles sont transplantées ou localisées dans des milieux éclairés, mais également lorsqu'elles sont blessées de façon intentionnelle (Zea *et al.*, 1999) et dans ce cas, nous constatons que les FTA ne sont pas relargués dans la colonne d'eau avoisinante.

L'implication des composés volatiles dans le phénomène direct de défense chimique ou indirect, par émission de signaux vis-à-vis des prédateurs potentiels ou d'organismes invasifs, est aussi suggérée (Zea *et al.*, 1999; Duque *et al.*, 2001). Cette hypothèse a été rejetée plus tard par Pawlik *et al.* (2002), qui confirment le rôle dissuasif des FTA, et non pas des composés volatiles, des trois mêmes espèces d'éponges utilisées dans leurs études en 1995 sur le prédateur *Thalassoma bifasciatum* en aquarium ainsi que sur une variété de poissons téléostéens en milieu naturel. Ces résultats ont également été confirmés par des études réalisées avec l'extrait organique et la variabiline provenant d'*Ircinia strobilina* du Brésil, qui, placés dans des boulettes alimentaires d'alginate de calcium, provoquent une non-palatabilité d'un ensemble naturel de poissons téléostéens récifaux (Epifanio *et al.*, 1999). De même, d'après une étude sur l'effet des extraits d'éponges de Caraïbes sur l'adhésion bactérienne, le traitement d'un morceau d'agar par l'extrait organique d'*Ircinia felix* diminué l'adhésion bactérienne de 80 % par rapport à un morceau de référence non traité (Kelly *et al.*, 2003). Certains prédateurs, poissons téléostéens et invertébrés, semblent être insensibles aux défenses chimiques développées par *Ircinia* sp. (Pawlik *et al.*, 2002). Par exemple, *Ircinia strobilina* a été trouvée dans le contenu stomacal de 5 téléostéens spongivores (Randall & Hartman, 1968) et *Ircinia* sp. a été consommée par des astérides (Wulff, 1995; Waddell & Pawlik, 2000a) mais évitée par le crabe hermite (Waddell & Pawlik, 2000b).

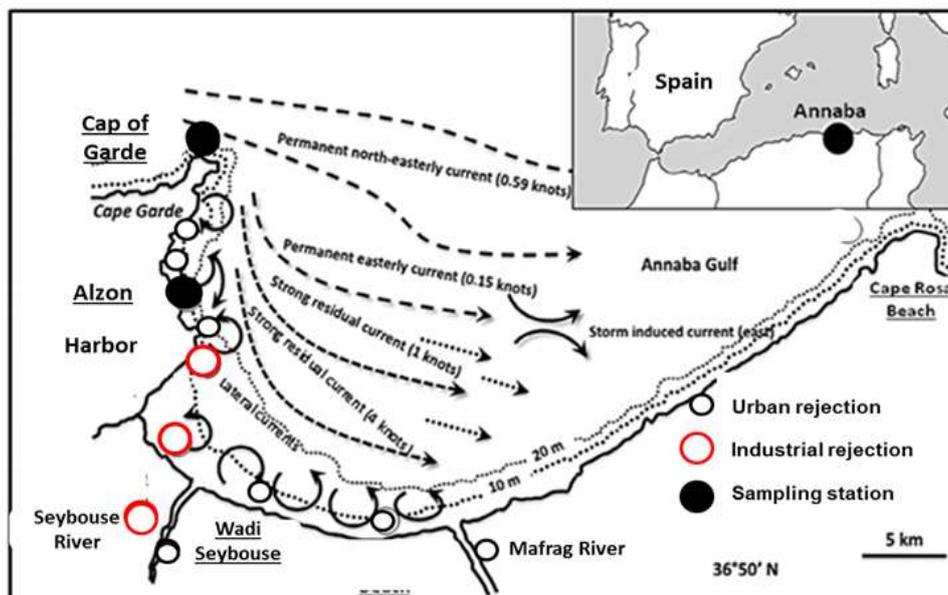
#### 4- PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE : LE GOLFE D'ANNABA

Le golfe d'Annaba se situe à l'extrême Est des côtes algériennes. Il est limité à l'Est par le Cap Rosa (8° 15'E-36° 58'N) et à l'Ouest par le Cap de Garde (7° 47' E-36° 58'N), distant d'environ 40 km l'un de l'autre. Le plateau continental est étroit et accidenté dans son ensemble avec un fond hétérogène surtout au voisinage des deux Caps. Il est nettement restreint au Nord du Cap de Garde (4,5 milles), puis s'élargit dans le golfe jusqu'à 14,5 milles avant de se rétrécir légèrement à l'Est au voisinage du Cap Rosa (Derbal, 2007). La bathymétrie entre les deux Caps limitant le golfe d'Annaba est estimée à 65 m. Les isobathes -10 m et -20 m sont très rapprochées de la côte Nord du Cap de Garde, les deux lignes s'éloignent l'une de l'autre au niveau de l'oued Seybouse jusqu'au port (Sud du golfe). L'isobathe -50 m est détachée des isobathes précitées (Derbal, 2007) (Fig. 10). Globalement, le fond débute à l'Ouest par du sable fin auquel succède une ceinture d'herbiers à *Posidonia oceanica* installée généralement sur un substrat dur et souvent entrecoupé par des zones sableuses (Derbal, 2007).



**Figure 10.** Présentation du golfe d'Annaba (Derbal, 2007).

Les zones côtières du golfe d'Annaba reçoivent les apports continentaux essentiellement par l'oued Seybouse et Mafragh (Reggam *et al.*, 2015). Ces deux oueds déversent des quantités importantes de matières minérales et organiques de différentes origine terrigènes, agricoles domestique et industrielles (Khélifi-Touhami *et al.*, 2006; Ounissi, 2007), auxquels s'ajoutent les rejets urbains et industriels parvenant également du Sud (Fig.11).



**Figure 11.** Différents rejets dans le golfe d'Annaba (In Belabed *et al.*, 2013, modifié).

Il en ressort que Seybouse représente la principale source de pollution par les sels nutritifs et les matières organiques. Les données de Fréhi (1995), Ounissi *et al.* (1998) et Ounissi & Fréhi (1999) montrent clairement que l'environnement côtier et ses peuplements planctoniques sont fortement déséquilibrés par suite des apports continentaux enrichis et pollués parvenant de Seybouse en particulier.

D'après Djabri (1992), les eaux de l'oued Seybouse sont excessivement riches en nutriments (nitrites, ammonium et azote) engendrant une eutrophisation du milieu (Gaïd, 1986; Djabri *et al.*, 1998), qui s'étend jusqu'au littoral adjacent où de fortes concentrations en sels nutritifs et en chlorophylle *a* sont observées (Ounissi *et al.*, 1998; Frehi *et al.*, 2007). Selon Ounissi *et al.* (2002), le golfe d'Annaba reçoit de la Seybouse des quantités excessives d'azote minéral (4,3 tonnes/jours), de phosphates (0,7 tonne /jours) et de carbone organique dissous (2,3 tonnes/jours).

À cela s'ajoutent les eaux de l'estuaire El-Mafrag qui sont généralement troubles tout le long de la côte jusqu'à la plage Draouch et parfois au-delà. Elles sont fortement eutrophes (Ounissi *et al.*, 2002; Khelifi-Touhami *et al.*, 2006).

Le golfe reçoit aussi les eaux usées urbaines qui ne subissent qu'un traitement sommaire au niveau de la station de traitement des eaux de Sidi Brahim, ainsi que de nombreux autres émissaires provenant des différentes plages qui longent le golfe (Kadri, 2015). À cela s'ajoute l'enceinte portuaire qui contribue de façon incontestable à la pollution du golfe d'Annaba.

D'après Ayada *et al.* (2018), la température moyenne des eaux du Sud-Est du golfe d'Annaba varie entre 16°C en hiver et 28,8 °C en été avec une amplitude de 12,8 °C. Comme pour la température, la salinité diffère entre les deux secteurs, les valeurs varient de 31,4 à 37,5 mg/l avec une amplitude de 6,5 mg/l. Au Nord-Ouest, la salinité est sensiblement stable et varie entre 36,9 et 37,6 mg/l avec une amplitude réduite de 0,7 mg/l. Ces variations de salinité entre les deux régions sont dues aux phénomènes de dilution engendrés par les apports continentaux.

La vitesse du courant dans le golfe d'Annaba est de faible amplitude. Il existe un courant dirigé d'Ouest vers l'Est avec des vitesses fluctuantes selon les saisons (0,8 à 2,5 nœuds), qui passe à quelques milles au large. Un autre de plus faible intensité (0,5 à 1,5 nœuds) circule à proximité de la rive Ouest (Anonyme, 1976).

# **CHAPITRE I**

## **INVENTAIRE DES SPONGIAIRES DU**

### **GOLFE D'ANNABA**

## 1. INTRODUCTION

Tout en ne représentant que 0,82 % de la surface totale des Océans, la Mer Méditerranée abrite 4 à 18% de l'ensemble de la biodiversité marine du monde (Boudouresque, 2004; Coll *et al.*, 2010), soit approximativement 15000 à 20000 espèces (Bianchi *et al.*, 2012). Avec ces chiffres qui incluent également les espèces exotiques et invasives, cette mer semi-fermée est considérée comme un *hotspot* de la biodiversité marine (Bianchi & Morri, 2000; Myers *et al.*, 2000; Coll *et al.*, 2010).

Parmi cette diversité, figurent les spongiaires (Porifera) qui constituent l'embranchement basal des métazoaires le plus ancien et le plus complexe taxonomiquement. D'ailleurs, ce n'est qu'en 1765 que les éponges, jusqu'alors considérées comme des végétaux, ont été reconnues comme étant des animaux (Lecointre & Le Gundayer, 2001). Ces invertébrés sessiles et filtreurs sont les plus importants sur les marges continentales actuelles, à la fois par leur diversité, leur biomasse et la variété des milieux colonisés (Vacelet, 1998). Ils occupent donc une place non négligeable dans certains écosystèmes benthiques, et spécialement dans les récifs coralliens, où ils ont un rôle fonctionnel prépondérant dans les couplages benthopélagiques, et particulièrement dans le recyclage de la matière organique (Zea, 2001; Rützler, 2004). En outre, les spongiaires jouent un rôle écologique important puisqu'ils ont une capacité de filtration très élevée, jusqu'à mille fois leur volume en une journée. Ils filtrent des quantités considérables de matière organique présentes dans l'eau (y compris les bactéries et la matière organique dissoute) (IMGE, 2012).

En plus de leur valeur commerciale connue dans l'activité de pêche en Méditerranée (notamment chez le genre *Spongia*), les éponges sont actuellement utilisées dans divers domaines en tant que sources de composés chimiques (métabolites secondaires) qui ont des propriétés antibiotiques, antivirales ou anticancéreuses et qui en font des molécules prometteuses susceptibles d'être valorisés dans le domaine biomédical (Munro *et al.*, 1999; Faulkner, 2000; Sipkema *et al.*, 2005; Pronzonato & Manconi, 2008).

Compte tenu de la diversité des intérêts que les éponges suscitent, les sollicitations pour des expertises naturalistes sont très nombreuses. Cependant, la communauté mondiale des spongiologues est assez réduite, et les spécialistes de la taxonomie des éponges sont peu nombreux. De ce fait, il existe encore de nombreux endroits sur la planète où la diversité des éponges est très mal connue et où un effort doit être entrepris pour combler le vide de connaissance. Contrairement à d'autres régions de la rive Sud de la Méditerranée, comme la Tunisie (Boukari, 2006; Ben Mustapha, 2007; Ben Mustapha *et al.*, 2003, 2007; Bouamama,

2009) ou de la rive Nord (Vacelet, 1959; Bertolino, 2013), les spongiaires sont mal connus le long des côtes algériennes (Schmidt, 1868; Topsent, 1898, 1901, 1945; Derbal & Kara, 2005; Hussein, 2015).

Ce chapitre a pour objectif principal de dresser un inventaire préliminaire des éponges que nous avons pu identifier en plongée sous-marine sur les côtes du golfe d'Annaba, l'extrême Est de l'Algérie.

## **2. MATERIEL & METHODES**

### **2.1 Prélèvement des éponges**

Au total 27 échantillons ont été récoltés entre automne 2013 et printemps 2014 en utilisant la plongée sous-marine avec scaphandre autonome entre 1 et 40 m de profondeur de façon aléatoire, entre Cap de Garde et plage de Lever de l'Aurore. Les éponges ont été photographiées puis collectées en plongée. Une fois prélevés, les fragments ont été transportés séparément au frais au laboratoire dans des piluliers contenant de l'eau de mer. Au laboratoire, ils ont été directement conservés dans une solution de formaldéhyde à 4% pour une identification ultérieure.

### **2.2. Etude taxonomique**

L'identification de la majorité des éponges a été réalisée à l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale (IMBE, Station Marine d'Endoume, Marseille, France) en croisant les observations globales de chaque spécimen échantillonné et les données consignées dans World Porifera Database (WPD) puis confortées et validées par un expert spongiologue (Dr. Jean Vacelet). Les critères de diagnose retenus sont généralement la morphologie externe et interne des individus (Hooper & Van Soest, 2002), avec un intérêt particulier pour la charpente, les microspicules (forme, taille, localisation, distribution), les fibres de spongines, les particules étrangères et aussi la couleur des individus. Deux types de préparations microscopiques ont été effectués:

#### **2.2.1 Préparation des charpentes**

Des coupes (souvent perpendiculaires et parallèles à la surface), les plus fines possibles, ont été réalisées dans la chair de l'éponge à main levée avec une lame de rasoir, puis elles ont été mises dans des bains successifs de colorant (fuchsin), d'alcool absolu pendant 5 min et enfin d'acétone durant quelques minutes (environ 5 min) afin de déshydrater

l'échantillon. Les coupes ont été ensuite montées entre lame et lamelle avec 3 gouttes d'araldite. Les lames ont été placées dans une étuve à 60 °C jusqu'à la polymérisation de l'araldite (environ 12 h) (Vacelet *et al.*, 2001). L'observation des charpentes a été effectuée au microscope optique de marque Wild, Heerbrugh M20-25006. Des coupes semi-fines ont été également effectuées à l'aide du microtome Reichert- Jung modèle 1140/Auto-cut. Une fois le montage de l'échantillon entre lame et lamelle, nous avons procédé à l'observation au microscope optique Leica DMLB. Certains éléments du squelette ont été photographié pour illustration avec un appareil de photographie digitale Evolution PL-A662.

### 2.2.2 Préparation des microspicules

Chaque fragment d'échantillon est placé dans une goutte d'eau sur une lame laquelle, puis nous ajoutons une goutte d'acide nitrique HNO<sub>3</sub>. Ensuite, nous chauffons au bec bunsen jusqu'à ébullition. Si besoin, nous y rajoutons de l'acide nitrique jusqu'à dissociation complète du fragment. Nous attendons que la lame soit refroidie avant de la rincer à l'eau distillée. Nous séchons la lame à la flamme et nous ajoutons une goutte d'araldite précédemment sortie de congélateur sur la préparation des spicules. Les lames ne seront prêtes pour l'observation qu'une fois placées à l'étuve à 60°C pendant 12 h pour assurer la polymérisation complète de l'araldite (Vacelet *et al.*, 2001).

## 3. RESULTATS

### 3.1. Diversité et classification des espèces inventoriées

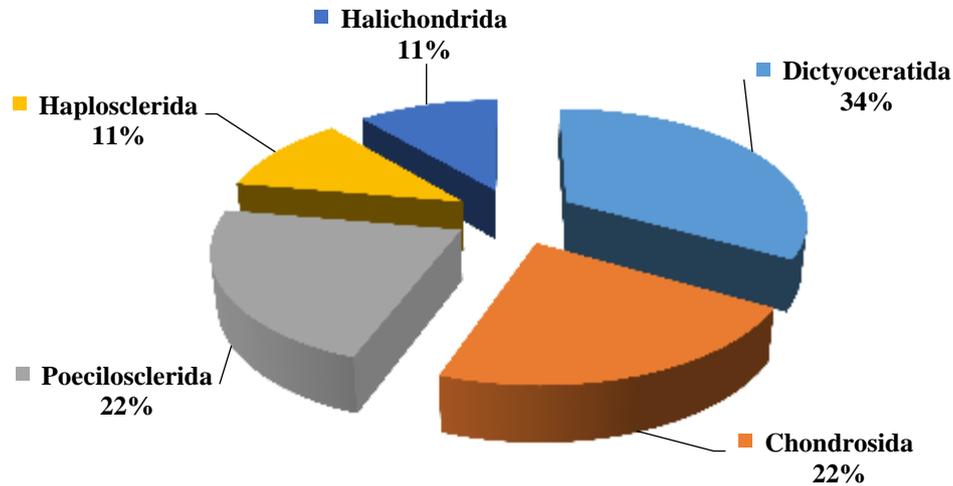
L'étude de la systématique de 27 échantillons d'éponges collectés aléatoirement entre le centre et le côté Ouest du golfe d'Annaba nous a permis d'identifier une seule classe (Demospongiae) avec 05 ordres, 05 familles, 07 genres et 09 espèces considérées communes en Méditerranée (Tab. 2).

**Tableau 2.** Position taxonomique des espèces inventoriées dans le golfe d'Annaba (selon world porifera database)

Classe	Ordre	Famille	Genre	Espèce		
Demospongiae	Chondrosida	Chondrillidae	<i>Chondrosia</i>	<i>C. reniformis</i>	(Nardo, 1833)	
			<i>Chondrilla</i>	<i>C. nucula</i>	(Schmidt, 1862)	
	Haplosclerida	Petrosiidae	<i>Petrosia</i>	<i>P. clavata</i>	(Esper, 1794)	
				<i>P. ficiformis</i>	(Poiret, 1789)	
	Halichondrida	Axinellidae	<i>Axinella</i>	<i>A. verrucosa</i>	(Esper, 1794)	
		Poecilosclerida	Crambeidae	<i>Crambe</i>	<i>C. crambe</i>	(Schmidt, 1862)
				<i>Ircinia</i>	<i>I. fasciculata</i>	(Pallas, 1766)
	Dictyociratida	Irciniidae	<i>Sarcotragus</i>	<i>S. foetidus</i>	(Schmidt, 1862)	
				<i>S. spinosulus</i>	(Schmidt, 1862)	

### Selon les ordres

L'ordre des Dictyoceratida est le mieux représenté (3 espèces : 34 %) suivi par l'ordre Chondrosida et Haplosclerida (2 espèces : 22 %) et enfin on trouve les 2 ordres, Halichondrida et Poecilosclerida (1 espèce) (Fig. 12).



**Figure 12.** Représentation des ordres par rapport au nombre d'espèces d'éponges.

### Selon les familles

Ce sont les espèces appartenant à la famille des Irciniidae qui sont les plus fréquentes (3 espèces) suivies des espèces appartenants aux familles des Chondrillidae et Petrosiidae (2 espèces chacune) et 1 seule espèce a été identifiée pour les familles Axinellidae et Crambeidae.

## 3.2. Caractéristiques des espèces inventoriées

### 3.2.1. *Chondrosia reniformis* (Nardo, 1833)

A l'œil nu et dans son milieu naturel, la couleur de *C. reniformis* varie du blanc laiteux à brune. Sa surface est lisse avec quelques gros oscules peu nombreux. Elle a une consistance caoutchouteuse et un aspect coriace (Fig. 13). Un arrangement de collagène très dense, sans spicule et sans fibres de spongine, est observé sous microscope optique. Deux zones sont clairement observées : la première zone est claire, constituée de fibres de collagène qui forme le cortex et la seconde est sombre, c'est le choanosome (absence de photo microscopique sur l'échantillon).



**Figure 13.** Photo de *Chondrosia reniformis* (Nardo, 1833) (cliché : Derbal, 2013).

### 3.2.2. *Chondrilla nucula* (Schmidt, 1862)

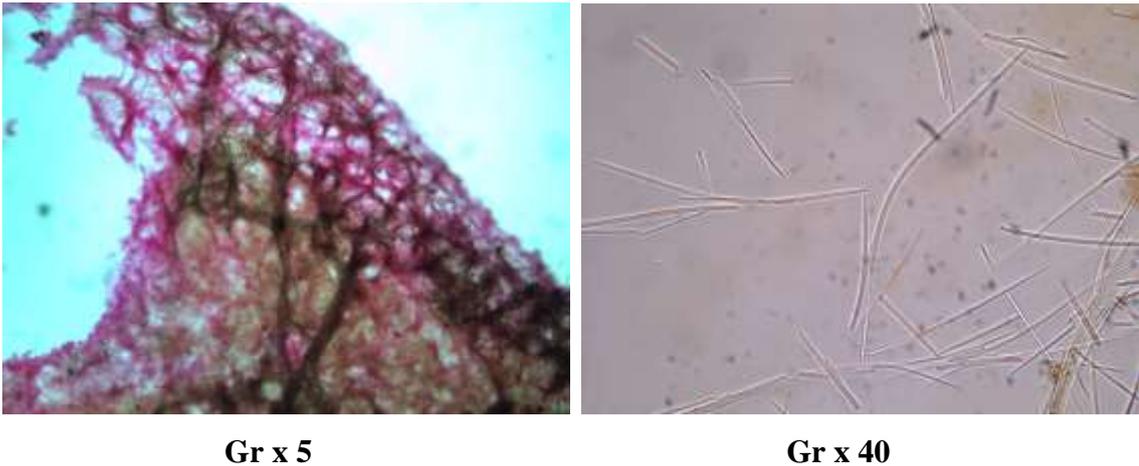
Cette éponge, appelée également éponge cerveau, forme de petits coussinets arrondis reliés les uns aux autres. Sa couleur varie du marron au brun verdâtre (Fig. 14). Sa surface est lisse et luisante. Des fibres de collagène très dense qui constituent le cortex de l'éponge sont observées sous microscope optique, sans spicule et sans fibres de spongine. Les oscules étant disposés de façon régulière (absence de photo microscopique de l'échantillon).



**Figure 14.** Photo de *Chondrilla nucula* en période de reproduction (Schmidt, 1862) (cliché : Derbal, 2013).

### 3.2.3. *Petrosia clavata* (Esper, 1794)

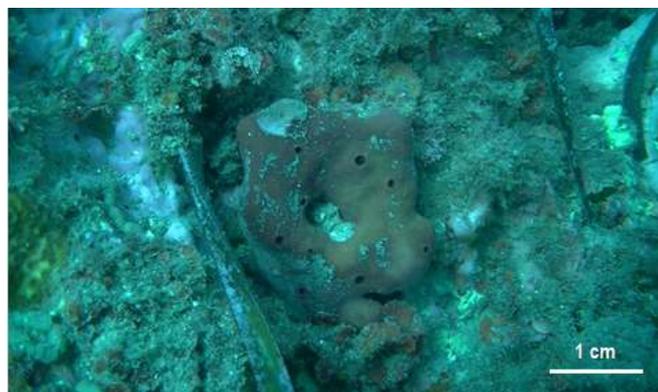
Cette espèce est caractérisée par une surface lisse, fine et compacte avec une texture dure et ferme et sur laquelle nous observons des oscules uniques en forme de volcan à l'extrémité des lobes. Son squelette est composé d'une fine couche de spicules libres de type oxes, produisant un réseau compact sans différences entre les fibres primaires et secondaires. Les spicules libres sont abondants (Fig. 15).



**Figure 15.** Coupe histologique présentant la charpente (à gauche) et les spicules (à droite) de *Petrosia clavata* (clichés : Bensafia, 2018).

### 3.2.4. *Petrosia ficiformis* (Poiret, 1789)

Cette éponge, de consistance dure et rugueuse, se présente sous une forme massive, irrégulière et arrondie, avec une couleur brune qui varie selon la luminosité. Les oscules sont circulaires et assez régulièrement répartis (Fig. 16). A noter, cette espèce a été identifiée par le Dr Vacelet à partir d'une photo, c'est pour cette raison que nous n'avons pas pu effectuer de description microscope de cette espèce.



**Figure 16.** Photo de *Petrosia ficiformis* (Poiret, 1789) (cliché : Derbal, 2013).

### 3.2.5. *Axinella verrucosa* (Esper, 1794)

*Axinella verrucosa* ressemble à un faisceau de colonnes rigides en forme de doigts portant de nombreuses verrues. Les ramifications similaires à celles de *A. polypoides* ont une section cylindrique et sont dépourvues de crêtes. La surface est lisse et veloutée, de couleur jaune-vif à orange. Les oscules sont plutôt circulaires et visible à la surface de l'éponge (Fig. 17). A noter, cette espèce a été identifiée par le Dr Vacelet à partir d'une photo, c'est pour cette raison que nous n'avons pas pu effectuer de description microscope de cette espèce.



**Figure 17.** Photo d'*Axinella verrucosa* (Esper, 1794) (cliché : Derbal, 2014).

### 3.2.6. *Crambe crambe* (Schmidt, 1862)

Cette espèce se présente sous forme de plaques minces de couleur orange à rouge-orangé avec une surface perforée de gros oscules observables à l'œil nu (Fig. 18). A noter, cette espèce a été identifiée par le Dr. Vacelet à partir d'une photo, c'est pour cette raison que nous n'avons pas pu effectuer de description microscope de cette espèce.



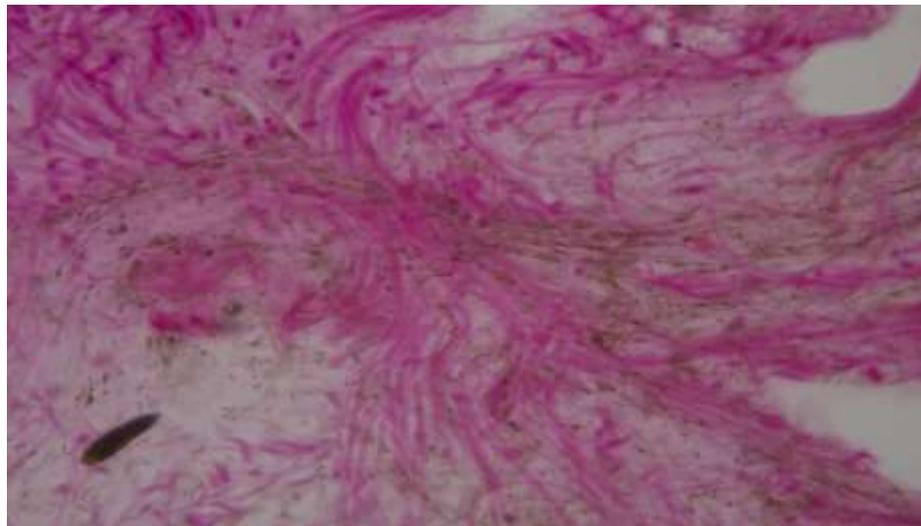
**Figure 18.** Photo de *Crambe crambe* (Schmidt, 1862) (cliché : Derbal, 2014).

### 3.2.7. *Ircinia fasciculata* (Pallas, 1766)

Elle est compressible, consistante et s'arrache très difficilement de son substrat. Les oscules sont présents sur toute la surface où nous observons également des conules ou élévations. Nous observons également la présence de grains de sable qui confirment qu'il s'agit bien d'une *Ircinia* (Fig. 19). L'observation microscopique montre un squelette réticulé sans spicules, formé par des fibres primaires très empierrées, non fasciculées et des fibres secondaires libres d'enclaves. Les filaments de spongine sont présents en grand nombre. (Fig. 20).



**Figure 19.** Photo de *Ircinia fasciculata* (Pallas, 1766) (cliché : Derbal, 2013).



Gr x 40

**Figure 20.** Coupe histologique représentant la charpente d'*Ircinia fasciculata* (Schmidt, 1862) (cliché : Bensafia, 2018).

### 3.2.8. *Sarcotragus foetidus* (Schmidt, 1862)

Cette espèce est caractérisée par une surface irrégulière et anfractueuse. Sa couleur est noirâtre. Sa consistance est ferme et compressible mais très coriace et très difficile à déchirer. Les oscules sont répartis irrégulièrement à la surface (Fig. 21). Nous observons sous microscope optique un squelette sans spicule, avec des fibres primaires et secondaires avec moelle et des filaments très fins (absence de photo microscopique sur l'échantillon).



**Figure 21.** Photo de *Sarcotragus foetidus* (Schmidt, 1862) (Bensafia, 2018).

### 3.2.9. *Sarcotragus spinosulus* (Schmidt, 1862)

De couleur qui varie entre le gris et le noir à l'ectoderme et une chair beige à l'intérieur, cette espèce a une consistance ferme, extrêmement résistante, très coriace et très difficile à déchirer. À la surface, de nombreux petits conules ou élévations et des oscules répartis de façon irrégulière sont visibles (Fig. 22). Beaucoup de fibres fines sont observées sous microscopes optique : des fibres primaires ascendantes avec moelle et sans corps étranges et des fibres secondaires sans moelle toujours sans corps étranges (Fig. 23).



**Figure 22.** Photo de *Sarcotragus spinosulus* (Schmidt, 1862) (cliché: Derbal, 2015)



**Gr x 10**

**Gr x 20**

**Figure 23.** Coupe histologique présentant les fibres primaires et secondaires chez *Sarcotragus spinosulus* (Schmidt, 1862) (cliché : Bensafia, 2018).

#### 4. DISCUSSION

Dans cet inventaire préliminaire sur les éponges peuplant une partie du golfe d'Annaba, c'est l'ordre des Dictyoceratida qui est le mieux représenté (34 %) avec une dominance de la famille des Irciniidae comprenant 3 espèces: *Ircinia fasciculata*, *Sarcotragus foetidus* et *Sarcotragus spinosulus*. Nos résultats concordent avec ceux trouvés par Bouamama *et al.* (2009) sur les côtes tunisiennes qui révèlent aussi une dominance de l'ordre des Dictyoceratida (66%) avec la famille des Irciniidae qui est la mieux représentée avec 5 espèces ainsi que ceux révélés par Hussein (2015) sur les côtes oranaises où l'ordre des Dictyoceratida (34,6%) domine avec 9 espèces (Tab. IV. Annexe 2). Selon les travaux de Ben

Mustapha *et al.* (2003, 2007) sur la distribution des démosponges du littoral tunisien, c'est l'ordre des Poecilosclerida qui est le mieux représenté (16 genres) suivi par ceux des Dictyoceratida (10 genres) puis des Hadromerida et des Haplosclerida (8 genres).

Hussein (2015), qui a inventorié l'étage infralittoral de la zone marine oranaise, y reconnaît 26 espèces d'éponges communes Méditerranéenne, parmi lesquelles 7 sont signalées dans le présent travail : *C. reniformis*, *C. nucula*, *P. ficiformis*, *A. verrucosa*, *C. crambe*, *I. fasciculata* et *S. spinosulus*. Autour des îles Kerkennah (Tunisie), Ben Mustapha (2007) a identifié 50 espèces de démosponges, parmi lesquelles 6 sont présentes dans le golfe d'Annaba : *C. reniformis*, *C. nucula*, *P. ficiformis*, *C. crambe*, *I. fasciculata* et *S. spinosulus*.

En comparant la liste des démosponges de Tunisie établie par Ben Mustapha *et al.* (2003) et dans laquelle 143 espèces sont inventoriées rattachées à 13 ordres (dont 3 sous ordres), 37 familles et 65 genres, 7 genres sont considérées présentes dans le présent travail : *Chondrosia*, *Chondrilla*, *Petrosia*, *Axinella*, *Crambe*, *Ircinia* et *Sarcotragus*. Par ailleurs, parmi les 16 espèces identifiées par Bouamama *et al.* (2009) au niveau de 5 sites des côtes tunisiennes (Salammbô, Korbous, Kélibia, Iles Kerkennah, lagune El Bibane), seulement 4 sont signalées dans cet inventaire : *C. reniformis*, *P. ficiformis*, *I. fasciculata* et *S. spinosulus*. Sur les côtes italiennes, en collectant des échantillons dans 4 sites le long de la mer Ligurie, Bertolino *et al.* (2013) ont enregistré 133 taxons d'éponges parmi lesquelles 6 sont signalées dans cette étude : *C. reniformis*, *C. crambe*, *A. verrucosa*, *P. clavata*, *P. ficiformis* et *S. spinosulus*. D'une manière générale, la majorité des espèces recensées dans le présent travail sont considérées communes dans le bassin méditerranéen (Vacelet. 2016).

# **CHAPITRE II**

## **ELEMENTS TRACES METALLIQUES**

## 1. INTRODUCTION

Les enjeux environnementaux et sanitaires, liés aux polluants toxiques dans les milieux aquatiques sont actuellement au centre de nombreux débats de société et de prise de conscience dans une perspective de réduire la pollution toxique de l'eau (Sarker *et al.*, 2006). La situation est d'autant plus alarmante en milieu marin où l'ensemble des travaux scientifiques ont démontré l'existence de perturbations environnementales plus ou moins conséquentes, comme la dégradation des écosystèmes côtiers (Amara, 2011), l'augmentation de la température et du dioxyde carbone dans l'eau (Laubier, 2003), la tropicalisation (Golani *et al.*, 2007; PUEN-PAM-CAR/ASP, 2011; Pecarevi *et al.*, 2013), l'eutrophisation (PNUE, 1995; Anonyme, 2011), la contamination chimique associée souvent à des effets écotoxicologiques par les divers contaminants (Durrieu de Madron *et al.*, 2011).

Selon Bryan (1984), les estuaires et les milieux côtiers sont les plus exposés aux différents types de pollution, entre autres métallique, soit par des apports directs dus à l'industrialisation et l'urbanisation, souvent importantes dans ces zones, soit par des apports indirects via les rivières et l'atmosphère. En effet, la pollution métallique est l'une des formes de pollution anthropique les plus menaçantes en zone littorale. Les métaux lourds sont des micropolluants qui peuvent affecter la salubrité du milieu marin, puisqu'ils ne subissent aucune dégradation biologique ou chimique; de ce fait, ils peuvent s'accumuler dans les différents maillons des réseaux trophiques à des concentrations toxiques pour les organismes marins (Neathery & Miller, 1975). Ils peuvent donc poser de sérieux problèmes écologiques, tant par le caractère ubiquiste de leur présence au sein de la biosphère que par leur forte rémanence et leur toxicité élevée (Boyd, 2010). En raison de la solubilité des métaux lourds, l'analyse de l'eau de mer ne peut être considérée comme un moyen fiable pour estimer le degré de contamination métallique en milieu marin (Philips, 1977). Toutefois, l'étude de la bioaccumulation des métaux traces chez les organismes qui y sont exposés constitue un autre moyen plus efficace pour l'évaluation de la pollution métallique (Lagadic *et al.*, 1997).

Il y a une vingtaine d'années, quelques études sur la contamination du milieu marin ont été réalisées en utilisant les éponges comme modèle biologique. La nature sessile des éponges, leur répartition dans toutes les mers et pratiquement jusqu'à 5000 mètres de profondeur, ont incité les chercheurs à explorer la possibilité d'utiliser ces invertébrés comme bioindicateurs de la contamination chimique (Nakhl, 2003).

En 1985, Patel et ses collaborateurs proposent de lancer un programme "Sponge Watch" en complément au "Mussel Watch" déjà existant. Dans sa proposition Patel s'appuie sur

plusieurs arguments comme la capacité énorme des éponges à pomper l'eau. Cette capacité se situe entre 100 et 1200 ml/h.g (Vogel, 1977; Riisgard *et al.*, 1993). Ce large volume passant à travers le corps d'une éponge implique que la plupart des cellules sont en contact direct avec le milieu externe. Ce qui explique encore la capacité de plusieurs espèces d'éponges à accumuler les métaux traces (Bowen & Sutton, 1951).

En Algérie, la majorité des rejets sont situées le long du littoral, estimé à environ 1622 km. La quasi-totalité des activités socio-économiques est concentrée également sur la frange côtière. Elles sont liées aux grandes agglomérations urbaines et aux pôles industriels. Les multiples rejets qui découlent d'une telle concentration humaine et industrielle sur la côte, ont comme point de convergence le milieu marin, plus particulièrement les environnements côtiers, qui subissent ainsi des perturbations de plus en plus importantes. Les récents développements urbains, agricoles et industriels n'ont fait qu'augmenter et aggraver les phénomènes de pollution et d'eutrophisation marine. Les conséquences de cette situation commencent à apparaître avec acuité dans certaines régions côtières algériennes (Hadjadji *et al.*, 2014).

Le golfe d'Annaba, situé à l'extrême Est algérien, n'est pas épargné aujourd'hui à cette situation puisqu'il reçoit non seulement les apports continentaux provenant des oueds Seybouse et Boujemâa mais aussi les rejets urbains et industriels sans traitement préalable d'une ville fortement industrialisée et urbanisée.

Dans cette portion maritime, différents indicateurs biologiques ou bioindicateurs notamment les invertébrés (mollusques bivalves, gastéropodes, crustacés) (Belabed *et al.*, 2013; Boucetta *et al.*, 2016; Boujema *et al.*, 2016; Merad & Soltani, 2017) et certains téléostéens côtiers, comme le mullet *Mugil cephalus* (Ouali *et al.*, 2018) ont été utilisés pour la détermination de l'importance des apports anthropiques en métaux lourds dans ces écosystèmes aquatiques.

Ce chapitre traite l'évaluation de la contamination du golfe d'Annaba par quelques éléments traces métalliques (cuivre, zinc, plomb et cadmium) en utilisant comme matériel biologique les spongiaires, notamment l'espèce *S. spinosulus*.

## 2. MATERIEL & METHODES

### 2.1. Choix et localisation des stations d'échantillonnage

L'étude a été réalisée dans le golfe d'Annaba, une zone littorale, comprise entre le cap Rosa ( $8^{\circ}15' E - 36^{\circ}38' N$ ) à l'Est et le cap de Garde à l'Ouest ( $7^{\circ}16' E - 36^{\circ}68' N$ ). Ce secteur est considéré à vocation économique (activités industrielle, halieutique et tourisme).

La zone d'échantillonnage a été délimitée en fonction des paramètres suivants: accessibilité au site et disponibilité du matériel biologique (éponges). En fonction de la proximité des sources de pollution (domestique et industrielle), nous avons choisi deux stations, l'une située en zone périurbaine, du côté Ouest du port d'Annaba (station I: Alzon, position géographique :  $36^{\circ}54'57.54''N - 07^{\circ}46'13.29''E$ ) et l'autre éloignée de la pollution domestique et industrielle (station II : Cap de Garde, position géographique:  $38^{\circ}58'3.25''N - 07^{\circ}47'28.33''E$ ) (Fig. 24).



**Figure 24.** Localisation des stations d'échantillonnage (Google Earth modifié).

- **Station Alzon :** cette station est située en zone périurbaine, à proximité d'une forte agglomération, au voisinage du port de pêche d'Annaba (la grenouillère). Elle reçoit non seulement les eaux de ruissellement et quelques rejets urbains limitrophes, mais se trouve exposée à un trafic routier intense en plus du trafic maritime du fait de sa proximité du port d'Annaba (commercial et plaisance) (Fig. 25).



**Figure 25.** Lieu de prélèvement des échantillons d'éponge au niveau de la station Alzon (cliché Derbal, 2015).

- **Station Cap de Garde :** cette station est située à la limite Ouest du golfe et est éloignée de toutes actions anthropiques intenses. Seuls quelques baigneurs estivaux et plongeurs sous-marins fréquentent ce secteur côtier. Cette station a été supposée comme site de référence du fait de son éloignement des zones industrielles et urbanisées (Fig. 26).

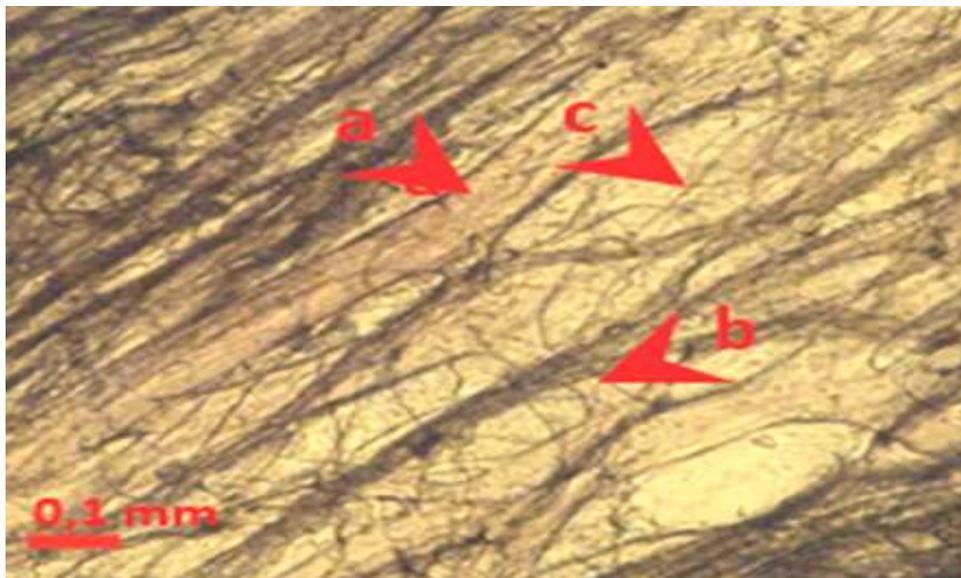


**Figure 26.** Lieu de prélèvement des échantillons d'éponge à la station Cap de Garde (cliché Derbal, 2015).

## 2.2. Matériel biologique: *Sarcotragus spinosulus*

La famille des Irciniidae est actuellement constituée de trois genres: *Ircinia*, *Sarcotragus* et *Psammocinia*. Les éponges de cette famille ont principalement été identifiées sur la base de caractères morphologiques avec plus ou moins de succès. Par ailleurs, les premières études phylogénétiques réalisées ont rapidement révélé leurs limitations. Au bilan, le statut de *Sarcotragus* est considéré comme incertain et les fines distinctions entre certaines espèces d'*Ircinia* font encore l'objet de discussions.

De façon générale, les éponges du genre *Sarcotragus* sont non recouvertes de sable. Leur squelette est constitué de fibres à moelle, d'une épaisseur de 90 à 180  $\mu\text{m}$ , dépourvues de corps étrangers quoique pouvant parfois contenir quelques débris de spicules étrangers. En 1862, Schmidt avait distingué le sous-genre *Sarcotragus* d'Adriatique, distinct des véritables *Ircinia* par la présence de filaments plus fins et plus nombreux (0,7 à 2  $\mu\text{m}$ ), puis il abandonna plus tard cette sous-division, mais Lendenfeld la conserve tout en divisant aussi les autres *Ircinia* en plusieurs autres sous-genres (Vacelet, 1959). Ces éponges possèdent une consistance tenace et compressible qui reflète la densité des filaments dans le mésohyle (Vacelet, 1959) (Fig. 27).



**Figure 27.** Morphologie de *Sarcotragus* (à gauche) avec détail des filaments microscopiques (à droite) caractérisant l'éponge du genre *Sarcotragus*. Coupe réalisée au niveau du mésohyle (x 5), a : fibre primaire, b : fibre secondaire, c: filaments (Vacelet, 1959).

Dans notre étude, nous avons utilisé comme matériel biologique l'éponge *S. spinosulus* (voir Fig. 22, Chapitre 1). Sa position systématique est celle proposée par Schmidt, 1862 :

Règne :	Animalia
Embranchement :	Porifera
Classe :	Demospongiae
Sous-classe :	Keratosa
Ordre :	Dictyoceratida
Famille :	Irciniidae
Genre :	<i>Sarcotragus</i>
Espèce :	<i>spinosulus</i> (Schmidt, 1862)

Cette espèce de forme massive et assez régulière, est souvent globuleuse avec une base un peu rétrécie. L'épiderme est très épais, présentant rarement des épaissements réticulés, parfois un peu ensablé. La couleur des deux premiers millimètres depuis sa surface varie du noir profond au gris et l'endoderme est blanchâtre ou rougeâtre lorsque ses filaments renferment des granules de lépidocrocite. Les oscules sont repartis de façon désordonnée, la surface est irrégulièrement conuleuse et les conules mesurent de 1 à 2 mm de haut. Le squelette se compose de fibres très nettement stratifiées, peu nombreuses, qui forment un réseau peu serré. Les fibres primaires, de 90 à 180  $\mu\text{m}$  de diamètre, sont fasciculées, ne comportent pas ou très peu de corps étrangers et sont pourvues d'une large moelle fibrillaire occupant le plus souvent plus de la moitié de la fibre. Cet important caractère avait pourtant échappé à Schmidt bien qu'il ait lui-même étiqueté les spécimens *S. spinosulus* qui avaient une moelle dans les fibres primaires (Vacelet, 1959). Les fibres secondaires, de 50 à 100  $\mu\text{m}$ , sont dépourvues de corps étrangers et de moelle, sauf parfois quelques points entre les strates. Enfin, les filaments sont très fins, de 0,7 à 2  $\mu\text{m}$  de diamètre, extrêmement long et serrés, et la consistance de l'éponge est ferme et extrêmement résistante. Lorsque les caractères extérieurs ne permettent pas de distinguer cette espèce, la faible épaisseur des filaments et la structure des fibres primaires permettent de la différencier très nettement des autres espèces (Vacelet, 1959).

### 2.3. Mesure des paramètres physico-chimiques de l'eau

Les mesures de la température, du pH et de la salinité ont été réalisées *in situ* à l'aide d'un multiparamètre de terrain HORIDA (U-5000 G) muni de plusieurs sondes préalablement

calibrées. Le suivi de ces paramètres dans les différentes stations d'échantillonnage s'est effectué saisonnièrement au même moment du prélèvement des éponges.

## 2.4. Collecte et traitement des échantillons

### 2.4.1. Méthode de prélèvement des éponges

Le choix de l'éponge *S. spinosulus* est justifié par sa présence dans les deux zones de prélèvement. Des échantillons, d'environ 3 cm d'épaisseur de tissus (du périphérique vers la base) et à raison de 6 individus par station, ont été prélevés en plongée libre entre 0 et 2 m au moyen d'une lame en acier inoxydable bien nettoyée (Fig. 28), durant quatre saisons (automne 2015/ hiver, printemps et été 2016) (Tab. 4). Les échantillons, une fois prélevés, ont été transportés au laboratoire dans des bidons remplis d'eau de mer. Arrivés au laboratoire, des fragments de 1g de chaque individu d'éponge sont pesés, numérotés, étiquetés et stockés à -25°C jusqu'au moment du dosage.



**Figure 28.** Méthode de prélèvement d'un échantillon de *Sarcotragus spinosulus* (cliché : Derbal, 2017).

**Tableau 3.** Planning saisonnier de l'échantillonnage de *Sarcotragus spinosulus* dans le golfe d'Annaba.

Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Echantillon 4
23/10 /2015	23/01/2016	17/04/2016	3/09/2016
Automne	Hiver	Printemps	Eté

### 2.4.2. Traitement et analyse chimique des éponges

Le dosage des métaux dans les organismes marins utilise couramment la méthode de SAA (spectrophotométrie d'absorption atomique). L'échantillon de l'éponge doit subir préalablement une minéralisation à chaud. Des fragments de 1 g ont été récupérés et séchés à l'étuve à 60°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Après refroidissement ces différents échantillons ont été minéralisés en présence de 4 ml d'acide nitrique (HNO<sub>3</sub>) supra pur (trempés pendant au moins 48 h). Le minéralisat a été ensuite filtré à l'aide de filtres Wattman N° 41 et ajusté à 18 ml d'eau distillée (Amiard *et al.*, 1987). Le produit obtenu a été ainsi conservé dans des flacons en verre hermétiquement fermés jusqu'à son analyse.

Nos analyses ont été effectuées en utilisant un spectrophotomètre de marque Shimadzu, type AA6500 assisté par micro-ordinateur. L'opération a été conduite sous une flamme air acétylène oxydante sous une longueur d'onde qui correspond à chaque métal dosé. L'appareil a été préalablement étalonné avant analyse en faisant passer des solutions étalons. Pour s'assurer de la linéarité de la courbe d'étalonnage, 10 étalons ont été préparés dans la gamme prévue par le constructeur. L'exploitation de cette courbe d'étalonnage tracée en portant l'absorbance en fonction de la concentration a été assurée par l'ordinateur. Cette exploitation a servi pour déterminer la concentration en chaque métal des échantillons à analyser.

Les analyses ont été réalisées au niveau du laboratoire de Génie de l'environnement, du Département de Génie des Procédés (Faculté de Technologie, Université de Béjaia). Les éléments quantifiés sont le cuivre, le zinc, le plomb et le cadmium.

### 2.5. Traitement statistique

Les résultats ont été exprimés en valeurs moyennes ( $\pm$  erreur standard). La comparaison des valeurs moyennes entre les deux stations (pour la même saison) et entre les saisons (pour la même station) s'est effectuée en utilisant le test t de Student. Les effets saisons et stations d'échantillonnage ont été testés par une analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA). Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel Minitab16 (version 1.1.0).

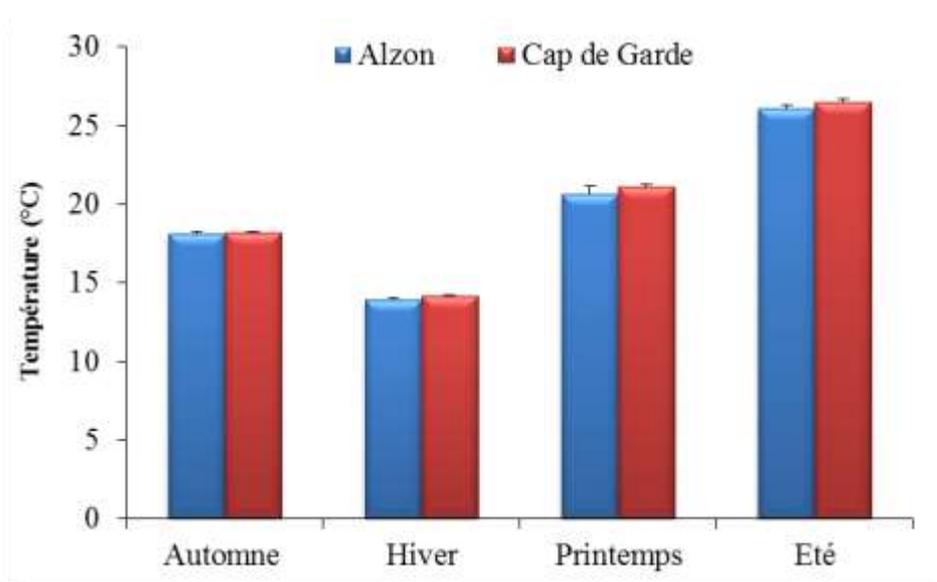
## 3. RESULTATS

### 3.1. Paramètres physicochimiques

Les résultats des variations saisonnières des paramètres physico-chimiques des eaux côtières prélevées au niveau des stations Alzon (S1) et Cap de Garde (S2) sont comme suit :

### 3.1.1. Température

Les relevés saisonniers de la température des eaux de surface des deux stations de prélèvement nous ont permis de noter des variations de manière similaire d'une station à l'autre et d'une saison à l'autre. Elle oscille entre 13,9 °C et 26,52 °C avec un minimum en hiver et un maximum en été (Fig. 29).



**Figure 29.** Evolution saisonnière de la température des eaux de surface dans les deux stations prospectées du golfe d'Annaba.

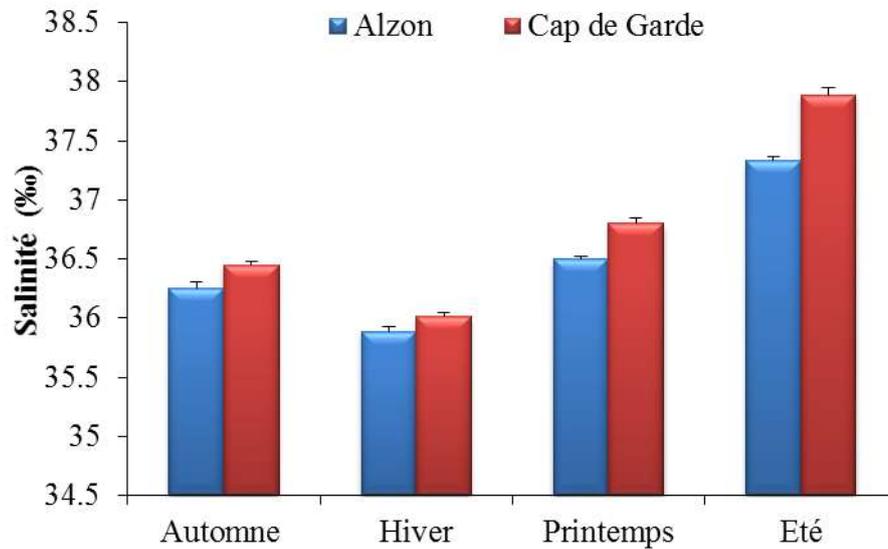
Les résultats de l'ANOVA à un critère de classification appliquée dans la comparaison des teneurs de la température des eaux des stations d'échantillonnage font apparaître l'existence de différences très hautement significatives entre les saisons et l'absence de différences significatives entre les stations (Tab. 5).

**Tableau 4.** Résultats de l'ANOVA à un facteur contrôlé des variations de la température des eaux du golfe d'Annaba dans les stations prospectées.

Paramètres	Saisons			Stations		
	F <sub>obs</sub>	P	Signification	F <sub>obs</sub>	P	Signification
Température	2396,10	0,000	***	0,04	0,846	NS

### 3.1.2. Salinité

Dans les deux stations, la salinité est relativement stable et varie entre 35,89 et 37,89 ‰ (Fig. 30).



**Figure 30.** Evolution saisonnière de la salinité des eaux de surface dans les deux stations prospectées du golfe d'Annaba.

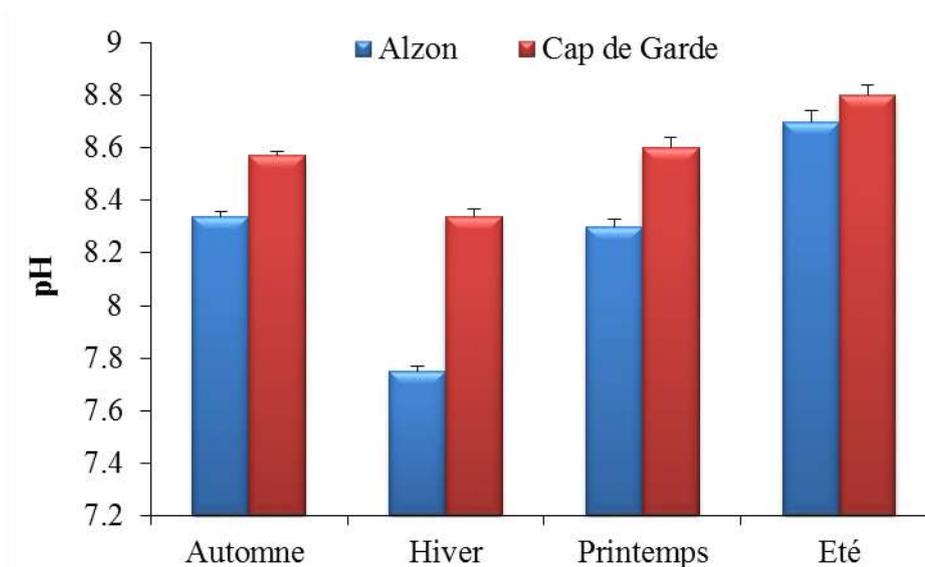
L'analyse de la variance à un critère de classification a montré une différence très hautement significative de la salinité entre les quatre saisons. Toutefois, aucune différence significative n'a été enregistrée entre les stations (Tab. 6).

**Tableau 5.** Résultats de l'ANOVA à un facteur contrôlé des variations de salinité des eaux du golfe d'Annaba dans les stations prospectées.

Paramètres	Saisons			Stations		
	F <sub>obs</sub>	P	Signification	F <sub>obs</sub>	P	Signification
Salinité	116,86	0,000	***	1,70	0,202	NS

### 3.1.3. Potentiel d'hydrogène

Les valeurs saisonnières du pH des eaux varient entre 7,75 et 8,8 avec un minimum observé en hiver et un maximum en été dans les deux stations prospectées (Fig. 31).



**Figure 31.** Evolution saisonnière du pH des eaux de surface dans les deux stations prospectées du golfe d'Annaba.

Les résultats de l'ANOVA à un critère de classification appliquée dans la comparaison des valeurs du pH des eaux de surface dans les stations prospectées ont révélé l'existence de différences très hautement significatives et hautement significatives respectivement entre les saisons et les stations (Tab. 7).

**Tableau 6.** Résultats de l'ANOVA à un facteur contrôlé des variations du pH des eaux du golfe d'Annaba dans les stations prospectées.

Paramètres	Saisons			Stations		
	F <sub>obs</sub>	P	Signification	F <sub>obs</sub>	P	Signification
pH	18,31	0,000	***	9,73	0,004	**

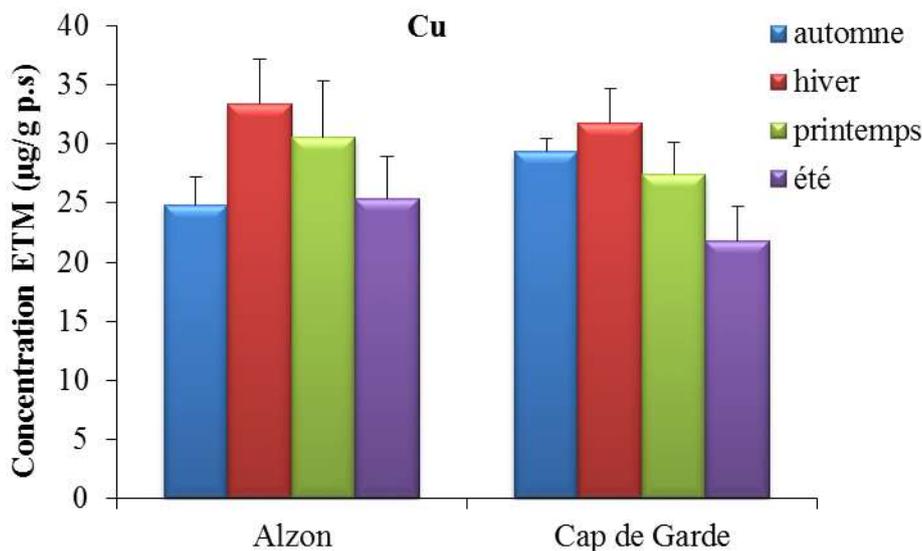
### 3.2. Variations saisonnières des ETM dans les tissus

Les résultats relatifs aux variations saisonnières (2015/2016) des concentrations des métaux précités obtenus à partir des échantillons traités sont comme suit :

#### 3.2.1. Cuivre (Cu)

Les tissus de *S. spinosulus* montrent des teneurs en cuivre comprises entre 21,81 et 33,36 µg/g de poids sec (p.s). Les teneurs rencontrées montrent des variations d'une saison à une autre. Nous relevons, par ailleurs, que dans l'ensemble des stations, c'est en hiver que les

teneurs en cuivre sont les plus élevées dans les tissus de l'éponge alors que les concentrations les plus faibles sont enregistrées en été (Fig. 32).



**Figure 32.** Variations spatio-temporelles des teneurs en cuivre (Cu) dans les tissus de *Sarcotragus spinosulus* échantillonné dans le golfe d'Annaba.

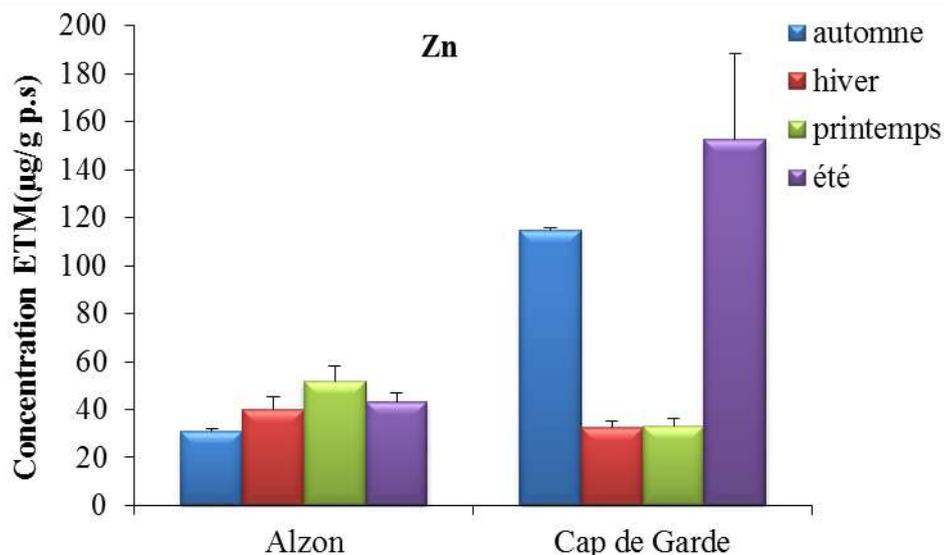
L'analyse statistique met en évidence l'existence d'une différence très hautement significative des teneurs en cuivre contenues dans les tissus de *S. spinosulus*, d'une saison à une autre mais l'absence de différence significative entre les stations (Tab. 8).

**Tableau 7.** Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des ETM (Cu) analysés dans les tissus de *S. spinosulus* du golfe d'Annaba.

	F <sub>obs</sub>	P	Signification
Stations	0,43	0,502	NS
Saisons	13,90	0,000	***

### 3.2.2. Zinc (Zn)

Le zinc est présent dans les tissus à des teneurs comprises entre 30 et 52 µg/g de ps. A l'exception de la station 2 (Cap de Garde) où deux pics de 114,7 µg/g de ps et 152,76 µg/g de ps sont notés respectivement en période automnale et estivale. Contrairement, c'est en hiver et au printemps que les teneurs les plus élevées sont relevées à la station 1 (Fig. 33).



**Figure 33.** Variations spatio-temporelles des teneurs en zinc (Zinc) dans les tissus de *Sarcotragus spinosulus* échantillonné dans le golfe d'Annaba.

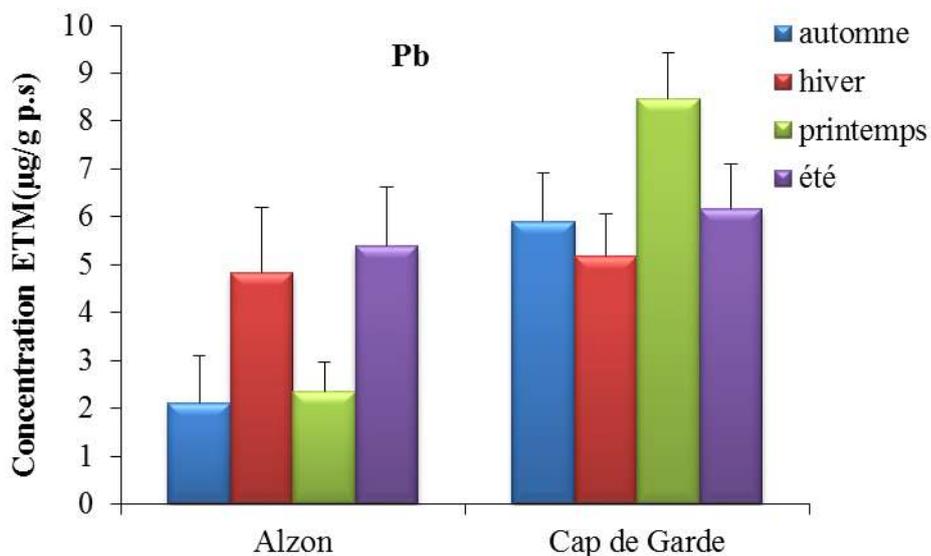
L'analyse de la variance à un critère de classification (AV1) fait apparaître que les teneurs en zinc contenues dans les tissus de l'éponge *S. spinosulus*, diffèrent de manière très hautement significative d'une saison à une autre et d'une station à l'autre (Tab. 9).

**Tableau 8.** Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des ETM (Zn) analysés dans les tissus de *Sarcotragus spinosulus* du golfe d'Annaba.

	$F_{obs}$	P	Signification
Stations	12,83	0,000	***
Saisons	6,48	0,001	***

### 3.2.3. Plomb (Pb)

Le plomb est présent dans les tissus à des teneurs variant de 2 à 8,5 µg/g de ps. Les valeurs les plus élevées sont enregistrées à la station 2 (Cap de Garde) avec un pic printanier supérieur à 8 µg/g de ps et les plus basses à la station 1 (Alzon) au printemps et en automne avec des concentrations moyennes approximatives à 2 µg/g de ps. Toujours dans cette dernière station, un pic supérieur à 5 µg/g de ps est enregistré en période estivale (Fig. 34).



**Figure 34.** Variations spatio-temporelles des teneurs en plomb (Pb) dans les tissus de *Sarcotragus spinosulus* échantillonné dans le golfe d'Annaba.

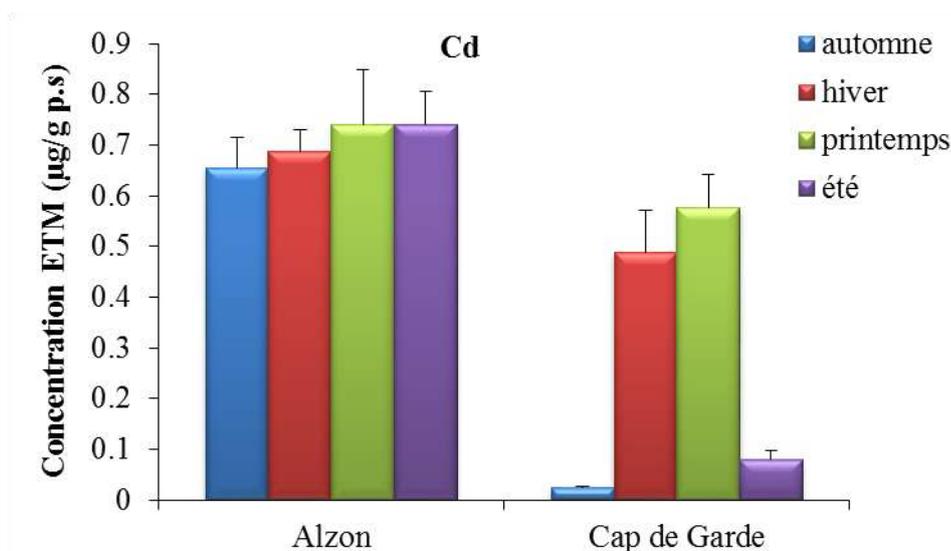
La comparaison statistique (ANOVA) des teneurs en plomb rencontrées dans les tissus de *S. spinosulus* font apparaître l'existence de différences très hautement significatives entre les saisons et les stations (Tab. 10).

**Tableau 9.** Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des ETM (Pb) analysés dans les tissus de *S. spinosulus* du golfe d'Annaba.

	$F_{obs}$	P	Signification
Stations	34,12	0,000	***
Saisons	1,58	0,208	NS

### 3.2.4. Cadmium (Cd)

Les teneurs en cadmium présentes dans les tissus de l'éponge varient de 0,02 µg/g à 0,74 µg/g de ps. Les teneurs maximales sont notées au printemps et en été et dans une moindre mesure en hiver et en automne à la station 1 (Alzon). Les valeurs minimales sont enregistrées en été et en automne à la station 2 (Cap de Garde). C'est en période hivernale et printanière que nous relevons deux pics proches de 0,60 µg/g de ps dans cette dernière station (Fig. 35).



**Figure 35.** Variations spatio-temporelles des teneurs en cadmium (Cd) dans les tissus de *Sarcotragus spinosulus* échantillonné dans le golfe d'Annaba.

Les résultats de l'AV1 font apparaitre que les teneurs en cadmium dans les tissus de *S. spinosulus* diffèrent de manière hautement significative entre les saisons et les stations (Tab. 11).

**Tableau 10.** Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des de ETM (Cd) analysés dans les tissus de *Sarcotragus spinosulus* échantillonné dans le golfe d'Annaba.

	$F_{obs}$	P	Signification
Stations	58,21	0,000	***
Saisons	4,11	0,01	**

#### 4. DISCUSSION

Les analyses physico-chimiques des eaux du golfe d'Annaba montrent que la température moyenne est de 26,52°C avec l'existence de deux périodes bien distinctes : l'une chaude (printemps – été) avec une moyenne de 23,59 °C et l'autre froide (automne – hiver) avec une moyenne de 16,1 °C. Des résultats similaires ont été rapportés dans la même zone d'étude par de nombreux auteurs qui signalent des fluctuations thermiques saisonnières dans l'ensemble du golfe (Boutabia-Trea, 2016; Bouzenda *et al.*, 2017; Amri, 2018; Ayada *et al.*, 2018; Ouali *et al.*, 2018). Sur le littoral oranais, Rouane (2013) a enregistré des oscillations thermiques comprises entre 16,33°C (hiver) et 30,67°C (été), alors qu'à Mostaganem, la

température des eaux varie entre 12 et 30°C (Remili & Kerfouf, 2013). Ce paramètre déterminant revêt une importance capitale dans l'activité métabolique des organismes marins (Warren & Davis, 1967) ou indirectement en modifiant les facteurs écologiques du milieu et par conséquent leur répartition biogéographique (Rodier, 1984).

La salinité conditionne la répartition et la dynamique des espèces (Miller *et al.*, 2010). Elle détermine en grande partie les processus biologiques, mais également les processus chimiques de l'eau comme elle influence la biodisponibilité des métaux (Mouneyrac *et al.*, 2009). Dans le cadre de notre étude, le suivi spatio-temporel de la salinité montre que les teneurs en sels présentent des similitudes saisonnières entre les stations prospectées qui seraient en relation directe avec les variations climatiques de la région. C'est dans la période sèche et chaude englobant la saison estivale que le pic halin est enregistré en raison de l'action combinée des températures élevées qui causent une forte évaporation et diminution des précipitations. Des constations similaires ont été rapportées par Bouzenda *et al.*, (2017), mais avec des extrêmes plus élevés (39,70 et 39,90 psu). Les teneurs saisonnières minimales enregistrées en période hivernale semblent être due aux phénomènes de dilution suite à l'intrusion d'eau douce. Ces résultats sont globalement en accord avec les travaux antérieurs réalisés dans le golfe d'Annaba, où la salinité varie entre 35 et 38 psu (Beldi, 2007; Frehi *et al.*, 2007; Sifi, 2009; Hamdani, 2012; Ayada *et al.*, 2018). Par ailleurs, sur le littoral oranais, des fluctuations halines qui varient entre 36,17 - 37,67 psu ont été enregistrées (Rouane, 2013; Remili & Kerfouf, 2013).

La variabilité du pH conditionne un grand nombre d'équilibres physico-chimiques et dépend de facteurs multiples. Ce paramètre résume la stabilité de l'équilibre établi entre les différentes formes de l'acide carbonique et il est lié au système tampon développé par les carbonates et les bicarbonates (Bermond & Vuichard, 1973). La variabilité de ce facteur causée essentiellement par les rejets industriels ou les apports d'eaux de ruissellement est un indice de pollution de l'eau (Reggam *et al.*, 2017). Le pH de l'eau peut influencer de nombreux processus chimiques ou biologiques en régulant d'une part les concentrations ou la spéciation d'espèces mineures, d'autre part les réactions enzymatiques sont très sensibles aux variations de ce facteur (Hinga, 2002). Dans notre zone d'étude, le pH est alcalin et présente des fluctuations spatio-temporelles. Cette alcalinité et ces variations seraient en relation avec des processus naturels comme la floraison phytoplanktonique consommatrice du CO<sub>2</sub>, la minéralisation de la matière organique productrice du CO<sub>2</sub>, du mélange avec les eaux douces, l'accumulation de la matière organique d'origine continentale et la contamination par des

rejets urbains ou industriels (Aminot & Keroual, 2004). Selon Barnabé (1991), les eaux côtières méditerranéennes sont alcalines avec un pH qui oscille entre 7,9 et 8,3, des valeurs proches à celles signalées dans de travaux antérieurs réalisés dans le golfe d'Annaba (Khati, 2009; Kerdoussi, 2010; Meghlaoui, 2015; Boucetta, 2016; Boutabia-Trea, 2016; Ouali *et al.*, 2018) et de Skikda (Bouhayene, 2015) ainsi que le long du littoral occidental algérien (Remili & Kerfouf, 2013; Rouane-Hacene, 2015). Cette forte alcalinité des eaux côtières favorise la disponibilité des métaux (Onivogui *et al.*, 2013).

La comparaison des paramètres physico-chimiques précités avec d'autres travaux antérieurs réalisés dans le même site d'étude est rapportée dans le tableau 12.

**Tableau 11.** Comparaison des variations physico-chimiques dans le golfe d'Annaba.

Sites	T (°C)	S (%)	pH	Références
	14 - 28	37 - 39	7,6 - 8,8	Kadri <i>et al.</i> , (2015)
	10,09 - 29	36 - 37	7,67 - 7,8	Hidouci (2015)
	12 - 29	34 - 38	7,5 - 8,5	Boutabia-Trea (2016)
Golfe d'Annaba	12,1 - 28,8	26,6 - 39,9	-	Bouzenda <i>et al.</i> , (2017)
	13,9 - 29,43	24 - 36,27	8,03 - 9,36	Amri (2018)
	13,03 - 25,62	35,46 - 36,7	7,27 - 8,14	Ouali (2018)
	14,5 - 30	35 - 37,5	-	Ayada <i>et al.</i> , (2018)
	<b>14,05 - 26,31</b>	<b>35,95 - 37,61</b>	<b>8,04 - 8,75</b>	<b>Présente étude</b>

Comme de nombreux modèles biologiques invertébrés (bivalves, échinodermes, annélides, etc...), les spongiaires, sont considérés comme des espèces indicatrices de la pollution des eaux littorales. D'ailleurs, ils sont utilisés en Méditerranée pour mesurer le niveau ou le degré de perturbation anthropogénique (Cunha *et al.*, 2007).

Sur les côtes Est algériennes, les variations de bioconcentration du cuivre, du zinc, du plomb et du cadmium chez l'éponge *S. spinosulus* ont été étudiées distinctement dans deux stations ouvertes du golfe d'Annaba durant quatre saisons (automne 2015 / hiver, printemps, été 2016).

La teneur en zinc dans les tissus de *S. spinosulus* s'est avérée plus élevée comparée aux autres métaux analysés suivi par le cuivre, le plomb et enfin le cadmium (Zn > Cu > Pb > Cd)

dans les deux stations d'étude quelque soit la saison rendant ainsi cette espèce intéressante vis-à-vis des perturbations environnementales en accumulant avec des proportions variables un certain nombre d'éléments traces en suspension ou dissout (Perez *et al.*, 2000). La forte concentration de zinc pourrait être associée à l'activité enzymatique chez les invertébrés aquatiques (Boucetta *et al.*, 2010; Belhaouari *et al.*, 2011), tandis que les faibles concentrations en cadmium pourraient correspondre à une régulation du métal lorsqu'il atteint une certaine concentration dans le cytosol (Basuyaux *et al.*, 2013).

Cette étude réalisée dans le golfe d'Annaba nous a permis de mettre en évidence des variations spatiales des concentrations de la majorité des éléments traces dosés dans les tissus de *S. spinosulus* excepté le cuivre qui ne présente aucune différence significative entre les deux stations. En effet, les plus faibles concentrations sont enregistrées dans la station 1 pour le zinc et le plomb et dans la station 2 pour le cuivre et le cadmium. Par ailleurs, les taux les plus élevés en cuivre et cadmium ont été enregistrés dans la station 1, contrairement au plomb et au zinc où les taux les plus élevés ont été retrouvés dans la station 2. Les variations environnementales environnantes liées à l'influence spatiale (Blakmore & Wang, 2003) et/ou saisonnière (Regoli, 1998) peuvent influencer et favoriser l'accumulation des métaux lourds. La contamination métallique des tissus du modèle biologique utilisé serait principalement attribuée aux sources de pollution locales et aux conditions environnementales de la zone d'étude. Effectivement, la station 1 (Alzon) serait plus exposée aux nuisances métalliques émanant du port d'Annaba et de l'oued Seybouse, que la station 2 (Cap de Garde) qui est plus distante de la première station (7 km à vol d'oiseau). Avec un bassin versant de 6471 km<sup>2</sup> et un débit moyen de 11,5 m<sup>3</sup>/s, l'oued Seybouse est l'un des plus grands bassins hydrographiques d'Algérie qui déverse directement ses eaux polluées dans le golfe d'Annaba, sans traitement préalable (Abdenmour *et al.*, 2011; Belabed *et al.*, 2013; Bouchelaghem, 2017).

Le Cap de Garde, considéré comme une station eutrophe et épargnée des actions anthropiques (Frehi *et al.*, 2007), est un secteur qui a été proposé en tant qu'aire spécialement protégée d'importance méditerranéenne (ASPIM) (Derbal & Amarouyache, 2015). Pourtant, cette portion maritime présente de fortes concentrations en zinc et en plomb, ce qui pourrait être en relation avec le tourisme de masse qui s'est développé au voisinage de cette zone (trafic routier et maritime intense) et à la présence du zinc naturellement présent dans l'écorce terrestre, souvent associé au plomb (Casas, 2005).

Des constatations similaires de la variation spatiale pour le plomb, le cuivre et le cadmium ont été rapportées chez d'autres populations méditerranéennes (Espagne, Liban, Marseille et Grèce) par Abed (2011) (Tab. 13). Les résultats obtenus sur l'éponge *S. spinosulus* sont proches de ceux trouvés aussi chez d'autres espèces macrozoobenthiques du golfe d'Annaba, comme c'est le cas du gastéropode *Phorcus turbinatus* (Boucetta *et al.*, 2016) et de la moule *Perna perna* (Belabed *et al.*, 2013).

**Tableau 12.** Concentrations des ETM dans les tissus de *S. spinosulus* dans différentes régions de la Méditerranée.

Régions	Concentration ( $\mu\text{g/g p.s}$ )		
	Cu	Pb	Cd
Gr 1-21, 2008	39,47	0,79	0,28
Gr 2-03, 2008	36,50	0,24	0,22
Ce2-01, 2006	20,09	0,98	0,40
Lb8-01, 2009	40,53	3,82	0,54
Ma8-12,2006	67,29	146,17	1,57
Présente étude St 1	24,82 – 33,36	2,11 – 5,99	0,65 – 0,74
Présente étude St 2	21,81 – 31,77	5,17 – 8,47	0,02 – 0,57

Ce : Ceuta, Gr. Grèce, Lb : Liban, Ma : Marseille, St1 : Alzon, St2 : Cap de Garde

La pollution métallique dans le golfe d'Annaba est signalée aussi bien dans le sédiment que dans l'eau (Ouali *et al.*, 2008; Belabed *et al.*, 2013; Boutabia, 2016; Ouali *et al.*, 2018). Cette portion maritime de l'Est algérien est l'un des plus importants centres touristiques et économiques algériens et de la côte nord-africaine. Les pollutions liées à une activité économique en plein essor menacent les ressources aquatiques exploitables de la région qui devient le réceptacle de tous les résidus toxiques produits par différentes unités industrielles limitrophes (Ouali *et al.*, 2008; Belabed *et al.*, 2013; Belabed *et al.*, 2017).

Le dosage des quatre métaux dans les tissus de *S. spinosulus* révèlent des variations saisonnières très hautement significatives. Malgré les variations sensibles entre les stations, les concentrations des éléments traces étudiés étaient plus élevées en hiver et au printemps, à l'exception du zinc où un pic estival est enregistré au cap de Garde et qui aurait un lien avec la courantologie et l'hydrodynamisme provenant du golfe de Skikda (contient deux ports : port de Collo et port de Skikda) par l'Ouest et qui est soumis aux rejets des eaux usées et de ballast et à une pression anthropique importante et trafic maritime du port de Collo (Bouhayene, 2015).

L'enrichissement en métaux traces au cours de la saison froide et pluvieuse aurait pour principale origine l'importance des charges polluantes métalliques dans les eaux de ruissellement des premières crues. Sur les côtes algériennes, le caractère saisonnier de bioaccumulation des métaux lourds a été observé aussi chez diverses espèces de mollusques bivalves et gastéropodes (Belabed *et al.*, 2013; Boucetta *et al.*, 2016; Boujema *et al.*, 2016; Merad & Soltani, 2017). Les variations saisonnières peuvent être causées par la combinaison de plusieurs facteurs biotiques (poids, croissance, reproduction) et abiotiques mais aussi par d'autres facteurs indépendants tels que la biodisponibilité des métaux (Fattorini *et al.*, 2008; Benguedda-Rahal, 2012; Tessier, 2012; Diop, 2014a,b; Diop *et al.*, 2015). Parmi les facteurs abiotiques, la température, la salinité, l'oxygène dissous et le pH du milieu jouent un rôle essentiel puisqu'ils influent à la fois sur la forme physico-chimique des métaux (état de valence, adsorption-désorption sur les matières en suspension) donc sur leur biodisponibilité, mais également sur le métabolisme des espèces (osmorégulation, respiration, reproduction) dont dépendent en partie les cinétiques d'accumulation et d'excrétion des métaux (Coimbra *et al.*, 1990; Grant, 1996; Tessier, 2012; Diop, 2014a; Diop *et al.*, 2015). Ces facteurs environnementaux sont spécifiques à un site et varient dans le temps (Karayüce *et al.*, 2000; Wong & Cheung, 2001; Wang & Wong, 2003; Pan & Wang, 2004; Nesto, 2007).

Dans le bassin méditerranéen, une étude menée par Perez *et al.* (2004) sur plusieurs espèces d'éponges (*Spongia agaricina*, *Spongia officinalis*, *Chondrosia reniformis*, *Cacospongia scalaris*, *Cliona viridis*, *Agelas oroides*) a montré que les concentrations en métaux enregistrées, dans une perspective d'identifier les espèces méditerranéennes potentiellement bioindicatrices, présentaient une grande variabilité interspécifique et inter-individuelle, probablement en raison de leurs différences physiologiques et squelettiques (Tab. 14). La diversité morphologique du système aquifère des spongiaires peut être liée à leur capacité à filtrer une large gamme de particules et de leur activité de pompage influençant les volumes d'eau qui traversent sa masse corporelle (Reiswing, 1975) et indirectement l'accumulation des divers polluants. Si les éponges *C. scalaris* et *S. officinalis* accumulent fortement le cuivre, les espèces *C. viridis* et *C. reniformis* en accumulent moins (Perez *et al.*, 2004), probablement en raison des faibles volumes des chambres chaonocytaires qui empêcheraient la rétention de cet élément métallique (Cebrian *et al.*, 2007). Une forte capacité d'accumulation du plomb a été observée aussi chez *S. spinosulus* et *Ircinia oros* des côtes grecques (Abed, 2011) et le long des côtes bretonnes (France) où de fortes concentrations de plomb ont été particulièrement accumulées chez *Hymeniacidon perlevis* et *Raspailia ramosa*

(Gentric *et al.*, 2016). Le long des côtes libanaises, Nakhle (2003) signale chez *Hypospongia communis* des taux d'accumulation de cadmium et de plomb largement inférieurs de ceux enregistrés chez *Ircinia variabilis* (Abed, 2011), ce qui suppose l'existence d'une stratégie dans l'accumulation et la sélectivité de certains éléments traces. La structure et la composition biologique de l'éponge sont probablement les principaux facteurs en relation avec sa capacité à conserver ou à éliminer les métaux. La structure du squelette dont la taille varie considérablement dans les éponges est en mesure de concentrer les métaux différemment du tissu vivant (Verdenal & Vacelet, 1990).

**Tableau 13.** Concentrations métalliques en poids sec ( $\mu\text{g/g}$  p.s) dosées dans les tissus de différentes espèces d'éponges colonisant différentes régions méditerranéennes.

Espèces	Régions et auteurs	Concentrations métalliques			
		Cu	Zn	Pb	Cd
<i>Agelas oroides</i>		23,25	59,3	4,4	1,4
<i>Cacospongia scalaris</i>		151,6	49,7	1,1	0,3
<i>Chondrosia reniformis</i>	Marseille (Perez, 2004)	10,8	73,8	0,4	0,5
<i>Cliona viridis</i>		10,2	3734,7	13,7	58,1
<i>Spongia officinalis</i>		63,7	68	10,5	0,3
<i>Spongia agaricina</i>		44,6	6857,5.	6,9	0,2
<i>Hypospongia communis</i>	Liban (Nakhl, 2003)	-	-	0,0284	0,0016
<i>Ircinia variabilis</i>	Espagne (Abed, 2011)	10,07	-	5,81	0,62
<i>Ircinia variabilis</i>	Grèce (Abed, 2011)	25,79	-	1,41	0,46
<i>Ircinia variabilis</i>	Liban (Abed, 2011)	21,65	-	1,42	0,74
<i>Ircinia variabilis</i>	Marseille (Abed, 2011)	32,74	-	10,37	0,31
<i>Ircinia oros</i>	Espagne (Abed, 2011)	38,64	-	14,13	0,41
<i>Ircinia oros</i>	Grèce (Abed, 2011)	47,31	-	2,67	0,46
<i>Ircinia oros</i>	Marseille (Abed, 2011)	80,93	-	187,18	1,98

# **CHAPITRE III : BIOMARQUEURS DE STRESS OXYDANT**

## 1. INTRODUCTION

Les régions très productives telles que les estuaires et les zones côtières sont parmi les écosystèmes les plus largement modifiés et menacés, principalement en raison du développement urbain, de l'industrialisation et du tourisme (Clark 2001; Walker *et al.*, 2001). En conséquence, des mélanges complexes de contaminants sont continuellement libérés dans ces écosystèmes, ce qui réduit la qualité de l'eau et impose de sévères restrictions sur les organismes. Cette situation peut conduire à une diminution des ressources naturelles (Cajaraville *et al.*, 2000; Monserrat *et al.*, 2007; Cravo *et al.*, 2009). Parmi ces zones anthropisées, nous citerons le cas du golfe d'Annaba, situé à l'extrême est de l'Algérie, qui est constamment perturbé en raison de sa proximité avec les activités portuaires, les rejets urbains et industriels et les activités agricoles actives limitrophes.

Ces dernières années, un certain nombre de biomarqueurs ont été introduits dans des programmes de biosurveillance environnementale pour l'évaluation du stress causé par la pollution, en particulier chez les organismes aquatiques (Müller *et al.*, 2000). Ces biomarqueurs comprennent (i) des biomarqueurs d'exposition, qui sont (uniquement) indicatifs d'une exposition à un stress environnemental, et (ii) des biomarqueurs d'effet, qui sont indicatifs à la fois de l'exposition et de l'apparition d'effets nocifs (Sanders, 1990). L'objectif des programmes basés sur les biomarqueurs est la mise en place de systèmes d'alerte précoce permettant de détecter les stress environnementaux avant que des dommages irréversibles ne se produisent.

Les contaminants apparaissent habituellement dans l'environnement sous la forme de mélanges complexes qui peuvent causer des effets interactifs sur le biote impossible à évaluer par des analyses chimiques uniquement. En ce sens, les biomarqueurs offrent une évaluation intégrée des niveaux d'exposition et des effets des polluants sur la faune. Plusieurs biomarqueurs sont plus spécifiques pour certains types de xénobiotiques et, par conséquent, l'utilisation d'une batterie de biomarqueurs accompagnée d'analyses chimiques a été fortement recommandée pour être incluse dans les programmes de surveillance (OSPAR, 2000; ICES, 2008). Trois biomarqueurs ont été sélectionnés dans cette étude, (i) le glutathion (GSH), tripeptide, est capable d'inactiver de manière directe les espèces radicalaires en les neutralisant, la (ii) glutathion S-transférase (GST) est une enzyme de phase II impliquée dans la détoxification des xénobiotiques organiques (Habig *et al.*, 1974, Lee *et al.*, 1988), et, (iii) le Malondialdéhyde (MDA) qui est un agent alkylant puissant et son dosage présente un intérêt chez les animaux soumis à des contaminations multiples (Pellerin-Massicotte, 1994).

Ce n'est qu'au cours des dernières vingtaines d'années que les éponges ont été utilisées comme bioindicatrices pour l'évaluation des risques environnementaux. Elles ont été utilisées pour répondre aux facteurs de stress environnementaux d'une manière très sensible (Muller *et al.*, 2000). Les éponges sont des organismes filtreurs, capables de filtrer chaque jour un volume d'eau correspondant à plusieurs fois leur propre volume corporel (Vogel, 1977). En raison de cette propriété, elles accumulent des polluants dissous ou en suspension présents dans l'eau environnante, comme les bivalves et d'autres invertébrés. Par conséquent, ces animaux sont exposés à des substances nocives plus que d'autres organismes vivant dans des habitats aqueux (Verdenal *et al.*, 1990).

Compte tenu de leur mode de vie, ces organismes sont des candidats naturels pour une participation à l'élaboration de grilles de qualité. Plusieurs études ont déjà montré le potentiel de certains représentants de ce phylum à accumuler divers xénobiotiques ou à exprimer des réponses biologiques à une perturbation anthropique. Contrairement à celle des métazoaires supérieurs, la différenciation tissulaire des spongiaires est peu élaborée. Ces organismes ne présentent ni organes ni vrais tissus. De ce fait, l'accumulation de xénobiotiques et les réponses biologiques que leur toxicité génère doivent être mesurables de la même manière dans l'ensemble du corps de l'animal. Enfin, leur organisation très simple et leur capacité de régénération après bouturage en font des organismes particulièrement appropriés pour les expérimentations en aquarium ou *in situ* (Abed, 2011).

De nombreux travaux ont concerné les réponses de ces organismes à l'accumulation métallique dans leur milieu, mais, très peu ont traité les variations des biomarqueurs comme outil biologique dans l'évaluation de la qualité du milieu. Dans ce contexte de biosurveillance de la qualité des eaux du golfe d'Annaba, nous nous sommes intéressés au système antioxydant impliquant le glutathion et les enzymes associées à son métabolisme (activités glutathion-S-transférases) dans les tissus de *S. spinosulus* au niveau de deux sites dans une perspective de validation du protocole expérimental, comme c'est le cas chez nombreux organismes invertébrés marins.

## **2. MATERIEL & METHODES**

### **2.1. Choix et localisation des stations d'échantillonnage**

La description du site et la localisation des stations d'échantillonnages ont été déjà décrites précédemment (chapitre. 2 : 2.1). L'échantillonnage a été effectué à la même période que celle des paramètres physico-chimiques à raison d'un prélèvement par saison.

## 2.2. Matériel biologique

Le matériel biologique a déjà été décrit précédemment (chapitre 2 : 2.2).

## 2.3. Collecte et traitement des échantillons

La récolte et le traitement des échantillons ont été déjà décrits précédemment (chapitre 2 : 2.4 ; 2.4.1). Toutes les manipulations de dosage des différents biomarqueurs lors du broyage des tissus de l'éponge ont été réalisées dans de la glace.

## 2.4. Préparation de l'homogénat

Un gramme des tissus d'éponge *S. spinosulus* a été utilisé. Après broyage à l'aide d'un broyeur à ultrasons puis homogénéisation des tissus dans le tampon phosphate (pH = 7,4 ; 0,1 M), la suspension cellulaire a été centrifugée (14000 tours/min à 4 °C pendant 30 min). Le surnageant obtenu est ensuite aliquoté dans des tubes eppendorfs et conservé immédiatement à -20 °C pour un ultérieur dosage des paramètres du stress oxydatif.

Le tampon phosphate a été préparé comme suit :

- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  à 0,1 M ;  $M = 136,09 \text{ g/mol} \rightarrow 6,8 \text{ g} + 500 \text{ ml d'eau} \rightarrow \text{pH} = 4,32$
- $\text{K}_2\text{HPO}_4, 3\text{H}_2\text{O}$  à 0,1 M ;  $M = 228,22 \text{ g/mol} \rightarrow 11,4 \text{ g} + 500 \text{ ml d'eau} \rightarrow \text{pH} = 9,06$
- 125 de  $\text{K}_2\text{HPO}_4 + 25 \text{ ml de } \text{KH}_2\text{PO}_4$  pour obtenir un pH 7,4.

## 2.5. Dosage des protéines

Les mesures des protéines totales ont été effectuées par la méthode classique de Bradford (1976), en ajoutant à 100  $\mu\text{l}$  de fraction aliquote un volume de 4 ml de réactif du bleu brillant de comassie (BBC), avant le dosage du GSH et de l'activité GST car les résultats obtenus de ce dosage seront exprimés de manière spécifique par milligramme de protéines.

La méthode de dosage des protéines combine plusieurs avantages :

- Elle est rapide car sans incubation ;
- Sa gamme de sensibilité est inférieure d'un ordre de grandeur à la concentration des protéines que nous testons, et donc les mesures sont précises car il est inutile de diluer fortement les échantillons avant de les mesurer.

Le principe de cette méthode colorimétrique repose sur l'utilisation d'un colorant, le bleu de Coomassie qui, initialement rouge, vire au bleu quand il se lie aux protéines. La

couleur bleue résulte de l'interaction des groupements anioniques du colorant avec les groupements aminés des protéines. Le complexe formé est stable pendant environ une heure.

Les protéines ont été quantifiées en utilisant le Bleu Brillant de Coomassie, (G 250, Merck) comme réactif (50 mg de bleu brillant de coomassie, 25 ml d'éthanol, 50 ml d'acide orthophosphorique 85% et complété à 500 ml avec de l'eau distillée) et l'albumine sérum de boeuf (BSA, Sigma) comme protéine standard. Les absorbances ont été lues au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. Les concentrations ont été calculées à l'aide d'une gamme d'étalonnage qui a été effectuée à partir d'une solution d'albumine à 1 mg/ml..

## 2.6. Mesure des biomarqueurs

### 2.6.1. Dosage du glutathion (GSH)

L'estimation des concentrations du glutathion réduit est réalisée selon la méthode de Weckbeker & Cory (1988). Le principe de cette dernière repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique qui résulte de la réduction de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Afin de garder uniquement les groupements thiol (-SH) spécifique du glutathion, on doit réaliser une déprotéinisation de l'homogénat par l'acide sulfosalicylique (ASS) dilué à 0,25% (0,252 g d'acide sulfosalicylique + 100 ml d'eau distillé).

La déprotéinisation de l'homogénat se fait comme suit :

→ 0,8 ml de l'homogénat auquel est ajouté 0,2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0,25%.

→ Le mélange est vortexé et incubé pendant 15 min dans un bain de glace puis centrifuger à 1000 tours pendant 5 min.

→ 0,5 ml de surnageant est récupéré et auquel est additionné 1 ml de tampon Tris EDTA à 0,02 M ; pH = 9,6 et 0,025 ml de DTNB à 0,01 M dissout dans le méthanol absolu.

→ Laisser pendant 5 min à température ambiante puis lire directement sur le spectrophotomètre les absorbances, contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec 0,5 ml d'eau distillée remplaçant le surnageant à une longueur d'onde  $\lambda = 412$  nm.

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GSH } (\mu\text{mol GSH / mg de protéines}) = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13,1 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg de protéines}}$$

- DO : Densité optique.
- 1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,8 ml homogénat + 0,2 ml de l'acide salicylique).
- 1,525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0,5 ml surnageant+1ml Tris-EDTA + 0,025 ml DTNB).
- 13,1 : Coefficient d'absorbance du groupement –SH à 412 nm.
- 0,8 et 0,5 : Volumes respectifs de l'homogénat et du surnageant.

A noter que la préparation des solutions tampons est comme suit :

- Tampon Tris-EDTA : 19,382 g de Tris (C<sub>4</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>) + 2,976 g d'EDTA + 400 ml d'eau distillée.
- Solution DTNB 0,01 M : 0,0594 g de DTNB + 15 ml de méthanol absolu.

### 2.6.2. Dosage du glutathion-S-transférase (GST)

L'activité de la glutathion-S-transférase (GST) est mesurée selon la méthode de Habig *et al.* (1974) en suivant la formation du conjugué entre le glutathion réduit (GSH) et un substrat modèle, peu spécifique des différentes isozymes de GST, le 1-Chloro-2,4-Dinitrobenzène (CDNB). La nouvelle molécule de conjugaison est le 1-5 Glutathionyl-2,4-Dinitrobenzène (GS-DNB) permettant de mesurer l'activité de GST selon la réaction suivante :



Le dosage de l'activité spécifique de la GST consiste à ajouter 0,2 ml de surnageant à 1,2 ml du mélange CDBN-GSH (20,26 mg CDBN, 153,65 mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate 0,1 M ; pH = 6,5). La lecture des absorbances s'effectue chaque 15 s pendant une minute à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions et contenant 0,2 ml d'eau distillée remplaçant le surnageant.

L'activité de la GST, mesurée par rapport à 1 mg de protéines, est déterminée par la formule suivante :

$$\text{GST } (\mu\text{mol GST / mg de protéines}) = \frac{\text{Do écht / 15 sec} - \text{Do blanc / 15 sec}}{9,6 \times 1 \text{ mg de protéines}}$$

- Do écht : Densité optique de l'échantillon / 15 s.
- Do blanc : Densité optique du blanc / 15 s.
- 9,6 : Coefficient d'extinction du mélange GSH-CDNB.

A noter que la préparation des solutions tampons s'effectue de la manière suivante :

- Tampon phosphate (0,1 M) pH = 6,5 : de la même façon que celui de pH 7,4 sauf que nous ajoutons de l'HCl jusqu'à l'obtention d'un pH de 6,5 à l'aide d'un pH mètre.
- Solution CDNB (0,02 M) : 202,55 mg CDNB + 50 ml d'éthanol absolu.
- Solution GSH (0,1 M) : 153,65 mg GSH + 50 ml d'eau distillée.

### 2.6.3. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode d'Esterbauer *et al.* (1992) qui se base sur la condensation du malondialdéhyde (MDA) en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, (TBA) formant un produit à pigmentation rosâtre. Ce chromogène peut être ainsi mesuré à une longueur d'onde de 530 nm par spectrophotométrie d'absorption.

Le protocole utilisé pour le dosage de la concentration du MDA est le suivant :

→ Prélever 0,5 ml de surnageant, ajouter 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) 5 % et 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %.

→ Mélanger et incuber au bain marié à une température de 90 °C pendant 15 min.

→ Refroidir et prélever 0,5 ml de surnageant auquel nous additionnons 4 ml de *n*-butanol.

→ Centrifuger pendant 10 min à 2500 tours / min.

→ Récupérer le surnageant et lire l'absorbance à 532 nm.

Le taux du MDA est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{MDA (mmol MDA / mg de protéines)} = \frac{\text{Do écht} \times 106}{\epsilon \times L \times \chi \times \text{Fd}}$$

- DO : Densité optique lue à 532 nm ;
- $\epsilon$  : Coefficient d'extinction molaire du MDA = 1,56 10<sup>5</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> ;
- L : Longueur du trajet optique = 0,779 cm ;
- $\chi$  : Concentration de l'extrait en protéines (mg / ml) ;
- Fd : Facteur de dilution = 0,2083.

A noter que la préparation des solutions tampons s'effectue de la manière suivante :

- Solution TCA 5 % : 5 g de l'acide trichloroacétique (TCA) + 100 ml eau distillée.
- Solution TBA 0,67 % : 0,67 g de l'acide thiobarbiturique (TBA) + 100 ml eau distillée.

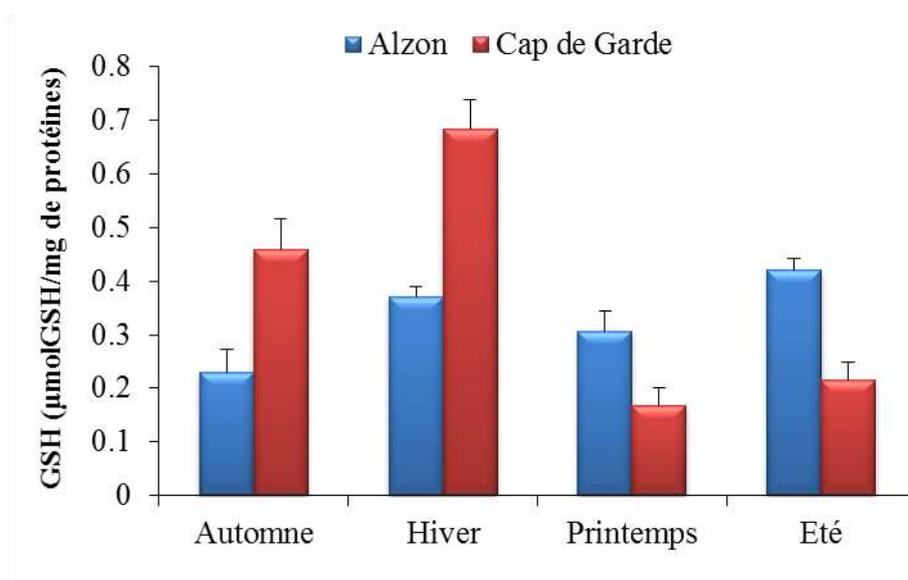
## 2.7. Analyses statistiques

Les résultats ont été exprimés en valeurs moyennes (M)  $\pm$  erreur standard ( $\pm$  SD). La comparaison des valeurs moyennes entre les stations (pour la même saison) et entre les saisons (pour la même station) s'est effectuée en utilisant le test t de Student. Les effets saisons et sites d'échantillonnage ont été testés par une analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA). Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel Minitab 16 (version 16.1.1).

## 3. RESULTATS

### 3.1. Concentrations de glutathion (GSH)

La variation du taux du glutathion réduit dans les tissus de *S. spinosulus* est indiquée dans la figure 36. Il varie de 0,168 à 0,683  $\mu\text{mol GSH/mg}$  de protéine au Cap de Garde avec un maximum enregistré en hiver et entre 0,229 et 0,483  $\mu\text{mol GSH/mg}$  de protéine à la station d'Alzon avec un pic en été.



**Figure 36.** Concentration du glutathion réduit dans les tissus de *Sarcotragus spinosulus* du golfe d'Annaba.

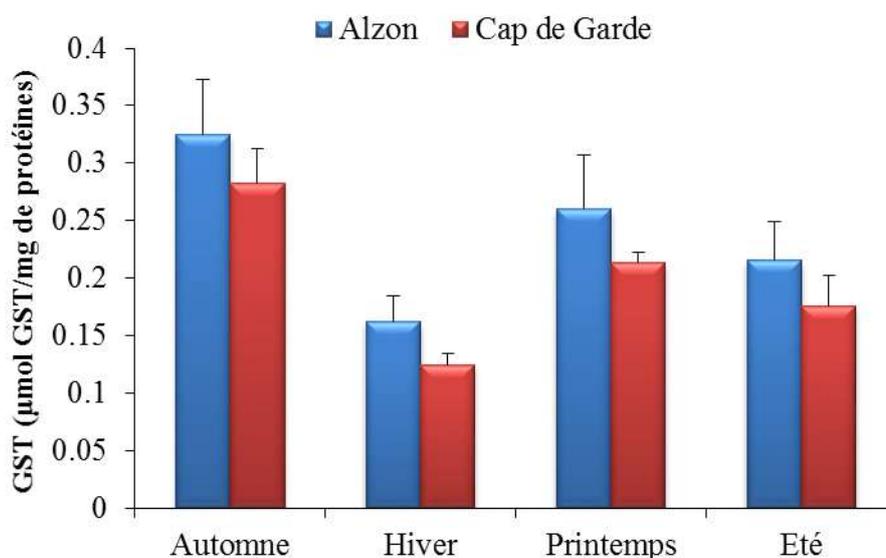
La comparaison statistique (ANOVA) des valeurs du glutathion réduit dans les tissus de *S. spinosulus* a révélé la présence de différences très hautement significatives entre les saisons et l'absence de différences significatives entre les stations (Tab.15).

**Tableau 14.** Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) glutathion réduit dans les tissus de *Sarcotragus spinosulus* échantillonnés dans le golfe d'Annaba.

Biomarqueurs	Saisons			Stations		
	F <sub>obs</sub>	P	Signification	F <sub>obs</sub>	P	Signification
GSH	11,36	0,000	***	1,11	0,299	N.S

### 3.2. Activité enzymatique du glutathion S-transférase (GST)

La figure 37 exprime les activités du glutathion S-transférase dans les tissus de *S. spinosulus* où on constate que les valeurs maximales, enregistrées pour les deux stations, sont en automne (0,283  $\mu\text{mol GST/mn/ mg}$  de protéine pour le Cap de Garde et 0,325  $\mu\text{mol GST/mn/ mg}$  de protéine pour Alzon), tandis que le minimum est observé en hiver (0,124  $\mu\text{mol GST/mn/ mg}$  de protéine pour Cap de Garde et 0,161  $\mu\text{mol GST/mn/mg}$  de protéine pour Alzon).



**Figure 37.** Variation des activités du glutathion S-transférase dans les tissus de *Sarcotragus spinosulus* échantillonné dans le golfe d'Annaba.

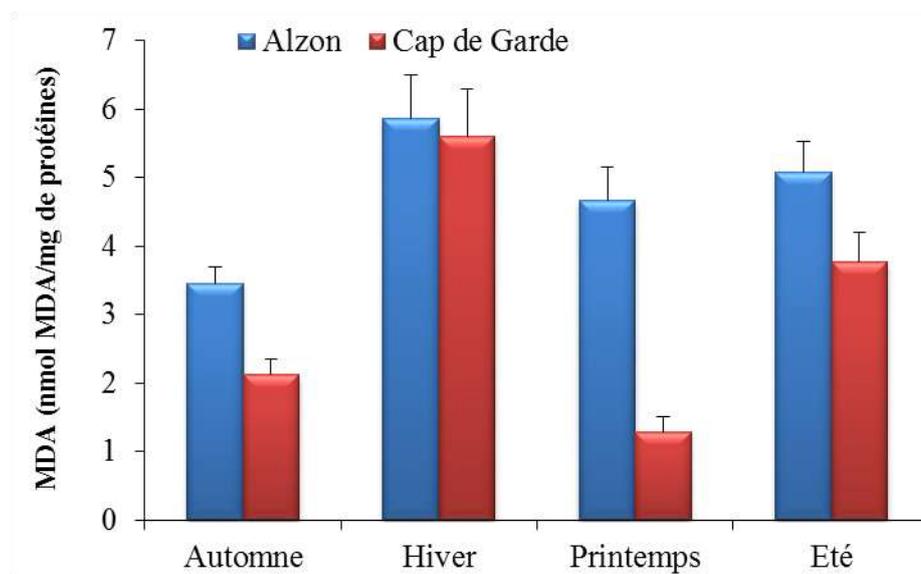
La comparaison statistique (ANOVA) de la variation saisonnière de l'activité spécifique du GST dans les tissus de *S. spinosulus* a révélé la présence de différences très hautement significatives entre les saisons et de différence significative entre les stations (Tab. 16).

**Tableau 15.** Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) de l'activité spécifique du GST dans les tissus de *Sarcotragus spinosulus* échantillonné dans le golfe d'Annaba.

Biomarqueurs	Saisons			Stations		
	F <sub>obs</sub>	P	Signification	F <sub>obs</sub>	P	Signification
GST	40,32	0,000	***	4,66	0,036	*

### 3.3. Concentration du malondialdéhyde (MDA)

La variation de la concentration du malondialdéhyde dans les tissus de l'éponge *S. spinosulus* est comprise  $1,29 \pm 0,22$  et  $5,67 \pm 0,67$  nmol/mg de protéines (Fig. 38). Les valeurs le plus élevées ont été retrouvées durant la saison hivernale dans les deux stations prospectées. Toutefois, les valeurs minimales sont enregistrées au printemps dans la station Cap de Garde ( $1,29 \pm 0,22$  nmol/mg de protéines) et en période automnale dans la station Alzon ( $3,46 \pm 0,23$  nmol/mg de protéines).



**Figure 38.** Concentrations du malondialdéhyde dans les tissus de *Sarcotragus spinosulus* échantillonné dans le golfe d'Annaba.

La comparaison statistique (ANOVA) de la variation saisonnière de la concentration de MDA dans les tissus de *S. spinosulus* a révélé la présence de différences très hautement significatives entre les saisons et les stations (Tab. 17).

**Tableau 16.** Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) de la concentration de MDA dans les tissus de *Sarcotragus spinosulus* échantillonné dans le golfe d'Annaba.

Biomarqueurs	Saisons			Stations		
	F <sub>obs</sub>	P	Signification	F <sub>obs</sub>	P	Signification
MDA	18,79	0,000	***	14,79	0,000	***

#### 4. DISCUSSION

Un biomarqueur est un paramètre biologique et outil précoce, quant à l'effet d'un contaminant sur un organisme (Mistretta & Charlier, 2013). Dans certains cas, les altérations provoquées par les polluants sur ces paramètres biologiques peuvent engendrer des changements au niveau comportemental et biochimique (Kaiser, 2001).

Sur l'ensemble des résultats obtenus, l'effet des saisons et du site de prélèvement est significativement mis en évidence pour les biomarqueurs du stress oxydant de phases I et II du système de détoxification, déterminés dans les tissus de l'éponge *S. spinosulus*. De nombreux travaux décrivent des modifications d'activités en liaison avec la saison pour d'autres enzymes antioxydantes chez les bivalves marins *Mytilus galloprovincialis* (Amiard *et al.*, 2008) et le bivalve d'eau douce *Corbicula fluminea* (Vidal *et al.*, 2001). D'autre part, Livingstone *et al.* (2001) ont observé que les enzymes de détoxification de la phase I de *M. edulis* sont induites par des paramètres saisonniers indépendants de la présence de contaminants dans leur milieu de vie. Une diminution hautement significative ( $P < 0001$ ) des taux de glutathion est observée en hiver et en automne à Alzon comparativement au Cap de Garde, supposé site de référence (Frehi *et al.*, 2007). En effet, celui-ci est soumis non seulement aux rejets urbains sans traitement préalable mais aussi aux décharges charriées influencées par des facteurs naturels tel que les courants et les oueds (Khammar, 2008). Au cours de ces saisons froides, les crues et les averses entraînent une augmentation du débit et par conséquent celle de la turbulence du milieu suite à une remise en suspension des matériaux fins, pouvant être à l'origine d'une contamination métallique. La plupart de ces polluants ont tendance à s'accumuler dans la chaîne alimentaire et surtout chez les organismes sédentaires tels que les éponges. Ces animaux sessiles sont des filtreurs actifs très puissants dont le système aquifère très perfectionné leur confère la capacité de filtrer un volume d'eau égal à leur propre volume. Plusieurs études ont déjà montré le potentiel de certains

représentants de ce phylum à accumuler divers xénobiotiques ou à exprimer des réponses biologiques à une perturbation anthropique (Nakhl, 2003). Sur les côtes algériennes, les travaux de Belabed *et al.* (2013), de Boutabia- Trea (2016) et de Ouali *et al.* (2018) ont signalé une pollution métallique dans le golfe d'Annaba, aussi bien dans l'eau que dans le sédiment. Ces résultats viennent confirmer les travaux réalisés par Amira (2007) qui a signalé une diminution du taux de GSH chez le bivalve *Donax trunculus* prélevé à Sidi Salem, site peu éloigné d'Alzon. Plusieurs travaux confirment les résultats obtenus et aident à mieux expliquer la relation entre la diminution du taux de GSH et le niveau de contamination du milieu (Verlecar *et al.*, 2008).

Il est toujours difficile d'expliquer les variations des biomarqueurs puisqu'elles dépendent des paramètres environnementaux en perpétuels changements ce qui rend difficile l'interprétation des résultats. Ces observations sont en adéquation avec les études de nos prédécesseurs (Gluszczak *et al.*, 2007; Contardo-Jara *et al.*, 2009; Benali *et al.*, 2015) qui ont indiqué que ces derniers peuvent stimuler l'expression des différents biomarqueurs.

Contrairement aux variations des teneurs en GSH, les activités GST montrent des augmentations significatives durant toutes les saisons à Alzon, avec un maximum noté en automne. La GST joue un rôle important dans la détoxification des organismes (Cossu *et al.*, 1997), elle peut être induite par certains polluants (Roméo *et al.*, 2003; Regoli *et al.*, 2004). Il existe des systèmes mis au point par les êtres vivants pour métaboliser les xénobiotiques jouant un rôle clé dans l'adaptation du vivant à son environnement chimique (Daniel Mansuy, 2013). Nos résultats semblent en accord avec les travaux de Deviller *et al.* (2005), qui montrent dans une étude de biosurveillance des différences d'activité de la GST en fonction de la saison, où les activités maximales sont enregistrées en période printanière (mars – avril), alors que les plus faibles sont notées en été (juillet - août). Les altérations du taux et/ou de l'activité des enzymes de biotransformation sont les plus sensibles biomarqueurs d'effet (Van der Oost *et al.*, 2003). Ces enzymes peuvent être inhibés ou activés lors d'une exposition à un xénobiotique qui s'avère très fiables chez les mollusques (Cajaraville *et al.*, 2000). En comparaison avec le site de référence, l'augmentation saisonnière de la GST à Alzon lors de notre étude, pourrait traduire une forte activité de détoxification des éponges qui serait en rapport avec leur niveau d'exposition à la pollution, ainsi que probablement à la dynamique des marées même faible qui pourrait avoir une influence prépondérante sur la qualité et la gestion de la charge polluante qui transite par les estuaires avant d'être évacuée en mer. Des résultats similaires ont été obtenus chez *D. trunculus* de Sidi Salem (Abbes *et al.*, 2003), où

une augmentation saisonnière de la GST a été également signalée en fonction de la saison. Ou encore, les travaux de Funes *et al.* (2006) qui montrent une augmentation de l'activité GST suivant un gradient de pollution métallique en fonction de la saison. D'autres facteurs extrinsèques (température, le pH, oxygène dissous) et intrinsèques (reproduction) peuvent également être à l'origine de l'induction des activités des GST (Chouahda, 2006). La stimulation de l'activité GST a été aussi constatée par Canesi *et al.* (2007) chez la moule *Mytilus* sp. exposée aux eaux usées. Des résultats similaires ont été obtenus chez de nombreux invertébrés côtiers, comme c'est le cas de l'oursin régulier *Paracentrotus lividus* où l'activité de la GST et de la cholinestérase ont été utilisées en tant que biomarqueurs de contamination de l'environnement dans la zone côtière du Portugal (Cunha *et al.*, 2005; Amri, 2018). Une situation similaire a été observée chez *D. trunculus* du golfe d'Annaba (Amira *et al.*, 2011; Soltani *et al.*, 2012). Ainsi, l'augmentation des valeurs de la GST serait due au stress oxydatif (Louiz *et al.*, 2016) où l'activité de la GST augmente en catalysant des réactions de conjugaison entre un peptide, le glutathion et des molécules réactives qui aboutissent à une détoxification de l'organisme pour permettre leur élimination (Chatterjee & Bhattacharya, 1984). Cette dernière est considérée comme sensible aux variations de l'environnement induite par différents xénobiotiques dans l'eau de mer (métaux HAP, changements climatiques) (Boutet *et al.*, 2004; Gravato *et al.*, 2005; Pinho *et al.*, 2005; Yin *et al.*, 2007; Bouzenda *et al.*, 2017).

La peroxydation lipidique a été largement définie comme la dégradation oxydative des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires (Halliwell & Gutteridge, 1997) et la formation du MDA comme produit secondaire de la peroxydation des lipides est utilisé comme un biomarqueur de dommages oxydatifs chez les organismes aquatiques exposés aux polluants environnementaux (Valavanidis *et al.*, 2006). Les taux de MDA sont significativement augmentés dans les tissus de notre modèle biologique durant toute la période de l'étude à Alzon avec un pic hivernal au cap de Garde. De nombreuses études ont montré l'augmentation des concentrations en MDA en fonction de la pollution du milieu chez divers organismes (Suntres, 2002; Bendjoudi *et al.*, 2013).

Les problèmes environnementaux sont souvent associés à des érosions côtières et aux rejets de contaminants qui pourraient menacer de nombreux écosystèmes côtiers (Galloway, 2006). Le milieu aquatique est menacé par les diverses activités humaines (Ali & Sreekrishnan 2001; Varanka *et al.*, 2001) qui mettent en danger la santé des organismes vivants (Galloway *et al.*, 2004; Paul-Pont *et al.*, 2010) par les fortes concentrations de

produits chimiques mesurées souvent en zone littorale et anthropisée (Galloway *et al.*, 2006; Verlecar *et al.*, 2008). La peroxydation lipidique est très souvent corrélée à la contamination du milieu aquatique et en particulier l'exposition aux hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAP) et aux métaux lourds (Frouin *et al.*, 2007). En effet, cette portion du golfe et en particulier Alzon, à forte activité (circulation routière intense et forte pollution atmosphérique) est un site du côté ouest du port qui reçoit des rejets urbains et dont le sédiment et les bivalves d'intérêt économique (moules, haricots de mer) constituent des sièges de contamination par les métaux surtout en plomb et en cuivre (Belabed, 2010). Les résultats de la bioaccumulation métallique relevée dans les tissus de notre éponge confirment ces variations inter-saisonniers entre les deux stations, notamment pour le plomb, le cadmium et le zinc. Des taux élevés en malonalaldéhyde (biomarqueur considéré de cytotoxicité) en relation étroite avec les dégradations de la membrane cellulaire permet de montrer l'effet d'une pénétration d'un xénobiotique dans l'organisme (Funes *et al.*, 2006; Ladhar Chaabouni *et al.*, 2007). Ce paramètre constitue un indicateur précoce d'une agression toxique, pouvant engendrer la formation de radicaux oxygénés à l'origine du phénomène connu sous le terme plus général de « stress oxydatif ». A cet effet, de nombreux auteurs notent que la peroxydation lipidique semble être modulée par les contaminants chimiques et organiques testés en condition de laboratoire ou in situ (Narbonne *et al.*, 2005). Aussi, une induction significative du MDA dans différents tissus de la palourde *Ruditapes decussatus* exposée à des solutions de cadmium a été rapportée par Khebbeb *et al.* (2010). Dans le golfe d'Annaba, Soltani *et al.* (2012) et Khati *et al.* (2012) ont noté une induction du MDA chez *D. trunculus* et *Perna perna*, respectivement.

Les Porifères sont des bioaccumulateurs de polluants pouvant fournir des indications comparables à celles données par les mollusques bivalves mais sur un plus vaste gradient vertical. Aujourd'hui, ils sont bien admis comme étant bioindicateurs dans les grilles de qualité utilisées pour le diagnostic de l'état de santé de l'environnement marin (Hill & Hill, 2002; Perez *et al.*, 2003; Mahaut *et al.*, 2012). Le golfe d'Annaba semble constituer un réceptacle de contaminants métalliques (Belabed *et al.*, 2013) qui peuvent induire un stress en activant le système de détoxification des éponges qui se traduit par une production accrue de radicaux libres (Abdenmour *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2010; Attig *et al.*, 2014; Sifi & Soltani, 2018). Lorsque ces derniers ne sont plus neutralisés du fait que les systèmes de défense sont débordés, ils s'attaquent alors aux constituants cellulaires en induisant des lésions

irréversibles (peroxydation lipidique, lésions de l'ADN, modifications oxydatives des protéines) (Almeida *et al.*, 2007).

Nos résultats sont en accord avec ceux de Vlahogianni *et al.* (2007) qui ont étudié les effets toxiques des métaux lourds sur la peroxydation des lipides chez la moule *M. galloprovincialis*. Ces auteurs avaient mis en évidence un niveau significatif du MDA après exposition au cuivre. Par ailleurs, de nombreuses études réalisées ces deux dernières décennies en milieux marin et continental ont montré que les niveaux de peroxydation lipidique peuvent être affectés par des différents polluants environnementaux (Ait Alla *et al.*, 2006; Damiens *et al.*, 2007).

Les biomarqueurs de stress général comme le MDA peuvent indiquer des liens entre les contaminants et les réponses écologiques et peuvent être utilisés pour indiquer la présence de substances nocives dans le milieu marin (Fernandez *et al.*, 2010), mais les données obtenues sont parfois difficiles à interpréter en raison de la grande variabilité naturelle affectant les processus biologiques, ce qui pourrait agir comme des facteurs de confusion sur les réponses des biomarqueurs (Fernandez *et al.*, 2010).

# **CHAPITRE IV : CYCLE DE VIE**

## 1. INTRODUCTION

La phénologie est l'étude de la survenance d'événements morphologiques et physiologiques de la reproduction au cours du cycle de vie et leurs changements périodiques dans le monde vivant, déterminée en partie par les variations saisonnières du climat (Hughes, 2000; Ereskovsky *et al.*, 2013). La phénologie est, donc, un marqueur précoce de la réponse des organismes aux changements climatiques (Charmantier *et al.*, 2008).

Les études sur la biologie de la reproduction, y compris le mode de sexualité et le sex-ratio (Szmant, 1986), la production des gamètes (Beiring & Lasker 2000), l'effort reproductif (Ereskovsky, 2000), le recrutement (Edmunds *et al.*, 2001) et le phénotype sexuel (Bates, 2005) sont fondamentaux pour la compréhension de la dynamique des populations marines (Ereskovsky *et al.*, 2013).

La morphologie, la biologie de la reproduction et le développement des organismes marins peuvent être influencés par les caractéristiques environnementales telles que le type de substrat, la lumière, la salinité, l'hydrodynamisme, les nutriments et la température (Dayton *et al.*, 1998). Cette dernière est généralement considérée comme un facteur déterminant qui affecte la distribution, les processus métaboliques et les événements du cycle de vie des organismes marins (Kinne, 1970; Bhaud *et al.*, 1995; Riesgo & Maldonado, 2008). Chez les éponges, la température de l'eau est fréquemment considérée comme un facteur environnemental majeur régulant leur cycle reproductif (Ereskovsky, 2000; Ettinger-Epstein *et al.*, 2007; Gerasimova & Ereskovsky, 2007; Riesgo & Maldonado 2008; Whalan *et al.*, 2007, 2008).

Jusqu'à la fin des années 1970, les données disponibles sur la reproduction de l'éponge étaient principalement basées sur des observations sporadiques *in situ* (Simpson, 1984; Ereskovsky, 2010). Depuis quelques années, certains chercheurs se sont intéressés à l'étude du suivi du cycle de reproduction des populations d'éponges sur plusieurs années. L'essentiel de la littérature concerne les périodes d'initiation de la gamétogenèse, le développement embryonnaire et la ponte ainsi que l'influence de la température de l'eau sur la reproduction (Storr, 1964; Kaye & Reiswig, 1991a; Fromont, 1999; Ereskovsky, 2000; Meroz-Fine *et al.*, 2005; Ettinger-Epstein *et al.*, 2007; Gerasimova & Ereskovsky, 2007; Mercurio *et al.*, 2007, 2013; Riesgo *et al.*, 2007; Whalan *et al.*, 2007a; Maldonado et Riesgo, 2009; Gaino *et al.*, 2010; Leong & Pawlik, 2011; Zarrouk *et al.*, 2013).

En Méditerranée, les informations sur les cycles de reproduction des éponges concernent essentiellement les Demospongiae de la rive Nord de la Méditerranée (Siribelli,

1962; Scalera Liaci *et al.*, 1973; Corriero *et al.*, 1996, 1998; Lepore *et al.*, 2000; Meroz-Fine *et al.*, 2005; Baldaconi *et al.*, 2007; Mercurio *et al.*, 2007, 2013; Riesgo & Maldonado, 2008; Pérez- Porro *et al.*, 2012; Di Camillo *et al.*, 2012; Zarrouk *et al.*, 2013; Ereskovsky *et al.*, 2017). Bien qu'il existe de nombreux travaux sur *S. spinosulus*, la majorité d'entre eux concernent les activités antibactériennes, cytotoxiques et antisalissures des métabolites extraites de cette espèce (De Rosa *et al.*, 1995; Mihopoulos *et al.*, 1999; Tsoukatou *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2006; Ben Kahla-Nakbi *et al.*, 2010; Abed, 2011). Les seules investigations relatives à la sexualité de *S. spinosulus* des côtes Nord méditerranéennes sont celles de Carballo *et al.* (1994) dans la région de Gibraltar, de Scalera Liaci *et al.* (1971) dans le golfe de Napoli et de Mercurio *et al.* (2013) sur les côtes italiennes.

Sur les côtes nord africaines (Rive sud de la méditerranée), la reproduction a été essentiellement étudiée chez les populations tunisiennes (Zarrouk *et al.*, 2013), alors que sur les côtes algériennes cet aspect est abordé pour la première fois dans ce présent travail qui fournit les premières données sur le cycle sexuel de *S. spinosulus* du golfe d'Annaba.

## **2. MATERIEL & METHODES**

### **2.1. Echantillonnage**

Nous avons prélevé mensuellement, avec intervalle de temps assez régulier, au niveau de la station Alzon, en plongée libre entre 0 et 1,5 m, durant un cycle annuel (juin 2016 - mai 2017), 6 fragments tubulaires d'éponge (longueur : 3 – 6 cm, diamètre : 14 mm) sur 6 individus différents et étiquetés. Le prélèvement d'un fragment tubulaire s'effectue sur chaque individu d'éponge en utilisant un tube métallique de 14 mm de diamètre que nous introduisons à l'intérieur de l'éponge à partir de sa base.

### **2.2 Fixation des échantillons**

Les échantillons fraîchement prélevés sont acheminés vivants au laboratoire dans de l'eau de mer, puis immédiatement placés séparément dans des piluliers contenant du formol à 4 % et conservés au réfrigérateur à 4°C, jusqu'au moment de la réalisation de coupes sériées pour l'histologie. Pour chaque prélèvement, la température de l'eau est mesurée à l'aide d'un thermomètre. En raison des conditions météorologiques (mauvais temps), nous n'avons pas pu obtenir des échantillons en octobre et décembre 2016. Pour réduire l'aléa d'échantillonnage, nous avons prélevé un échantillon durant le mois d'octobre de l'année suivante (2017).

### 2.3. Technique histologique

Suites aux contraintes dans la réalisation des coupes histologiques de *S. spinosulus*, espèce très coriace, le protocole classique d'histologie a été modifié comme suit :

- Etape 1. La coupe/fixation a été effectuée dans une salle de macroscopie. Les zones ciblées ont été plongées dans du formol dilué à 5% durant une durée maximale de 48 h.
- Etape 2. Le traitement des tissus s'est effectué dans un automate doté de béciers remplis d'éthanol à 90%, de xylène et de paraffine. Le traitement des tissus dans l'automate (LEICA TP1020) doit respecter les étapes suivantes :
  - Alcool 1 → 1 h
  - Alcool 2 → 1 h
  - Alcool 3 → 1 h 30 min
  - Alcool 4 → 1 h 30 min
  - Alcool 5 → 1 h 10 min
  - Alcool 6 → 6 h
  - Xylène 1 → 40 min
  - Xylène 2 → 30 min
  - Xylène 3 → 1 h 30 min
  - Paraffine 1 → 2 h
  - Paraffine 2 → 2 h
- Etape 3. L'enrobage et le froid se sont effectués de la manière suivante :
  - Enrobage des prélèvements dans des moules à inox ;
  - Coupe de 6 µm à l'aide de microtome ;
  - Etalement des coupes fines sur lame porte objet ;
  - Séchage des lames sur plaque chauffante ;
  - Mise des paniers de lames dans l'étuve à une température à 70 % pendant 1 h au minimum.
- Etape 4. Le déparaffinage et coloration des lames histologiques
  - Xylène → 10 min
  - Alcool (95°) → 10 min
  - Alcool (95°) → 10 min
  - Eau courante (rinçage) → 10 min
  - Hémalum de mayer → 10 min
  - Rinçage à l'eau courante

- Eosine → 10 min
- Rinçage
- Alcool → 03 min
- Alcool → 03 min
- Mélange (éthanol / xylène) → 03 min
- Xylène → 03 min
- Xylène → 03 min
- Xylène → 03 min
- Montage des coupes entre lames et lamelles.

A titre d'information, 24 coupes en moyenne, de 6 µm d'épaisseur, ont été confectionnées pour chaque individu.

#### **2.4. Observation microscopique**

Les coupes sériées ont été observées au microscope optique WILD M20 à l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale (IMBE), Station Marine d'Endoume à Marseille en France. Des photos ont été prises aussi avec un microscope de marque Leica DMLB équipé d'un système de capture d'image Evolution LC color.

### **3. RESULTATS**

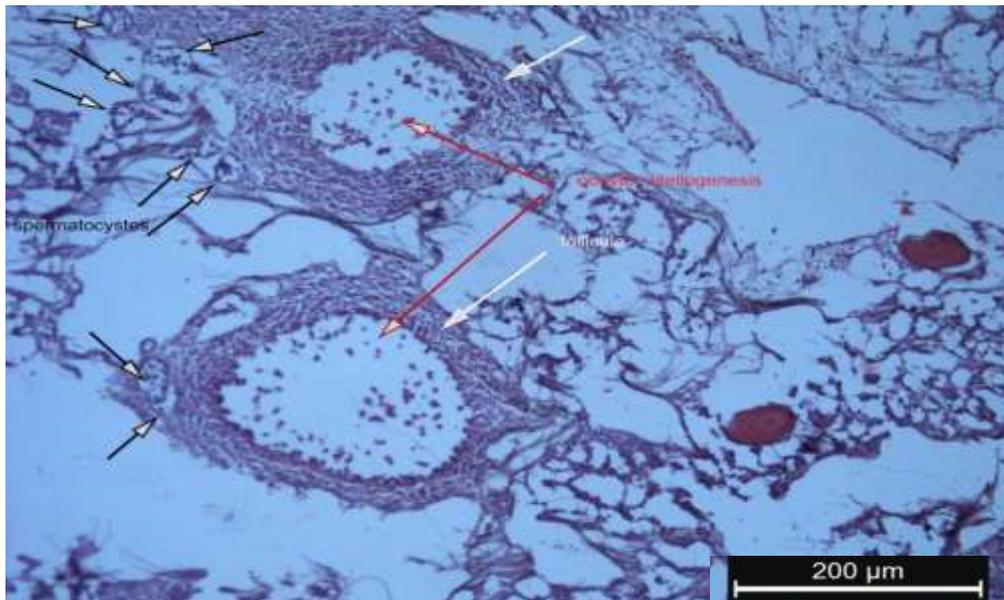
#### **3.1. Observation générale**

Les coupes sériées réalisées ont permis la description des différentes phases de maturité sexuelles et ont servi aussi pour étudier le cycle de vie. Ces coupes sériées ont tout d'abord fait l'objet d'une première lecture pour déterminer les individus matures (Tab. 18). L'échantillonnage répété en moyenne sur un total de 6 fragments d'éponges de *S. spinosulus* a révélé que seuls 3 individus ont développé simultanément des cystes spermatiques et des ovocytes, ce qui suppose que cette espèce est hermaphrodite (Fig. 39).

**Tableau 17 :** Eléments reproducteurs observés dans les échantillons prélevés de *Sarcotragus spinosulus*.

Observation							
Mois d'échantillonnage	T°C	Individu 1	Individu 2	Individu 3	Individu 4	Individu 5	Individu 6
Juin 2016	22°C	Rien trouvé	Rien trouvé	++ larves ciliées	Rien trouvé	Rien trouvé	++ larves ciliées
Juillet 2016	27°C	Rien trouvé	Rien trouvé	Rien trouvé	Rien trouvé	Rien trouvé	Rien trouvé
Aout 2016	26°C	Rien trouvé	Rien trouvé	Rien trouvé	ovocyte (vétéllogénèse)	ovocyte (vétéllogénèse)	Rien trouvé
Septembre 2016	26°C	Ovogénèse + spermatogénèse	Ovogénèse + spermatogénèse	Ovogénèse + spermatogénèse	Rien trouvé	Début d'ovogénèse	Début d'ovogénèse
Octobre 2016	-	-	-	-	-	-	-
Novembre 2016	21°C	Embryons	Morula + embryons	embryons	Embryons	Rien trouvé	++ embryons
Décembre 2016	-	-	-	-	-	-	-
Janvier 2017	13,8°C	embryons	Rien trouvé	Rien trouvé	Rien trouvé	embryons	Embryons
Février 2017	16°C	embryons	Rien trouvé	Rien trouvé	Rien trouvé	embryons	Rien trouvé
Mars 2017	18°C	Rien trouvé	Rien trouvé	Rien trouvé	Rien trouvé	Rien trouvé	Rien trouvé
Avril 2017	20°C	embryons	Embryons + larves	embryons	Embryons + larves	larves	Larves
Mai 2017	22°C	larves	Rien trouvé	larves	Rien trouvé	larves	Larves
Octobre 2017	23,2°C	spermatogénèse	spermatogénèse	Rien trouvé	spermatogénèse	Rien trouvé	Spermatogénèse

++ : plusieurs

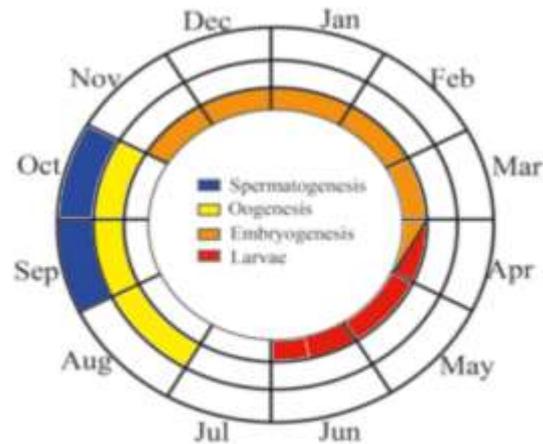


**Figure 39.** Coupe histologique mettant en évidence le caractère hermaphrodite de *Sarcotragus spinosulus* du golfe d'Annaba.

### 3.2. Cycle de reproduction

Les premières observations des éléments reproducteurs font ressortir que la spermatogénèse débute en septembre et se termine en octobre. L'ovogénèse débute en aout et se poursuit jusqu'au mois de septembre. Le développement embryonnaire se déroule de

novembre à avril avec l'apparition de morulas. La morphogénèse larvaire débute en mai (Fig. 40). Aucun élément reproducteur n'a été observé en juillet. Les chambres choanocytaires sont presque normales et bien structurées. Une régénération tissulaire est observée également durant ce mois ce qui suppose l'existence d'une période de repos sexuel.

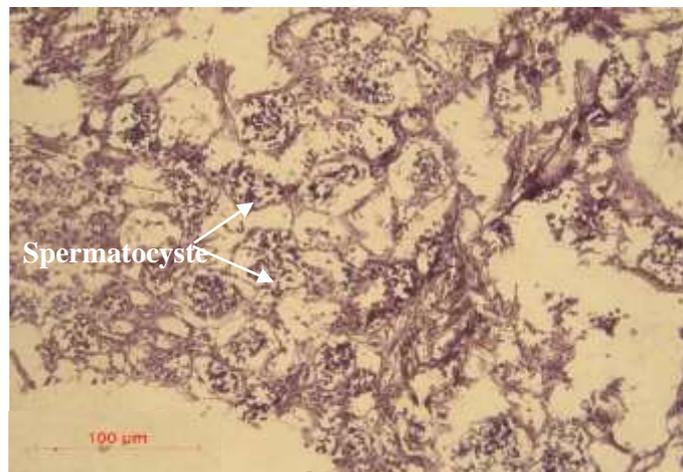


**Figure 40.** Cycle de reproduction de *Sarcotragus spinosulus* échantillonné dans le golfe d'Annaba (2016/2017).

### 3.3. Gamétogenèse et développement embryonnaire

#### 3.3.1. Spermatogénèse

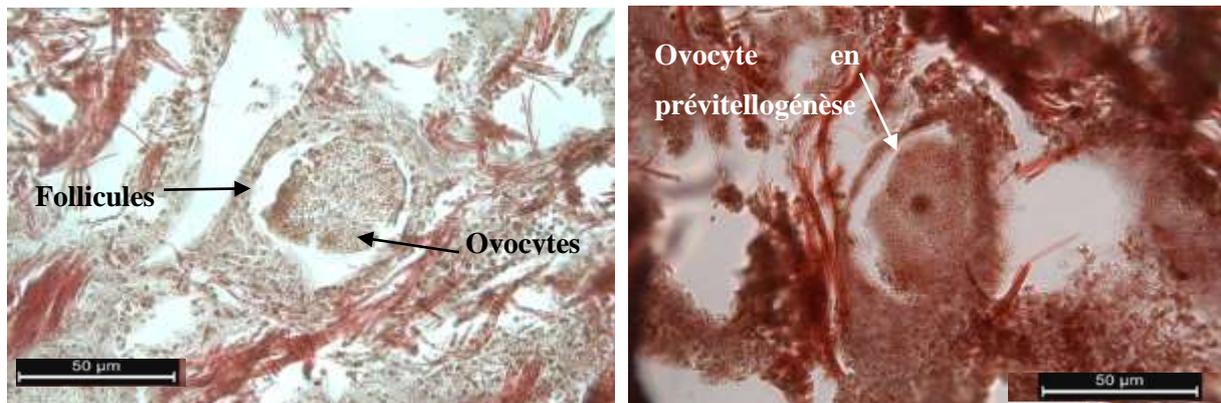
La spermatogénèse est observée avec la présence de cystes spermatiques issus de la différenciation des chambres choanocytaires contenant des spermatocytes à quelques stades différents (précoces et avancés). Ces spermatocystes mesurent 44,28 à 59,6  $\mu\text{m}$  de diamètre. La spermatogénèse est asynchrone chez le même individu, mais synchrone dans chaque spermatocyte (Fig. 41).



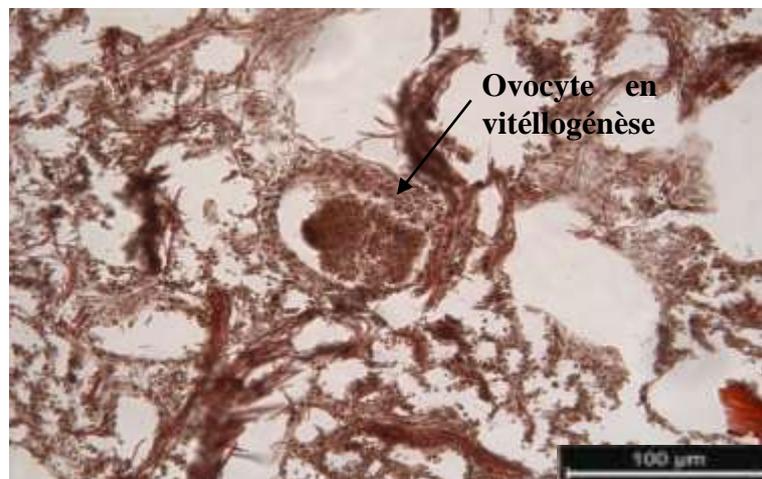
**Figure 41.** Coupe histologique mettant en évidence la spermatogénèse chez *Sarcotragus spinosulus* du golfe d'Annaba (Octobre, Individu 2).

### 3.3.2. Ovogénèse

Au cours de cette phase, des petits ovocytes sphériques (76  $\mu\text{m}$  de diamètre) font leur apparition en aout dans un mésohyle très lacuneux (Fig. 42, 43). Ce dernier renferme des ovocytes avec un cytoplasme granulé et des inclusions vitellines qui sont complètement entourés d'un follicule dont l'épaisseur varie de 10,5 à 40  $\mu\text{m}$ .



**Figure 42.** Coupe histologique montrant un ovocyte (à gauche) et un autre en période de previtellogenèse (Aout, individu 4) (à droite).



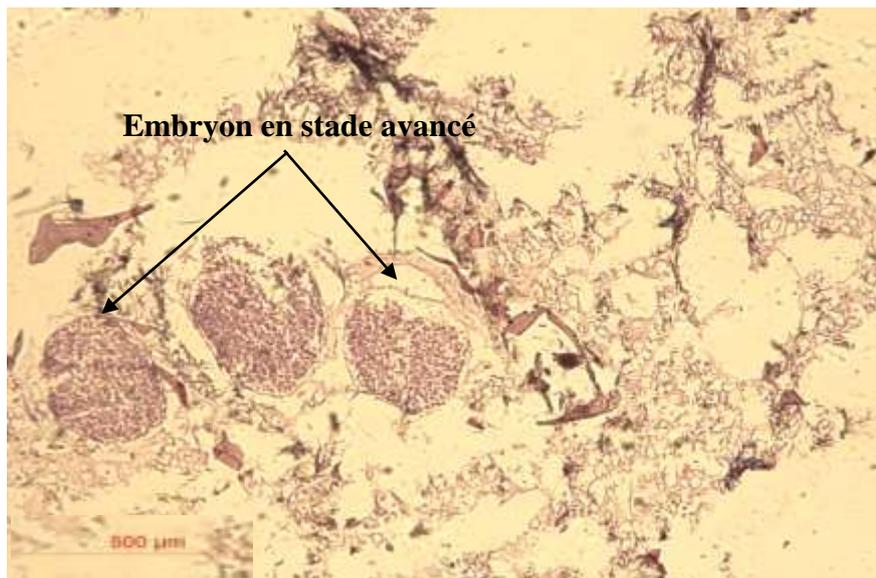
**Figure 43.** Coupe histologique montrant un ovocyte en vitellogenèse (Aout, individu 5).

### 3.3.3. Embryogénèse

Le développement embryonnaire a été observé chez la majorité des individus étudiés, avec la présence d'embryons segmentés, stade morula, et à différents stades du développement, dispersés dans un mesohyle assez lacuneux (Fig. 44). Tous les embryons observés sont abrités d'une enveloppe ou follicule dont la périphérie est constituée de cellules pinacocytaires qui s'amincissent selon le stade de développement de l'embryon (Fig. 45).



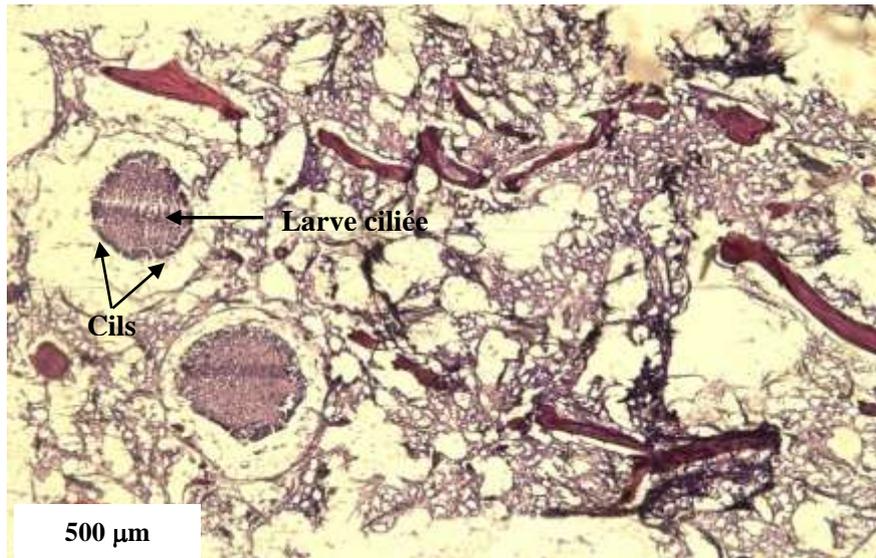
**Figure 44.** Coupe histologique représentant le stade morula de la phase embryonnaire (Novembre, individu 2).



**Figure 45.** Coupe histologique représentant un stade embryonnaire avancé (Février, ind. 1).

### 3.3.4. Développement larvaire

Le développement larvaire est observé durant 3 mois : avril (pour l'individu 2, 4, 5 et 6), mai et juin. Les larves, mesurant entre 335 et 640 µm de diamètre et caractérisées par une couche de cellules ciliées (Fig. 46), ont été tous détectées au voisinage ou dans le canal exhalant de l'éponge mère. Nous pouvons alors supposer que l'émission des larves s'effectue durant la période printanière lorsque la température de l'eau devient clémente ce qui appuie l'hypothèse d'un lien entre le réchauffement de l'eau et la reproduction des éponges.



**Figure 46.** Coupe histologique représentant le stade larvaire de *Sarcotragus spinosulus* du golfe d'Annaba (Mai, individu 1).

#### 4. DISCUSSION

Les études sur le cycle sexuel des éponges de Méditerranée se sont développées d'une manière générale durant la dernière décennie, particulièrement chez les Demospongiae tels que *Mycale contarenii* (Corriero *et al.*, 1998), *Spongia officinalis* (Perez *et al.*, 2006; Baldaconi *et al.*, 2007), *Geodia cydonium* (Mercurio *et al.*, 2007), *Hippospongia communis* (Zarrouk *et al.*, 2013) et *Haliclona fulva* (Ereskovsky *et al.*, 2017).

Dans le golfe d'Annaba, le suivi de 6 individus étiquetés durant un cycle annuel, nous a permis de mettre en évidence une dominance du caractère hermaphrodite chez *S. spinosulus*, avec la présence simultanée de gamètes mâles et femelles chez un même individu. Ces résultats sont similaires de ceux rapportés par Mercurio *et al.* (2013) sur la même espèce dans 2 régions situées en Mer Ionienne (La Strebay et La Pierta) en Italie et dans lesquelles les individus hermaphrodites y étaient fréquents. Cependant, les données portant sur la reproduction de Dictyoceratida ont montré que le gonochorisme est plus dominant chez ces derniers (Scalera Liaci *et al.*, 1971).

Les profils généraux de la gamétogénèse et du développement embryonnaire chez *S. spinosulus* sont similaires à ceux rapportés par Mercurio *et al.* (2013) avec de légères différences. En effet, ces derniers signalent que la production d'ovocytes chez cette espèce débute en juin pour les 2 groupes d'éponges et s'achève en septembre-octobre, alors que dans cette présente étude, l'ovogénèse se situe entre août et septembre (Tab. 25). Elle est

relativement de période courte comparée à celle rapportée par Scalera Liaci *et al.* (1971) chez *S. fasciculatus* (Pallas 1766) où l'ovogenèse dure 7 à 8 mois (mars à novembre).

Les cystes spermatiques dérivent de chambres choanocytaires dans lesquelles les choanocytes se transforment en spermatogonies qui produisent par division asynchrone des spermatozoïdes. Cette origine choanocytaire a souvent été observée chez les Porifera et particulièrement chez les éponges Dictioceratida (Gaino *et al.*, 1984). De même, les cystes spermatiques chez *S. spinosulus* ont été observés pendant une durée de 2 mois. La spermatogenèse est synchrone dans chaque spermatocyte mais asynchrone au sein du même individu. Ces constatations concordent avec ceux de Mercurio *et al.* (2013). Selon Riesgo *et al.* (2007), la spermatogenèse asynchrone à l'échelle individuelle peut augmenter les chances de fécondation. Une spermatogenèse relativement asynchrone a été rapportée pour le Dictyoceratida *Rhopaloeides odorabile* (Whalan *et al.*, 2007a), *Spongia officinalis* (Baldaconi *et al.*, 2007), *Luffariella variabilis* (Polejaeff, 1884) (Ettinger- Epstein *et al.*, 2007), *Coscinoderma matthewsi* (Abdul Wahab *et al.*, 2012) et d'autres démosponges (Lévi, 1956; Chen, 1976; Gaino *et al.*, 1986; Mercurio *et al.*, 2007; Riesgo, 2007; Gaino *et al.*, 2010).

L'embryogenèse chez les espèces vivipares se s'effectue dans des follicules formés à partir de choanocytes, comme c'est le cas chez *Halisarca dujardini* Johnston (1842) (Chondrillida), sauf que les processus de différenciation restent encore mal connus (Duboit, 2007). Dans la présente étude, la phase embryonnaire a duré 6 mois (novembre - avril), alors que chez *S. spinosulus* de La Streabay, les embryons sont concentrés au second semestre de l'année, tandis que dans la région de La Pierta, plus exposée aux vagues, ils étaient présents presque toute l'année (Mercurio *et al.*, 2013). Toutefois, le profil général du développement embryonnaire chez *S. spinosulus* est similaire à celui décrit chez d'autres démosponges vivipares (Saller & Weissenfels, 1985; Leys & Ereskovsky, 2006; Maldonado, 2006; Baldaconi *et al.* 2007; Riesgo, 2007; Abdul Wahab *et al.*, 2012).

Chez *S. spinosulus* du golfe d'Annaba, nous avons observé un stade larvaire précoce, qui débute en avril et s'achève en juin, par rapport à celui de *S. spinosulus* de La Pierta où on observe l'apparition des larves en juin et juillet (Mercurio *et al.*, 2013). Comme *S. spinosulus*, de nombreuses autres démosponges vivipares libèrent des larves durant l'été. Dans les eaux tempérées, cette période est considérée comme étant la plus favorable point de vue température et disponibilité alimentaire (Riesgo, 2007).

Le développement du parenchyme de *S. spinosulus* suit les stades typiques de la formation d'une stéréoblastula solide, non-flagellée, jusqu'à la différenciation d'un épithélium flagellé (c.f. Ereskovsky, 2010). L'observation générale de la structure parenchymateuse montre que le composant cellulaire est similaire à celui décrit pour *Spongia officinalis* (Baldacconi *et al.*, 2007) où les cellules amiboïdes dominent, alors que les choanocytes et d'autres composants du système aquifère sont manquants (Mercurio *et al.*, 2013).

**Tableau 18.** Tableau comparatif entre les différents stades de la gamétogénèse et du développement embryonnaire de *S spinosulus* dans différentes régions.

Stade de la gamétogénèse	Mercurio <i>et al.</i> , 2013				Présente étude	
	Région				Région	
	Mer Ionienne (La Streabay, Italie)		Mer Ionienne (La Pierta embayment, Italie)		Golfe d'Annaba (Algérie)	
	Chronologie d'apparition	Diamètre (µm)	Chronologie d'apparition	Diamètre (µm)	Chronologie d'apparition	Diamètre (µm)
<b>Ovogénèse</b>	juin-octobre (2006)	36,2 -231,3	Juin - septembre (2006)	40 - 152	aout-septembre (2016)	76 -221
<b>Spermatogénèse</b>	aout- octobre (2006)	30 - 50	Septembre - octobre (2006)	32 - 44	septembre (2016)- octobre (2017)	44 - 60
<b>Embryogénèse</b>	février- mars (2006) - aout (2006) - février (2007)	253,15 - 415,1	Septembre (2006) - juin (2007)	322,1 - 396,3	novembre (2016) - avril (2017)	364 - 604
Stade larvaire	-	-	Juin - juillet (2007)	371,3	juin (2016) - avril- mai (2017)	335- 640

# CONCLUSION & PERSPECTIVES

Cette étude est une contribution à la connaissance des Spongiaires dans le golfe d'Annaba avec un intérêt particulier pour la contamination métallique *via* ce modèle biologique. L'objectif principal de cette investigation était de contribuer au développement de modèles biologiques susceptibles de prévoir des changements environnementaux, comme c'est le cas du modèle éponge qui a été choisi comme bioindicateur. Dans notre cas, nous avons choisi *Sarcotragus spinosulus* qui est une espèce abondante dans la zone d'étude (golfe d'Annaba) à partir de très faibles profondeurs (0,5 m).

L'inventaire qualitatif des différents échantillons d'éponges collectées aléatoirement dans le golfe d'Annaba (entre Cap de Garde – plage de Lever de l'Aurore) nous a permis d'identifier 9 espèces dont la majorité est commune dans la Méditerranée. C'est l'ordre des Dictyoceratida qui est le mieux représenté avec 3 espèces et ce sont les espèces appartenant à la famille des Irciniidae qui sont les plus fréquentes. Cette étude systématique et taxonomique des éponges apporte un complément à l'inventaire de la biodiversité de la macrofaune benthique des côtes algériennes d'une manière générale et du golfe d'Annaba en particulier pour une meilleure connaissance de nos ressources en vue de leur conservation et leur gestion durable et soutenue.

Les variations de la température des eaux de surface du golfe d'Annaba font ressortir deux grandes périodes thermiques, une période froide et une période chaude, le pH de l'eau est alcalin et la salinité est plus moins stable et en accord avec les moyennes observées en mer Méditerranée et avec celles mesurées habituellement sur les côtes algériennes.

D'une manière générale, nous avons constaté que l'accumulation des métaux lourds étudiés chez *S. spinosulus* variait d'une station à une autre et d'une saison à une autre, selon le degré de perturbation du site.

L'analyse de la distribution spatiale des éléments traces métalliques montrent l'existence d'une différence très hautement significative pour l'ensemble des éléments dosés à l'exception du cuivre qui ne montre aucune différence significative entre les deux stations. Les variations saisonnières entre les deux stations, mettent en évidence des teneurs élevées des métaux dans les tissus de *S. spinosulus* en période hivernale et printanière à l'exception du zinc où nous notons uniquement un pic estival.

Ces résultats préliminaires montrent que l'éponge *S. spinosulus* est capable de procéder à une bioconcentration particulièrement des métaux mais que les réponses sont très variables en fonction de l'élément trace.

Dans cette étude préliminaire, l'éponge *S.spinosulus* en particulier et les spongiaires en générale semble être d'excellents modèles bioindicateurs très sensibles aux variations environnementales et qui pourraient être performants dans les programmes de biosurveillance de la perturbation environnementale du golfe d'Annaba, associé à l'exploitation des biomarqueurs du stress oxydant qui peuvent rendre compte d'un large spectre de polluants, dont les travaux antérieurs sur les éponges ont concernés uniquement les métallothioneines.

Les biomarqueurs fournissent des signaux d'alarmes précoces sur les effets biologiques des contaminants, d'où leur utilisation à titre indicatif et préventif d'une exposition et/ou d'effets des xénobiotiques. Dans la présente étude, les biomarqueurs utilisés sont le glutathion (GSH), le glutathion-S-transférase (GST) et malondialdéhyde (MDA). Ainsi, sur l'ensemble des résultats obtenus, l'effet des saisons et du site de prélèvement est significativement mis en évidence concernant les biomarqueurs du stress oxydant de phase I et II du système de détoxification, déterminés au niveau des tissus de l'éponge *S. Spinosulus*. Ces organismes marins présentent une variabilité de défense.

Les fluctuations de nos biomarqueurs semblent refléter une perturbation du milieu marin, et peuvent être employés dans les programmes de surveillance métallique chez les organismes sentinelles comme les éponges.

Le cycle de reproduction de la demosponge *S. spinosulus* du golfe d'Annaba a été étudié de juin 2016 à mai 2017 sur 6 individus marqués dont la plupart des spécimens présentaient un hermaphrodisme avec production simultanée d'ovocytes et de cystes spermatiques au cours du même mois. Les jeunes ovocytes ont fait leur apparition d'aout à septembre. Les ovocytes matures, sont présents en septembre, concomitamment avec l'apparition de cystes spermatiques. Les embryons étaient présents pendant 6 mois, de novembre à avril alors que le développement larvaire s'est produit d'avril à juin.

Les perspectives qui se dégagent de l'ensemble de ce travail seraient :

- de compléter l'inventaire des éponges des côtes Est algériennes dans une perspective d'améliorer les connaissances sur leur biodiversité et leur écologie mais aussi amener à les considérer dans les programmes de recherche et de bio-surveillance.
- d'utiliser *S. spinosulus* comme « traceur » de la contamination métallique passée qui présente un grand intérêt dans le cadre des programmes de surveillance à long terme.
- d'élargir l'utilisation de cette espèce dans la bio surveillance de l'écosystème côtier algérien

- d'élargir la liste des ETM à doser (Cr, Hg, As, Fe...) pour une meilleure évaluation du niveau de contamination de l'écosystème côtier.
- de doser d'autres biomarqueurs plus sensibles, telle que la métallothionéine.
- déterminer l'impact de la pollution sur les performances du cycle de reproduction de cette espèce.
- déterminer l'effort de reproduction de cette espèce et étudier les relations entre le cycle de reproduction et les fluctuations de température.

# RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbes, A., Chouahda, S., & Soltani, N. (2003).** Activité comparée de deux biomarqueurs du stress environnemental dans divers tissus chez deux espèces de bivalves pêchées dans la région d'Annaba. *Bulletin INSTM*, 8, 123-126.
- Abdennour, C, Drif, F., Boulakoud, M. S., & Ounissi, M. (2010).** Trace metals in mussel *Donax trunculus* of Annaba estuaries, Algeria. *Oceanography*. 3, 15–20.
- Abdennour, C., Smith, B., Boulakoud, M., Samraoui, B., & Rainbow, P. (2011).** Trace metals in marine, brackish and freshwater prawns (Crustacea, Decapoda) from northeast Algeria. *Hydrobiologia*, 432, 217-227.
- Abed, C. (2011).** Spongiaires Ircinidae de Méditerranée : chimiotaxonomie, métabolites volatils et bio-indicateurs de pollution par les éléments traces métalliques. Thèse de Doctorat en Océanographie. Université de la Méditerranée Aix-Marseille II. Ecole Doctorale Science de l'environnement. 1-301p.
- Abdul Wahab, M.A., de Nys, R., & Whalan S. (2012).** Closing the lifecycle for the sustainable aquaculture of the bath sponge *Coscinoderma matthewsi*. *Aquaculture*, 324-325, 281–289..
- Ait Alla, A., Mouneyrac, C., Durou, C., Moukrim, A., & Pellerin, J. (2006).** Tolerance and biomarkers as useful tools for assessing environmental quality in the Oued Souss estuary (Bay of Agadir, Morocco). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143(1), 23-29.
- Akcha, F., Izuel, C., Venier, P., Budzinski, H., Burgeot, T., & Narbonne, J. (2000).** Enzymatic biomarker measurement and study of DNA adduct formation in benzo [a] pyrene-contaminated mussels, *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic toxicology*, 49(4), 269-287.
- Ali, M., & Sreekrishnan, T. (2001).** Aquatic toxicity from pulp and paper mill effluents: a review. *Advances in Environmental Research*, 5(2), 175-196.
- Almeida E.A., Miyamoto S., Bairy A.C., Medeiros M.H.G. & Mascio P.D. (2007).** Protective effect of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx) against lipid peroxidation in mussels *Perna perna* exposed to different metals. *Marine Pollution Bulletin*. 49, 386-392.
- Amara R., 2011.** Impact de la pollution sur les écosystèmes côtiers : exemple de la Manche orientale. *Vertigo - La revue électronique en sciences de l'environnement*, Hors-série. DOI : 10.4000/vertigo.10990
- Amiard, J., & Cosson, R. (1997).** Les métallothionéines. *Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.-C., Ramade, F., Masson (Eds.), Biomarqueurs en écotoxicologie–Aspects fondamentaux, Masson, Paris, 53-66.*
- Amiard, J., Caquet, T., & Lagadic, L. (1998).** Les biomarqueurs parmi les méthodes d'évaluation de la qualité de l'environnement. Utilisation de biomarqueurs pour la

- surveillance de la qualité de l'environnement. *Lavoisier Publ., Technique & Documentation, Paris*, 320.
- Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., Aitzar, F.A., Berth, B., Cossu-Leguille, C., Dedourge, O., Denis, F., Durou, C., Geffard, A., Giamberini, L., Huet, M., J., Laroche, J., Lemiere, S., Marchand, J., Minier, C., Mouneyrac, C., Pellerin, J., Pery, A., Rodius, F., Romeo, M., & Vasseur, P. (2008).** Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques. *Edition .Technique & Documentation, France*, p 375
- Amiard, J., Amiard-Triquet, C., Berthet, B., & Metayer, C. (1987).** Comparative study of the patterns of bioaccumulation of essential (Cu, Zn) and non-essential (Cd, Pb) trace metals in various estuarine and coastal organisms. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 106(1), 73-89.
- Aminot, A., & Kérouel, R. (2004).** Caractéristiques physicochimiques majeures. *In* : Aminot, A., Kérouel, R. (Eds.), hydrobiologie des écosystèmes marins : paramètres et analyses. Edition Ifremer. Brest. 41 - 137.
- Amira, A., Sifi, K., & Soltani, N. (2011).** Measure of environmental stress biomarkers in *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba (Algeria). *European Journal of Experimental Biology*, 1(2), 7-16.
- Amira A., 2007.** Evaluation du stress environnemental chez *Donax trunculus* : Mesure de biomarqueurs (GSH et MDA) et corrélation avec le métabolisme lipido-glucidique durant la période de reproduction au niveau du Golfe d'Annaba. Mémoire de Magistère en Biologie et physiologie Animale Option Reproduction et développement. Université Badji Mokhtar d'Annaba., 79 p
- Amri, S., Bensouilah, M., & Ouali, K. (2017).** Variation of the Condition Index and Sex-ratio of the Sea Urchin *Paracentrotus lividus* in the Southeast Mediterranean. *Journal of Biological Sciences*, 17(2), 76-83.
- Amri S., (2018).** Utilisation de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Lamarck,1816) en tant que bioindicateur général de la qualité du milieu marin.Thèse de Doctora, Option : Biologie animale , Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie : 227p
- Anonyme ., (1976).** Extension du port d'Annaba. Etude générale des conditions naturelles dans le golfe (Synthèse finale du LCHF). 41p.
- Anonyme, (2011).** Coastal eutrophication A review of the situation along the French coasts. Rapport de l'Ifremer, 59p.
- Aoudjit, N. (2001).** Etude de certains facteurs biologiques de la contamination du bogue (*Boops boops*) par les métaux lourds provenant de la baie d'Oran. Mémoire de Magistère, Université d'Oran, 120p.

- Attig, H., Kamel, N., Sforzini, S., Dagnino, A., Jamel, J., Boussetta, H., Banni, M. (2014).** Effects of thermal stress and nickel exposure on biomarkers responses in *Mytilus galloprovincialis* (Lam). *Marine Environmental Research*, 94, 65-71.
- Ayada. M ; Amira. A.B ; Retima. A.K. (2018)** Distribution of the *Triplos* species (dinoflagellata) from Annaba Bay (Southwestern Mediterranean Sea). *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)*. 12 (2) : 40-50.
- Baldacconi, R., Nonnis-Marzano, C., Gaino, E., & Corriero, G. (2007).** Sexual reproduction, larval development and release in *Spongia officinalis* L.(Porifera, Demospongiae) from the Apulian coast. *Marine biology*, 152(4), 969-979.
- Barnabé, G. (1991).** Bases biologiques et écologiques de l'aquaculture. Edition Lavoisier. France. 489p.
- Basuyaux, O., Caplat, C., Le Glatin, S., & Mahaut, M.L. (2013).** Spontox 2011-2012. Utilisation d'*Hymeniacidon perlevis* comme indicateur de l'environnement littoral. Rapport d'étude 2011-2012: 144.
- Bates, W. R. (2005).** Environmental factors affecting reproduction and development in ascidians and other protochordates. *Canadian Journal of Zoology*, 83(1), 51-61.
- Beiring, E. A., & Lasker, H. R. (2000) Egg production by colonies of a gorgonian coral. *Mar Ecol Prog Ser* 196:169–177
- Belabed, B.E., 2010.** La pollution par les métaux lourds dans la région d'Annaba « sources de contamination des écosystèmes aquatiques». Thèse de doctorat. Option : biologie et physiologie des organismes marins. Université Badji Mokhtar. Annaba. Algérie.199p
- Belabed, B.-E., Laffray, X., Dhib, A., Fertouna-Belakhal, M., Turki, S., & Aleya, L. (2013).** Factors contributing to heavy metal accumulation in sediments and in the intertidal mussel *Perna perna* in the Gulf of Annaba (Algeria). *Marine Pollution Bulletin*, 74(1), 477-489.
- Belabed, B.-E., Meddour, A., Samraoui, B., & Chenchouni, H. (2017).** Modeling seasonal and spatial contamination of surface waters and upper sediments with trace metal elements across industrialized urban areas of the Seybouse watershed in North Africa. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189(6), 265.
- Belabed, S., & Soltani, N. (2013).** Acute toxicity of cadmium on *Donax trunculus*: acetylcholinesterase, glutathione S-transferase activities and pattern of recovery. *European Journal of Experimental Biology*, 3(2), 54-61.
- Beldi H, (2007).** Étude de *Gambusia affinis* (Poisson, Téléostéen) et *Donax trunculus* (Mollusque, Pélécy-pode) : écologie, physiologie et impacts de quelques altéragènes. Thèse de doctorat d'état en Sciences Naturelles, mention Biologie Animale. Université d'Annaba : 105p.

- Beldi, H., Gimbert, F., Maas, S., Scheifler, R., & Soltani, N. (2006).** Seasonal variations of Cd, Cu, Pb and Zn in the edible mollusc *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba, Algeria. *African Journal of Agricultural Research*, 1(4), 85-90.
- Belhaouari, B., Rouane-Hacene, O., Bouhadiba, S., & Boutiba, Z. (2011).** Use of a marine gasteropod *Osilinus turbinatus* in marine biomonitoring application to heavy metals from the western Algerian coast. *J. Sci. Ha. Aqu.*, 1(3): 89-96.
- Ben Kahla-Nakbi, A., Haouas, N., El Ouaer, A., Guerbej, H., Ben Mustapha, K., & Babba, H. (2010).** Screening of antileishmanial activity from marine sponge extracts collected off the Tunisian coast. *Parasitology Research*, 106, 1281–1286.
- Ben Mustapha, K., Chaouch, M., & Dhahbi, L. (2007)** – Mise à jour de la nomenclature des Démosponges de Tunisie. *Bull. Inst. Océanogr. Pêche. Salammbô*, 34 : 61-68
- Ben Mustapha, K., Zarrouk, S., Souissi, A., & El Abed, A., (2003).** Diversité des Démosponges tunisiennes. *Bull. Inst. Océanogr. Pêche. Salammbô*, 33 : 55-78.
- Ben Mustapha, K. (2007).** Démosponges littorales des Iles de Kerkennah (Tunisie). *Bull. Inst. Océanogr. Pêche. Salammbô*, 34, 37-60.
- Benali, I., Boutiba, Z., Merabet, A., & Chèvre, N. (2015).** Integrated use of biomarkers and condition indices in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) for monitoring pollution and development of biomarker index to assess the potential toxic of coastal sites. *Marine Pollution Bulletin*, 95(1), 385-394.
- Bendjoudi, D., Zouaoui, F., Errahmani, M. B., Bendjeddou, K., & Chekir, N. (2013).** Mesure de deux biomarqueurs catalase et malondialdéhyde chez *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis* (Mollusca, Bivalvia) suite à une contamination aigüe par *Staphylococcus aureus*. Travaux de l'Institut Scientifique, Rabat, *Série Zoologie*, 49, 19-27.
- Benguedda-Rahal, W. (2012).** Contribution à l'étude de la bioaccumulation métallique dans les sédiments et différents maillons de la chaîne trophique du littoral Extrême Ouest Algérien. Thèses de Doctorat en écologie et environnement. Université de Tlemcen, Algérie. 117 p
- Bergquist, P. R. (2001).** "Porifera (Sponges)". *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd. doi:10.1038/npg.els.0001582.
- Bermond, R. & Vuichard, R. (1973).** Les paramètres de la qualité des eaux. Documentation Française, Paris, 179 p.
- Bertolino, M., Cerrano, C., Bavestrello, G., Carella, M., Pansini, M., & Calcinaï, B. (2013)** Diversity of Porifera in the Mediterranean coralligenous accretions, with description of a new species. *ZooKeys*, 336, 1–37.

- Bhaud, M., Cha, J., Duchene, J., & Nozais, C. (1995).** Influence of temperature on the marine fauna: what can be expected from a climatic change. *Journal of Thermal Biology*, 20(1-2), 91-104
- Bianchi C.N., Morri C., Chiantore M., Montefalcone M., Parravicini V. & A. Rovere, (2012).** - Mediterranean Sea biodiversity between the legacy from the past and a future of change. In: Stambler N. Ed. Life in the Mediterranean Sea: a look at habitat changes. *Nova Science Publishers, New York*: 1-55.
- Bianchi, C. N., & Morri, C. (2000).** Marine biodiversity of the Mediterranean Sea: situation, problems and prospects for future research. *Marine pollution bulletin*, 40(5), 367-376.
- Blackmore, G & Wang, W.X. (2003).** Inter-population differences in Cd, Cr, Se, and Zn accumulation by the green mussel *Perna viridis* acclimated at different salinities. *Aquatic Toxicology*. 62, 205–218.
- Blaise, C., Gagné, F., Pellerin, J., Hansen, P. D., & Trottier, S. (2002).** Molluscan shellfish biomarker study of the Quebec, Canada, Saguenay Fjord with the soft-shell clam, *Mya arenaria*. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 17(3), 170-186.
- Blanchette, B. N., & Singh, B. R. (1999).** Purification and characterization of the glutathione-S-transferases from the northern quahog *Mercinaria mercinaria*. *Marine biotechnology*, 1(1), 74-80.
- Boryslawskyj, M., Garrod, A. C., Pearson, J. T., & Woodhead, D. (1988).** Elevation of glutathione-S-transferase activity as a stress response to organochlorine compounds, in the freshwater mussel, *Sphaerium corneum*. *Marine environmental research*, 24(14), 101-104.
- Bouamama. K., El Bour. M, Ben Mustapha. K et El Abed. A. (2009).** Etude De La Diversite Des Eponges (Porifera : Demospongiae) De La Cote Tunisienne. *Bull. Inst. Nam. Scien. Tech. Mer de Salammbô*. Vol 36. P.159-167.
- Boucetta, S., Derbal, F., Boutiba, Z., & Kara, M. H. (2010).** First biological data on the marine snails *osilinus turbinatus* (gastropoda, trochidae) of eastern coasts of Algeria. *Global Change: Mankind-Marine Environment Interactions*, 57: 321-324.
- Boucetta, S., Beldi, H., & Draredja, B. (2016).** Effects of metal pollution on the activities of Acetylcholinesterase and glutathione-S-transferase in *Phorcus* (*Osilinus*) *turbinatus* (Gastropoda, Trochidae) of the coast East-Algerian. *Advances in Environmental Biology*, 10(5), 46-61.
- Bouchelagem, M.E.H. (2017).** Approche spatio-temporelle de l'ichtyofaune du bassin de la Seybouse (Algérie, Nord-Est). Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques, Université de Guelma, Algérie, 104 p.

- Bouderbala, M., BOUTIBA, Z., & Abdelghanib, F. (1996).** La pollution par les métaux lourds des cétacés des côtes ouest algérienne. *Actes du colloque national Climat Environnement (ARCE)* ; Oran, Algérie
- Boudinar, A.S., (2016).** Recherches sur la morphologie et la génétique du complexe *Atherina boyeri* en Méditerranée occidentale et biologie de l'espèce dans la lagune Mellah. Thèse de Doctorat. Option : bioressources marines. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.182.
- Boudouresque, C. F. (1996).** Impact de l'homme et conservation du milieu marin en Méditerranée. GIS Posidonie publ., 2<sup>ème</sup> édition., Marseille : 1-243.
- Boudouresque C.F., (2004).** Marine biodiversity in the Mediterranean: Status of species, populations and communities. *Scientific Reports of Port-Cros National Park, France*, 20: 97-146.
- Bouhayene, S., (2015).** Evaluation bactériologique des zones de baignade de la baie de Skikda (N.E Algérien). Thèse de doctorat. Option : biologie marine. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.123.
- Boujema, K., Meknachi, A., Kourdali, S., Bounakous, N., Badis, A.(2016).** Effect of sublethal concentrations of heavy metals (cadmium, lead, and copper) on the soluble nitrogen and phosphorus excretion of marine brown mussel (*Perna perna*) (Linnaeus, 1758) (Mollusca; Bivalvia). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies* 4(2): 455-462.
- Boukari, H. (2006).** Démosponges du Cap Bon et du Banc Hallouf : Systématique et Ecologie. Mastère de Biologie Intégrative des Ecosystèmes littoraux. Université de Tunis, Faculté des Sciences de Tunis. 107p.
- Bourrinet P., Ramade F., & Remond-Gouilloud M. (2008).** Pollution. [cbhg.org/wp-content/uploads/2008/06/pollution-eu.pdf](http://cbhg.org/wp-content/uploads/2008/06/pollution-eu.pdf).
- Boutabia- Trea, S. (2016),** *Posidonia oceanica* (L) Delile, Bioindicateur de la pollution métallique du golfe d'Annaba (Nord Est Algérien). Thèse de Doctorat., Option : biologie végétale. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. 238p
- Boutet, I., Tanguy, A., & Moraga, D. (2004).** Response of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to hydrocarbon contamination under experimental conditions. *Gene*, 329, 147-157.
- Boutiba Z, Taleb Z & Abi-Ayad S.M.E.A, (2003).** Etat de la pollution marine de la côte Oranaise. *Edit : Dar El Gharb*.Algérie : 69p.
- Bouzenda, R., Soltani, N., & Khebbeb, M.E.H. (2017).** Assessment of pollution in the Gulf of Annaba (Algeria) by monthly measurements of two biomarkers in a fish species *Liza aurata*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(1): 366-372.

- Bowen, B & Sutton D. (1951).** Comparative studies of mineral constituents of marine sponges. *Mar. Res.* (10), 153-167.
- Boyd, R. S. (2010).** Heavy metal pollutants and chemical ecology: exploring new frontiers. *Journal of chemical ecology*, 36(1), 46-58.
- Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72, 248-254.
- Brown, R.J., Galloway, T.S., Lowe, D., Browne, M.A., Dissanayake, A., Jones, M.B. & Depledge, M.H. (2004).** Differential sensitivity of three marine invertebrates to copper assessed using multiple biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 66, 267-278.
- Bryan, G.W. (1984).** Pollution due to heavy metals and their compounds. In: *Marine Ecology*. O. Kinne (ed), John Wiley and Sons Ltd, London, 1289-1431.
- Burger, J., Gochfeld, M., & Jewett, S. (2006).** Selecting species for marine assessment of radionuclides around Amchitka: planning for diverse goals and interests. *Environmental monitoring and assessment*, 123(1-3), 371-391.
- Burns, E., Ifrach, I., Carmeli, S., Pawlik, J. R., & Ilan, M. (2003).** Comparison of anti-predatory defenses of Red Sea and Caribbean sponges. I. Chemical defense. *Marine Ecology Progress Series*, 252, 105-114.
- Cajaraville, M. P., Bebianno, M. J., Blasco, J., Porte, C., Sarasquete, C., & Viarengo, A. (2000).** The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *Science of the Total Environment*, 247, 295-311.
- Canesi, L., Lorusso, L., Ciacci, C., Betti, M., Regoli, F., Poiana, G., & Marcomini, A. (2007).** Effects of blood lipid lowering pharmaceuticals (bezafibrate and gemfibrozil) on immune and digestive gland functions of the bivalve mollusc, *Mytilus galloprovincialis*. *Chemosphere*, 69(6), 994-1002.
- Carballo, J.L., Sánchez-Moyano, J.E., & Garcia-Gomez, J.C (1994).** Esponjas del Estrecho de Gibraltar. I. Esponjas corneas. *Graellsia*, 50, 25-56.
- Casas, S., (2005).** Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces «Hg, Cd, Pb, Zn et Cu» chez la moule *Mytilus galloprovincialis* en milieu Méditerranéen. Thèse doctorat en Océanologie biologique, Environnement marin, Université Du SUD TOULON VAR, 356 p.
- Cebrian, E., Uriz, M. J., & Turon, X. (2007).** Sponges as biomonitors of heavy metals in spatial and temporal surveys in northwestern Mediterranean: multispecies comparison. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26(11), 2430-2439.

- Chanas, B., Pawlik, J. R., Lindel, T., & Fenical, W. (1996).** Chemical defense of the Caribbean sponge *Agelas clathrodes* (Schmidt). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 208, 185-196.
- Charmantier, A., McCleery, R. H., Cole, L. R., Perrins, C., Kruuk, L. E., & Sheldon, B. C. (2008).** Adaptive phenotypic plasticity in response to climate change in a wild bird population. *science*, 320, 800-803.
- Chatterjee, S., & Bhattacharya, S. (1984).** Detoxication of industrial pollutants by the glutathione glutathione-S-transferase system in the liver of *Anabas testudineus* (Bloch). *Toxicology letters*, 22(2), 187-198.
- Chen, Y., Shertzer, H. G., Schneider, S. N., Nebert, D. W., & Dalton, T. P. (2005).** Glutamate Cysteine ligase catalysis dependence on ATP and modifier subunit for regulation of tissue glutathione levels. *Journal of Biological Chemistry*, 280(40), 66-74.
- Chiavarà D., (1920).** Le sponge ei loro pescatori dai tempi antichi ad ora. Memorie del Regio Comitato Talassografico Italiano. 74 : 1-49.
- Chiffoleau J.F., Claisse, D., Cossa D., Ficht A., Gonzalez J.L., Guyot T., Michel P., Miramand P., Oger C., & Petit F., (2001).** La contamination métallique. Programme Seine-Aval, fascicule n°8, 39 p. Editions IFREMER, Plouzané (France). ISBN 2-84433-065-7.
- Chouahda, S. (2006).** Impact de deux xénobiotiques (cadmium et halofenozide) sur *Gambusia Affinis* et évaluation du stress environnemental dans le golfe d'Annaba par l'utilisation de *Donax trunculus*. Mémoire de Magister, Université Badji Mokhtar d'Annaba., 76p.
- Clark, R.B (2001).** Marine Pollution, Oxford University Press, Oxford
- Clemens, S. (2001).** Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta*, 212(4), 475-486.
- CNERU (1980).** Etudes et réalisations en urbanisme. Recueil sur la zone industrielle d'El-Hadjar, Algérie, 42 p.
- Coffinet, S., Cossu-Leguille, C., Rodius, F., & Vasseur, P. (2008).** Glutamate cysteine ligase (GCL) in the freshwater bivalve *Unio tumidus*: Impact of storage conditions and seasons on activity and identification of partial coding sequence of the catalytic subunit. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 151(1), 88-95.
- Coimbra, J., & Carraça, S. (1990).** Accumulation of Fe, Zn, Cu, and Cd during the different stages of the reproductive cycle in *Mytilus edulis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 95(2), 265-270.

- Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Kaschner, K., Lasram, F. B. R., Aguzzi, J., & Dailianis, T. (2010).** The biodiversity of the Mediterranean Sea: estimates, patterns, and threats. *Plos one*, 5(8), 11842.
- Contardo-Jara, V., Klingelmann, E., & Wiegand, C. (2009).** Bioaccumulation of glyphosate and its formulation Roundup Ultra in *Lumbriculus variegatus* and its effects on biotransformation and antioxidant enzymes. *Environmental Pollution*, 157(1), 57-63.
- Corriero, G., Liaci, L. S., Marzano, C. N., & Gaino, E. (1998). Reproductive strategies of *Mycalecontarenii* (Porifera: Demospongiae). *Marine biology*, 131(2), 319-327.
- Corriero, G., Sarà, M., & Vaccaro, P. (1996).** Sexual and asexual reproduction in two species of *Tethya* (Porifera: Demospongiae) from a Mediterranean coastal lagoon. *Marine biology*, 126(2), 175-181.
- Cossu, C., Doyotte, A., Jacquin, M. C., & Vasseur P. (1997a).** Mécanismes de formation et effets des espèces réactives de l'oxygène. In: Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C., Ramade F. (Eds.), *Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects Fondamentaux*. Masson, Paris, 126-147.
- Cossu, C., Doyotte, A., Jacquin, M., Babut, M., Exinger, A., & Vasseur, P. (1997b).** Glutathione reductase, selenium-dependent glutathione peroxidase, glutathione levels, and lipid peroxidation in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, as biomarkers of aquatic contamination in field studies. *Ecotoxicology and environmental safety*, 38(2), 122-131.
- Cravo, A., Lopes, B., Serafim, Â., Barreira, L., Gomes, T., & Bebianno, M. J. (2009).** Multibiomarker approach in *Mytilus galloprovincialis* to assess environmental quality. *Journal of Environmental Monitoring*, 11(9), 1673-1686.
- Cunha, I., Mangas-Ramirez, E., & Guilhermino, L. (2007).** Effects of copper and cadmium on cholinesterase and glutathione S-transferase activities of two marine gastropods (*Monodonta lineata* and *Nucella lapillus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 145(4), 648-657.
- Damiens, G., Gnassia-Barelli, M., Loquès, F., Roméo, M., & Salbert, V. (2007).** Integrated biomarker response index as a useful tool for environmental assessment evaluated using transplanted mussels. *Chemosphere*, 66(3), 574-583.
- Damiens, G., His, E., Gnassia-Barelli, M., Quiniou, F., & Roméo, M. (2004).** Evaluation of biomarkers in oyster larvae in natural and polluted conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 138(2), 121-128.
- Daniel Mansuy. (2013).** Metabolism of xenobiotics: beneficial and adverse effects. Université Paris Descartes, France. *Biologie Aujourd'hui*, 207 (1), 33- 45.

- Dayton, P. K., Tegner, M. J., Edwards, P. B., & Riser, K. L. (1998).** Sliding baselines, ghosts, and reduced expectations in kelp forest communities. *Ecological Applications*, 8(2), 309-322.
- De Leve, L. D., & Kaplowitz, N. (1991).** Glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity. *Pharmacology & therapeutics*, 52(3), 287-305.
- De Rosa S., Crispino A., Degiulio A., Iodice C., Milone A. (1995)** Sulfated polyprenylhydroquinones from the sponge *Ircinia spinosula*. *Journal of Natural Products*, 58, 1450–1454.
- Derbal F. (2007).** L'ichtyofaune des côtes de l'est algérien: écologie de quatre téléostéens (*diplodus cervinus cervinus*, *d. puntazzo*, *sciaena umbraé*, *epinephelus costae*) et contribution à la biologie du sar tambour *diplodus cervinus cervinus* (lowe, 1838). Thèse de Doctorat d'Etat en Sciences Naturelles Option: Biologie et écologie des populations , Université Badji Mokhtar d'Annaba : 213 P.
- Derbal, F & Kara, M.H. (2005).** Contribution à l'inventaire de la faune invertébrée des côtes de l'est algérien. *In* : INOC & Coastal Protected Areas (Eds. Chouikhi A. & M. Menioui):237-246
- Derbal, F. & Amarouayache, M. (2015).** Etude préliminaire en vue de classement en Aire Marine Protégée de la zone côtière du cap de Garde au Pain de Sucre (Annaba, Algérie). Rapport de mission, Abyss Environnemental Services, 91 p.
- Dermeche, S. (1998).** Teneurs en métaux lourds (cd, pd, cu, zn, et ni) chez l'oursin commun *paracentrotus lividus* (lmk) pêché dans le golfe d'Arzew. Thèse de Doctorat, Université d' Oran : 125p.
- Devauchelle, N. (2002).** Bilans de santé des organismes et des écosystèmes marins. Quels signaux biologiques mesurer? Ifremer. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00000/4195/>
- Deviller, G., Palluel, O., Aliaume, C., Asanthi, H., Sanchez, W., Franco Nava, M. A., Blancheton, J. P., & Casellas, C. (2005).** Impact assessment of various rearing systems on fish health using multibiomarker response and metal accumulation. *Ecotoxicology and environmental safety*, 61(1), 89-97.
- Di Camillo C.G., Coppari M., Bartolucci I., Bo M., Betti F., Bertolino M., Calcinai B., Cerrano C., De Grandis G., Bavestrello G. (2012)** Temporal variations in growth and reproduction of *Tedania anhelans* and *Chondrosia reniformis* in the North Adriatic Sea. *Hydrobiologia*, 687, 299–313.
- Di Leonardo, R., Vizzini, S., Bellanca, A., & Mazzola, A. (2009).** Sedimentary record of anthropogenic contaminants (trace metals and PAHs) and organic matter in a Mediterranean coastal area (Gulf of Palermo, Italy). *Journal of Marine Systems*, 78(1), 136-145.

- Diop, C., Dewaelé, D., Cazier, F., Diouf, A., & Ouddane, B. (2015).** Assessment of trace metals contamination level, bioavailability and toxicity in sediments from Dakar coast and Saint Louis estuary in Senegal, West Africa. *Chemosphere*, 138, 980-987.
- Diop, C., Dewaelé, D., Diop, M., Touré, A., Cabral, M., Cazier, F., & Ouddane, B. (2014b).** Assessment of contamination, distribution and chemical speciation of trace metals in water column in the Dakar coast and the Saint Louis estuary from Senegal, West Africa. *Marine pollution bulletin*, 86(1), 539-546.
- Diop, S., Barousseau, J.-P., & Descamps, C. (2014a).** *The land/ocean interactions in the coastal zone of West and Central Africa*: Springer.
- Djabri, L. (1992).** Mécanismes de la pollution et vulnérabilité des eaux de la Seybouse: Origines géologiques, industrielles, agricoles et urbaines. Thèse de Doctorat d'Etat en sciences. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. 261p.
- Djabri, L., Mania, D., Messadi, A., Hani, R., Djaffer, S., Dffer, S., Benharket, S., Djabri, A., Aidaoui, K., & Boukhmis, A. (1998).** Pollution des eaux de l'oued Seybouse et des nappes de Guelma, Bouchegouf et Annaba (Est Algérien) par les nutriments. *Bull. Intern. Eau Environ*, 20, 16-25.
- Duboit, M (2007),** Cycles de vie et effort de reproduction de l'éponge *Oscarella lobularis* (Homoscleromorpha) et relation avec les fluctuations de température. Rapport Master en Sciences et Technologies Université Bordeaux1 UFR des Sciences Biologiques. 20p
- Duque, C., Bonilla, A., Bautista, E., & Zea, S. (2001).** Exudation of low molecular weight compounds (thiobismethane, methyl isocyanide, and methyl isothiocyanate) as a possible chemical defense mechanism in the marine sponge *Ircinia felix*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29(5), 459-467.
- Durrieu De Madron, X. D., Guieu, C., Sempere, R., Conan, P., Cossa, D., D'Ortenzio, F., & Stemmann, L. (2011).** Marine ecosystems' responses to climatic and anthropogenic forcings in the Mediterranean. *Progress in Oceanography*, 91(2), 97-166.
- Edmunds, P. J., Gates, R. D., & Gleason, D. F. (2001).** The biology of larvae from the reef coral *Poritesastreoides*, and their response to temperature disturbances. *Marine biology*, 139(5), 981-989.
- Engel, S., & Pawlik, J. R. (2000).** Allelopathic activities of sponge extracts. *Marine Ecology Progress Series*. 207, 273-281.
- Epifanio, R. D. A., Gabriel, R., Martins, D. L., & Muricy, G. (1999).** The sesterterpene variabilin as a fish-predation deterrent in the western Atlantic sponge *Ircinia strobilina*. *Journal of chemical ecology*, 25(10), 2247-2254.

- Ereskovsky A.V. (2010)** The Comparative Embryology of Sponges. Springer-Verlag, Dordrecht: 329p.
- Ereskovsky, A. V. (2000).** Reproduction cycles and strategies of the cold-water sponges *Halisarca dujardini* (Demospongiae, Halisarcida), *Myxilla incrustans* and *Iophon piceus* (Demospongiae, Poecilosclerida) from the White Sea. *The Biological Bulletin*, 198(1), 77-87.
- Ereskovsky, A. V., Dubois, M., Ivanišević, J., Gazave, E., Lapebie, P., Tokina, D., & Pérez, T. (2013).** Pluri-annual study of the reproduction of two Mediterranean *Oscarella* species (Porifera, Homoscleromorpha): cycle, sex-ratio, reproductive effort and phenology. *Marine biology*, 160(2), 423-438.
- Ereskovsky, A. V., Geronimo, A., & Pérez, T. (2017).** Asexual and puzzling sexual reproduction of the Mediterranean sponge *Haliclona fulva* (Demospongiae): life cycle and cytological structures. *Invertebrate Biology*, 136(4), 403-421.
- Esper, E. J. C. (1794).** Die Pflanzenthiere in Abbildungen nach der Natur mit Farben erleuchtet, nebst Beschreibungen. Zweyter Theil. (Raspe: Nürnberg): 1-303., available online at <http://digi.ub.uniheidelberg.de/diglit/esper1791>.
- Ettinger-Epstein, P., Whalan, S. W., Battershill, C. N., & de Nys, R. (2007).** Temperature cues gametogenesis and larval release in a tropical sponge. *Marine biology*, 153(2), 171-178.
- Fattorini, D., Notti, A., Di Mento, R., Cicero, A. M., Gabellini, M., Russo, A., & Regoli, F. (2008).** Seasonal, spatial and inter-annual variations of trace metals in mussels from the Adriatic sea: a regional gradient for arsenic and implications for monitoring the impact of off-shore activities. *Chemosphere*, 72(10), 1524-1533
- Faulkner, D. J. (2000).** Highlights of marine natural products chemistry. *Natural Product Reports*, 17, 1-6.
- Feller, O. (1998).** Analyse des métaux lourds dans les eaux de mer par spectrophotométrie d'absorption atomique électrothermique. Thèse de Doctorat en Science. Université de Provence Aix-Marseille I. 1-279p.
- Fernández, B., Campillo, J., Martínez-Gómez, C., & Benedicto, J. (2010).** Antioxidant responses in gills of mussel (*Mytilus galloprovincialis*) as biomarkers of environmental stress along the Spanish Mediterranean coast. *Aquatic Toxicology*, 99(2), 186-197.
- Fitzpatrick, P. J., O'Halloran, J., Sheehan, D., & Walsh, A. R. (1997).** Assessment of a glutathione S-transferase and related proteins in the gill and digestive gland of *Mytilus edulis* (L.), as potential organic pollution biomarkers. *Biomarkers*, 2(1), 51-56.

- Fourest, E. (1993).** Etude des mécanismes de biosorption des métaux lourds par des biomasses fongiques industrielles en vue d'un procédé d'épuration des effluents aqueux contaminés. Université Joseph Fourier (Grenoble 1).
- Fränze, O. (2003).** Bioindicators and environmental stress assessment. Bioindicators and biomonitors: principles, concepts and applications, B.A. Market, A.M. Breure, H.G. Zechmeister, editors (Amsterdam : Elsevier Science Ltd.), 41-84.
- Frehi, H. (1995).** Etude de la structure et du fonctionnement du système phytoplanctonique dans un écosystème marin côtier. Eutrophisation de la baie d'Annaba. Mémoire de Magister en Sience de la Mer. Université Badji Mokhtar d'Annaba. Algérie. 103p.
- Frehi, H., Ayada, M., Kara, M.H., & Coute, A. (2007).** Hydrobiologie de la baie d'Annaba (Algérie nord est): Caractères physico-chimiques et biomasse chlorophyllienne. *Rapp. Comm. int. Mer Méditer.*, 37. 359 p.
- Fresi, E., Scardi, M., & Penna, M. (2005).** Assessing environmental quality in benthic ecosystems : the role of community structure models. Indicators of stress in the marine benthos, IOC workshop report N°. 195, p. 45.
- Fromont, J. (1999).** Reproduction of some demosponges in a temperate Australian shallow water habitat. *Memoirs-Queensland Museum*, 44, 185-192.
- Frouin, H., Pellerin, J., Fournier, M., Pelletier, E., Richard, P., Pichaud, N., & Garnerot, F. (2007).** Physiological effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on soft-shell clam *Mya arenaria*. *Aquatic Toxicology*, 82(2), 120-134.
- Funes, V., Alhama, J., Navas, J., López-Barea, J., & Peinado, J. (2006).** Ecotoxicological effects of metal pollution in two mollusc species from the Spanish South Atlantic littoral. *Environmental Pollution*, 139(2), 214-223.
- Gagneux-Moreaux, S. (2006).** Les métaux (Cd, Cu, Pb et Zn) dans la production des microalgues sur différents milieux de culture: biodisponibilité, bioaccumulation et impact physiologique. Thèse de Doctorat en biologie marine. Université de Nantes.257p.
- Gaïd, A., 1986.** L'eutrophisation des lacs et barrages. *Rev. Eaux et Sols d'Algérie*. 2 - 92, 72 - 82.
- Gaino, E., Burlando, B., Zunino, L., Pansini, M., & Buffa, P. (1984).** Origin of male gametes from choanocytes in *Spongia officinalis* (Porifera, Demospongiae). *International journal of invertebrate reproduction and development*, 7(2), 83-93.
- Gaino, E., Frine, C., & Giuseppe, C. (2010).** Reproduction of the Intertidal Sponge *Hymeniacidon perlevis* (Montagu) Along a Bathymetric Gradient. *Open Marine Biology Journal*, 4, 47-56.
- Galloway, T. S. (2006).** Biomarkers in environmental and human health risk assessment. *Marine pollution bulletin*, 53, 606-613.

- Galloway, T. S., Brown, R. J., Browne, M. A., Dissanayake, A., Lowe, D., Depledge, M. H., & Jones, M. B. (2006).** The ECOMAN project: a novel approach to defining sustainable ecosystem function. *Marine pollution bulletin*, 53, 186-194.
- Galloway, T. S., Brown, R. J., Browne, M. A., Dissanayake, A., Lowe, D., Jones, M. B., & Depledge, M. H. (2004).** A multibiomarker approach to environmental assessment. *Environmental Science & Technology*, 38(6), 1723-1731.
- Gazave, E., Lapebie, P., Renard, E., Vacelet, J., Rocher, C., Ereskovsky, A. V., Lavour, D. V., & Borchellini, C. (2010).** Molecular Phylogeny Restores the Supra-Generic Subdivision of Homoscleromorph Sponges (Porifera, Homoscleromorpha). *PLoS ONE* 5(12): e14290. doi:10.1371/journal.pone.0014290.
- Gentric, C., Rehel, K., Dufour, A., & Sauleau, P. (2016).** Bioaccumulation of metallic trace elements and organic pollutants in marine sponges from the South Brittany Coast, France. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 51(3), 213-219.
- George, S. G., & Buchanan, G. (1990).** Isolation, properties and induction of plaice liver cytosolic glutathione-S-transferases. *Fish Physiology and Biochemistry*, 8(6), 437-449.
- George, N. S & Young, G. (1988).** Purification and properties of plaice liver cytosolic glutathione s- transferase peroxidase activity from *Arabidopsis thaliana* family includes a nuclear chloride channel and a ryanodine. *Marine Environmental Research*, 24, 93-96.
- Gérard, M. (2001).** Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport d'information n° 261 (2000-2001), fait au nom de l'Office parlementaire d'évaluation des choix scient. tech.
- Gerasimova, E. I., & Ereskovsky, A. V. (2007).** Reproduction of two species of Halichondria (Demospongiae: Halichondriidae) in the White Sea. In: Custodio M.R., Lobo-Hajdu G., Hajdu E., Muricy G. (Eds), *Porifera Research, Biodiversity, Innovation and Sustainability. Série Livros 28.* Museu Nacional de Rio de Janeiro, Rio de Janeiro: 327–333.
- Gillet, P. (2018).** Histoire de l'écotoxicologie. *SMETox Journal*, 1(1), 01-04.
- Gluszczak, L., dos Santos Miron, D., Moraes, B. S., Simões, R. R., Schetinger, M. R. C., Morsch, V. M., & Loro, V. L. (2007).** Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 146(4), 519-524.
- Golani, I., Mehta, D., Naliyadhara, M., Pandya, H., & Purohit, V. (2007).** A study on genetic diversity and genetic variability in brinjal. *Agricultural Science Digest*, 27(1), 22-25.
- Goldberg, E.D. (1986).** The mussel watch concept. *Environmental monitoring and assessment*, 7(1), 91-103.

- Gonzalez J.L., Chiffolleau, J.F., Miramand, P., Thouvenin, B., Guyot, T., (1999).** *Le cadmium: comportement d'un contaminant métallique en estuaire* Programme Seine-Aval, fascicule n°10, 31 p. Editions IFREMER, Plouzané (France). ISBN 2-84433-027-4.
- Gorbi, S., Lamberti, C. V., Notti, A., Benedetti, M., Fattorini, D., Moltedo, G., & Regoli, F. (2008).** An ecotoxicological protocol with caged mussels, *Mytilus galloprovincialis*, for monitoring the impact of an offshore platform in the Adriatic sea. *Marine Environmental Research*, 65(1), 34-49.
- Gowland, B., McIntosh, A., Davies, I., Moffat, C., & Webster, L. (2002).** Implications from a field study regarding the relationship between polycyclic aromatic hydrocarbons and glutathione S-transferase activity in mussels. *Marine environmental research*, 54(3), 231-235.
- Grant, J. (1996).** The relationship of bioenergetics and the environment to the field growth of cultured bivalves. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 200 (2), 239-256.
- Gravato, C., Oliveira, M., & Santos, M. (2005).** Oxidative stress and genotoxic responses to resin acids in Mediterranean mussels. *Ecotoxicology and environmental safety*, 61(2), 221-229.
- Griffith, O. W. (1999).** Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(9-10), 922-935.
- Guerzoni, S., Chester, R., Dulac, F., Herut, B., Loÿe-Pilot, M.-D., Measures, C., Rossini, P. (1999).** The role of atmospheric deposition in the biogeochemistry of the Mediterranean Sea. *Progress in Oceanography*, 44(1), 147-190.
- Guerzoni, S., Molinaroli, E., & Chester, R. (1997).** Saharan dust inputs to the western Mediterranean Sea: depositional patterns, geochemistry and sedimentological implications. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 44(3-4), 631-654.
- Guieu, C., Chester, R., Nimmo, M., Martin, J.-M., Guerzoni, S., Nicolas, E., Keyse, S. (1997).** Atmospheric input of dissolved and particulate metals to the northwestern Mediterranean. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 44, 655-674.
- 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.
- Hadjadji, I., Frehi, H., Ayada, L., Abadie, E., & Collos, Y. (2014).** A comparative analysis of Alexandrium catenella/tamarense blooms in Annaba Bay (Algeria) and Thau lagoon (France); phosphorus limitation as a trigger. *Comptes rendus biologiques*, 337(2), 117-122.

- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (1997).** Lipid peroxidation in brain homogenates: the role of iron and hydroxyl radicals. *Journal of neurochemistry*, 69(3), 1330-1331.
- Hamdani , A. (2012).** La reproduction chez un mollusque bivalve *Donax trunculus* L. dans le golfe d'Annaba. Rapport entre les aspects cytologiques et biochimiques et la pollution. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar de Annaba : 192p.
- Harrison, F. W., & Cowden, R. R. (1976).** Problems in sponge biology, in *Aspects of Sponge Biology*, Academic Press, New York. 40-43.
- Hemalatha, S., Platel, K., & Srinivasan, K. (2007).** Zinc and iron contents and their bioaccessibility in cereals and pulses consumed in India. *Food Chemistry*, 102(4), 1328-1336.
- Henrikson A. A & Pawlik J. R., 1995.** A new antifouling assay method : Results from field experiments using extracts of four marine organisms. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 194, 157-165.
- Henrikson A. A & Pawlik J. R (1996).** Seasonal variation in biofouling of gels containing extracts of marine organisms. *Biofouling*. 12, 245-255
- Hentschel, U., Usher, K. M., & Taylor, M. W. (2006).** Marine sponges as microbial fermenters. *FEMS Microbiology Ecology*, 55(2), 167-177.
- Hidouci, S. (2015).** Impact des rejets urbains et industriels sur la qualité environnementale du littoral d'Annaba. Thèse de Doctorat, Option : sciences de la mer. Université Badji Mokhtar. Annaba. Algérie.124p
- Hill, M. S., & Hill, A. L. (2002).** *Freshwater sponges as indicators of water pollution: an investigative undergraduate lab*. Paper presented at the Tested Studies for Laboratory Teaching. Proceedings of the 23rd Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE), 392p
- Hinga, K. R. (2002).** Effects of pH on coastal marine phytoplankton. *Mari. Ecol. Prog. Ser.*, 238, 281 - 300.
- Hong, J.Y., & Yang, C. S. (1997).** Genetic polymorphism of cytochrome P450 as a biomarker of susceptibility to environmental toxicity. *Environmental Health Perspectives*, 105, 759-762.
- Hooper, J. N., & Van Soest, R. W. (2002).** Class Demospongiae. *In* : *Systema Porifera a guide to the classification of sponge*. Kluwer Academic/Plenium Publishers. New York.15-17.
- Huang, D., Ou, H., Wang, D., Chen, J., & Ding, S. (2016).** Sexual reproduction of the potentially cultivable sponge *Mycale phyllophila* (Porifera, Demospongiae). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 96(5), 1073-1081

- Huang, H., Wu, J., & Wu, J. (2007).** Heavy metal monitoring using bivalved shellfish from Zhejiang coastal waters, East China Sea. *Environmental monitoring and assessment*, 129(1-3), 315-320.
- Huggett. R.J., Kimerle. R.A., Mehrel. J.R & Bergman. E.D.S., (1992).** Biomarkers : biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress. SETAC. *Spec.publ.Ser. Lewis Publ., Boca Raton.* 5-17.
- Hughes, L. (2000).** Biological consequences of global warming: is the signal already apparent? *Trends in ecology & evolution*, 15, 56-61
- Hussein., K. B. (2015).** *Suivi et évaluation de la structure écologique et biodiversitaire infralittorale de la zone côtière oranaise.* Doctorat, Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella. Thèse de Doctorat en Science de l'environnement. 1- 227p.
- Hyland, J. (2005).** Developing indicators of stress in the marine benthos : the UNESCO/IOC ad-hoc benthic indicator group. Indicators of stress in the marine benthos, IOC workshop report No. 195, 8.
- ICES, (2008).** Report of the Fourth ICES/OSPAR Workshop on Integrated Monitoring of Contaminants and their Effects in Coastal and Open Sea Areas (WKIMON IV). ICES, Copenhagen, Denmark. ICES CM 2008/ACOM: 49) 71 p.
- Iles, K. E., & Liu, R.-M. (2005).** Mechanisms of glutamate cysteine ligase (GCL) induction by 4-hydroxynonenal. *Free Radical Biology and Medicine*, 38(5), 547-556.
- IMGE. (2012).** Impact Mer, Ginger Environnement. Spongiaires des mangroves de Martinique : Atlas Taxonomique. DEAL & ODE Martinique. 104 p.
- Jin, M., & Taylor, R. E. (2005).** Total synthesis of (+)-peloruside A. *Organic Letters*, 7(7), 1303-1305.
- Joiris, C. R., Holsbeek, L., Laroussi Moatemri, N., (1999).** Total and methylmercury in sardines *Sardinella aurita* and *Sardina pilchardus* from Tunisia. *Marine Pollution Bulletin* 38,188-192.
- Kadri, S. E. H., (2015).** Qualité bacteriologique des eaux du littoral Nord Est Algerien. Thèse de Doctorat. Option : biologie et physiologie des organismes marins. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie.191p.
- Kahla-Nakbi, A. B., Haouas, N., El Ouaer, A., Guerbej, H., Mustapha, K. B., & Babba, H. (2010).** Screening of antileishmanial activity from marine sponge extracts collected off the Tunisian coast. *Parasitology research*, 106(6), 1281-1286.
- Kaiser, J. (2001).** *Bioindicators and biomarkers of environmental pollution and risk assessment: Science Publishers.* 45-52

- Karayücel, S., & Karayücel, I. (2000).** The effect of environmental factors, depth and position on the growth and mortality of raft-cultured blue mussels (*Mytilus edulis*). *Aquaculture Research*, 31(12), 893-899.
- Kaye H.R., Reiswig H.M. (1991a)** Sexual reproduction in four Caribbean commercial sponges. I. Reproductive cycles and spermatogenesis. *Invertebrate Reproduction and Development*, 19, 1–11.
- Keeran, W. S., & Lee, R. F. (1987).** The purification and characterization of glutathione S-transferase from the hepatopancreas of the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Archives of biochemistry and biophysics*, 255(2), 233-243.
- Kelly, S. R., Jensen, P. R., Henkel, T. P., Fenical, W., & Pawlik, J. R. (2003).** Effects of Caribbean sponge extracts on bacterial attachment. *Aquatic Microbial Ecology*, 31(2), 175-182.
- Kerdoussi, A. (2010).** La moule *perna perna* peuplant le gofle d'annaba-croissance, reproduction et qualité bactériologique: synécologie fonctionnelle des communautés et parasitisme en milieu aquatique. Doctoral dissertation, Université Badji Mokhtar d'Annaba (Algérie). 167p
- Key, P. B., Wirth, E. F., & Fulton, M. H. (2006).** A review of grass shrimp, *Palaemonetes* spp., as a bioindicator of anthropogenic impacts. *Environmental Bioindicators*, 1(2), 115-128.
- Khammar, H. (2008).** Caracteres chimiques des effluents urbains introduits au littoral d'Annaba. Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar d'Annaba, 49p
- Khati, W., Ouali, K., Mouneyrac, C., & Banaoui, A. (2012).** Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use in biomonitoring. *Energy Procedia*, 18, 784-794.
- Khati-Hadj Moussa, W. (2009).** Etude de la qualite des eaux du golfe d'annaba par l'utilisation d'un mollusque sentinelle, la moule (*Perna perna*). Doctoral dissertation, Université Badji Mokhtar de Annaba (Algérie).177p
- Khebbeb, M.E.H., Nadji, S., & Amrani, A. (2010).** The effect of cadmium exposure on malonaldehyde and reduced glutathione concentrations in several tissues of a bivalve mollusc (*Ruditapes decussatus*) fished from Mellah lagoon (North East of Algeria). *Annals of Biological Research*, 1(2), 166-173.
- Khélifi-Touhami, M., Ounissi, M., Saker, I., Haridi, A., Djorfi, S., & Abdenour, C. (2006).** The hydrology of the Mafrag estuary (Algeria): transport of inorganic nitrogen and phosphorus to the adjacent coast. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 4(2), 340-346.

- Kinne, O. (1970).** Temperature – invertebrates. In Kinne O. (Ed.), *Marine Ecology: A Comprehensive Integrated Treatise of Life in Oceans and Coastal Waters*. London, New York, Sydney, Toronto, Willey Interscience: 407–514.
- Ladhar-Chaabouni, R., Gargouri, R., & Hamza Chaffai, A. (2007).** Effect of cadmium on some biomarkers in the clam *Ruditapes decussatus*: metallothionein quantification using two techniques. *International Journal of Environment and Pollution*, 30(3), 593-605.
- Lafabrie, C. (2007).** Utilisation de *Posidonia oceanica* (L.) Delile comme bio-indicateur de la contamination métallique. Thèse de Doctorat en Biologie. Université de Corse Pasqual Paoli, France:141p.
- Lagadic, L., & Caquet, T. (1996).** Marqueurs biologiques de pollution: des outils au service de l'écotoxicologie. *Phytoma-la Defense des Vegetaux* (480), 10-14.
- Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J., & Ramade, F. (1998).** Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. *Ed. Lavoisier, Tec&Doc. Paris*, 320.
- Lagadic, T.H., Caquet, T., Amiard, J.C., & Ramade, F. (1997).** Biomarqueurs en Ecotoxicologie, Aspects Fondamentaux. Ed. Masson, France, 419.
- Laubier, L. (2003).** Changement et vulnérabilité des peuplements marins côtiers. *C.R. Geoscience*. 335, 561-568.
- Lavrov, A., & Kosevich, I. (2017).** Sponge cell reaggregation: inter-and intraspecific variations. Изучение, рациональное использование и охрана природных ресурсов Белого моря.– СПб. 303.
- LeBlanc, G. A., & Cochrane, B. J. (1987).** Identification of multiple glutathione S-transferases from *Daphnia magna*. *Comparative biochemistry and physiology. B, Comparative biochemistry*, 88(1), 39-46.
- Lecointre, G & Le Guyader, H. (2001).** Classification phylogénétique du vivant, *Ed. Belin*, ISBN 2-7011-2137-X, 196-200.
- Lee, R. F., Keeran, W. S., & Pickwell, G. (1988).** Marine invertebrate glutathione-S-transferases: Purification, characterization and induction. *Marine Environmental Research*, 24, 97-100.
- Leong, W., & Pawlik, J. R. (2011).** Comparison of reproductive patterns among 7 Caribbean sponge species does not reveal a resource trade-off with chemical defenses. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 401(1-2), 80-84.
- Lepore E, Sciscioli M, Scalera Liaci L, Santarelli G, & Gaino E (2000).** Sexual reproduction of *Cinachyra tarentina* (Porifera, Demospongiae). *Ital. J. Zool.* 67: 153–158.

- Lévi, C. (1956).** Étude des Halisarca de Roscoff. *Embryologie et systématique des démosponges*. *Arch Zool exp gén*, 93, 1-181.
- Leys, S., & Ereskovsky, A. (2006).** Embryogenesis and larval differentiation in sponges. *Canadian Journal of Zoology*, 84(2), 262-287.
- Li, L., Zheng, B., & Liu, L. (2010).** Biomonitoring and bioindicators used for river ecosystems: definitions, approaches and trends. *Procedia environmental sciences*, 2, 1510-1524.
- Liehr, G., Zettler, M., Leipe, T., & Witt, G. (2005).** The ocean quahog *Arctica islandica* L.: a bioindicator for contaminated sediments. *Marine biology*, 147(3), 671-679.
- Liu, Y., Jung, J. H., & Zhang, S. (2006).** Linear pyrroloesterterpenes from a sponge *Sarcotragus* species. *Biochemical systematics and ecology*, 34(10), 774-776.
- Livingstone, D. R. (2001).** Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine pollution bulletin*, 42(8), 656-666.
- Loi de Grenelle., (2010).** Loi « Grenelle II », ou loi n° 2010-788 du 12 juillet 2010 portant engagement national pour l'environnement (parfois appelée loi ENE) est la loi française qui complète, applique et territorialise une loi votée l'année précédente, dite « *Loi Grenelle I* » (précédemment adoptée en octobre 2008 et validée le 11 février 2009).
- Louiz, I., Hassine, O. K. B., Palluel, O., Ben-Attia, M., & Aït-Aïssa, S. (2016).** Spatial and temporal variation of biochemical biomarkers in *Gobius niger* (Gobiidae) from a southern Mediterranean lagoon (Bizerta lagoon, Tunisia): Influence of biotic and abiotic factors. *Marine pollution bulletin*, 107(1), 305-314.
- Luperchio, S., Tamir, S., & Tannenbaum, S. R. (1996).** NO-induced oxidative stress and glutathione metabolism in rodent and human cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 21(4), 513-519.
- Maceda-Veiga, A., Monroy, M., & de Sostoa, A. (2012).** Metal bioaccumulation in the Mediterranean barbel (*Barbus meridionalis*) in a Mediterranean River receiving effluents from urban and industrial wastewater treatment plants. *Ecotoxicology and environmental safety*, 76, 93-101.
- Mahaut, M.-L., Basuyaux, O., Baudinière, E., Chataignier, C., Pain, J., & Caplat, C. (2013).** The porifera *Hymeniacidon perlevis* (Montagu, 1818) as a bioindicator for water quality monitoring. *Environ Sci Pollut Res Int.* ; 20(5), 84-92.
- Maldonado, M. (2006).** The ecology of the sponge larva. *Canadian Journal of Zoology*, 84(2), 175-194.
- Maldonado, M., & Riesgo, A. (2009).** Gametogenesis, embryogenesis, and larval features of the oviparous sponge *Petrosia ficiformis* (Haplosclerida, Demospongiae). *Marine biology*, 156(10), 2181-2197.

- Manuel, M., Boury-Esnault, N., & Vacelet, J. (2003).** L'éponge... une république cellulaire. *Pour la science*(310), 68-75.
- Markert, B. A., Breure, A. M., & Zechmeister, H. G. (2003).** Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. *Bioindicators and biomonitors: principles, concepts and applications*, B.A. Markert, A.M. Breure, H.G. Zechmeister, editors. (Oxford : Elsevier Science Limited), 3-39.
- Martinez-Lara, E., George, S., Lopez-Barea, J., & Bárcena, J. (1997).** Purification and characterization of multiple glutathione transferase isoenzymes from grey mullet liver. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 53, 759-768.
- McClintock, B., Swenson, D., Trapido-Rosenthal, H., & Banghart, L. (2001).** Ichthyodeterrent properties of lipophilic extracts from Bermudian sponges. *Journal of chemical ecology*, 23(6), 1607-1620.
- Meghlaoui, Z. (2015).** Stress environnemental et biodiversité des Polychètes dans le littoral Est Algérien : Analyse phylogénétique. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba : 193p.
- MeHSIP. , (2016).** Programme d'investissement pour l'élimination des principales sources de pollution en Méditerranée. [www.eib.org/infocentre/publications/all/mediterranean-hot-spots-investment-programme.htm](http://www.eib.org/infocentre/publications/all/mediterranean-hot-spots-investment-programme.htm).
- Meister, A. (1988).** Glutathione metabolism and its selective modification. *Journal of Biological Chemistry*, 263(33), 17205-17208.
- Merad, I., & Soltani, N. (2017).** Sublethal effects of cadmium on energy reserves in the edible Mollusk *Donax trunculus*. *J. Entomo. Zool Studies*, 5(1), 100-105.
- Mercurio M, Corriero G, Gherardi M, Baldaconi R, & Gaino E (2013).** Sexual reproduction in *Sarcotragus spinosulus* from two different shallow environments. *Marine Ecology*. 34,394–408..
- Mercurio, M., Corriero, G., & Gaino, E. (2007).** A 3-year investigation of sexual reproduction in *Geodia cydonium* (Jameson 1811)(Porifera, Demospongiae) from a semi-enclosed Mediterranean bay. *Marine biology*, 151(4), 1491-1500.
- Meroz-Fine E, Shefer S, & Ilan M. (2005).** Changes in morphology and physiology of an East Mediterranean sponge in different habitats. *Mar. Biol.* 147: 243–250.
- Migon, C., Journel, B., & Nicolas, E. (1997).** Measurement of trace metal wet, dry and total atmospheric fluxes over the Ligurian Sea. *Atmospheric Environment*, 31(6), 889-896.
- Migon, C., Sandroni, V., Marty, J.-C., Gasser, B., & Miquel, J.-C. (2002).** Transfer of atmospheric matter through the euphotic layer in the northwestern Mediterranean: seasonal pattern and driving forces. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 49(11), 2125-2141.

- Mihopoulos, N., Vagias, C., Chinou, I., Roussakis, C., Scoullou, M., Harvala, C., & Roussis, V. (1999). Antibacterial and cytotoxic natural and synthesized hydroquinones from sponge *Ircinia spinosula*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 54(5-6), 417-423.
- Milanese, M., Sarà, A., Manconi, R., Abdalla, A. B., & Pronzato, R. (2008). Commercial sponge fishing in Libya: Historical records, present status and perspectives. *Fisheries Research*, 89(1), 90-96.
- Miller, G. A. D., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S. U. L. T. A. N., Mittler, R. O. N. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, cell & environment*, 33(4), 453-467.
- Miquel, G. (2001). Effet des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport 261, office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques.
- Mirghaffari, N. (1998). *Décontamination des solutions contenant des métaux lourds par des déchets forestiers ou agricoles*. Thèse de doctorat de l'INP. Lorraine France.
- Mistretta, V & Charlier, C. (2013). La surveillance biologique de l'exposition aux produits chimiques en toxicologie industrielle et de l'environnement. *Ann Biol Clin* ; 71 (3) : 257-267
- Monserrat, J.M., Martínez, P.E., Geracitano, L.A., Amado, L.L., Martins, C.M.G., Pinho, G.L.L., Chaves, I.S., Ferreira-Cravo, M., Ventura-Lima, J., & Bianchini, A. (2007). Pollution biomarkers in estuarine animals: critical review and new perspectives. *Comp. Biochem. Phys. C*, 146, 221–234.
- Mouneyrac, C., Geffard, A., Amiard, J., & Amiard-Triquet, C. (2009). Metallothionein-like proteins in *Macoma balthica*: effects of metal exposure and natural factors. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57(1), 34-42.
- Müller, W. E.G., Koziol, C., Wiens, M., & Schröder, H. C. (2000). Stress response in marine sponges: genes and molecules involved and their use as biomarkers. In: Storey, K.B., Storey, J. (Eds.), *Environmental Stressors and Gene Responses*. Elsevier, Amsterdam, pp. 193–208.
- Muñoz-Olivas, R., & Cámara, C. (2001). Speciation related to human health. In L. Ebdon, L. Pitts, R. Cornelis, H. Crews, O. F. X. Donard and P. Quevauviller (Eds.). *Trace element speciation for environment, food and health*. The Royal Society of Chemistry: 331–353.
- Munro, M. H., Blunt, J. W., Dumdei, E. J., Hickford, S. J., Lill, R. E., Li, S., & Duckworth, A. R. (1999). The discovery and development of marine compounds with pharmaceutical potential. *Journal of Biotechnology*, 70, 15-25.
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Da Fonseca, G. A., & Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403(6772), 853.

- Nakhle, K. (2003).** Le mercure, le cadmium et le plomb dans les eaux littorales libanaises: apports et suivi au moyen de bioindicateurs quantitatifs (Esponges, Bivalves et Gastéropodes), Thèse de Doctorat., Univ. Paris 7 : 255p
- Nakhle, K. F., Cossa, D., Khalaf, G., & Beliaeff, B. (2005).** *Brachidontes variabilis* and *Patella* sp. as quantitative biological indicators for cadmium, lead and mercury in the Lebanese coastal waters. *Environmental Pollution*, 142(1), 73-82.
- Narbonne, J., Aarab, N., Clérandeau, C., Daubeze, M., Narbonne, J., Champeau, O., & Garrigues, P. (2005).** Scale of classification based on biochemical markers in mussels: application to pollution monitoring in Mediterranean coasts and temporal trends. *Biomarkers*, 10(1), 58-71.
- Narbonne, J., Garrigues, P., Ribera, D., Raoux, C., Mathieu, A., Lemaire, P., Lafaurie, M. (1991).** Mixed-function oxygenase enzymes as tools for pollution monitoring: field studies on the French coast of the Mediterranean Sea. *Comparative biochemistry and physiology. C, Comparative pharmacology and toxicology*, 100, 37-42.
- Narbonne, J.-F., (2000).** History-biological basis of the use of biomarkers in ecotoxicology. *Use of biomarkers for environmental quality assessment. AA Balkema, Rotterdam*, 1-8.
- Narbonne, J.-F., & Michel, X. (1993).** Use of biomarkers in the assessment of contamination in marine ecosystems, fundamental approach and applications. *MAP Technical Reports Series*, 71, 1-20.
- Nardo, G. (1833).** Auszug aus einem neuen System der Spongiarien, wonach bereits die Aufstellung in der Universitäts-Sammlung zu Padua gemacht ist. *Isis, oder Encyclopädische Zeitung Coll*, 519-523.
- National Research Council. (1987).** Biological markers in environmental health research. *Environmental Health Perspectives* 74: 3-9.
- Neathery, M. & Miller, X.J. (1975).** Metabolism and toxicity of cadmium, mercury and lead in animals. *J Dairy Sci*, 58: 1767-1781.
- Nesto, N., Romano, S., Moschino, V., Mauri, M., & Da Ros, L. (2007).** Bioaccumulation and biomarker responses of trace metals and micro-organic pollutants in mussels and fish from the Lagoon of Venice, Italy. *Marine pollution bulletin*, 55, 469-484.
- Newbold R. W., Jensen P. R., Fenical W., & Pawlik J. R. (1999).** Antimicrobial activity of Caribbean sponge extracts. *Aquat. Microb. Ecol.* 19, 279–284.
- Nriagu, J. O., & Pacyna, J. M. (1988).** Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature*, 333, 134-139.
- Occhipinti-Ambrogi, A., Forni, G., & Marchini, A. (2005).** Testing different approaches for quality assessment using the benthic community: examples from the Northern Adriatic sea. Indicators of stress in the marine benthos, IOC Workshop Report No. 195, 23-26.

- Onivogui, G., Balde, S., Bangoura, K., & Barry, M. K. (2013).** Évaluation des risques de pollution en métaux lourds (Hg, Cd, Pb, Co, Ni, Zn) des eaux et des sédiments de l'estuaire du fleuve Konkouré (Rep. de Guinée). *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 9(3), 36-44.
- OSPAR, (2000).** Quality Status Report: Region IV – Bay of Biscay and Iberian Coast. OSPAR Commission, London.
- Ouali, N., Derradji, F., Bouhedja, Y., & Kasdarli, C. (2008).** pollution of the superficial sediment by nine heavy metals: case of annaba bay (algeria–south-western mediterranean) pollution du sediment superficiel par neuf metaux traces: cas de la baie d'annaba. *Physical & chemical news*. 4: 139–143
- Ouali, N, Belabed.B.E. Chenchouni. H. (2018).** Modelling environment contamination with heavy metals in flathead grey mullet *Mugil cephalus* and upper sediments from north African coasts of the Mediterranean Sea. *STOTEN: Science of the Total Environment*. 639 : 156-174
- Ouali. N. (2018).** Identification et quantification d'une matrice de métaux traces dans le milieu marin : Cas de la baie d'Annaba. Thèse de Doctorat en Sciences de la Mer Option : Biologie et physiologie des organismes marins. Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie : 170p
- Ounissi, M. (2007).** Devenir et incidences des flux de matières continentales enrichissantes et polluantes dans le littoral d'Annaba. Bilan final du projet de recherche ONEDD: MATE/05/04, 11p.
- Ounissi, M., & Frehi, H. (1999).** Variabilité du microphytoplancton et des Tintinnida (protozoaires ciliés) d'un secteur eutrophe du golfe d'Annaba (Méditerranée sud-occidentale)= Variability of microphytoplankton and Tintinnida (ciliated protozoa) in an eutrophic sector of the Annaba Gulf (SW Mediterranean). *Cahiers de Biologie marine*, 40, 141-153.
- Ounissi, M., Frehi, H., & Khelifi-Touhami, M. (1998).** Composition et abondance du zooplancton en situation d'eutrophisation dans un secteur côtier du golfe d'Annaba (Algérie). Paper presented at the Annales de l'Institut océanographique. Paris, 74: 13-28
- Ounissi, M., Khaled-Khodja, M., Khelifi-Touhami, M., Hallal, S., Ayad, M., (2002).** Flux de matières minérales et organiques de l'oued Seybouse au littoral d'Annaba (Algérie) en hiver et au printemps 2002. Actes des 5 èmes journées Tunisiennes des sciences de la mer Aïn-Draham. *Bulletin de l'INSTM N°07*. 21 - 24.
- Oursel, B. (2013).** *Transferts et dynamique des contaminants métalliques en zone côtière.: Impact d'une grande agglomération méditerranéenne.* Thèse de Doctorat en Chimie de l'Environnement. Université de Toulon école doctorale Mer et Sciences. 1. 233p.

- Page, M. J., Northcote, P. T., Webb, V. L., Mackey, S., & Handley, S. J. (2005).** Aquaculture trials for the production of biologically active metabolites in the New Zealand sponge *Mycale hentscheli* (Demospongiae: Poecilosclerida). *Aquaculture*, 250(1-2), 256-269.
- Pallas, P. S. (1766).** *Elenchus zoophytorum sistens generum adumbrationes generaliores et specierum cognitarum. succintas descriptiones, cum selectis auctorum synonymis. Fransiscum Varrentrapp, Hagae.* 451p.
- Pan, J.-F., & Wang, W.-X. (2004).** Influences of dissolved and colloidal organic carbon on the uptake of Ag, Cd, and Cr by the marine mussel *Perna viridis*. *Environmental Pollution*, 129(3), 467-477.
- Patel, B., Balani, M., & Patel, S. (1985).** Sponge 'sentinel' of heavy metals. *Science of the Total Environment*, 41(2), 143-152.
- Paul V. J., (1992).** Chemical defenses of benthic marine invertebrates. In : Ecological Roles of Marine Natural Products. Paul V. J., (ed.). Comstock Publishing : Ithaca, New York. 164- 188.
- Paul-Pont, I., Gonzalez, P., Baudrimont, M., Jude, F., Raymond, N., Bourrasseau, L., Le Goïc, N., Haynes, F., Legeay, A., Paillard, C., & de Montaudouin, X. (2010).** Interactive effects of metal contamination and pathogenic organisms on the marine bivalve *Cerastoderma edule*. *Marine pollution bulletin*, 60(4), 515-525.
- Pawlik J. R., (1993).** Marine invertebrate chemical defenses. *Chemical Reviews*. 93, 1911–1922.
- Pawlik, J. R., Chanas, B., Toonen, R. J., & Fenical, W. (1995).** Defenses of Caribbean sponges against predatory reef fish. I. Chemical deterrency. *Marine Ecology Progress Series*. 127, 183–194.
- Pawlik, J. R., McFall, G., & Zea, S. (2002).** Does the odor from sponges of the genus *Ircinia* protect them from fish predators? *Journal of chemical ecology*, 28(6), 1103-1115.
- Pećarević, M., Mikuš, J., Cetinić, A. B., Dulčić, J., & Čalić, M. (2013).** Introduced marine species in croatian Waters (eastern Adriatic Sea). *Mediterranean Marine Science*, 14(1), 224-237.
- Pellerin-Massicotte, J. (1994).** Oxidative processes as indicators of chemical stress in marine bivalves. *Journal of Aquatic Ecosystem Health*, 3(2), 101-111.
- Penninckx, M. (2000).** A short review on the role of glutathione in the response of yeasts to nutritional, environmental, and oxidative stresses. *Enzyme and microbial technology*, 26: 9-10.
- Perez, T., Sartoretto, S., Soltant, D., Capo, S., Fourt, M., Dutrieux, E., Vacelet, J., Harmelin, G., Reboullon, P. (2000).** Etude bibliographique sur les bioindicateurs de

- l'état du milieu marin. *Système d'évaluation de la Qualité des Milieux littoraux – Volet biologique*. Rapport Agences de l'Eau, 4 fascicules, 642 pp.
- Perez, T., Ereskovsky, A., Correia, S., Bezac, C., Boury-Esnault, N., & Vacelet, J. (2006).** Life cycle and reproductive effort of the Mediterranean commercial sponge *Spongia officinalis*. *Seventh International Sponges Symposium. Buzios. Rio de Janeiro. Brazil*.
- Perez, T., Harmelin, G., Vacelet, J., Sartoretto, S. (2003).** Bioévaluation de la qualité littorale par les peuplements de substrats durs Spongiaires, Gorgonaires et Bryozoraire comme indicateurs de pollution. MINISTERE DE L'ECOLOGIE ET DU DEVELOPPEMENT DURABLE PROGRAMME LITEAU - GESTION DU LITTORAL THEME 4 –Gestion des zones littorales et patrimoine naturel.
- Perez, T., Vacelet, J., Rebouillon, P. (2004).** In situ comparative study of several Mediterranean sponges as potential biomonitors of heavy metals. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova*, 68: 517-525.
- Perez-Lopez, M., Anglade, P., Bec-Ferte, M., Debrauwer, L., Perdu, E., Cravedi, J., & Rouimi, P. (2000).** Characterization of hepatic and extrahepatic glutathione S-transferases in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their induction by 3, 3', 4, 4'-tetrachlorobiphenyl. *Fish Physiology and Biochemistry*, 22(1), 21-32.
- Pérez-Porro, A.R., González, J., & Uriz, M. J. (2012).** Reproductive traits explain contrasting ecological features in sponges: the sympatric poecilosclerids *Hemimycale columella* and *Crella elegans* as examples *Ancient Animals, New Challenges* 687:315–330
- Philips, D. J. H. (1977).** The use of biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine environments. *Environ. Pollut.*,13: 281-317.
- Phillips, D. J. H., & Rainbow, P. S. (1993).** Biomonitoring of trace aquatic contaminants. Environmental managment series, Alden Press Ltd, Oxford : 371 p.
- Piel, J. (2009).** Metabolites from symbiotic bacteria. *Natural Product Reports*, 26(3), 338-362.
- Pile, A. J., Patterson, M. R., Savarese, M., Chernykh, V. I., & Fialkov, V. A. (1997).** Trophic effects of sponge feeding within Lake Baikal's littoral zone. 2. Sponge abundance, diet, feeding efficiency, and carbon flux. *Limnology and Oceanography*, 42(1), 178-184.
- Pinho, G. L. L., da Rosa, C. M., Maciel, F. E., Bianchini, A., Yunes, J. S., Proença, L. A. d. O., & Monserrat, J. M. (2005).** Antioxidant responses after microcystin exposure in gills of an estuarine crab species pre-treated with vitamin E. *Ecotoxicology and environmental safety*, 61(3), 361-365.
- PNUE, (1995).** Evaluation de l'état de l'eutrophisation en mer Méditerranée. Première version. UNEP(OCA)/MED WG.89/Inf.5. 171 p

- PNUE-PAM-CAR/ASP. (2011).** Espèces non-indigènes en Méditerranée: qui, quand, comment, pourquoi ?. Ed. CAR/ASP, Tunis. 28 pp.
- Poisson, E., C. Fisson, C. Amiard-Triquet, T. Burgeot, J. Couteau, G. Dur, F. Durand, J. Forget-Leray, J. Letendre, S. Souissi and B. Benoit Xuereb (2011).** "Effets de la contamination chimique : des organismes en danger ?" Fascicule Seine-Aval 2: 69p
- Pompella, A., Maellaro, E., Casini, A. F., Ferrali, M., Ciccoli, L., & Comporti, M. (1987).** Measurement of lipid peroxidation in vivo: a comparison of different procedures. *Lipids*, 22(3), 206-211.
- Porter J. W., Targett T. N., (1988).** Allelochemical interactions between sponges and corals. *Biol. Bull.* 175 : 230–239.
- Pronzato, R., Cerrano, C., Cubeddu, T., & Sidri, M. (1998).** Aquaculture and water: fish culture, shellfish culture and water usage sustainable development in coastal areas: role of sponge farming in integrated aquaculture. Aquaculture Europe, Bordeaux, France, 7-10.
- Pronzato, R., & Manconi, R. (2008).** Mediterranean commercial sponges: over 5000 years of natural history and cultural heritage. *Marine Ecology*, 29(2), 146-166.
- Ralph, P. J., David, T., Kenneth, M., Stephanie, S., & Macinnis-Ng, C.M.O., (2006).** Human impacts on seagrasses: Eutrophication, sedimentation and contamination. *In: Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation.* A. W. D. Larkum, R.J. Orth and C. M. Duarte (Eds). Springer, Dordrecht, The Netherlands. 567- 593.
- Ramade F, (1992).** Précis d'écotoxicologie. Collection d'écologie N°22. Ed. Masson, Paris, France: 300p.
- Randall, J. E., & Hartman, W. (1968).** Sponge-feeding fishes of the West Indies. *Marine Biology*, 1(3), 216-225.
- Reggam, A., Bouchelaghem, E.-H., Hanane, S., & Houhamdi, M. (2017).** Effects of anthropogenic activities on the quality of surface water of Seybouse River (northeast of the Algeria). *Arabian Journal of Geosciences*, 10(10), 219.
- Reggam, A., Bouchelaghem, H., & Houhamdi, M. (2015).** Qualité physico-chimique des eaux de l'Oued Seybouse (Nord-Est de l'Algérie): caractérisation et analyse en composantes principales. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6, 1417 - 1425.
- Regoli, F. (1998).** Trace metals and antioxidant enzymes in gills and digestive gland of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 34(1), 48-63.
- Regoli, F., Frenzilli, G., Bocchetti, R., Annarumma, F., Scarcelli, V., Fattorini, D., & Nigro, M. (2004).** Time-course variations of oxyradical metabolism, DNA integrity

- and lysosomal stability in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, during a field translocation experiment. *Aquatic Toxicology*, 68(2), 167-178.
- Reiswig, H. M. (1975).** Bacteria as food for temperate-water marine sponges. *Canadian Journal of Zoology*, 53(5), 582-589.
- Reiswig, H. M. (1975a).** Bacteria as food for temperate-water marine sponges. *Canadian Journal of Zoology*, 53(5), 582-589.
- Reiswig, H. M. (1975b).** The aquiferous systems of three marine Demospongiae. *Journal of Morphology*, 145(4), 493-502.
- Remili, S., & Kerfouf, A. (2013).** Évaluation de la qualité physico-chimique et du niveau de contamination métallique (Cd, Pb, Zn) des rejets d'eaux usées d'Oran et de Mostaganem (littoral Ouest algérien). *Physio-Géo. Géographie physique et environnement*, 7, 165-182.
- Richman, P., & Meister, A. (1975).** Regulation of gamma-glutamyl-cysteine synthetase by nonallosteric feedback inhibition by glutathione. *Journal of Biological Chemistry*, 250(4), 1422-1426.
- Riesgo A. (2007)** Sexual reproduction in demosponges: ecological and evolutionary implications. Ph.D. thesis, Barcelona University, Barcelona, Spain: 243 p.
- Riesgo, A., & Maldonado, M. (2008).** Differences in reproductive timing among sponges sharing habitat and thermal regime. *Invertebrate Biology*, 127(4), 357-367.
- Riesgo, A., Maldonado, M., & Durfort, M. (2007).** Dynamics of gametogenesis, embryogenesis, and larval release in a Mediterranean homosclerophorid demosponge. *Marine and Freshwater Research*, 58(4), 398-417.
- Riisgård, H. U., Thomassen, S., Jakobsen, H., Weeks, J., & Larsen, P. S. (1993).** Suspension feeding in marine sponges *Halichondria panicea* and *Haliclona urceolus*: effects of temperature on filtration rate and energy cost of pumping. *Marine Ecology Progress Series* (96), 177-188.
- Rocha, L., Rodrigues, S.M., Lopes, I., Soares, A.M.V.M., Duarte, A.C., Pereira, E (2011).** The water-soluble fraction of potentially toxic elements in contaminated soils: relationships between ecotoxicity, solubility and geochemical reactivity. *Chemosphere*, 84, 1495-1505.
- Rocher, B., Le Goff, J., Peluhet, L., Briand, M., Manduzio, H., Gallois, J., Devier, MH., Geffard, O., Gricourt, L., Augagneur, S., Budzinski, H., Pottier, D., Andrée, V., & Lebailly Cachot, J. (2006).** Genotoxicant accumulation and cellular defence activation in bivalves chronically exposed to waterborne contaminants from the Seine River. *Aquatic Toxicology*, 79(1), 65-77.
- Rodier, J. (1984).** L'analyse de l'eau : eaux naturels, eaux résiduaires et Eaux de mer. 7eme édition. Paris. 1365 p.

- Roméo, M., Hoarau, P., Garello, G., Gnassia-Barelli, M., & Girard, J. P. (2003).** Mussel transplantation and biomarkers as useful tools for assessing water quality in the NW Mediterranean. *Environmental Pollution*, 122(3), 369-378.
- Rouane-Hacene, O. (2013).** Biosurveillance de la qualité des eaux côtières du littoral occidental algérien, par le suivi des indices biologique, de la biodisponibilité et la bioaccumulation des métaux lourds (Zn, Cu, Pb et Cd) chez la moule *Mytilus galloprovincialis* et l'oursin *Paracentrotus lividus*. Thèse de Doctorat. Option : science de l'environnement. Université d'Ahmed Ben Bella. Oran. Algérie. 249 p.
- Rouane-Hacene, O., Boutiba, Z., Belhaouari, B., Guibbolini-Sabatier, M. E., Francour, P., & Riso-de Faverney, C. (2015).** Seasonal assessment of biological indices, bioaccumulation and bioavailability of heavy metals in *mussels Mytilus galloprovincialis* from Algerian west coast, applied to environmental monitoring. *Oceanologia*, 57(4), 362-374.
- Ruiz-Pino D. P., Jeandel C., Berthoux J. P., Minster J. F., (1990a).** Are the trace metal cycles balanced in the Mediterranean Sea ? *Global and Planetary Change*. 2 (3-4): 369-388.
- Ruiz-Pino D. P., Lambert C. E., Jeandel C., Buat-Menard P., (1990b).** Modelling the biogenic transport of atmospheric particles in the Mediterranean Sea. *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology*. 89 (1-2) : 47-64.
- Ruiz-Pino, D., Nicolas, E., Bethoux, J., & Lambert, C. (1991).** Zinc budget in the Mediterranean Sea: a hypothesis for non-steady-state behavior. *Marine Chemistry*, 33(1-2), 145-169.
- Rumohr, H. (2005).** A 5-Step Succession Model for the Baltic—A Future Management Tool? Indicators of stress in the marine benthos. IOC workshop report No. 195,12-14.
- Rützler, K. (2004)** Sponges on coral reefs : a community shaped by competitive cooperation. *Boll Mus Ins Biol Univ Genova* 68 : 85-148.
- Saller, U., & Weissenfels, N. (1985).** The development of *Spongilla lacustris* from the oocyte to the free larva (Porifera, Spongillidae). *Zoomorphology*, 105(6), 367-374.
- Sarkar, A., Ray, D., Shrivastava, A. N., & Sarker, S. (2006).** Molecular biomarkers: their significance and application in marine pollution monitoring. *Ecotoxicology*, 15, 333-340.
- Scalera Liaci, L., Sciscioli, M., & Matarrese, A. (1973). Raffronto tra il comportamento sessuale di alcune Ceractinomorpha. *Riv Biol*, 66, 135-162.
- Scalera-Liaci, L., Sciscioli, M., Matarrese, A., & Giove, C. (1971).** Osservazioni sui cicli sessuali di alcune Keratosa (Poriferi) e loro interesse negli studi filogenetici. *Atti Soc. Pelorit. Sci. Fisiche Mat. E Nat*, 17, 33-52.

- Schmidt, O. (1868).** Die Spongien der Kueste von Algier: mit Nachtraegen zu den Spongien des adriatischen Meeres: (drittes Supplement)}. Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig, 42 p.
- Seelig, G. F., Simonsen, R., & Meister, A. (1984).** Reversible dissociation of gamma-glutamylcysteine synthetase into two subunits. *Journal of Biological Chemistry*, 259(15), 9345-9347.
- Sifi, K., & Soltani, N. (2018).** Seasonal changes of two biomarkers of oxidative stress (LDH, MDA) in the edible mollusc *Donax trunculus* (Mollusca: Bivalvia) from the Gulf of Annaba (Algeria): correlation with carbohydrate and lipid contents. *Molluscan Research*, 1-9.
- Sifi, K. (2009).** Biosurveillance de la qualité des eaux du golfe d'Annaba: croissance, composition biochimique et dosage de biomarqueurs du stress environnemental chez *Donax trunculus* (Mollusque, Bivalve). Thèse de Doctorat en Ecotoxicologie. Université Badji Mokhtar d'Annaba. Algérie : 229p.
- Simpson, T. L (1984).** The cell biology of sponges. Springer-Verlag, New York. 414–510
- Sipkema, D., Franssen, M. C., Osinga, R., Tramper, J., & Wijffels, R. H. (2005).** Marine sponges as pharmacy. *Marine biotechnology*, 7(3), 142-162.
- Siribelli, L. (1962).** Differenze nel ciclo sessuale di popolazioni conveventi di *Axinella damicornis* (Esper) ed *Axinella verrucosa* O.S. (Demospngiae). *Ann. Istit. Mus. Zool. Univ. Napoli*. 14: 1–8.
- Sirven, J.-B. (2006).** Détection de métaux lourds dans les sols par spectroscopie d'émission sur plasma induit par laser (LIBS). N° d'ordre : 3219 Thèse d'Université Bordeaux 1.
- Smolders, R., Bervoets, L., & Blust, R. (2004).** In situ and laboratory bioassays to evaluate the impact of effluent discharges on receiving aquatic ecosystems. *Environmental Pollution*, 132(2), 231-243.
- Soltani, N., Amira, A., Sifi, K., & Beldi, H. (2012).** Environmental monitoring of the Annaba gulf (Algeria): measurement of biomarkers in *Donax trunculus* and metallic pollution. *Bull. Soc. zool. Fr*, 137, 51-60.
- Soule, D. F. (1988).** Marine organisms as indicators: reality or wishful thinking? in D.F. - Soule & G.S. Kleppel, eds. *Marine organisms as indicators*. Springer Verlag, New York. 1-12.
- Stegeman, J. J., Brouwer, M., Digiulio, R. T., Forlin, L., Fowler, B. A., Sanders, B. M. and Van Veld, P. A. (1992).** Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein synthesis as indicators of contaminant exposure and effect. In *Biomarkers*, R. J. Huggett, R. A. Kimerle, P. M. Mehrle and H. L. Bergman, eds (Boca Raton, FL: Lewis Publishers), 235–335.

- Storr, J. F. (1964).** *Ecology of the Gulf of Mexico commercial sponges and its relation to the fishery*: Special Scientific Report – Fisheries Vol 466. Dept. of the Interior, Bureau of Commercial Fisheries, Washington, DC, US: 1–73.
- Stouvenakers, N., Hugla, J. L., Goffinet, G., Kremers, P., & Thomé, J. P. (1996).** Effects of PCBs on liver ultrastructure and monooxygenase activities in Japanese quail. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 56(5), 839-846.
- Sullivan, B., Faulkner, D. J., & Webb, L (1983).** Siphonodictidine, a metabolite of the burrowing sponge *Siphonodictyon* sp. that inhibits coral growth. *Science*. 221, 1175–1176.
- Sunderman, F., Marzouk, A., Hopfer, S., Zaharia, O., & Reid, M. (1985).** Increased lipid peroxidation in tissues of nickel chloride-treated rats. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 15(3), 229-236.
- Suntres, Z. E. (2002).** Role of antioxidants in paraquat toxicity. *Toxicology*, 180(1), 65-77.
- Taleb, M., & Boutiba, Z. (2007).** La moule *Mytilus galloprovincialis*: bioindicatrice de pollution marine-Cas du port d’Oran. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*(25), 59-64.
- Tessier, E. (2012).** Diagnosis of sediment contamination by Metals in the Toulon harbour and Mechanisms controlling their mobility. Doctoral thesis; University of Sud Toulon Var. 1-272p.
- Tessier, E., Garnier, C., Mullot, J.-U., Lenoble, V., Arnaud, M., Raynaud, M., & Mounier, S. (2011).** Study of the spatial and historical distribution of sediment inorganic contamination in the Toulon bay (France). *Marine pollution bulletin*, 62(10), 2075-2086.
- Thiboutot, S., Ampleman, G., Marois, A., Gagnon, A., Bouchard, M., Hewitt, A., Ramsey, C. (2004).** Environmental Conditions of Surface Soils, CFB Gagetown Training Area: Delineation of the Presence of Munitions Related Residues (Phase 3, Final Report): Engineer research and development center hanover nh cold regions research and engineering lab.
- Timbrell, J.A., Drapper, R., Waterfiel, C. (1994).** Biomarkers in toxicology : new uses for old molecules. *Toxicology and Ecotoxicology News* 1: 4-14.
- Topsent, E. (1901).** Consid,rations sur la faune des spongiaires des c“tes d'Alg,rie. Eponges de la Calle. (Archives de Zoologie exp,rimentale et g,n,rale) 9, 327-370
- Topsent, E. (1945).** Guide pour la connaissance d',ponges de la M,diterran,e. Tableaux de corrections apport,es aux m,moires d'O. Schmidt sur le sujet (1862, 1864, 1868). {Bulletin de l'Institut oc,anographique de Monaco} 883, 1-20
- Topsent, É. E. A. (1898).** Sur quelques ,ponges de la Calle. {Archives de Zoologie exp,rimentale et g,n,rale} 6, 33-37

- Tsoukatou, M., Hellio, C., Vagias, C., Harvala, C., & Roussis, V. (2002).** Chemical defense and antifouling activity of three Mediterranean sponges of the genus *Ircinia*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57(1-2), 161-17.
- Turkmen, N., Sari, F., & Velioglu, Y. S. (2005).** The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food chemistry*, 93(4), 713-718.
- Turon, X., Galera, J., & Uriz, M. J. (1997).** Clearance rates and aquiferous systems in two sponges with contrasting life-history strategies. *Journal of Experimental Zoology*, 278(1), 22-36.
- UNEP, (1984).** Pollutants from land-based sources in the Mediterranean. *UNEP Regional Seas reports and Studies*. 32 : 97 pp.
- Usseglio-Polatera, P., Bournaud, M., Richoux, P., & Tachet, H. (2000).** Biomonitoring through biological traits of benthic macroinvertebrates: how to use species trait databases? *Assessing the Ecological Integrity of Running Waters*. 153-162.
- Vacelet J. (2016).** Le filtre des mers : les Éponges. Institut méditerranéen de biodiversité et d'écologie marine et continentale, Station marine d'Endoume, Marseille, 7p.
- Vacelet, J. (1959).** Répartition générale des éponges et systématique des éponges cornées de la région de Marseille et de quelques stations Méditerranéennes. *Recueil des travaux de la station marine d'Endoume*. 16 (26) : 39-101.
- Vacelet, J. (1988).** Indications de profondeur données par les Spongiaires dans les milieux benthiques actuels. *Géologie Méditerranéenne XV*, 15(1), 13-26.
- Vacelet, J., Al Sofyani, A., Al Lihaihi, S., & Kornprobst, J.-M. (2001).** A new haplosclerid sponge species from the Red Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 81(6), 943-948.
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., & Scoullou, M. (2006).** Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and environmental safety*, 64(2), 178-189.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
- Van Der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. (2003).** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental toxicology and pharmacology*, 13(2), 57-149.
- Van Soest, R. W., Boury-Esnault, N., Vacelet, J., Dohrmann, M., Erpenbeck, D., De Voogd, N. J., & Hooper, J. N. (2012).** Global Diversity of Sponges (Porifera). *PLoS ONE*, 7(4), 35-105.

- Varanka, Z., Rojik, I., Varanka, I., Nemcsók, J., & Ábrahám, M. (2001).** Biochemical and morphological changes in carp (*Cyprinus carpio*) liver following exposure to copper sulfate and tannic acid. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 128(3), 467-478.
- Ventura-Lima J., De Castro M.R., Acosta D., Fattorini D., Regoli F., Machado de Carvalho L., Bohrer D., Geraticino L.A., Barros D.M., Marins L.F.F., Da Silva R.S., Bonan C.D., Reis Bono M., Moserrat J.M., (2009).** Effects of arsenic (As) exposure on the antioxidant status of gills of the zebrafish *Danio rerio* (Cyprinidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 149(4), 538-543.
- Verdenal, B & Vacelet J. (1990).** Sponge culture on vertical ropes in the Northwestern Mediterranean Sea. in K. Rützler, ed. *New Perspectives in Sponge Biology*. Smithsonian Institution Press, Washington.416-425.
- Verdenal, B., Diana, C., Arnoux, A., & Vacelet, J. (1990).** Pollutant levels in Mediterranean commercial sponges. In: Rützler, K. (Ed.), *New Perspectives in Sponge Biology*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC.
- Verlecar, X. N., Jena, K. B., & Chainy, G. B. N. (2008).** Seasonal variation of oxidative biomarkers in gills and digestive gland of green-lipped mussel *Perna viridis* from Arabian Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 76(4), 745-752.
- Viarengo, A., Pertica, M., Canesi, L., Mazzucotelli, A., Orunesu, M., & Bouquegneau, J. (1989).** Purification and biochemical characterization of a lysosomal copper-rich thionein-like protein involved in metal detoxification in the digestive gland of mussels. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 93, 389-395.
- Vidal, M.-L. (2001).** Etude de marqueurs biochimiques de pollution chez le mollusque bivalve d'eau douce *corbicula fluminea* (Müller): purification et caractérisation des glutathion- transferases. Thèse de Doctorat, Université Bordeaux 1, France, 284p
- Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullou, M. J., & Valavanidis, A. (2007).** Integrated use of biomarkers (superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation) in mussels *Mytilus galloprovincialis* for assessing heavy metals' pollution in coastal areas from the Saronikos Gulf of Greece. *Marine pollution bulletin*, 54, 1361-1371.
- Vogel, S. (1977).** Current-induced flow through living sponges in nature. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(5), 2069-2071.
- Waddell, B., & Pawlik, J. R. (2000a).** Defenses of Caribbean sponges against invertebrate predators. I. Assays with hermit crabs. *Marine Ecology Progress Series*, 195, 125-132.
- Waddell, B., & Pawlik, J. R. (2000b).** Defenses of Caribbean sponges against invertebrate predators. II. Assays with sea stars. *Marine Ecology Progress Series*, 195, 133-144.

- Walker, C., Hopkin, S., Sibly, R., & Peakall, D. (2001).** *Toxicity testing. Principles of ecotoxicology. 2nd edition.* Taylor & Francis, 93-118.
- Wang, W.X., & Wong, R. C. (2003).** Combined effects of food quantity and quality on Cd, Cr, and Zn assimilation to the green mussel, *Perna viridis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 290(1), 49-69.
- Warren, C. E. & Davis, G. E (1967).** Laboratory studies on the feeding, bioenergetics, and growth of fish. The biological basis of freshwater fish production. S.D. Gerking. Oxford, UK, Blakwell Scientific Publications: 175-214
- Weber, F.A., Voegelin, A., & Kretzschmar, R. (2009).** Multi-metal contaminant dynamics in temporarily flooded soil under sulfate limitation. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 73(19), 5513-5527.
- Weckbecker, W., & Cory, J. G. (1988).** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letters*, 40(3), 257-264.
- Wehrl, M., Steinert, M., & Hentschel, U. (2007).** Bacterial uptake by the marine sponge *Aplysina aerophoba*. *Microbial ecology*, 53(2), 355-365.
- Werner E.G. M., Wolfram W., Wolfgang S., Markus B., Renato B. & Zelimir F. (1999).** Initiation of an Aquaculture of Sponges for the Sustainable Production of Bioactive Metabolites in Open Systems: Example, *Geodia cydonium*. *Marine Biotechnology*, 1 (6), 569–579.
- Whalan, S., Battershill, C., & de Nys, R. (2007a).** Sexual reproduction of the brooding sponge *Rhopaloeides odorabile*. *Coral reefs*, 26(3), 655-663.
- Whalan, S., Ettinger-Epstein, P., & de Nys, R. (2008).** The effect of temperature on larval pre-settlement duration and metamorphosis for the sponge, *Rhopaloeides odorabile*. *Coral reefs*, 27(4), 783-786.
- Wilson, D. M., Puyana, M., Fenical, W., & Pawlik, J. R. (1999).** Chemical defense of the Caribbean reef sponge *Axinella corrugata* against predatory fishes. *Journal of chemical ecology*, 25(12), 2811-2823.
- Wingfors, H., Selden, A., Nilsson, C., & Haglund, P. (2006).** Identification of markers for PCB exposure in plasma from Swedish construction workers removing old elastic sealants. *Annals of Occupational Hygiene*, 50(1), 65-73.
- Wong, W., & Cheung, S. (2001).** Feeding rhythms of the green-lipped mussel, *Perna viridis* (Linnaeus, 1758)(Bivalvia: Mytilidae) during spring and neap tidal cycles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 257(1), 13-36.
- Wulff, J.L. (1995).** Sponge-feeding by the Caribbean starfish *Oreaster reticulatus*. *Marine Biology*, 123(2), 313-325.

- Yin, Y., Jia, H., Sun, Y., Yu, H., Wang, X., Wu, J., & Xue, Y. (2007).** Bioaccumulation and ROS generation in liver of *Carassius auratus*, exposed to phenanthrene. *Biochem. Physiol.* 145, 288-293.
- Zarrouk, S., Ereskovsky, A. V., Ben Mustapha, K., El Abed, A., & Perez, T. (2013).** Sexual reproduction of *Hippospongia communis* (Lamarck,1814) (Dictyoceratida, Demospongiae): comparison of two populations living under contrasting environmental conditions *Marine Ecology* 34 , 432–442
- Zea, S., Parra, F. J., Martínez, A., & Duque, C. (1999).** Production of bioactive furanosesterterpene tetronic acids as a possible internal chemical defense mechanism in the sponge *Ircinia felix* (Porifera Demospongiae). *Mem. Queensl. Mus.* 44, 687–696.
- Zea, S. (2001).** Patterns of sponge (Porifera, Demospongiae) distribution in remote, oceanic reef complexes of the southwestern Caribbean. *Rev. Acad. Colomb. Cienc,* 25(97), 579-592.
- Zhang, Y., Song, J., Yuan, H., Xu, Y., He, Z., & Duan, L. (2010).** Biomarker responses in the bivalve (*Chlamys farreri*) to exposure of the environmentally relevant concentrations of lead, mercury, copper. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30(1), 19-25.
- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., & Jiang, G. (2008).** Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica chimica acta*, 606(2), 135-150.

# RESUMES

## Résumé

Cette étude est une contribution à la connaissance des Spongiaires du golfe d'Annaba. Divers aspects ont été abordés avec un intérêt particulier pour la diversité des spongiaires colonisant l'étage infralittoral (0-40 m) du golfe d'Annaba, la détermination de la qualité écotoxicologique par le dosage de quelques éléments traces métalliques et l'estimation du niveau de la pollution à l'aide de marqueurs biochimiques, basée sur le dosage de certains biomarqueurs du stress oxydant et l'étude du cycle sexuel.

L'étude de la systématique de 27 échantillons d'éponges collectées dans le golfe d'Annaba (Cap de Garde - plage Lever de l'Aurore) au moyen de la plongée sous-marine a permis d'identifier 9 espèces appartenant à 5 ordres différents, avec la dominance de l'ordre des Dictyoceratida.

L'évaluation de la qualité des eaux du golfe d'Annaba a été appréciée par une approche écotoxicologique basée d'une part sur l'estimation des teneurs et de la biodisponibilité des éléments traces métalliques (Cu, Zn, Pb et Cd), et d'autre part, sur le dosage de biomarqueurs (GSH, GST et MDA), chez l'éponge *Sarcotragus spinosulus*, une espèce assez abondante et présentant un certain nombre de caractéristiques qui font d'elle un excellent bioindicateur.

Dans ce travail, l'éponge *S. spinosulus* a été échantillonnée saisonnièrement dans le golfe d'Annaba (automne 2015/ hiver, printemps, été 2016) dans deux stations bien distinctes, l'une située à proximité de rejets urbains, industriels et agricoles (Alzon) et l'autre éloignée de toute action humaine (Cap de Garde).

*In toto*, l'analyse des concentrations en métaux lourds (Cu, Zn, Pb et Cd) varie suivant la saison de prélèvement avec une accumulation plutôt forte en hiver qu'au printemps à l'exception du zinc où nous notons uniquement un pic estival. Les valeurs moyennes enregistrées révèlent un ordre décroissant  $Zn > Cu > Pb > Cd$ . Cependant, il est à remarquer que le cap de Garde, site supposé de référence, présente des concentrations relativement élevées en zinc et en plomb.

Les expérimentations de terrain ont révélé des différences de sensibilité des systèmes antioxydants entre les saisons et entre les différentes stations. De plus, l'effet des saisons, conforté par l'étude statistique ANOVA à un critère de classification, est bien évident. Nous avons pu mettre en évidence que les teneurs de GSH et de MDA se sont avérées bien supérieures en période hivernal. D'autre part nous avons enregistré des diminutions significatives de l'activité GST durant la même saison.

Enfin, l'étude de la reproduction durant un cycle entier (juin 2016 / mai 2017) a révélé que 3 individus ont développé des cystes spermatiques et des gamètes féminins concomitamment, montrant clairement que *S. spinosulus* est une espèce hermaphrodite.

**Mots-clés :** Biomarqueurs, Métaux, Spongiaires, Stress oxydant, Pollution, Golfe Annaba.

**Abstract**

This study is a contribution to the knowledge of sponges in the Annaba Gulf. Various aspects were discussed with an interest for the diversity of sponges colonizing the infralittoral (0-40 m) zone of the Annaba Gulf, the determination of the ecotoxicological quality by the determination of some heavy metals and the estimation of the level pollution using biochemical markers (assay of biomarkers of oxidative stress) and the sexual cycle study.

The taxonomic study of 27 samples of sponges collected in the Annaba Gulf (cap de Garde - beach Lever de l'Aurore) by means of scuba diving made it possible to identify 9 species belonging to 5 different orders, with the dominance of the Dictyoceratida order.

This study for the assessment of the water quality of the Annaba Gulf course was assessed by an ecotoxicological approach based firstly on the estimation of the contents and the bioavailability of the metallic trace elements (Cu, Zn, Pb and Cd), and on the other hand, on the biomarker assay (GSH, GST and MDA), on the sponge *S. spinosulus*, a abundant species with a number of characteristics that make it an excellent bioindicator.

In this work, sponge *S. spinosulus* was sampled in according of seasons (autumn 2015 / winter, spring, summer 2016) at two distinct sites, one located near urban, industrial and agricultural waste (Alzon) and the other far from any human action (cap de Garde) in the coastal areas of the Annaba Gulf.

*In toto*, the analysis of heavy metal concentrations (Cu, Zn, Pb and Cd) varies according to the sampling season with a higher accumulation in winter and spring except zinc where we only note a summer peak. The average values recorded reveal a decreasing order  $Zn > Cu > Pb > Cd$ . However, it should be noted that the cap de Garde, a supposed reference site, has relatively high concentrations of zinc and lead, compared with the national medians given by the Ifremer National French Observation Network.

Field experiments revealed differences in the sensitivity of antioxidant systems between seasons and between different stations. In addition, the effect of the seasons, supported by the statistical study, is obvious. We were able to show that the GSH and the MDA contents were much higher in the winter period. On the other hand we recorded significant decreases in GST activity during the same season. The one-way analysis of variance and the defense system of the sponge *Sarcotragus spinosulus* reveals a highly significant effect for all sites.

Finally, repeated sampling of 6 sponges of *S. spinosulus* labeled during a whole cycle (June 2016 / May 2017) revealed that 3 individuals developed spermatic cysts and female gametes concomitantly, clearly showing that *S. spinosulus* is a hermaphrodite species.

**Keywords:** Biomarkers, Metals, Sponges, Oxidative stress, Pollution, Annaba Gulf.

## ملخص

هذه الدراسة هي مساهمة في معرفة اسفنج خليج عنابة. نوقشت جوانب مختلفة مع اهتمام خاص لتنوع الإسفنج الذي استعمر الأرضية السفلية (-040 م) لخليج عنابة، تحديد الجودة الإيكولوجية السميّة عن طريق تحديد بعض العناصر المعدنية النزرّة وتقدير مستوى التلوث باستخدام المؤشرات البيوكيميائية، على أساس اختبار بعض المؤشرات الحيوية للتوتر التأكسدي (stress oxydant) ودراسة الدورة الجنسية.

إن دراسة النظاميات في 27 عينة من الإسفنج التي تم جمعها في خليج عنابة (Cap de Garde - plage Lever de l'Aurore) عن طريق الغوص جعلت من الممكن تحديد 9 أصناف تنتمي إلى 5 فئات مختلفة، مع هيمنة عائلة Dictyoceratida.

تم تقييم جودة المياه لخليج عنابة من خلال مقارنة السمية الإيكولوجية على أساس تقدير المحتويات والتوافر البيولوجي للعناصر المعدنية (Pb) و Cd و (Zn, Cu)، ومن ناحية أخرى، على تحديد المؤشرات الحيوية (GSH)، GST و MDA، في الإسفنج *Sarcotragus spinosulus*، وهو نوع وفير إلى حد ما مع عدد من الخصائص التي تجعله مضاداً بيولوجياً ممتازاً.

في هذا العمل، الإسفنج *S. spinosulus* قد تم أخذ عينات منه موسميًا في خليج عنابة (خريف 2015 / شتاء، ربيع، صيف 2016) في محطتين متميزتين، أحدهما تقع بالقرب من النفايات الحضرية والصناعية والزراعية (ألزون) والآخر بعيدًا عن أي عمل بشري. (Cap de Garde)

بصفة عامة، يختلف تحليل تراكيز المعادن الثقيلة (Cu)، Zn، Pb و Cd وفقاً لموسم أخذ العينات مع تراكم قوي في الشتاء مقارنة بالربيع ما عدا الزنك حيث نلاحظ فقط قمة صيفية. متوسط القيم المسجلة يكشف عن ترتيب تنازلي  $Cd > Pb > Cu > Zn$  ومع ذلك، يجب ملاحظة أن Cap de Garde، وهو موقع مرجعي مفترض، يحتوي على تركيزات عالية نسبياً من الزنك والرصاص.

كشفت التجارب الميدانية اختلافات في حساسية النظم المضادة للأكسدة بين الفصول وبين المحطات المختلفة. بالإضافة إلى ذلك، فإن تأثير المواسم، المدعوم من قبل الدراسة الإحصائية ANOVA لمعيار التصنيف، واضح للغاية.

تمكنا من إظهار أن نشاط GST ومحتويات MDA كانت أعلى بكثير في فترة الربيع، وأكثر وضوحاً في المواقع المدروسة. من ناحية أخرى، سجلنا انخفاضاً ملحوظاً في انخفاض الجلوتاثيون في فصل الشتاء. وأخيراً، كشفت دراسة التكاثر خلال دورة كاملة (جوان 2016 / ماي 2017) أن 3 أفراد طوروا كيسات منوية وأمشاج الإناث بالتزامن، مما يدل بوضوح على أن *S. spinosulus* هو نوع من الخنثى.

# ANNEXES

## Annexe I

**Tableau I :** Principales unités industrielles déversant dans le golfe d'Annaba (DEWA, 2002).

Unité industrielle	Lieu d'implantation	Nature des effluents liquides
FERTIAL (ex ASMIDAL)	El-Bouni	Eaux de process (Chargées de résidus chimique)
FERPHOS	Port	Eaux de refroidissement
SONALGAZ	Port	Eaux usées domestiques
ENCG	Port	Eaux refroidissement
ONAB N° 1	Port	Eaux usées domestiques
ENTPL	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées domestiques
Carreaux-Granito	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées domestiques (ponçage)
ORELAIT	Lallelick (El Bouni)	Eaux usées industrielles (lactosérum)
ENCC	Z.I. Pont Bouchet	Eaux de refroidissement
FERROVIAL	Lallelick (El Bouni)	Eaux usées domestiques
HYDRO-CANAL	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées industrielles
14 EN SIDER	Sidi Amar	Eaux usées domestiques
PROSIDER (Chaiba)	Sidi Amar	Eaux usées industrielles
ERWA	Z.I. Meboudja	Eaux de lavages
SNLB	Annaba	Eaux usées domestiques
EMIB	Annaba	Eaux usées industrielles (germe et levure)
SARL PROCOMAC (Carrelage)	Z.I. Meboudja	Eaux usées industrielles (ponçage)
SARL CHOCOTRK	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées industrielles
SAEL BELKIRI (Confiserie)	Z.I. Pont Bouchet	Eaux de lavages
CONSERVERIE DE TOMATE	Annaba	Eaux usées domestiques
		Eaux usées industrielles

**Tableau II.** Représentations des rejets domestiques de la wilaya d'Annaba et de leurs milieux récepteurs (DEWA, 2002).

Agglomération W.A	Milieux récepteurs
Sidi Amar	Oued meboudja vers Oued Seybouse puis la mer.
El Hadjar	Oued meboudja vers Oued Seybouse puis la mer.
El Bouni	Une partie des rejets se déversent vers l'Oued Seybouse et l'autre partie vers la mer en passant par Oued Boudjema.
Annaba Ville	Les rejets passent par le réseau principal, se déversent vers la mer en passant par la station de pompage Sidi Brahim.

**Tableau III.** Localisation des stations de relevage des eaux usées de la wilaya d'Annaba DHWA (2008).

N°	Station de pompage	Localisation	Nature de rejets
1	Cap de Garde	Annaba	Eaux usées
2	Ain Achir	Annaba	Eaux usées
3	Belvédère	Annaba	Eaux usées
4	Refes Zahouane (Toche)	Annaba	Eaux usées
5	La Caroube	Annaba	Eaux usées
6	Rizi Amor (SP4) Chapuis	Annaba	Eaux usées
7	Levée de l'Aurore (cité Enasr)	Annaba	Eaux usées
8	Ancien gare (SP2)	Annaba	Eaux usées+pluviales
9	Sid Brahim (SP1)	Annaba	Eaux usées+pluviales
10	Bouzered Hocine (SP7)	Annaba	Eaux usées
11	Eliza (SP3)	Annaba	Eaux usées+pluviales
12	Plaine Ouest 1(SF1)	Annaba	Eaux usées
13	Plaine Ouest 2(SF2)	Annaba	Eaux usées
14	Cité Rym	Annaba	Eaux usées
15	El Bouni	El Bouni	Eaux usées
16	Allalik	El Bouni	Eaux usées
17	Gharbi Aissa	El Bouni	Eaux usées
18	Sidi Salem 2	El Bouni	Eaux usées
19	Boukhmir	El Bouni	Eaux usées
20	Boukhadra 5	El Bouni	Eaux usées
21	El Hadjar 4	El Hadjar	Eaux usées
22	Chetaibi	Chetaibi	Eaux usées
23	Oued El Aneb	Oued El Aneb	Eaux usées

SP : Station de pompage.

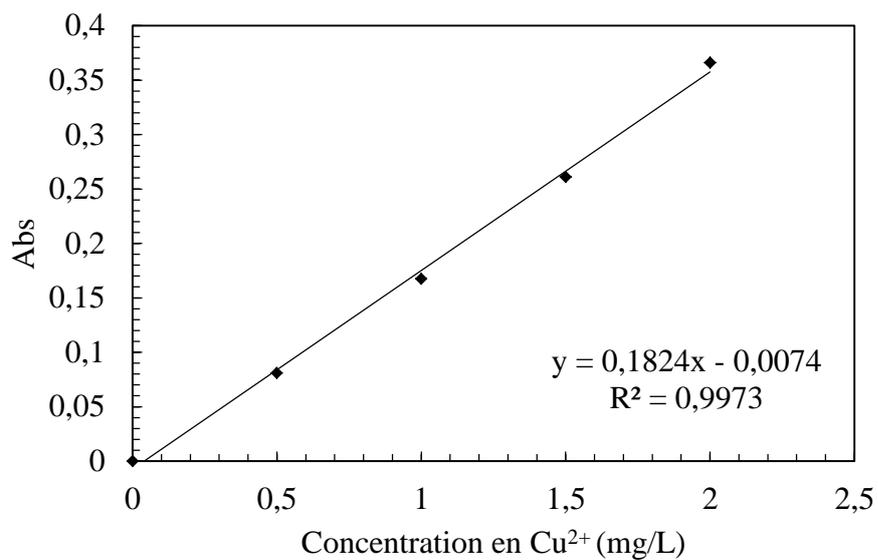
SF : Station de forage.

**Tableau IV.** Distribution systématique des espèces d'éponges inventoriées au niveau du littoral oranais (d'après Hussein, 2015).

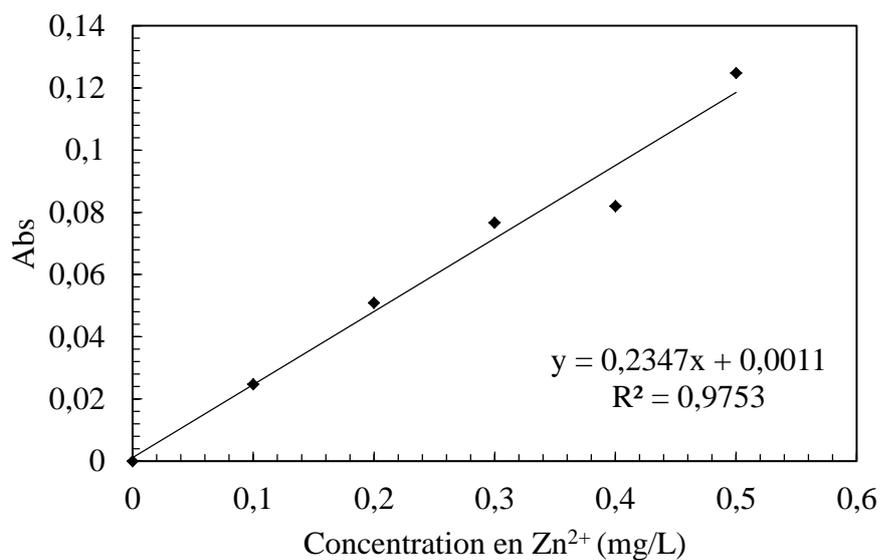
Classe	Ordre	Famille	Genre	Espèce	
Demospongiae	Chondrosida	Chondrillidae	<i>Chondrosia</i>	<i>reniformis</i>	
			<i>Chondrilla</i>	<i>nucula</i>	
	Dendroceratida	Darwinellidae	<i>Aplysilla</i>	<i>sulfurea</i>	
			<i>Aplysilla</i>	sp.	
	Halichondrida	Axinellidae	<i>Axinella</i>	<i>polypoïdes</i>	
				<i>damicornis</i>	
				<i>verrucosa</i>	
	Halichondriidae	Halichondriidae	<i>Halichondria</i>	<i>panicea</i>	
				<i>Crambeidae</i>	<i>Crambe</i>
	Poecilosclerida	Hymedesmiidae		<i>fictitius</i>	
				<i>Anchinoe</i>	<i>tenacior</i>
				<i>Phorbas</i>	<i>paupertas</i>
				<i>Hemimycale</i>	<i>columella</i>
	Irciniidae	Irciniidae		<i>fasciculata</i>	
				<i>oros</i>	
<i>Sarcotragus</i>				<i>spinosulus</i>	
Thorectidae	Thorectidae		<i>Cacospongia</i>	<i>mollior</i>	

	Dictyocirratida	Dysideidae	<i>Dysidea</i>	<i>avara</i>	
				<i>fragilis</i>	
		Spongiidae	<i>Hippospongia</i>		<i>communis</i>
			Spongia		<i>officinalis</i>
					<i>agaracina</i>
	Agelasida	Agelasidae	<i>Agelas</i>		<i>oroides</i>
Clionaida	Spirastrellidae	<i>Spirastrella</i>		<i>cunctatrix</i>	
Petrosina	Petrosiidae	<i>Petrosia</i>		<i>ficiformis</i>	
Calcispongiae	Clathrinida	Clathrinidae	<i>Clathrina</i>	<i>coriacea</i>	

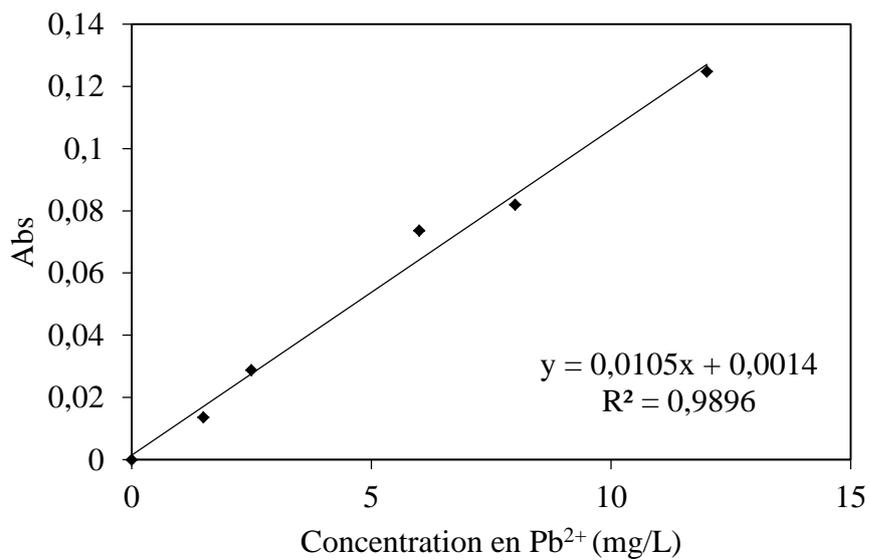
## Annexe 2



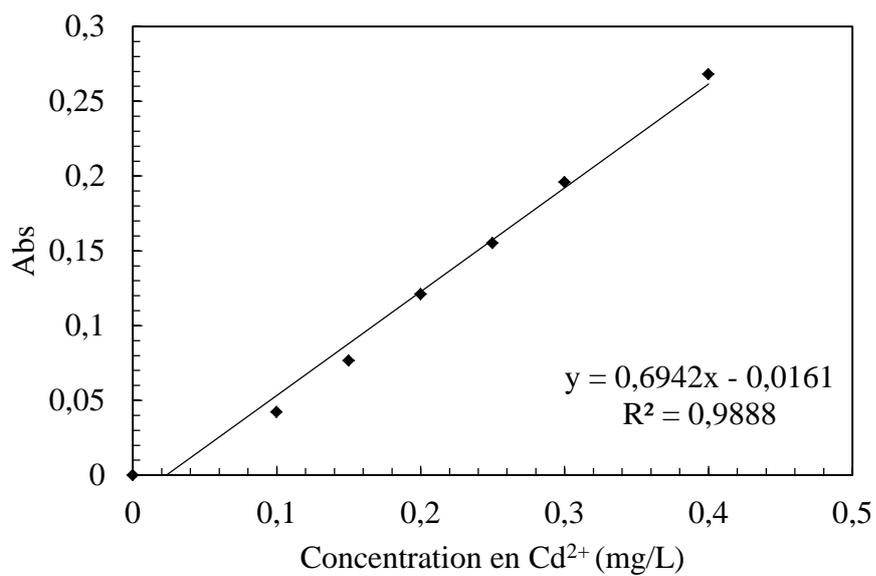
**Figure I :** Courbe d'étalonnage du cuivre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) pour  $\lambda = 328,1\text{nm}$ .



**Figure II :** Courbe d'étalonnage du cuivre ( $\text{Zn}^{2+}$ ) pour  $\lambda = 213,81\text{nm}$ .



**Figure III** : Courbe d'étalonnage du cuivre (Pb<sup>2+</sup>) pour  $\lambda = 283,3$  nm.



**Figure IV** : Courbe d'étalonnage du cuivre (Cd<sup>2+</sup>) pour  $\lambda = 228,8$  nm.