



جامعة باجي مختار-عنابة
UNIVERSITÉ BADJI-MOKHTAR ANNABA



FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE DE BIOSURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat es sciences

Option : Biologie animale

THÈME

Biosurveillance environnementale du littoral Est-Algérien
à travers l'utilisation d'un mollusque gastéropode
Stramonita haemastoma (Linnaeus, 1767) : approche
multi-marqueurs et évaluation de la pollution métallique

Présentée par : Mlle Hana BOUZAHOUE

Membres du jury

Pr. Lamya Chaoui	Présidente	Université Badji-Mokhtar, Annaba
Pr. Kheireddine Ouali	Directeur de thèse	Université Badji-Mokhtar, Annaba
Pr. Mohamed Banni	Examineur	Institut supérieur agronomique Chott-Mariem, Tunisie
Pr. Nouha Kaouachi	Examinatrice	Université Mohamed Chérif Messaadia, Souk Ahras
Dr. Karima Sifi	Examinatrice	Université Badji-Mokhtar, Annaba
Dr. Wyllia Khati	Examinatrice	Université Chadli Bendjedid, El-Tarf



Remerciements

La thèse de doctorat représente un travail s'inscrivant dans la durée, et pour cette raison, constitue le fil conducteur d'une tranche de vie de son auteur, parfois au crépuscule de la candeur étudiante, et souvent à l'aube de la maturité scientifique.

La soutenance d'une thèse marque assurément la fin d'une étape dans la vie d'un chercheur. Je voudrais saisir cette occasion pour exprimer ma gratitude à tous ceux qui m'ont soutenu, encouragé à poursuivre ce travail et à le finir.

Mes remerciements vont tout d'abord à mon Directeur de Thèse, Monsieur Kheireddine Ouali, Professeur à l'Université Badji-Mokhtar, Annaba et Directeur du laboratoire de Biosurveillance environnementale. Je lui suis reconnaissante pour la confiance, la patience, la disponibilité, l'encadrement scientifique, la motivation communicative tout au long de ce parcours et pour la grande liberté qu'il m'avait accordé dans mes recherches, et qui m'a permis d'acquérir l'autonomie nécessaire pour arriver à ce stade merci encore pour cette confiance.

Je remercie ensuite l'ensemble des membres du jury, qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir étudier avec attention mon travail :

Madame Lamy Chaoui, Professeur à l'Université Badji-Mokhtar, pour l'honneur qu'elle me fait de présider le jury.

Monsieur Mohamed Banni, Professeur à l'Institut supérieur agronomique de Chott-Mariem (Tunisie), d'avoir accepté avec amabilité et gentillesse de juger ce travail malgré ses lourdes responsabilités.

Madame Nouha Kaouachi, Professeur à l'Université Mohamed Chérif Messaadia, Mlle Karima Sifi, Docteur à l'Université Badji-Mokhtar et Madame Wyllia Khati, Docteur à l'Université Chadli Bendjedid, de l'honneur qu'elles m'ont fait en acceptant d'être examinatrices de cette thèse, je leurs remercie chaleureusement pour leurs participation à ce jury.

Je remercie également Monsieur Choukri Barour, Docteur à l'Université Mohamed Chérif Messaadia, pour son aide précieuse à l'amélioration de la qualité scientifique de ce travail, en réalisant les analyses statistiques.



J'adresse de sincères remerciements au Docteur Sleimi Noomene, responsable de l'unité de services communs pour la recherche "Spectromètre d'Absorption Atomique", Faculté des Sciences de Bizerte, Université de Carthage, Tunisie, pour m'avoir accueilli chaleureusement au sein de son laboratoire dans le cadre d'un stage de courte durée.

Au terme de ce parcours, je remercie enfin celles et ceux qui me sont chers et que j'ai quelque peu délaissés ces derniers mois pour achever cette thèse. Leurs attentions et encouragements m'ont accompagnée tout au long de ces années. Je suis redevable à mes parents pour leur soutien moral et leur confiance indéfectible dans mes choix.

"Il n'y a guère au monde un plus bel excès que celui de la reconnaissance."

(Jean de La Bruyère, moraliste)



Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Pollution marine et contamination par les éléments traces métalliques

1. Pollution marine	6
1. 1. Définition	6
1. 2. Types de polluants	6
1. 3. Types de pollution	8
1. 4. Origine des polluants	9
1. 4. 1. Origine continentale	9
1. 4. 2. Origine marine	9
1. 5. Pollution accidentelle et chronique	10
2. Éléments traces métalliques en milieu marin	11
3. Caractéristiques des ETM étudiés	12
3. 1. Cuivre (Cu)	12
3. 1. 1. Propriétés fondamentales	12
3. 1. 2. Sources naturelles et anthropiques	13
3. 1. 3. Utilisation du Cu par l'Homme	14
3. 1. 4. Propriétés biologiques et toxicité	14
3. 2. Zinc (Zn)	15
3. 2. 1. Propriétés fondamentales	15
3. 2. 2. Sources naturelles et anthropiques	15
3. 2. 3. Utilisation du Zn par l'Homme	16
3. 2. 4. Propriétés biologiques et toxicité	17



3. 3. Chrome (Cr)	18
3. 3. 1. Propriétés fondamentales	18
3. 3. 2. Sources naturelles et anthropiques	19
3. 3. 3. Utilisation du Cr par l'Homme	19
3. 3. 4. Propriétés biologiques et toxicité	19
3. 4. Cadmium (Cd)	20
3. 4. 1. Propriétés fondamentales	20
3. 4. 2. Sources naturelles et anthropiques	21
3. 4. 3. Utilisation du Cd par l'Homme	21
3. 4. 4. Propriétés biologiques et toxicité	21
3. 5. Plomb (Pb)	23
3. 5. 1. Propriétés fondamentales	23
3. 5. 2. Sources naturelles et anthropiques	23
3. 5. 3. Utilisation du Pb par l'Homme	24
3. 5. 4. Propriétés biologiques et toxicité	24
4. Processus de bioaccumulation	25
Chapitre 2 : Biomarqueurs	
1. Biosurveillance de la pollution marine	27
2. Indicateurs biologiques de pollution	27
3. Biomarqueurs	28
4. Avantages et limites de l'utilisation des biomarqueurs	30
5. Approche multibiomarqueurs	31
6. Biomarqueurs choisis pour l'étude	31
6. 1. Glutathion réduit	31
6. 2. Glutathion-S transférase : enzyme de phase II de biotransformation	33
6. 3. Catalase	34
6. 4. Peroxydation lipidique	34
6. 5. Métallothionéines : biomarqueur de stress métallique	36
Chapitre 3 : Présentation du modèle biologique : <i>Stramonita haemastoma</i>	
1. Critères de reconnaissance	38
2. Origine des noms	38
2. 1. Origine du nom français	38



2. 2. Origine du nom scientifique	38
3. Noms	38
3. 1. Noms communs français	38
3. 2. Noms communs internationaux	38
3. 3. Autres noms scientifiques parfois utilisés, mais non valides	38
4. Position systématique	39
4. 1. Caractéristiques de l'embranchement des Mollusques	39
4. 2. Caractéristiques de la classe des Gastéropodes	40
4. 3. Sous-classe des Prosobranches	41
4. 4. Ordre des Néogastéropodes	43
4. 5. Famille des Muricidae	43
5. Distribution	43
6. Biotope	44
7. Description	45
8. Alimentation	46
9. Reproduction - Multiplication	46
10. Informations complémentaires	47

Matériel et méthodes

1. Présentation des sites d'étude	48
1. 1. Golfe d'Annaba	49
1. 1. 1. Position géographique	49
1. 1. 2. Sources de pollution	49
1. 2. Littoral d'El-Kala	49
1. 2. 1. Position géographique	50
1. 2. 2. Apports continentaux	50
1. 3. Choix et localisation des sites d'échantillonnage	50
1. 3. 1. Littoral d'El-Kala	50
1. 3. 1. 1. Plage Aouinète (Site 1)	50
1. 3. 1. 2. Plage Messida (Site 2)	51
1. 3. 2. Golfe d'Annaba : Cap de garde (Site 3)	52
2. Stratégie d'échantillonnage	53



3. Mesure des paramètres physico-chimiques de l'eau de mer	54
3. 1. Paramètres mesurés <i>in situ</i>	54
3. 2. Paramètres dosés au laboratoire	54
3. 2. 1. Nitrate (azote nitrique NO_3^-)	55
3. 2. 2. Nitrite (NO_2^-)	56
3. 2. 3. Azote ammoniacal (NH_4^+)	56
3. 2. 4. Orthophosphates (PO_4^{3-})	57
3. 2. 5. Matières en suspension (MES)	58
3. 2. 6. Chlorophylle "a"	59
3. 3. Niveau d'eutrophisation	59
4. Calcul des paramètres biologiques	60
4. 1. Détermination de l'indice de condition basé sur le poids frais	61
4. 2. Détermination de l'indice de condition basé sur la longueur de la coquille	62
4. 3. Détermination de l'indice hépato-somatique	62
5. Analyses biochimiques	63
5. 1. Dosage des biomarqueurs	63
5. 1. 1. Préparation des échantillons.....	63
5. 1. 2. Dosage des protéines	63
5. 1. 3. Dosage du glutathion réduit (GSH)	64
5. 1. 4. Dosage de la Glutathion S-transférase (GST)	65
5. 1. 5. Dosage de la catalase (CAT)	66
5. 1. 6. Dosage du malondialdéhyde (MDA)	66
5. 1. 7. Dosage de la métallothionéine (Mt)	67
5. 2. Extraction et mesure des ETM dans l'eau et dans la glande digestive de <i>S. haemastoma</i>	69
5. 2. 1. Principe de fonctionnement du Spectrophotomètre d'absorption atomique	69
5. 2. 2. Méthode de dosage des ETM	72
6. Détermination du niveau de pollution	73
7. Analyse statistique	74



Résultats et discussions

Partie 1 : Analyse des paramètres physicochimiques et des ETM dans l'eau

1. Description statistique : Variations inter-sites et saisonnières	76
1. 1. Paramètres mesurés <i>in situ</i>	76
1. 1. 1. Température de l'air (T_{air})	76
1. 1. 2. Température de l'eau (T)	78
1. 1. 3. pH	81
1. 1. 4. Salinité (Sal)	83
1. 1. 5. Oxygène dissous (Oxy)	86
1. 1. 6. Conductivité (Cond)	90
1. 2. Paramètres dosés au laboratoire	91
1. 2. 1. Nitrates (Nitra)	91
1. 2. 2. Nitrites (Nitri)	94
1. 2. 3. Ammonium (Ammo)	96
1. 2. 4. Orthophosphates (Orth)	98
1. 2. 5. Matières en suspension (MES)	101
1. 2. 6. Chlorophylle "a" (Chla)	103
1. 3. Niveau d'eutrophisation	105
1. 4. Éléments traces métalliques (ETM) dans l'eau	106
1. 4. 1. Cuivre (Cu.e)	106
1. 4. 2. Zinc (Zn.e)	107
1. 4. 3. Chrome (Cr.e)	109
2. Etude de la corrélation linéaire simple entre les variables	112

Partie 2 : Analyse des indices de condition

1. Variations saisonnières	114
2. Variations inter-sites	117
3. Résultats du Test de Kruskal-Wallis (Comparaison inter-sites et inter-saisons)	118
4. Corrélation linéaire simple entre les différents indices de condition	120

Partie 3 : Analyse des biomarqueurs et ETM dans la glande digestive de *S. haemastoma*

1. Analyse des biomarqueurs : Description statistique (Variations inter-sites et saisonnières)	122
1. 1. Glutathion réduit (GSH)	122



1. 2. Glutathion S-transférase (GST)	125
1. 3. Catalase (CAT)	130
1. 4. Malondialdéhyde (MDA)	134
1. 5. Métallothionéine (Mt)	137
2. Analyse des ETM dans la glande digestive : Description statistique (Variations inter-sites et saisonnières)	141
2. 1. Cuivre (CuGD)	141
2. 2. Zinc (ZnGD)	142
2. 3. Chrome (CrGD)	144
3. Variation spatio-temporelle des paramètres par l'analyse en composantes principales	151
4. Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) de la variation inter-sites.....	152
5. Niveau de pollution.....	153
Conclusion et perspectives	156
Références bibliographiques	160
Webographie	219
Annexes	



Résumé

Le but de notre étude consistait à déterminer le niveau de contamination et les effets de la pollution métallique du milieu marin au niveau de la zone côtière de l'Est Algérien, en évaluant chez un Mollusque Gastéropode *Stramonita haemastoma*, au niveau de sa glande digestive, les réponses de différents biomarqueurs associés à la pollution environnementale. A cet effet, nous nous sommes intéressés tout d'abord aux mesures des paramètres physicochimiques et de certains éléments traces métalliques (Cuivre "Cu", Zinc "Zn", Chrome "Cr", Cadmium "Cd" et Plomb "Pb") dans l'eau de mer. Une approche multi-marqueurs a été réalisée et soutenue par le suivi des indices biologiques et par le dosage des éléments traces métalliques mentionnés ci-dessus, au niveau de la glande digestive de notre espèce. La collecte des échantillons a été réalisée au courant de l'année 2013-2014 sur trois sites : un localisé dans le golfe d'Annaba (Cap de garde) et deux dans le littoral d'El-Kala (la plage Aouinète et la plage Messida), qui représentent la partie extrême Nord-Est du littoral Algérien. Les variations saisonnières des taux de glutathion réduit (GSH), du malondialdéhyde (MDA), de la métallothionéine (Mt) et les activités spécifiques de la glutathion S-transférase (GST) et de la catalase (CAT) ont été mesurées.

En effet, les résultats obtenus montrent une variation saisonnière de l'activité de la GST, de la CAT et de l'expression de la Mt. Par ailleurs, des variations inter-sites du taux de GSH, du MDA, de la Mt et de l'activité de la CAT ont été enregistrées chez les individus. Aussi, les concentrations des éléments traces métalliques déterminées montrent des variations spatio-temporelles pour le Cu, Zn et Cr mais elles sont inférieures à la limite de détection pour le Cd et le Pb.

Cette étude, qui est la première chez *S. haemastoma* au niveau régional, montre que cette approche intégrative associant des mesures chimiques et écotoxicologiques représente un bon moyen pour qualifier l'état de santé de l'organisme et évaluer la qualité globale des sites étudiés.

Mots-clés : *Stramonita haemastoma*, golfe d'Annaba, Littoral d'El-Kala, Glutathion réduit, Glutathion S-transférase, Catalase, Malondialdéhyde, Métallothionéine, Éléments traces métalliques.



Abstract

The aim of our study was to evaluate the contamination level and the effects of metallic pollution of the marine environment in the coastal zone of eastern Algeria, by assessing in a gastropod Mollusk *Stramonita haemastoma*, in its digestive gland, the responses of different biomarkers associated with environmental pollution.

For this purpose, we have been interested firstly in the measurements of physicochemical parameters and some trace metal elements (Copper "Cu", Zinc "Zn", Chromium "Cr", Cadmium "Cd" and Lead "Pb") in seawater.

A multi-marker approach was carried out and supported by the monitoring of biological indices and the determination of trace metal elements mentioned above, in the digestive gland of our species.

Samples collection was conducted during the 2013-2014 year on three sites: one located in the Annaba Gulf (Cape de Garde) and two in El-Kala coast (Aouinete beach and Messida beach), which represent the extreme northeastern part of the Algerian coastline.

Seasonal variations in reduced glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), metallothionein (Mt) as well as the specific activities of glutathione S-transferase (GST) and catalase (CAT) were measured.

Indeed, the results obtained show a seasonal fluctuation of GST and CAT activities and the expression of Mt. Moreover, inter-site variations of the rate of GSH, MDA, Mt, and CAT activity were recorded in individuals. Also, the concentrations of the determined trace metal elements show spatio-temporal variations for Cu, Zn and Cr but they are lower than the detection limit for Cd and Pb.

This study, which is the first in *S. haemastoma* at the regional level, demonstrates that this integrative approach combining chemical and ecotoxicological measures is a good way to describe the health state of the organism and assess the overall quality of the studied sites.

Keywords: *Stramonita haemastoma*, Annaba Gulf, El-Kala coast, Reduced glutathione, Glutathione S-transferase, Catalase, Malondialdehyde, Metallothionein, Trace metal elements.



ملخص

تهدف دراستنا إلى تحديد مستوى التلوث ومدى تأثير التلوث عن طريق المعادن للبيئة البحرية في المنطقة الساحلية الشرقية للجزائر، وذلك من خلال تقييم، في الغدة الهضمية لنوع من الرخويات بطنية القدم *Stramonita haemastoma*، مدى الاستجابة لردود المؤشرات الحيوية المختلفة المرتبطة بالتلوث البيئي. لهذا الغرض، قمنا أولاً بقياس المؤشرات الفيزيائية وبعض العناصر المعدنية النادرة (النحاس "Cu"، الزنك "Zn"، الكروم "Cr"، الكاديوم "Cd" و الرصاص "Pb") في مياه البحر.

كما انتهجنا دراسة مؤشرات متعددة، مدعمة من خلال متابعة المؤشرات البيولوجية و قياس العناصر المعدنية النادرة المذكورة أعلاه، على مستوى الغدة الهضمية للنوع المدروس. أين تم جمع العينات خلال الفترة الممتدة من 2013 إلى 2014 في ثلاثة مواقع: الأول يقع في خليج عنابة (رأس الحمراء) والآخرين في ساحل القالة (شاطئ عينات وشاطئ مسيدا)، التي تمثل نهاية الجزء الشمالي الشرقي من الساحل الجزائري.

تم قياس الاختلافات الموسمية للجلوتاثيون المرجع (GSH)، مالونديالدهيد (MDA)، ميتالوثيونين (Mt) و الأنشطة الأنزيمية للجلوتاثيون S- ترانسفيراز (GST) و الكاتالاز (CAT).

أظهرت النتائج المتحصل عليها تبايناً موسمياً لنشاط GST و CAT ومعدل Mt على حد سواء. كما أشارت الدراسة إلى تسجيل تغيرات بين المواقع في معدلات GSH، MDA و Mt و نشاط CAT لدى العينات.

بالإضافة إلى ذلك، تُظهر تركيزات العناصر المعدنية النادرة لكل من النحاس، الزنك والكروم تغيرات زمانية و مكانية على التوالي بينما الكاديوم والرصاص لم يسجلا أي تغير كون تركيزهما أقل من الحد الأدنى للكشف.

تعد هاته الدراسة الأولى من نوعها إقليمياً على نوع *S. haemastoma*، كما أن هاته الطريقة التكاملية التي تجمع بين القياسات الكيميائية والسمية الإيكولوجية تعد وسيلة جد هامة لتقييم الحالة الصحية للعينات خاصة و النظام البيئي بشكل عام للمواقع التي تمت دراستها.

الكلمات المفتاحية: *Stramonita haemastoma*، خليج عنابة، ساحل القالة، جلوتاثيون مرجع، جلوتاثيون S- ترانسفيراز، كاتالاز، مالونديالدهيد، ميتالوثيونين، عناصر معدنية نادرة.



Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Origine de la pollution marine	10
2	Fonction antioxydante du GSH	32
3	Mécanisme de détoxification des glutathion S-transférases (GST)	33
4	Peroxydation lipidique	36
5	Morphologie interne et externe des Gastéropodes	42
6	<i>Stramonita haemastoma</i> dans son milieu naturel	45
7	<i>Stramonita haemastoma</i>	45
8	La ponte de l'espèce <i>Stramonita haemastoma</i>	46
9	Carte des trois sites d'échantillonnage	48
10	Site de collecte 1 : plage Aouinète	51
11	Site de collecte 2 : plage Messida	52
12	Canal Messida	52
13	Site de collecte 3 : cap de garde	53
14	Chair humide (a) et masse totale (b) de <i>Stramonita haemastoma</i>	62
15	Mesure de la longueur de <i>Stramonita haemastoma</i>	62
16	Glande digestive de <i>Stramonita haemastoma</i>	62
17	Comparaison des limites de détection entre les différentes techniques utilisées pour le dosage des ETM	70
18	Composantes d'un Spectromètre d'Absorption Atomique	71
19	Spectrophotomètre d'absorption atomique en type Perkin Elmer (PinAAcle 900T, USA)	73
20	Variation inter-sites et saisonnière de la température de l'air	77
21	Variation inter-sites et saisonnière de la température de l'eau	79
22	Variation inter-sites et saisonnière du pH	82
23	Variation inter-sites et saisonnière de la salinité	84



24	Variation inter-sites et saisonnière de l'oxygène dissous	87
25	Variation inter-sites et saisonnière de la conductivité	90
26	Variation inter-sites et saisonnière des nitrates	92
27	Variation inter-sites et saisonnière des nitrites	95
28	Variation inter-sites et saisonnière de l'ammonium	97
29	Variation inter-sites et saisonnière des orthophosphates	99
30	Variation inter-sites et saisonnière des MES	101
31	Variation inter-sites et saisonnière de la chlorophylle "a"	104
32	Niveau trophique de l'eau des trois sites d'étude	105
33	Variation inter-sites et saisonnière du Cu dans l'eau	107
34	Variation inter-sites et saisonnière du Zn dans l'eau	108
35	Variation inter-sites et saisonnière du Cr dans l'eau	110
36	Corrélogramme présentant les corrélations entre les 15 paramètres physicochimiques de l'eau pour l'ensemble des trois sites	113
37	Variation saisonnière des indices de condition	119
38	Variation inter-sites des indices de condition	119
39	Corrélogramme (corrplot) présentant les corrélations entre les trois indices de condition pour l'ensemble des trois sites et des quatre saisons	121
40	Variation inter-sites et saisonnière de la concentration moyenne en GSH	123
41	Variation inter-sites et saisonnière de l'activité de la GST	126
42	Variation inter-sites et saisonnière de l'activité de la CAT	131
43	Variation inter-sites et saisonnière de la concentration en MDA	135
44	Variation inter-sites et saisonnière de la concentration en Mt	138
45	Variation inter-sites et saisonnière de la concentration en CuGD	142
46	Variation inter-sites et saisonnière de la concentration en ZnGD	143
47	Variation inter-sites et saisonnière de la concentration en CrGD	145
48	Analyse en composante principale basée sur la variation inter-sites et saisonnière	152
49	Classification ascendante hiérarchique des sites d'échantillonnage selon la variation des paramètres mesurés	153
50	Niveau de pollution des trois sites	154



Liste des tableaux

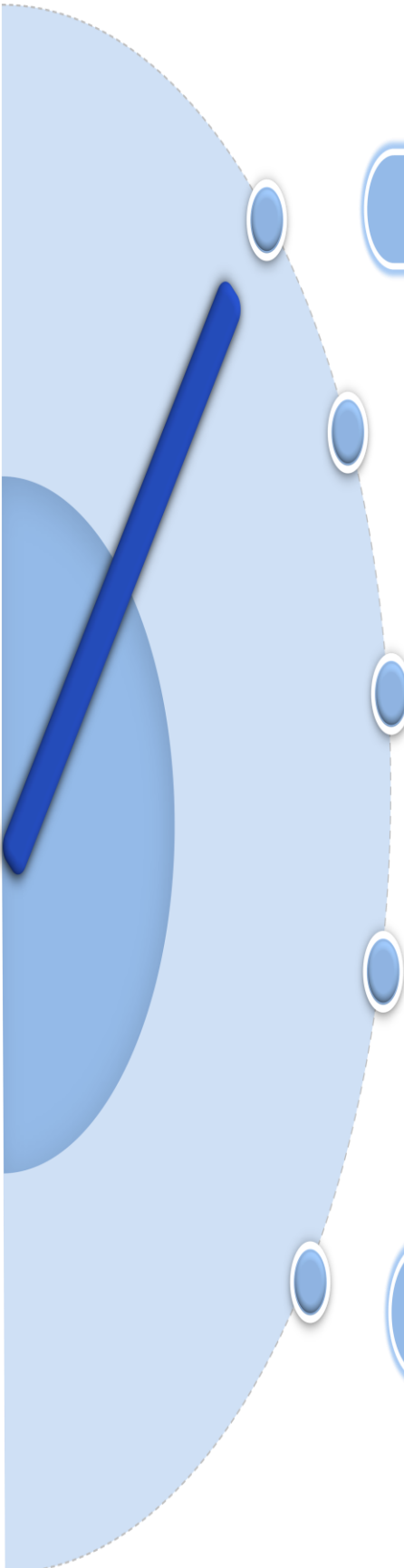
N°	Titre	Page
1	Classes des micropolluants potentiellement retrouvés dans le milieu marin	7
2	Les sept classes des Mollusques	40
3	Echelle de classification des niveaux trophiques des eaux côtières	60
4	Limite de détection en mode flamme pour les éléments dosés par le Spectromètre d’Absorption Atomique type Perkin Elmer, marque PinAAcle 900T	71
5	Indice de réponse des biomarqueurs en fonction du niveau de discrimination	74
6	Niveau de pollution	74
7	Description statistique des variables spatiales pour les températures de l’air (°C) ..	76
8	Description statistique des variables temporelles pour les températures de l’air (°C)	76
9	Description statistique des variables spatiales pour les températures de l’eau	78
10	Description statistique des variables temporelles pour les températures de l’eau ..	78
11	Description statistique des variables spatiales pour le pH	81
12	Description statistique des variables temporelles pour le pH	81
13	Description statistique des variables spatiales pour la salinité (PSU)	84
14	Description statistique des variables temporelles pour la salinité (PSU)	84
15	Description statistique des variables spatiales pour l’oxygène dissous (mg L^{-1})	86
16	Description statistique des variables temporelles pour l’oxygène dissous (mg L^{-1}) ..	86
17	Description statistique des variables spatiales pour la conductivité (mS cm^{-1})	90
18	Description statistique des variables temporelles pour la conductivité (mS cm^{-1}) ...	90
19	Description statistique des variables spatiales pour les nitrates (μM)	92
20	Description statistique des variables temporelles pour les nitrates (μM)	92
21	Description statistique des variables spatiales pour les nitrites (μM)	94
22	Description statistique des variables temporelles pour les nitrites (μM)	94
23	Description statistique des variables spatiales pour l’ammonium (μM)	96



24	Description statistique des variables temporelles pour l'ammonium (μM)	96
25	Description statistique des variables spatiales pour les orthophosphates (μM)	98
26	Description statistique des variables temporelles pour les orthophosphates (μM) .	99
27	Description statistique des variables spatiales pour les MES (mg L^{-1}).....	101
28	Description statistique des variables temporelles pour les MES (mg L^{-1}).....	101
29	Description statistique des variables spatiales pour la Chlorophylle "a" ($\mu\text{g L}^{-1}$)	103
30	Description statistique des variables temporelles pour la Chlorophylle "a" ($\mu\text{g L}^{-1}$)	103
31	Description statistique des variables spatiales pour Cu.e (mg L^{-1})	106
32	Description statistique des variables temporelles pour Cu.e (mg L^{-1}).....	106
33	Description statistique des variables spatiales pour Zn.e (mg L^{-1}).....	108
34	Description statistique des variables temporelles pour Zn.e (mg L^{-1})	108
35	Description statistique des variables spatiales pour Cr.e (mg L^{-1})	109
36	Description statistique des variables temporelles pour Cr.e (mg L^{-1}).....	109
37	Ordre d'enrichissement des sites d'étude pour chaque ETM dans l'eau	110
38	Ordre d'enrichissement des ETM de l'eau dans les sites d'étude	110
39	Analyse de corrélation de Spearman des données saisonnières entre les paramètres physicochimiques chez <i>S. haemastoma</i> des trois sites d'étude	112
40	Description statistique des variables pour les 4 saisons	114
41	Description statistique des variables pour les 3 sites	117
42	Comparaison inter-sites et inter-saisons des indices de condition	118
43	Analyse de corrélation de Spearman des données saisonnières entre les paramètres physiologiques chez <i>S. haemastoma</i> des trois sites d'étude	120
44	Variation spatiale du GSH (nmol mg^{-1} de protéines)	122
45	Variation temporelle du GSH (nmol mg^{-1} de protéines)	122
46	Variation spatiale de la GST ($\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de protéines)	126
47	Variation temporelle de la GST ($\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de protéines)	126
48	Variation spatiale de la CAT ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de protéines)	130
49	Variation temporelle de la CAT ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de protéines)	130
50	Variation spatiale du MDA (nmol mg^{-1} de protéines)	134
51	Variation temporelle du MDA (nmol mg^{-1} de protéines)	134
52	Variation spatiale de la Mt (nmol g^{-1} de tissu)	138
53	Variation temporelle de la Mt (nmol g^{-1} de tissu)	138



54	Variation spatiale du CuGD (mg g^{-1} de poids sec)	142
55	Variation temporelle du CuGD (mg g^{-1} de poids sec)	142
56	Variation spatiale du ZnGD (mg g^{-1} de poids sec)	143
57	Variation temporelle du ZnGD (mg g^{-1} de poids sec)	143
58	Variation spatiale du CrGD (mg g^{-1} de poids sec)	144
59	Variation temporelle du CrGD (mg g^{-1} de poids sec)	144
60	Variation spatiotemporelle du MPI des trois sites d'étude	154



Introduction

Synthèse bibliographique

Matériel et Méthodes

Résultats et discussions

Conclusions et perspectives



Introduction

Le littoral se trouve continuellement exposé à une grande variété de substances contaminantes et de micropolluants directement rejetés dans les mers et les océans, auxquels s'ajoutent ceux rejetés dans l'air et qui seront drainés par les sols et les fleuves (Damien *et al.*, 2004 ; Valavanidis *et al.*, 2006). La pollution marine possède différentes origines. Elle peut être d'origine industrielle (hydrocarbures, éléments traces métalliques, substances chimiques, etc.), agricole (nutriments, pesticides, etc.), ou tout simplement être produite par les rejets domestiques suite à la présence de nombreux émissaires d'eaux usées urbaines où se concentre une grande variété de polluants (Valavanidis *et al.*, 2006). La présence de ces composés dans les milieux environnementaux, les organismes vivants et la nourriture constitue aujourd'hui une menace sérieuse pour la santé humaine et l'intégrité de l'environnement.

La pollution métallique est l'une des formes de pollution anthropique les plus abondantes et les plus dangereuses menaçant la zone littorale. Les polluants métalliques se retrouvent dans le milieu marin principalement par le ruissellement superficiel de la pluie, par les dépôts atmosphériques directs et par les rejets des eaux usées et des établissements industriels. Le trafic maritime est également une source considérable de métaux compte tenu de leur présence dans la composition des peintures antisalissures des bateaux (Boulajfene *et al.*, 2017).

Les éléments traces métalliques (ETM) sont des micropolluants qui peuvent affecter la salubrité du milieu marin, puisqu'ils ne subissent pas de dégradation biologique ou chimique. Ils peuvent de ce fait s'accumuler dans les différents maillons des chaînes trophiques à des concentrations toxiques dans les organismes marins. Vu la solubilité des ETM, l'analyse de l'échantillon d'eau de mer ne peut pas être considérée comme un moyen fiable pour déterminer le degré de pollution du milieu marin. Toutefois, l'étude de la bioaccumulation des ETM au niveau des organismes qui y sont exposés constitue un moyen très important pour l'évaluation de la pollution métallique (Belhaouari *et al.*, 2011).



La contamination métallique peut avoir des effets néfastes chez les organismes aquatiques après assimilation et accumulation ([Cajaraville et al., 2000](#) ; [Funes et al., 2006](#)). Toutefois, les ETM n'ont pas tous le même impact sur la santé : certains (Cuivre "Cu" et Zinc "Zn") sont essentiels à faible dose et nocifs à forte dose, et d'autres nocifs même à faible dose (Cadmium "Cd" et Plomb "Pb") ([Van der Velde et al., 1992](#)).

Il est important de dire que les effets toxiques du Cd et du Pb chez les espèces marines sont multiples. Le Cd induit de façon indirecte la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la peroxydation lipidique par interférence avec les systèmes antioxydants. Il est également décrit comme inhibiteur de la réparation des lésions de l'ADN ([Kamel, 2014](#)). Au niveau subléthal, le Cd peut provoquer des effets physiologiques (anomalies dans le développement embryonnaire et larvaire chez les mollusques bivalves) et des inhibitions de croissance ([Chiffolleau et al., 2001](#)). [Sobrinho-Figueroa et al. \(2007\)](#) ont montré que le Cd est le métal le plus toxique sur les populations juvéniles d'*Argopecten ventricosus*, qui inhibe leur croissance, suivi du Pb. Chez la moule *Mytilus edulis*, l'effet toxique du Pb peut se traduire par une compétition avec des ETM essentiels divalents et une perturbation de leur métabolisme : notamment le calcium, le magnésium et le Cu ([Belabed, 2010](#)).

Le Cu est un micro-élément important et essentiel qui agit comme pigment respiratoire chez les invertébrés marins. L'accumulation du Cu dans la cellule est à l'origine d'une cytotoxicité, qui se manifeste par une inhibition enzymatique du système pyruvate-oxydase, la glucose-6-phosphodéshydrogénase et la glutathion-réductase. Des concentrations élevées de ce métal peut entraîner des dommages oxydants aux lipides, et aux protéines ([Kamel, 2014](#)). Il peut causer également une déformation d'ADN. En plus, il a été démontré que, en excès le Zn devient un élément prooxydant en induisant la formation indirecte des radicaux libres, et en inhibant l'activité enzymatique de certaines enzymes antioxydantes telles que la glutathion réductase et la peroxydase ([Sensi et Jeng, 2004](#)).

D'une manière générale la surveillance environnementale ou écotoxicologique dans un écosystème marin est fondée sur deux approches complémentaires qui sont les biomarqueurs et les bioindicateurs ([Valavanidis et al., 2006](#)).

Le concept de biosurveillance de la qualité des eaux marines, permet d'apprécier l'état de santé du milieu et de caractériser l'effet des xénobiotiques sur les organismes aquatiques.



Cette caractérisation des effets peut se faire à l'échelle biochimique par mesure de certains biomarqueurs spécifiques et non spécifiques (Bodin *et al.*, 2004).

L'application des biomarqueurs chez les bioindicateurs est une approche importante dans le domaine de la biosurveillance de l'environnement aquatique pour évaluer les effets et la relation entre l'exposition aux polluants environnementaux et l'augmentation des effets à long terme sur les individus et les populations, ils permettent un suivi à la fois spatial et temporel donnant une image dynamique des variations des quantités de polluants présents dans le milieu marin (Fernández *et al.*, 2010), mais les données obtenues sont parfois difficiles à interpréter en raison du grand nombre de variables naturelles affectant les processus biologiques, qui pourraient agir comme facteurs de confusion sur les réponses des biomarqueurs (González-Fernández *et al.*, 2015). Ainsi, l'utilisation d'une batterie de biomarqueurs est une approche de confiance pour évaluer l'état de santé de l'environnement et augmenter la possibilité de détecter les changements biologiques précoces (Almamoori *et al.*, 2013).

Les bioindicateurs sont des organismes vivants utilisés pour surveiller la santé de l'environnement, où toute perturbation physiologique dans leur organisme indique une exposition chronique à la pollution (Lagadic *et al.*, 1997). La capacité d'adaptation d'un organisme à l'environnement dépend principalement des mécanismes efficaces de la détoxification de divers composés endogènes et exogènes (Jakanovic, 2001); chez les organismes aquatiques ces mécanismes sont les premiers sollicités par la présence des xénobiotiques (Roche *et al.*, 2003) ; de ce fait les biomarqueurs constituent un signal précoce d'effets de la contamination sur ces organismes. Ils permettent d'évaluer leur état de santé et celui des populations des écosystèmes (Flammarion *et al.*, 2000). Leur inhibition ou leur induction est un bon outil environnemental pour évaluer l'exposition et les effets potentiels des xénobiotiques sur l'organisme vivant (Varo *et al.*, 2002). A cet effet, de nombreuses espèces ont été utilisées comme bioindicatrices de la pollution ; principalement les bivalves et les échinodermes: *Mytilus galloprovincialis*, *Perna perna*, *Donax trunculus* et *Paracentrotus lividus* (Abbes *et al.*, 2003 ; Sifi *et al.*, 2007; Amira *et al.*, 2011; Soltani *et al.*, 2012 ; Sifi *et al.*, 2013 ; Bensouda et Soltani-Mazouni, 2014 ; Amri *et al.*, 2018).



Le littoral Est-algérien est la zone touristique et économique la plus importante. Il est continuellement affecté par divers contaminants provenant des activités urbaines, agricoles, portuaires et industrielles (Boucetta *et al.*, 2016a). Le golfe d'Annaba et le littoral d'El Kala, qui représentent l'extrême Nord-Est de la côte algérienne, connaissent les mêmes problèmes environnementaux. Ils sont exposés aux risques des différents types de pollution anthropique qui ont un impact sur les organismes qui y vivent et sur les êtres humains.

Le golfe d'Annaba est l'un des plus importants pôles touristiques et économiques installé sur la côte Est algérienne. Ses ressources halieutiques sont menacées par une pollution liée à une activité économique en plein essor. Il est le réceptacle de tous les résidus toxiques ou non produits par les différentes unités industrielles implantées le long de la côte. En outre, des travaux antérieurs ont montré que la région du golfe d'Annaba est influencée par des effluents riches en ETM, il est soumis à des activités agricoles, industriels, urbaines ainsi qu'au développement touristique (Semadi et Deruelle, 1993; Abdenour *et al.*, 2000; Beldi *et al.*, 2006) et par conséquent subit l'impact de nombreux produits chimiques et de facteurs stressants; ce qui rend l'évaluation de la qualité de l'écosystème marin indispensable.

Le littoral d'El-Kala est peu influencé par les apports d'origine anthropique compte tenu de la faible urbanisation de la région. Notons aussi l'absence d'industries et par conséquent pas ou peu de pollution atmosphérique ou continentale qui serait due à celles-ci (Ounissi et Khelifi-Touhami, 1999).

Stramonita haemastoma, qui est un mollusque gastéropode marin de la famille des Muricidae communément appelé « Bakouma » en Algérie, a fait l'objet de quelques travaux concernant son utilisation comme bioindicateur de la pollution par le tributylétain (phénomène d'imposex) (Liu et Suen, 1996 ; Horiguchi *et al.*, 1997 ; Chiavarini *et al.*, 2003 ; Lemghich et Benajiba, 2007 ; El Mortaji *et al.*, 2011 ; Sierra-Marquez *et al.*, 2018) mais beaucoup moins d'attention a été porté à cette espèce jusqu'à présent en écotoxicologie.

Dans ce contexte, une approche multiparamétrique a été mise en place en utilisant plus d'un biomarqueur pour l'évaluation diagnostique et prédictive du potentiel de stress oxydant subi par une population de *S. haemastoma*.



Pour cela, nous avons choisi d'établir un suivi des variations saisonnières du taux du glutathion réduit (GSH), du malondialdéhyde (MDA), de la métallothionéine (Mt), de l'activité spécifique de la glutathion S-transférase (GST) et de la catalase (CAT) chez ce Mollusque Gastéropode issu de trois sites d'étude : cap de Garde (golfe d'Annaba), plage Aouinète et plage Messida (littoral d'El-Kala) au niveau de la zone côtière de l'Est Algérien.

Peu d'études se sont intéressées à la bioaccumulation en ETM chez les Gastéropodes, malgré leur importance, leur grande diversité et leur capacité à bioaccumuler les ETM (Yüzereroğlu *et al.*, 2009; Belhaouari *et al.*, 2011; Rabaoui *et al.*, 2013; Boulajfene *et al.*, 2017). Ceci nous a conduit à mener une étude saisonnière de l'accumulation des ETM : le Cu, le Zn, le Chrome "Cr", le Cd et le Pb dans la glande digestive et d'analyser ces mêmes ETM dans l'eau de mer dans le but d'évaluer la qualité environnementale du milieu marin.

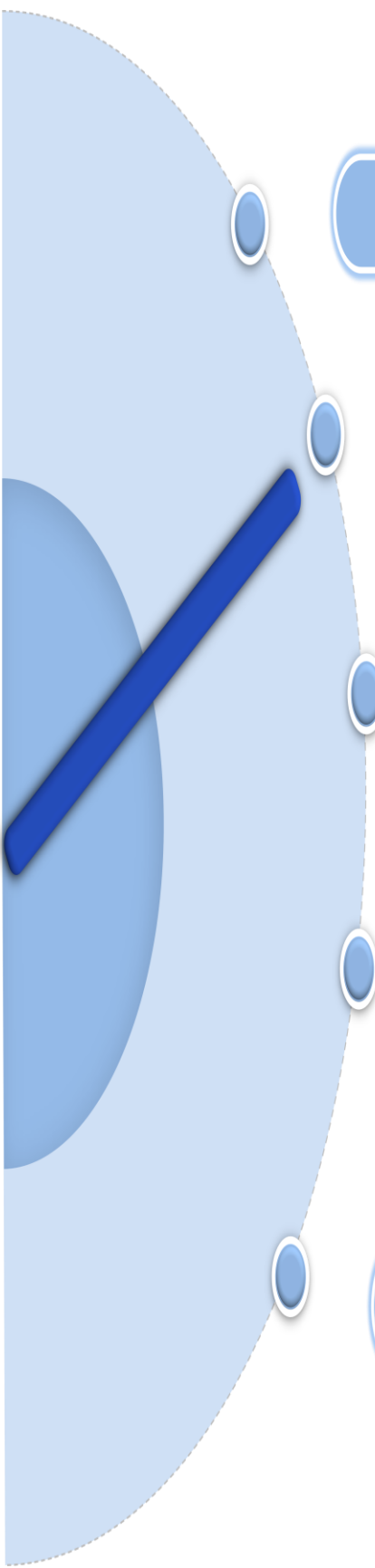
Ce présent document comporte quatre parties :

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique axée principalement autour de la problématique de la pollution marine, des biomarqueurs et leurs utilités dans l'évaluation de la qualité de l'environnement marin et une description de la biologie de l'espèce *S. haemastoma*.

La deuxième partie est dédiée à une présentation des sites d'études, ainsi que la méthodologie suivie pour la concrétisation de notre objectif de travail.

La troisième partie résume, tour à tour, les variations spatiotemporelles d'indices de condition, d'une batterie de biomarqueurs et d'ETM mesurés chez notre espèce pour l'évaluation du potentiel de risque des sites côtiers.

La quatrième et dernière partie se rapporte aux conclusions générales du travail effectué et perspectives qui en découlent.



Introduction

Synthèse bibliographique

Matériel et Méthodes

Résultats et discussions

Conclusions et perspectives



Chapitre 1 : Pollution marine et contamination par les éléments traces métalliques

Cette partie a pour but, de faire le point des connaissances actuelles sur la pollution marine et la contamination chimique par les éléments traces métalliques (ETM) et, particulièrement, ceux recherchés lors de ce travail, ainsi que leurs effets sur les différents écosystèmes littoraux et marins.

1. Pollution marine

1. 1. Définition

Le terme de pollution marine fait l'objet d'une définition, de la part du [GESAMP \(1989\)](#), comme étant "l'introduction par l'homme, directement ou indirectement, de substances ou d'énergie dans le milieu marin (y compris les estuaires) occasionnant des effets néfastes tels que des nuisances envers les ressources biologiques, des risques pour la santé de l'homme, des entraves aux activités maritimes (y compris la pêche), une altération de la qualité de l'eau de mer du point de vue de son utilisation et une dégradation des valeurs d'agrément".

1. 2. Types de polluants

Un polluant est dit d'un produit chimique qui existe à un niveau jugé comme étant supérieur à celui qui doit exister normalement dans n'importe quelle composante de l'environnement. Cependant, pour les produits synthétisés par l'homme, tout niveau détectable est considéré comme anormal ([Ah-Peng, 2003](#)). Dans l'environnement côtier, un polluant est défini comme un agent physique, chimique ou biologique dans un hydrosystème, qui y provoque, par sa concentration dans l'eau, des perturbations préjudiciables au bon équilibre de l'écosystème et en réduit les possibilités d'usages de l'eau. Le comportement dans l'environnement d'une substance est difficile à appréhender, car il dépend de ses propriétés et de la nature du milieu dans lequel elle se trouve. Par exemple, sa capacité à se retrouver dans l'atmosphère dépend à la fois de son degré de volatilité et de sa solubilité dans l'eau ([RNB, 1999](#)). Selon [Mouchel et Thévenot \(2003\)](#) on distingue :



- **Les macropolluants** : Ce sont des molécules naturelles qui se trouvent dans l'environnement à des concentrations différentes de celles habituellement observées, ce qui entraîne une augmentation de la cinétique des réactions biochimiques.
- **Les micropolluants** : Ce sont des produits actifs minéraux ou organiques toxiques à des concentrations infimes (de l'ordre du $\mu\text{g L}^{-1}$ ou moins) (Tableau 1), ils sont susceptibles de contaminer les différents compartiments eau/air/sol puisqu'ils sont directement introduits au sein même de l'écosystème. Cependant, leur détection dans les cours d'eau est difficile, en raison de la multiplicité des substances, la variabilité des contaminations et leur très faible concentration (RNB, 1999).

Tableau 1 : Classes des micropolluants potentiellement retrouvés dans le milieu marin (Krishna Das, 2006).

Micropolluants minéraux	-Métaux traces -Silices et silicates -Amiante -Fluorocarbones
Micropolluants organiques non pesticides	1. Hydrocarbures aromatiques polycycliques et hétéroaromatiques (PAH) Benzo(a)anthracène/B(a)A et Benzo(a)pyrène/ B(a)P 2. Parafines chlorées: CH_3Cl , CHCl_3 , 3. Aromatiques halogénés Polychlorobiphényles (PCB) Polychloroterphényles (PCT) Polychloronaphtalènes (PCN) 4. Aromatiques halogénés avec oxygène Polychlorophénols (PCP) Polychlorodibenzo-para-dioxines (PCDD) Polychlorodibenzo furannes (PCDF) 5. Aromatiques volatils Benzène Toluène Xylène 6. Amines aromatiques (AA), Esters phtaliques, colorants, pigments, surfactants, produits pharmaceutiques etc.
Pesticides et biocides	1. Organo-halogénés aliphatiques 2. Acides phénoxyacétiques 3. Diphényles (DDT) 4. Cyclodiènes 5. Triazines 6. Carbamates 7. Organophosphorés 8. Organomercuriels



1. 3. Types de pollution

La plupart du temps, un rejet n'est jamais une source unique et les différents types de pollution sont mélangés et agissent les uns sur les autres (effets de synergie). Ainsi, un égout rejette des déchets organiques, des détergents dont certains s'accompagnent d'ETM (pollution chimique), des microorganismes (pollution biologique), le tout dans de l'eau douce (pollution physique) (Gravez et Bernard, 2006). Ainsi, nous distinguons :

- **Pollution chimique** : C'est une pollution due au déversement de substances chimiques telles que les hydrocarbures, les détergents, les biocides, les pesticides (DDT, Lindane,...), les ETM (Pb, Cd, Hg...) (GIS, 1996). De nombreuses substances de synthèse issues du génie humain ont la capacité d'engendrer des sous produits (métabolites) encore plus dangereux comme le DDE, les dioxines. Ainsi, l'Océan mondial est systématiquement pollué par des substances toxiques, même dans ses régions les plus reculées, à titre d'exemple les morues de la mer Baltique présentent des teneurs record en PCB (Vincent, 2006).

- **Pollution physique** : On parle de pollution physique lorsque le milieu marin est modifié dans sa structure physique par divers facteurs. Il peut s'agir d'un rejet d'eau douce qui fera baisser la salinité d'un lieu (par une centrale hydroélectrique), d'un rejet d'eau réchauffée ou refroidie (par une centrale électrique ou une usine de regazéification de gaz liquide), d'un rejet liquide ou solide de substances modifiant la turbidité du milieu (boue, limon, macrodéchets...), d'une source de radioactivité (GIS 1996 ; Gravez et Bernard 2006). Cependant, le rejet de chaleur dans l'environnement constituant de nos jours une forme de pollution physique du milieu naturel capable de provoquer de vrais bouleversements, car d'un point de vue écologique, il existe un paramètre incontournable qui est la température du milieu. Or, dans certains pays industrialisés, l'augmentation de température en aval des centrales électriques peut atteindre 7 à 8 °C, ce qui engendre une modification totale des communautés aquatiques et de leurs modes de fonctionnement (Vincent, 2006).

- **Pollution biologique** : Il peut s'agir de pollution par des micro-organismes (bactéries, virus, champignons) provenant des égouts qui peuvent proliférer à leur arrivée dans le milieu marin, même s'il est vrai qu'il s'agit d'un milieu qui ne favorise pas la vie de la plupart des agents pathogènes (Gravez et Bernard, 2006).



Cette pollution peut résulter du rejet dans les eaux continentales ou littorales d'une grande variété de substances organiques fermentescibles d'origines diverses (effluents urbains, matières fécales, industries, élevages,...) et se traduit par une forte contamination bactériologique. Elle soulève, dans bien des cas, de redoutables problèmes d'hygiène publique: qualité des eaux potables, salubrité des plages, qui ne sont pas limités aux seuls pays du tiers monde. Cette extension incessante de la pollution microbiologique des eaux continentales et littorales a pour conséquence une recrudescence d'affections pathogènes (colibacilles, hépatites, virus entériques,...) (Vincent, 2006). Il peut également s'agir de l'introduction d'une espèce marine dans une zone où elle est normalement absente et dans laquelle elle a un impact non négligeable (ex : la caulerpe : *Caulerpa taxifolia*) (Gravez et Bernard, 2006).

1. 4. Origine des polluants

1. 4. 1. Origine continentale

Les polluants sont introduits dans la zone littorale à partir du continent par les rejets d'effluents ou les dépôts de déchets solides sur la côte, par les apports des fleuves et les eaux de ruissellement en secteur urbain et agricole (eaux pluviales). Les effluents domestiques sont collectés dans les réseaux et conduits dans une station d'épuration, qui réduit mais ne supprime leur charge polluante, avant d'être rejetés. Ils peuvent aussi être rejetés sans épuration dans certains cas. Les effluents industriels sont très variés, et sont collectés par les réseaux d'assainissement ou rejetés directement (Beauchamp, 2003).

1. 4. 2. Origine marine

Les polluants sont apportés par les courants marins; ils sont introduits au large, par les activités des transports maritimes et les exploitations des fonds marins (plates-formes pétrolières), ou proviennent d'autres zones côtières par l'action des courants littoraux (Fig. 1) (Beauchamp, 2003).

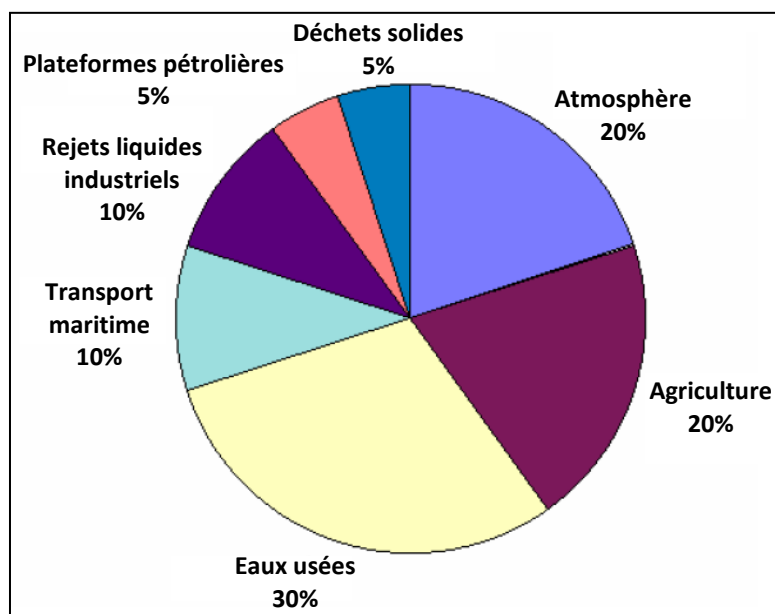


Figure 1 : Origine de la pollution marine (Beauchamp, 2003).

1. 5. Pollution accidentelle et chronique

Le milieu marin peut être pollué de manière accidentelle ou chronique (Beauchamp, 2003).

La pollution accidentelle provient :

- en mer, suite à une collision, échouage de navire, perte de conteneurs, accidents sur plateforme de forage ;
- à terre, suite à un accident dans une usine, accident de transport.

La pollution chronique (systématique) : elle est faite de déversements volontaires, ou inconscients, et étalés dans le temps :

- en mer, rinçage des cuves de pétroliers (déballastage), des ordures et eaux usées des navires (y compris la navigation de plaisance), déversements volontaires de déchets solides à partir de navire, rejet d'effluents par canalisation immergée ;
- à terre, eaux usées des réseaux d'assainissement et des industries côtières, eaux de ruissellement des terres agricoles, eaux pluviales des zones urbaines et des axes routiers.



2. Éléments traces métalliques en milieu marin

Un métal est un élément chimique issu le plus souvent d'un minerai doté d'un éclat particulier, bon conducteur de chaleur et d'électricité, ayant des caractéristiques de dureté et de malléabilité, se combinant aisément avec d'autres éléments pour former des alliages utilisés par l'homme depuis l'Antiquité. Si les ETM sont souvent indispensables au déroulement des processus biologiques (oligoéléments), nombre d'entre eux peuvent s'avérer contaminants pour diverses formes de vie, lorsque leur concentration dépasse un seuil, lui-même fonction de l'état physico-chimique (spéciation) de l'élément considéré. C'est le cas du Cuivre (Cu), du Zinc (Zn), du Chrome (Cr), du Nickel (Ni), du Fer (Fe), du Cobalt (Co), du Vanadium (V), du Sélénium (Se), du Molybdène (Mo), du Manganèse (Mn) de l'Arsenic (As) et du Titane (Ti) (Miquel, 2001). D'autres éléments ne sont pas nécessaires à la vie et peuvent être même préjudiciables comme le Plomb (Pb), le Cadmium (Cd), le Mercure (Hg) et l'Antimoine (Sb) (Chiffoleau *et al.*, 2001).

L'appellation « éléments en traces métalliques » (ETM) ou par extension « éléments traces » est communément utilisée pour désigner les éléments métalliques naturels, caractérisés par une masse volumique élevée, supérieure à 5 g/cm³.

Les utilisations des ETM sont multiples et très diversifiées, depuis les additifs de Pb dans les carburants jusqu'aux sels d'Argent de l'industrie photographique, au Nickel ou au Cd des batteries d'accumulateurs, au Zn des gouttières ou au Cr des aciers inoxydables, au Cu de l'industrie électrique ou à l'Arsenic des produits phytosanitaires. Les sources de contamination le sont par conséquent, durant toutes les phases d'élaboration, d'utilisation et/ou de recyclage de ces produits, des ETM sont rejetés dans l'environnement, soit directement dans les eaux continentales ou marines, soit dans l'atmosphère transportés par les vents, associés aux aérosols avant de se déposer par voie sèche ou humide à la surface de la terre ou de l'océan. Ainsi, les ETM sont présents dans tous les compartiments de l'environnement, à la fois parce qu'ils sont naturellement présents (sources naturelles), ou parce que certaines activités de l'homme favorisent leur dispersion (source anthropique). Enfin, ils présentent un danger potentiel pour les consommateurs de produits marins du fait de leur possibilité de concentration dans les espèces marines, de leur élimination difficile et de leur large répartition dans le milieu aquatique (Chiffoleau *et al.*, 2001).



Les ETM pénètrent dans le milieu marin : par ruissellement de surface d'origine pluviale, par les retombées atmosphériques directes et par les rejets provenant de réseaux d'égouts et établissements industriels.

Les effets des ETM sur le milieu marin sont considérés comme un grave problème de pollution : En effet, la présence ou l'excès des ETM provoque une altération des mécanismes biologiques et peuvent provoquer un effet sur le mécanisme respiratoire et le système nerveux des organismes marins, induire la formation indirecte des radicaux libres (Sensi et Jeng, 2004), inhibe l'activité enzymatique de certaines enzymes antioxydants (Splittgerber et Tappel, 1979).

3. Caractéristiques des ETM étudiés

Le Cd et le Pb sont des polluants particulièrement visés, à cause de leur large distribution et leurs implications profondes dans la santé humaine (Clarkson et Magos, 2006; Islam *et al.*, 2007; Mergler *et al.*, 2007), et leur rôle positif dans les cellules, à ce jour, n'est pas connu. Le Zn et le Cu sont des ETM essentiels (oligo-éléments), nécessaires à la vie d'un grand nombre d'organismes, en quantité généralement faible.

3. 1. Cuivre (Cu)

3. 1. 1. Propriétés fondamentales

Le Cu est un élément chimique de symbole Cu et de numéro atomique 29. Métal de couleur rougeâtre, il possède une haute conductivité thermique et électrique à température ambiante (Hurlbut et Klein, 1982 ; Mahan, 1987).

Le Cu est un des rares ETM qui existe à l'état natif. L'occurrence du Cu natif est cependant assez faible (Hurlbut et Klein, 1982). Le Cu est moyennement abondant dans la croûte terrestre pour être un métal lourd (Wedepohl, 1995). On le trouve le plus fréquemment sous forme de sulfure ou de sulfosel (Hurlbut et Klein, 1982). Les modèles chimiques pour les eaux naturelles montrent que Cu reste à l'état d'ion $2+$ jusqu'à un pH de 6 unités. Pour la plupart des eaux neutres, $\text{Cu}(\text{CO}_3)_2^{2-}$ et CuCO_3^0 sont également importants, le second est plus important entre pH 7 et 8. Ensuite, à pH au-dessus de 8, le complexe de dihydroxide de cuivre ($2+$) prédomine. Le Cu forme aussi plusieurs complexes avec des ligands organiques (Callender, 2003).



L'oxyde cuivreux Cu_2O est insoluble dans l'eau alors que les formes CuSO_4 , $\text{Cu}(\text{OH})_2$ et CuCl_2 le sont. La majorité du Cu rejeté dans l'eau est sous forme particulaire et tend à se déposer, à précipiter ou à s'adsorber à la matière organique, au fer hydraté, aux oxydes de manganèse ou aux argiles. Dans l'eau, le Cu particulaire représenterait de 40 à 90% du Cu ([ATSDR, 1990](#)). Après introduction du Cu dans le milieu aquatique, l'équilibre chimique est généralement atteint en 24 heures ([Casas, 2005](#)).

3. 1. 2. Sources naturelles et anthropiques

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

Le Cu est extrait d'une grande variété de minerais. Il se rencontre surtout sous forme de sulfures CuS et Cu_2S dans la tétrahédrite et l'énargite, et sous forme d'oxydes. Le minerai le plus important est la chalcopryrite. La teneur en Cu dans les minerais varie de 0.5 à 5%. Elle est de 0.01% dans les roches volcaniques et de 0.0055% dans les roches cristallines.

Les principales sources anthropiques sont l'industrie du Cu et des ETM en général, l'industrie du bois, l'incinération d'ordures ménagères, la combustion de charbon, d'huile et d'essence et la fabrication de fertilisants (phosphate). Le milieu environnemental le plus exposé au Cu est le sol: 97% du Cu libéré dans l'environnement s'y retrouve contre seulement 3% dans les eaux et 0.04% dans l'air ([ATSDR, 1990](#)). La contamination des sols est due principalement aux scories d'extraction et de broyage des minerais de Cu, les boues des usines de traitement des eaux usées, les déchets de la galvanoplastie, l'industrie du fer et de l'acier. Dans les eaux, le Cu provient pour la majeure partie de l'érosion des sols par les cours d'eau (68%), de la contamination par le sulfate de cuivre (13%) et des rejets d'eaux usées qui contiennent encore du Cu, même après traitement.

La viticulture, principale monoculture dans la région méditerranéenne constitue une source potentielle de pollution métallique. Divers fongicides à base de Cu sont, par exemple, largement utilisés pour protéger la vigne. De surcroît, en zone Méditerranéenne, l'importance du ruissellement et de l'érosion sont susceptibles d'accroître les transferts vers les eaux superficielles des produits phytosanitaires issus du traitement de la vigne, le Cu inclus.



Par conséquent, ce métal, connu pour son effet fongicide sur les végétaux, se retrouve présent dans l'écosystème aquatique récepteur et peut être à l'origine de perturbations au niveau des populations phytoplanctoniques ([Casas, 2005](#)).

3. 1. 3. Utilisation du Cu par l'Homme

Le Cu est l'un des ETM les plus employés à cause de ses propriétés physiques et de sa conductibilité électrique et thermique. Il est utilisé dans la métallurgie, dans la fabrication des alliages de bronze (avec étain), de laiton (avec Zn) ou de joaillerie (avec or et argent). Il est très largement employé dans la fabrication de matériels électriques (fils, enroulements de moteurs, transformeurs), dans la plomberie, dans les équipements industriels, dans l'automobile et en chaudronnerie. L'acétate de Cu est utilisé comme catalyseur, notamment dans la fabrication de caoutchouc, comme pigments pour les céramiques et les teintures, comme fongicide et comme insecticide. Le chlorure cuivrique est employé comme catalyseur, agent désodorisant, désulfurant ou purifiant, fixateurs pour la photographie. Il est utilisé pour la production de couleurs dans les compositions pyrotechniques ou encore pour la conservation du bois et le raffinage des ETM.

Aussi, le sulfate de cuivre anhydre est utilisé en analyse pour la détection et l'élimination de traces d'eau provenant des alcools. La forme hydratée est utilisée comme fongicide agricole, bactéricide et herbicides. Il entre dans la composition de la bouillie bordelaise utilisée pour le traitement des vignes ([Casas, 2005](#)).

3. 1. 4. Propriétés biologiques et toxicité

Le Cu est un oligo-élément indispensable au métabolisme des êtres vivants. Il est impliqué dans de nombreuses voies métaboliques, notamment pour la formation d'hémoglobine et la maturation des polynucléaires neutrophiles. De plus, il est un cofacteur spécifique de nombreuses enzymes et métalloprotéines de structure intervenant dans un métabolisme oxydatif, la respiration cellulaire, la pigmentation ([OMS-IPCS, 1998](#)). Il a une importance capitale dans l'entretien des processus biologiques. Chez les Mollusques, le sang renferme un pigment respiratoire à base de Cu, l'hémocyanine.

Chez l'Homme et les Mammifères, régulés par le foie, le Cu intervient dans la fonction immunitaire et contre le stress oxydant ; son manque cause le syndrome de Muenke.



Il est aussi, à dose plus élevée et sous ses formes oxydées, un puissant poison pour l'Homme, causant la maladie de Wilson ([Plumlee et Ziegler, 2003](#)).

La toxicité vis à vis des organismes marins dépend de la forme chimique du Cu et de son état d'oxydation. En particulier, la concentration létale en 48 h pour 50% des larves d'huîtres plates serait de 1 à 3 $\mu\text{g L}^{-1}$ et des inhibitions de croissance du phytoplancton se produisent à partir de 4 $\mu\text{g L}^{-1}$. Les caractéristiques physico-chimiques du milieu (pH, dureté, teneurs en autres éléments inorganiques) agissent sur le degré de dissociation entre les formes métalliques et ioniques. Le Cu complexé est moins toxique que le Cu à l'état ionique ([Casas, 2005](#)).

3. 2. Zinc (Zn)

3. 2. 1. Propriétés fondamentales

Le Zn est un élément chimique, de symbole Zn et de numéro atomique 30. Le Zn est un métal, moyennement réactif, qui se combine avec l'oxygène et d'autres non-métaux, et qui réagit avec des acides dilués en dégageant de l'hydrogène. L'état d'oxydation unique du Zn est +2 (appelé ion zincique) ([Mahan, 1987](#)).

3. 2. 2. Sources naturelles et anthropiques

Les sources naturelles de Zn dans l'environnement sont l'altération de roches (56%), le volcanisme (22%) et la végétation ([Lantzy et Mc Kenzie, 1979](#) ; [Phelan et al., 1982](#) ; [Horowitz, 1985](#)). Le Zn principalement sous forme de sulfure (Blende) est assez uniformément distribué dans les roches magmatiques (40 à 120 mg kg^{-1}). Sa concentration est un peu plus élevée dans les sédiments argileux (80 à 120 mg kg^{-1}) et les schistes alors qu'elle est plus faible dans les roches mères sableuses ([Astruc, 2001](#)).

Cependant, [Nriagu \(1991 ; 1996\)](#) a calculé que ces sources naturelles ne représentent qu'environ 7% des émissions totales de cet élément dans l'environnement, étant donné que la production et le traitement de minerai et les activités industrielles représenteraient 75% et 18% respectivement, des émissions du Zn dans le milieu naturel.

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



Les apports anthropiques de Zn dans l'environnement résultent des sources minières industrielles (traitement minéral, raffinages, galvanisation du Fer, gouttières de toitures, piles électriques, pigments, matières plastiques, caoutchouc), des épandages agricoles (alimentation animaux, lisiers) et des activités urbaines (trafic routier, incinération ordures). Dans les zones portuaires, le Zn est introduit à partir de la dissolution des anodes destinées à la protection des coques de bateaux contre la corrosion, et est contenu dans certaines peintures antisalissures ([Astruc, 2001](#)).

3. 2. 3. Utilisation du Zn par l'Homme

La principale utilisation du Zn est la galvanisation des aciers : le dépôt d'une mince couche de Zn en surface de l'acier le protège de la corrosion. La galvanisation consomme 47% du Zn exploité dans le monde. L'acier galvanisé est utilisé dans l'automobile, la construction, l'électroménager, les équipements industriels, etc. Le laiton (alliage de Cu et de Zn) et le bronze (alliage de Cu et d'étain, auquel on ajoute parfois du Zn) consomment 19% du Zn. Les alliages de Zn, tel le zamak, pour pièces moulées (automobile, équipements ménagers, pièces industrielles...) représentent 14% de sa consommation, les produits chimiques, 9%, et les autres applications (dont les plaques et pièces pour toiture), 11%. Il est aussi utilisé en agriculture, comme apport d'oligo-élément, essentiellement en zone de sols fortement calcaires. La culture la plus sensible à la carence ou l'insuffisance en Zn est probablement le maïs. Des symptômes d'insuffisance apparaissent aussi sur la plupart des arbres fruitiers. Les apports, préventifs ou curatifs, se font sur le sol ou par pulvérisation foliaire. Pour exemple, les besoins annuels pour le maïs se situent autour de 300 à 500 grammes de Zn par hectare ([Anonyme, 2007](#)). Le Zn est présent dans plusieurs centaines d'enzymes, et participe aux échanges oxygène-gaz carbonique par les globules rouges. L'apport de cet oligo-élément diminue significativement la survenue de certaines infections (essentiellement pneumonie et diarrhée) chez les enfants des pays en voie de développement ; ce qui peut se traduire en terme de gain d'espérance de vie ([Bhutta et al., 1999](#)).



3. 2. 4. Propriétés biologiques et toxicité

Comme le Cu, le Zn est un métal essentiel et nécessaire à la vie des organismes. C'est l'un des oligo-éléments les plus abondants chez l'homme (besoins 15 mg jour^{-1}). Il intervient au niveau de la croissance, du développement osseux et cérébral, de la reproduction, du développement fœtal, du goût et de l'odorat, des fonctions immunitaires et de la cicatrisation des blessures (Nas/Nrc, 1989). Cependant, comme tout oligo-élément, l'incorporation du Zn en quantité trop importante peut entraîner un phénomène de toxicité.

En agriculture le Zn se concentre dans les sols, perturbe la croissance des végétaux par détérioration de l'appareil chlorophyllien (Gaujous, 1995). En effet, le caractère phytotoxique de Zn a été montré par de nombreuses études qui ont souligné une diminution de la production de biomasse dans des sols amendés avec des boues riches en Zn (Hinesly et al., 1977 ; Chang et al., 2009). Même si les végétaux arrivent à se développer sur sols pollués en Zn et présentent des concentrations importantes, certaines dépassant des normes internationales de qualité alimentaire (Liu et al., 2005).

Le mode d'action du Zn est toxique pour les organismes marins à partir de quelques mg L^{-1} . Sa toxicité pour ces organismes n'en fait pas un contaminant prioritaire, bien qu'il agit, à de fortes concentrations, sur la reproduction des huîtres et la croissance des larves (Casas, 2005).

L'effet toxique du Zn n'est généralement pas instantané. En effet, un poisson soumis à une pollution accidentelle contenant ce métal peut ne mourir qu'après quelques jours. Ainsi, une concentration de 7 mg L^{-1} de Zn provoque chez les algues une réduction de 50% de la croissance après une exposition de 3 jours et une concentration de 62.5 mg L^{-1} dans des cours d'eau fait diminuer leur DBO5 de 50% (Nabi et Aouaragh, 1992). Il semble, selon les derniers auteurs, qu'il exerce son action toxique par formation de composés insolubles au niveau des muqueuses recouvrant les branchies ou par action toxique interne.

Dans les poissons la dose létale est comprise entre 0.5 et 5 mg L^{-1} en Zn (Moore et Ramamoorthy, 1984).

Le Zn possède également un effet toxique chez l'Homme. Les produits piscicoles, sont la source majeure de Zn pour le consommateur.



L'inhalation de la vapeur d'oxyde de Zn provoque :

- La fièvre ;
- Une irritation de la gorge et toux ;
- Des douleurs musculaires ;
- Des irritations gastriques et divers effets sur le foie et les poumons reporte qu'il existe une relation très étroite entre la consommation de l'eau potable qui circule dans les conduits (tuyaux) galvanisés et l'intoxication par le Zn ([Cossa et Lassus, 1989](#)).

Par ailleurs, chez l'être humain les vapeurs de Zn peuvent causer (la fièvre des fondeurs) qui se manifeste par :

- Un état fébrile s'accompagnant d'une fièvre à 40 °C ;
- Douleurs musculaires.

Les dérivés chlorés du Zn peuvent causer un œdème pulmonaire souvent mortel ([Derache, 1986](#)).

Enfin, Zn est soupçonné être cancérigène pour l'homme ([Emsley, 1991 ; Yong et al., 1993](#)).

3. 3. Chrome (Cr)

3. 3. 1. Propriétés fondamentales

Le Cr est un élément chimique de symbole Cr, et de numéro atomique 24. C'est un métal dur, d'une couleur gris acier argenté. Il résiste à la corrosion et au ternissement. Les états d'oxydation les plus communs du Cr sont +2, +3 et +6 ; +3 étant le plus stable et les +4 et +5 sont relativement rares. Les composés du Cr d'état d'oxydation +6 (Cr hexavalent) sont de puissants oxydants ([Brown, 1971](#)).

Le Cr est essentiellement obtenu à partir de la chromite, minéral du type spinelle ; ce dernier est un minéral assez répandu sur le globe.

Dans ce minéral le Cr est pratiquement toujours associé au magnésium sous forme de chromite de fer FeCr_2O_4 mais peut être également associé au magnésium sous forme de chromite de magnésium ($\text{Mg Cr}_2\text{O}_4$). On y trouve également de l'oxyde d'aluminium Al_2O_3 et de la silice. D'après [Sittig \(1976\)](#), le Cr représente 0.037% de la croûte terrestre.



3. 3. 2. Sources naturelles et anthropiques

Le Cr se rencontre en petites quantités à l'état naturel dans tous les types de roches et de sols sous forme de Cr(III) solide et relativement inerte et il est entraîné dans le milieu aquatique en quantités limitées par l'altération et l'érosion de ces matières. La pénétration du Cr dans l'atmosphère a d'autres causes notamment les poussières entraînées par le vent, les émissions volcaniques, les aérosols de sels marins, les poussières provenant des feux de brousse et les débris végétatifs. La majeure partie du Cr d'origine naturelle est probablement trivalent, mais les déchets d'origine anthropique rejetés dans l'environnement peuvent être du Cr(III) et du Cr(VI).

Le Cr rejeté dans l'atmosphère par les industries, est dû à la combustion de carburant fossile, à divers procédés industriels (y compris la production de fer et d'acier et la transformation des produits chimiques et de produits réfractaires) et à des activités reliées au transport comme le fonctionnement des véhicules motorisés. Les sources mineures incluent la poussière fugitive des routes (causée par l'usure des pneus et des garnitures de freins), les émissions des convertisseurs catalytiques à base de Cr et le rejet de poudres de Cr fines ayant servi de poudre imprimante dans les photocopieuses ([ATSDR, 1988](#)).

3. 3. 3. Utilisation du Cr par l'Homme

Le Cr est utilisé dans les industries des couleurs et laques, des films et photographie, des allumettes, dans les industries galvaniques et électriques, métallurgiques, pharmaceutiques, les industries du bois, du cuir, du textile, de polissage..., il est aussi utilisé dans la protection contre la corrosion.

3. 3. 4. Propriétés biologiques et toxicité

Le Cr trivalent est un oligo-élément essentiel pour le métabolisme du sucre chez l'être humain. Une déficience en Cr peut affecter le potentiel de l'insuline à réguler le niveau de sucre dans l'organisme. L'impact immédiat de sa présence dans le milieu marin se manifeste par sa concentration dans les différents organismes aquatiques.

Des études ont montré qu'une alimentation adéquate en Cr améliore la croissance et la longévité tout en favorisant un bon métabolisme du glucose, des lipides et des protéines.



Il peut néanmoins être toxique selon l'état physico-chimique dans lequel il se trouve (Zhang et Li, 1987 ; Smith *et al.*, 1989 ; Katz et Salem, 1994 ; Elbetieha et Al-Hamood, 1997 ; Ucun *et al.*, 2002 ; Goyal *et al.*, 2003). Sous la forme Cr(VI), forme apparaissant la plus toxique, il est considéré comme un danger réel pour l'environnement (Suzuki *et al.*, 1992) puisqu'il peut entraîner des effets mutagènes et carcinogènes chez les êtres vivants (Kaim et Schwederski, 1994 ; Mc Lean et Beveridge, 2001).

D'après le « Water Quality Criteria » (1963), les poissons sembleraient plus résistants que les autres espèces aquatiques aux sels de Cr. Dans l'ensemble, les tests biologiques montrent que le Cr hexavalent est plus toxique pour les poissons que le Cr trivalent. Chez la carpe, le Cr a tendance à s'accumuler principalement dans le foie et les reins (Renholdt *et al.*, 1976).

3. 4. Cadmium (Cd)

3. 4. 1. Propriétés fondamentales

Le Cd est un élément chimique de symbole Cd et de numéro atomique 48 (Cossa et Lassus, 1989). C'est un métal blanc, mou, malléable et il ternit au contact de l'air (Callender, 2003). Cet élément n'existe pas à l'état natif. Son minerai, la greenockite, est très rare et inexploité (Hurlbut et Klein, 1982 ; Wedepohl, 1995 ; Martelli *et al.*, 2006). Le Cd est présent dans presque tous les minerais de Zn (la teneur en Cd varie de 0.01 à 0.05%). Il est également présent dans des minerais de Pb et de Cu, ainsi que dans des phosphates naturels (Hurlbut et Klein, 1982 ; Martelli *et al.*, 2006).

Le Cd a une grande résistance à la corrosion ; son point de fusion est bas ; il a une bonne conductivité de l'électricité, ses produits dérivés ont une bonne résistance aux fortes températures, et il présente des caractéristiques chimiques proches de celles du Calcium, en particulier le rayon ionique, facilitant ainsi sa pénétration dans les organismes (Chiffolleau *et al.*, 2001 ; Borchardt, 1985).

Dans les eaux naturelles, l'ion libre Cd^{2+} prédomine au-dessous de pH 8. Plus la salinité augmente, plus la concentration en Cd^{2+} diminue (Campbell, 1995). Pour des pH supérieurs à 8, le Cd précipite avec les carbonates (CdCO_3) (Hem, 1972 ; Andujar *et al.*, 2010).



En zone côtière, lors du mélange des eaux douces avec l'eau de mer, le Cd forme des complexes très stables avec les Chlorures: les Chloro-complexes (CdCl_2 , CdCl^+ , CdCl^{3-} et CdCl^{2-}). Pour des salinités faibles, c'est l'espèce CdCl^+ qui domine, alors qu'en milieu marin, c'est CdCl_2 qui est majoritaire (Cossa et Lassus, 1989).

Les rivières très riches en matières en suspension ou des eaux proches du fond des rivières, peuvent présenter du Cd adsorbé à la fraction solide. L'adsorption du Cd dans la fraction solide est considérée comme étant un enjeu majeur pour expliquer la concentration de cet élément dans les eaux naturelles (Lum, 1987).

3. 4. 2. Sources naturelles et anthropiques

Le Cd rejeté dans l'atmosphère provient de sources naturelles et anthropiques. Le Cd présent dans la croûte terrestre peut être dispersé dans l'air par entraînement de particules provenant du sol et par les éruptions volcaniques. Cependant, les activités industrielles telles que le raffinage des ETM non ferreux, la combustion du charbon et des produits pétroliers, les incinérateurs d'ordures ménagères et la métallurgie de l'acier constituent les principales sources de rejet atmosphérique. Dans l'eau, le Cd provient de l'érosion naturelle, du lessivage des sols (engrais phosphatés), ainsi que des décharges industrielles et du traitement des effluents industriels et des mines (Ramade, 1992).

3. 4. 3. Utilisation du Cd par l'Homme

Le Cd a de multiples utilisations : notamment dans les écrans de télévision, les barres de contrôles des réacteurs nucléaires, les colorants (émail, glaçure). Il entre dans la composition de nombreux alliages à bas point de fusion (soudures, brasures) et sert à la fabrication de certaines batterie d'accumulateurs (Anonyme, 2007). Mais, ses principales utilisations sont celles de ces composés qui concernent les revêtements anticorrosion (appliqué sur l'acier par cadmiage, le Cd protège contre la corrosion, en particulier saline) ou encore la fabrication de pigments de couleurs (jaune et rouge).

3. 4. 4. Propriétés biologiques et toxicité

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



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

Le Cd présente des risques chez le consommateur. Même à de faibles concentrations, il tend à s'accumuler dans le cortex rénal sur de très longues périodes (50 ans) où il entraîne une perte anormale de protéines par les urines (protéinurie) et provoque des dysfonctionnements urinaires chez les personnes âgées.

Chez l'homme, le phénomène de toxicité aiguë est connu depuis 1950 sous le nom de syndrome d'Itai-Itai défini par l'association d'une insuffisance rénale avec ostéoporose (démminéralisation et fragilisation des os) et ostéomalacie (démminéralisation et déformation des os). Son nom provient des cris poussés par les malades, riziculteurs âgés de 40 à 60 ans, du bassin de la rivière Jintsu au Japon, intoxiqués par l'eau de boisson et la consommation de riz contaminés par les rejets d'une usine d'ETM non ferreux ([Casas, 2005](#)).

Le JECFA (Joint Expert Committee for Food Additives) : comité mixte FAO/OMS, tolère chez l'homme une dose hebdomadaire tolérable (DHT) de 7 µg de Cd par kilogramme de poids corporel et par semaine. Il faut noter que, outre la boisson et la nourriture, le tabagisme est une source importante de Cd notée dans toutes les études épidémiologiques. Le règlement (CE) n° 466/2001 fixe les quantités maximales de Cd dans les denrées alimentaires (1 mg kg⁻¹ poids humide).

Les effets toxiques du Cd ne le sont pas seulement pour l'Homme, mais aussi pour les végétaux et les animaux ([Benito et al., 1999](#) ; [Andujar et al., 2010](#)).

De nombreux chercheurs ont travaillé sur l'impact induit par l'exposition au Cd. Selon [Larson et al. \(1975\)](#), ce toxique provoque chez les Poissons une anémie, une perturbation des ions divalents et une altération du métabolisme ; une altération dans l'activité de certains enzymes du foie, et une quasi inhibition enzymatique d'après [Viale \(1977\)](#), ainsi qu'un déséquilibre de l'activité des enzymes respiratoires. Plusieurs chercheurs ont annoncé qu'à basse concentration, les organismes marins s'affectent au niveau respiratoire ([Nelson et al., 1976](#) ; [Vernberg et al., 1974](#); [Moraietou-Apostolopoulou et al., 1982](#)). Plusieurs autres effets dus au Cd ont été mis en évidence, à différent niveau de l'organisme.



A ce sujet, [Zaroogian et Morrison \(1981\)](#) annoncent que l'exposition du Mollusque *Crassostrea virginica* à 5 g L^{-1} de Cd provoquerait un retard de développement larvaire chez 10% des individus; alors que la mue chez les Crustacés est perturbée à 0.1 et 1 mg L^{-1} , et la fertilité chez *Mysidopsis bahia* est affectée à 6.4 g L^{-1} de Cd ([Nimmo et al., 1978](#)).

Concernant les Poissons, [Von Westernhage et al. \(1980\)](#) rapportent qu'à des concentrations allant de 5 g L^{-1} à 50 g L^{-1} , *Limanda limanda* et *Pleuronectes platessa* subissent des impacts externes tels que l'érosion des nageoires. L'exposition du Cd de *Channa punctatus* (poissons téléostéens) induit une inhibition dans le tissu gonadal alors que 50 mg L^{-1} provoque chez *Fundulus heroclitus* (poisson estuarien) des modifications tissulaires pathologiques, dans le tractus digestif, les reins et les branchies ([Ram et Sathyanesan, 1983](#)).

3. 5. Plomb (Pb)

3. 5. 1. Propriétés fondamentales

Le Pb est un élément chimique de la famille des cristallogènes, de symbole Pb et de numéro atomique 82. Le Pb est un produit naturel de la désintégration de l'uranium ([Mahan, 1987](#)). Le Pb natif est rare, il est associé au gisement de sulfures ; on l'extrait de sa source minérale principale, la galène (PbS) qui en contient 86.6% en poids, mais aussi des minerais associés aux Zn (la sphalérite), à l'argent et le plus abondamment au Cu ([Hurlbut et Klein, 1982](#)). D'autres variétés communes sont la cérusite (PbCO_3) et l'anglésite (PbSO_4) ([Chiffolleau et al., 2001](#)). Le Pb a deux états d'oxydation $2+$ et $4+$. L'état tétravalent est un très fort oxydant, mais il n'est pas fréquent dans l'environnement. En revanche, l'état divalent est le plus stable dans l'environnement ([Callender, 2003](#)). Le Pb^{2+} en solution dans les eaux naturelles va être complexé par les carbonates, parce que ces eaux se trouvent, en général, dans un domaine de pH entre 6 à 8 unités ([Hem, 1976](#)). Toutefois dans les eaux acides, le Pb sera associé aux sulfates PbSO_4^0 , alors que pour des pH élevés (plus de 8 unités), ce métal se trouvera sous forme complexe avec des hydroxydes. Toutefois, la spéciation peut varier de manière importante en fonction des concentrations en chlore et phosphore ([Nriagu, 1974](#)).

3. 5. 2. Sources naturelles et anthropiques

Les apports naturels de Pb dans l'environnement ne représentent qu'environ 4% des émissions totales et se font essentiellement sous forme inorganique ([Nriagu, 1978 ; 1979](#)).



Les émissions de cet élément sont donc notamment liées à des activités anthropiques, l'industrie minière, la métallurgie et la sidérurgie représentant environ 80% des émissions de Pb dans l'environnement (Nriagu, 1979 ; Fergusson, 1990 ; Nriagu, 1991 ; Bouchereau, 1992 ; Nriagu, 1996).

Les apports de Pb à l'océan se font majoritairement par voie atmosphérique, la source principale étant encore à l'heure actuelle la combustion des carburants automobiles.

Des eaux côtières, dont les teneurs sont inférieures à 50 ng L⁻¹ peuvent être considérées comme non contaminées.

3. 5. 3. Utilisation du Pb par l'Homme

L'Homme utilise le Pb depuis plus de 7000 ans en raison de sa grande diffusion, sa facilité d'extraction, sa grande malléabilité et son bas point de fusion.

L'utilisation du Pb est directement liée à la métallurgie. Avec deux pics notables: sous l'empire romain pour la production de la monnaie, les canalisations et la vaisselle ; et pendant la révolution industrielle pour l'industrie, l'imprimerie, les peintures et les carburants automobiles. Cette dernière utilisation qui consistait à ajouter du Pb à l'essence comme antidétonant est, aujourd'hui, prohibée (Miquel, 2001).

Aussi, le Pb est utilisé dans l'industrie du verre et il est d'une grande utilité pour construire des protections pour atténuer les rayons (les rayons X). Les accumulateurs électriques sont devenus la principale utilisation du Pb (Fergusson, 1990 ; Anonyme, 2007). En 2004, les batteries au Pb, destinées à l'automobile ou à l'industrie, représentent 72% de la consommation de Pb. Les pigments et autres composés chimiques représentent 12% de la consommation (Anonyme, 2007).

3. 5. 4. Propriétés biologiques et toxicité

Le Pb n'est pas un oligo-élément, il est classé parmi les ETM les plus toxiques pour l'Homme et les animaux (Roony *et al.*, 1999).

Plusieurs travaux ont été effectués afin de déterminer l'impact induit par la bioconcentration du Pb.



Calabrese *et al.* (1973) montrent qu'une exposition de 48 heures à 2.5 ng L^{-1} de Pb provoquerait une anomalie dans le développement des embryons d'huîtres, alors que les travaux de Hrs-Brenko *et al.* (1977) montrent qu'une concentration de $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ est susceptible d'entraîner une inhibition du développement embryonnaire chez la moule *M. galloprovincialis* et les larves qui se développent présentent des anomalies.

Chez *M. edulis*, en présence de Pb (0.1 mg L^{-1}), il existe une perturbation du métabolisme des autres ETM divalents: notamment le Calcium, le Magnésium et le Cu (Marchand et Kantin, 1997).

Enfin, le saturnisme désigne l'ensemble des manifestations de l'intoxication humaine par le Pb. Ses principaux organes cibles sont le système nerveux, les reins et le sang.

Cette maladie se caractérise par une anémie et une perturbation du métabolisme par compétition avec les ions Ca^{2+} .

En général, le Pb est administré dans l'organisme et quotidiennement par l'air, l'eau, les aliments et la cigarette (Casas, 2005).

Les signes majeurs d'une intoxication chronique au Pb ont été décrits par l'organisation mondiale de la santé W.H.O (1995), et ils se présentent ainsi :

- Anémie et faiblesse ;
- Le Pb affecte aussi les intestins et l'estomac. Des coliques sont associées à une diminution du fonctionnement de la glande thyroïdienne ;
- Agitation, irritabilité ;
- Troubles rénaux, cardio-vasculaires, hématopoïétiques (formation de globules du sang) ;
- Les atteintes neurophysiologiques sont très fréquentes (fatigue, irritabilité, retard intellectuel chez les enfants) ;
- Mal de tête (encéphalopathie) ;
- Tremblements musculaires ;
- Hallucination et perte de mémoire.

Les symptômes peuvent progénérer :

- Le délire, la folie.
- Bouleversements (convulsions).
- Paralysie (en particulier des poignets et des chevilles) et le coma.



Le saturnisme des Oiseaux existe chez les spécimens qui ont ingéré des Plombs de chasse ([Gaujous, 1995](#)).

4. Processus de bioaccumulation

La bioaccumulation est le processus d'assimilation et de concentration des ETM dans l'organisme. Le processus se déroule en trois temps : assimilation, bioaccumulation par l'indicateur biologique (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 ETM en général sont concernés par la bioconcentration (bioaccumulation par l'individu) ([Bourrinet et al., 2008](#)), ce phénomène n'est réalisé que si la cinétique des processus d'absorption l'emporte sur celle des processus contribuant à une réduction de la contamination ([Marchand et al., 1990](#)).

c. Bioamplification

Les transferts trophiques des ETM (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 ETM ([Bourrinet et al., 2008](#)).



Chapitre 2 : Biomarqueurs

1. Biosurveillance de la pollution marine

Les réponses aux grandes questions scientifiques que pose la protection de l'environnement littoral passent nécessairement par une meilleure connaissance des mécanismes de toxicité, afin d'améliorer l'évaluation prédictive des impacts. Aujourd'hui, les connaissances acquises sur le fonctionnement des écosystèmes permettent une meilleure appréciation de la capacité d'acceptation du milieu. Ceci pose la question des stratégies de surveillance de l'environnement, mais également des méthodologies permettant de connaître les tendances d'évolution à long terme des paramètres de qualité du milieu et des niveaux de contamination des populations ([RNO, 2003](#)).

La mesure directe des contaminants dans l'eau fait appel à des techniques analytiques sophistiquées et coûteuses, difficilement applicables à de grandes séries d'échantillons. Par ailleurs, la variabilité temporelle du milieu littoral ne confère que peu de représentativité à une mesure ponctuelle dans la colonne d'eau ([RINBIO, 2001](#)). L'écotoxicologie marine est maintenant en mesure de proposer un premier élément de réponse à l'évaluation de l'effet des polluants par le développement d'indicateurs biologiques ou bioindicateurs ([RNO, 2006](#)).

En effet, la biosurveillance utilise des réponses biologiques d'organismes sélectionnés pour la surveillance de l'environnement ([PNUE/PAM, 2004](#)). Cette démarche repose sur l'hypothèse que le contenu en contaminant d'un animal reflète la concentration en contaminants biodisponibles dans l'eau sous formes particulaire et/ou dissoutes, selon un processus de bioaccumulation. L'intérêt des "organismes sentinelles" ou "indicateurs" pour la surveillance des contaminants dans le milieu marin est reconnu au niveau international ([Andral et Alzieu, 2004](#); [Damiens et al., 2007](#); [Schmidt et al., 2013](#)).

2. Indicateurs biologiques de pollution

La notion d'indicateur biologique a évolué d'années en années. Au départ, le terme de bioindicateur désignait tout organisme ou système biologique qui, par sa présence ou son absence, était caractéristique d'un milieu précis ou alors révélait l'incidence d'un facteur particulier. En écotoxicologie, ce terme désigne des espèces biologiques ou animales qui, du fait de leurs particularités écologiques, réagissent à un polluant par une modification nette et spécifique de leurs fonctions vitales ([Ulmer, 1997](#)).



Et plus précisément un indicateur biologique est un organisme ou un ensemble d'organismes qui -par référence à des variables biochimiques, cytologiques, éthologiques ou écologiques- permet de façon pratique et sûre de caractériser l'état d'un écosystème ou d'un écosystème et de mettre en évidence aussi précocement que possible leurs modifications, naturelles ou provoquées. En outre, la surveillance biologique de la qualité des ressources vivantes commerciales côtières, vis-à-vis des diverses pollutions employant les bioindicateurs vise finalement la surveillance de la santé publique chez l'homme, qui est le consommateur final dans la chaîne alimentaire (Blandin, 1986).

Les organismes aquatiques concentrent beaucoup les polluants : ils sont donc utiles pour prévoir et pour détecter la distribution spatiale et temporelle de ces polluants. Ils sont ainsi choisis dans les programmes de surveillance d'après leur importance envers l'homme, la commodité de l'échantillonnage, l'importance écologique et la diversité biochimique, physiologique et comportementale.

Une bonne connaissance de la biologie des espèces est une condition essentielle à leur sélection comme bioindicateur. L'étude des cinétiques d'accumulation permet d'obtenir des informations sur la durée d'intégration de la contamination. Des connaissances sur le mode de vie, la stratégie de nutrition, la reproduction, la croissance, la durée de vie sont aussi nécessaires (Nakhlé, 2003). Les stratégies d'accumulation propres à chaque bioindicateur surtout pour les métaux traces doivent être bien établies avec des expériences au laboratoire (Phillips et Rainbow, 1993).

3. Biomarqueurs

Les biomarqueurs ont fait leur apparition en écotoxicologie au cours des années quatre vingt. Définis comme étant 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 chimique à caractère polluant. Cette définition de Lagadic *et al.* (1997) est l'une des définitions les plus communément acceptées. Les concepts et paradigmes de recherche des biomarqueurs ont évolués depuis les années 90 pour aboutir à un questionnement scientifique intégrant la réponse biologique du gène à la physiologie, en s'appuyant sur des études à partir de l'individu jusqu'aux populations (Van der Oost *et al.*, 2003).



Actuellement, les méthodes de biosurveillance faisant appel au suivi de la réponse biologique des organismes soumis dans leur environnement à différents degrés de pollution sont en plein essor. Cette évaluation repose sur deux concepts complémentaires, à savoir les bioindicateurs et les biomarqueurs. L'utilisation des biomarqueurs repose sur la connaissance des mécanismes physiologiques et biochimiques qui précèdent les modifications visibles au niveau des organismes et des populations. De ce fait, l'utilisation d'une approche multiparamétrique combinant une batterie de biomarqueurs avec des contaminants chimiques constitue la base d'une approche pertinente permettant l'évaluation de l'état de santé d'un écosystème.

L'étude de biomarqueurs précoces apporte l'avantage d'une évaluation intégrée dans le temps et dans l'espace des polluants biodisponibles. Combinés à des marqueurs physiologiques comme la performance de reproduction, la croissance et le comportement, les biomarqueurs apportent des informations utiles à l'évaluation des effets des contaminants à différents niveaux d'organisation biologiques. Une bonne évaluation de l'impact écotoxicologique des contaminants nécessite souvent une approche multifactorielle c'est-à-dire utilisant plusieurs types de marqueurs biologiques (Minier *et al.*, 2000 ; Roméo *et al.*, 2003). Au niveau biochimique, il existe différents types de biomarqueurs regroupés selon leur fonction au niveau cellulaire. Les principaux biomarqueurs utilisés sont des marqueurs enzymatiques comme la catalase, la glutathion peroxydase, la glutathion- S transférase, et l'acétylcholinestérase (Durou *et al.*, 2007). Certaines protéines comme les métallothionéines, qui ont la propriété d'être induites par les métaux lourds et d'autres facteurs de stress sont aussi largement retenues comme indice de contamination métallique (Damien *et al.*, 2006).

L'analyse du rôle fonctionnel des biomarqueurs proposée par Depledge (1994) a montré que les biomarqueurs contribuent essentiellement au maintien de l'homéostasie de l'organisme. Lorsque la dose interne et/ou la durée d'exposition augmentent, certains biomarqueurs, comme les métallothionéines, interviennent pour compenser l'action des contaminants, notamment en limitant leur toxicité. D'autres biomarqueurs au contraire ne contribuent en rien à limiter l'action des toxiques : ils la subissent. C'est par exemple le cas de la synthèse du malondialdéhyde et l'inhibition de l'acétylcholinestérase (Lagadic *et al.*, 1997).



4. 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. Leurs usages et leur 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, ils 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 dans d'autres, 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.



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](#)).

5. Approche multibiomarqueurs

Aucun biomarqueur ne peut à lui seul prendre en compte la diversité des contaminants et à la multiplicité de leurs effets sur les organismes. Ainsi, la mise en œuvre d'un ensemble cohérent de biomarqueurs s'est rapidement imposée afin d'établir un diagnostic complet de l'état de perturbation des organismes au sein de leur environnement ([Flammarion et al., 2002](#) ; [Galloway et al., 2004](#)). Chaque biomarqueur constitutif de la batterie apporte dans une information en lien avec sa spécificité. Une sélection à priori des biomarqueurs doit être opérée afin d'éviter la redondance entre les biomarqueurs mis en œuvre et par la même, de diminuer les coûts des études. Ce travail de sélection doit alors s'appuyer sur la bonne connaissance des réponses des biomarqueurs. De plus, en fonction des objectifs des études, une sélection basée sur la spécificité des biomarqueurs doit être opérée ([Sanchez, 2007](#)).

6. Biomarqueurs choisis pour l'étude

6. 1. Glutathion réduit

Le glutathion réduit est un tripeptide (L - γ -glutamyl-L-Cysteinyl glycine) qui joue un rôle central dans les processus de défense antioxydant intracellulaire ([Arrigo, 1999](#) ; [Sies, 1999](#)). Ce tripeptide constitue le composé thiol majeur intracellulaire ; il joue, grâce à son groupement thiol de la cystéine, un rôle important dans la protection des structures cellulaires et tissulaires ([Yo et al., 1993](#) ; [Michelet et al., 1995](#)). De plus, le glutathion réduit est un cofacteur de plusieurs enzymes, qui catalysent la détoxification et l'excrétion de plusieurs composés toxiques. Parmi ces enzymes la glutathion peroxydase (GPx) réduit les hydroxydes en alcools primaires, la glutathion synthétase intervient dans la biosynthèse du GSH, et enfin, la glutathion -S-transférase (GST) intervient dans les réactions de conjugaisons des électrophiles ([Saint-Denis et al., 1998](#)).

Le GSH a la capacité de réduction et c'est un donneur de proton aux peroxydes. Ces derniers sont transformés alors en alcools primaires non toxiques et solubles dans l'eau. Cette réaction est catalysée par la GPx ([Bast et Haenen, 1984](#) ; [Pierce et Tappel, 1987](#)).



Suite à cette réaction, le GSH est oxydé en glutathion oxydé (GSSG) ce qui provoque la diminution du taux de GSH dans la cellule. Dans les réactions de conjugaison, le GSH joue le rôle d'un nucléophile via son groupement (-SH), ces réactions sont catalysées par la GST (Chasseaud, 1976 ; Addams *et al.*, 1983).

La fonction antioxydante du GSH est représentée dans la **figure 2** : Le peroxyde d'hydrogène, résultant d'un métabolisme aérobie, peut être métabolisé par la GSH-peroxydase dans le cytosol et la mitochondrie et par la catalase dans le peroxysome. Le GSSG formé est réduit en GSH par la GSSG réductase aux dépens du NADPH, formant ainsi un cycle redox. Les peroxydes organiques (ROOH) peuvent être réduits par la GSH peroxydase ou la GSH S-transférase. En cas de stress oxydatif grave, la capacité de la cellule à réduire le GSSG en GSH peut être dépassée, entraînant une accumulation de GSSG. Pour éviter une modification de l'équilibre redox, le GSSG peut soit être activement transporté hors de la cellule, soit réagir avec une protéine sulfhydryle (PSH) pour former un disulfure mixte (PSSG) (Shelly *et Lu*, 2009).

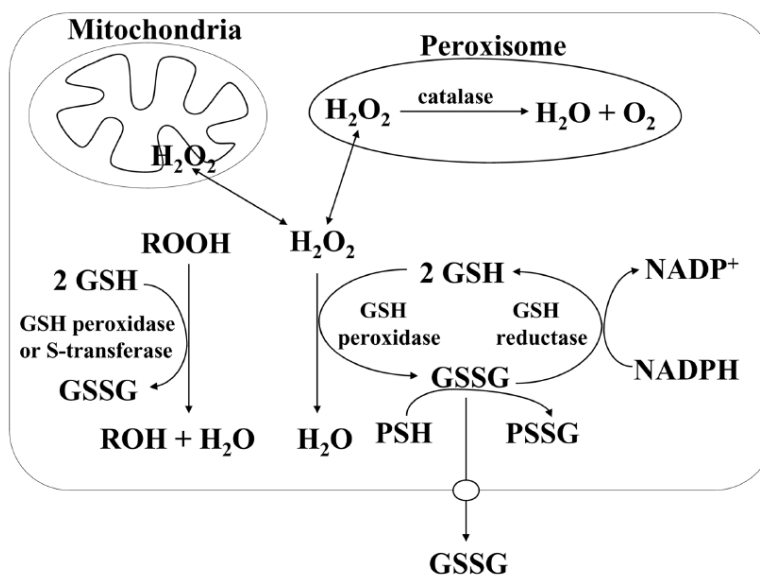


Figure 2 : Fonction antioxydante du GSH (Shelly *et Lu*, 2009).



6. 2. Glutathion-S transférase : enzyme de phase II de biotransformation

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).

La phase de conjugaison concerne aussi bien des molécules endogènes que des xénobiotiques comme les PCBs, les HAPs et les pesticides (Aarab, 2004).

Les GST ont été mises en évidence dans la plupart des êtres vivants tels que la levure (Foley et Sheehan, 1998), les Mollusques (Blanchette et Singh, 1999), les Crustacés (Keeran et Lee, 1987; Le Blanc et Cochrane, 1987), les poissons (George et Young, 1988; Martinez-Lara *et al.*, 1997; Perez-Lopez *et al.*, 2000), les mammifères (Habig *et al.*, 1974; Kamisaka *et al.*, 1975) et les plantes (Hong *et al.*, 1999). Leur intérêt est dès lors exploité en écotoxicologie environnementale dans de nombreuses études, entant qu'enzyme témoignant d'un stress oxydant ou de présence de contamination organique dans le milieu de vie, notamment chez les organismes aquatiques.

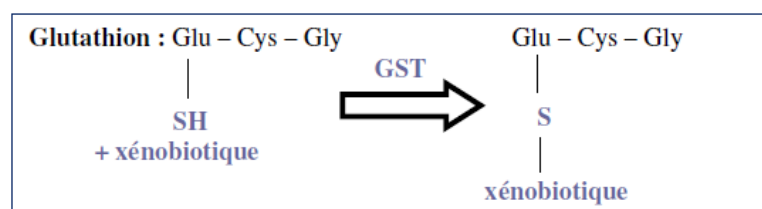


Figure 3 : Mécanisme de détoxification des glutathion S-transférases (GST).



6. 3. Catalase

La catalase est une enzyme tétramérique, chaque unité portant un groupement prosthétique (hème) et une molécule de NADPH. Cette enzyme est présente chez tous les organismes aérobies. Chez les eucaryotes elle est principalement située dans le cytosol et dans les peroxysomes où elle catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Cossu *et al.*, 1997a). Le H_2O_2 est un précurseur du radical hydroxyle, et est une espèce réactive à l'oxygène (ROS) qui induit des dommages d'ADN (Baumard *et al.*, 1999; Halliwell et Gutteridge, 1999). Au regard de son mode d'action et de sa localisation peroxysomale, la catalase est décrite comme complémentaire de la GPx dans l'élimination du H_2O_2 et la protection contre la peroxydation lipidique. La catalase est sensible à certains contaminants inducteurs de stress oxydatif au niveau des membranes cellulaires, comme les HAPs, les PCBs et certains pesticides (Solé *et al.*, 1995b). L'activité catalase est largement étudiée chez plusieurs espèces et différents groupes zoologiques (mollusques, insectes, mammifères...) comme un marqueur de stress oxydatif. Elle varie selon l'espèce, les saisons, les conditions abiotiques et la présence de xénobiotiques (Labrot *et al.*, 1996 ; Dellali *et al.*, 2001).

6. 4. Peroxydation lipidique

Une augmentation importante de flux de molécules oxydantes peut entraîner un dépassement des capacités antioxydantes des organismes et générer des dommages au niveau des macromolécules. La mesure de certaines altérations subcellulaires constitue un biomarqueur pertinent qui reflète l'effet de l'exposition à des molécules oxydantes.

Parmi les dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène (ERO) au niveau des macromolécules biologiques figure la peroxydation des acides gras polyinsaturés (lipoperoxydation).

La dégradation des lipides se produit principalement au niveau des phospholipides membranaires car leurs chaînes d'acides gras constituent la cible des attaques radicalaires. Les acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxy.



Cette réaction appelée peroxydation lipidique, forme une réaction en chaîne car le radical peroxyde formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué.

La peroxydation lipidique consiste en trois réactions de type radicalaires : initiation, propagation et terminaison (Figure 4) :

***Etape d'initiation** : se manifeste par le captage d'un atome d'hydrogène au niveau d'un groupement allylique CH_2 d'un acide gras polyinsaturé par une espèce hautement réactive, en l'occurrence un radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$), alkoxy ($\text{RO}\bullet$) ou peroxy ($\text{ROO}\bullet$) pour donner un radical alkyle ($\text{R}\bullet$). Il s'ensuit un réarrangement moléculaire permettant l'obtention d'un diène conjugué. Ce dernier réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxy très réactif ($\text{ROO}\bullet$).

***Etape de propagation** : le radical peroxy instable favorise l'attaque successive des phospholipides voisins donnant naissance à un nouveau alkyle et un hydroperoxyde lipidique (ROOH).

***Etape de terminaison** : le processus de peroxydation se poursuit jusqu'à ce que deux radicaux réagissent entre eux.

Les hydroperoxydes ainsi formés vont se décomposer par clivage de leur chaîne carbonée en un mélange complexe de molécules comprenant des alcanes (pentane et éthane...) et des aldéhydes (malondialdéhyde (MDA), 4-hydroxy-2-nonenal, dienal) (Dotan *et al.*, 2004 ; Lackner, 1998). Ainsi le MDA forme une expression de la lipoperoxydation (Pompella *et al.*, 1987 ; Sunderman *et al.*, 1987), cette dernière est le résultat de l'attaque des lipides polyinsaturés par des ERO générées dans certaines conditions de stress, en particulier avec des contaminants organiques (HAPs, PCBs, pesticides) et inorganiques (métaux de transition).

Toutefois, la lipoperoxydation présente aussi une variation en fonction de l'espèce, de l'âge, de la saison, des conditions abiotiques et du tissu étudié (Kappus, 1987 ; Viarengo *et al.*, 1990), de plus elle peut constituer un phénomène physiologique naturel qui intervient dans la dégradation de nombreux métabolites cellulaires (hormones, acides gras...) (Sani, 2007).



La lipopéroxydation peut être mesurée grâce au dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS), tel que le MDA qui est considéré comme un biomarqueur de stress oxydatif en général, et de peroxydation lipidique en particulier.

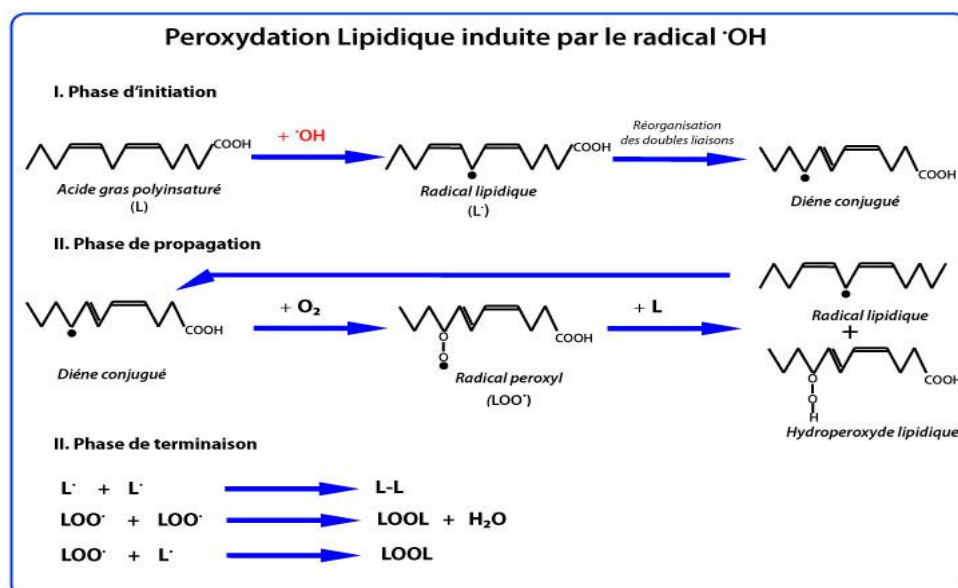


Figure 4 : Peroxydation lipidique (Site web 1).

6. 5. Métallothionéines : biomarqueur de stress métallique

Les métallothionéines (Mt) ont été utilisées en tant que biomarqueur d'exposition à des contaminations métalliques, ces protéines sont impliquées dans la régulation des métaux se propageant dans l'organisme (Roesijadi et Robinson, 1994 ; Viarengo *et al.*, 2000).

Elles jouent un rôle fondamental dans la régulation des éléments métalliques essentiels (Cu, Zn) et dans la détoxification des métaux lourds toxiques (Cd, Hg).

Diverses études mettent en évidence leur implication dans l'augmentation de la résistance des individus à un stress métallique basée sur des mécanismes physiologiques (court terme) et génétiques (long terme) (Klerks et Levinton, 1989 ; Tanguy et Moraga, 2001 ; Knapen *et al.*, 2004). L'induction des Mt peut laisser en cela présager d'altérations potentiellement importantes à des niveaux supérieurs d'organisation. Cependant, d'autres structures moléculaires sont impliquées dans l'homéostasie métallique intracellulaire et ce n'est que lorsque les capacités de séquestration des Mt sont dépassées qu'un effet toxique pour l'organisme peut apparaître (Roesijadi, 1992).



L'induction des Mt est donc difficile à traduire en termes d'effets toxiques et son utilisation restreinte à la bioindication ([Handy *et al.*, 2003](#)). Il est possible que les Mt soient impliquées dans des processus autres que l'homéostasie métallique. Chez les mammifères, et de manière moins évidente chez les poissons, ces protéines ont la capacité de piéger les radicaux libres tels que les ERO ([Cajaraville *et al.*, 2003](#)).



Chapitre 3 : Présentation du modèle biologique : *Stramonita haemastoma*

1. Critères de reconnaissance

Gastéropode à coquille ventrue de la zone de ressac. L'animal retourné laisse voir son opercule et la couleur rouge-orangé de la bouche ([Lamare et Müller, 2008](#)).

2. Origine des noms

2. 1. Origine du nom français

Traduction littérale du nom latin ([Lamare et Müller, 2008](#)).

2. 2. Origine du nom scientifique

haemastoma : du grec [haem-] = sang, et [stoma] = bouche. Donc bouche de sang en allusion à la couleur de l'ouverture de la coquille ([Lamare et Müller, 2008](#)).

3. Noms

3. 1. Noms communs français

Pourpre, pourpre bouche de sang ([Lamare et Müller, 2008](#)), rocher à bouche rouge ([Lindner, 2011](#)), Ouarque bouche de sang ([Schneider, 1992](#)).

3. 2. Noms communs internationaux

Florida rocksnail, red-mouthed rock shell (Grande-Bretagne), Boca roja (Espagne), Boccone di mare (Italie), Rotmund-Leistenschnecke (Danemark), Ouarque (Pays basque) ([Schneider, 1992](#) ; [Lamare et Müller, 2008](#)).

3. 3. Autres noms scientifiques parfois utilisés, mais non valides

Thaïs haemastoma ([Linnaeus, 1767](#))

Purpura haemastoma ([Linnaeus, 1767](#))

Buccinum haemastoma ([Linnaeus, 1767](#))

Murex consul ([Gmelin, 1791](#))

Purpura unifascialis ([Lamarck, 1822](#))

Purpura gigantea ([Calcara, 1840](#))

Purpura barcinonensis ([Hidalgo, 1867](#))

Purpura oceanica ([Locard, 1866](#))

Purpura sakem ([Pallary, 1920](#))



4. Position systématique

Embranchement : Mollusca (Mollusques) (Cuvier, 1795)

Sous-embranchement : Conchifera (Mollusques à coquilles) (Gegenbaur, 1878)

Classe : Gastropoda (Gastéropodes) (Cuvier, 1797)

Sous-classe : Orthogastropoda (Ponder et Lindberg, 1996)

Super-ordre : Caenogastropoda (Cox, 1960)

Ordre : Neogastropoda (Thiele, 1929)

Super-famille : Muricoidea (Rafinesque, 1815)

Famille : Muricidae (Rafinesque, 1815)

Sous-famille : Rapaninae (Gray, 1853)

Genre : *Stramonita* (Schumacher, 1817)

Espèce : *Stramonita haemastoma* (Linnaeus, 1767)

4. 1. Caractéristiques de l'embranchement des Mollusques

L'embranchement des Mollusques a été établi par le taxonomiste suédois Carl Linné en 1758. Les Mollusques sont des animaux pluricellulaires dont l'embryon possède trois feuilletts (triploblastiques) et une cavité ou coelome, le blastopore donne la bouche (Protostomiens). Le corps des Mollusques est mou, jamais segmenté (sauf chez les Monoplacophores), la plupart d'entre eux ont une coquille univalve ou bivalve (Lemee, 2002). Apparus il y a près de 600 millions d'années (au Précambrien), cet embranchement est le deuxième en terme de diversité : plus de 100 000 espèces vivantes, dont 99% appartiennent aux Bivalves et aux Gastéropodes. Les Mollusques regroupent sept classes (Lalli et Gimer, 1989).



Tableau 2 : Les sept classes des Mollusques (Lalli et Gimer, 1989).

Aplacophora	Pas de coquille, vermiformes, de section circulaire. La tête est indistincte et dépourvue d'organes sensoriels, la bouche est ventrale.
Monoplacophora	Coquille d'une seule pièce. Présence d'une métamérie.
Polyplacophora	Présence de 8 plaques, articulées entre elles, disposées en série d'avant en arrière.
Gastéropoda	Coquille spiralée autour d'un axe imaginaire.
Scaphopoda	Coquille en forme de défense d'éléphant et ouverte à ses deux extrémités, légèrement arquée. La tête est réduite.
Bivalvia	Coquille constituée de deux valves séparées, articulées au niveau d'une charnière. Pas de tête.
Céphalopoda	Coquille pouvant être interne et réduite. Présences de tentacules.

4. 2. Caractéristiques de la classe des Gastéropodes

La classe des Gastéropodes a été établie par le biologiste paléontologue français Georges Cuvier en 1797. Les Gastéropodes sont caractérisés par une coquille univalve (à l'opposé des Bivalves) le plus souvent en spirale (quelques exceptions : la patelle qui a une coquille en forme de chapeau chinois ou la limace de mer qui a une coquille interne).

Le corps des Gastéropodes est mou, non segmenté, la tête est bien distincte portant des tentacules sensoriels, le pied organe musculueux ventral aplati servant à la locomotion (reptation, fouissement), le manteau entoure la masse viscérale et forme une cavité qui contient des branchies plumeuses parfois absentes et la paroi de la cavité du manteau sert alors de poumon (Morin, 2002).

Les Gastéropodes sont caractérisés typiquement par leur coquille spirale susceptible d'être obturée par un opercule corné ou calcifié, inséré sur le pied de l'animal. Toutefois cette coquille peut perdre cet aspect spiral ou même être totalement absente.



On reconnaît 4 sous-classes principales: les Prosobranches à cavité palléale antérieure et à 1 ou 2 branchies en avant du cœur; les Opisthobranches à cavité palléale latérale droite ou postérieure et à 1 ou 0 branchie en arrière du cœur; les Pulmonés dont le toit de la cavité palléale antérieure est transformé en un poumon; les Gymnomorphes toujours dépourvus de coquilles et de cavité palléale.

Au cours du développement embryonnaire des Gastéropodes, une flexion endogastrique rapproche bouche et anus. Une torsion de 180° de la masse viscérale par rapport à l'ensemble tête-pied a lieu chez les Gastéropodes Prosobranches. Chez les Opisthobranches, cette torsion n'est que de 90°. Enfin, les Gastéropodes pulmonés ont conquis le milieu aérien : leur cavité palléale est transformée en poumon ([Lemee, 2002](#)).

La plupart des Gastéropodes marins à coquille appartiennent à la sous-classe des Prosobranches ([Fischer et al., 1987](#)).

4. 3. Sous-classe des Prosobranches

Comme tous les Gastéropodes à coquille, les Prosobranches possèdent typiquement une coquille d'une seule pièce, conique et enroulée en spirale autour d'un axe, dit columelle. L'ensemble des tours forme la spire. On nomme apex le sommet de la coquille; sa base est formée par le dernier tour qui présente l'ouverture dont le pourtour, ou péristome, est plus ou moins circulaire, ovale, ou compliqué par la présence d'une échancrure ou d'un canal, voire même par deux canaux. Le bord de l'ouverture, du côté de l'axe de la coquille, est dit "bord columellaire", tandis que vers l'extérieur c'est le labre ou bord labial. On nomme ligne de suture, ou suture, la ligne de contact des tours successifs. Lorsque l'enroulement laisse un espace libre dans l'axe de la spire, l'orifice visible à la base de la coquille est nommé ombilic. L'enroulement de la spire se fait en général en progressant dans le sens des aiguilles d'une montre (coquille dextre); dans le cas contraire on la dit sénestre. La coquille peut être lisse ou ne présenter que la trace laissée par les étapes de la croissance (stries de croissance). Elle peut aussi présenter des stries, des côtes, des bourrelets, des cordons, des varices ou des lignes d'épines, de tubercules ou de nodosités. Ces éléments de sculpture peuvent être orientés le long de lignes spirales parcourant les tours successifs sans discontinuité; ils peuvent également se présenter transversalement aux tours et grossièrement parallèles à l'axe de la coquille et sont alors dits axiaux.



L'animal possède une tête bien distincte portant deux tentacules, deux yeux et la bouche. Le pied se développe ventralement en une masse musculuse aplatie. La coquille abrite la masse viscérale, en position dorsale et enroulée en hélice.

Les Prosobranches sont essentiellement marins et pour la plupart benthiques. C'est dans les étages circalittoral et infralittoral que vivent la plupart des espèces comestibles. Elles colonisent de nombreux milieux, rocheux, sédimentaires ou détritiques. De nombreuses espèces sont épibenthiques; quelques-unes ont une activité fouisseuse.

Leurs régimes alimentaires sont extrêmement variés: phytophage, carnassier, détritivore, nécrophage, microphage.

Les groupes les plus primitifs (Patellidae, Trochidae) rejettent les éléments sexuels des deux sexes dans la mer où a lieu la fécondation. Dans les groupes plus évolués il y a fécondation interne. Selon les espèces, les oeufs peuvent être rejetés nus, ou revêtus d'une coque protectrice dans laquelle se déroule le développement. La larve peut être libérée sous la forme véligère nageuse ou plus tardivement, après la métamorphose, sous la forme rampante définitive. Il existe en Méditerranée 128 familles de Prosobranches (Fischer *et al.*, 1987).

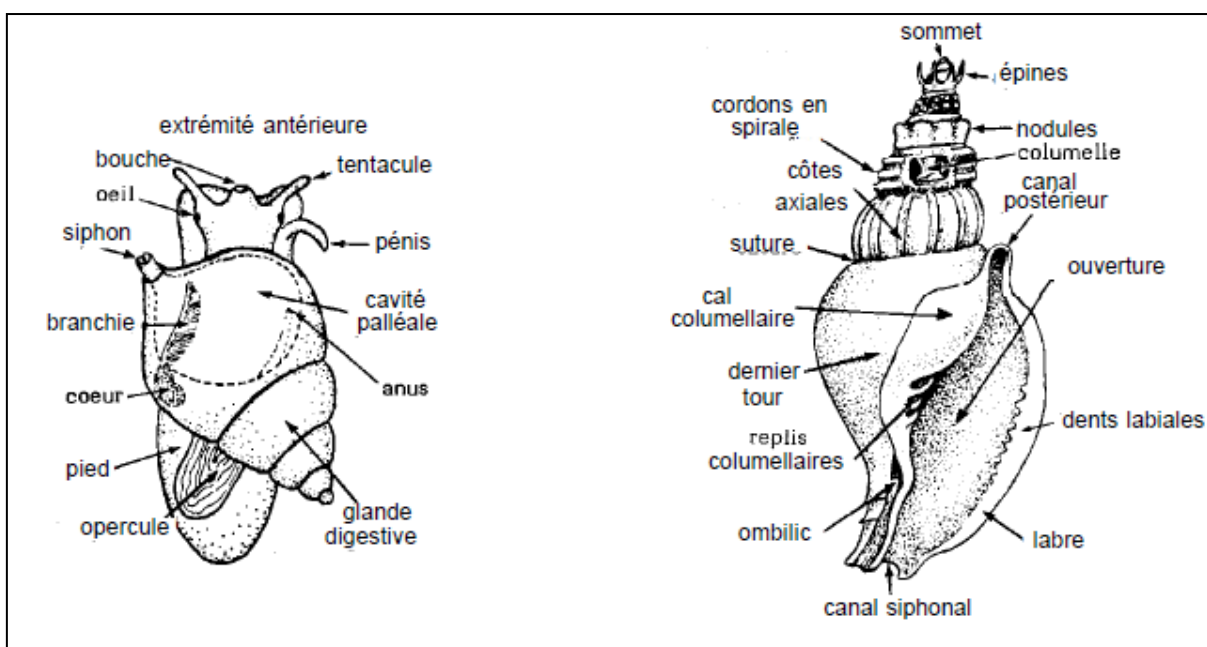


Figure 5 : Morphologie interne et externe des Gastéropodes (Fischer *et al.*, 1987).



4. 4. Ordre des Néogastéropodes

Coquille avec canal siphonal bien développé. Un repli du manteau forme un tube extensible : le siphon. La plupart sont des prédateurs ou nécrophages. Tous marins sauf le genre *Clea* (Lamare et Müller, 2008).

4. 5. Famille des Muricidae

Coquille spiralée à sculpture très importante et très variable, comportant des costulations spirales et des varices axiales enrichies d'épines, de lamelles ou d'excroissances foliacées; ouverture souvent d'importance moyenne, prolongée par un canal dont le développement peut être réduit ou très important, et parfois soudé en tube, le péristome pouvant être modifié par la présence de cette sculpture au niveau du labre. Opercule corné, mince.

La famille des Muricidae compte entre 400 et 500 espèces, selon qu'on isole, ou non, certains groupes de genres sous d'autres dénominations de familles. Ils sont distribués dans toutes les mers du globe. Carnivores, ils consomment surtout d'autres Mollusques; leurs techniques d'attaque de la proie sont variées: ils peuvent écarter l'opercule d'un autre Gastéropode, ou le forcer avec leur pied, ou perforer la coquille d'un Bivalve grâce à une sécrétion acide.

Sexes séparés; oeufs protégés par une coque cornée, sorte d'outre de profil et de dimension variables selon les espèces. Dans ces coques, des dizaines de larves vont éclore, se développer, se métamorphoser; le jeune en sortira à l'état de jeune mollusque rampant. (Fischer *et al.*, 1987).

5. Distribution

S. haemastoma a une large distribution dans le monde. Ce gastéropode est très répandu dans les eaux tropicales et chaudes de l'Atlantique Ouest. On le trouve en Amérique du Nord, les Caraïbes, en Caroline du Nord et en Floride, aux Bermudes et sur toute la côte brésilienne, y compris les îles de Fernando de Noronha et Abrolhos. On le trouve également dans l'Atlantique Est: Afrique de l'Ouest et Afrique du Sud-Ouest tropicale, incluant le Cap-Vert et l'Angola, et dans les eaux européennes, les îles de Macaronésie, la Méditerranée et la côte sud-ouest des Pouilles (Meziane et Kerfouf, 2018), vivant même dans les eaux froides de la Corée et du Japon (Limaverde *et al.*, 2007).



En Algérie, les études sur *S. haemastoma* restent très rares. À cet effet, une étude de l'abondance et de la structure démographique de ce gastéropode a été réalisée par Bendoula *et al.* (2017) sur huit stations entre Mostaganem et Ain Temouchent, et par (Meziane et Kerfouf, 2018) sur 18 stations le long des rives rocheuses intertidales du littoral ouest algérien.

6. Biotope

Ce gastéropode vit sur les substrat rocheux et boueux (Chiavarini *et al.*, 2003) à proximité des côtes, dans un habitat exposé aux vagues jusqu'à 3 m de profondeur, occasionnellement dans des habitats sablonneux (El Ayari *et al.*, 2015). Certaines populations vivent plus en profondeur. On peut parfois trouver cette espèce sur des fonds vaseux (Lamare et Müller, 2008).

S. haemastoma préfère se rapprocher de la rive intertidale inférieure, zone des basses marées constamment immergée (Santos, 2011); des abondances plus élevées ont été observées dans le milieu intertidal (Ramírez *et al.*, 2009).

La densité et l'activité de l'espèce dans les habitats intertidaux peu profonds fluctuent saisonnièrement, les mollusques tendent à devenir moins abondants et moins actifs pendant les mois froids et orageux d'hiver (Rilov *et al.*, 2005).

Ce gastéropode se confond avec le substrat sur lequel il évolue.

A l'aube du printemps, on retrouve de nombreux individus groupés (Lamare et Müller, 2008).

Ce gastéropode prédateur habite principalement des zones où le refuge est disponible (Rilov *et al.*, 2002). La disponibilité d'un abri dans la zone intertidale peut ainsi jouer un rôle majeur dans la détermination de la distribution et de l'activité de ce gastéropode. Il peut expliquer pourquoi ce gastéropode est extrêmement rare sur les plates-formes où les proies sont abondantes, mais les abris sont rares (Rilov *et al.*, 2005). Se cacher à l'intérieur des abris est un moyen de minimiser à la fois le risque de déplacement induit par les vagues et le stress de déshydratation (Ramírez *et al.*, 2009).



Rassemblement sous un rocher

Figure 6 : *Stramonita haemastoma* dans son milieu naturel (Lamare et Müller, 2008).

7. Description

Stramonita haemastoma est un escargot de mer d'environ 4 à 8 cm. La coquille est ventrue, sans épines, à spire assez basse. Les spires du sommet sont aplaties, la dernière est très grande, avec des nodules plus ou moins saillants. L'opercule est constitué d'une lamelle à noyau excentré. L'ouverture est large, ovale, et colorée de rouge-orangé (Lamare et Müller, 2008).



Coquille de profil

Coquille retournée

Figure 7 : *Stramonita haemastoma* (Lamare et Müller, 2008).



8. Alimentation

Ce gastéropode répandu en Méditerranée est un prédateur carnivore et perceur. Il se nourrit principalement des bivalves, des patelles et autres animaux sessiles à coquille dont il perce la coquille à l'aide de sa radula, de sécrétions enzymatiques et d'acide (Lamare et Müller, 2008), il adopte des stratégies opportunistes pour consommer un grand nombre d'espèces (Giacoletti *et al.*, 2016). Des observations faites ont démontré qu'il se nourrissait de 18 gastéropodes et bivalves différents (y compris le cannibalisme) (Rilov *et al.*, 2001). La recherche de nourriture dans la zone intertidale rocheuse est un danger potentiel avec une probabilité accrue d'être délogé ou affecté par le stress thermique (Giacoletti *et al.*, 2016). La faible activité de *S. haemastoma* dans la zone intertidale, même s'il est abondant, se reflète dans l'abondance de sa proie. Dans les habitats exposés aux vagues, ils cherchent refuge près des aliments afin de minimiser les coûts métaboliques et réduire le risque de mortalité lors de la digestion (Rilov *et al.*, 2005).

9. Reproduction - Multiplication

Les pontes se présentent en amas de capsules hexagonales. Selon la figure 8, la ponte est située dans une anfractuosité du rocher, zone de ressac (Lamare et Müller, 2008).

Ce gastéropode a une longue vie, elle varie entre 1 et 20 ans (Butler, 1985) avec une phase larvaire planctonique longue (Stickle et Zhang, 2003). Il n'y a aucune relation entre la maturité sexuelle et la taille de cette espèce (Boulajfene *et al.*, 2013), avec une absence de différenciation sexuelle dans la morphologie de la coquille (Butler, 1985).



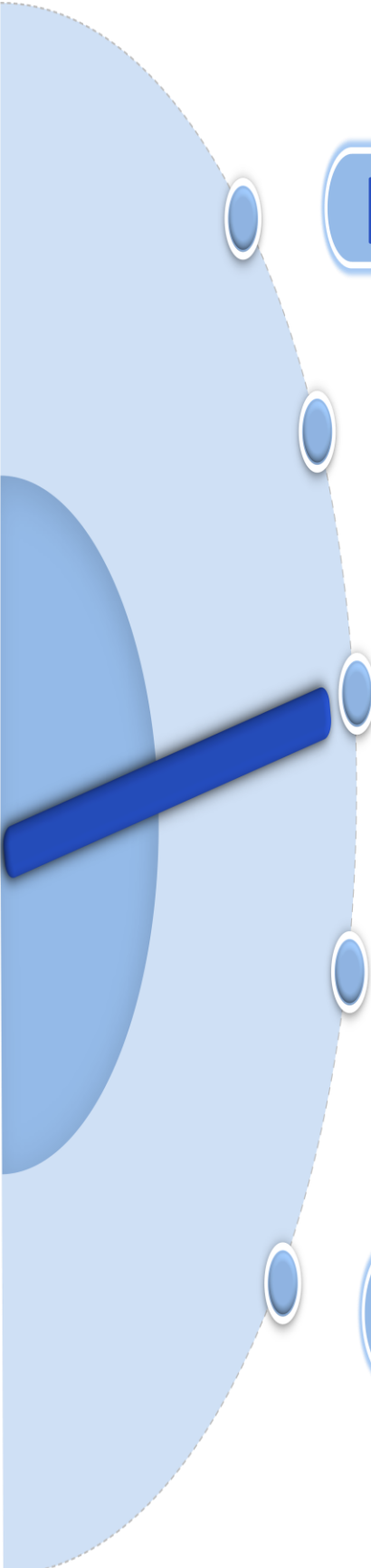
Figure 8 : La ponte de l'espèce *Stramonita haemastoma* (Lamare et Müller, 2008).



10. Informations complémentaires

Aujourd'hui, il est pêché commercialement pour la consommation, alors que dans les temps anciens, il était utilisé pour la production de colorant pourpre ([Chiavarini et al., 2003](#)).

Stramonita haemastoma est un des coquillages dont on a extrait la pourpre naturelle, pendant l'antiquité et le moyen-âge, par traitement de leurs glandes hypobranchiales. La pourpre fut produite à échelle industrielle en Phénicie (Tyr et Sidon). 10 000 coquillages étaient nécessaires pour obtenir un gramme de colorant. Celui-ci, extrêmement coûteux, symbolisait un haut rang social. Dans la Rome antique, la couleur pourpre était réservée aux sénateurs, triomphateurs, consuls, puis exclusivement aux empereurs. Dans notre civilisation, la pourpre fut le symbole des Rois francs et cardinaux catholiques ([Lamare et Müller, 2008](#)).



Introduction

Synthèse bibliographique

Matériel et Méthodes

Résultats et discussions

Conclusions et perspectives



1. Présentation des sites d'étude

La zone d'étude correspond à la partie extrême Nord-Est du littoral algérien (extrême Sud-Est de la Méditerranée), délimitée à l'Ouest par le cap de Garde et à l'Est par le cap Segleb et comprend le Golfe d'Annaba et le littoral d'El kala (Fig. 9).

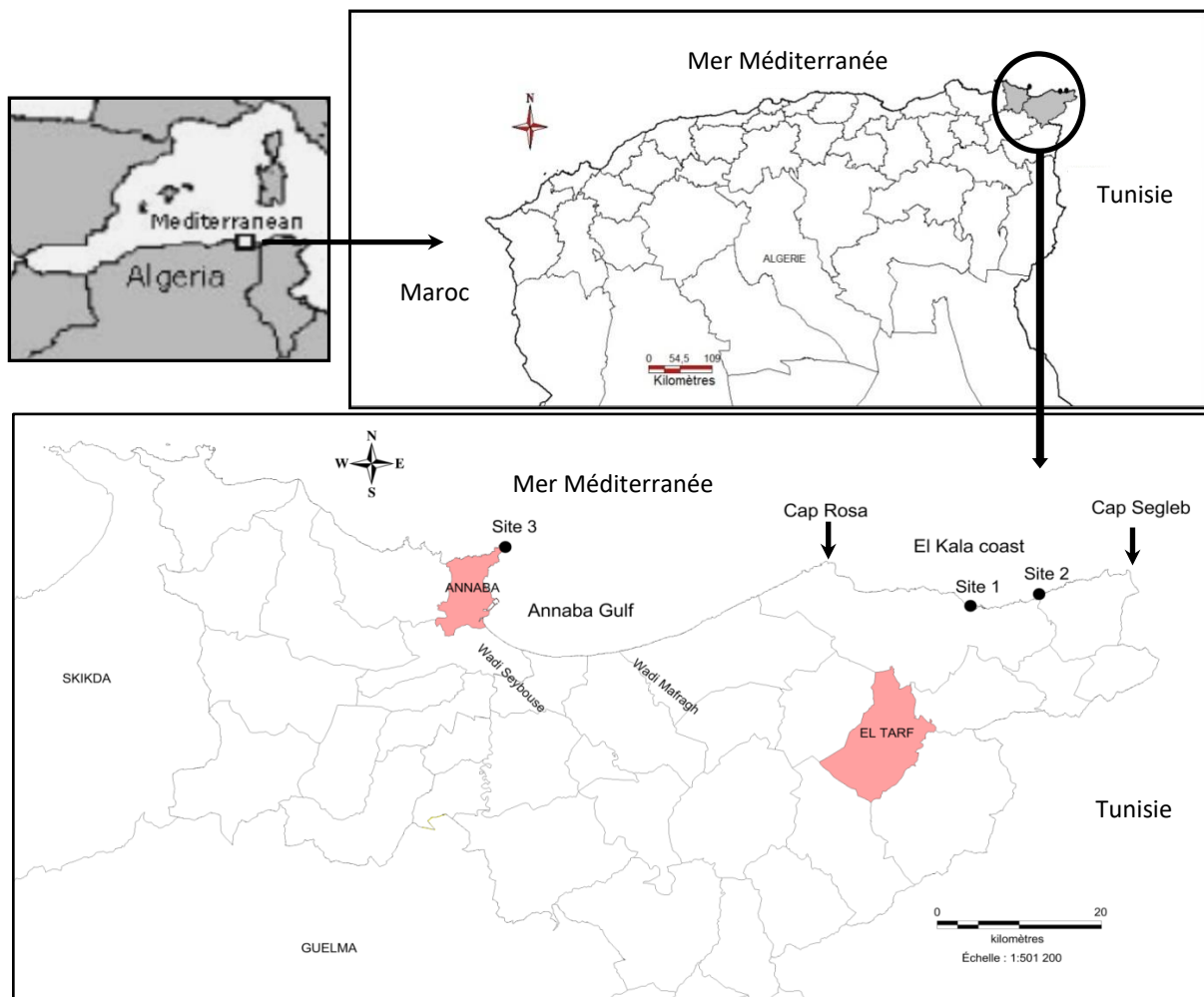


Figure 9 : Carte des trois sites d'échantillonnage.



1. 1. Golfe d'Annaba

1. 1. 1. Position géographique

La ville d'Annaba est située dans la partie Nord-Est de l'Algérie, le golfe d'Annaba est une baie ouverte au nord sur la mer Méditerranée, délimité par les deux caps ; Rosa à l'Est ($8^{\circ}15'E$, $36^{\circ}58'N$) et Garde à l'Ouest ($7^{\circ}47'E$, $36^{\circ}58'N$), distant d'environ 40 Km l'un de l'autre avec une profondeur maximale qui ne dépasse pas 65 m (Sifi *et al.*, 2007; Belabed *et al.*, 2008; Belabed *et al.*, 2013b; Amri *et al.*, 2017a).

1. 1. 2. Sources de pollution

Le golfe reçoit les eaux douces par le biais de deux oueds : le Mafrag à l'Est et la Seybouse au Sud-Est, dont le débit est très irrégulier suivant les saisons. Ces oueds sont une source importante d'ETM dans le golfe d'Annaba (Belabed *et al.*, 2013b; Boutabia-Trea *et al.*, 2017), ils apportent des matières minérales et organiques de différentes origines terrigène, agricole, domestique et industrielle (Khélifi-Touhami *et al.*, 2006 ; Ounissi, 2007). De plus la zone reçoit des eaux usées non traitées (Abdenmour *et al.*, 2000) ainsi que d'autres rejets des effluents urbains (Khammar, 2007) et industriels de plusieurs usines installées sur la côte, en particulier les produits phytosanitaires de FERTIAL prêt de la rive au Sud du golfe (Saker, 2007).

En outre, des rejets d'industries telles qu'Arcelor Mittal (El Hadjar), qui représente le plus grand site de production sidérurgique intégrée du Maghreb, et d'autres grands complexes industriels: site de production mécanique, cimenterie, sites de recyclage de batteries et usines de matériel métallique (Belabed *et al.*, 2013b).

1. 2. Littoral d'El-Kala

El-Kala est une commune de la wilaya d'El Tarf proche de la frontière Algéro-Tunisienne située à 20 km au Nord-Est d'El Tarf et 77 km à l'Est d'Annaba, se trouve à l'extrême Nord-Est d'Algérie.



1. 2. 1. Position géographique

Le littoral d'El Kala est situé à l'extrême Est de la côte Algérienne ; il s'étend du Cap Rosa à l'Ouest ($8^{\circ}15'E$, $36^{\circ}58' N$), au Cap Segleb (la frontière Tunisienne) à l'Est ($8^{\circ}13.6'E$, $36^{\circ}57'N$) (Belbacha, 2008).

Le littoral d'El Kala s'étend sur un linéaire de 40 km qui est essentiellement constitué par des côtes rocheuses indentées par des criques et des anses sablonneuses. Le reste de la côte est le domaine des plages et des cordons dunaires qui dominent dans les secteurs de la lagune d'El Mellah et de la Messida (Le Claire, 1972).

1. 2. 2. Apports continentaux

La côte est peu influencée par les apports d'origine anthropique compte tenu de la faible urbanisation de la région. Notons aussi l'absence d'industries et par conséquent pas ou peu de pollution atmosphérique ou continentale qui serait due à celles-ci. Elle reçoit très peu d'extrusions continentales (oueds Nhal, Boutribicha et Messida) en raison des faibles apports d'eau douce (Ounissi et Khelifi-Touhami, 1999).

1. 3. Choix et localisation des sites d'échantillonnage

Le choix des sites étudiés a été basé sur l'abondance de l'espèce étudiée, l'accessibilité des sites et la facilité d'échantillonnage.

Compte tenu des différents objectifs de ce travail, trois sites de suivi ont été sélectionnés, un dans le golfe d'Annaba et deux dans le littoral d'El-Kala.

1. 3. 1. Littoral d'El-Kala

1. 3. 1. 1. Plage Aouinète (Site 1)

Elle se situe dans la partie Est du littoral d'El Kala ($36^{\circ}45'38.2''N$, $8^{\circ}31'21''E$), elle n'est exposée à aucune source de pollution du fait de sa localisation assez éloignée des divers rejets. Cependant, elle est fréquentée par les estivants en été (Fig. 10).



Figure 10 : Site de collecte 1 : plage Aouinète (Photos prises le : 27/09/2013).

1. 3. 1. 2. Plage Messida (Site 2)

Elle est également située dans la partie Est du littoral d'El Kala ($36^{\circ}54'52,3''N$, $8^{\circ}31'21''E$) et est fréquentée par les pêcheurs ainsi que les estivants en été (Fig. 11). Elle reçoit les rejets d'eaux usées par l'Oued Messida (Fig. 12), qui est un chenal artificiel reliant le lac Tonga à la mer Méditerranée (plage Messida), creusé par les français pendant l'époque coloniale afin d'assécher le lac Tonga. Il présente une altitude égale à zéro et de ce fait coule dans les deux sens suivant le niveau d'eau du lac (en hiver du lac vers la mer et en été dans le sens contraire).

Le canal Messida est l'un des oueds qui est actuellement menacé par les activités humaines (rejets des eaux usées, utilisation d'eau pour les besoins agricoles, etc....) ce qui peut constituer une menace considérable pour la faune et la flore de la zone d'étude. Il est localisé dans le Park National d'El-Kala (PNEK), dans le bassin versant du lac Tonga, ces coordonnées géographiques sont $36^{\circ}53'60''N$, $8^{\circ}31'0''E$, à environ 22 Km de la frontière Algéro-tunisienne à l'Est et à environ 11 km de la ville d'El Kala à l'Ouest. Sa longueur est d'environ 1500 m avec une profondeur maximale de 2,5 m au centre.

Cet écosystème lotique est limité par la mer méditerranée au Nord, le lac Tonga au Sud, les plaines de la commune de Souarekh à l'Ouest et les pinèdes qui fixent la plus grande partie de la dune de la plage Messida à l'Est (Benhalima *et al.*, 2015).



Figure 11 : Site de collecte 2 : plage Messida (Photos prises le : 03/01/2014).



Figure 12 : Canal Messida (Photos prises le : 23/05/2014).

1. 3. 2. Golfe d'Annaba : Cap de garde (Site 3)

Il se situe à l'Ouest du Golfe d'Annaba ($36^{\circ}58'04''N$, $7^{\circ}47'32''E$), à environ 300 m au Sud-Est de la pointe du cap. Il est supposé n'être exposé à aucune source de pollution du fait de sa localisation éloignée des divers rejets, mis à part la présence de quelques habitations, non reliées au réseau d'assainissement, dont le complexe touristique Shems les Bains fait parti de ces habitations ainsi que son accessibilité en saison estivale (Fig. 13).



Figure 13 : Site de collecte 3 : cap de garde (Photos prises le : 27/09/2013).

2. Stratégie d'échantillonnage

Au cours de ce travail, *S. haemastoma* a été choisi en raison de son abondance dans les trois sites et de sa disponibilité durant toute la période d'étude.

Quatre échantillonnages saisonniers du gastéropode *S. haemastoma* ont été effectués au cours des années 2013-2014 sur les trois (3) sites d'étude. L'échantillonnage des gastéropodes (15 par site et par saison) a été réalisé en automne (septembre 2013: échantillonnage 1), hiver (janvier 2014: échantillonnage 2), printemps (mai 2014: échantillonnage 3) et été (août 2014: échantillonnage 4). Six individus ont été destinés à la biométrie et à des analyses biochimiques et neuf individus à des analyses des concentrations des ETM. La collecte des gastéropodes a été effectuée à la main ou en plongée avec PMT (palmes, masque et tuba) entre 0 et 2 m de la surface de l'eau de mer, et de manière aléatoire sans tenir compte du sexe.

Chaque récolte est placée dans des bacs en plastique contenant 15 individus baignant dans leur eau d'origine, en fonction de chaque site et de chaque saison. Ces gastéropodes sont ensuite transportés au laboratoire afin de procéder à l'analyse biométrique, biochimique et chimique. La taille de tous les individus étudiés était supérieure à 41 mm de l'apex à l'extrémité du canal siphonal.



3. Mesure des paramètres physico-chimiques de l'eau de mer

La connaissance de certains paramètres physico-chimiques donne une appréciation préliminaire de la qualité et le degré de la pollution d'une eau.

La température de l'eau, le pH, la salinité, l'oxygène dissous et la conductivité ont été mesurés *in situ* au moment de l'échantillonnage. Des mesures des nitrates (NO_3^-), des nitrites (NO_2^-), de l'azote ammoniacal (NH_4^+), des orthophosphates (PO_4^{3-}), des matières en suspension (MES) ainsi que de la chlorophylle « a » ont été réalisées au laboratoire. Les échantillons d'eau ont été recueillis dans des bouteilles en plastique et transportés dans une glacière.

3. 1. Paramètres mesurés *in situ*

La température de l'eau, le pH, la salinité, l'oxygène dissous et la conductivité ont été mesurés *in situ* au moment de l'échantillonnage à l'aide d'un multi paramètre de terrain muni de plusieurs sondes (WTW Multi 340i), préalablement étalonné et calibré. Au niveau de chaque site, la sonde est immergée dans l'eau pendant quelques secondes, le résultat obtenu s'affiche à l'écran avec l'unité de mesure correspondante. Donc, les résultats de la mesure sont exprimés en degré Celsius pour la température de l'eau ($^{\circ}\text{C}$), en unité de salinité pratique pour la salinité (PSU), en milligramme par litre pour l'oxygène dissous (mg L^{-1}) et en millisiemens par centimètre pour la conductivité (mS cm^{-1}).

Les sondes sont rincées à l'eau distillée après chaque manipulation. Les résultats obtenus sont reportés sur des fiches préparées avant les sorties.

Concernant la température de l'air, elle est obtenue à partir de la base de données météorologiques "Tutiempo.net" ([Site web 2](http://Tutiempo.net)).

3. 2. Paramètres dosés au laboratoire

Les dosages des éléments nutritifs (nitrates, nitrites, azote ammoniacal et orthophosphates) ainsi que les MES et la chlorophylle « a » ont été réalisés au laboratoire. La composition et la préparation de l'ensemble des réactifs est rapportée en [Annexe 1](#). Les concentrations en μM des éléments dosés ont été calculées d'après les courbes étalons préalablement établies au laboratoire. Afin de réaliser les courbes d'étalonnage pour chaque paramètre, nous avons préparé des solutions étalons diluées dont la composition et la préparation sont représentées dans le même annexe.



Le protocole de prélèvement appliqué au cours de cette étude consiste à prélever 1.5 litre d'eau à partir de chaque site dans des bouteilles en plastique munies d'une étiquette sur laquelle sont notés la date, l'heure et le numéro du site de prélèvement. Les différents échantillons sont transportés dans une glacière au frais et à l'obscurité. Arrivés au laboratoire les échantillons sont filtrés à travers un filtre en microfibre de verre (Whatman GF/C, 0.45 μm). Les dosages ont été réalisés sur le filtrat selon les méthodes colorimétriques décrites par [Aminot et Kérouel \(2004a\)](#) qui restent jusqu'à présent une des plus rapides et des plus simples pour le dosage des sels nutritifs dans l'eau de mer.

3. 2. 1. Nitrate (azote nitrique NO_3^-)

Cette technique ([ISO 7890/1986](#)) qui est une des plus sensibles, a été réalisée selon la norme ISO (International Organisation for Standardization) ([ISO/TC147, 1994](#)). Elle est basée sur la réaction des nitrates avec le diméthyl-2.6 phénol en présence des acides sulfurique et orthophosphorique, avec production du nitro-4 diméthyl-2.6 phénol de couleur rose crevette. Les étapes du dosage sont comme suit :

La réalisation du dosage nécessite la préparation d'une gamme étalon de nitrate, en préparant 5 concentrations (0.2, 0.5, 1, 2 et 5 μM) en fioles jaugées à partir de la solution étalon diluée de nitrate à 50 μM . Les étapes du dosage, appliquées aux filtrats d'échantillons et à la gamme étalon, sont comme suit :

- Dans une fiole de 50 ml introduire : 14 ml du mélange acides, 2 ml de l'échantillon et 2 ml de diméthyl-2.6 phénol ;
- Laisser reposer 10 à 60 min. En présence des nitrates dans l'échantillon la couleur vire vers le rose crevette ;
- La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec de l'eau distillée remplaçant l'échantillon à doser, la densité optique est mesurée à une longueur d'onde de $\lambda = 324 \text{ nm}$;
- Tracer la courbe étalon et déterminer l'équation de la droite : $\text{DO} = f$ (concentration en NO_3^-) ;
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon chacun des échantillons est alors déduit ; les concentrations obtenues en NO_3^- sont exprimées en μM .



3. 2. 2. Nitrite (NO_2^-)

Le principe de base du dosage des nitrites (NO_2^-) est la réaction de Griess où le nitrite réagit avec une première amine aromatique pour former un diazoïque qui est couplé à une seconde amine aromatique pour produire une coloration rose ([Bendschneider et Robinson, 1952](#)).

La réalisation du dosage nécessite la préparation d'une gamme étalon de nitrite, en préparant 4 concentrations (0.1, 0.2, 0.5 et 1 μM) en fioles jaugées à partir de la solution étalon diluée de nitrite à 50 μM . Les étapes du dosage, appliquées aux filtrats d'échantillons et à la gamme étalon, sont comme suit :

- Transférer 50 ml de l'échantillon à doser dans un récipient approprié ;
- Ajouter 1 ml de la solution de sulfanilamide, mélanger puis attendre 2 à 5 minutes ;
- Ajouter 1 ml de la solution de N-(1-naphtyl)-éthylène diamine, mélanger ;
- Laisser agir au moins 10 minutes, mais pas plus d'une heure ;
- La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec de l'eau distillée remplaçant l'échantillon à doser, la densité optique est mesurée à une longueur d'onde de $\lambda = 543 \text{ nm}$;
- Tracer la courbe étalon et déterminer l'équation de la droite : $\text{DO} = f$ (concentration en NO_2^-) ;
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon chacun des échantillons est alors déduit ; les concentrations obtenues en NO_2^- sont exprimées en μM .

3. 2. 3. Azote ammoniacal (NH_4^+)

Pour désigner l'azote ammoniacal on utilise souvent le terme d'ammoniaque qui correspond aux formes ionisées (NH_4^+) et non ionisées (NH_3) de cette forme d'azote ([Rejsek, 2002](#)).

Le principe de base du dosage est basé sur la réaction de Berthelot où l'ammoniaque en milieu basique réagit avec l'hypochlorite pour former une monochloramine, puis successivement avec deux molécules de phénol pour former le bleu d'indophénol ([Solorzano, 1969](#)).



La réalisation du dosage nécessite l'élaboration d'une gamme étalon d'ammonium, en préparant 5 concentrations (0.2, 0.5, 1, 2, et 5 μM) en fioles jaugées à partir de la solution diluée d'ammonium à 500 μM . Les étapes du dosage, appliquées aux filtrats d'échantillons et à la gamme étalon, sont comme suit :

- Transférer 100 ml de la solution à doser dans un flacon approprié ;
- Ajouter 5 ml de la solution de phénol - nitroprussiate ;
- Mélanger, puis ajouter sans attendre 5 ml de la solution complexante au chlore ;
- Mélanger puis placer les flacons immédiatement à l'abri de la lumière à température ambiante pendant au moins 6 heures ;
- La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec de l'eau distillée remplaçant l'échantillon à doser, la densité optique est mesurée à une longueur d'onde de $\lambda = 630 \text{ nm}$;
- Tracer la courbe étalon et déterminer l'équation de la droite : Absorbance (DO) = f (concentration en NH_4^+) ;
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon, chacun des échantillons est alors déduit ; les concentrations obtenues en NH_4^+ sont exprimées en μM .

3. 2. 4. Orthophosphates (PO_4^{3-})

Le dosage des orthophosphates a été réalisé selon la méthode d'[Hansen et Robinson \(1953\)](#), le principe du dosage est basé sur la réduction des ions orthophosphates avec une solution acide contenant des ions de molybdate et d'antimoine pour former un complexe d'antimonyl-phosphomolybdate, l'addition de l'acide ascorbique donne un complexe de molybdène coloré en bleu.

La réalisation de ce dosage nécessite l'élaboration d'une gamme étalon d'orthophosphate, cette gamme nécessite la préparation de 4 concentrations (0.1, 0.2, 0.5 et 1 μM) en fioles jaugées à partir de la solution diluée d'orthophosphate à 50 μM . Les étapes du dosage, appliquées aux filtrats d'échantillons et à la gamme étalon, sont comme suit :



- Transférer 50 ml de l'échantillon à doser dans un récipient approprié ;
- Ajouter 2 ml de la solution d'acide ascorbique ;
- Mélanger et attendre 15 min ;
- Ajouter 2 ml de la solution acide de molybdène et d'antimoine ;
- Laisser agir 5 min ;
- La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec de l'eau distillée remplaçant l'échantillon à doser, la densité optique est mesurée à une longueur d'onde de $\lambda = 880 \text{ nm}$;
- Tracer la courbe étalon et déterminer l'équation de la droite : $DO = f$ (concentration en PO_4^{3-}) ;
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon d'orthophosphate chacun des échantillons est alors déduit ; les concentrations obtenues en PO_4^{3-} sont exprimées en μM .

3. 2. 5. Matières en suspension (MES)

La connaissance de la qualité des MES est importante pour les milieux aquatiques car les particules réduisent la transparence de l'eau et de ce fait la production primaire photosynthétique.

La détermination des MES dans l'eau est réalisée par l'application de la méthode de pesée différentielle après filtration de l'échantillon (700 ml d'eau de mer) à l'aide d'un filtre en microfibres de verre (Whatman GF/C 47 μm de porosité). Le filtre a été pesé avant et après filtration ; la différence de poids permet de connaître le poids sec total des MES dans le volume filtré correspondant ([Aminot et Chaussepied, 1983](#)).

$$\text{MES (mg L}^{-1}\text{)} = \frac{P_2 - P_1}{V}$$

P_1 : poids du filtre avant filtration (mg).

P_2 : poids du filtre après filtration (mg).

V : volume d'eau filtrée (L).



3. 2. 6. Chlorophylle "a"

C'est un paramètre clé des études du degré d'eutrophisation de l'eau. La technique est basée principalement sur l'extraction et la dissolution du pigment photosynthétique représenté par la chlorophylle "a" dans un solvant approprié (acétone à 90%).

Le Protocole expérimental (est comme suit :

- Filtrer 700 ml d'eau sur filtre Whatman GF/C;
- Récupérer le filtre, le plier deux fois et l'introduire dans un tube en polyéthylène (enveloppé avec du papier aluminium) qui contient 10 ml d'acétone à 90% ;
- Déchiqueter le filtre à l'aide d'une baguette en verre, boucher et agiter pour disperser les fibres ;
- Laisser l'extraction acétonique se poursuivre une nuit au réfrigérateur ;
- Centrifuger les tubes durant une minute à 3000 - 4000 tours, faire tomber les fibres de verre qui adhèrent la paroi ;
- Centrifuger à nouveau 5 à 10 min à 3000 - 4000 tours ;
- Transférer le surnageant de centrifugation dans la cuve de mesure (par aspiration) ;
- Lire l'absorbance aux trois longueurs d'onde : 630 nm, 647 nm et 664 nm ;
- L'estimation de la concentration en $\mu\text{g L}^{-1}$ de la chlorophylle "a" est donnée par l'équation trichromatique :

$$[\text{Chl a}] \mu\text{g/L} = [(11.85 \times A_{664} - 1.54 \times A_{647} - 0.08 \times A_{630}) \times v] / V \times L$$

A : absorbance

v : volume d'acétone (ml).

V : volume d'eau filtrée (L).

L : longueur du trajet optique de la cuve de mesure (cm).

3. 3. Niveau d'eutrophisation

Pour compléter l'interprétation et notamment mettre en évidence un éventuel déséquilibre dans l'apport des nutriments au niveau des sites d'échantillonnage, l'azote inorganique dissous a été calculé afin de classer le niveau d'eutrophisation selon l'échelle de classification de [Wasmund et al. \(2001\)](#) et qui sont représentés dans le [tableau 3](#). La détermination de concentration de l'azote inorganique dissous est comme suit :



$$\text{NID} = \text{NH}_4^+ + \text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$$

NID : Concentration de l'azote inorganique dissous (μM).

NH_4^+ : Concentration de l'azote ammoniacal (μM).

NO_2^- : Concentration des nitrites (μM).

NO_3^- : Concentration des nitrates (μM).

Tableau 3 : Echelle de classification des niveaux trophiques des eaux côtières.

Niveaux trophiques	Azote inorganique dissous (μM)
Oligotrophe	< 2
Mésotrophe	2 - 10
Eutrophe	10 - 60
Polytrophe	> 60

4. Calcul des paramètres biologiques

Des indices de condition ont été mesurés pour établir de façon précise la condition physiologique de *S. haemastoma*.

Si les indices de condition ont été surtout développés dans un contexte de conchyliculture, pour évaluer l'efficacité de la croissance des coquillages destinés à la consommation humaine (Lucas et Beninger, 1985), leur utilisation dans les études de biosurveillance et dans les bioessais en écotoxicologie devient de plus en plus fréquente.

Ils consistent généralement à exprimer la masse de tissus mous de l'animal par rapport à la masse totale ou aux mensurations de la coquille.

Les indices de condition peuvent être affectés par de nombreux paramètres (alimentation, température, polluants ...) qui seraient dus à une diminution de l'alimentation chez les organismes et modifieraient ainsi ses réserves énergétiques (Amiard-Triquet et Amiard, 1998).



Ils sont considérés comme des outils d'évaluation intégrés du statut nutritionnel et du stress dans le temps (Smolders *et al.*, 2002 ; Nicholson et Lam, 2005). Leur raison d'être en écotoxicologie se base en effet sur le principe selon lequel des conditions stressantes – et notamment l'exposition aux contaminants – sont responsables d'une déplétion des réserves énergétiques, au détriment de la croissance. En principe, des indices plus faibles sont relevés dans les groupes expérimentaux soumis aux conditions les plus sévères, soit, généralement, les plus contaminés. Ce type de résultat a été obtenu à de nombreuses reprises, chez différentes espèces soumises à des scénarios de contamination variés (Timmermans *et al.*, 1996 ; Cheung *et al.*, 1998 ; Gagné *et al.*, 2002).

Pour le calcul de ces indices, nous avons procédé par un choix aléatoire de 6 individus, pour chaque site d'échantillonnage et pour chaque saison, dont nous avons relevé les mensurations et le poids. Les indices de condition calculés sont les suivants :

4. 1. Détermination de l'indice de condition basé sur le poids frais

L'indice de condition (IC), qui est un indice biométrique très souvent utilisé en conchyliculture pour rendre compte du degré de remplissage des coquilles et qualifier l'état physiologique de l'animal, est considéré comme l'un des meilleurs indicateurs de l'état général des organismes pour les études environnementales (Orban *et al.*, 2002 ; Hyotylanen *et al.*, 2002 ; Cartier *et al.*, 2004 ; Lemaire *et al.*, 2006).

Pour caractériser la biomasse, l'IC présente l'avantage d'être un indice d'état général englobant plusieurs facteurs physiologiques (nutrition, reproduction). Dans une étude de suivi environnemental telle que la nôtre, ces indices permettent d'évaluer la présence ou non de déviations par rapport à une croissance normale. L'IC est la manifestation des altérations biochimiques et physiologiques exprimées au niveau de l'organisme. Les résultats acquis dans le cadre du programme de surveillance RINBIO ont permis de vérifier qu'une relation entre l'IC et la concentration en contaminants existait, quelque soit le secteur et les contaminants mesurés (Andral et Alzieu, 2004).

Pour cette étude, nous avons opté pour l'indice AFNOR (1985), exprimé par l'équation :

$$IC = [\text{masse de la chair humide (g)} / \text{masse totale (g)}] \times 100 \quad (\text{Hickman et Illingworth, 1980})$$

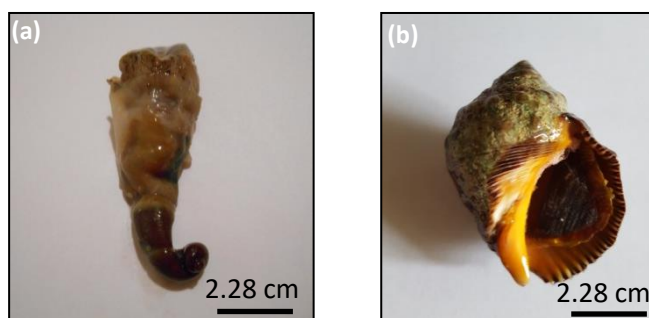


Figure 14 : Chair humide (a) et masse totale (b) de *Stramonita haemastoma*.

4. 2. Détermination de l'indice de condition basé sur la longueur de la coquille

L'indice de condition basé sur la longueur (Fig. 15) témoigne sur la croissance de la masse du tissu mou en fonction de la longueur de la coquille (Ernst *et al.*, 1991). Il se calcul selon l'équation suivante :

$$ICL = [\text{masse de chair humide (g)} / \text{longueur}^3 (\text{cm}^3)] \times 100$$



Figure 15 : Mesure de la longueur de *Stramonita haemastoma*.

4. 3. Détermination de l'indice hépato-somatique

L'indice hépato-somatique indique les variations de la masse de l'hépatopancréas en fonction des activités de détoxification et / ou de déplétion des réserves énergétiques et se calcule selon l'équation suivante (Cartier *et al.*, 2004):

$$IHS = [\text{masse de la glande digestive (g)} / \text{masse totale de la chair humide (g)}] \times 100$$



Figure 16 : Glande digestive de *Stramonita haemastoma*.



5. Analyses biochimiques

5. 1. Dosage des biomarqueurs

5. 1. 1. Préparation des échantillons

Dès le retour au laboratoire, les animaux sont disséqués et leurs masses molles totales congelées à -20 °C. Après décongélation, les glandes digestives, maintenus à 4 °C pendant toute la durée des dosages, sont broyés à l'aide d'un homogénéisateur Ultraturrax dans un tampon phosphate (0.1 M, pH 7.5) ; l'homogénat obtenu est centrifugé à 9000 × g pendant 20 min. Le surnageant, appelé S9, contenant le cytosol, le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi et les protéines cytosoliques est récupéré pour le dosage des biomarqueurs.

La composition et la préparation des produits nécessaires aux dosages sont représentées en [Annexe 2](#).

5. 1. 2. Dosage des protéines

La concentration des biomarqueurs est toujours exprimée par rapport à une quantité de protéines. Pour cette raison, il nous a fallu doser la quantité de protéines au niveau de nos échantillons.

Fort recommandée dans les différentes études de biosurveillance pour la détermination de la concentration en protéines au niveau des différents échantillons, nous avons utilisé la technique de [Bradford \(1976\)](#) basée sur la coloration bleue développée lors de la fixation du bleu brillant de Coomassie (G250) sur les groupements cationiques des protéines. Pour la réalisation de ce dosage, l'albumine de sérum bovin (BSA), qui est utilisée comme protéine standard, est nécessaire à l'élaboration d'une gamme étalon à six points de concentrations croissantes (0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 et 1 mg ml⁻¹). Nous avons suivi les étapes ci-dessous, pour le dosage des concentrations en protéines au niveau des échantillons ainsi que la gamme étalon :

- Prélever 100 µl de l'échantillon à doser ;
- Ajouter 5 ml du réactif protéique ;
- Mélanger au vortex puis laisser reposer 5 min ;
- Mesurer l'absorbance a une longueur d'onde $\lambda = 595 \text{ nm}$;
- Tracer la droite étalon : Absorbance = f (concentration en protéines) ;



- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon de BSA, chacun des échantillons est alors déduit en tenant compte du facteur de dilution initial ;
- La quantité en protéines obtenues est exprimée mg ml^{-1} . La représentation graphique de la courbe d'étalonnage est représentée en [Annexe 2](#).

5. 1. 3. Dosage du glutathion réduit (GSH)

Le taux du GSH est estimé selon la méthode de [Weckbecker et Cory \(1988\)](#), basée sur l'absorbance de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2 nitrobenzoïque (DTNB) par le groupement thiol (SH) du glutathion.

La réalisation du dosage nécessite l'élaboration d'une gamme étalon de standards sous forme de glutathion réduit, cette gamme comprend 6 points (0, 20, 40, 60, 80 et $100 \mu\text{mol ml}^{-1}$). Des dilutions préalables peuvent s'avérer nécessaires afin que les valeurs d'absorbance des échantillons soient comprises dans l'intervalle des valeurs d'absorbance de la gamme étalon. Nous avons suivi les étapes ci-dessous, pour le dosage des concentrations du GSH au niveau des échantillons ainsi que la gamme étalon :

- Prélever 0.8 ml de l'échantillon à doser ;
- Ajouter 0.2 ml de la solution d'acide sulfosalicylique à 4% ;
- Homogénéiser puis laisser reposer dans de la glace pendant 15 min ;
- Centrifuger à $10000 \text{ tours min}^{-1}$ pendant 5 min à 0°C ;
- Prélever 0.5 ml du surnageant ;
- Ajouter 1 ml du tampon Tris-HCl à l'EDTA ;
- Mélanger, puis ajouter $25 \mu\text{l}$ du réactif d'Ellman ;
- Laisser agir 5 min, puis mesurer l'absorbance à une longueur d'onde $\lambda = 412 \text{ nm}$;
- La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec du tampon Tris-HCl à l'EDTA remplaçant le surnageant ;
- Tracer la droite étalon : Absorbance = f (concentration en GSH) ;
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon du GSH, chacun des échantillons est alors déduit en tenant compte du facteur de dilution initial ;
- La quantité en GSH est exprimée en fonction de la concentration protéique de l'échantillon en nmol mg^{-1} de protéines. La représentation graphique de la courbe d'étalonnage est représentée en [Annexe 2](#).



5. 1. 4. Dosage de la Glutathion S-transférase (GST)

L'activité spécifique du glutathion S-transférase a été dosée selon la méthode décrite par [Habig et al. \(1974\)](#), cette méthode est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat le 1-Chloro-2, 4-dinitrobenzène (CDNB) en présence d'un cofacteur le glutathion réduit ; leur conjugaison entraîne la formation d'une nouvelle molécule le 1-(S-Glutathionyl)-2,4-dinitrobenzène qui absorbe la lumière à une longueur d'onde de 340 nm. Les étapes du dosage de l'activité spécifique de la GST sont comme suit :

- Incuber dans un bain-marie le tampon phosphate et les 2 solutions CDNB et GSH à une température de 37 °C ;
- Introduire dans une cuve en quartz, 840 µl du tampon phosphate, 50 µl de la solution CDNB et 10 µl du surnageant ;
- Mélanger puis ajouter 100 µl de la solution GSH ;
- La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec du tampon phosphate remplaçant le surnageant, la densité optique est mesurée toutes les minutes durant 5 minutes à une longueur d'onde $\lambda = 340 \text{ nm}$;
- La quantité en GST est exprimée en fonction de la concentration protéique de l'échantillon en $\text{nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de protéines. L'activité spécifique de la GST est déterminée à l'aide de la formule suivante :

$$\text{AS : } \frac{(\Delta \text{ DO/min}) \times V_t \times F}{\varepsilon \times L \times V_s \times C \text{ protéines}}$$

AS : Activité spécifique (nmol de CDNB conjugué formé $\text{min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de protéines).

$\Delta \text{ DO/min}$: Différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

V_t : Volume total où est réalisée la mesure.

V_s : Volume du surnageant.

F : Facteur de dilution.

ε : Coefficient d'extinction molaire du CDNB ($\varepsilon = 9,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

L : Longueur de la cuve utilisée ($L = 1 \text{ cm}$).



5. 1. 5. Dosage de la catalase (CAT)

Le dosage de l'activité spécifique de la catalase a été réalisé selon la méthode décrite par [Saint-Denis et al. \(1998\)](#), cette enzyme permet la réduction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau (H_2O) et en oxygène moléculaire (O_2), l'activité de la CAT est mesurée par le suivi de la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène ([Baumard et al., 1999](#)). Nous avons suivi les étapes ci-dessous :

- Remplir la cuve en quartz avec 990 μl du tampon phosphate ;
- Ajouter 500 μl d' H_2O_2 à 5% ;
- Ajouter 10 μl du surnageant ;
- La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec du tampon phosphate remplaçant le surnageant, la densité optique est mesurée toutes les 15 secondes durant 1 min à une longueur d'onde $\lambda = 240 \text{ nm}$;
- L'activité spécifique de la CAT est exprimée en fonction de la concentration protéique de l'échantillon en $\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de protéines. Elle est déterminée à l'aide de la formule suivante :

$\text{AS} = \frac{(\Delta \text{DO}/\text{min}) \times \text{Vt} \times \text{F}}{\epsilon \times \text{L} \times \text{Vs} \times \text{C protéines}}$	AS : Activité spécifique ($\mu\text{mol d'H}_2\text{O}_2$ réduit $\text{min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de protéines). $\Delta \text{DO}/\text{min}$: Différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat. Vt : Volume total où est réalisée la mesure. Vs : Volume du surnageant. F : Facteur de dilution. ϵ : Coefficient d'extinction molaire de l'H_2O_2 ($\epsilon = -0,04 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).
--	--

5. 1. 6. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

Le malondialdéhyde a été dosé selon la méthode décrite par [Uchiyama et Mihara \(1978\)](#), le principe de ce dosage est basé sur la condensation du MDA en milieu acide et chaud avec de l'acide thiobarbiturique pour former un pigment de couleur rose qui peut être mesuré par spectrophotométrie ([Esterbauer et al., 1992](#)).



La réalisation du dosage nécessite l'élaboration d'une gamme étalon de standards sous forme de 1, 1, 3, 3 tétra-ethoxypropane, cette gamme comprend 6 points (0, 20, 40, 60, 80 et 100 nmol ml⁻¹). Le dosage s'applique aux échantillons et à la gamme étalon dont les étapes sont comme suit :

- Prélever 3 ml de l'acide phosphorique à 1% ;
- Ajouter 1 ml de l'acide thiobarbiturique à 0.6% ;
- Ajouter 0.5 ml de l'échantillon à doser ;
- Mélanger puis porter à ébullition à 100 °C dans un bain-marie pendant 45 min ;
- Faire refroidir, puis ajouter 4 ml de butanol ;
- Mélanger puis centrifuger à 1000 g pendant 10 min ;
- Mesurer l'absorbance a une longueur d'onde de $\lambda = 535$ nm ;
- Tracer la droite étalon : Absorbance = f (concentration du MDA) ;
- La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec du tampon KCl à 1.15 % remplaçant le surnageant ;
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon, la concentration en MDA de chacun des échantillons est alors déduite ;
- La quantité en MDA est exprimée en fonction de la concentration protéique de l'échantillon, les résultats sont exprimés en nmol mg⁻¹ de protéines. La représentation graphique de la courbe d'étalonnage est représentée en [Annexe 2](#).

5. 1. 7. Dosage de la métallothionéine (Mt)

Le dosage de la Mt a été réalisé selon la méthode spectrophotométrique de [Viarengo et al. \(1997\)](#). La réalisation du dosage nécessite l'élaboration d'une gamme étalon de standards sous forme de GSH, cette gamme comprend 6 points (0, 14.4, 28.8, 43.2, 47.6 et 72 nmol ml⁻¹). Le dosage s'applique aux échantillons et à la gamme étalon dont les étapes sont comme suit :

- Prélever 1 ml de l'échantillon à doser ;
- Ajouter 1.05 ml d'éthanol absolu froid (-20 °C) et 80 µl de chloroforme ;
- Mélanger au vortex pendant quelques secondes ;
- Centrifuger à 6000 g pendant 10 min à 4 °C ;
- Récupérer le surnageant et lui ajouter 3 volumes d'éthanol absolu froid (- 20 °C) ;
- Ajouter 1 mg d'ARN et 40 µl d'HCl à 37% ;



- Mélanger au vortex pendant quelques secondes ;
- Conserver le mélange à - 20 °C pendant une 1 heure ;
- Centrifuger à 6000 g pendant 10 min à 4 °C ;
- Eliminer le surnageant ;
- Laver le culot avec 3 ml de la solution de lavage ;
- Centrifuger à 6000 g pendant 10 min à 4 °C ;
- Eliminer le surnageant et faire sécher le culot ;
- Ajouter au culot 150 µl de la solution de NaCl et 150 µl de la solution d'HCl qui contient l'EDTA ;
- Agiter au vortex pendant quelques secondes jusqu'à la remise en suspension complète du culot ;
- Ajouter 4.2 ml du réactif d'Ellman ;
- Centrifuger à 3000 g pendant 5 min ;
- Prélever le surnageant ;
- Mesurer l'absorbance à une longueur d'onde $\lambda = 412 \text{ nm}$;
- La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec du tampon d'homogénéisation remplaçant le surnageant ;
- Tracer la droite étalon : Absorbance = f (concentration en GSH) ;
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon, chacun des échantillons est alors déduit ;
- La concentration en Mt est déduite par apport à la quantité de GSH (1 mol de Mt = 20 mol de GSH).
- La quantité en Mt est exprimée en fonction de la quantité du tissu homogénéisé, les résultats sont exprimés en nmol mg^{-1} de tissu. La représentation graphique de la courbe d'étalonnage est représentée en [Annexe 2](#).



5. 2. Extraction et mesure des ETM dans l'eau et dans la glande digestive de *S. haemastoma*

5. 2. 1. Principe de fonctionnement du Spectrophotomètre d'absorption atomique

Les différents cations Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} et Cr^{2+} sont dosés directement sur les minéralisats ou après dilution, à l'aide d'un spectromètre d'absorption atomique type Perkin Elmer, marque PinAAcle 900T. Le dosage d'élément par Spectrométrie d'Absorption Atomique repose sur le principe qu'un atome soumis à un rayonnement d'énergie E , peut passer d'un état fondamental à un état excité, caractérisé par des électrons à un niveau d'énergie plus élevé et instable: c'est le phénomène d'absorption. Le retour de l'atome à son état fondamental s'accompagne par l'émission d'un rayonnement photonique spécifique caractérisé par sa longueur d'onde λ . En pratique, l'absorbance A peut être appréhendée par la variation de l'intensité lumineuse à travers la chambre d'atomisation de l'élément à doser:

$$A = \lg (\Phi_0 / \Phi_T)$$

Avec Φ_0 = Flux incident.

Φ_T = Flux transmis.

Par ailleurs, la loi de Beer-Lambert établit une relation directe entre l'absorbance d'un échantillon et sa concentration en élément recherché:

$$A = k.l.C$$

Avec k : coefficient d'absorption spécifique de l'élément à doser.

l : trajet optique (cm).

C : concentration (mg L^{-1}).

Il suffit de tracer une courbe d'étalonnage à l'aide des solutions de concentrations connues de même élément, une simple interpolation permet de connaître la concentration.

La Spectrométrie d'Absorption Atomique utilise trois modes différents pour la détermination de la concentration des éléments traces métalliques: mode flamme, mode four graphite et générateurs d'hydrures. Les limites de détection varient selon le mode utilisé et elles sont considérées précises comparativement aux autres techniques de dosage des ETM (Fig. 17).



Nos dosages étaient réalisés par spectrométrie d'absorption atomique en mode flamme: l'échantillon est aspiré à travers un fin capillaire, cette aspiration s'effectue à l'aide d'un gaz (l'air). Le capillaire amène la solution dans le nébuliseur dont le rôle est de produire un aérosol solution-gaz dans lequel les gouttes sont les plus fines possible. Le nébulisât est mélangé avec un complément d'air et avec le gaz combustible le plus souvent de l'acétylène dans une chambre de pré-mélange. C'est ce mélange qui va arriver à la base du brûleur et pénétrer ensuite dans la flamme laminaire ou s'effectuera l'atomisation.

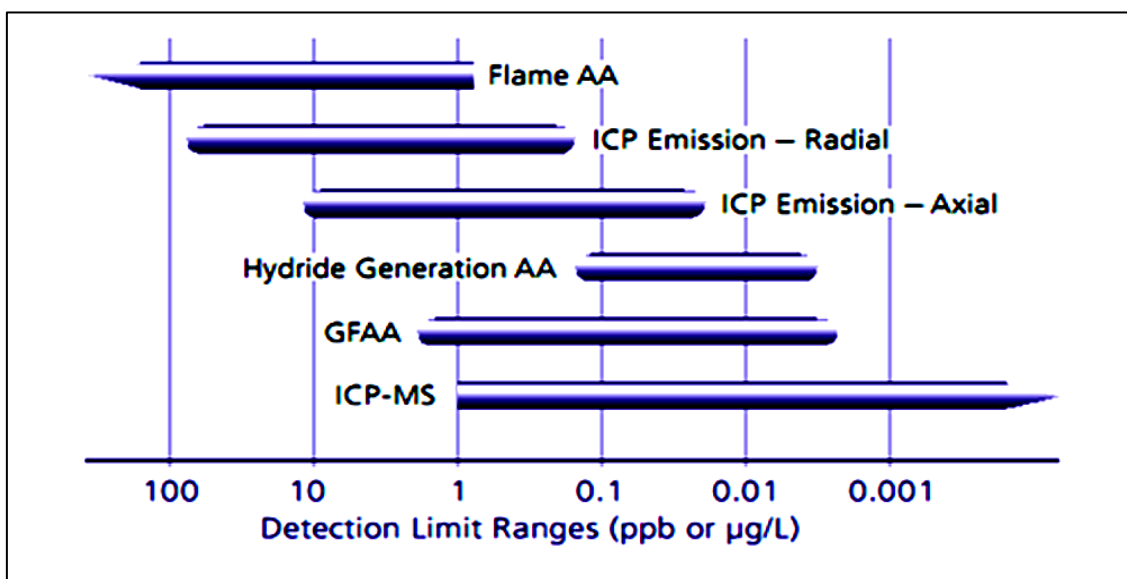


Figure 17 : Comparaison des limites de détection entre les différentes techniques utilisées pour le dosage des ETM. Flamme AA: Absorption Atomique en mode flamme, ICP Emission-Radial: Spectromètre d'émission atomique par plasma à couplage inductif-observation radiale, ICP Emission-Axial: Spectromètre d'émission atomique par plasma à couplage inductif-observation axiale, Hydride Generation AA: spectromètre d'absorption atomique couplée à un générateur d'hydrure, GFAA: Absorption Atomique en mode four graphite, ICP-MS: Spectromètre de masse couplée à un plasma inductif.

Dans la flamme se produit l'évaporation du solvant, la fusion puis l'évaporation des composés métalliques, et enfin une dissociation moléculaire libérant les atomes qui peuvent être alors absorbés (Fig. 18). Les photons absorbés étant caractéristiques des éléments étudiés, et leurs quantités étant proportionnelle au nombre d'atomes de l'élément, l'absorption permet de mesurer les concentrations des éléments dosés.



La forme laminaire de la flamme permet d'allonger le chemin optique au travers de l'atomiseur, la plus couramment utilisée est la flamme air-acétylène. Pour quelques éléments traces métalliques nécessitant une température d'atomisation plus élevée, la flamme acétylène-protoxyde d'azote est utilisée. Cependant, la durée du passage de l'échantillon dans la flamme est très courte ou seule une fraction de celui-ci est atomisée, ce qui limite la sensibilité de la méthode. La limite de détection en Spectrométrie d'Absorption Atomique mode flamme est de l'ordre de $\mu\text{g L}^{-1}$ (Tab. 4).

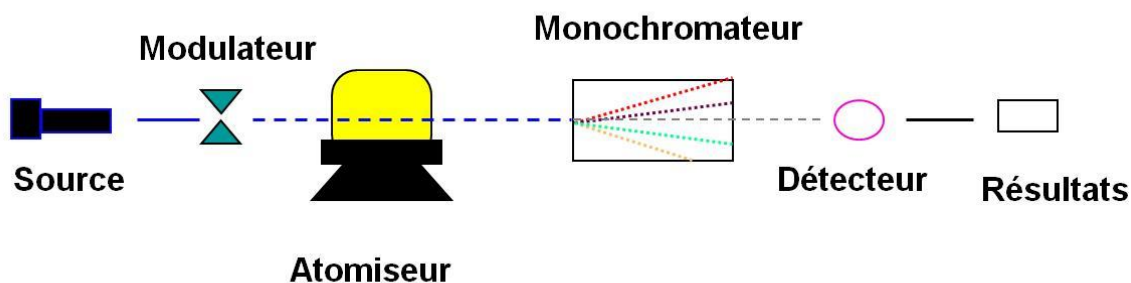
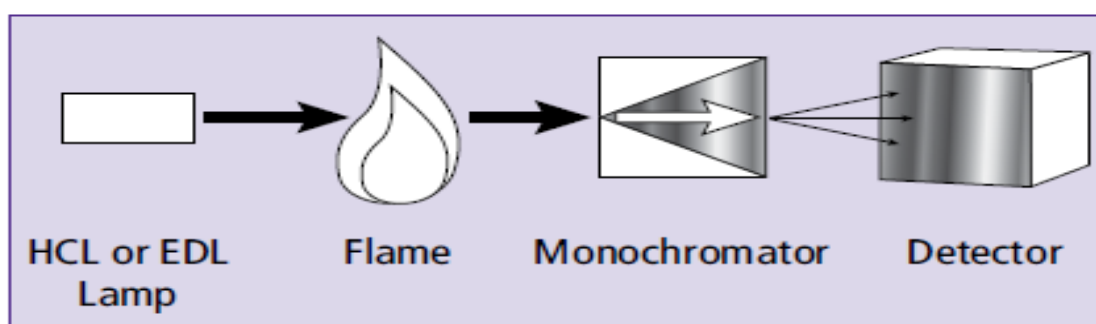


Figure 18 : Composantes d'un Spectromètre d'Absorption Atomique.

Tableau 4 : Limite de détection en mode flamme pour les éléments dosés par le Spectromètre d'Absorption Atomique type Perkin Elmer, marque PinAAcle 900T.

Éléments	Longueur d'onde (nm)	Linéaire jusqu'à (mg L^{-1})	Limite de détection (mg L^{-1})
Cu^{2+}	324.75	5	0.077
Zn^{2+}	213.86	1	0.018
Cd^{2+}	228.80	2	0.028
Pb^{2+}	283.31	20	0.45
Cr^{2+}	357.87	5	0.025



Pour chaque élément métallique, on prépare une gamme étalon à partir d'une solution mère Perkin Elmer selon les recommandations du fabricant. En effet, les étalons de chaque métal sont préparés à partir d'une solution mère de 1000 mg L⁻¹. Les points de gammes, les gaz utilisés, les longueurs d'ondes, le nébuliseur, la concentration caractéristique, la linéarité de la courbe d'étalonnage, la limite de détection, etc. varient avec la nature de l'élément dosé (Bankaji, 2015).

- **Cuivre** : 5 points de gamme sont utilisés: 0 ; 1 ; 2 ; 4 et 5 mg L⁻¹, flamme en air-acétylène.
- **Zinc** : 4 points de gamme à savoir 0 ; 0.25 ; 0.5 et 1 mg L⁻¹, flamme en air-acétylène.
- **Cadmium** : 5 points de gamme sont utilisés: 0 ; 0.5 ; 1.0 ; 1.5 et 2.0 mg L⁻¹, flamme en air-acétylène.
- **Plomb** : 5 points de gamme sont utilisés: 0 ; 5 ; 10 ; 15 et 20 mg L⁻¹, flamme en air-acétylène.
- **Chrome** : 5 points de gamme sont utilisés: 0 ; 1 ; 2 ; 3 et 5 mg L⁻¹, flamme en air-acétylène.

5. 2. 2. Méthode de dosage des ETM

L'extraction des ETM (Cu, Zn, Cd, Pb et Cr) à partir de la glande digestive a été réalisée par une attaque nitro-perchlorique (HNO₃/HClO₄; 4 v/1 v) à chaud. En effet, 50 mg de poudre fine de la glande digestive, préalablement desséchée dans l'étuve à 60 °C pendant 72 h, est placée en présence de 8 ml du mélange d'acide nitro-perchlorique dans des flacons en téflon. Au terme de 2 h de minéralisation à 110 °C, on rajoute 50 ml d'acide nitrique à 0.5%. Les solutions ainsi obtenues sont filtrées et maintenues à froid (4 °C) jusqu'au moment du dosage. Les ETM sont dosés directement sur les minéralisats ou après dilution à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique en type Perkin Elmer (PinAAcle 900T, USA) en mode flamme (Fig. 19). Cependant la mesure des ETM dans l'eau de mer a été directement réalisée sans addition d'acide nitrique. Pour chaque élément métallique, on prépare une gamme étalons à partir d'une solution mère Perkin Elmer de 1000 mg L⁻¹ (Bankaji et al., 2016). Les résultats sont exprimés en mg g⁻¹ de poids sec pour la glande digestive et en mg L⁻¹ pour l'eau de mer.



Figure 19 : Spectrophotomètre d'absorption atomique en type Perkin Elmer (PinAAcle 900T, USA).

6. Détermination du niveau de pollution

La qualité des milieux marins côtiers peut être évaluée par plusieurs moyens. Diverses méthodes biologiques d'alerte précoce ont été mises au point pour détecter, quantifier et identifier les changements spatiaux et temporels de la qualité des eaux côtières ([Banni et al., 2005](#)). L'évolution du niveau de pollution a été déterminée par le calcul de l'indice de pollution multibiomarqueurs (MPI), il permet de convertir les valeurs de tous les biomarqueurs étudiés en un indice global afin de donner une idée relative du niveau de pollution subi par les organismes aquatiques ([Aarab et al., 2004](#)). La détermination du MPI a été réalisée selon les étapes décrites par [Narbonne et al. \(1999\)](#), les variables suivantes sont alors calculées pour chacun des biomarqueurs :

- Amplitude de réponse (RR) = Valeur maximale - valeur minimale
- Intervalle de confiance (IC) à $\alpha = 0.05$
- Facteur de discrimination (DF) = $(RR + IC) / IC$
- Niveau de discrimination (DL) = $DF \pm 1$

Une fois les niveaux de discrimination déterminés pour chacun des biomarqueurs, des indices de réponse (IR) sont attribués pour chaque biomarqueur selon le tableau de discrimination ([Tab. 5](#)) de [Narbonne et al. \(1999\)](#).



Tableau 5 : Indice de réponse des biomarqueurs en fonction du niveau de discrimination.

	Niveau de discrimination				
	1	2	3	4	5
Indice de réponse (IR)	4	8			
	3	6	10		
	2	4	7	12	
	1	2	4	8	14

Le calcul de l'MPI consiste alors à effectuer la somme des indices de réponse pour les différents biomarqueurs, ensuite une couleur représentative d'un niveau de pollution lui est associée. Les cinq niveaux de pollution proposés par [Narbonne *et al.* \(1999\)](#) sont représentés dans le [tableau 6](#).

Tableau 6 : Niveau de pollution.

MPI	Niveau de pollution	Couleurs
01 - 19	Niveau 1 : Environnement non pollué	
20 - 29	Niveau 2 : Environnement peu pollué	
30 - 39	Niveau 3 : Environnement modérément pollué	
40 - 49	Niveau 4 : Environnement sensiblement pollué	
50 - 59	Niveau 5 : Environnement fortement pollué	

7. Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats a été réalisée à l'aide du logiciel R ([R Core Team, 2014](#)). La condition de la normalité des distributions a été vérifiée au préalable par l'application du test de Shapiro-Wilk ; les distributions étant la plupart du temps asymétriques, ce qui nous a menés à choisir des alternatives non-paramétriques pour l'analyse statistique.

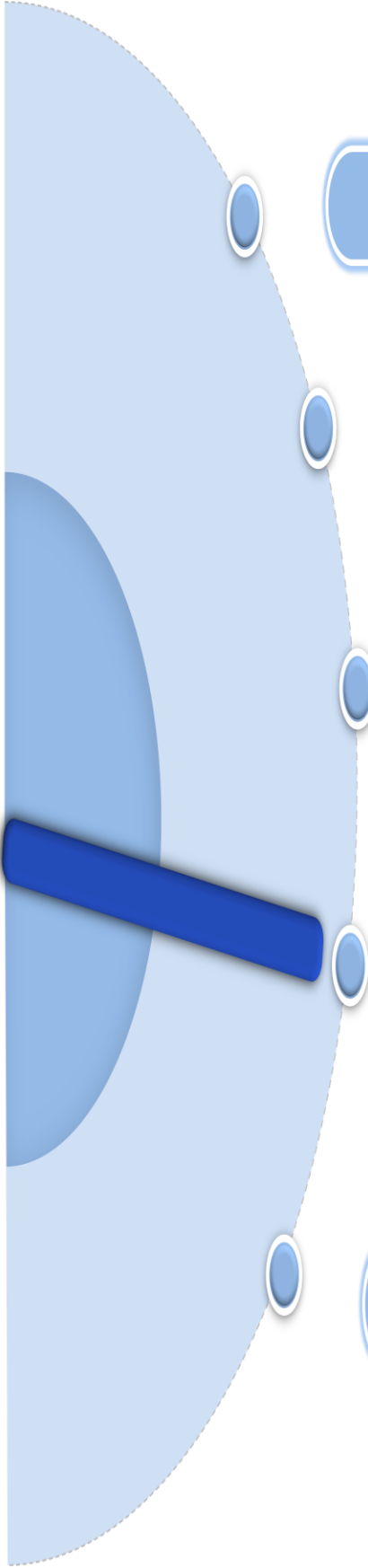


Les données sont représentées par la moyenne plus ou moins erreur standard ($m \pm se$). Les comparaisons inter-sites et inter-saisons ont été effectuées à l'aide du test non paramétrique Kruskal-Wallis.

Ce dernier a été suivi par l'application du test de Dunn (comparaisons par paires) en cas de rejet de l'hypothèse par le test de Kruskal-Wallis. Le niveau de significativité a été établi à $P < 0.05$.

De plus, l'analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée en utilisant le package FactoMineR ([Husson *et al.*, 2014](#)) sur les données normalisées, dont l'objectif est de caractériser par une approche multivariée la structuration des variations spatiotemporelles au niveau du littoral Est algérien.

Enfin, un dendrogramme basé sur une classification ascendante hiérarchique a été tracé afin de mieux visualiser les similitudes entre les trois sites étudiés.



Introduction

Synthèse bibliographique

Matériel et Méthodes

Résultats et discussions

Conclusions et perspectives



Partie 1. Analyse des paramètres physicochimiques et des ETM dans l'eau

Les résultats des analyses physico-chimiques ainsi que des ETM de l'eau de mer dans les trois sites situés au niveau du littoral Nord-Est Algérien sont présentés ci-dessous.

1. Description statistique : Variations inter-sites et saisonnières

1. 1. Paramètres mesurés *in situ*

1. 1. 1. Température de l'air (T_{air})

Les températures moyennes de l'air sont très rapprochées dans l'ensemble des trois sites de prélèvement (Tab. 7 et Fig. 20), elles varient entre 21.25 ± 3.71 °C (Site 1) et 24.75 ± 2.50 °C (Site 2) avec un maximum de 30.00 °C dans le site 2. Cependant, elles présentent des fluctuations saisonnières (Tab. 8 et Fig. 20) avec des valeurs comprises entre 17.67 ± 3.38 °C relevées en hiver et 28.00 ± 0.00 °C rencontrées en été.

Tableau 7 : Description statistique des variables spatiales pour les températures de l'air (°C).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	21.25	3.71	11.00	28.00
Site 2	24.75	2.50	20.00	30.00
Site 3	24.25	1.44	22.00	28.00

Tableau 8 : Description statistique des variables temporelles pour les températures de l'air (°C).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	26.67	1.67	25.00	30.00
Hiver	17.67	3.38	11.00	22.00
Printemps	21.33	0.33	21.00	22.00
Eté	28.00	0.00	28.00	28.00

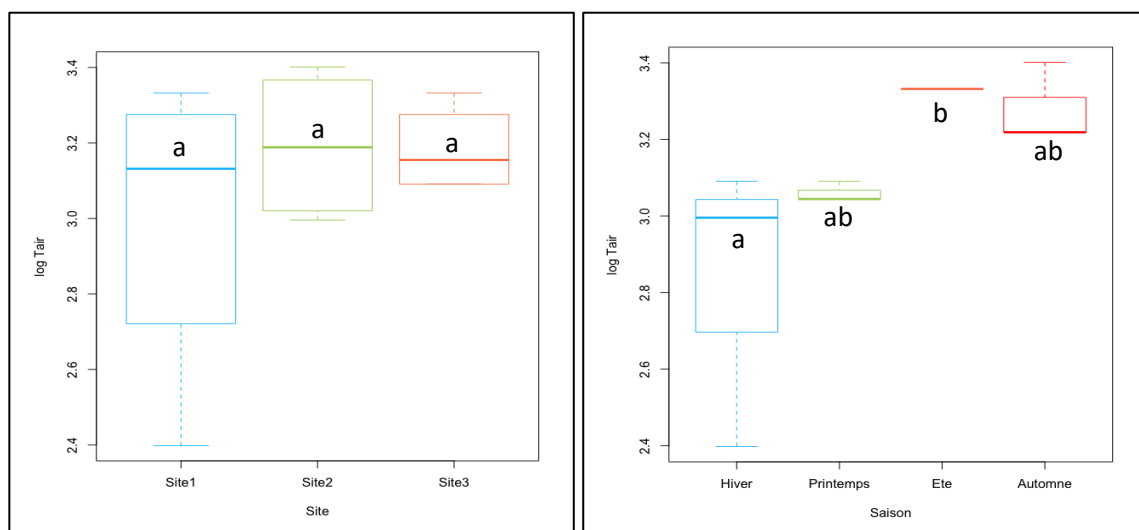


Figure 20 : Variation inter-sites et saisonnière de la température de l'air.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

Les résultats du test Kruskal-Wallis relatifs à la comparaison des variables pour les deux facteurs : « site » et « saison » indiquent qu'il y a une différence significative entre les moyennes de la T_{air} enregistrées durant les quatre saisons et une absence de différences significatives entre les sites d'étude.

Le test de Dunn nous permet de classer les saisons en trois groupes : le groupe "a" représentant l'hiver, le groupe "b" qui correspond à l'été et le groupe "ab" qui rassemble le printemps et l'automne (Fig. 20).

Résultats du Test de Kruskal-Wallis de la Température de l'air (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
T_{air}	Inter-sites	$\chi^2 = 0.483$	ddl= 2	p-value= 0.79	n.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 8.8447$	ddl= 3	p-value= 0.03	d.s.

d.s. indique une différence significative ($p < 0.05$) et **n.s.** une différence non significative ($p > 0.05$).



1. 1. 2. Température de l'eau (T)

Les valeurs thermiques des eaux affichent des variations similaires dans l'ensemble des trois sites de prélèvement (Tab. 9), elles varient entre 22.73 ± 2.72 °C (Site 1) et 23.65 ± 2.92 °C (Site 2) avec un maximum de 27.80 °C enregistré au niveau du site 2 et un minimum de 15.00 °C enregistré au niveau des sites 1 et 2. Cependant, elles présentent des fluctuations saisonnières (Tab. 10) avec des valeurs comprises entre 15.50 ± 0.50 °C relevées en hiver et 27.27 ± 0.27 °C rencontrées en été.

Tableau 9 : Description statistique des variables spatiales pour les températures de l'eau (°C).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	22.73	2.72	15.00	27.00
Site 2	23.65	2.92	15.00	27.80
Site 3	22.90	2.26	16.50	27.00

Tableau 10 : Description statistique des variables temporelles pour les températures de l'eau (°C).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	25.63	0.47	24.70	26.20
Hiver	15.50	0.50	15.00	16.50
Printemps	23.97	0.83	22.90	25.60
Été	27.27	0.27	27.00	27.80

Les distributions de la variable Température de l'eau selon les sites (Fig. 21) présentent des dispersions similaires et plus étalées alors qu'elles présentent plus de variations et sont un peu dispersées selon les saisons (Fig. 21), ce qui suggère que la température de l'eau a connu des fluctuations saisonnières importantes.

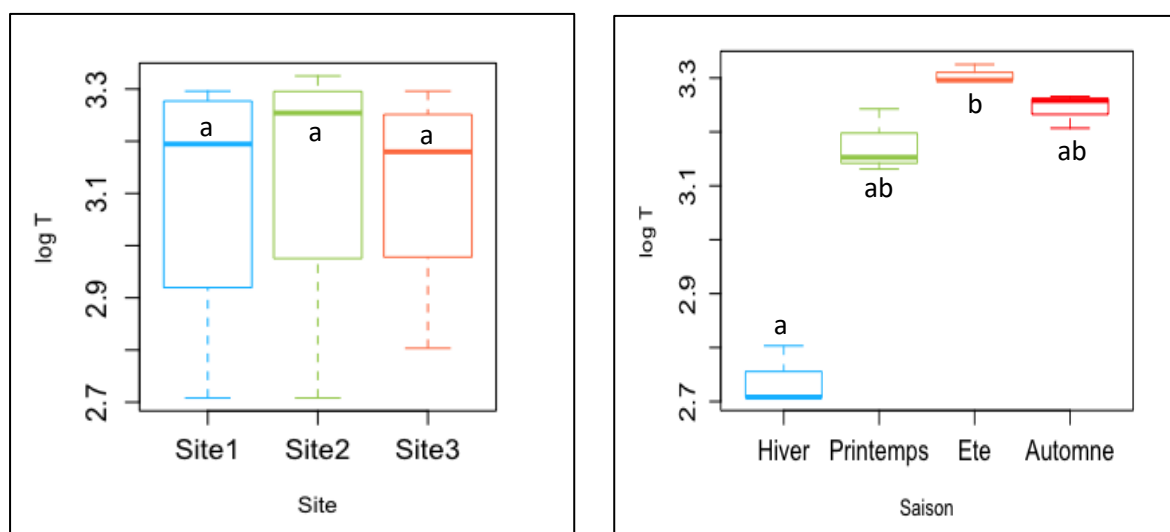


Figure 21 : Variation inter-sites et saisonnière de la température de l'eau.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

Les résultats du test Kruskal-Wallis relatifs à la comparaison des variables pour les deux facteurs : « site » et « saison » montrent qu'il n'existe pas des différences significatives inter-sites pour la variable T, il semblerait que l'effet du facteur « site » n'est pas marqué ; et des différences significatives d'une saison à une autre, ceci nous conduit à dire que la variation saisonnière de la Température de l'eau est liée, essentiellement, à la notion de temps, mais pas à celle des sites d'échantillonnage.

Le test de Dunn nous permet de classer les saisons en trois groupes : le groupe "a" représentant l'hiver, le groupe "b" qui correspond à l'été et le groupe "ab" qui rassemble le printemps et l'automne (Fig. 21).

Résultats du Test de Kruskal-Wallis de la température de l'eau (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison			
T	Inter-sites	$\chi^2 = 0.35827$ ddl= 2	p-value= 0.836	n.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 10.045$ ddl= 3	p-value= 0.01819	d.s.

d.s. indique une différence significative ($p < 0.05$) et **n.s.** une différence non significative ($p > 0.05$).



La température de l'eau est un facteur déterminant de l'état des eaux de surface, car elle est l'un des principaux régulateurs des processus vitaux qui s'y déroulent. C'est en effet d'elle que dépendent tous les processus métaboliques: la durée, l'évolution et la vitesse de croissance, ainsi que la composition des biocénoses.

Aussi, la température est un facteur écologique important, elle joue un rôle fondamentale dans la répartition des espèces et la limitation de certaines activités biologiques (Rodier, 1996). Elle contrôle l'intensité de la reproduction (la quantité des gamètes produits) (Mackie et Schoesse, 1996) et stimule le processus de la gamétogenèse en corrélation avec d'autres facteurs ce qui entraîne des variations dans les taux d'accumulation des polluants (Tran *et al.*, 2001; Tran *et al.*, 2002).

Elle agit sur la densité, la viscosité, la solubilité des gaz dans l'eau (notamment celle de l'oxygène), la dissociation des sels dissous, de même que sur les réactions chimiques et biochimiques, le développement et la croissance des organismes vivant dans l'eau et particulièrement les microorganismes (Hceflcd, 2006).

De plus, la variation de la température a des effets sur tous les autres paramètres mesurés comme le pH, la conductivité électrique, le taux des sels dissous comme elle aura un effet sur toutes les réactions de dégradation, de minéralisation des matières organiques et le développement des micro-organismes responsables ou non de ces transformations.

L'accroissement de la température favorise avec d'autres facteurs la productivité primaire et donc une augmentation de nourriture pour la faune aquatique (Bremond et Vuichard, 1973).

Dans les trois sites d'étude, les résultats obtenus montrent que la température ne présente pas de grandes variations. Cependant, les valeurs thermiques des eaux montrent l'existence d'un cycle saisonnier typiquement méditerranéen. Les fluctuations de ce paramètre abiotique sont en relation avec les conditions climatiques locales et plus particulièrement avec la température de l'air. D'après Vincke (1982) les températures les plus basses sont observées en hiver et les plus élevées en été.



La température est l'un des paramètres physico-chimiques les plus sensibles aux modifications naturelles, elle varie en fonction de la température extérieure (l'air), des saisons, de la nature géologique du sol et de la profondeur du niveau d'eau par rapport à la surface du sédiment (Rodier *et al.*, 2005) ; et aux modifications anthropiques comme le cas des rejets des eaux usées.

Les résultats obtenus correspondent avec les travaux réalisés au niveau du littoral Nord-Est algérien (Ounissi et Frehi, 1999 ; Khelifi-Touhami *et al.*, 2006 ; Frehi *et al.*, 2007 ; Khati-Hadj Moussa, 2009 ; Boumaza, 2014 ; Hadjadji *et al.*, 2014 ; Ounissi *et al.*, 2014 ; Hidouci, 2015 ; Kadri *et al.*, 2015 ; Boutabia-Trea, 2016 ; Amri *et al.*, 2017b ; Bouzenda *et al.*, 2017) et du littoral oranais (Rouane-Hacene, 2013).

1. 1. 3. pH

Concernant le pH, les données analytiques permettent d'enregistrer des valeurs moyennes similaires entre les trois sites (Tab. 11 et Fig. 22), elles sont comprises entre 8.51 ± 0.09 (Site 3) et 8.58 ± 0.06 (Site 1) avec un minimum de 8.24 (Site 3) et un maximum de 8.66 (Site 1), ce qui marque un pH alcalin dans tous les sites étudiés. Aussi les valeurs moyennes sont très proches d'une saison à une autre (Tab. 12 et Fig. 22), elles oscillent dans un intervalle de 8.51 ± 0.07 au printemps et 8.59 ± 0.04 en automne.

Tableau 11 : Description statistique des variables spatiales pour le pH.

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	8.58	0.06	8.42	8.66
Site 2	8.54	0.04	8.47	8.65
Site 3	8.51	0.09	8.24	8.64

Tableau 12 : Description statistique des variables temporelles pour le pH.

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	8.59	0.04	8.52	8.66
Hiver	8.52	0.14	8.24	8.66
Printemps	8.51	0.07	8.42	8.64
Eté	8.56	0.05	8.47	8.63

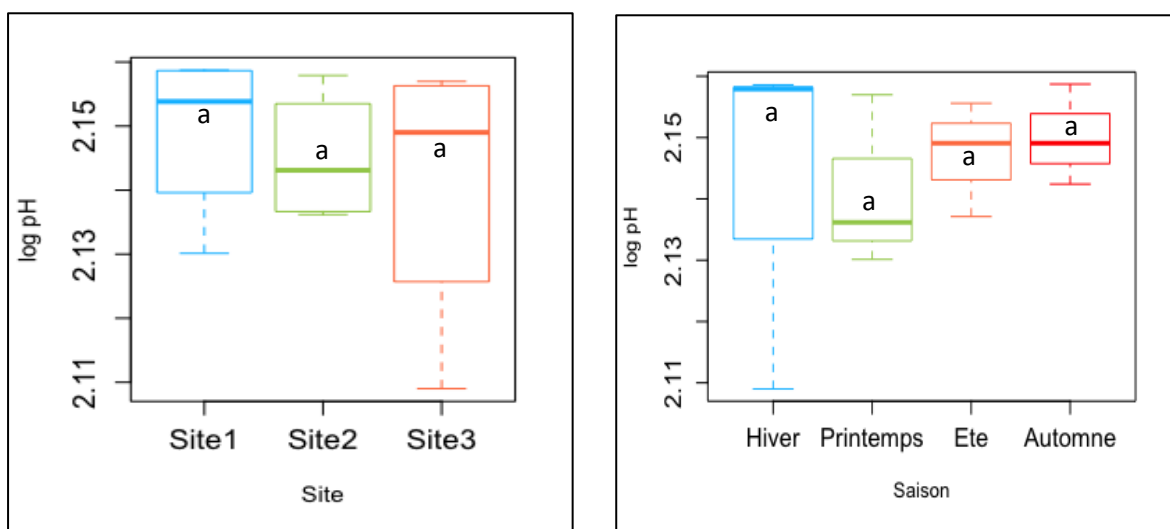


Figure 22 : Variation inter-sites et saisonnière du pH.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

Le test de Kruskal-Wallis indique qu'il n'existe pas de différences significatives entre les sites d'étude ainsi que les saisons.

Résultats du Test de Kruskal-Wallis du pH (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
pH	Inter-sites	$\chi^2 = 0.87807$	ddl= 2	p-value= 0.6447	n.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 1.3766$	ddl= 3	p-value= 0.711	n.s.

n.s. indique une différence non significative ($p > 0.05$).

Le pH ou l'expression de l'acidité du milieu, compte parmi les paramètres physicochimiques qui conditionnent le milieu aquatique, et influence un grand nombre de processus biologiques et chimiques (Pezo *et al.*, 1985). Le pH de l'eau mesure la concentration des protons H^+ contenus dans l'eau. Il 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 qui confèrent un développement favorable à la vie aquatique (Ezzaouaq, 1991; El Blidi *et al.*, 2003; Himmi *et al.*, 2003). Il est lié aux variations de la température, de la salinité, de l'oxygène dissous, du taux de CO_2 et des terrains traversés (Ben Bouih, 2000).



Dans la plupart des eaux naturelles, le pH est compris habituellement entre 6 et 8.5 alors que dans les eaux tièdes, celui-ci est compris entre 5 et 9 (Hceflcd, 2007). En mer le pH reste ainsi tamponné dans une fourchette de l'ordre de 8 à 8.3. Cependant, il peut être affecté par des processus naturels comme la pousse du phytoplancton consommateur du CO₂, la minéralisation de la matière organique productrice du CO₂, 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 et Keroual, 2004b).

Dans le cas des sites étudiés, les valeurs enregistrées témoignent d'une légère alcalinité du milieu. Les données collectées ne montrent pas une variation entre les trois sites, et présentent généralement des valeurs similaires, l'alcalinité des différents sites d'étude enseigne une bonne qualité du milieu pour la biodiversité et la production des faune et flore aquatiques, car selon Barnabé (1991) et Rodier *et al.* (2005), les eaux côtières méditerranéennes ont un pH naturellement basique qui varie entre 7.9 et 8.3, la tendance basique du pH est rencontrée dans toutes les eaux.

Ces observations ont été signalées au niveau du littoral Nord-Est Algérien (Gueddah, 2003 ; Gueddah, 2006 ; Kara, 2007; Bentayeb et Mechtouf, 2007 ; Benchikh, 2009 ; Sifi, 2009 ; Allouti, 2011 ; Kadri *et al.*, 2015 ; Amri *et al.*, 2017b), ainsi qu'au niveau du littoral algérois (Rouibah *et al.*, 2005; Bachari-Houma, 2011) et du littoral oranais (Rouane-Hacene, 2013).

1. 1. 4. Salinité (Sal)

La salinité, montre une variation entre les sites étudiés (Tab. 13 et Fig. 23). Nous avons relevé des valeurs moyennes de l'ordre de 31.42 ± 2.29 PSU dans le site 2 et 36.98 ± 0.22 PSU dans le site 3.

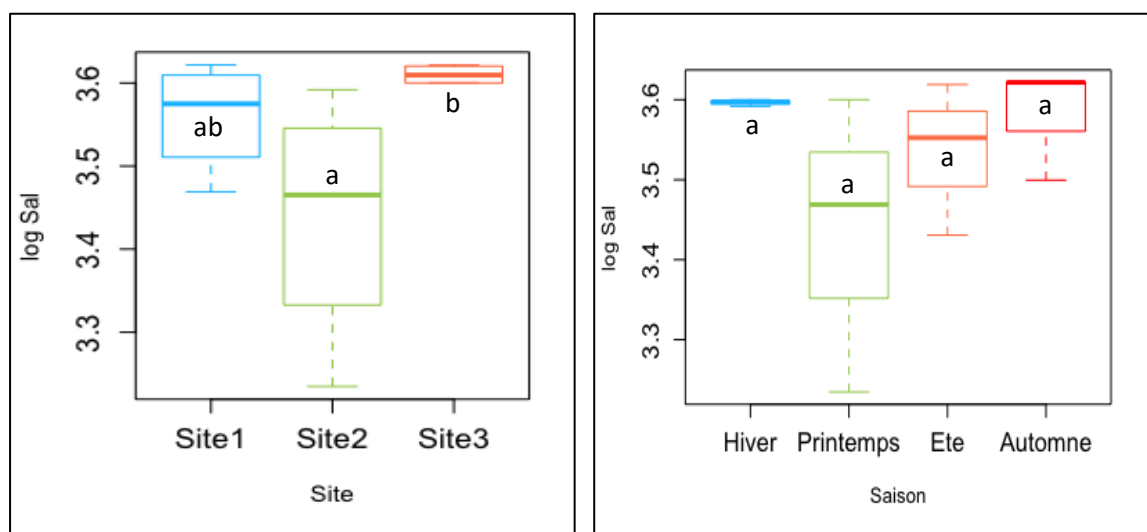
La période printanière est caractérisée par les moyennes de salinité les plus basses avec 31.37 ± 3.25 PSU (Tab. 14 et Fig. 23), alors que les valeurs moyennes les plus élevées sont relevées en période hivernale avec 36.47 ± 0.09 PSU.

**Tableau 13** : Description statistique des variables spatiales pour la salinité (PSU).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	35.23	1.16	32.10	37.40
Site 2	31.42	2.29	25.40	36.30
Site 3	36.98	0.22	36.60	37.40

Tableau 14 : Description statistique des variables temporelles pour la salinité (PSU).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	35.97	1.43	33.10	37.40
Hiver	36.47	0.09	36.30	36.60
Printemps	31.37	3.25	25.40	36.60
Eté	34.37	1.87	30.90	37.30

**Figure 23** : Variation inter-sites et saisonnière de la salinité.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

Le test de Kruskal-Wallis indique qu'il y a une différence significative entre les moyennes de la salinité enregistrées dans les sites d'étude et une absence de différences significatives entre les saisons.



Le test de Dunn nous permet de grouper les trois sites en trois groupes "a", "b" et "ab" correspondant au site 2, site 3 et site 1, respectivement (Fig. 23).

Résultats du Test de Kruskal-Wallis de la salinité (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
Sal	Inter-sites	$\chi^2= 6.3037$	ddl= 2	p-value= 0.04277	d.s.
	Inter-saisons	$\chi^2= 2.9824$	ddl= 3	p-value= 0.3943	n.s.

d.s. indique une différence significative ($p < 0.05$) et **n.s.** une différence non significative ($p > 0.05$).

La salinité désigne la quantité de sels dissous dans un liquide, il ne faut pas le confondre avec la dureté de l'eau qui est relative à son dosage en calcium et magnésium. Le chlorure de sodium (NaCl) n'est qu'un des très nombreux sels composant la solution. C'est le caractère essentiel de l'eau de mer.

Les résultats obtenus montrent l'inexistence d'une différence entre les saisons étudiées avec une baisse non significative de la salinité au printemps qui serait due à l'arrivée des eaux douces continentales qui sont en liaison avec l'abondance des pluies qui diluent l'eau de mer.

Nous notons aussi une différence significative enregistrée entre les trois sites d'étude, où la diminution de la salinité au niveau du site 2 peut être due à son rapprochement au canal Messida qui est caractérisé par une salinité basse. Les eaux du canal présentent une salinité basse dans sa partie Sud et montrent ainsi l'absence d'infiltration de sels dans cette zone. Dans la partie Nord du canal, la salinité y est relativement assez élevée en période estivale du fait de l'importance des échanges avec la mer qui charrie de fortes quantités de matières minérales. Cette différence, entre la partie Sud et Nord du canal, serait en relation avec le degré de dénivellation du lit du canal.

Selon [Aminot et Kérouel \(2004b\)](#), la salinité de la mer méditerranée est de l'ordre de 38-39 PSU ; elle est moins salée que la mer rouge (36-47 PSU), mais plus salée que la mer baltique (< 15 PSU) et la mer noire (18-22 PSU).



La salinité mesurée dans les différents sites de prélèvement semble être en accord avec les moyennes observées en mer Méditerranée et avec celles mesurées habituellement sur les côtes algériennes : le golfe d'Annaba (Ounissi et Frehi, 1999 ; Frehi *et al.*, 2007 ; Boumaza, 2014 ; Hadjadji *et al.*, 2014 ; Ounissi *et al.*, 2014 ; Hidouci, 2015 ; Kadri *et al.*, 2015 ; Boutabia-Trea, 2016 ; Amri *et al.*, 2017b), le golfe de Skikda (Bouhayene, 2015), le littoral algérois (Bachari-Houma, 2009 ; Grimes, 2010) et le littoral oranais (Rouane-Hacene, 2013).

1. 1. 5. Oxygène dissous (Oxy)

Les concentrations en oxygène dissous ont permis d'enregistrer des moyennes similaires entre les trois sites (Tab. 15 et Fig. 24) comprises entre $9.66 \pm 0.28 \text{ mg L}^{-1}$ (Site 2) et $12.42 \pm 1.41 \text{ mg L}^{-1}$ (Site 3) avec une concentration minimale de 9.00 mg L^{-1} et une concentration maximale de 15.16 mg L^{-1} dans le site 3.

Concernant les résultats des concentrations moyennes saisonnières (Tab. 16 et Fig. 24), ils oscillent de $10.00 \pm 0.72 \text{ mg L}^{-1}$ en automne à $12.41 \pm 1.78 \text{ mg L}^{-1}$ au printemps.

Tableau 15 : Description statistique des variables spatiales pour l'oxygène dissous (mg L^{-1}).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	11.27	0.62	10.17	12.98
Site 2	9.66	0.28	9.09	10.43
Site 3	12.42	1.41	9.00	15.16

Tableau 16 : Description statistique des variables temporelles pour l'oxygène dissous (mg L^{-1}).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	10.00	0.72	9.00	11.40
Hiver	11.74	1.26	10.43	14.25
Printemps	12.41	1.78	9.09	15.16
Été	10.32	0.51	9.52	11.27

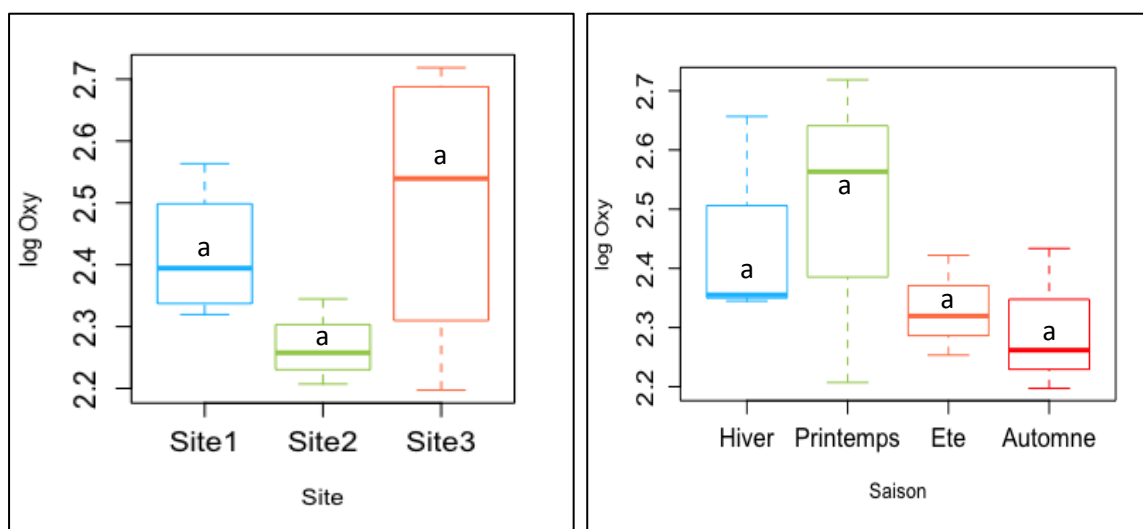


Figure 24 : Variation inter-sites et saisonnière de l'oxygène dissous.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

Le test de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration de l'oxygène dissous, a révélé l'absence de différences significatives aussi bien entre les sites d'étude et les saisons.

Résultats du Test de Kruskal-Wallis de l'oxygène dissous (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
Oxy	Inter-sites	$\chi^2 = 3.5$	ddl = 2	p-value = 0.1738	n.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 6.8913$	ddl = 3	p-value = 0.07545	n.s.

n.s. indique une différence non significative ($p > 0.05$).

La quantité d'oxygène dissous dans l'eau est nécessaire à l'oxydation des matières organiques essentielles à la vie aquatique en tant que nourriture (Tran *et al.*, 2001; Tran *et al.*, 2002).

La turbulence des eaux favorise l'augmentation de la concentration en matières en suspension, mais aussi la solubilisation de l'oxygène. L'oxygène dissous joue un rôle écologique plus direct en milieu aquatique qu'en milieu aérien. Sa présence dans les eaux de surface joue un rôle prépondérant dans l'autoépuration des charges polluantes et donc dans le maintien de la vie aquatique (Rodier, 1996).



Au niveau des zones côtières et dans les conditions normales la quantité d'oxygène dissoute en eau de mer serait d'environ de 8.6 mg L^{-1} (Davis, 1975), sa disponibilité pour les organismes aquatiques dépend d'un certain nombre de facteurs qui agissent sur la solubilité (Davis *et al.*, 1963).

Trois facteurs influencent les variations de concentration en oxygène dans l'eau: la production d' O_2 par photosynthèse; la respiration entraînant une consommation de l' O_2 ; la ré-aération, c'est-à-dire les échanges entre l'eau et l'air qui sont d'autant plus rapides que la surface de l'eau est agitée (Hubiche, 2002).

L'oxygène dissous de l'eau de mer dans le site 2, qui est très proche de la partie Nord du canal Messida, révèle des valeurs moyennes basses qui seraient liées aux charges en matière organique biodégradable. Les apports en matières organiques fermentescibles vont subir une oxydation qui se traduira par une consommation accrue de l'oxygène menant à une baisse de sa concentration dans l'eau. Cette diminution traduit une légère dégradation de la qualité de l'eau qui a pour conséquence une altération de l'activité biologique aquatique.

L'oxygène est l'un des paramètres particulièrement utile pour l'eau et constitue un excellent indicateur de sa qualité. C'est l'un des paramètres les plus sensibles à la pollution. Sa valeur nous renseigne sur le degré de pollution et par conséquent sur le degré de l'autoépuration (Hceflcd, 2007). En effet, la dégradation de la matière polluante provoque une diminution de la concentration en oxygène dissous dans le milieu produisant un déséquilibre dans le maintien et le développement de la flore et la faune aquatique (Afri-Mehennaoui, 1998).

Les relevés des concentrations en oxygène dissous mettent en évidence l'existence de valeurs légèrement élevées en période hivernale et printanière par rapport aux périodes estivale et automnale. Ces variations seraient directement liées aux variations saisonnières de la température de l'eau qui conditionnent le processus de solubilité de l'oxygène.

L'augmentation du taux d'oxygène dissous de l'eau, en période hivernale et printanière, résulte de la baisse de la température (Hébert et Légaré, 2000), ainsi que les agitations mécaniques provoquées par le vent qui représentent le principal facteur de brassage des eaux (Millet, 1989 ; Belaud, 1996 ; Schlumberger, 2002).



La confirmation est apportée par [Bricker *et al.* \(1999\)](#), qui conclut que la baisse de la température de l'eau, l'augmentation de l'interface air-eau et le brassage engendré par l'hydrodynamisme important en période hivernale, sont à l'origine d'une meilleure oxygénation de l'eau.

L'activité photosynthétique du printemps enrichie ces eaux en oxygène dissous. Par contre, l'augmentation de l'activité des microorganismes durant l'été est accompagnée par une consommation d'oxygène et libération du CO₂ et par conséquent une diminution du taux d'oxygène dissous ([Harach-Rass *et al.*, 2012](#)). Aussi, pendant la saison estivale, le réchauffement de l'eau provoque une diminution de la dissolution de l'oxygène dissous, aggravée par une augmentation de la consommation de l'oxygène par les organismes vivants et une chute de la vitesse des vents. Cette hypothèse est confirmée par l'étude de [Tarsila *et al.* \(2006\)](#), en soulignant que lorsque l'eau de mer est froide, elle présente une solubilité plus élevée en oxygène.

Donc, la baisse du taux d'oxygène dissous relevé en période estivale serait, en revanche, liée non seulement à la forte élévation de la température mais aussi à la respiration des organismes aquatiques vivants (faune, flore immergée) et au calme hydrodynamique, qui empêche le brassage de l'eau ([Lacaze, 1996](#)). A cela s'ajoute la dégradation bactérienne des détritiques qui consomment énormément d'oxygène, à raison de 1g d'O₂ Kg⁻¹ de matière sèche. Cette consommation sera plus importante avec l'augmentation de la température ([Belaud, 1996](#)).

Nos résultats sont conformes à ceux trouvés dans le littoral Nord-Est algérien par [Kadri *et al.* \(2015\)](#), [Boutabia-Trea \(2016\)](#) et [Amri *et al.* \(2017b\)](#).

Dans les estuaires bretons, [Beaupoil et Bornens \(1997\)](#) ont fixé, après une étude concernant l'effet des hypoxies sur la faune, les seuils en oxygène dissous suivants : supérieurs à 5 mg L⁻¹ (qualité excellente à acceptable), de 3 à 5 mg L⁻¹ (qualité moyenne à médiocre), de 2 à 3 mg L⁻¹ (qualité mauvaise à très mauvaise), de 1 à 2 mg L⁻¹ (hors classe niveau 1), inférieur à 1 mg L⁻¹ (hors classe niveau 2). Ce qui nous permet de dire que, durant la période d'étude, les eaux du littoral Nord-Est algérien, présentent une qualité excellente à acceptable du fait que les concentrations en oxygène dissous relevées dépassent le plus souvent 5 mg L⁻¹.



1. 1. 6. Conductivité (Cond)

L'examen des **tableaux (17 et 18)** et la **figure 25** fait ressortir que les valeurs moyennes de la conductivité varient de $47.35 \pm 5.77 \text{ mS cm}^{-1}$ dans le site 2 à $55.95 \pm 0.18 \text{ mS cm}^{-1}$ dans le site 3. Les valeurs moyennes saisonnières maximales sont relevées en automne avec $56.17 \pm 0.15 \text{ mS cm}^{-1}$ et les valeurs moyennes les plus basses sont enregistrées au printemps avec $45.30 \pm 7.28 \text{ mS cm}^{-1}$.

Tableau 17 : Description statistique des variables spatiales pour la conductivité (mS cm^{-1}).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	53.40	1.66	49.20	56.20
Site 2	47.35	5.77	31.20	55.90
Site 3	55.95	0.18	55.50	56.40

Tableau 18 : Description statistique des variables temporelles pour la conductivité (mS cm^{-1}).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	56.17	0.15	55.90	56.40
Hiver	55.77	0.19	55.40	56.00
Printemps	45.30	7.28	31.20	55.50
Eté	51.70	2.62	46.90	55.90

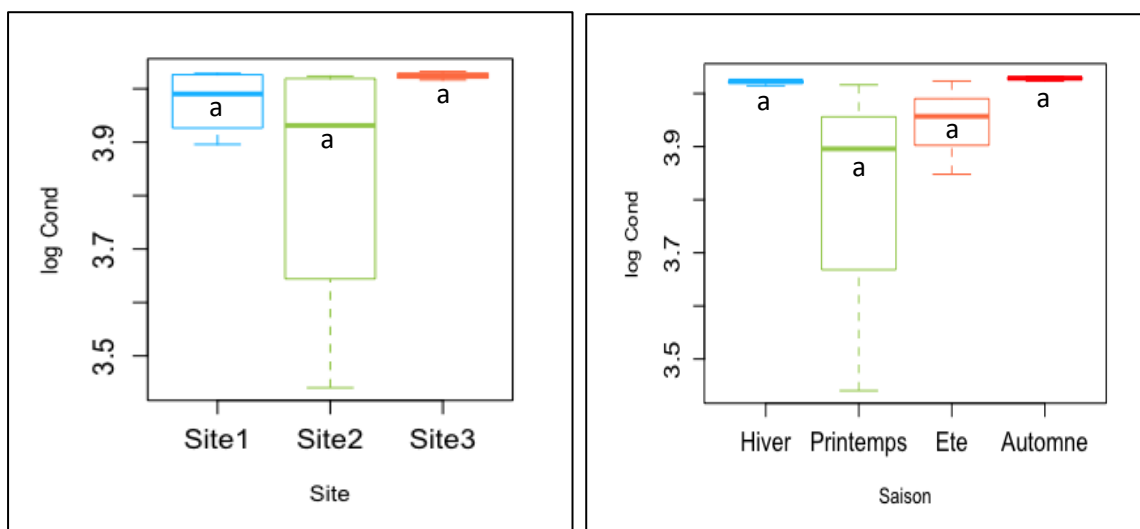


Figure 25 : Variation inter-sites et saisonnière de la conductivité.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.



Le test de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la conductivité indique qu'il n'existe pas de différences significatives entre les sites d'étude et les saisons.

Résultats du Test de Kruskal-Wallis de la conductivité (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
Cond	Inter-sites	$\chi^2 = 3.9007$	ddl= 2	p-value= 0.1422	n.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 6.8913$	ddl= 3	p-value= 0.07545	n.s.

n.s. indique une différence non significative ($p > 0.05$).

La conductivité de l'eau montre des fluctuations saisonnières non significatives, les valeurs sont légèrement élevées en automne et un peu plus basses au printemps. Ces variations s'expliqueraient par la forte évaporation et le faible débit de l'eau en période sèche (El Morhit *et al.*, 2008) et le phénomène de dilution en période humide (Nassali *et al.*, 2005). Nous notons aussi une similitude dans l'évolution de la conductivité au niveau des trois sites avec une légère diminution de ce paramètre relevée au site 2. Ces fluctuations pourraient être en relation avec l'alternance de mouvement des échanges entre le canal et la mer illustrés par le flot (mer-canal) et le jusant (canal-mer).

Selon Rodier *et al.* (2005), la variation de la conductivité est induite par la présence, dans le milieu, d'ions qui sont mobiles dans un champ électrique ; cette mobilité dépend de la nature des ions dissous (tel que les ions de calcium (Ca^{2+}), de sodium (Na^+), de chlorure (Cl^-), des bicarbonates (HCO_3^-), etc.) et de leurs concentrations.

1. 2. Paramètres dosés au laboratoire

1. 2. 1. Nitrates (Nitra)

Les concentrations en nitrates se caractérisent par des moyennes de l'ordre de $2.95 \pm 0.77 \mu\text{M}$ (Site 1) à $10.97 \pm 2.05 \mu\text{M}$ (Site 3) (Tab. 19 et Fig. 26).

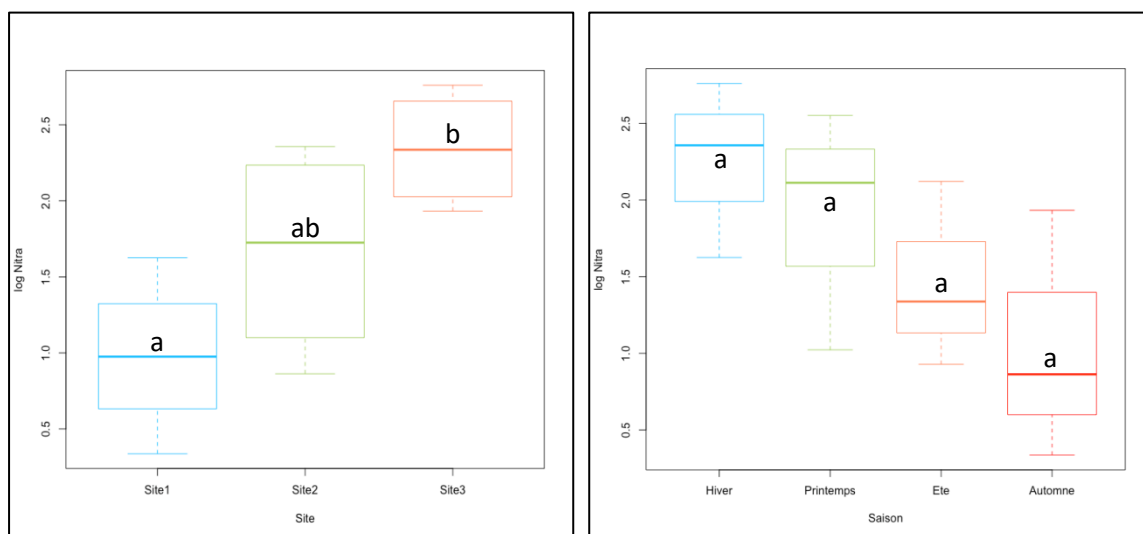
L'évolution saisonnière des nitrates révèle des concentrations allant de $3.56 \pm 1.70 \mu\text{M}$ en période automnale à $10.48 \pm 3.10 \mu\text{M}$ en période hivernale (Tab. 20 et Fig. 26).

**Tableau 19** : Description statistique des variables spatiales pour les nitrates (μM).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	2.95	0.77	1.40	5.08
Site 2	6.25	1.91	2.37	10.56
Site 3	10.97	2.05	6.91	15.81

Tableau 20 : Description statistique des variables temporelles pour les nitrates (μM).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	3.56	1.70	1.40	6.91
Hiver	10.48	3.10	5.08	15.81
Printemps	7.96	2.91	2.78	12.83
Eté	4.89	1.76	2.53	8.34

**Figure 26** : Variation inter-sites et saisonnière des nitrates.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

L'application du test non paramétrique de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration des nitrates, a révélé la présence de différences significatives entre les sites et l'absence de différences significatives entre les saisons. Le test de Dunn nous permet de grouper les trois sites en trois groupes "a", "b" et "ab" correspondant au site 1, site 3 et site 2, respectivement (Fig. 26).

**Résultats du Test de Kruskal-Wallis des nitrates (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :**

Variable	Comparaison				
Nitra	Inter-sites	$\chi^2 = 6.0385$	ddl= 2	p-value= 0.05	d.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 4.641$	ddl= 3	p-value= 0.2	n.s.

d.s. indique une différence significative ($p < 0.05$) et **n.s.** une différence non significative ($p > 0.05$).

Les nitrates constituent le stade final de l'oxydation de l'azote, ils se trouvent naturellement dans les eaux, ils ne sont pas toxiques, mais participent à d'importants phénomènes d'eutrophisation ([Lacaze et Ramade, 1993](#)).

Les apports de nitrates proviennent essentiellement de l'écoulement des eaux sur le bassin versant et l'usage d'engrais azoté en agriculture ; toutefois des eaux usées domestiques et parfois même des eaux industrielles pourraient être des sources d'apports en nitrates.

L'azote organique dissous (NOD) est composé essentiellement de l'urée, des acides aminés dissous libres, des acides aminés dissous complexes, des protéines, des acides nucléiques et leurs dérivés, des enzymes et des acides humiques ([Le Gall, 1989](#)), et l'azote inorganique (NID) est formé par l'ammonium (NH_4^+), les nitrates (NO_3^-) et nitrites (NO_2^-). En milieu aquatique, le NOD provient du métabolisme des micro-organismes, de la lyse des cellules, de la décomposition de la matière organique et des eaux de pluie. Il est utilisé par les bactéries comme source d'azote et régénéré sous forme minérale (NID) assimilable par les végétaux.

Le suivi des concentrations en NH_4^+ , NO_3^- et NO_2^- est souvent systématique dans les programmes de surveillance de la qualité générale des eaux ([Aminot et Kérouel, 2004a](#)), car ces éléments jouent un rôle crucial dans l'eutrophisation des eaux côtières ([Howarth et Marino, 2006](#)).

Les concentrations en NO_3^- enregistrées dans les eaux du site 3 sont légèrement élevées par rapport aux autres sites, ceci aurait pour origine les activités anthropiques. Selon [Bremond et Perrodon \(1979\)](#) l'observation de concentrations dépassant $12 \mu\text{g L}^{-1}$ d'eau serait directement liée à l'activité anthropique.



Les concentrations en NO_3^- montrent des fluctuations saisonnières non significatives. Les valeurs les plus faibles en période automnale et estivale s'expliqueraient par la dénitrification (transformation des NO_3^- en azote gazeux qui s'échappe alors vers l'atmosphère), par la consommation bactérienne (Wiegner *et al.*, 2006 ; Purvina *et al.*, 2010) ou par la réduction de l'oxydation des NO_2^- en NO_3^- du fait de la faible concentration en oxygène dissous enregistrée durant la même période .

Dans les eaux naturelles non polluées, le taux des NO_3^- est variable suivant la saison et l'origine des eaux ; il peut varier de 1 à 15 mg L^{-1} et de même une concentration de 2 ou 3 mg L^{-1} , peut être considérée comme normale (Rodier *et al.*, 2005).

1. 2. 2. Nitrites (Nitri)

Les résultats des concentrations moyennes consignés dans le [tableau 21](#) et la [figure 27](#) révèlent que les concentrations en nitrites relevées sont comprises entre $0.24 \pm 0.06 \mu\text{M}$ (Site 2) et $0.46 \pm 0.29 \mu\text{M}$ (Site 3).

Les résultats du [tableau 22](#) et de la [figure 27](#) relatifs aux concentrations moyennes saisonnières des nitrites montrent des valeurs allant de $0.08 \pm 0.02 \mu\text{M}$ en automne à $0.72 \pm 0.30 \mu\text{M}$ au printemps.

Tableau 21 : Description statistique des variables spatiales pour les nitrites (μM).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	0.24	0.12	0.03	0.51
Site 2	0.24	0.06	0.06	0.33
Site 3	0.46	0.29	0.03	1.31

Tableau 22 : Description statistique des variables temporelles pour les nitrites (μM).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	0.08	0.02	0.06	0.11
Hiver	0.13	0.10	0.03	0.33
Printemps	0.72	0.30	0.33	1.31
Eté	0.35	0.05	0.26	0.41

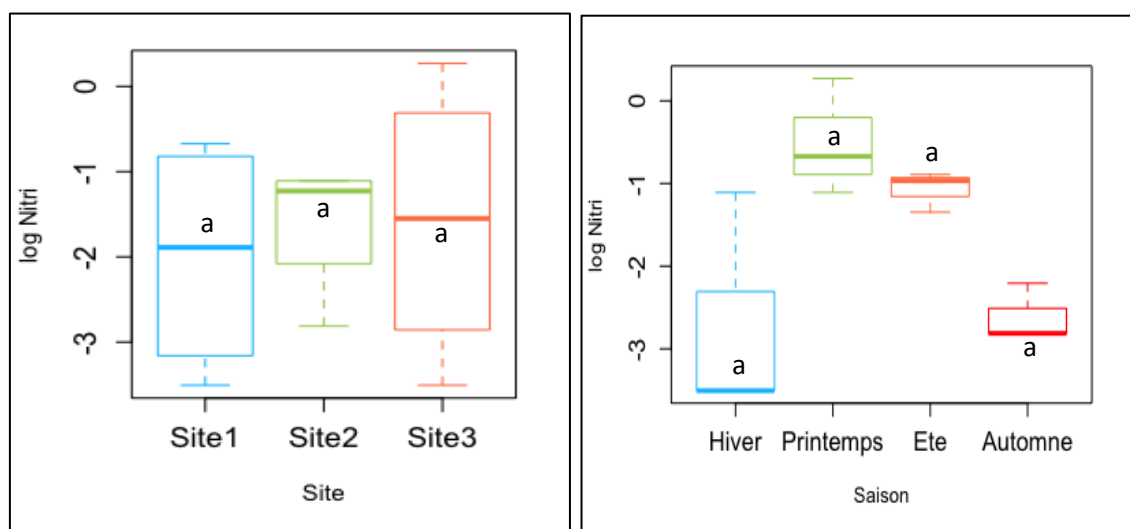


Figure 27 : Variation inter-sites et saisonnière des nitrites.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

L'application du test non paramétrique de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration des nitrites, a révélé l'absence de différences significatives entre les sites et les saisons.

Résultats du Test de Kruskal-Wallis des nitrites (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
Nitri	Inter-sites	$\chi^2 = 0.18463$	ddl= 2	p-value= 0.9118	n.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 7.4759$	ddl= 3	p-value= 0.05818	n.s.

n.s. indique une différence non significative ($p > 0.05$).

Dans les eaux naturelles les nitrites sont présents à de faibles concentrations ; ils présentent une fraction du NID de l'ordre de 10% (Aminot et Chaussepied, 1983). Ils proviennent soit d'une oxydation incomplète de l'ammonium (la nitrification n'étant pas conduite à son terme), soit d'une réduction des nitrates sous l'influence d'une action de dénitrification ou de minéralisation (Rodier *et al.*, 2005).

Ils ne représentent qu'un stade intermédiaire et sont facilement oxydés en NO_3^- , leur présence dans l'eau est donc rare et en faible quantité. Les NO_2^- peuvent être dangereux tant à court terme qu'à long terme, ils sont considérés comme des agents mutagènes potentiels vis-à-vis des organismes (Rejsek, 2002).



Les faibles concentrations en NO_2^- enregistrées dans notre étude s'expliqueraient par l'absence d'une pollution par cet élément, car selon [Rodier *et al.* \(2005\)](#), en l'absence de pollution, il n'y a pas ou très peu de NO_2^- dans les eaux, les concentrations se maintiennent à des niveaux très faibles (0.01 mg L^{-1}).

Nos résultats sont plus ou moins similaires comparés avec les travaux réalisés au niveau du golfe d'Annaba ([Ziouch, 2014](#) ; [Boutabia-Trea, 2016](#) ; [Amri *et al.*, 2017b](#)), du littoral algérois ([Bachari-Houma, 2009](#)) et du littoral oranais ([Rouane-Hacene, 2013](#)).

1. 2. 3. Ammonium (Ammo)

Les concentrations moyennes d'ammonium sont similaires dans l'ensemble des sites ([Tab. 23, Fig. 28](#)), elles sont de l'ordre de $2.24 \pm 0.54 \text{ } \mu\text{M}$ (Site 1) et de $3.92 \pm 0.75 \text{ } \mu\text{M}$ (Site 2). D'après le [tableau 24](#) et la [figure 28](#), les concentrations moyennes saisonnières de l'ammonium sont comprises entre $2.68 \pm 0.90 \text{ } \mu\text{M}$ au printemps et $4.28 \pm 2.35 \text{ } \mu\text{M}$ en été.

Tableau 23 : Description statistique des variables spatiales pour l'ammonium (μM).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	2.24	0.54	1.32	3.45
Site 2	3.92	0.75	2.60	5.85
Site 3	3.66	1.76	1.49	8.92

Tableau 24 : Description statistique des variables temporelles pour l'ammonium (μM).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	3.40	1.29	1.49	5.85
Hiver	2.74	0.45	1.91	3.45
Printemps	2.68	0.90	1.32	4.39
Été	4.28	2.35	1.32	8.92

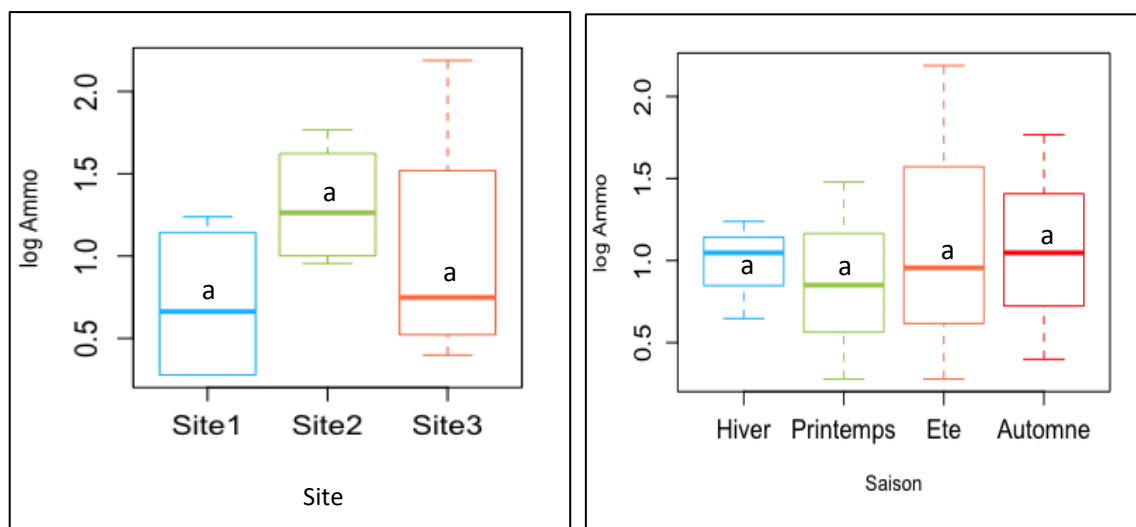


Figure 28 : Variation inter-sites et saisonnière de l’ammonium.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

L’application du test non paramétrique de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration de l’ammonium, a révélé l’absence de différences significatives entre les sites et les saisons.

Résultats du Test de Kruskal-Wallis de l’ammonium (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
Ammo	Inter-sites	$\chi^2 = 2.2949$	ddl= 2	p-value= 0.3174	n.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 0.3615$	ddl= 3	p-value= 0.9481	n.s.

n.s. indique une différence non significative ($p > 0.05$).

L’azote ammoniacale (NH_4^+) est assez souvent rencontré dans les eaux, il traduit habituellement un processus de dégradation incomplet de la matière organique, il peut avoir pour origine : la matière végétale des cours d’eau, la matière organique animale ou humaine et les rejets industriels (Rodier *et al.*, 1978).

Les ions ammonium interviennent à plusieurs niveaux dans le cycle de l’azote. Ils sont assimilés en tant que nutriments par les végétaux aquatiques (algues) et par certaines bactéries participant ainsi à leur prolifération. En outre, ces ions sont formés par dégradation de l’azote (Rodier, 2009).



Les résultats du dosage de l'ion ammonium montrent des différences non significatives à différentes périodes de l'année et d'un site à l'autre avec un maximum enregistré au site 2 et en été. Cette légère augmentation s'expliquerait par la dégradation de l'azote organique présent dans les eaux. Les faibles concentrations en ammonium enregistrées au printemps s'expliqueraient par le transfert rapide de la forme ammonium vers les nitrites et les nitrates par oxydation. Les fortes concentrations en O_2 enregistrées dans la même saison d'étude (printemps) favoriseraient la décroissance de la concentration en ammonium dans l'eau ; généralement la présence de NH_4^+ et NO_2^- dépend des conditions d'anaérobiose puisque en milieu faiblement oxygéné l' NH_4^+ domine par suite de la réduction des nitrates en nitrites (Seyni, 2006).

Il est important de souligner que les eaux des trois sites d'étude se caractérisent par de faibles fluctuations des concentrations en azote inorganique. Nos observations sont confortées par ceux de Bianchi *et al.* (2004) et ceux de Bernardi-Aubry et Acri (2004) qui ont signalé des variations faibles des concentrations en azote inorganique dans les écosystèmes méditerranéens.

1. 2. 4. Orthophosphates (Orth)

D'après le [tableau 25](#) et la [figure 29](#), nous notons que les concentrations en orthophosphates varient de $0.74 \pm 0.13 \mu M$ (Site 2) à $0.98 \pm 0.05 \mu M$ (Site 3).

Les valeurs moyennes en orthophosphates sont comprises dans un intervalle de $0.74 \pm 0.13 \mu M$ en hiver à $0.94 \pm 0.09 \mu M$ au printemps ([Tab. 26](#)).

Tableau 25 : Description statistique des variables spatiales pour les orthophosphates (μM).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	0.78	0.09	0.54	0.94
Site 2	0.74	0.13	0.51	1.12
Site 3	0.98	0.05	0.88	1.11



Tableau 26 : Description statistique des variables temporelles pour les orthophosphates (μM).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	0.85	0.10	0.65	0.95
Hiver	0.74	0.13	0.54	0.98
Printemps	0.94	0.09	0.81	1.12
Eté	0.82	0.17	0.51	1.11

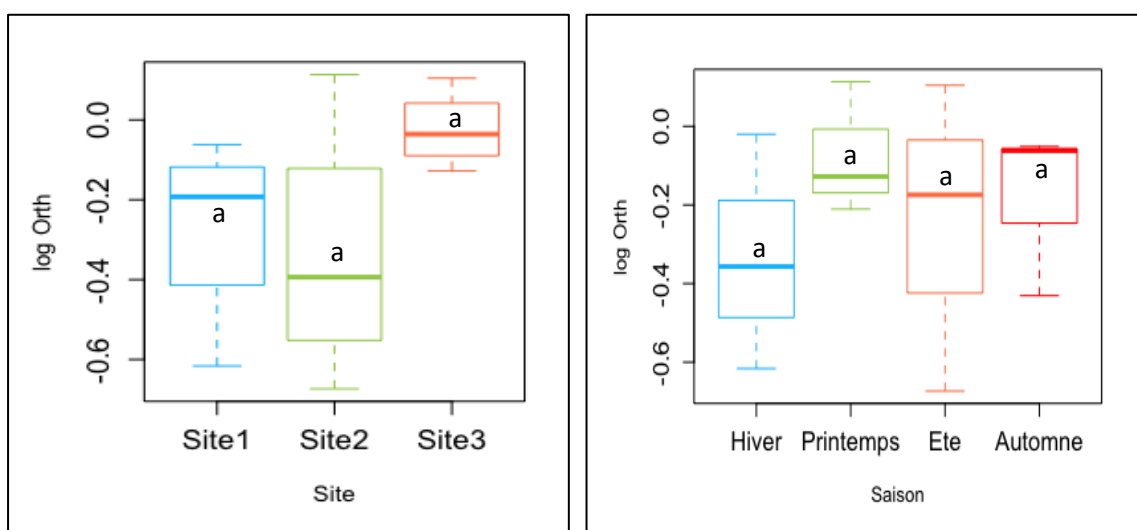


Figure 29 : Variation inter-sites et saisonnière des orthophosphates.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

L'application du test non paramétrique de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration des orthophosphates, a révélé l'absence de différences significatives entre les sites et les saisons.

Résultats du Test de Kruskal-Wallis des orthophosphates (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
Orth	Inter-sites	$\chi^2 = 3.5$	ddl = 2	p-value = 0.1738	n.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 0.89744$	ddl = 3	p-value = 0.826	n.s.

n.s. indique une différence non significative ($p > 0.05$).



Le phosphore présent dans les cours d'eau peut être subdivisé en fraction dissoute ($< 0.45 \mu\text{m}$) inorganique formée par les orthophosphates et polyphosphates inorganiques, et une fraction organique, à l'état colloïdal (Rodier *et al.*, 2005).

Les orthophosphates jouent un rôle dans la productivité aquatique (Bouchareb, 2013; Aminot et Kérouel, 2004a).

La minéralisation de la matière organique issue des algues et des macrophytes aquatiques morts représenterait l'origine endogène des apports en orthophosphates (Goldsborough et Robinson, 1996). Cet élément nutritif peut aussi avoir une origine exogène illustrée par le ruissellement des eaux de pluie sur le sol ; ces dernières draineraient ainsi les sels nutritifs issus de la minéralisation des végétaux terrestres (Thomas, 2000). Il convient aussi de rappeler l'importance de la contribution des apports anthropiques (rejets d'eaux usées etc.) dans le processus d'enrichissement des plans d'eau et leur eutrophisation.

Certains auteurs rapportent que l'enrichissement des eaux superficielles en phosphore peut être la conséquence de la remise en suspension des sédiments du fond par le vent, par le comportement fouisseur de certaines espèces de poissons ou par l'activité humaine (Havense, 1991 ; Mainstone *et al.*, 1993).

Dans les eaux de surface, le PO_4^{3-} est un facteur limitant ; son excès induit durant les périodes de réchauffement des eaux l'eutrophisation du milieu ; ce phénomène favoriserait une croissance accrue des végétaux supérieurs, des algues (chlorophycées), des diatomées et des cyanobactéries accompagnée le plus souvent de production de toxines (Levi, 2007).

Les orthophosphates montrent des concentrations légèrement élevées au printemps et dans le site 3 situé dans le golfe d'Annaba. Ceci s'expliquerait par l'importance des apports domestiques et surtout du fait qu'à cette période de l'année le brassage des eaux, sous l'action des vents qui sont parfois violents, permet un relargage important du phosphore à partir du sédiment. Comme le rapporte Despreaux (1990), les sédiments fins agiraient comme accumulateurs de cet élément dans les conditions oxydantes habituelles pour le relarguer en quantités importantes si le milieu devient réducteur.

Des constations similaires ont été rapportées par Frehi *et al.* (2007), Bachari-Houma (2009), Rouane-Hacene (2013), Boutabia-Trea (2016) et Amri *et al.* (2017b).



1. 2. 5. Matières en suspension (MES)

Les valeurs moyennes des MES sont de l'ordre de $28.32 \pm 1.55 \text{ mg L}^{-1}$ dans le site 2 et $34.00 \pm 2.48 \text{ mg L}^{-1}$ dans le site 1 (Tab. 27 et Fig. 30).

La période printanière est caractérisée par les moyennes de MES les plus basses avec $24.95 \pm 3.13 \text{ mg L}^{-1}$, alors que les valeurs moyennes les plus élevées sont relevées en période automnale avec $36.67 \pm 2.15 \text{ mg L}^{-1}$ (Tab. 28 et Fig. 30).

Tableau 27 : Description statistique des variables spatiales pour les MES (mg L^{-1}).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	34.00	2.48	27.71	39.43
Site 2	28.32	1.55	25.00	32.43
Site 3	28.43	4.17	18.71	38.14

Tableau 28 : Description statistique des variables temporelles pour les MES (mg L^{-1}).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	36.67	2.15	32.43	39.43
Hiver	30.81	3.16	25.00	35.86
Printemps	24.95	3.13	18.71	28.43
Eté	28.57	2.30	25.29	33.00

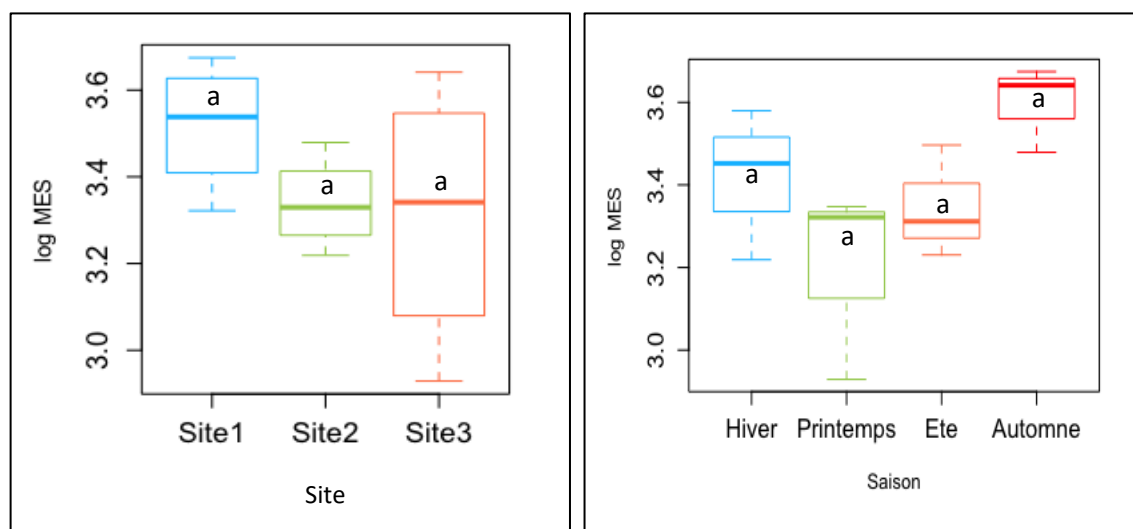


Figure 30 : Variation inter-sites et saisonnière des MES.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.



L'application du test non paramétrique de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration des MES, a révélé l'absence de différences significatives entre les sites et les saisons.

Résultats du Test de Kruskal-Wallis des MES (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
MES	Inter-sites	$\chi^2 = 2.9231$	ddl = 2	p-value = 0.2319	n.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 5.1538$	ddl = 3	p-value = 0.1609	n.s.

n.s. indique une différence non significative ($p > 0.05$).

Dans les eaux superficielles, les MES peuvent provenir soit des effets de l'érosion naturelle du bassin versant suite à de violentes précipitations, soit des rejets d'eaux résiduelles urbaines ou industrielles. Leurs effets sur les caractéristiques physicochimiques de l'eau sont très néfastes (modification de la turbidité des eaux, réduction de la transparence, de la lumière donc de la photosynthèse...). Ce paramètre, à un certain degré, est considéré comme limitant à la fluctuation et au développement de la faune benthique et même du peuplement ichtyologique.

En milieu côtier les MES sont le plus souvent liées aux apports continentaux de matériel solide, mais elles pourraient avoir pour origine des rejets urbains ou industriels chargés en particules, ou bien provenir de la remise en suspension, par la houle et les courants des marées, des dépôts sédimentaires et parfois en relation avec des poussées phytoplanctoniques intenses engendrées par les apports nutritifs continentaux (Aminot et Kérouel, 2004a).

Dakii (2003) a signalé que les fluctuations des concentrations en MES semblent être en relation avec les conditions climatiques et plus particulièrement l'abondance des précipitations qui sont à l'origine de lessivage des sols et d'importants apports allochtones.

L'analyse des résultats obtenus montrent que les eaux des trois sites ne sont pas trop chargées en MES car le terrain est sableux et la quantité de matière organique en décomposition n'est pas très importante, mais on remarque que les concentrations en MES présentent une légère augmentation au niveau du site 1 qui serait en relation avec la forte fréquentation de cette zone par les baigneurs qui remettent en suspension les particules sédimentaires accumulées dans le sédiment.



Aussi, les concentrations en MES présentent des fluctuations saisonnières non significatives ; les eaux apparaissent un peu moins chargées en MES au printemps, ceci s'expliquerait par le phénomène de dilution engendré par les crues (Neal *et al.*, 2000).

1. 2. 6. Chlorophylle "a" (Chla)

Les teneurs moyennes en Chlorophylle "a" ont permis d'enregistrer des valeurs comprises entre $1.07 \pm 0.45 \mu\text{g L}^{-1}$ (Site 2) et $2.80 \pm 1.69 \mu\text{g L}^{-1}$ (Site 1) (Tab. 29 et Fig. 31).

Concernant les résultats des concentrations moyennes saisonnières, ils oscillent de $0.53 \pm 0.26 \mu\text{g L}^{-1}$ en hiver à $5.64 \pm 2.10 \mu\text{g L}^{-1}$ en été (Tab. 30 et Fig. 31).

Tableau 29 : Description statistique des variables spatiales pour la Chlorophylle "a" ($\mu\text{g L}^{-1}$).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	2.80	1.69	0.82	7.84
Site 2	1.07	0.45	0.00	2.10
Site 3	1.91	1.91	0.00	7.64

Tableau 30 : Description statistique des variables temporelles pour la Chlorophylle "a" ($\mu\text{g L}^{-1}$).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	0.56	0.56	0.00	1.69
Hiver	0.53	0.26	0.00	0.84
Printemps	0.97	0.61	0.00	2.10
Eté	5.64	2.10	1.43	7.84

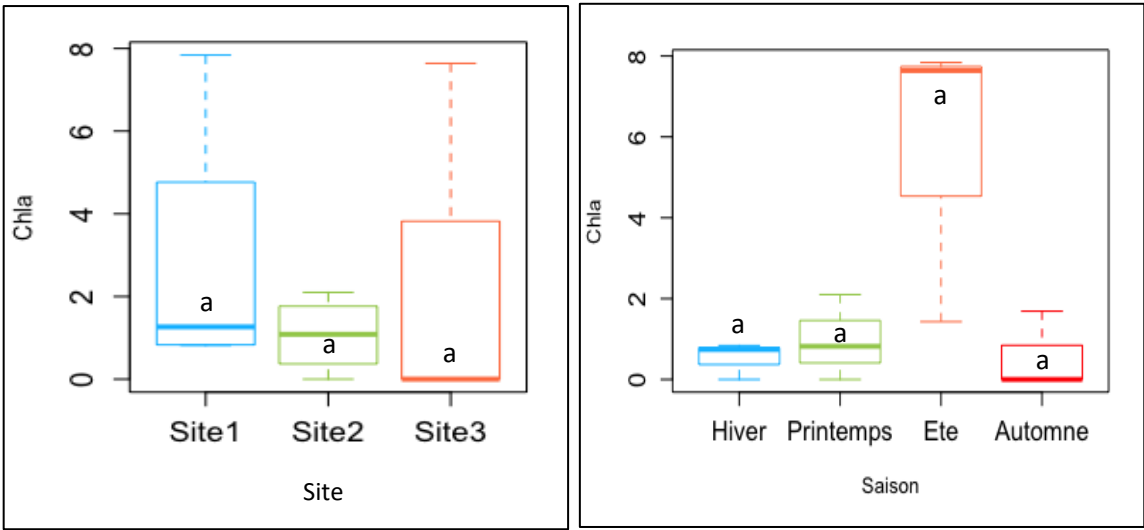


Figure 31 : Variation inter-sites et saisonnière de la chlorophylle "a".

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

L'application du test non paramétrique de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration de la chlorophylle "a", a révélé l'absence de différences significatives entre les sites et les saisons.

Résultats du Test de Kruskal-Wallis de la chlorophylle "a" (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
Chla	Inter-sites	$\chi^2= 2.4013$	ddl= 2	p-value= 0.301	n.s.
	Inter-saisons	$\chi^2= 5.0085$	ddl= 3	p-value=0.1712	n.s.

n.s. indique une différence non significative ($p > 0.05$).

Selon [Izaguirre et al. \(2001\)](#), la teneur en chlorophylle "a" et les fluctuations relevées sont fortement influencées par la température et l'intensité lumineuse. Aussi, la variation de la concentration de la chlorophylle "a" dans l'eau de mer suit la présence de nutriment. Les rejets urbains et d'autres activités anthropiques peuvent accroître la charge des eaux côtières en particules en suspension, en nutriments et en matière organique dissoute ou particulaire. A leur tour, les nutriments et la matière organique provoquent la prolifération des organismes planctoniques. Au total, la transparence de l'eau s'en trouve réduite ([Boudouresque, 2006](#)).



Le contenu en chlorophylle constitue une mesure sensible de la quantité d'organismes photosynthétiques et d'algues et, en ce sens, du degré d'eutrophisation de l'eau.

Les valeurs les plus élevées sont enregistrées pendant la période estivale ; cette situation témoigne de la prolifération de certaines espèces phytoplanctoniques et d'une production importante d'algues à partir de l'énergie du rayonnement solaire et des éléments nutritifs (azote et phosphore). Les faibles teneurs enregistrées en période hivernale seraient en relation avec les basses températures, l'importance des apports en eau (fortes crues) et la dilution qui affectent les communautés phytoplanctoniques (Garcia De Emilliani, 1997 ; Huszar et Reynolds, 1997).

1. 3. Niveau d'eutrophisation

La variation de la quantité de l'azote inorganique dissous (NID) dans les trois sites d'étude est représentée dans la figure 32. Les résultats obtenus ont permis de constater que les valeurs les plus élevées ont été retrouvées en hiver.

Le site 3 présente des concentrations élevées en azote inorganique dissous avec un caractère eutrophe durant trois saisons (Hiver, printemps et été). En revanche le site 1 est caractérisé par un niveau trophique stable (mésotrophe) durant toute la période d'étude.

En ce qui concerne le site 2, il présente un caractère mésotrophe durant l'automne et l'été et un caractère eutrophe en hiver et au printemps.

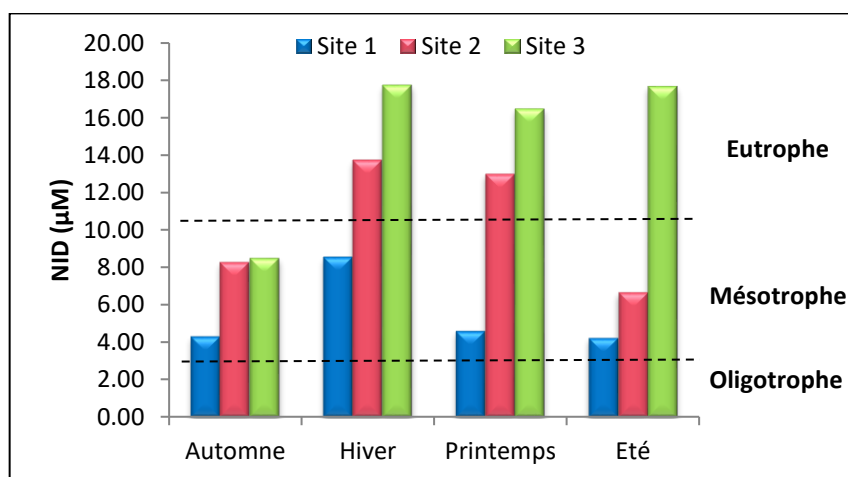


Figure 32 : Niveau trophique de l'eau des trois sites d'étude.



Le niveau trophique de chaque site d'échantillonnage a été évalué à l'aide de l'échelle [Wasmund et al. \(2001\)](#), les résultats obtenus ont indiqué que les eaux côtières du golfe d'Annaba ne sont pas satisfaisantes, l'eutrophisation est plus marquée au niveau du site S3, par rapport aux autres sites, durant toute la période d'étude. Ceci a été démontré aussi par [Ziouch \(2014\)](#), qui a indiqué de grandes quantités de NID en hiver, il en est de même pour [Frehi et al. \(2007\)](#) et [Amri \(2018\)](#) qui ont révélé un état d'eutrophisation au niveau du golfe d'Annaba.

1. 4. Éléments traces métalliques (ETM) dans l'eau

1. 4. 1. Cuivre (Cu.e)

Les concentrations moyennes en Cu dans l'eau varient entre $0.14 \pm 0.00 \text{ mg L}^{-1}$ (Site 2) et $0.16 \pm 0.00 \text{ mg L}^{-1}$ (Site 1) ([Tab. 31](#) et [Fig. 33](#)). C'est en période hivernale que les concentrations moyennes les plus élevées sont notées avec $0.16 \pm 0.00 \text{ mg L}^{-1}$; les concentrations printanières étant les plus basses avec $0.14 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$ ([Tab. 32](#) et [Fig. 33](#)).

Tableau 31 : Description statistique des variables spatiales pour Cu.e (mg L^{-1}).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	0.16	0.00	0.14	0.17
Site 2	0.14	0.00	0.12	0.16
Site 3	0.15	0.00	0.14	0.16

Tableau 32 : Description statistique des variables temporelles pour Cu.e (mg L^{-1}).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	0.15	0.00	0.14	0.17
Hiver	0.16	0.00	0.13	0.17
Printemps	0.14	0.01	0.12	0.16
Été	0.15	0.00	0.14	0.16

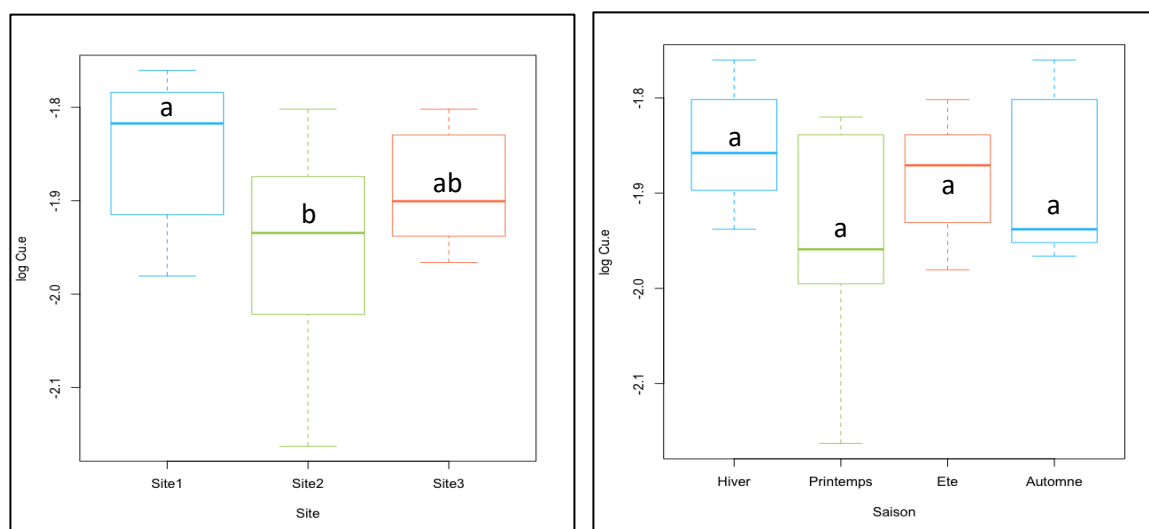


Figure 33 : Variation inter-sites et saisonnière du Cu dans l'eau.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

Le test de Kruskal-Wallis indique qu'il y a une différence significative entre les moyennes de la concentration du Cu dans l'eau enregistrées dans les sites d'étude et une absence de différences significatives entre les saisons.

Le test de Dunn nous permet de grouper les trois sites en trois groupes "a", "b" et "ab" correspondant au site 1, site 2 et site 3, respectivement (Fig. 33).

Résultats du Test de Kruskal-Wallis du Cu.e (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
Cu.e	Inter-sites	$\chi^2 = 7.2762$	ddl = 2	p-value = 0.0263	d.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 3.2056$	ddl = 3	p-value = 0.361	n.s.

d.s. indique une différence significative ($p < 0.05$) et **n.s.** une différence non significative ($p > 0.05$).

1. 4. 2. Zinc (Zn.e)

Les concentrations moyennes en Zn relevées dans les eaux des trois sites sont comprises entre $0.01 \pm 0.00 \text{ mg L}^{-1}$ (Site 3) et $0.02 \pm 0.00 \text{ mg L}^{-1}$ (Site 1 et Site 2) (Tab. 33 et Fig. 34). Les concentrations moyennes atteignent leurs valeurs maximales en période hivernale avec $0.03 \pm 0.00 \text{ mg L}^{-1}$ (Tab. 34 et Fig. 34).



Tableau 33 : Description statistique des variables spatiales pour Zn.e (mg L⁻¹).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	0.02	0.00	0.01	0.04
Site 2	0.02	0.00	0.01	0.04
Site 3	0.01	0.00	0.00	0.02

Tableau 34 : Description statistique des variables temporelles pour Zn.e (mg L⁻¹).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	0.01	0.00	0.01	0.02
Hiver	0.03	0.00	0.02	0.04
Printemps	0.01	0.00	0.01	0.02
Eté	0.01	0.00	0.00	0.01

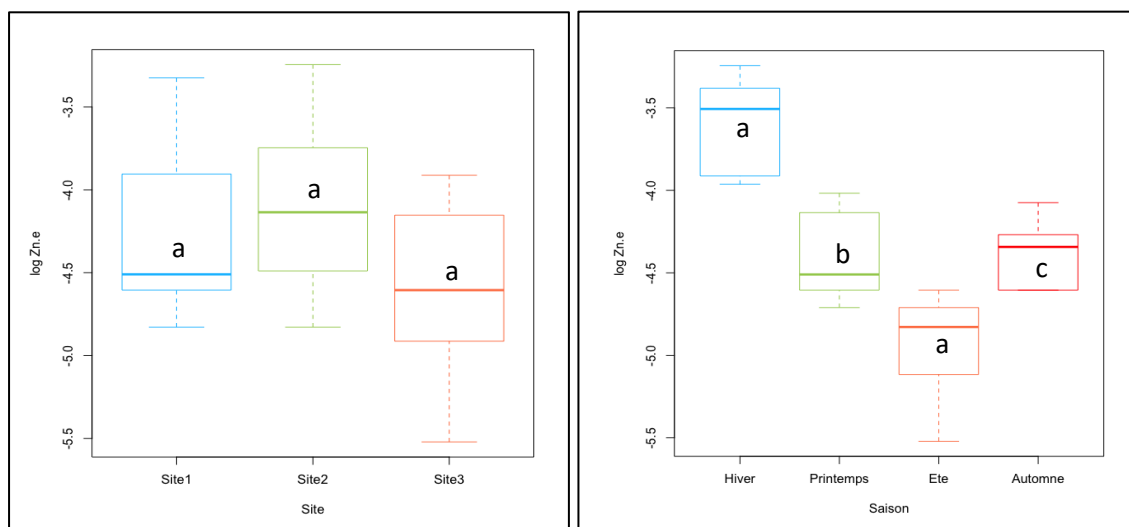


Figure 34 : Variation inter-sites et saisonnière du Zn dans l'eau.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

Le test de Kruskal-Wallis indique qu'il n'existe pas une différence significative entre les moyennes de la concentration du Zn dans l'eau enregistrées dans les sites d'étude et une présence de différences significatives entre les saisons.



Le test de Dunn nous permet de classer les saisons en trois groupes : le groupe "a" rassemble l'hiver et l'été, le groupe "b" inclut le printemps et le groupe "c" qui correspond à l'automne (Fig. 34).

Résultats du Test de Kruskal-Wallis du Zn.e (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
Zn.e	Inter-sites	$\chi^2 = 3.6726$	ddl= 2	p-value= 0.1594	n.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 28.299$	ddl= 3	p-value= 3.143×10^{-6}	d.s.

d.s. indique une différence significative ($p < 0.05$) et **n.s.** une différence non significative ($p > 0.05$).

1. 4. 3. Chrome (Cr.e)

Les concentrations moyennes en Cr rencontrées dans les eaux des sites d'échantillonnage varient de $0.07 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$ (Site 2) à $0.09 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$ (Site 3) (Tab. 35 et Fig. 35). C'est en période estivale que les concentrations moyennes en Cr sont les plus élevées avec $0.09 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$ (Tab. 36 et Fig. 35).

Tableau 35 : Description statistique des variables spatiales pour Cr.e (mg L^{-1}).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	0.08	0.01	0.06	0.10
Site 2	0.07	0.01	0.03	0.09
Site 3	0.09	0.01	0.08	0.11

Tableau 36 : Description statistique des variables temporelles pour Cr.e (mg L^{-1}).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	0.08	0.01	0.06	0.10
Hiver	0.08	0.01	0.06	0.10
Printemps	0.07	0.02	0.03	0.11
Eté	0.09	0.01	0.08	0.10

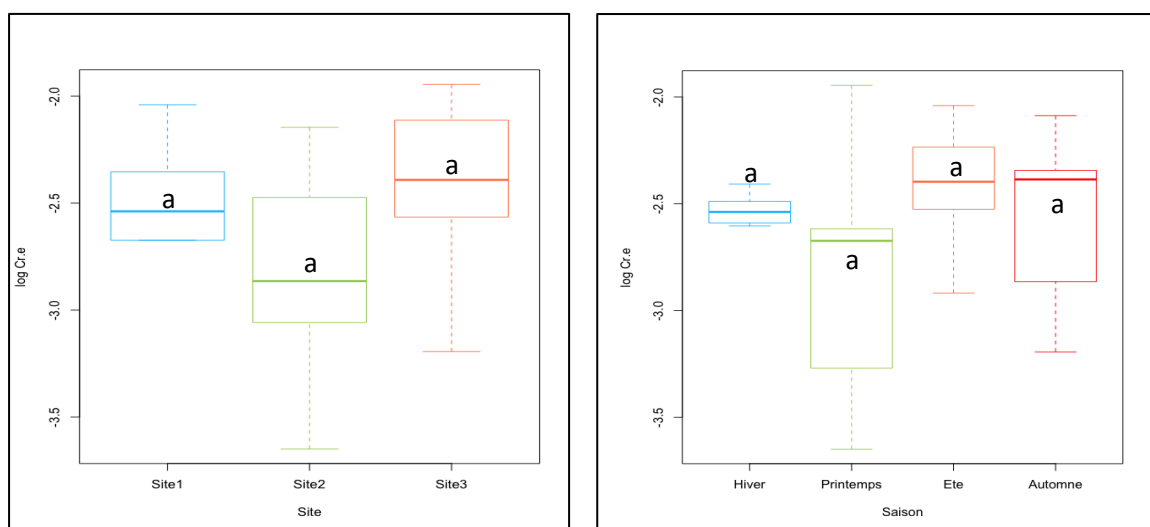


Figure 35 : Variation inter-sites et saisonnière du Cr dans l'eau.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

Le test de Kruskal-Wallis indique qu'il n'existe pas de différences significatives entre les sites d'étude ainsi que les saisons.

Résultats du Test de Kruskal-Wallis du Cr.e (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
Cr.e	Inter-sites	$\chi^2 = 5.1307$	ddl= 2	p-value= 0.08	n.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 3.5865$	ddl= 3	p-value= 0.31	n.s.

n.s. indique une différence non significative ($p > 0.05$).

Tableau 37 : Ordre d'enrichissement des sites d'étude pour chaque ETM dans l'eau.

ETM	Ordre d'enrichissement
Cu	Site 1 > Site 3 > Site 2
Zn	Site 2 > Site 1 > Site 3
Cr	Site 3 > Site 1 > Site 2

Tableau 38 : Ordre d'enrichissement des ETM de l'eau dans les sites d'étude.

Sites	Ordre d'enrichissement
Site 1	Cu > Cr > Zn
Site 2	Cu > Cr > Zn
Site 3	Cu > Cr > Zn



L'analyse des ETM dosés dans les eaux de surface des trois sites d'échantillonnage a fait apparaître que sur les cinq éléments recherchés, trois (Cu, Zn et Cr) sont présents alors que les deux autres (Cd et Pb) sont inférieurs à la limite de détection ($\text{Cd} = 0.028 \text{ mg L}^{-1}$, $\text{Pb} = 0.45 \text{ mg L}^{-1}$, respectivement).

Compte tenu des concentrations en ETM dans l'eau, il est possible d'établir les ordres d'enrichissement des sites pour chaque ETM (Tab. 37) et celui pour les différents ETM dans les différents sites d'étude (Tab. 38). L'ordre d'enrichissement de ces ETM est identique pour les trois sites en plaçant le Cu en première position suivi du Cr puis le Zn. Cet enrichissement en ETM aurait pour origine les nombreux émissaires d'eaux usées des agglomérations environnantes sans aucun traitement préalable, dont le littoral d'El-Kala et surtout le golfe d'Annaba sont les réceptacles. En effet, le Cu et le Zn sont des ETM caractéristiques d'une pollution de type urbain (Bennasser *et al.*, 2000 ; El Morhit *et al.*, 2008). Aussi, l'utilisation d'embarcations motorisées par les pêcheurs, à longueur d'année et celles de jet ski en période estivale et automnale pourraient être à l'origine d'enrichissement des eaux en ETM. Il est, en effet, rapporté que les carburants contiennent des ETM (Calamari et Naeve, 1994).

Belabed (2010) signale que le Cu est fortement présent dans le sédiment de beaucoup de sites dans le golfe d'Annaba, ce qui suggérerait que la source principale en cet élément est tellurique et serait liée à la géologie du sol de cette partie du littoral. En zone méditerranéenne, l'importance du ruissellement et de l'érosion est susceptible d'augmenter les transferts des produits phytosanitaires à base de Cu vers les eaux superficielles.

Dans le cas de notre zone d'étude, les principales sources naturelles d'exposition seraient les poussières de sol, les décompositions végétales et les feux de forêts. En plus les principales sources anthropiques seraient l'industrie des métaux, l'incinération d'ordures ménagères, la combustion de charbon, d'huile et d'essence et aux rejets industriels (usine de la fabrication des fertilisants "FERTIAL").

Concernant le Zn, il proviendrait naturellement à partir du transport par le vent de particules du sol et des feux de forêts. Mais en ce qui concerne les apports anthropiques, ils résulteraient des épandages agricoles (alimentation des animaux, lisiers), des activités urbaines (trafic routier, incinération des ordures), alors que le Cr est utilisé par plusieurs industries (couleurs et laques, films de photographie, galvanisation, bois, corrosion, cuir, pharmacie, textile, allumettes ...).



Les sources potentielles de cette contamination par le Cr seraient en relation avec les eaux usées qui se déversent dans le golfe d'Annaba. Gharsallah (2002) a signalé la présence du Cr dans le sédiment du golfe d'Annaba.

Belabed *et al.* (2013b) et Boutabia-Trea (2016) ont révélé la présence de ces trois ETM dans le sédiment du golfe d'Annaba. L'enrichissement en ETM au cours de la saison humide et pluvieuse aurait pour principale origine l'augmentation des charges polluantes métalliques dans les eaux de ruissellement des premières crues.

2. Etude de la corrélation linéaire simple entre les variables

Nous avons calculé les coefficients de corrélation linéaire simple de Spearman "r" entre les 15 variables prises deux à deux pour l'ensemble des trois sites. Il est à noter que ces coefficients de corrélations mesurent l'intensité de la relation linéaire existant entre les variables prises 2 à 2. Les résultats de cette analyse sont présentés dans le tableau 39 et la figure 36.

Tableau 39 : Analyse de corrélation de Spearman des données saisonnières entre les paramètres physicochimiques chez *S. haemastoma* des trois sites d'étude.

	T _{air}	T	pH	Sal	Oxy	Cond	Nitra	Nitri	Ammo	Orth	MES	Chla	Cu.e	Zn.e	Cr.e
T _{air}	1														
T	0.87	1													
pH	-0.10	-0.11	1												
Sal	0.07	-0.15	0.46	1											
Oxy	-0.26	-0.38	0.17	0.33	1										
Cond	0.15	-0.19	0.32	0.89	0.18	1									
Nitra	-0.41	-0.46	-0.17	0.18	0.29	0.01	1								
Nitri	0.03	0.20	-0.06	-0.19	0.19	-0.53	0.17	1							
Ammo	0.09	0.15	0.39	-0.03	-0.17	0.05	0.03	-0.22	1						
Orth	0.00	0.05	-0.25	0.36	0.09	0.23	0.40	0.17	0.07	1					
MES	0.13	0.05	0.11	0.31	-0.29	0.54	-0.59	-0.66	-0.12	0.03	1				
Chla	0.14	0.51	0.14	-0.21	-0.18	-0.41	-0.33	0.25	0.18	0.16	0.08	1			
Cu.e	-0.03	0.01	0.59	0.34	0.53	0.19	-0.13	-0.16	-0.07	-0.33	0.10	0.19	1		
Zn.e	-0.70	-0.80	-0.01	-0.16	0.00	0.06	0.19	-0.50	0.11	-0.13	0.16	-0.37	-0.22	1	
Cr.e	0.19	0.11	0.28	0.54	0.42	0.31	0.11	0.07	-0.47	0.04	0.02	-0.06	0.68	-0.41	1

Surbrillance jaune : Différence significative à p < 0.05.

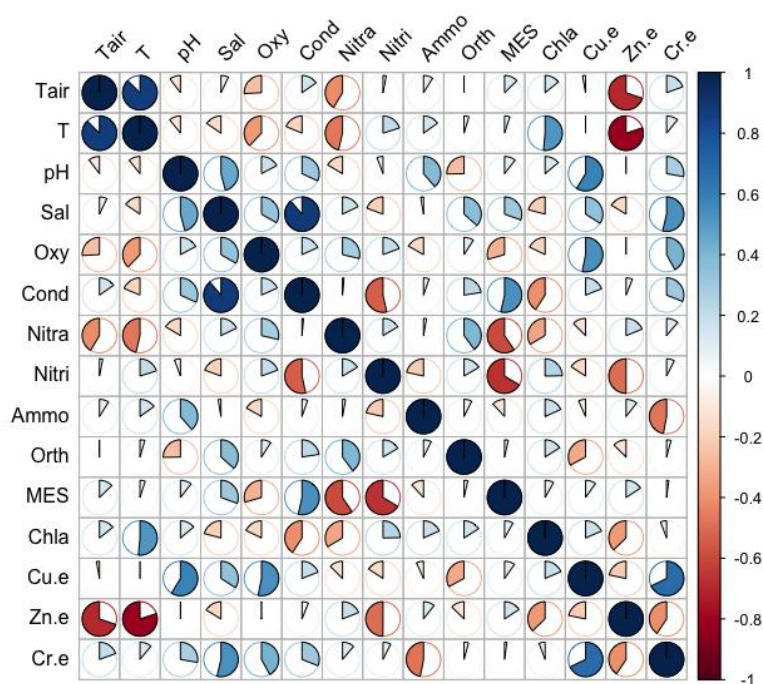


Figure 36 : Corrélogramme présentant les corrélations entre les 15 paramètres physicochimiques de l'eau pour l'ensemble des trois sites.

Couleur bleue : corrélation positive ; couleur rouge : corrélation négative ; absence de couleur : corrélation non significative.

L'examen de la matrice de corrélations (Fig. 36) nous indique clairement que la Température de l'eau (T) est positivement corrélée avec la Température de l'air (T_{air}) ($r = 0.87$). Les températures moyennes des eaux des trois sites suivent, en général, celle de l'air qui dépend du climat du type méditerranéen, avec un minimum en hiver et un maximum en été.

Aussi la salinité est positivement corrélée (forte corrélation : $r = 0.89$) avec la conductivité.

Par contre le Zn.e est négativement corrélée avec la T_{air} et la T ($r = -0.70$, $r = -0.80$, respectivement). De plus il est à signaler que les MES sont négativement corrélées avec les nitrates et les nitrites ($r = -0.59$, $r = -0.66$, respectivement).

Les résultats nous révèlent aussi que le Cu.e est positivement corrélée avec le pH et Cr.e ($r = 0.59$, $r = 0.68$, respectivement). L'existence d'une corrélation importante entre le Cu et le Cr montre qu'il existe une grande affinité chimique entre ces deux ETM dans l'eau, et leur processus d'accumulation pourrait être la conséquence des rejets d'eaux usées.



Partie 2 : Analyse des indices de condition

1. Variations saisonnières

Le **tableau 40** présente les résultats des variations saisonnières de l'ensemble des indices physiologiques des individus échantillonnés dans les trois sites durant les quatre saisons.

Pour l'IC, la principale différence, qui est significative, est observée entre l'automne et la période hivernale. En effet, la variation saisonnière de l'IC montre une augmentation significative en hiver et en été et une diminution significative en automne et au printemps, alors que pour l'ICL les valeurs les plus faibles sont enregistrées au printemps avec des valeurs moyennes légèrement élevées et stables pendant le reste des saisons.

Tableau 40 : Description statistique des variables pour les 4 saisons.

Variable	Saison	Moyenne	se	Min	Max
IC	Automne	22.86	5.72	10.94	30.23
	Hiver	28.26	4.10	19.16	33.83
	Printemps	24.99	3.64	18.82	32.51
	Eté	26.09	7.53	14.66	42.66
ICL	Automne	0.01	0.00	0.00	0.01
	Hiver	0.01	0.00	0.00	0.01
	Printemps	0.00	0.00	0.00	0.01
	Eté	0.01	0.00	0.00	0.01
IHS	Automne	15.89	3.57	10.66	20.45
	Hiver	16.69	3.99	10.56	25.53
	Printemps	16.87	4.58	10.16	23.80
	Eté	16.91	4.43	10.91	26.84



Durant la saison froide, les conditions environnementales semblent être particulièrement favorables pour permettre une bonne croissance de ces individus, les eaux pourraient être enrichies massivement en cette période de crues par des éléments nutritifs provenant des eaux des estuaires et transportés par les courants littoraux. Des travaux ont montré qu'en cette saison, les eaux pouvaient être caractérisées par une concentration maximale en biomasse planctonique (Dufour et Merles, 1972 ; Benali *et al.*, 2015) dont les bivalves se nourrissent et ces derniers servent de nourriture à notre espèce.

Bodin *et al.* (2004) ont constaté dans leur étude une variation saisonnière de ces indices. En effet, nos résultats relatifs à la variation de cet indice sont comparables à ceux obtenus par Khati Hadj Moussa (2009) chez *Perna perna* ; Rouane-Hacene *et al.* (2015) et Amri *et al.* (2017a) chez *Paracentrotus lividus* ont révélé une variation saisonnière de l'IC.

En général les indices de condition sont de bons descripteurs de la croissance et la physiologie des organismes marins et leurs variations dépendent de facteurs saisonniers comme la température (Roméo *et al.*, 2003), la disponibilité de la nourriture, la qualité de l'alimentation, etc. (Mougraud *et al.*, 2002 ; Roméo *et al.*, 2003 ; Damiens *et al.*, 2007).

Les valeurs légèrement élevées de l'IC et de l'ICL en hiver et en été soulignent une augmentation du poids somatique au cours de ces deux saisons. Cela pourrait être lié à l'augmentation de la disponibilité des nutriments. En effet, Roméo *et al.* (2003) et Benali *et al.*, (2015) ont rapporté dans leurs travaux sur les moules que les valeurs élevées de l'IC et de l'ICL au printemps pourrait être lié à l'augmentation de la disponibilité des nutriments pendant le bloom phytoplanctonique printanier, qui a eu lieu pendant Avril-mai dans l'ouest de la Méditerranée. Taleb *et al.* (2006) confirment ce fait dans leur étude sur la côte ouest algérienne.

Cependant la variation saisonnière des indices de condition est également régie par d'autres facteurs, tel que le cycle de reproduction. En effet, Okumus et Stirling (1998) et Roméo *et al.* (2003) ont rapporté qu'une diminution de l'IC peut être la conséquence d'une plus faible abondance en nutriments ou à une gamétogenèse possible. Une relation étroite a été également signalée entre le stade de gamétogenèse, l'indice de condition et le cycle de stockage et de consommation de réserves énergétiques (Okumus et Stirling, 1998). Ceci mis en évidence la sensibilité de cet indice vis-à-vis non seulement des facteurs extrinsèques mais également des facteurs intrinsèques étroitement liés à la physiologie de l'organisme.



Dans ce sens, [Lasiak \(1986\)](#), [Lasiak et Barnard \(1995\)](#), [Mc Quaid et Lawrie \(2005\)](#) ont conclu que d'une manière générale, des indices élevés correspondent aux périodes de maturation de la gonade précédant l'émission des gamètes et à la période d'accumulation de réserves ; et la diminution de l'IC coïncide avec les périodes d'émission de gamètes; ces même auteurs indiquent que les périodes de ponte chez *P. perna* sont très variables d'un mois à un autre et d'une année à une autre. D'autres auteurs expliquent la baisse de cet indice soit suite à de mauvaises conditions trophiques soit suite à une ponte qui a engendré un amaigrissement ([Dorange et al., 1989](#) ; [Paulet et al., 1992](#) ; [Barillé, 1996](#)).

[Belhaouari et al. \(2011\)](#) ont révélé aussi que les indices de condition les plus élevés d'*Osilinus turbinatus* ont été observés en hiver et ils ont conclu que la baisse de l'IC à la saison estivale peut être due à la période de ponte chez la même espèce.

Selon [Hickman \(1992\)](#), [Schmidt et al. \(2013\)](#) et [Benali et al. \(2015\)](#), une baisse saisonnière significative de l'IC est liée à l'évènement de la ponte. En plus [Bhaby et al. \(2014\)](#) ont également constaté un taux élevé de maturité des gonades qui se réfère à une ponte maximale et que cette étape coïncide avec l'effondrement de l'IC.

Certains auteurs ont signalé, qu'à la ponte, les mollusques perdent une grande quantité de réserves nutritives ayant intensivement servis à cet effet ([Bryan, 1973](#) ; [Cossa et al., 1980](#) ; [Metayer et al., 1985](#) ; [Amiard et al., 2008](#)).

Ces résultats nous laissent également pronostiquer qu'il existe deux évènements de frai par an chez notre espèce *S. haemastoma*, le premier au cours du printemps et le second à la fin de la période estivale soit la période été/automne. [Schmidt et al. \(2013\)](#) ont observé la même tendance dans le cycle de reproduction chez la moule *Mytilus galloprovincialis* au niveau de la côte Galway, Irlande.

Par ailleurs, nous observons une légère augmentation de l'IHS durant l'hiver, le printemps et l'été ([Tab. 40](#)). Les changements des valeurs de l'IHS sont généralement utilisés pour estimer les besoins en énergie des individus se traduisant par l'intensité de la prise de nutriments. Par conséquent, [Benali et al. \(2015\)](#) ont montré que l'augmentation de l'effort de collecte des éléments nutritifs peut être liée à une diminution de la masse de tissu des moules et de la période de la maturation sexuelle et la ponte.



2. Variations inter-sites

Les résultats des variations inter-sites de l'ensemble des indices de condition sont présentés dans le [tableau 41](#).

La comparaison inter-site de l'IC présente des valeurs généralement plus élevées dans le site 3 par rapport aux deux autres sites.

Ainsi les valeurs de l'IC se présentent selon l'ordre suivant : site 3 > site 1 > site 2.

Tableau 41 : Description statistique des variables pour les 3 sites.

Variable	Site	Moyenne	se	Min	Max
IC	1	25.38	3.20	18.50	32.13
	2	23.79	4.44	14.66	33.65
	3	27.48	7.94	10.94	42.66
ICL	1	0.01	0.00	0.00	0.01
	2	0.01	0.00	0.00	0.01
	3	0.01	0.00	0.00	0.01
IHS	1	15.59	3.08	10.66	22.88
	2	16.44	3.95	10.16	23.47
	3	17.74	4.92	10.56	26.84

Ces résultats peuvent être liés à la présence de matière organique (MO) dans ce site qui représente le golfe d'Annaba. En effet, comme décrit précédemment, des émissaires sont situés au niveau de ce golfe. Cette présence de MO peut conduire à l'élévation de la masse charnelle.

[Benali et al. \(2015\)](#) ont montré que l'IC et l'ICL sont élevés chez la population de moules impactée du site portuaire par rapport à la population de référence. [Schiedek et al. \(2006\)](#) ont observé le même phénomène chez *Mytilus galloprovincialis* du port de Wismar (Sud-Ouest de la mer Baltique). En effet, au niveau des sites pollués, les polluants chimiques peuvent entraîner une altération au niveau cellulaire ([Amiard et al., 2008](#)). Par ailleurs, le déversement de la MO charriée par les eaux urbaines issues des émissaires constitue un apport énergétique important et peut même augmenter l'indice de condition ([Roméo et al., 2003](#)).



Selon [Amiard et al., \(2008\)](#), après une exposition chronique, quelques espèces peuvent acquérir une tolérance à certains polluants. Ces derniers investissent de l'énergie dans des mécanismes de défense, de réparation et de régénération des cellules.

3. Résultats du Test de Kruskal-Wallis (Comparaison inter-sites et inter-saisons)

Les résultats du test Kruskal-Wallis ([Tab. 42](#)) relatifs à la comparaison des variables pour les deux facteurs : « site » et « saison » montrent qu'il existe des différences significatives inter-sites ($p < 0.05$) pour la variable IC seulement ; et des différences significatives d'une saison à une autre ($p < 0.05$) pour les deux variables IC et ICL, ceci nous conduit à dire qu'il existerait un effet direct ou indirect des conditions climatiques et/ou autres conditions environnementales sur la variation des paramètres mesurés. Cependant, les résultats de l'IHS ont révélé une absence de significativité.

Concernant l'IC, le test de Dunn nous permet de classer les sites en trois groupes "ab", "a" et "b" correspondant au site 1, site 2 et site 3, respectivement. Ce test révèle aussi que les saisons sont divisées en trois groupes : le groupe "a" inclut l'automne, le groupe "b" correspond à l'hiver et le groupe "ab" rassemble le printemps et l'été ([Fig. 37](#)).

Pour l'ICL, le test de Dunn permet la classification des saisons en trois groupes : le groupe "a" représente l'hiver, le groupe "b" inclut le printemps et le groupe "ab" rassemble l'automne et l'été ([Fig. 38](#)).

Tableau 42 : Comparaison inter-sites et inter-saisons des indices de condition.

Variable	Comparaison				
IC	Inter-sites	$\chi^2= 5.9965$	ddl= 2	p-value= 0.04987	d.s.
	Inter-saisons	$\chi^2= 9.0512$	ddl= 3	p-value= 0.02862	d.s.
ICL	Inter-sites	$\chi^2= 1.9589$	ddl= 2	p-value= 0.3755	n.s.
	Inter-saisons	$\chi^2= 13.515$	ddl= 3	p-value= 0.003646	d.s.
IHS	Inter-sites	$\chi^2= 2.296$	ddl= 2	p-value= 0.3173	n.s.
	Inter-saisons	$\chi^2= 0.36803$	ddl= 3	p-value= 0.9468	n.s.

d.s. indique une différence significative ($p < 0.05$) et **n.s.** une différence non significative ($p > 0.05$)

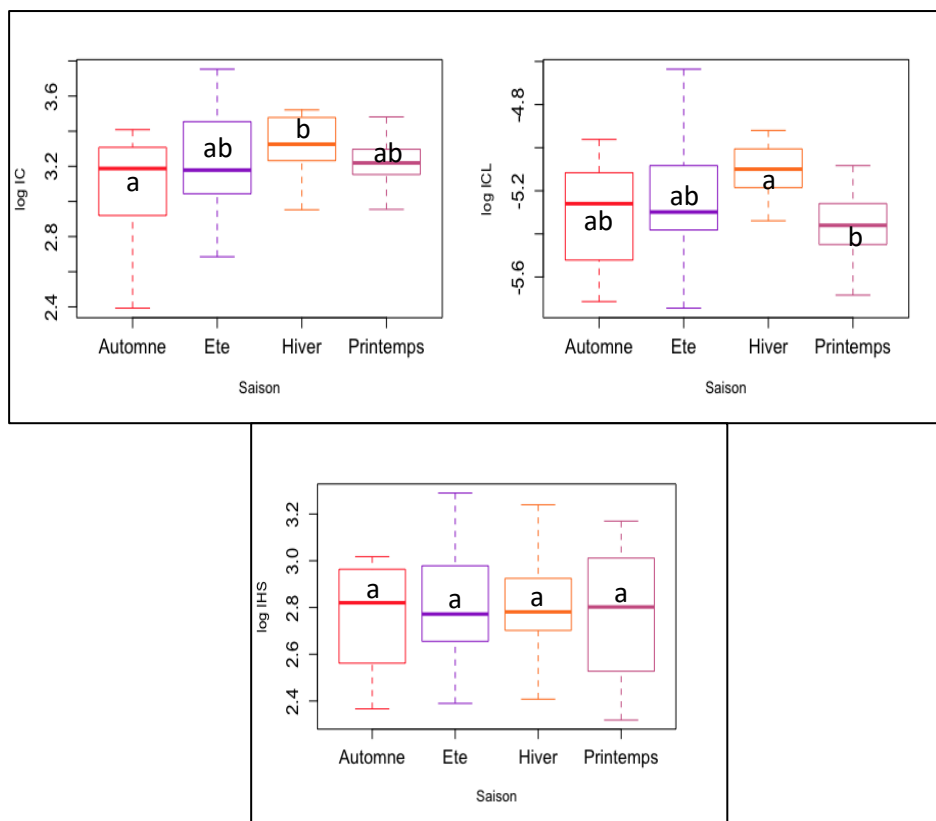


Figure 37 : Variation saisonnière des indices de condition.

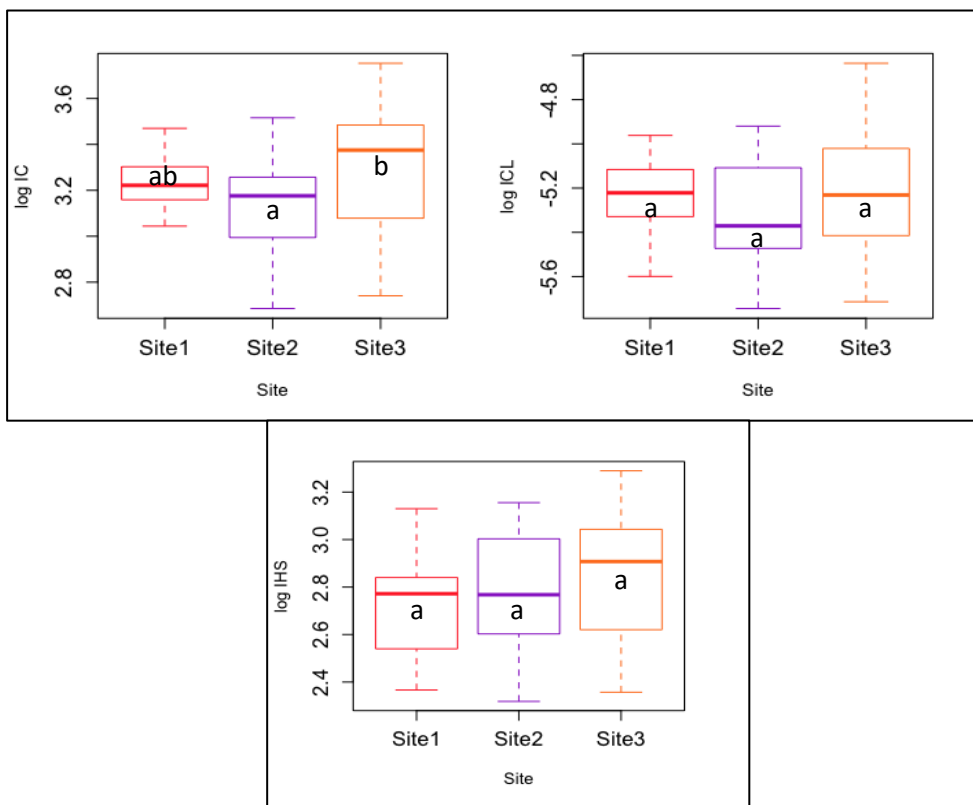


Figure 38 : Variation inter-sites des indices de condition.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.



Le suivi des variations des indices de condition nous a permis d'évaluer l'état de santé des individus provenant des trois sites d'étude. Toutefois, bien que la variation des IC des organismes marins soit généralement attribuée à des changements dans la disponibilité en nourriture ou du cycle de gamétogénèse (Fernandez et Caltagirone, 1990), elle peut aussi être associée à des épisodes de stress chimiques qui impliquent une perte de poids des tissus des organismes marins, liée à une mobilisation des réserves énergétiques pour leur détoxification (Soualili *et al.*, 2008).

Un certain nombre d'auteurs ont observé que différentes espèces de bivalves exposés à des pollutions environnementales pouvaient présenter un IC relativement faible témoignant d'une croissance lente (Strömberg, 1982 ; Salazar et Salazar, 1991 ; Soto *et al.*, 2000 ; Peteiro *et al.*, 2006 ; Turja, 2015 ; Gherras Touahri *et al.*, 2016).

Plusieurs autres études menées sur l'effet de polluants sur l'indice de condition chez les organismes marins ont montré une diminution de celui-ci notamment avec la pollution par les ETM (Avery *et al.*, 1996 ; Riedel *et al.*, 1998). Néanmoins, de multiples facteurs pouvant affecter cet indice, il faut donc le considérer avec une certaine précaution en écotoxicologie (Gilliers *et al.*, 2004).

4. Corrélation linéaire simple entre les différents indices de condition

Nous avons calculé les coefficients de corrélation linéaire simple de Spearman "r" entre les trois variables prises deux à deux pour l'ensemble des trois sites durant les quatre saisons. Les résultats de cette analyse sont présentés dans le Tableau 43 et la figure 39.

Tableau 43 : Analyse de corrélation de Spearman des données saisonnières entre les paramètres physiologiques chez *S. haemastoma* des trois sites d'étude.

	IC	ICL	IHS
IC	1		
ICL	0.83*	1	
IHS	0.17	0.06	1

IC : Indice de condition, ICL : Indice de condition basé sur la longueur

IHS : indice hépato-somatique

* : Différence significative à $p < 0.05$

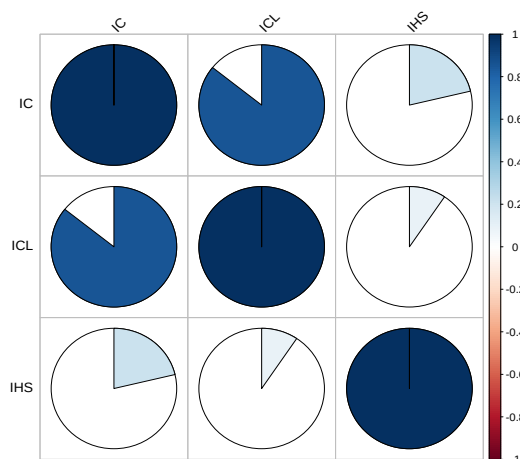


Figure 39 : Corrélogramme (corrplot) présentant les corrélations entre les trois indices de condition pour l'ensemble des trois sites et des quatre saisons.

Couleur bleue : corrélation positive ;
Couleur rouge : corrélation négative ;
Absence de couleur : corrélation non significative.

L'analyse des indices physiologiques doit se faire en considérant que « le degré de prospérité d'une population résulte d'un compromis entre la nature et l'abondance des ressources trophiques, d'une part, et de l'énergie que l'animal doit dépenser pour collecter, digérer et assimiler cette nourriture d'autre part » (Judas, 1994).

L'examen de la matrice de corrélations (Tab. 43) nous indique clairement que l'IC est positivement corrélé (forte corrélation : $r = 0.83$) avec l'ICL. Ces résultats ne sont pas surprenants, car les deux indices sont basés sur le poids de la chair et sur la longueur de la coquille. Ils nous ont donné une indication similaire qui reflète la croissance de notre espèce. Benali *et al.* (2015) ont démontré les mêmes résultats.

L'IHS n'a pas révélé une corrélation significative. De nombreux auteurs décrivent que les variations de l'IHS sont reliées aux cycles de reproduction et aux stades de maturation sexuelle (Cartier *et al.*, 2004 ; Lemaire *et al.*, 2006). En effet, le mécanisme de la reproduction est un processus hautement énergétique, et l'hépatopancréas joue un rôle important dans le transfert des réserves énergétiques nécessaires pour les différents stades de la reproduction, ainsi que pour le cycle de l'énergie. Cartier *et al.* (2004), Benali *et al.* (2015) et Gherras Touahri *et al.* (2016) ont trouvé chez les moules que l'IC a été négativement corrélé avec l'IHS, ce qui signifie que l'IHS varie inversement par rapport à la croissance. Lorsque la masse de tissu est réduite, après la ponte par exemple, on peut observer une élévation de l'IHS reflétant la reconstitution des réserves énergétiques.



Partie 3. Analyse des biomarqueurs et ETM dans la glande digestive de *S. haemastoma*

1. Analyse des biomarqueurs : Description statistique (Variations inter-sites et saisonnières)

1. 1. Glutathion réduit (GSH)

Selon la Fig. 40 et les Tab. 44 et 45, nous remarquons que les valeurs au niveau des sites 1 et 2 présentent moins de variation que celles du site 3 qui affiche une déplétion de la teneur en GSH en comparaison aux deux autres sites. Les valeurs moyennes oscillent entre 12.73 ± 2.45 nmol mg⁻¹ de protéines dans le site 3 et 28.12 ± 1.75 nmol mg⁻¹ de protéines dans le site 2 avec un minimum de 3.05 nmol mg⁻¹ de protéines au niveau du site 3 ; et de 18.43 ± 2.05 nmol mg⁻¹ de protéines au printemps à 23.60 ± 3.74 nmol mg⁻¹ de protéines en hiver.

Tableau 44 : Variation spatiale du GSH (nmol mg⁻¹ de protéines).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	24.69	2.32	11.30	45.51
Site 2	28.12	1.75	18.47	46.44
Site 3	12.73	2.45	3.05	39.83

Tableau 45 : Variation temporelle du GSH (nmol mg⁻¹ de protéines).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	23.51	3.48	4.39	45.51
Hiver	23.60	3.74	3.05	46.44
Printemps	18.43	2.05	6.19	31.98
Eté	21.85	2.22	11.30	39.83

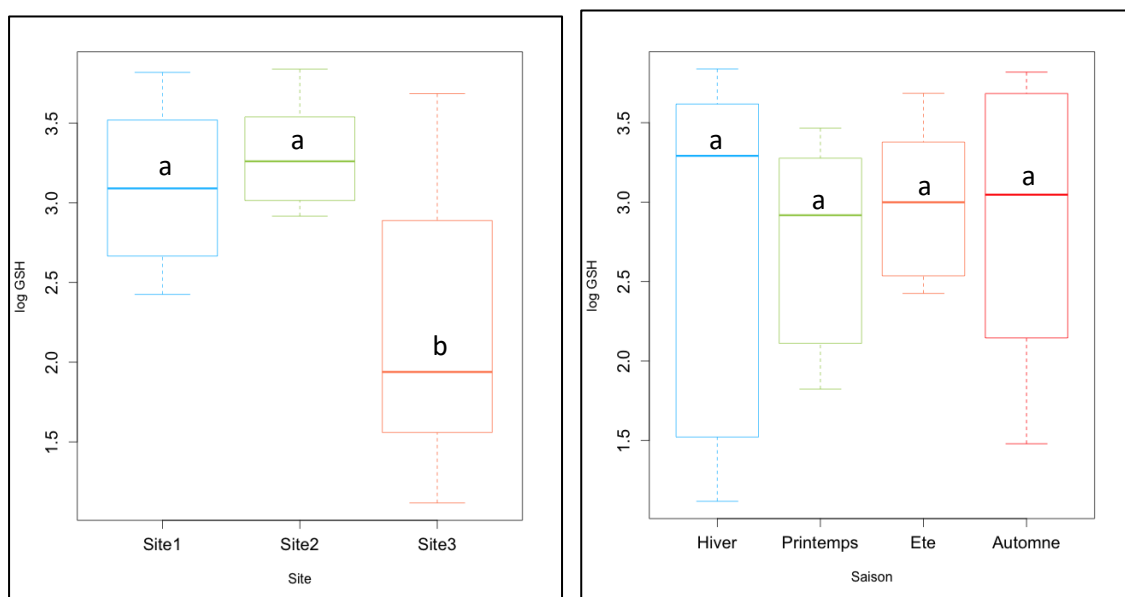


Figure 40 : Variation inter-sites et saisonnière de la concentration moyenne en GSH.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

Le test de Kruskal-Wallis indique qu'il y a une différence significative entre les moyennes de GSH enregistrées dans les sites d'étude et une absence de différences significatives entre les saisons. Le test de Dunn nous permet de grouper les trois sites en deux groupes : le site 1 et le site 2 représentent le groupe "a" et le site 3 correspond au groupe "b" (Fig. 40).

Résultats du Test de Kruskal-Wallis du GSH (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
GSH	Inter-sites	$\chi^2 = 21.921$	ddl = 2	p-value = 1.737×10^{-5}	d.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 1.2004$	ddl = 3	p-value = 0.7529	n.s.

d.s. indique une différence significative ($p < 0.05$) et **n.s.** une différence non significative ($p > 0.05$).

Diverses recherches ont montré le rôle du GSH dans la détoxification des xénobiotiques (Reed, 1990 ; Reidy, 1990, Avci *et al.*, 2005). La diminution de GSH indique directement l'existence de réactions de détoxification des métabolites toxiques. Une déficience en GSH expose les cellules à un risque de dommage oxydatif (Droge, 2002).



Aucune variation saisonnière des taux de GSH n'a été remarquée chez *S. haemastoma*, mais en général les résultats révèlent des taux réduits comparés par rapport à d'autres tels que ceux de [Verlecar et al. \(2008\)](#), [Borvinskaya et al. \(2016\)](#), [Lavradas et al. \(2016\)](#) et [Amri et al. \(2017b\)](#) qui ont démontré une variation saisonnière des concentrations de GSH dans la glande digestive de *Perna viridis*, le corégone (*Coregonus muksun* et *Coregonus lavaretus*), *P. perna* et *Paracentrotus lividus*, respectivement. Pour prévenir les dommages cellulaires causés par des niveaux élevés des espèces réactives de l'oxygène (ERO), le GSH pourrait être utilisé pour la détoxification, ce qui entraîne sa diminution ([Gismondi et al., 2012](#)). Plusieurs travaux aident à mieux expliquer la relation entre la diminution du taux de GSH et le niveau de contamination du milieu; ceci a été observé par [Gorbi et al. \(2008\)](#) chez *M. galloprovincialis* transplantée en mer adriatique et exposée à des sédiments pollués par les ETM, et par [Sifi et al. \(2013\)](#) chez *D. trunculus*.

Cependant, l'effet du site de prélèvement est significativement mis en évidence. C'est les individus du site 3 qui présentent le taux le plus bas en GSH. Ce site représente le golfe d'Annaba qui est soumis à de nombreux rejets permanents d'origine urbaine, industrielle et portuaires. Des concentrations en ETM (Cu et Zn) relativement élevées ont été obtenues dans les tissus de *D. trunculus* au niveau du même golfe ([Beldi et al., 2006](#)). La diminution des taux de GSH indique clairement la sollicitation des voies de détoxification GSH-dépendante dont le but est la réduction des peroxydes en alcools primaires non toxiques et solubles dans l'eau. Le GSH joue un rôle clé dans le piégeage des ETM dans l'organisme en raison de la forte affinité de ces derniers pour son groupe (-SH) ([Jozefczak et al., 2012](#)). Le GSH a été proposé pour complexer et détoxifier les cations métalliques dès leur entrée dans les cellules, ce qui représente une première ligne de défense contre la cytotoxicité des ETM. Selon la littérature, l'accumulation des ETM dans les tissus biologiques peut entraîner une réduction de la disponibilité du GSH ([Lavradas et al., 2016](#)).

[Viarengo et al. \(1990\)](#) et [Cossu et al. \(1997b\)](#) rapportent que chez le mollusque d'eau douce *Unio tumidus*, exposé à des polluants [hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) et ETM], la diminution du GSH est remarquée. Ils suggèrent que ce tripeptide est considéré comme un marqueur de dommage. Des résultats similaires ont été observés par [Canesi et al. \(1999\)](#) au niveau de la glande digestive et des branchies chez *M. galloprovincialis* exposée au Cu et au mercure, ainsi que chez la truite arc-en-ciel exposée à différents niveaux de fuel ([Steadman et al., 1991](#)).



Les travaux de [Prakash et Rao \(1995\)](#), [Brouwer et Brouwer \(1998\)](#), [Géret et al. \(2002a\)](#) et [Verlecar et al. \(2007\)](#) ont montré le même résultat chez *P. viridis* exposée soit aux ETM ou en contact avec les HAPs et les pesticides organochlorés ([Richardson et al., 2008](#)). Aussi cette diminution a été notée dans l'hépatopancréas de *Crassostrea virginica* après une exposition au Cd ([Ringwood et Connors, 2000](#)), dans la glande digestive de la même espèce ([Ringwood et al., 2004](#)), chez la dorade *Sparus aurata* après exposition au malathion ([Rosety et al., 2005](#)) ainsi que chez l'hippocampe ([Brocardo et al., 2005](#)), chez le mollusque bivalve *P. perna* exposé au Cd et au Cu ([Khati et al., 2007](#) ; [Khati et al., 2012](#)), au niveau de l'hépatopancréas du crabe d'eau douce *Sinopotamon yangtsekiende* ([Wang et al., 2008](#)), chez *U. tumidus* exposée au méthacrylate de méthyle ([Coffinet et al., 2008](#)), chez *Ruditapes decussatus* exposée au Cd ([Khebbeb et al., 2010](#)), chez la palourde *Semele solida* du golfe de Chili exposée à la pollution anthropique ([Srain et Rudolph, 2010](#)), chez *Ruditapes philippinarum* exposée au Cd combiné au benzo- α -pyrène ([Wang et al., 2011](#)) et chez l'huître *Crassostrea gigas* exposée au chlorodinitrobenzène ([Trevisan et al., 2012](#)). [De Almeida et al. \(2004\)](#) ont constaté que l'exposition au Cu des moules, a causé une déplétion significative des niveaux de GSH. Ces auteurs suggèrent que cette diminution du GSH serait due à l'augmentation des activités de l'enzyme phospholipide hydroperoxyde glutathion peroxydase (PHGPx) au cours de laquelle le GSH jouerait le rôle de donneur d'électrons ou encore son rôle intracellulaire important dans la séquestration du Cu ([Freed-man et al., 1989](#)). Des résultats similaires ont été avancés par [Doyotte et al. \(1997\)](#) ; et par [Cossu et al. \(2000\)](#) en exposant *U. tumidus* au Cu. Cependant, quelques études ont montré une augmentation du taux de GSH au niveau de la glande digestive de *M. galloprovincialis* après exposition au Cd ([Regoli et Principato, 1995](#) ; [Viarengo et al., 1999](#)) et au niveau du foie de la truite arc en-ciel ([Aït-Aïssa et al., 2003](#)).

1. 2. Glutathion S-transférase (GST)

En ce qui concerne l'activité de la GST, la [Fig. 41](#) et les [Tab. 46](#) et [47](#) montrent que les concentrations sont élevées mais elles restent proches d'un site à un autre. Les valeurs moyennes sont comprises entre 109.26 ± 12.82 nmol min⁻¹ mg⁻¹ de protéines dans le site 2 et 147.78 ± 9.79 nmol min⁻¹ mg⁻¹ de protéines dans le site 3 avec un maximum de 264.15 nmol min⁻¹ mg⁻¹ de protéines au niveau du site 2 ; et entre 81.09 ± 13.21 nmol min⁻¹ mg⁻¹ de protéines en hiver et 183.72 ± 7.46 nmol min⁻¹ mg⁻¹ de protéines au printemps.



Tableau 46 : Variation spatiale de la GST (nmol min⁻¹ mg⁻¹ de protéines).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	117.75	11.87	45.26	213.50
Site 2	109.26	12.82	30.43	264.15
Site 3	147.78	9.79	62.89	254.66

Tableau 47 : Variation temporelle de la GST (nmol min⁻¹ mg⁻¹ de protéines).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	83.90	3.39	62.27	109.77
Hiver	81.09	13.21	30.43	187.14
Printemps	183.72	7.46	132.01	264.15
Eté	151.01	9.54	94.46	254.66

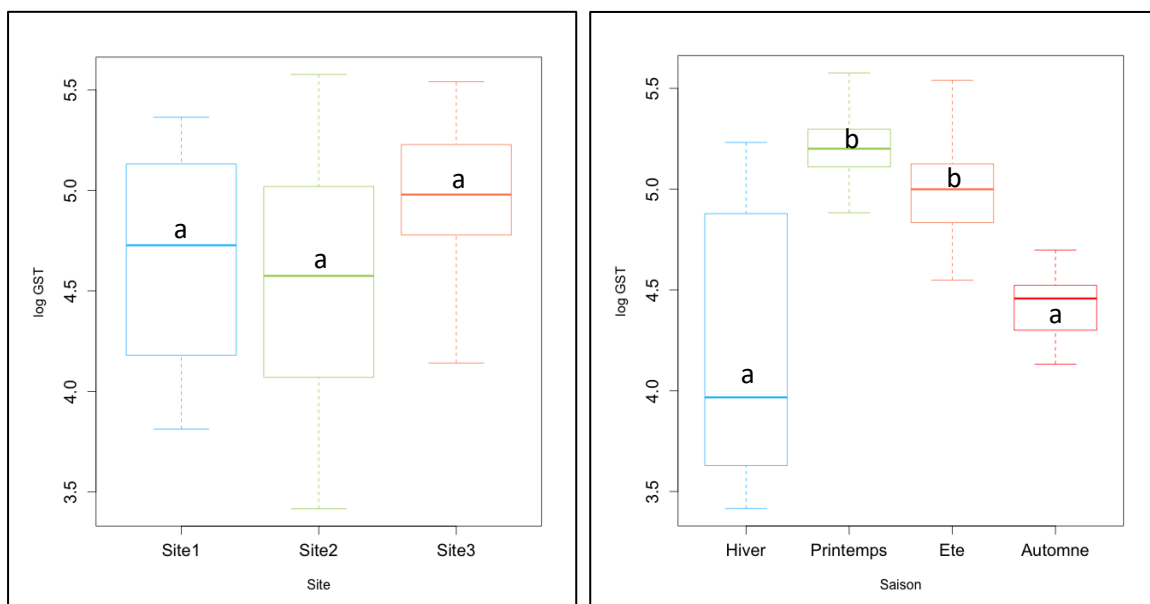


Figure 41 : Variation inter-sites et saisonnière de l'activité de la GST.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.



Les résultats du test Kruskal-Wallis relatifs à la comparaison des variables pour les deux facteurs : « site » et « saison » montrent qu'il n'existe pas des différences significatives inter-sites pour la variable GST, il semblerait que l'effet du facteur « site » n'est pas marqué ; et des différences significatives d'une saison à une autre, ceci nous conduit à dire que la variation saisonnière de la GST est liée, essentiellement, à la notion de temps, mais pas à celle des sites d'échantillonnage. Le test de Dunn nous permet de classer les saisons en deux groupes : le groupe "a" représentant l'hiver et l'automne et le groupe "b" qui correspond au printemps et l'été (Fig. 41).

Résultats du Test de Kruskal-Wallis de la GST (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
GST	Inter-sites	$\chi^2 = 5.6452$	ddl = 2	p-value = 0.05945	n.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 41.761$	ddl = 3	p-value = 4.51×10^{-9}	d.s.

d.s. indique une différence significative ($p < 0.05$) et **n.s.** une différence non significative ($p > 0.05$).

L'environnement soumis à de nombreux polluants impose à certaines espèces animales de développer des mécanismes de détoxification des xénobiotiques et de résistance au stress oxydatif. Ces mécanismes, dont l'activité de la GST, sont utilisés comme biomarqueurs de défense (Amiard-Triquet *et al.*, 2009). La glutathion S-transférase joue un rôle important dans le processus de détoxification et la réponse au stress oxydatif (Cossu *et al.*, 1997b). C'est une enzyme qui catalyse la conjugaison entre un peptide, le glutathion réduit, et les composés électrophiles (Martínez-Lara *et al.*, 1997; Cunha *et al.*, 2007). Elle peut être induite par certains polluants et par conséquent, elle a été largement utilisée comme un biomarqueur de stress en écotoxicologie et dans l'évaluation de la pollution marine (Roméo *et al.*, 2003; Le Pennec et Le Pennec, 2003 ; Regoli *et al.*, 2004 ; Cunha *et al.*, 2007 ; Lam, 2009).

Dans la présente étude, les résultats relatifs à l'activité de la GST permettent de constater l'absence d'une réponse significative de cette enzyme par rapport au site. Ceci a été rapporté aussi par les travaux de Van der Oost *et al.* (2003), montrant une similitude de l'activité entre un site de référence et un site pollué. Cependant, des variations saisonnières ont été révélées. Un maximum d'activité est noté au printemps.



Au cours de cette saison, 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. Nos résultats semblent être en accord avec les travaux de [Guemouda et al. \(2014\)](#) et [Amri et al. \(2017b\)](#), qui ont montré des différences d'activité de la GST en fonction de la saison, avec des pics enregistrés au printemps chez l'Annélide polychète *Perinereis cultrifera* et chez l'oursin *P. lividus*, respectivement. [Hoarau et al. \(2001\)](#) et [Dellali et al. \(2004\)](#) ont noté aussi une variation saisonnière de l'activité de la GST chez *R. decussatus*. Des observations du même ordre ont été rapportées par [Le Pennec et Le Pennec \(2003\)](#) chez *Pecten maximus*, par [Manduzio et al. \(2004\)](#), [Borković et al. \(2005\)](#), [Duarte et al. \(2011\)](#), [Giarratano et al. \(2013\)](#), [Schmidt et al. \(2013\)](#), [Jarque et al. \(2014\)](#), [Benali et al. \(2015\)](#) ainsi que [Balbi et al. \(2017\)](#) chez les moules recueillies dans une zone polluée, par [Nahrgang et al. \(2013\)](#) chez *M. edulis* et *Chlamys islandica*, par [Fossi Tankoua et al. \(2013\)](#), [Barda et al. \(2014\)](#), [Kamel et al. \(2014\)](#), [Mebarki et al. \(2015\)](#), [Braghirolli et al. \(2016\)](#) et [Louiz et al. \(2016\)](#) chez *Scrobicularia plana*, *Macoma balthica*, *M. galloprovincialis*, *Cerastoderma glaucum*, *Hyaella kaingang* et *Gobius niger*, respectivement.

Les variations de l'activité de la GST peuvent être dues à un état de stress oxydatif étroitement lié aux facteurs environnementaux et la qualité du milieu tels que la disponibilité de la nourriture et les paramètres physicochimiques de l'eau ([Mebarki et al., 2015](#)), ainsi que le niveau de polluants dans les tissus, qui peuvent varier avec le temps. De plus, l'induction de la GST peut être considérée comme une réponse adaptative à un environnement altéré ([Vidal-Liñán et al., 2010](#)). Cette induction enzymatique catalyse la réaction de conjugaison entre le GSH et les substrats endogènes et les xénobiotiques, permettant la formation de composés hydrophiles moins toxiques et faciles à éliminer ([Cunha et al., 2007](#); [Schmidt et al., 2012](#)). Cet état de fait serait aussi probablement dû à l'exposition des sites à diverses sources de pollution. [Beldi et al. \(2006\)](#) et [Abdenmour et al. \(2010\)](#) ont révélé une augmentation de l'activité de la GST en fonction de la pollution de l'eau dans le golfe d'Annaba, caractérisé par l'introduction de polluants via les rivières et les oueds ([Chaoui et al., 2013](#) ; [Bougherira et al., 2015](#) ; [Keblouti et al., 2015](#)).



Ces observations sont en accord avec les données de la littérature qui montrent l'induction de la GST par différentes molécules comme par exemple le Paraquat (Stephensen *et al.*, 2002), le Nonyphénol (Uguz *et al.*, 2003) mais également par un grand nombre d'autres molécules tel que les HAPs et les polychlorobiphényles (PCBs) (Forlin *et al.*, 1996) et les organophosphorés (Monteiro *et al.*, 2006; Rao, 2006). Des résultats similaires ont été obtenue chez l'oursin *P. lividus* où l'activité de la GST a été utilisée en tant que biomarqueur de contamination de l'environnement dans la zone côtière du Portugal (Cunha *et al.*, 2005). Abbassi *et al.* (2015) ont décrit une relation entre la pollution de l'environnement et l'activité de la GST chez *M. galloprovincialis*. Plusieurs autres études ont montré une activité de la GST plus élevée chez les organismes provenant de sites pollués que chez ceux provenant de sites de référence (Sáenz *et al.*, 2010; Bouzenda *et al.*, 2017; Mejdoub *et al.*, 2017). L'augmentation de l'activité de la GST a été également rapportée par plusieurs autres auteurs chez *D. trunculus* dans le golfe d'Annaba (Abbes *et al.*, 2003; Sifi *et al.*, 2007; Amira *et al.*, 2011; Soltani *et al.*, 2012; Bensouda et Soltani-Mazouni, 2014) et chez la même espèce exposée au Cd (Belabed et Soltani, 2013). De plus, Canesi *et al.* (1999) ont montré une induction de l'activité GST chez les moules traitées respectivement avec un composé organochloré et le mercure. Cette stimulation a été observée aussi chez d'autres bivalves comme *P. viridis* exposée au chlorate hydrocarboné (Cheung *et al.*, 2002), *C. gigas* traitée au carbofuran et au malathion (Damiens *et al.*, 2004), *M. edulis* et *M. galloprovincialis* soumis à des HAPs (Gowland *et al.*, 2002; Narbonne *et al.*, 2005), *P. perna* exposée au Cd (Khati *et al.*, 2007), les gastéropodes marins *Monodonta lineata* et *Nucella lapillus* après exposition au Cu (Cunha *et al.*, 2007), la crevette *Macrobrachium borellii* exposée au composé organophosphoré le fénitrothion (Lavarías *et al.*, 2013) et *M. galloprovincialis* exposée aux pesticides organochlorés tel que le Dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) (Barhoumi *et al.*, 2014). El Jourmi *et al.* (2012, 2014) ont montré aussi que l'activité de la GST est élevée chez *P. perna* dans des sites pollués comparativement à des sites de référence. En effet, la toxicité de plusieurs composants exogènes tels que les ETM et les contaminants organiques, peut provoquer l'induction de l'activité de la GST soit sous des conditions environnementales ou expérimentales au laboratoire. Cependant, les variations de l'activité de ce biomarqueur peuvent être aussi liées à l'âge (Lau *et al.*, 2004) et au cycle de reproduction (Giarratano *et al.*, 2011).



1. 3. Catalase (CAT)

La représentation de l'activité de la CAT (Fig. 42 et Tab. 48, 49) nous permet de constater une variation importante des valeurs de ce paramètre dans le site 2. Les valeurs moyennes varient entre $62.69 \pm 5.10 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de protéines dans le site 3 et $106.55 \pm 9.96 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de protéines dans le site 2. La valeur maximale est enregistrée au niveau du site 2 avec $222.97 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de protéines.

Les variations saisonnières de la défense antioxydante sont marquées par une augmentation significative de l'activité de la CAT au printemps avec $113.70 \pm 8.53 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de protéines, par rapport aux autres saisons et d'une valeur minimale observée en automne avec $52.91 \pm 3.93 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de protéines. Les box plots montrent que la variation saisonnière présente une dispersion différente et elle est beaucoup plus importante en hiver.

Tableau 48 : Variation spatiale de la CAT ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de protéines).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	93.55	5.75	53.03	152.17
Site 2	106.55	9.96	32.09	222.97
Site 3	62.69	5.10	32.08	120.56

Tableau 49 : Variation temporelle de la CAT ($\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de protéines).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	52.91	3.93	32.08	86.71
Hiver	103.58	10.90	33.48	164.60
Printemps	113.70	8.53	62.96	222.97
Eté	80.20	5.39	50.96	137.20

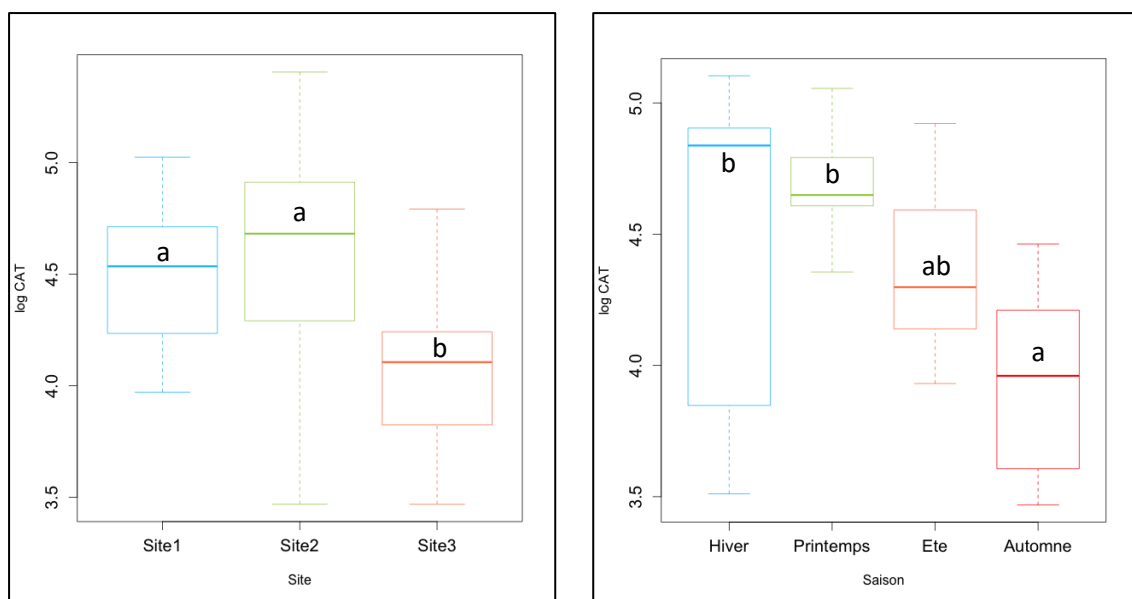


Figure 42 : Variation inter-sites et saisonnière de l'activité de la CAT.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

Le test de Kruskal-Wallis indique qu'il y a une différence significative entre les moyennes de CAT enregistrées dans les sites d'étude et aussi une présence de différences significatives entre les saisons.

Le test de Dunn nous permet de grouper les trois sites en deux groupes : le site 1 et le site 2 représentent le groupe "a" et le site 3 correspond au groupe "b". Ce test révèle aussi que les saisons sont divisées en trois groupes : le groupe "a" inclut l'automne, le groupe "b" rassemble l'hiver et le printemps, et le groupe "ab" correspond à l'été (Fig. 42).

Résultats du Test de Kruskal-Wallis de la CAT (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
CAT	Inter-sites	$\chi^2= 15.485$	ddl= 2	p-value= 0.0004341	d.s.
	Inter-saisons	$\chi^2= 27.205$	ddl= 3	p-value= 5.333×10^{-6}	d.s.

d.s. indique une différence significative ($p < 0.05$).



La CAT est une enzyme antioxydante intracellulaire impliquée dans le système de défense contre les radicaux générés par les polluants oxydants environnementaux, c'est une peroxydase péroxysomale qui dégrade le H_2O_2 en H_2O et O_2 (Baumard *et al.*, 1999). Elle présente un rôle très important dans la protection des invertébrés aquatiques (Valavanidis *et al.*, 2006).

L'activité de la CAT n'est pas spécifique à un groupe de contaminants, mais peut être induite par une large gamme de contaminants organiques dont les xénobiotiques et les ETM (Akcha *et al.*, 2000 ; Livingstone, 2001; Roméo *et al.*, 2003). L'activité de la CAT chez *S. haemastoma* montre relativement le même profil que celui de la GST avec une augmentation significative au printemps. Cette hausse de l'activité de la CAT observée au printemps, peut suggérer que les individus ont été soumis à un stress oxydatif. Selon Amira *et al.* (2011) et Mejdoub *et al.* (2017) l'induction de l'activité de la CAT peut être attribuée à l'élévation des concentrations en peroxyde d'hydrogène exogène qui représente le précurseur principal des radicaux hydroxyles, et qui est une forme très toxique des ERO. Nos résultats sont appuyés par les travaux de Guemouda *et al.* (2014) et Amri *et al.* (2017b) mettant l'accent sur une forte activité de la CAT au printemps chez l'Annélide polychète *P. cultrifera* et *P. lividus*, respectivement, dans les côtes Est de l'Algérie.

Kamel *et al.* (2014) et Balbi *et al.* (2017) révèlent une variation saisonnière de l'activité de la CAT dans la glande digestive de *M. galloprovincialis* et Barda *et al.* (2014) chez *M. balthica*. Ces réponses enzymatiques et principalement celles de la CAT peuvent être modulées par les changements saisonniers des deux facteurs, environnementaux et biologiques, affectant potentiellement la réactivité et la sensibilité aux polluants (Livingstone, 1981 ; Livingstone, 2001 ; Amiard-Triquet, 2009). Ceci a été décrit par Solé *et al.* (1995a), Pampanin *et al.* (2005) ainsi que Gorbi *et al.* (2008). Nos résultats révèlent aussi un effet site, constaté par une augmentation de l'activité de la CAT chez les individus collectés au niveau du site 2. Ce dernier reçoit par le biais de l'oued Messida, qui est actuellement menacé par les activités humaines, rejets des eaux usées et déchets agricoles (Benhalima *et al.*, 2015). L'augmentation de cette activité au niveau du site 2 pourrait alors s'expliquer par son exposition aux rejets de l'oued Messida y amenant des apports terrigènes en période de crues. Donc, il est vraisemblable que les facteurs du milieu ont une influence sur l'activité de la CAT.



En effet, un habitat caractérisé avec une forte contamination peut engendrer une forte induction d'enzymes antioxydantes telles que la CAT (Leiniö et Lehtonen, 2005 ; Nahrgang et al., 2013). Sáenz et al. (2010) ont révélé que les valeurs les plus élevées de la CAT chez les moules peuvent être due à des produits chimiques présents dans les décharges des eaux usées domestiques.

La comparaison de l'activité de la CAT par rapport aux données bibliographiques montre que les valeurs obtenues dans cette étude sont proches de celles de Khessiba et al. (2001) et Dellali et al. (2001). Une induction de cette activité a été enregistrée chez *M. galloprovincialis* (Box et al., 2007), chez la même espèce due aux ETM (Vlahogianni et al., 2007), chez *P. viridis* due aux contaminants organiques (HAPs) et aux pesticides organochlorés (Richardson et al., 2008), chez *Bathylomodiolus azoricus* face aux contaminations métalliques (Hg, Cu) (Company et al., 2004 et 2008), chez *R. decussatus* collectée dans plusieurs sites sur la côte tunisienne, suivant un gradient de pollution, par Dellali et al. (2004), Jebali et al. (2007) et Banni et al. (2009) ainsi que chez *D. trunculus* (Tlili et al., 2010 ; Amira et al., 2011 ; Soltani et al., 2012 ; Bensouda et Soltani-Mazouni, 2014). El Jourmi et al. (2012, 2014, 2015) ont montré que cette activité est élevée chez *P. perna* dans des sites pollués comparativement à des sites de référence. Chandurvelan et al. (2015) ont démontré que la CAT neutralise les effets des ERO qui peuvent être générés par l'exposition aux ETM.

Certains auteurs ont rapporté que l'activité de la CAT chez les mollusques a été influencée par des facteurs abiotiques (Viarengo et al., 1991; Solé et al., 1995b; Pellerin-Massicotte, 1997; Sheehan et Power, 1999). D'autres n'ont observé aucun changement suite à une exposition aux pesticides (Fitzpatrick et al., 1997) ou même une diminution de cette activité (Solé et al., 1995b).

D'après nos résultats et les travaux qu'on a exposé, il ressort que les activités CAT et GST sont induites en même temps et présentent des valeurs élevées au printemps, elles seraient principalement causées par des processus biologiques: Cette saison correspond à la période juste avant le frai. Ce processus se produit entre la fin du printemps et le début de l'été (Lahbib et al., 2011) et nécessite une importante demande en énergie, et qui sera satisfaite par une augmentation globale du métabolisme (Angilletta et Sears, 2000 ; Zera et Harshman, 2001 ; Nilsson, 2002).



L'augmentation des taux métaboliques pourrait éventuellement augmenter le taux de production des ERO, entraînant un stress oxydatif (Verlecar *et al.*, 2007). Selon Giarratano *et al.* (2013), l'activation simultanée des activités GST et CAT donne à penser que les deux systèmes enzymatiques antioxydants fonctionnent en synergie pour l'élimination du peroxyde d'hydrogène.

1. 4. Malondialdéhyde (MDA)

Les box plots de l'MDA (Fig. 43) ainsi que les Tab. 50 et 51 montrent clairement que la variation de ce paramètre dans les 3 sites est presque la même. Cependant les valeurs du site 3 sont plus élevées que celles des sites 1 et 2. Les valeurs moyennes varient de 1.87 ± 0.15 nmol mg^{-1} de protéines dans le site 1 à 6.85 ± 0.54 nmol mg^{-1} de protéines dans le site 3 avec un maximum de 11.88 nmol mg^{-1} de protéines au niveau du site 3 ; et de 2.54 ± 0.33 nmol mg^{-1} de protéines en hiver à 4.41 ± 0.93 nmol mg^{-1} de protéines au printemps. Donc, les box plots de la variation saisonnière nous permettent de constater l'existence d'une homogénéité dans les quatre saisons.

Tableau 50 : Variation spatiale du MDA (nmol mg^{-1} de protéines).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	1.87	0.15	1.03	3.51
Site 2	2.36	0.16	1.12	4.96
Site 3	6.85	0.54	3.10	11.88

Tableau 51 : Variation temporelle du MDA (nmol mg^{-1} de protéines).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	4.04	0.73	1.25	11.66
Hiver	2.54	0.33	1.12	5.49
Printemps	4.41	0.93	1.03	11.88
Eté	3.78	0.40	1.33	7.31

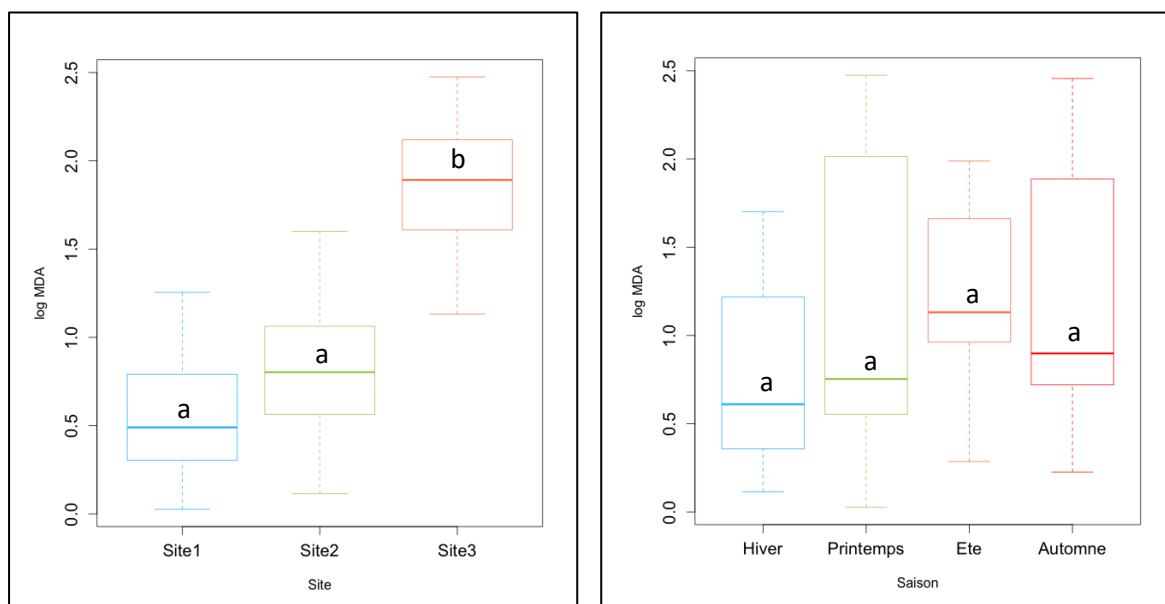


Figure 43 : Variation inter-sites et saisonnière de la concentration en MDA.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

Le test de Kruskal-Wallis indique qu'il y a une différence significative entre les moyennes du MDA enregistrées dans les sites d'étude et une absence de différences significatives entre les saisons. Le test de Dunn nous permet de grouper les trois sites en deux groupes : le site 1 et le site 2 représentent le groupe "a" et le site 3 correspond au groupe "b" (Fig. 43).

Résultats du Test de Kruskal-Wallis du MDA (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison			
MDA	Inter-sites	$\chi^2 = 47.959$	ddl= 2	p-value= 3.852×10^{-11} d.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 5.0436$	ddl= 3	p-value= 0.1686 n.s.

d.s. indique une différence significative ($p < 0.05$) et **n.s.** une différence non significative ($p > 0.05$).

Le MDA est le produit secondaire de la peroxydation lipidique, stimulée par les ERO, qui altèrent la structure membranaire de la cellule. Sa teneur est en étroite relation avec les dégradations de la membrane cellulaire. Il permet de montrer l'effet d'une pénétration d'un xénobiotique dans l'organisme. Il constitue donc un indicateur précoce du stress oxydatif (Harris, 1992 ; Stohs *et al.*, 2000 ; Del Rio *et al.*, 2005; Lykkesfeldt, 2007).



Nos résultats ont montré un effet site révélé par une légère augmentation de la concentration en MDA au niveau du site 3 dans le golfe d'Annaba.

En général, les organismes ayant un statut antioxydant réduit pourraient être plus sensibles à la peroxydation lipidique et présenter des taux plus élevés en MDA (Giarratano *et al.*, 2011). Selon Soltani *et al.* (2012) et Sifi *et al.* (2013), la présence de grandes quantités de polluants peut surpasser le système antioxydant, ce qui va provoquer une peroxydation lipidique des membranes cellulaires par un taux élevé en MDA chez *D. trunculus* d'un site exposé à une pollution industrielle dans le même golfe.

Dans notre étude, les concentrations en MDA ont été déterminées dans la glande digestive qui représente une matrice reflétant l'accumulation des ETM à long terme (Amiard *et al.*, 1989). L'augmentation des concentrations en MDA, marqueur en puissance de la peroxydation des lipides, peut être expliquée par une contamination du milieu en ETM qui sont à l'origine d'une surproduction de radicaux libres dans la cellule, ce qui entraîne différentes conséquences cytotoxiques, dont l'inactivation des systèmes enzymatiques et surtout la détérioration de la membrane cellulaire par attaque de ses acides gras constitutifs, ce qui se traduit par des phénomènes de peroxydation lipidique. La méthode d'évaluation de ce phénomène consiste alors à doser un des produits finaux de dégradation des acides gras, le MDA, dont la teneur est en relation étroite avec les dégradations de la membrane cellulaire et, d'une manière générale, avec le stress oxydant subi par les cellules de l'organisme.

Les faibles concentrations en MDA des autres sites peuvent refléter une activité réduite ou une action plus efficace du système antioxydant, en particulier des enzymes antioxydantes (Braghirolli *et al.*, 2016).

L'exposition des organismes aquatiques aux ETM peut augmenter la production des ERO, ce qui peut entraîner un déséquilibre des défenses antioxydantes, augmenter le stress oxydatif et générer une peroxydation lipidique (Giarratano *et al.*, 2013).

Giguère *et al.* (2003) ont montré une augmentation des concentrations en MDA chez *Perna grandis* exposée à une contamination métallique dans son milieu naturel. De Almeida *et al.* (2004) ont noté la même observation en fonction de la pollution de l'environnement chez divers bivalves comme l'huître *Crassostrea angulata* et *M. galloprovincialis*. Une étude menée *in situ* sur l'effet du Cd, sur les concentrations en MDA a montré une augmentation de celui-ci avec la pollution du milieu (Ladhar Chabouni *et al.*, 2009a).



Tlili *et al.* (2010) ont montré aussi des niveaux élevés de MDA chez *D. trunculus* dans un site pollué comparativement à un site de référence au golfe de Tunis. Des résultats similaires ont été rapportés par Vlahogianni *et al.* (2007) et Abbassi *et al.* (2015) chez *M. galloprovincialis*, Bergayou *et al.* (2009) chez *S. plana* et *Cerastoderma edule* à partir de l'estuaire, Banni *et al.* (2009) et Kamel *et al.* (2014) dans la glande digestive de *R. decussatus* et *M. galloprovincialis* respectivement, Cheung *et al.* (2001) chez *M. galloprovincialis* exposée au Cu, G  ret *et al.* (2002a) et G  ret *et al.* (2002b) chez *M. edulis* et *R. decussatus* respectivement exposées au Cd, El Jourmi *et al.* (2012, 2014, 2015) chez *P. perna* et Khati *et al.* (2012) chez la même espèce exposée au Cu et Cd. Machreki-Ajmi *et al.* (2008) ont constaté une augmentation des concentrations en MDA dans un site où les taux en Cd sont élevés par rapport à un site témoin, ainsi que chez *Pyganodon grandis* (Bonneris *et al.*, 2005) et *Bathymodiolus azoricus* exposées à des ETM dans leur milieu naturel (Bebianno *et al.*, 2005). Ladhar Chabouni *et al.* (2009b) ont montré que dans la glande digestive de *C. glaucum*, les concentrations en MDA augmentent avec la concentration métallique en Cd. Une augmentation du niveau de MDA est aussi noté chez l'huitre *C. gigas* exposée à l'huile diesel (Zanette *et al.*, 2011) et chez *Chlamys farreri* exposée à l'azote ammoniacal (Wang *et al.*, 2012). Donc Plusieurs études s'accordent sur une corélation positive entre une contamination métallique et la peroxydation lipidique, marqué par une augmentation des taux de MDA.

1. 5. Métallothionéine (Mt)

En analysant les box plots de la Mt (Fig. 44) ainsi que les Tab. 52 et 53, nous notons l'existence d'un gradient croissant ($S1 < S2 < S3$) des taux en Mt. Les valeurs moyennes varient de 129.46 ± 18.09 nmol g⁻¹ de tissu dans le site 1 à 280.18 ± 44.68 nmol g⁻¹ de tissu dans le site 3 avec un minimum de 68.57 nmol g⁻¹ de tissu au niveau du site 1 et un maximum de 572.14 nmol g⁻¹ de tissu au niveau du site 3 ; et de 152.86 ± 23.72 nmol g⁻¹ de tissu en été à 330.24 ± 51.99 nmol g⁻¹ de tissu en hiver, l'examen des box plots montre l'existence d'une hétérogénéité dans les quatre saisons.



Tableau 52 : Variation spatiale de la Mt (nmol g⁻¹ de tissu).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	129.46	18.09	68.57	272.14
Site 2	193.75	15.89	128.57	285
Site 3	280.18	44.68	162.86	572.14

Tableau 53 : Variation temporelle de la Mt (nmol g⁻¹ de tissu).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	167.62	14.99	111.43	231.43
Hiver	330.24	51.99	173.57	572.14
Printemps	153.81	18.54	85.71	244.29
Été	152.86	23.72	68.57	257.14

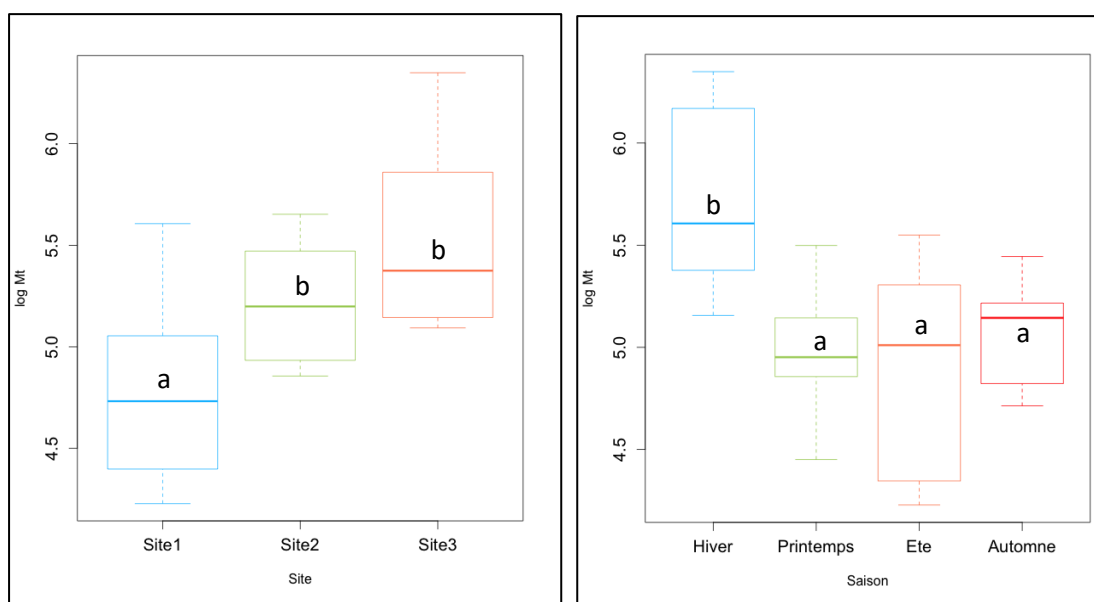


Figure 44 : Variation inter-sites et saisonnière de la concentration en Mt.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

Le test de Kruskal-Wallis indique qu'il y a une différence significative entre les moyennes de la Mt enregistrées dans les sites d'étude et aussi une présence de différences significatives entre les saisons. Le test de Dunn a permis la classification des sites en 2 groupes, le groupe "a" inclut le site 1 et le groupe "b" rassemble le site 2 et le site 3.



Ce test révèle aussi que les saisons sont divisées en deux groupes : le groupe "a" rassemble le printemps, l'été et l'automne, et le groupe "b" inclut l'hiver (Fig. 44).

Résultats du Test de Kruskal-Wallis de la Mt (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
Mt	Inter-sites	$\chi^2=$ 11.688	ddl= 2	p-value= 0.002898	d.s.
	Inter-saisons	$\chi^2=$ 13.136	ddl= 3	p-value= 0.004351	d.s.

d.s. indique une différence significative ($p < 0.05$).

Les métallothionéines sont impliquées dans la séquestration des ETM et la protection contre les effets induits par ces derniers (Roesijadi, 1996 ; Viarengo *et al.*, 2000). Ce sont les protéines les plus sensibles à la contamination métallique chez de nombreux organismes marins (Naimo, 1995 ; Amiard *et al.*, 2006 ; Choi *et al.*, 2007, 2008 ; Zorita *et al.*, 2007). Elles ont aussi un rôle de détoxification bien étudiée chez plusieurs invertébrés marins (Bebianno *et al.*, 1991 ; Roesijadi, 1992 ; Viarengo *et al.*, 1993). Ce sont des protéines de faible masse moléculaire qui peuvent être induites par les ions métalliques cytosoliques libres, en particulier le Cd, Cu, Zn et Hg, et sont impliquées dans la défense contre la toxicité des ETM (Klaassen *et al.*, 1999 ; Andrews, 2000 ; Hamza-Chaffai *et al.*, 2000 ; Tanguy *et al.*, 2001 ; Ladhar-Chaabouni *et al.*, 2008 ; Wang *et al.*, 2011). Ils sont impliqués dans l'homéostasie des ETM essentiels tels que le Cu et le Zn, mais jouent également un rôle majeur dans la détoxification des ETM non essentiels (Chandurvelan *et al.*, 2015).

Dans cette étude la quantification de la Mt au niveau de la glande digestive du gastéropode *S. haemastoma* révèle des fluctuations spatiotemporelles. Les concentrations les plus élevées sont enregistrées chez les individus collectés en hiver et au niveau du site 3 qui représente le golfe d'Annaba. Une forte accumulation des ETM, à la saison hivernale chez *P. perna* et *Posidonia oceanica* au niveau du même golfe, a été démontrée par Belabed *et al.* (2008) et Boutabia-Trea *et al.* (2017), respectivement. A la saison printanière et estivale nous avons remarqué une diminution de la concentration de la Mt, cela peut être dû indirectement à la reproduction et principalement à la libération des gamètes durant la période de ponte (Langston *et al.*, 1995).



Le changement pondéral a aussi été rapporté comme un critère important qui peut justifier la fluctuation de la concentration des ETM et l'expression de la Mt chez les organismes aquatiques (Phelps et Hetzel, 1987 ; Amiard-Triquet *et al.*, 1998 ; Mouneyrac *et al.*, 1998, 2000). Bebianno et Serafim (2003) ont montré une variation saisonnière de la Mt chez *R. decussatus*. Smaoui-Damak *et al.* (2004) ont révélé une variation mensuelle et inter-site de ce biomarqueur chez la même espèce. Hamza-Chaffai *et al.* (2000, 2003) ont montré que la Mt est induite chez la même espèce exposée aux Cu, Zn et Cd. Figueira *et al.* (2012b) ont noté aussi l'induction de la Mt chez la même espèce ainsi que chez *R. philippinarum* exposées toutes les deux au Cd. Kamel *et al.* (2014) ont noté une variation saisonnière de la Mt dans la glande digestive de *M. galloprovincialis*. El Jourmi *et al.* (2012, 2014) ont montré des niveaux élevés de Mt chez *P. perna* dans des sites pollués comparativement à des sites de référence. L'inductibilité des Mt par les ETM a été déterminée chez plusieurs espèces de mollusques bivalves telles que la palourde (Bebianno et Serafim, 1998), la moule (Bebianno et Langston, 1991) et l'huître (Roesijadi et klerks, 1989; G  ret *et al.*, 2002a). Ladhar-Chaabouni *et al.* (2009b) ont montré que les Mt sont induites chez *C. glaucum* exposée au Cd, ainsi que Ringwood *et al.* (1998) chez *C. virginica* et Khati *et al.* (2012) chez *P. perna* exposées toutes les deux au Cu. Ladhar-Chaabouni *et al.* (2009a) ont révélé que l'augmentation de la quantité de Cd bioaccumulé est suivie d'une augmentation de la synthèse des Mt au niveau de la glande digestive de *C. glaucum*. De Montaudouin *et al.* (2010) et Paul-Pont *et al.* (2010a, 2010b) ont constaté que la concentration de la Mt reflète une contamination métallique chez *C. edule* et *R. philippinarum*. De plus, l'induction de la Mt a été rapportée par Figueira *et al.* (2012a), Freitas *et al.* (2012a, 2012b) chez *C. edule* exposée aux ETM et par Santoviro *et al.* (2015) chez *Venerupis philippinarum* exposée au Cu et Zn.

Ces résultats laissent supposer l'existence d'une corrélation positive entre le taux des Mt sécrétées et la concentration des ETM dans l'environnement (Bebianno et Langston, 1992). Dans ce sens G  ret et Cosson (2000) et Geffard *et al.* (2002) ont noté une corrélation positive entre l'accumulation de la Mt et la concentration du Cu et Zn chez *C. gigas*. Des observations du même ordre ont été rapportées par Santoviro *et al.* (2015) chez *V. philippinarum* exposée à ces deux ETM. Falfushynska *et al.* (2009) ont montré que la Mt est un biomarqueur adéquat pour la pollution environnementale chez *Anodonta* sp.



L'induction des Mt est considérée comme étant un bon biomarqueur d'exposition à des ETM et couramment appliquée dans les programmes de biosurveillance de l'environnement (Viarengo *et al.*, 1999, 2007 ; Banni *et al.*, 2007). D'autre part, il a été démontré que des ETM tels que le Cu, le Zn et le Cd s'accumulent dans les tissus de la palourde *R. decussatus* exposée distinctement et/ou à un mélange de ces ETM provoquent une forte induction de la synthèse des Mt (Serafim et Bebianno, 2010). L'exposition d'un organisme à des ETM induit une surproduction des Mt et provoque des dommages cellulaires systémiques (Lowe et Pipe, 1994 ; Cavaletto *et al.*, 2002). Cependant l'accumulation des Mt dans les tissus de la moule pourrait aussi être due à un stress oxydatif indépendamment de la présence des ETM dans le milieu.

En effet, Dondero *et al.* (2005) et Banni *et al.* (2007) ont rapporté des augmentations significatives des isoformes de Mt tant en terme de protéine qu'en terme de ARNm chez *M. galloprovincialis* non exposée aux ETM mais présentant un état de déséquilibre de la balance oxydative.

Outre l'exposition aux ETM, la Mt peut aussi être induite par d'autres facteurs tels que les facteurs physico-chimiques (température, salinité, pH, oxygène dissous, etc.) et l'état physiologique de l'organisme (âge, sexe, stades de maturité et tissus) (Mouneyrac *et al.*, 1998; Legras *et al.*, 2000; Geffard *et al.*, 2001, 2002, 2005; Serafim *et al.*, 2002 ; Ladhar-Chaabouni *et al.*, 2012 ; Boulajfene *et al.*, 2017).

2. Analyse des ETM dans la glande digestive : Description statistique (Variations inter-sites et saisonnières)

2. 1. Cuivre (CuGD)

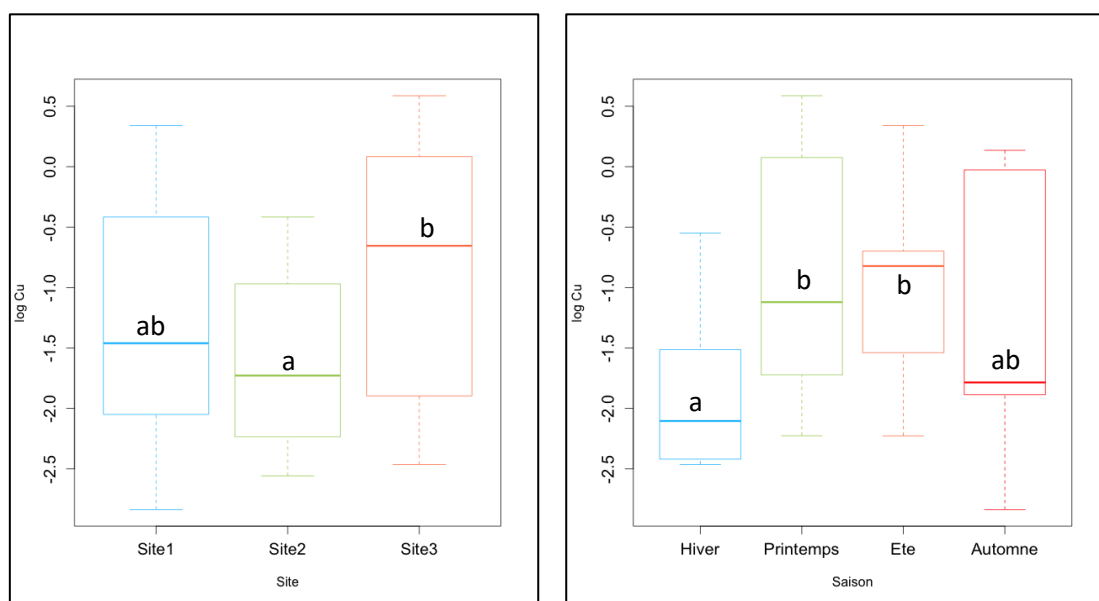
Les concentrations en Cu dans les glandes digestives de *S. haemastoma* révèlent une variation spatiotemporelle (Fig. 45). Les valeurs moyennes de Cu sont comprises entre 0.26 ± 0.03 mg g⁻¹ de poids sec dans le site 2 et 0.67 ± 0.09 mg g⁻¹ de poids sec dans le site 3 avec un maximum de 1.80 mg g⁻¹ de poids sec au niveau du site 3 et un minimum de 0.06 mg g⁻¹ de poids sec au niveau du le site 1 (Tab. 54) ; et entre 0.18 ± 0.03 mg g⁻¹ de poids sec en hiver et 0.62 ± 0.11 mg g⁻¹ de poids sec au printemps (Tab. 55).

**Tableau 54** : Variation spatiale du CuGD (mg g^{-1} de poids sec).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	0.46	0.08	0.06	1.41
Site 2	0.26	0.03	0.08	0.66
Site 3	0.67	0.09	0.09	1.80

Tableau 55 : Variation temporelle du CuGD (mg g^{-1} de poids sec).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	0.50	0.08	0.06	1.14
Hiver	0.18	0.03	0.09	0.58
Printemps	0.62	0.11	0.11	1.80
Eté	0.54	0.09	0.11	1.41

**Figure 45** : Variation inter-sites et saisonnière de la concentration en CuGD.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

2. 2. Zinc (ZnGD)

Les concentrations en Zn révèlent aussi une variation spatiotemporelle (Fig. 46). Les valeurs moyennes de Zn varient entre $0.25 \pm 0.03 \text{ mg g}^{-1}$ de poids sec dans le site 3 et $0.54 \pm 0.03 \text{ mg g}^{-1}$ de poids sec dans le site 2.



La valeur maximale est enregistrée au niveau du site 2 avec 0.79 mg g^{-1} de poids sec et la valeur minimale est de 0.08 mg g^{-1} de poids sec au niveau du site 3 (Tab. 56) ; et entre $0.28 \pm 0.05 \text{ mg g}^{-1}$ de poids sec en été et $0.48 \pm 0.03 \text{ mg g}^{-1}$ de poids sec en hiver (Tab. 57).

Tableau 56 : Variation spatiale du ZnGD (mg g^{-1} de poids sec).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	0.38	0.03	0.12	0.71
Site 2	0.54	0.03	0.26	0.79
Site 3	0.25	0.03	0.08	0.52

Tableau 57 : Variation temporelle du ZnGD (mg g^{-1} de poids sec).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	0.44	0.04	0.14	0.75
Hiver	0.48	0.03	0.19	0.71
Printemps	0.37	0.04	0.13	0.75
Été	0.28	0.05	0.08	0.79

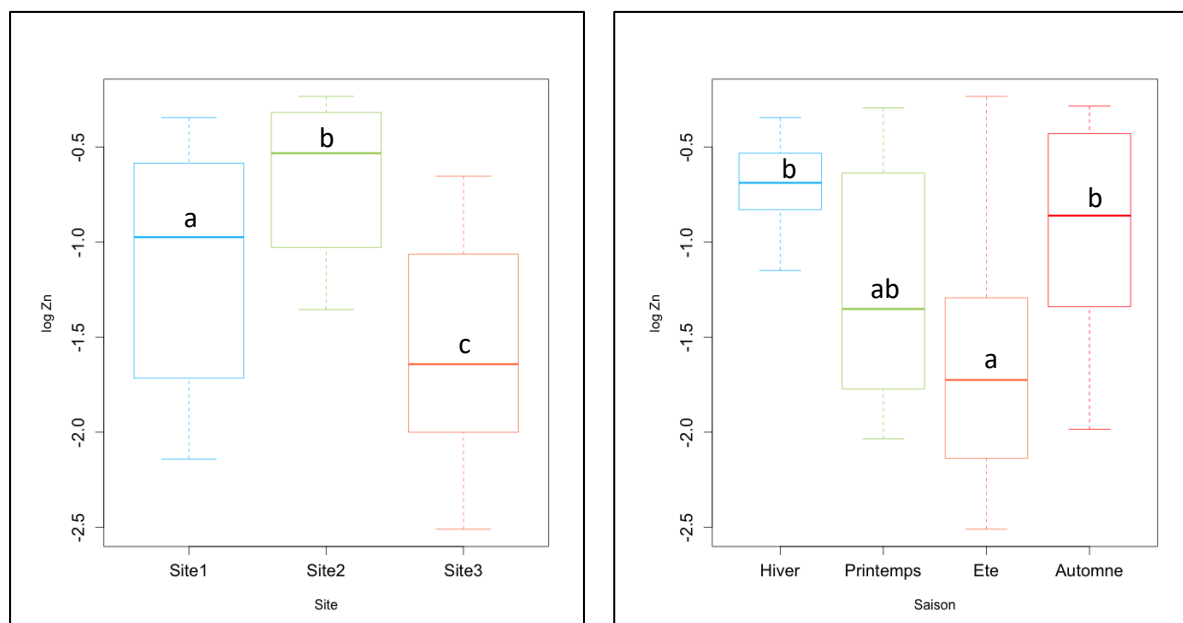


Figure 46 : Variation inter-sites et saisonnière de la concentration en ZnGD.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.



2. 3. Chrome (CrGD)

Les concentrations en Cr dans les glandes digestives de *S. haemastoma* révèlent une variation spatiotemporelle (Fig. 47). Les valeurs moyennes de Cr sont comprises entre 0.03 ± 0.00 mg g⁻¹ de poids sec dans le site 2 et 0.04 ± 0.00 mg g⁻¹ de poids sec dans les site 1 et 3 avec un maximum de 0.06 mg g⁻¹ de poids sec et un minimum de 0.02 mg g⁻¹ de poids sec pour les 3 sites (Tab. 58) ; et entre 0.03 ± 0.00 mg g⁻¹ de poids sec en automne et 0.04 ± 0.00 mg g⁻¹ de poids sec en hiver, au printemps et en été (Tab. 59).

Tableau 58 : Variation spatiale du CrGD (mg g⁻¹ de poids sec).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Site 1	0.04	0.00	0.02	0.06
Site 2	0.03	0.00	0.02	0.06
Site 3	0.04	0.00	0.02	0.06

Tableau 59 : Variation temporelle du CrGD (mg g⁻¹ de poids sec).

Variable	Moyenne	se	Min	Max
Automne	0.03	0.00	0.02	0.06
Hiver	0.04	0.00	0.03	0.06
Printemps	0.04	0.00	0.02	0.06
Eté	0.04	0.00	0.02	0.06

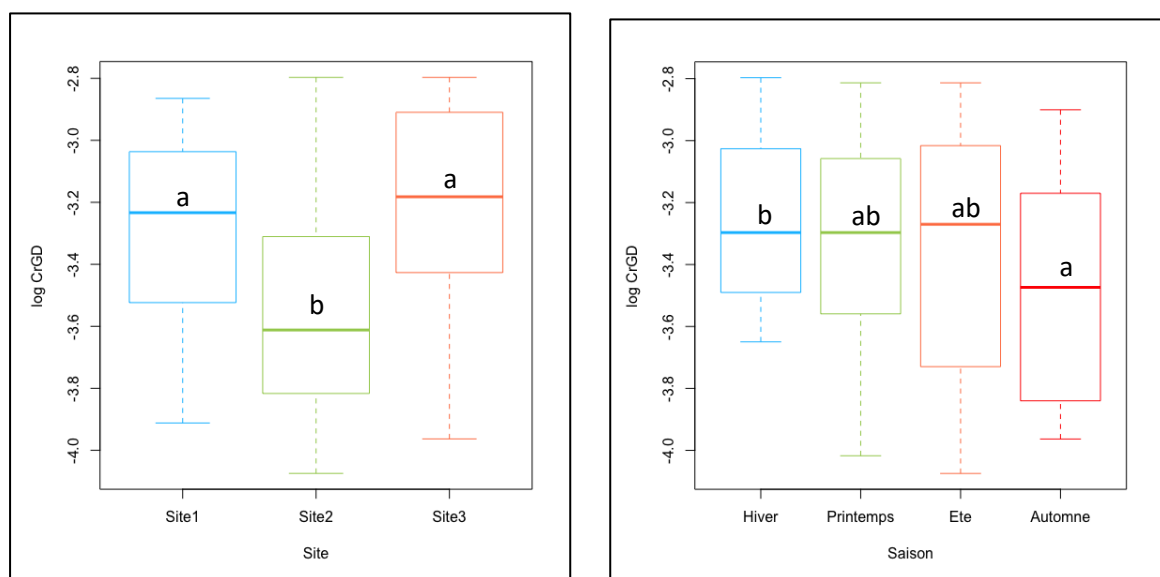


Figure 47 : Variation inter-sites et saisonnière de la concentration en CrGD.

a et b indiquent que la variation inter-sites et saisonnière est significative à $p < 0.05$, en utilisant le test de Dunn. Les boxplots portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différents à $p > 0.05$.

Les résultats du test Kruskal-Wallis relatifs à la comparaison des variables pour les deux facteurs : « site » et « saison » montrent qu'il existe des différences significatives saisonnières et inter-sites pour les variables CuGD, ZnGD et CrGD, il semblerait que l'effet des facteurs « site » et « saison » est marqué, ceci nous conduit à dire que la variation des variables est liée, essentiellement, à la notion de temps et à celle des sites d'échantillonnage.

Concernant le CuGD, le test de Dunn nous permet de classer les sites en trois groupes où la différence significative se trouve entre le groupe "ab" correspondant au site 1, le groupe "a" et "b" représentant le site 2 et le site 3, respectivement. Ce test révèle aussi que les saisons sont divisées en trois groupes : le groupe "a" inclut l'hiver, le groupe "b" rassemble le printemps et l'été et le groupe "ab" correspond à l'automne (Fig. 45).

Pour le ZnGD, le test de Dunn permet la classification des sites en trois groupes "a", "b" et "c" correspondant au site 1, site 2 et site 3, respectivement. Ce test nous permet aussi de classer les saisons en trois groupes : le groupe "a" représente l'été, le groupe "b" rassemble l'automne et l'hiver et le groupe "ab" correspond au printemps (Fig. 46).

En ce qui concerne le CrGD, le test de Dunn nous permet de classer les sites en deux groupes où la différence significative se trouve entre le groupe "a" représentant le site 1 et 3 et le groupe "b" correspondant au site 2.



Ce test révèle aussi que les saisons sont divisées en trois groupes : le groupe "a" inclut l'automne, le groupe "b" inclut l'hiver et le groupe "ab" rassemble le printemps et l'été (Fig. 47).

Résultats du Test de Kruskal-Wallis du CuGD, ZnGD et CrGD (Comparaison inter-sites et inter-saisons) :

Variable	Comparaison				
CuGD	Inter-sites	$\chi^2 = 7.0726$	ddl= 2	p-value= 0.02912	d.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 20.17$	ddl= 3	p-value= 0.0001565	d.s.
ZnGD	Inter-sites	$\chi^2 = 34.57$	ddl= 2	p-value= 3.113×10^{-8}	d.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 16.688$	ddl= 3	p-value= 0.0008193	d.s.
CrGD	Inter-sites	$\chi^2 = 14.4949$	ddl= 2	p-value= 0	d.s.
	Inter-saisons	$\chi^2 = 8.3874$	ddl= 3	p-value= 0.04	d.s.

d.s. indique une différence significative ($p < 0.05$).

Le dosage des ETM (Cu, Zn et Cr) dans la glande digestive de *S. haemastoma*, a révélé leur accumulation et le suivi de leur concentration a montré des fluctuations saisonnières sur les trois sites d'étude avec un maximum de bioaccumulation observé au printemps et dans le site 3 pour le Cu ; en hiver et dans le site 2 pour le Zn ; et au niveau des sites 1 et 3 pour le Cr. Cependant les deux autres ETM (Cd et Pb) sont inférieurs à la limite de détection (Cd = 0.028 mg L⁻¹, Pb = 0.45 mg L⁻¹, respectivement).

Les fluctuations saisonnières des concentrations métalliques dans la glande digestive de *S. haemastoma* pourraient dépendre du degré de contamination du milieu mais aussi de son cycle biologique. Le facteur saisonnier est important et de nombreuses études ont montré que les concentrations du Cu et du Zn mesurées chez les espèces marines varient saisonnièrement : [Ritz et al. \(1982\)](#) chez *M. edulis*, [Kaimoussi et al. \(2000\)](#) et [Kamel et al. \(2014\)](#) chez *M. galloprovincialis*. Nos résultats sont comparables à ceux observés par [Abdenmour et al. \(2000\)](#) et [Essedaoui et Sif \(2001\)](#) où les concentrations du Cu et Zn présentent des variations qui semblent dépendre de la saison et du site de prélèvement. Plusieurs autres auteurs reconnaissent l'existence d'un maximum hivernal des concentrations métalliques chez la moule, en particulier pour le Zn ([Goldberg et al., 1983](#) ; [Popham et D'Auria, 1983](#) ; [Metayer et al., 1985](#)).



Aussi, un effet saison significatif a été révélé avec des taux relativement élevés du Zn en hiver au niveau d'un site pollué dans les tissus de *D. trunculus* (Beldi et al., 2006) ainsi que chez *P. perna* (Belabed et al., 2008) au niveau du golfe d'Annaba; chez le gastéropode marin *Phorcus (Osilinus) turbinatus* au niveau du même golfe (Boucetta et al., 2016b) ; chez *Osilinus turbinatus* (Belhaouari et al., 2011) et chez *M. galloprovincialis* (Kamel et al., 2014 ; Rouane-Hacene et al., 2015). Vlahogianni et al. (2007) ont montré une variation saisonnière de la concentration du Cu avec des taux élevés au printemps et en hiver chez *M. galloprovincialis*. Des résultats similaires ont été notés par Catsiki et Florou (2006) chez la même espèce. Les concentrations des ETM (Cu et Zn) varient en fonction de la saison et le niveau de contamination des sites examinés chez plusieurs espèces de *Donax* : *D. deltoides* (Haynes et al., 1997), *D. trunculus* (Fishelson et al., 1999; Usero et al., 2005) et *D. rugosus* (Sidoumou et al., 2006).

Donc, les éléments analysés chez notre gastéropode marin *S. haemastoma* présentent des fluctuations saisonnières marquées dans le sens d'un maximum printanier/hivernal. La concentration accrue du Cu au printemps peut être liée à la libération des ETM dans l'eau après la dégradation des matières organiques (support privilégié des ETM engendrant la formation de complexes organométalliques plus ou moins stables) des phases dissoutes colloïdales lorsque la température de l'eau augmente (Belabed et al., 2017). La concentration maximale de Zn en hiver pourrait s'expliquer par le fait qu'à cette période de l'année, les tempêtes agissent comme une force de restructuration majeure en modifiant de façon significative la distribution granulométrique des sédiments; cela augmente le taux de remise en suspension des sédiments qui peut mener à des taux plus élevés de remobilisation et, par conséquent, à une biodisponibilité importante des ETM dans les sédiments et l'eau (Boutabia-Trea et al., 2015). De plus, durant cette période froide, l'augmentation des pluies provoque un afflux important d'eau douce dans la zone côtière à partir du système de l'oued et induit ainsi la diminution de la salinité. L'absorption et l'accumulation des ETM dans les tissus corporels sont affectées par la biodisponibilité des éléments qui tend généralement à augmenter avec la diminution de la salinité, en fonction de la concentration des ETM libres dans l'eau de mer environnante (Belabed et al., 2013b).



De même, la période froide, pendant laquelle la concentration des ETM est élevée, correspondrait à la période de stockage élevé des réserves énergétiques, alors que la période chaude, pendant laquelle la concentration du Zn est minimale, correspondrait à la période de ponte où les réserves corporelles ont été épuisées.

Il est généralement admis que l'accumulation des ETM se produit principalement via ces trois compartiments : l'eau, la nourriture et les sédiments. Cependant, l'efficacité de l'absorption des ETM à partir de ces sources peut varier en fonction des besoins écologiques, le métabolisme des animaux et des concentrations des ETM dans l'eau, la nourriture et les sédiments, ainsi que certains autres facteurs tels que la salinité et la température. Le régime alimentaire important de notre espèce (carnivore) lui permet de bioconcentrer et d'amplifier les ETM dans la glande digestive, elle se nourrit des proies animales (bivalves). On peut déduire que l'accumulation de ces ETM dans les moules peut provoquer l'accroissement des concentrations des ETM chez *S. haemastoma*.

Cette variation saisonnière est affectée par un grand nombre de facteurs (abiotiques et biotiques) (Amiard *et al.*, 1986 ; Cajaraville *et al.*, 1992). D'autres études (Phillips, 1976 ; Denton et Burdon-Jones, 1981) ont montré que la salinité et la température sont les principaux agents de la variation saisonnière de la concentration des ETM.

Selon Langston et Spence (1995), les facteurs biologiques tels que la capacité d'acquisition alimentaire (Saavedra *et al.*, 2004), le sexe (Sokolowski *et al.*, 2004), l'âge, la taille et la ponte contribuent énormément à la variation de la bioaccumulation des ETM. Parmi les facteurs abiotiques, les facteurs physicochimiques (température, salinité, oxygène dissous, pH...) du milieu jouent un rôle essentiel puisqu'ils influent à la fois sur la forme physicochimique des ETM donc sur leur biodisponibilité, mais également sur le métabolisme des espèces (osmorégulation, respiration, reproduction, activité trophique...) dont dépendent en partie les cinétiques d'accumulation et d'excrétion des ETM (Coimbra et Carraça, 1990 ; Grant, 1996). Ces facteurs environnementaux, sont spécifiques à un site et varient dans le temps (Karayücel et Karayücel, 2000).



Les résultats de la présente étude démontrent l'importance des apports anthropiques dans la contamination du golfe d'Annaba ainsi que du littoral d'El-Kala par les ETM du fait que les plus fortes concentrations en Cu, Zn et Cr observées sont relevées dans la glande digestive des organismes peuplant le site 3 (Cu et Cr) situé dans le golfe l'Annaba qui reçoit des rejets industriels, urbains et domestiques et le site 2 (Zn) situé dans le littoral d'El-Kala qui reçoit par le biais de l'oued Messida des rejets des eaux usées, des déchets agricoles etc...

Ces fortes concentrations dans la glande digestive de nos échantillons s'expliqueraient principalement par ces principaux rejets anthropogéniques du littoral de la ville d'Annaba, correspondant aux émissaires des eaux usées par les charges polluantes charriées par les oueds Seybouse et Mafragh, oued Forcha, oued Sidi Harb, oued Edheb, oued Kouba, oued Bouhdid et oued Bedjima sans aucun traitement préalable. Ces charges polluantes sont aussi sous l'influence de l'activité portuaire d'une part et d'un axe routier important d'autre part. L'oued Seybouse est un siège d'une importante activité agricole, industrielle et urbaine, il reçoit comme affluent l'oued Meboudja ; cet oued draine la zone dans laquelle est implantée toute l'industrie qui caractérise la région d'Annaba tel que le complexe sidérurgique dont les rejets sont directement déversés dans le Meboudja ; cette région abrite aussi un important dépôt de ciment, une usine de production de pare brise de voiture, des dépôts de produits ferreux récupérés, des rejets de stations de lavage et de vente de carburants. Cet oued reçoit, en plus, les égouts des agglomérations de Sidi Amar, Chaiba et El Hadjar qui ne cessent de se développer.

Le golfe d'Annaba reçoit aussi l'oued Bedjima qui draine les rejets domestiques d'une grande partie de la ville d'Annaba et sa périphérie (Boukhadra, Joannoville et son abattoir) et des rejets industriels (usine de production de soda), l'usine de récupération du plomb des batteries usagées. En plus de ces 2 oueds, le golfe d'Annaba reçoit directement les rejets de l'usine de production d'engrais (FERTIAL).

Des travaux antérieurs ont mis en évidence l'importance du complexe industriel FERTIAL dans l'émission de divers rejets dans l'atmosphère et dans l'eau du golfe d'Annaba (Semadi et Deruelle, 1993 ; Belabed *et al.*, 2008). De plus, les ETM Cu et Zn ont été détectés dans les sédiments du golfe (Abdenmour *et al.*, 2010 ; Belabed *et al.*, 2013b; Boutabia-Trea *et al.*, 2017; Belabed *et al.*, 2017) et dans les sédiments de surface du lac Tonga (l'oued Messida est la connexion du lac Tonga avec la mer Méditerranée) (Belabed *et al.*, 2013a).



Quant aux basses concentrations relevées dans le site 1, elles s'expliqueraient par l'éloignement de ce site des grandes sources de contamination.

Les préoccupations alimentaire et environnementale impliquent que l'on s'intéresse aux composés chimiques bioaccumulés par les Mollusques, les Crustacés et les Poissons. Une autre priorité oriente cette sélection vers les composés pour lesquels les concentrations ou les doses maximales admissibles sont réglementées. C'est le cas du Cu, Zn, Cd et Pb parmi les ETM. Pour autoriser la consommation de ces organismes comestibles, les législations internationales des organismes de réglementation ont fixé des concentrations maximales admissibles de certains ETM comme suit: pour l'Agence américaine de protection de l'environnement (USA EPA) : Cu $20 \mu\text{g g}^{-1}$ de poids humide et Zn $30 \mu\text{g g}^{-1}$ de poids humide; et pour l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) : Cu $30 \mu\text{g g}^{-1}$ de poids humide et Zn $50 \mu\text{g g}^{-1}$ de poids humide (Lavradas *et al.*, 2016).

En comparant les concentrations moyennes en ETM mesurées chez notre espèce avec les seuils de qualité sanitaire tolérés, il apparaît que les concentrations en Cu et Zn constituent un danger pour le consommateur, puisqu'elles sont supérieures aux doses maximales admissibles recommandées. Cette bioaccumulation est susceptible d'affecter les processus physiologiques de ce gastéropode. Ceci a été démontré chez les bivalves (Essedaoui et Sif, 2001 ; Sif *et al.*, 2002 ; Merzouki *et al.*, 2009).

En ce qui concerne le Cr, Belabed *et al.* (2013b) a signalé une assez forte contamination par cet ETM localisé dans des sites qui représentent une bonne partie de la zone « péri urbaine » du golfe d'Annaba.

Gharsallah (2002) a révélé aussi la présence du Cr dans le sédiment du même golfe. Les sources potentielles de cette contamination par le Cr seraient en relation avec les eaux usées qui se déversent dans le golfe sans aucun traitement préalable.

Ce métal, en plus de son origine géologique (Rain et Fernex, 1982 ; Anagnostou *et al.*, 1998 ; Boguer *et al.*, 1998) pourrait provenir de la sédimentation d'organismes morts ; Chiffoleau (1994) rapporte la présence de concentrations élevées en Cr au large et chez les Diatomées. Les résultats de l'analyse du sédiment des différents sites retenus à Skikda montrent la présence de cet élément mais à des concentrations nettement plus basses que celles signalées dans le golfe d'Annaba (Gueddah, 2003).



L'enrichissement en ETM dans l'ensemble des 3 sites au cours de la saison humide et pluvieuse a pour principale origine l'augmentation des charges polluantes métalliques dans les eaux de ruissellement des premières crues. Le caractère saisonnier de bioaccumulation des ETM a été observé chez diverses espèces de mollusques filtreurs (Kaimoussi *et al.*, 2001 ; Orban *et al.*, 2002 ; Khati *et al.*, 2008).

3. Variation spatio-temporelle des paramètres par l'analyse en composantes principales

L'utilisation de l'Analyse en Composantes Principales (ACP) comme une approche descriptive préliminaire et exploratoire a permis de visualiser la structuration de la variation temporelle et spatiale au niveau des trois sites en fonction de 26 variables : température de l'air (T_{air}), température de l'eau (T), pH, salinité (Sal), l'oxygène dissous (Oxy), conductivité (Cond), nitrates (Nitra), nitrites (Nitri), ammonium (Ammo), orthophosphates (Orth), matières en suspension (MES), chlorophylle "a" (Chla), Cu.e, Zn.e, Cr.e, GSH, GST, CAT, MDA, Mt, CuGD, ZnGD et CrGD.

Notre ACP (Fig. 48) montre clairement que les deux premiers axes factoriels ont restitué près de 43.54 % de l'information. L'axe 1 explique 24.16% de la variation totale, il est corrélé positivement avec les variables CrGD ($r = 0.76$), Oxy ($r = 0.74$), IHS ($r = 0.73$), MDA ($r = 0.72$), Cr.e ($r = 0.69$), Sal ($r = 0.64$), IC ($r = 0.59$), Nitri ($r = 0.58$), Nitra ($r = 0.57$) et cond ($r = 0.53$) qui contribuent fortement à la construction de cet axe ($\cos^2 = 0.57$, $\cos^2 = 0.55$, $\cos^2 = 0.53$, $\cos^2 = 0.51$, $\cos^2 = 0.47$, $\cos^2 = 0.40$, $\cos^2 = 0.35$, $\cos^2 = 0.34$, $\cos^2 = 0.33$ et $\cos^2 = 0.28$, respectivement) ; et négativement avec la variable ZnGD ($r = -0.67$), qui contribue elle aussi d'une façon importante à sa construction ($\cos^2 = 0.45$).

Par ailleurs, l'axe 2 explique 19.38% de la variation totale, il est construit essentiellement par les fortes corrélations positives des variables Zn.e ($r = 0.81$), ICL ($r = 0.67$) et Mt ($r = 0.54$) et les corrélations négatives des variables T ($r = -0.84$), GST ($r = -0.65$), T_{air} ($r = -0.57$) et CuGD ($r = -0.56$) qui contribuent fortement à sa construction ($\cos^2 = 0.65$, $\cos^2 = 0.44$, $\cos^2 = 0.31$, $\cos^2 = 0.71$, $\cos^2 = 0.42$, $\cos^2 = 0.33$ et $\cos^2 = 0.31$, respectivement).

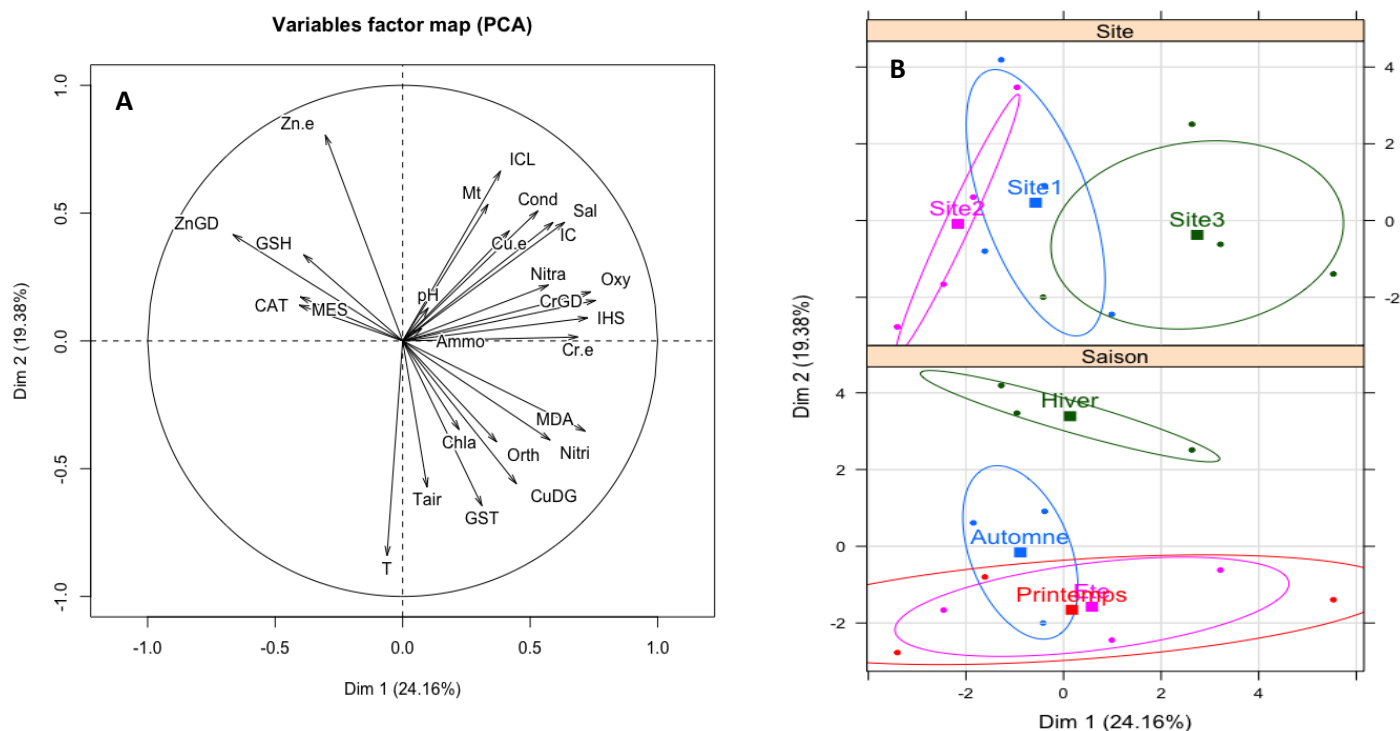


Figure 48 : Analyse en composante principale basée sur la variation inter-sites et saisonnière. Plan factoriel (1-2) : Axe 1 (24.16%), Axe 2 (19.38%). **A)** Cercle de corrélation des variables avec les deux premiers axes principaux. **B)** Projection des sites et des saisons sur les deux premiers axes principaux.

L'axe 1 explique bien une nette différence entre le groupe constitué des deux sites 1 et 2 qui représentent le littoral d'El Kala, et celui du site 3 représentant le golfe d'Annaba, dont ce dernier est caractérisé par des taux élevés en CrGD, Oxy, IHS, MDA, Cr.e, Sal, IC, Nitri, Nitra et cond, et des taux plus faibles en ZnGD par rapport aux autres sites. L'axe 2 nous a permis de dégager la spécificité de l'hiver par rapport aux autres saisons du fait qu'il est caractérisé par une T_{air} et une T basses ainsi que des taux plus élevés en Zn.e et Mt.

On peut conclure que l'axe 1 différencie les sites et l'axe 2 différencie les saisons.

4. Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) de la variation inter-sites

La figure 49 montre le dendrogramme issu de la CAH basée sur la variation inter-sites des paramètres mesurés. L'examen du dendrogramme indique l'existence de deux clusters. Le premier cluster englobe le site 3 qui correspondent à la plage du cap de Garde du golfe d'Annaba. Le deuxième cluster est constitué du site 1 (la plage Aouinète) et du site 2 (la plage Messida) qui représentent le littoral d'El Kala.

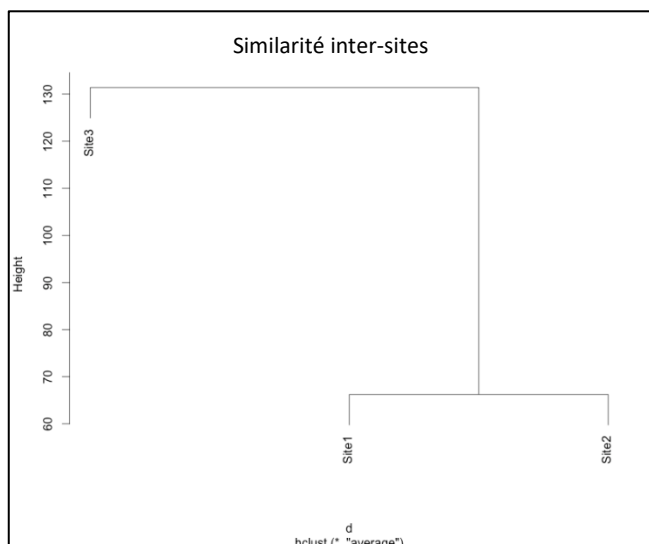


Figure 49 : Classification ascendante hiérarchique des sites d'échantillonnage selon la variation des paramètres mesurés.

Site 1 : Plage Aouinète, Site 2 : Plage Messida et Site 3 : Cap de Garde.

En général, la typologie du dendrogramme obtenue par la CAH concorde avec nos résultats sur la variation spatiotemporelle des paramètres mesurés.

La présence du Cr dans l'eau et dans la glande digestive de *S. haemastoma* ainsi que l'augmentation de la peroxydation des lipides est plus marquée au niveau du site 3 qui représente le golfe d'Annaba. En effet, selon plusieurs travaux cités auparavant, la pollution métallique est relativement élevée au niveau de l'eau et des sédiments dans ce golfe.

5. Niveau de pollution

La variation spatiotemporelle de l'indice de pollution multibiomarqueurs est indiquée dans le [tableau 60](#). Les résultats obtenus ont indiqué que les valeurs les plus élevées ont été retrouvées au niveau des deux sites 2 et 3 (MPI = 38, MPI = 36, respectivement) et les valeurs les plus faibles ont été retrouvées au niveau du site 1 (MPI = 20). Pour la tendance temporelle, les saisons printanière et estivale ont eu les valeurs les plus élevées en MPI comparées aux saisons automnale et hivernale.

Le MPI est converti en cinq niveaux de pollution qui sont représentés sous forme de couleurs. Ces dernières sont rapportées respectivement dans la [figure 50](#).



Au cours de la période d'étude, le MPI est apparu relativement faible au niveau du site 1 (une couleur verte) ce qui permet de le classer à un niveau peu pollué. Quant aux deux sites 2 et 3, la couleur a varié entre le vert et le jaune ce qui nous permet de les classer entre peu et modérément pollué.

Tableau 60 : Variation spatiotemporelle du MPI des trois sites d'étude.

Saison	Site	Indice de réponse				MPI
		GST	CAT	MDA	Mt	
Automne	1	3	10	4	3	20
	2	12	4	4	12	32
	3	6	4	10	6	26
Hiver	1	4	10	4	4	22
	2	4	10	4	4	22
	3	10	4	10	10	34
Printemps	1	6	6	4	4	20
	2	12	12	4	10	38
	3	3	3	10	10	26
Eté	1	10	4	4	3	21
	2	4	10	4	6	24
	3	10	4	10	12	36

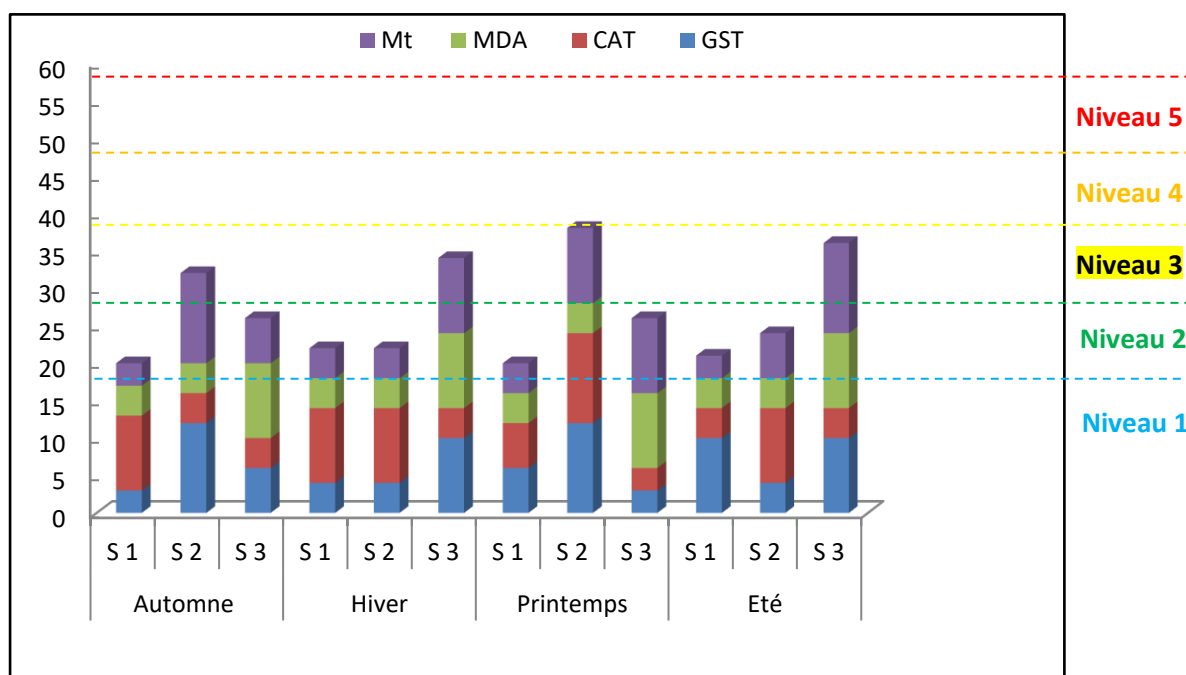


Figure 50 : Niveau de pollution des trois sites.



Afin de déterminer le niveau de la pollution du golfe d'Annaba et du littoral d'El-Kala, nous avons utilisé une approche globale fondée sur la mesure des biomarqueurs, cette approche pratique est basée sur la détermination du MPI en tenant compte des critères biologiques pour classer les sites surveillés sur une échelle de 5 niveaux de pollution (Banni *et al.*, 2005). L'analyse discriminante a indiqué une différence significative inter-sites.

Les sites d'échantillonnage peuvent être classés en utilisant la moyenne des MPI des 4 saisons comme suit : le site 1 (MPI = 20,75), le site 2 (MPI = 29) et le site 3 (MPI = 30,5).

Ces données confirment les résultats obtenus précédemment et nous ont permis d'avoir une vision assez juste du niveau de contamination des sites retenues dans le cadre de cette étude.

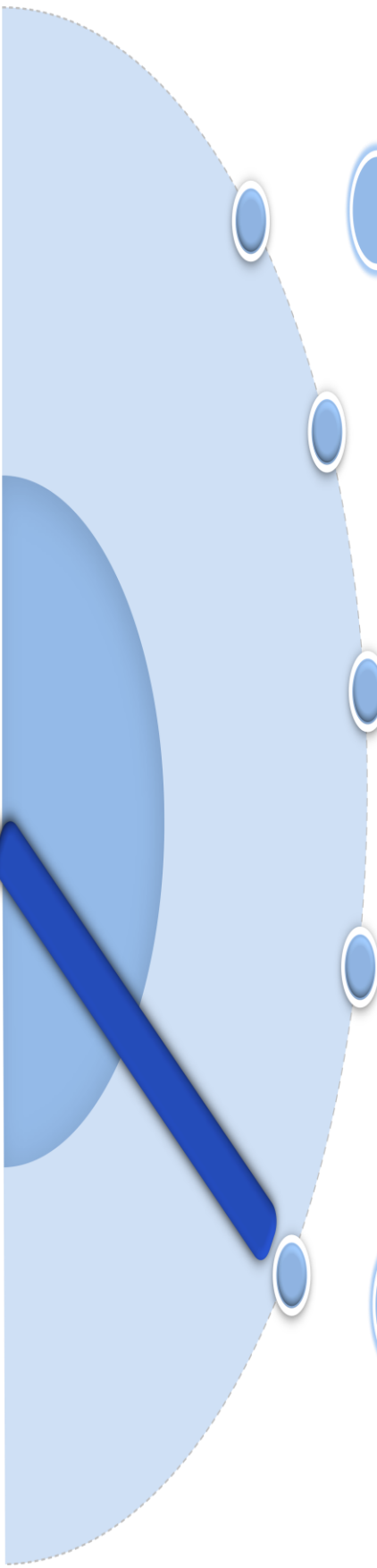
L'utilisation d'un indice de biomarqueur a facilité la comparaison entre les sites : le site 1 est le moins contaminé, le site 3 est le plus contaminé alors que le site 2 est intermédiaire (entre les deux sites 1 et 3).

Cette contamination s'expliquerait par l'importance des apports naturels en ETM, liés à la nature des sols et à l'érosion, et d'origine anthropogène.

Le site 1 est le plus éloigné des sources de pollution, le site 3 se situe dans le golfe d'Annaba qui reçoit de nombreux oueds et rejets urbains et industriels et le site 2 reçoit par le biais de l'oued Messida des rejets des eaux usées, des déchets agricoles etc... Les apports des oueds peuvent être considérés comme une source d'apport des ETM, de pesticides et de sels nutritifs.

La présence des ETM s'expliquerait, non seulement, par la proximité des sites aux sources de pollution mais serait aussi liée à d'autres paramètres environnementaux tel que les vents qui transportent sur de grandes distances divers contaminants. Ceci a déjà été indiqué par Chaoui *et al.* (2013), Bougherira *et al.* (2015) et Keblouti *et al.* (2015).

La comparaison des résultats obtenus des MPI avec d'autres études réalisées précédemment en Méditerranée, nous indique que nos résultats sont inférieurs à ceux déjà retrouvés dans les zones côtières Françaises (15-48), Italiennes (12-49), Espagnoles (15-45) (Narbonne *et al.*, 2005) et Tunisiennes (29-52) (Banni *et al.*, 2005). Il en est de même pour les zones côtières Allemandes (28-56) et Polonaises (19-42) de la mer Baltique (Narbonne *et al.*, 1999), ainsi que les zones côtières Grecques (21-54) et Italiennes (31-41) de la mer Adriatique (Narbonne *et al.*, 2001).



Introduction

Synthèse bibliographique

Matériel et Méthodes

Résultats et discussions

Conclusions et perspectives



Conclusion et perspectives

L'objectif de cette thèse était le diagnostic de l'état de santé de la zone côtière de l'Est Algérien en mettant en valeur les potentialités du Mollusque Gastéropode *Stramonita haemastoma* en tant qu'espèce sentinelle utilisable pour la surveillance de la pollution métallique du milieu marin.

L'originalité de cette étude réside dans sa pluridisciplinarité via l'utilisation d'une approche multi-marqueurs basée sur le suivi des indices biologiques, biochimiques et l'estimation des concentrations et de la biodisponibilité des ETM (Cu, Zn, Cr, Cd et Pb) chez cette espèce au niveau de trois sites du littoral Nord-Est Algérien : la plage Aouinète (Site 1) et la plage Messida (Site 2) qui représentent le littoral d'El-Kala et le Cap de garde (Site 3) au niveau du golfe l'Annaba.

D'une manière générale, l'ensemble des résultats reflètent des variations saisonnières et inter-sites significatives des différents paramètres mesurés.

Les paramètres physicochimiques montrent une certaine homogénéité spatiale (à l'exception de la salinité et les nitrates). Cependant, les fluctuations temporelles sont directement liées aux conditions climatiques saisonnières : la température est l'un des facteurs qui répond le mieux au changement climatique. Le dosage des sels nutritifs a permis d'indiquer que l'eutrophisation est plus marquée et appréciable au niveau du site 3 par rapport aux autres sites, durant toute la période d'étude.

Le suivi des variations des indices biologiques a montré des fluctuations spatio-temporelles. Par ailleurs, ces données permettent de distinguer deux périodes de ponte, se situant l'une au printemps et l'autre à la fin de la période estivale entre la fin de l'été et le début de l'automne.

Cette étude a révélée aussi que les biomarqueurs mesurés sont des paramètres sensibles et inductibles, leur variation spatio-temporelle chez le gastéropode *S. haemastoma* peut être expliquée par la combinaison de deux facteurs majeurs ; un facteur abiotique qui englobe le changement des conditions environnementales (température, salinité ...) et le niveau de contamination chimique sur chaque site étudié (présence des ETM dans l'eau)



et un deuxième facteur biotique qui concerne l'état physiologique et le stade de reproduction de ce gastéropode sur chacun des sites étudiés. Le changement de saison signifie un changement de l'ensemble de ces facteurs.

La réponse des différents biomarqueurs étudiés résulterait d'une part, des perturbations anthropiques (rejets urbains, industriels et agricoles) et d'autre part de la localisation du site et de son hydrodynamisme.

Il ressort aussi de cette étude que les concentrations en ETM relevées dans l'eau et dans la glande digestive de *S. haemastoma* du golfe d'Annaba et du littoral d'El-Kala sont significatives. De ce fait, ces concentrations reflètent d'une manière claire les niveaux de pollution des deux littoraux. Cette charge polluante perturbe l'état physiologique des animaux et peut avoir une influence sur leur système antioxydant et de ce fait sur la croissance et l'évolution de l'espèce.

Il nous est difficile de faire des comparaisons pour *S. haemastoma* avec d'autres travaux réalisés sur la même espèce, vu l'absence de données disponibles sur les biomarqueurs et l'accumulation des ETM chez ce gastéropode, ce qui constitue un des points positifs de cette thèse.

La batterie des paramètres appliqués, y compris les paramètres chimiques, biotiques, abiotiques et biochimiques, ainsi que l'application de l'indice de pollution multibiomarqueurs calculé à partir des données des biomarqueurs mesurés dans la glande digestive de *S. haemastoma*, ont fourni une discrimination des sites étudiés avec différents niveaux de contamination : le site 3 paraît comme le site le plus pollué, suivi du site 2 tandis que le site 1 est le moins pollué.

Enfin, à l'issue de ce travail et au vu des résultats obtenus, *S. haemastoma* a permis de communiquer une vision réaliste de la qualité chimique de l'ensemble des milieux étudiés, elle pourrait constituer un organisme sentinelle modèle tout à fait satisfaisant dans le cadre d'une approche multibiomarqueurs pour la surveillance de la pollution métallique au milieu côtier méditerranéen.



Les résultats pertinents qu'on a obtenus dans le cadre de cette étude ouvrent certaines perspectives d'étude qu'il serait judicieux d'entreprendre :

- Évaluer l'état d'abondance (abondance et structure de la taille) de ce gastéropode au niveau du littoral Est Algérien, puisqu'il semble n'y avoir aucune donnée sur l'état de la population dans cette partie de la Méditerranée, afin de comparer nos résultats à d'autres données bibliographiques disponibles et déterminer s'il existe des différences dans les structures de la population.
- Étudier les relations allométriques (relations entre les paramètres métriques et pondéraux) et de la variation saisonnière des indices biométriques de notre espèce.
- Étudier les variations des biomarqueurs en conditions contrôlées au laboratoire (essais permettant d'identifier les niveaux d'exposition sans dangers ou au contraire associés à l'apparition d'effets indésirables réversibles ou non). En effet, la réalisation d'études sous conditions contrôlées pourrait permettre une meilleure compréhension des interactions biomarqueurs-contaminants et de leur prise en compte dans l'interprétation des résultats obtenus *in situ*.
- Utiliser un mélange de polluants lors d'expérimentation au laboratoire pour se rapprocher du milieu naturel.
- Réaliser des évaluations des concentrations de polluants organiques persistants "POPs" (polychlorobiphényles "PCBs", Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques "HAPs").
- Évaluer l'effet des contaminants chimiques sur notre espèce par l'étude des biomarqueurs de génotoxicité (test des comètes, test des micronoyaux).
- Proposer un modèle de classification des biomarqueurs sous forme d'indices écotoxicologiques pour l'évaluation du potentiel de risque des sites côtiers, afin de pouvoir cartographier le gradient de pollution sur le littoral Nord-Est Algérien.
- Étudier d'autres paramètres de la reproduction comme par exemple l'ultrastructure des gonades mâles et femelles peut permettre d'apporter des éléments de réponse à l'interprétation globale des résultats.



- Évaluer l'impact des ETM sur l'activité des biomarqueurs du stress environnemental chez les individus de notre espèce durant une période d'exposition de 96 h suivie d'une période de restauration pendant 96 h (transfert des individus traités dans une eau non contaminée) et analyser la bioaccumulation des ETM dans les différents organes de l'individu.
- Étudier le phénomène d'imposex chez *S. haemastoma*.

De manière générale, pour mener à bien une étude de biosurveillance afin de mieux gérer et comprendre la répercussion de la pression anthropique sur les organismes marins et les populations animales de manière globale, il nous faudrait agir inexorablement sur les points suivants :

- Faire de la surveillance environnementale par le biais de biomarqueurs une pratique courante le long des côtes algériennes, ceci permettrait à long terme l'obtention d'une base de données fiables, acquises en suivant des méthodes normalisées et qui pourra servir de référence aux surveillances futures.
- Doter le pays de réseaux de surveillance couvrant la totalité du territoire côtier afin de surveiller la qualité du milieu marin, et par la suite élaborer une politique environnementale basée sur l'objectif d'un développement durable en vue de protéger les ressources biologiques et par voie de conséquence, la santé humaine.

« *Tout est toxique, rien n'est toxique : c'est une question de dose.* »

« *L'équilibre du milieu intérieur est la condition d'une existence libre et indépendante.* »

Claude Bernard, (1813-1878)



Références
bibliographiques

Webographie

Annexes



Références bibliographiques

A

- Aarab, N., 2004.** Les biomarqueurs chez les poissons et les bivalves: de l'exposition à l'effet et du laboratoire au terrain, sciences de l'environnement. Thèse de doctorat, Ecotoxicologie des milieux aquatique, Université Bordeaux 1, 276 p.
- Aarab, N., Champeau, O., Mora, P., Daubeze, M., Garrigues, P., Narbonne, J.F., 2004.** Scoring approach based on fish biomarkers applied to French river monitoring. *Biomark.* 9, 258-270.
- Abbassi, M., Banaoui, A., Kaaya, A., Elkhoul, A., Nadir, M., Lefrere L., 2015.** Biomarker approach to the assessment of the health status of Moroccan marine ecosystems: Preliminary study in Sidi Ifni coast (South of Morocco). *J. Mater. Environ. Sci.* 6(11), 3086-3093.
- 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.
- Abdenmour, C., Drif, F., Boulakoud, M.S., Ounissi, M., 2010.** Trace metals in the mussel *Donax trunculus* of Annaba estuaries, Algeria. *Oceanography* 1(6), 15-20.
- Abdenmour, C., Smith, B.D., Boulakoud, M.S., Samraoui, B., Rainbow, P.S., 2000.** Trace metals in shrimps and sediments from Algerian water. *J. Catalog. Mat. Env.* 3, 9-12.
- Adams, J.D., Lauterburg, B.H., Michel, J.R., 1983.** Plasma glutathione and glutathione disulfide in the rat: Regulation and response to oxidative stress. *Pharmacol. Experim. THERAP.* 227, 749-754.
- Afri-Mehennaoui, F.Z., 1998.** Contribution à l'étude physico-chimique et biologique de l'oued Kebir-Rhumel et de ses principaux affluents. Mémoire de magister en écologie. Université de Constantine, 237 p.
- Ah-Peng, C., 2003.** Mise au point d'un outil diagnostic basé sur l'utilisation de la mousse aquatique *Fontinalis antipyretica* Hedw en culture pour l'estimation de la qualité des cours d'eau. Diplôme de recherches technologiques. Université de Lille II, 187 p.



- Aït-Aïssa, S., Palluel, O., Porcher, J.M., 2003.** Biomarqueurs précoces d'écotoxicité. INERIS, rapport final DRC 00-102. 49 p.
- Akcha, F., Izuel, C., Venier, P., Budzinski, H., Burgeot, T., Narbonne, J.F., 2000.** Enzymatic biomarker measurement and study of DNA adduct formation in benzo[α]pyrene contaminated mussels, *Mytilus galloprovincialis*. *Aquat. Toxicol.* 49(4), 269-287.
- Allouti, N., 2011.** Etude biologique de deux néreidés : *Pernereis cultrifera* et *Nereis falsa* (Annélides, Polychètes) dans l'est algérien (El-kala) : cycle de reproduction, activité biochimique et enzymatique. Mémoire de magister. Option : Ecotoxicologie. Université d'Annaba. 87 p.
- Almamoori, A.M.J., Salman, J.M., Hughes, R., Al-Saadi, A.A.H., 2013.** Biochemical changes in two species of molluscs as environmental biomarkers of pollution in Hilla river, Iraq. *I.J.S.N.* 4, 40-43.
- Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., Berthet, B., Metayer, C., 1986.** Contribution to the ecotoxicological study of cadmium, lead, copper and zinc in the mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.* 90(3), 425-431.
- Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., Ballan-Dufrançais, C., Berthet, B., Jeantet, A.Y., Martoja, R., Truchet, M., 1989.** Study of the bioaccumulation at the molecular, cellular and organism levels of lead and copper transferred to the oyster *Crassostrea gigas* Thunberg directly from water or via food. *Polsh. Acad. Sci., Inst. Oceanol.*, ed. 34, 521-529.
- Amiard, J.C., Caquet, T., Lagadic, L., 1998.** Les biomarqueurs parmi les méthodes d'évaluation de la qualité de l'environnement.
- Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., Barka, S., Pellerin, J., Rainbow, P.S., 2006.** Metallothioneins in aquatic invertebrates: their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquat. Toxicol.* 76(2), 160-202.
- Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., Aitzar, F.A., Berth, B., Cossuleguille, 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. Ed. Tec & Doc, France, 375 p.



- Amiard-Triquet, C., 2009.** Behavioural disturbances: the missing link between sub-organismal and supra-organismal responses to stress? Prospects based on aquatic research. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 15(1), 87-110.
- Amiard-Triquet, C., Amiard, J.C., 1998.** Influence of ecological factors on accumulation of metal mixtures. In: Langston, J.W., Bebianno, M.J. (eds.). *Metal Metabolism in Aquatic Environments*. Chapman and Hall, London, UK, 351-386.
- Amiard-Triquet, C., Rainglet, F., Larroux, C., Regoli, F., Hummel, H., 1998.** Metallothioneins in Arctic bivalves. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 41(1), 96-102.
- Amiard-Triquet, C., Berthe, T., Créach, A., Denis, F., Dourou, C., Gévaert, F., Mouneyrac, C., Ramond, J.B., Petit, F., 2009.** Tolerance in organisms chronically exposed to estuarine pollution. In: Amiard-Triquet, C., Rainbow, P.S. *Environmental assessment of estuarine ecosystems, a case study*. Eds: CRC Press / Taylor and Francis Group. Chapitre 7, 135-157.
- Aminot, A., Chaussepied, M., 1983.** Manuel des analyses chimiques en milieu marin. CNEXO.Brest, 395 p.
- Aminot, A., Kérouel, R., 2004a.** Nutriments minéraux dissous (nitrite, nitrate, ammonium, phosphate, silicate). In: Aminot, A., Kérouel, R. (Eds.). *Hydrobiologie des écosystèmes marins : paramètres et analyses*. Edition Ifremer. Brest., 217-283.
- Aminot, A., Kérouel, R., 2004b.** Caractéristiques physicochimiques majeures. In : Aminot, A., Kérouel, R. (Eds.). *Hydrobiologie des écosystèmes marins : paramètres et analyses*. Edition Ifremer. Brest, 41-37.
- Amira, A., Sifi, K., Soltani, N., 2011.** Measure of environmental stress biomarkers in *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba (Algeria). *Euro. J. Exp. Bio.* 1 (2), 7-16.
- Amri, S., 2018.** Utilisation de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) en tant que bioindicateur général de la qualité du milieu marin. Thèse de doctorat. Option : biologie animale. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. 183 p.
- Amri, S., Bensouilah, M., Ouali, K., 2017a.** Variation of the condition index and sex-ratio of the sea Urchin *Paracentrotus lividus* in the Southeast Mediterranean. *J. Biol. Sci.* 17, 76-83.



- Amri, S., Samar M.F., Sellem F., Ouali K., 2017b.** Seasonal antioxidant responses in the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck 1816) used as a bioindicator of the environmental contamination in the South-East Mediterranean. *Mar. Pollut. Bull.* 122(1-2), 392-402.
- Anagnostou, C., Kaberi, H., Karageorgie, A., 1998.** Horizontal and vertical distribution of heavy metals in sediment from thermaikos golf. *Rapport du 35^{ème} Congrès (Dubrovnik); CIESM*, 313 p.
- Andral, B., Alzieu, C., 2004.** Emploi d'une méthode de transplantation de mollusques pour l'évaluation de l'impact des immersions des sédiments drogues. IFREMER. Centre de Toulon. La Seyne sur mer.
- Andrews, G.K., 2000.** Regulation of metallothionein gene expression by oxidative stress and metal ions. *Biochem. Pharmacol.* 59(1), 95-104.
- Andujar, P., Bensefa-Colas, L., Descatha, A., 2010.** Intoxication aiguë et chronique au cadmium. *La Revue de médecine interne* 31(2), 107-115.
- Angilletta, M.J., Sears, M.W., 2000.** The metabolic cost of reproduction in an oviparous lizard. *Funct. Ecol.* 14(1), 39-45.
- Anonyme, 2007.** Britannica Encyclopedia. Sociedad Comercial y Editorial Santiago Ltda. Lima, 2800.
- Arrigo, A.P., 1999.** Gene expression and the thiol redox state. *Free Rad. Biol. Med.* 27, 936-944.
- Astruc, M., 2001.** Les effets des Métaux lourds sur l'Environnement et la santé, 366 p.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 1988.** Toxicological Profile for Chromium, Syracuse Research Corporation for U.S. Public Health Service, 135 p. (ATSDR/TP-88/10).
- ATSDR, 1990.** Toxicological profiles for copper. Agency for toxic substances and disease registry, atlanta, GA: US department of Health and Human Services, Public Health Services. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html>.
- Avci, A., Kaçmaz, M., Durak, I., 2005.** Peroxidation in muscle and liver tissues from fish in a contaminated river due to a petroleum refinery industry. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60(1), 101-105.



Avery, S., Howlett, N., Radice, S., 1996. Copper toxicity towards *Saccharomyces cerevisiae*: Dependence on plasma membrane fatty acid composition. Appl. Environ. Microbiol. 62, 3960-3966.

B

Bachari-Houma, F., 2011. Monitoring et étude de la pollution dans les eaux marines et les sédiments superficiels de la côte algéroise: modélisation et impact sur l'environnement. Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral, 23 p.

Balbi, T., Fabbri, R., Montagna, M., Camisassi, G., Canesi, L., 2017. Seasonal variability of different biomarkers in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) farmed at different sites of the Gulf of La Spezia, Ligurian sea, Italy. Mar. Pollut. Bull. 116(1-2), 348-356.

Bankaji, I., 2015. Réponses physiologiques et tolerance aux contraintes saline et métallique chez deux halophytes autochtones: *Suaeda fruticosa* et *Atriplex halimus*. Thèse de doctorat en sciences biologiques (Spécialité : Physiologie végétale). Université de Carthage, Tunisie, 276 p.

Bankaji, I., Caçador, I., Sleimi, N., 2016. Assessing of tolerance to metallic and saline stresses in the halophyte *Suaeda fruticosa*: the indicator role of antioxidative enzymes. Ecol. Indic. 64, 297-308.

Banni, M., Jebali, J., Daubeze, M., Clerandau, C., Guerbej, H., Narbonne, J. F., Boussetta, H., 2005. Monitoring pollution in Tunisian coasts : application of a classification scale based on biochemical markers. Biomarkers 10, 105-116.

Banni, M., Dondero, F., Jebali, J., Guerbej, H., Boussetta, H., Viarengo, A., 2007. Assessment of heavy metal contamination using real-time PCR analysis of mussel metallothionein mt10 and mt20 expression: a validation along the Tunisian coast. Biomarkers 12 (4), 369-383.

Banni, M., Bouraoui, Z., Ghedira, J., Clearandau, C., Jebali, J., Boussetta, H., 2009. Seasonal variation of oxidative stress biomarkers in clams *Ruditapes decussatus* sampled from Tunisian coastal areas. Environ. Monit. Assess. 155 (1-4), 119-128.



- Barda, L., Purina, I., Rimsa, E., Balode, M., 2014.** Seasonal dynamics of biomarkers in infaunal clam *Macoma balthica* from the Gulf of Riga (Baltic sea). *J. Mar. Syst.* 129, 150-156.
- Barhoumi, B., Le Menach, K., Clérandeau, C., Ben Ameer, W., Budzinski, H., Driss, M.R., Cachot, J., 2014.** Assessment of pollution in the Bizerte lagoon (Tunisia) by the combined use of chemical and biochemical markers in mussels, *Mytilus galloprovincialis*. *Mar. Pollut. Bull.* 84(1-2), 379-390.
- Barillé, A.N., 1996.** Contribution à l'étude des potentialités conchylicoles du Pertuis Breton. Thèse de doctorat en biologie. Université d'Aix-Marseille 2.
- Barnabé, G., 1991.** Bases biologiques et écologiques de l'aquaculture. Edition Lavoisier. France. 489 p.
- Bast, A., Haenen, G.R.M.M., 1984.** Cytochrome P-450 and glutathione, what is the significant of their Inter-relationship in lipid peroxidation. *Trends Biochem. Sci.* 9, 510-513.
- Baumard, P., Budzinski, H., Garrigues, P., Narbonne, J.F., Burgeot, T., Michel, X., Bellocq, J., 1999.** Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) burden of mussels (*Mytilus* sp.) in different marine environments in relation with sediment PAH contamination, and bioavailability. *Mar. Environ. Res.* 47(5), 415-439.
- Beauchamp, J., 2003.** La pollution littorale, qualité et gestion de l'eau. <http://www.upicardie.fr/beauchamp/cours.qge/pol-litt/pol-litt.htm>
- Beupoil, C., Bornens, P., 1997.** Oxygène dissous et toxicité de l'ammoniaque en zones estuariennes : seuils d'acceptabilité. *Station de Biol. Mar. (Concarneau)*. Ed. Agence de l'Eau Loire-Bretagne, 48 p.
- Bebianno, M.J., Company, R., Serafim, A., Camus, L., Cosson, R.P., Fiala-Médoni, A., 2005.** Antioxidant systems and lipid peroxidation in *Bathymodiolus azoricus* from Mid-Atlantic Ridge hydrothermal vent fields. *Aquat. Toxicol.* 75(4), 354-373.
- Bebianno, M.J., Langston, W.J., 1991.** Metallothionein induction in *Mytilus edulis* exposed to cadmium. *Mar. Bio.* 108(1), 91-96.
- Bebianno, M.J., Langston W.J., 1992.** Cadmium induction of metallothionein synthesis in *Mytilus galloprovincialis*. *Comp. Biochem. Physiol. C, Comp. Pharmacol.* 103(1), 79-85.



- Bebianno, M.J., Serafim, M.A., 1998.** Comparison of metallothionein induction in response to cadmium in the gills of the bivalve molluscs *Mytilus galloprovincialis* and *Ruditapes decussatus*. *Sci. Total. Environ.* 214, 123-131.
- Bebianno, M.J., Serafim M.A., 2003.** Variation of metal and metallothionein concentrations in a natural population of *Ruditapes decussatus*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 44 (1), 53-66.
- Belabed, B.E., 2010.** La pollution par les métaux lourds dans la région d'Annaba « Sources de contamination des écosystèmes aquatiques ». Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie. 176 p.
- Belabed, B.E., Djabourabi, A., Bensouilah, M., 2008.** Teneurs en Plomb, Cadmium, Mercure et Zinc relevées dans la chair de la moule, *Perna perna*, dans le littoral d'Annaba. *Revue Synthèse des sciences et de la technologie de l'université Badji Mokhtar-Annaba*, 18, 12-22.
- Belabed, B.E., Frossar, V., Dhib, A., Turki, S., Aleya, L., 2013a.** What factors determine trace metal contamination in Lake Tonga (Algeria)? *Environ. Monit. Assess.* DOI 10.1007/s10661-013-3300-6.
- Belabed, B.E., Laffray, X., Dhib, A., Fertouna-Belakhal, M., Turki, S., Aleya, L., 2013b.** Factors contributing to heavy metal accumulation in sediments and in the intertidal mussel *Perna perna* in the Gulf of Annaba (Algeria). *Mar. Pollut. Bull.* 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. *Environ. Monit. Assess.* 189(6), 265. DOI: 10.1007/s10661-017-5968-5.
- Belabed, S., Soltani, N., 2013.** Acute toxicity of cadmium on *Donax trunculus*: acetylcholinesterase, glutathione S-transferase activities and pattern of recovery. *Euro. J. Exp. Bio.* 3(2), 54-61.
- Belaud, A., 1996.** Oxygénation de l'eau en aquaculture intensive. Cépadués-Ed, collection Polytech, 207 p.
- Belbacha, S., 2008.** Contribution à la connaissance de la biodiversité marine de la région d'El Kala (Est Algérien). Thèse de magister, Univ. Badji Mokhtar, Annaba, 90 p.



- Beldi, H., Gimbert, F., Maas, S., Scheiffler, R., Soltani, N., 2006.** Seasonal variations of Cd, Cu, Pb, and Zn in the edible mollusc *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from gulf of Annaba, Algeria. *Afric. J. Agric. Res.* 1(4), 85-90.
- Belhaouari, B., Rouane-Hacene, O., Bouhadiba, S., Boutiba, Z., 2011.** Utilisation d'un Gastéropode marin *Osilinus turbinatus* en biosurveillance marine : application aux métaux lourds du littoral algérien occidental. *J. Sci. Hal. Aquat.* 3, 89-96.
- Ben Bouih, H., 2000.** Contribution à l'évaluation de la pollution métallique des zones humides de la région du Gharb, cas du lac Fouarat. Thèse de Doctorat, Université Ibn Tofaïl, kénitra, 200 p.
- 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. *Mar. Pollut. Bull.* 95(1), 385-394.
- Benchikh, N., 2009.** Etude de la croissance et cycle de reproduction de la moule *Perna perna* dans le golf d'Annaba et le littoral d'El Kala. Thèse de Magister, Université Badji Mokhtar, Annaba, 99 p.
- Bendoula, M.C., Taibi, A., Bentaallah, M.E.A., 2017.** Abondance et structure démographique d'un prédateur des patelles *Stramonita haemastoma* (Linné, 1767) à l'ouest du littoral algérien *Bull. Soc. zool. Fr.* 142(2), 77-85.
- Bendschneider, K., Robinson, R.J., 1952.** A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. *J. Mar. Res.* 11, 87-96.
- Benhalima, L., Bensouilah, M., Ouzrout, R., 2015.** Antibiotic-resistant bacteria isolated from waters of Messida coastal canal within an agricultural area (North-East Algeria). *Adv. Environ. Biol.* 9(18), 147-156.
- Benito, V., Devesa, V., Munoz, O., Suner, M.A., Montoro, R., Baos, R., Hiraldo, F., Ferrer, M., Fernandez, M., Gonzalez, M.J., 1999.** Trace elements in blood collected from birds feeding in the area around Donana National Park affected by the toxic spill from the Aznalcollar mine. *Sci. Total Environ.* (1-3), 309-323.
- Bennasser, L., Fekhaoui, M., Mameli, O., Melis, P., 2000.** Assessment of the metallic contamination of the low Sebou sediments. *Anal. Chim.* 90, 637-644.



- Bensouda, L., Soltani-Mazouni, N., 2014.** Measure of oxidative stress and neurotoxicity biomarkers in *Donax trunculus* from the Gulf of Annaba (Algeria): Case of the year 2012. *Annu. Res. Rev. Biol.* 4(12), 1902-1914.
- Bentayeb, I., Mechtouf, M., 2007.** Evaluation du niveau de pollution des effluents du complexe de raffinage de Skikda (RA1K). Mémoire d'ingénieur d'état en Ecologie et Environnement. Université de Constantine. 125 p.
- Bergayou, H., Mouneyrac, C., Pellerin, J., Moukrim, A., 2009.** Oxidative stress responses in bivalves (*Scrobicularia plana*, *Cerastoderma edule*) from the Oued Souss estuary (Morocco). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72(3), 765-769.
- Bernardi-Auby, F., Acri, F., 2004.** Phytoplankton seasonality and exchange at the inlets of the lagoon of Venice (July 2001-June 2002). *J. Mar. Syst.* 51, 65-76.
- Bhaby, S., Belhsen, O.K., Errhif, A., 2014.** *Mytilus galloprovincialis*; Reproduction Activity and Mantle Structure in a Zone Located in the Northwest of the Atlantic ocean (Imessouane, Morocco). *J. Mar. Biol. Oceanogr.* 3(1). DOI: 10.4172/2324-8661.1000124.
- Bhutta, Z.A., Black, R.E., Brown, K.H., Meeks Gardner, J., Gore, S., Hidayat, A., Khatun, F., Martorell, R., Ninb, N.X., Penny, M.E., Rosado, J.L., Roy, S.K., Ruel, M., Sazawal, S., Shankar, A., 1999.** Prevention of diarrhea and pneumonia by zinc supplementation in children in developing countries: Pooled analysis of randomized controlled trials. *J. Pediatr.* 135(6), 689-697.
- Bianchi, F., Ravagnan, E., Acri, F., Bernardi-Auby, F., Boldrin, A., Camatti, E., Cassin, D., Turchetto, M., 2004.** Variability and fluxes of hydrology, nutrients and particulate matter between the Venice lagoon and the Adriatic sea. Preliminary results (years 2001-2002). *J. Mar. Syst.* 51, 49-64.
- Blaise, C., Gagne, 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*. *Environ. Toxicol.* 17, 170-186.
- Blanchette, B.N., Singhb, R., 1999.** Purification and characterization of the Glutathione S-transferases from the northern quahog *Mercenaria mercenaria*. *Mar. Biotechnol.* 1, 74-80.



- Blandin, P., 1986.** Bioindicateur et diagnostic des systèmes écologiques. Bulletin d'Ecologie 17, 1-309.
- Bodin, N., Burgeot, T., Stanisière, J.Y, Bocquené, G., Menard, D., Minier, C., Boutet, I., Amat, A., Cherel, Y., Budzinski, H., 2004.** Seasonal variations of a battery of biomarkers and physiological indices for the mussel *Mytilus galloprovincialis* transplanted into the northwest Mediterranean Sea. Comp. Biochem. Physiol. Part C 138, 411-427.
- Boguer, D., Juracic, M., Barie, A., 1998.** Cr and Vi content in sediment from Kastela bay, Adriatic sea, Croatia », rapport du 35^{ème} congrès Croatia (Dubrovnik), CIESM, 313 p.
- Bonneris, E., Perceval, O., Masson, S., Hare, L., Campbell, P.G.C., 2005.** Sub-cellular partitioning of Cd, Cu and Zn in tissues of indigenous unionid bivalves living along a metal exposure gradient and links to metal-induced effects. Environ. Pollut. 135(2), 195-208.
- Borchardt, T., 1985.** Relationship between carbon and cadmium uptake in *Mytilus edulis*. Mar. Biol. 85, 233-244.
- Borković, S.S., Saponjić, J.S., Pavlović, S.Z., Blagojević, D.P., Milosević, S.M., Kovacević, T.B., Radojčić, R.M., Spasić, M.B., Zikić, R.V., Sačić, Z.S., 2005.** The activity of antioxidant defense enzymes in the mussel *Mytilus galloprovincialis* from the Adriatic Sea. Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol. 141(4), 366-74.
- Borvinskaya, E.V., Sukhovskaya, I.V., Kochneva, A.A., Vasilyeva, O.B., Nazarova, M.A., Smirnov, L.P., Nemova, N.N., 2016.** Seasonal Variability of Some Biochemical Parameters in the Whitefish (*Coregonus muksun* and *Coregonus lavaretus*). Contemp. Probl. Ecol. 9(2), 195-202.
- Boucetta, S., Beldi, H., Draredja, B., 2016a.** Effects of metal pollution on the activities of Acetylcholinesterase and glutathione -S transferase in *Phorcus (Osilinus) turbinatus* (Gastropoda, Trochidae) of the coast East Algerian. Adv. Environ. Biol. 10, 46-60.
- Boucetta, S., Beldi, H., Draredja, B., 2016b.** Seasonal Variation of Heavy Metals in *Phorcus (Osilinus) turbinatus* (Gastropod, Trochidae) in the Eastern Algerian Coast. Glob. Vet. 17(1), 25-41.



- Bouchareb, N., 2013.** Transferts et géochimie de l'azote, du phosphore et du silicium des bassins des oueds Kebir-Rhumel, Kebir ouest et Saf-Saf au littoral. Thèse de doctorat. Option : environnement littoral. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. 117 p.
- Bouchereau, J.M., 1992.** Estimation des émissions atmosphériques de métaux lourds en France pour le Cr, le Cu, le Ni, le Pb et le Zn. CITEPA, Paris.
- Boudouresque, C.F., 2006.** Les herbiers à *Posidonia oceanica*. In : Préservation et conservation des herbiers à *Posidonia oceanica*. Boudouresque, C.F., Bernard, G., Bonhomme, P., Charbonnel, E., Diviacco, G., Meinesz, A., Pergent, G., Pergent-Martini, C., Ruitton, S., Tunesi, L., edit., RAMOGE pub., France, 10-24.
- Bougherira, N., Hani, A., Djabri, L., Chouchane, S., 2015.** Assessment of contaminant migration in groundwater from an industrial development area, Annaba District NE Algeria. Eng. Geol. Soc. Territ. DOI : 10.1007/978-3-319-09054-2_80.
- 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. 123 p.
- Boulajfene, W., Boukhicha, J., Ben Hassine, O.K., Tlig-Zouari, S., 2013.** Distribution and demographic structure of *Stramonita haemastoma* (Linnaeus, 1767) populations on the rocky shores of the gulf of Tunis. Rapp. Comm. int. Mer Médit. 40, 659.
- Boulajfene, W., Strogyloudi, E., Catsiki, V.A., El Mlayah, A., Tlig-Zouari, S., 2017.** Bio-monitoring of metal impact on metallothioneins levels in the gastropod *Phorcus turbinatus* (Born, 1778) in the northeastern and the eastern coasts of Tunisia. Mar. Pollut. Bull. 120(1-2), 274-285.
- Boumaza, F.Z., 2014.** Evaluation de l'état de santé des eaux du golfe d'Annaba à travers un mollusque gastéropode *Patella caerulea* (L., 1758) : paramètres écologiques et biochimiques. Thèse de doctorat. Option : physiotoxicologie. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. 194 p.
- Bourrinet P., Ramade F., Remond-Gouilloud M., (2008).** Pollution. cbhg.org/wpcontent/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 Algerien). Thèse de doctorat. Option : biologie végétale. Université de Badji Mokhtar, Annaba, Algérie, 246 p.
- Boutabia-Trea, S., Habbachi, W., Bensouilah, M., 2015.** Evaluation of the metallic contamination level in the Gulf of Annaba (Northeastern Algeria) using a *Posidonia oceanica* (L) Delile. Adv. Environ. Biol. 9(2), 75-81.
- Boutabia-Trea, S., Habachi, W., Bensouilah, M., 2017.** Assessment of metallic trace elements using the Seagrass *Posidonia oceanica* and the surface sediment from North Eastern of Algeria. Asian J. Biol. Sci. 10(1), 17-26.
- Bouzenda, R., Soltani N., Khebbab, 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*. J. Entomol. Zool. Stud. 5(1), 366-372.
- Box, A., Sureda, A., Galgani, F., Pons, A., Deudero, S., 2007.** Assessment of environmental pollution at Balearic Islands applying oxidative stress biomarkers in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol. 146(4), 531-539.
- Bradford, M.M., 1976.** A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72, 248-254.
- Braghirolli, F.M., Oliveira, M.R., Oliveira, G.T., 2016.** Seasonal variability of metabolic markers and oxidative balance in freshwater amphipod *Hyalella kaingang* (Crustacea, Amphipoda). Ecotoxicol. Environ. Saf. 130, 177-184.
- Bremond, R., Perrodon, C., 1979.** Paramètres de la qualité des eaux. Ministère de l'environnement et cadre de vie. 2^{ème} ed. 259 p.
- Bremond, R., Vuichard, R., 1973.** Paramètres de la qualité des eaux. Ministère de la protection de la nature et de l'environnement, SPEPE, Paris, 179 p.
- Bricker, S.B., Clement, C.G., Pirhalla, D.E., Orlando, S.P., Farrow, R.G., 1999.** National estuarine eutrophication assessment. Effects of nutrient enrichment in the nation's estuaries. NOAA. National Ocean Service, special projects office and the national centers for coastal ocean science. Silver spring, MD, 71 p.



- Brocardo, P.S., Pandolfo, P., Takahashi, R.N., Rodrigues, A.L., Dafre, A.L., 2005.** Antioxidant defenses and lipid peroxidation in the cerebral cortex and hippocampus following acute exposure to malathion and/or zinc chloride. *Toxicol.* 207(2), 283-291.
- Brouwer, M., Brouwer, T.H., 1998.** Biochemical defense mechanisms against copper-induced oxidative damage in the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Arch. Biochem. Biophys.* 351(2), 257- 264.
- Brown, B.F., 1971.** Les matériaux et la corrosion en milieu marin » Matériaux et Techniques, janvier, 22-27, février, 39-42.
- Bryan, G.W., 1973.** The occurrence and seasonal variation of trace metals in the scallops *Pecten maximum* and *Chlamys opercularis* (L). *J. Mar. Biol. Assoc.* 53, 145-166.
- Butler, P.A., 1985.** Synoptic review of the literature on the southern oyster drill *Thais haemastoma floridana*. NOAA Tech. Rep. NMFS. 35, 9. (<http://spo.nmfs.noaa.gov/tr35.pdf>).

C

- Cajaraville, M.P., Marigómez, J.A., Angulo, E., 1992.** Comparative effects of the water accommodated fraction of three oils on mussels-1. Survival, growth and gonad development. *Comp. Biochem. Physiol. C, Comp. Pharmacol.* 102(1), 103-112.
- 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. *Sci. Tot. Environ.* 247, 295-311.
- Cajaraville, M.P., Hauser, L., Carvalho, G., Hylland, K., Olabarrieta, I., Lawrence, A.J., Lowe, D., Goksoyr, A., 2003.** Genetic damage and the molecular/cellular response to pollution. In: (eds. Lawrence, A.J., Hemingway, K.L.), 14-82. Blackwell Sciences.
- Calabrese, A., Collier, R.S., Nelson, D.A., Mcinnes, J.R., 1973.** The toxicity of heavy metals to embryos of the American oyster *Crassostrea virginica*. *Mar. Biol.* 18, 162-166.
- Calamari, D., Naeve, H., 1994.** Review of Pollution in the African Aquatic Environment. Committee for Inland Fisheries of Africa (CIFA) Technical Paper 25, Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome.



- Callender, E., 2003.** Heavy Metals in the Environment-Historical Trends. In: B.S. Lollar (Ed.) Environmental Geochemistry. Treatise on Geochemistry. Elsevier-Pergamon, Oxford, pp. 67-105.
- Campbell, P.G.C., 1995.** Interactions between Trace Metals and Aquatic Organisms: A Critique of the Free-ion Activity Model, in Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems. Tessier, A., and Turner, D.R. 3, 45-102.
- Canesi, L., Viarengo, A., Leonzio, C., Filippelli, M., Gallo, G., 1999.** Heavy metals and glutathione metabolism in mussel tissues. *Aquat. Toxicol.* 46(1), 67-76.
- Cartier, S., Pellerin, J., Fournier, M., Tami-gneaux, E., Girault, L., 2004.** Use of an index based on the blue mussel digestive gland weight in assessing environmental conditions. *Aquacult.* 241, 633-654.
- Casas, S., 2005.** Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule, *Mytilus galloprovincialis*, en milieu méditerranéen. Doctorat de l'Université du Sud Toulon Var. Spécialité : Océanologie biologique, Environnement marin, France. 363 p.
- Catsiki, V.-A., Florou, H., 2006.** Study on the behavior of the heavy metals Cu, Cr, Ni, Zn, Fe, Mn and ^{137}Cs in an estuarine ecosystem using *Mytilus galloprovincialis* as a bioindicator species: the case of Thermaikos gulf, Greece. *J. Environ. Radioactivity* 86, 31-44.
- Cavaletto, M., Ghezzi, A., Burlando, B., Evangelisti, V., Ceratto, N. Viarengo, A., 2002.** Effect of hydrogen peroxide on antioxidant enzymes and metallothionein level in the digestive gland of *Mytilus galloprovincialis*. *Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol.* 131(4), 447-455.
- Chandurvelan, R., Marsden, I.D., Glover, C.N., Gaw, S., 2015.** Assessment of a mussel as a metal bioindicator of coastal contamination: Relationships between metal bioaccumulation and multiple biomarker responses. *Sci. Total Environ.* 511, 663-675.
- Chang, Q., Zhang M., Wang, J.X., 2009.** Removal of Cu^{2+} and turbidity from wastewater by mercaptoacetyl chitosan, *J. Hazard. Mater.* 169, 621-625.



- Chaoui, W., Bousnoubra, H., Chaoui, K., 2013.** Etude de la vulnérabilité à la pollution des eaux superficielles et souterraines de la région de Bouchegouf (Nord-Est Algérien). Nat. Technol. C. 8, 33-40.
- Chasseaud, F.L., 1976.** Conjugaison with glutathione and mercapturic acid excretion, in Glutathione metabolism and function. Ed. Erias I.M and Jacoby W.B. Raven Press, New York, 77-144.
- Cheung, C.C.C., Zheng, G.J., Li, A.M.Y., Richardson, B.J., Lam, P.K.S., 2001.** Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. Aquat. Toxicol. 52(3-4), 189-203.
- Cheung, C.C.C., Zheng, G.J., Lam, P.K., Richardson, B.J., 2002.** Relationships between tissue concentrations of chlorinated hydrocarbons (polychlorinated biphenyls and chlorinated pesticides) and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. Mar. Pollut. Bull. 45(1-12), 181-191.
- Cheung, V.V., Wedderburn, R.J., Depledge, M.H., 1998.** Molluscan lysosomal responses as a diagnostic tool for the detection of a pollution gradient in Tolo Harbour, Hong Kong. Mar. Environ. Res. 46, 237-241.
- Chiavarini, S., Massanisso, P., Nicolai, P., Nobili, C., Morabito, R., 2003.** Butyltins concentration levels and imposex occurrence in snails from the Sicilian coasts (Italy). Chemosphere 50, 311-319.
- Chiffolleau, J. F., Claisse D., Cossa D., Ficht A., Gonzalez G., Guyot T., Michel P., Miramand P., Oger C., Petit F., 2001.** La contamination métallique, Rapport du Programme scientifique Seine-Aval, p. 39.
- Chiffolleau, J.F., 1994.** Le chrome en milieu marin. Repères Océans, N°8 IFREMER, 43 p.
- Choi, C.Y., An, K.W., Nelson, E.R., Habibi, H.R., 2007.** Cadmium affects the expression of metallothionein (MT) and glutathione peroxidase (GPX) mRNA in goldfish, *Carassius auratus*. Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol. 145(4), 595-600.
- Choi, Y.K., Jo, P.G., Choi, C.Y., 2008.** Cadmium affects the expression of heat shock protein 90 and metallothionein mRNA in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol. 147(3), 286-292.



- Clarkson, T.W., Magos, L., 2006.** The toxicology of mercury and its chemical compounds. Crit. Rev. Toxicol. 36, 609-662.
- Coffinet, S., Cossu-Leguille, C., Bassères, A., Gonnet, J.F., Vasseur, P., 2008.** Response of the bivalve *Unio tumidus* and freshwater communities in artificial streams for hazard assessment of methyl methacrylate. Environ. Toxicol. Chem. 27(6), 1371-82.
- Coimbra, J., Carraça, S., 1990.** Accumulation of Fe, Zn, Cu and Cd during the different stages of reproductive cycle in *Mytilus edulis*. Comp. Biochem. Physiol. C, Comp. Pharmacol. 95(2), 265-270.
- Company, R., Serafim, A., Bebianno, M.J., Cosson, R., Shillito, B., Fiala-Médioni, A., 2004.** Effect of cadmium, copper and mercury on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the hydrothermal vent mussel *Bathymodiolus azoricus*. Mar. Environ. Res. 58(2-5), 377-381.
- Company, R., Serafim, A., Cosson, R.P., Fiala-Médioni, A., Camus, L., Colaço, A., Serrão-Santos, R., Bebianno, M.J., 2008.** Antioxidant biochemical responses to long-term copper exposure in *Bathymodiolus azoricus* from Menez-Gwen hydrothermal vent. Sci. Total Environ. 389(2-3), 407-417.
- Cossa, D., Bourget, E., Pouliot, D., Piuze, J., Chanut J.P., 1980.** Geographical and seasonal variations in the relationship between trace metal content and body weight in *Mytilus edulis*. Mar. Biol. 58, 7-14.
- Cossa, D., Lassus, P., 1989.** Le cadmium en milieu marin : Biogéochimie et écotoxicologie. Rapports scientifiques et techniques de l'IFREMER : 135 p.
- Cossu, C., Doyotte, A., Jacquin, M.C., Vasseur, P., 1997a.** Biomarqueurs de stress oxydant chez les animaux aquatiques, pp. 149-161. In Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., Ramade, F., eds., 1997. Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects fondamentaux. Collection Ecologie, Paris, Masson, 419 p.
- Cossu, C., Doyotte, A., Jacquin, M.C., 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. Ecotoxicol. Environ. Saf. 38(2), 122-131.



- Cossu, C., Doyotte, A., Babut, M., Exinger, A., Vasseur, P., 2000.** Antioxidant biomarkers in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, in response to different contamination profiles of aquatic sediments. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 45(2), 106-121.
- Cunha, I., Garcia, L.M., Guilhermino, L., 2005.** Sea-urchin (*Paracentrotus lividus*) glutathione S-transferases and cholinesterase activities as biomarkers of environmental contamination. *J. Environ. Monit.* 7(4), 288-294.
- 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*). *Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol.* 145(4), 648-657.

D

- Dakii, M., 2003.** Rapport : diagnostic pour l'aménagement des zones humides du nord-est du Maroc : 2. Sebkha Bou Areg (lagune du Nador). Institut scientifique, Rabat.
- Damiens, G., His, E., Gnassia-Barelli, M., Quiniou, F., Roméo, M., 2004.** Evaluation of biomarkers in oyster larvae in natural and polluted conditions. *Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol.* 138(2), 121-128.
- Damiens, G., Mouneyrac, C., Quiniou, F., His, E., Gnassia-Barelli, M., Roméo, M., 2006.** Metal bioaccumulation and metallothionein concentrations in larvae of *Crassostrea gigas*. *Environ. Pollut.* 140, 492-499.
- 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.
- Davis, G.E., Foster, J., Warren, C.E., Doudoroff, P., 1963.** The influence of oxygen concentration on the swimming performance of juvenile Pacific salmon at various temperatures. *Trans. Am. Fish. Soc.* 92, 111-124.
- Davis, J.C., 1975.** Minimal dissolved oxygen requirements of aquatic life with emphasis on Canadian species: a review. *J. Fish. Res. Board Can.* 32, 2295-2332.



- De Almeida, E.A., Miyamoto, S., Bainy, A.C., De Medeiros, M.H., Di Mascio, P., 2004.** Protective effect of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx) against lipid peroxidation in mussels *Perna perna* exposed to different metals. Mar. Pollut. Bull. 49(5-6), 386-392.
- De Montaudouin, X., Paul-Pont, I., Lambert, C., Gonzalez, P., Raymond, N., Jude, F., Legeay, A., Baudrimont, M., Dang, C., Le Grand, F., Le Goïc, N., Bourasseau, L., Paillard, C., 2010.** Bivalve population health: multistress to identify hot spots. Mar. Pollut. Bull. 60(8), 1307-1318.
- Del Rio, D., Stewart, A.J., Pellegrini, N., 2005.** A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. 15(4), 316-328.
- Dellali, M., Roméo, M., Aïssa, P., 2001.** Suivi annuel de l'activité catalase chez des moules et des palourdes originaires de la lagune de Bizerte. Oceanol. Acta 24(3), 263-271.
- Dellali, M., Roméo, M., Gnassia-Barelli, M., Aïssa, P., 2004.** A multivariate data analysis of the clam *Ruditapes decussatus* as sentinel organism of the bizerta lagoon (Tunisia). Water Air Soil Pollut. 156(1-4), 131-144.
- Denton, G.R.W., Burdon-Jones, C., 1981.** Influence of temperature and salinity on the uptake, distribution and depuration of mercury, cadmium and lead by the black-lip oyster *Saccostrea echinata*. Mar. Biol. 64(3), 317-326.
- Depledge, M.H., 1994.** The rational basis for the use of biomarkers as ecotoxicological tools. In Fossi, M.C et Leonzio, C. (ed). Non destructive biomarkers in vertebrates. Lewis Publishers, Boca Raton. 261-285
- Derache, R., 1986.** Toxicologie et sécurité des aliments. Technique et documentation Lavoisier. 344 p.
- Despreaux, M., 1990.** Le phosphore et l'azote dans les sédiments du fleuve Charente, variabilité potentielle. Thèse de Doctorat. Université de Lyon I. 199 p. In : 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. 246 p.



- Dondero, F., Piacentini, L., Banni, M., Rebelo, M., Burlando, B., Viarengo, A., 2005.** Quantitative PCR analysis of two molluscan metallothionein genes unveils differential expression and regulation. *Gene* 345(2), 259-270.
- Dorange, G., Paulet, Y.M., Le Pennec, M., Cochard, J.C., 1989.** Critères histologiques de la qualité des ovocytes émis par *Pecten maximus*. *C.R. Acad. Sci. Paris* 309 série 3, 113-120.
- Dotan, Y., Lichtenberg, D., Pinchuk, I., 2004.** Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. **Prog. Lipid Res.** 43, 200-227.
- Doyotte, A., Cossu, C., Jacquin, M.C., Babut, M., Vasseur, P., 1997.** Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and the digestive gland of the freshwater bivalve *Unio tumidus*. *Aquat. Toxicol.* 39(2), 93-110.
- Droge, W., 2002.** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* 82 (1), 47-95.
- Duarte, C.A., Giaratano, E., Amin, O.A., Comoglio, L.I., 2011.** Heavy metal concentrations and biomarkers of oxidative stress in native mussels (*Mytilus edulis chilensis*) from Beagle Channel coast (Tierra del Fuego, Argentina). *Mar. Pollut. Bull.* 62(8), 1895-1904.
- Dufour, P., Merles, D.J., 1972.** Station côtière en Atlantiques tropical. Hydroclimat et production primaires. *Doc. Sci. Centre O.R.S.T.O.M. Pointe-Noire*, N.S, 48 p.
- Durou, C., Poirier, L., Amiard, J.C., Budzinski, H., Gnassia-Barelli, M., Lemenach, K., Peluhet, L., Mouneyrac, C., Romeo, M., Amiard-Triquet, C. 2007.** Biomonitoring in a clean and a multi-contaminated estuary based on biomarkers and chemical analyses in the endobenthic worm *Nereis diversicolor*. *Environ. Pollut.* 148, 445-458.

E

- El Ayari, T., Abidli, S., Lahbib, Y., González, P.R., Alonso, J.I.G., Trigui-El Menif, N., 2015.** The effect of size and epibiotic barnacles on imposex in *Stramonita haemastoma* collected from the northern coast of Tunisia. *Mar. Biol. Res.* 11(3), 313-320.



- El Blidi, S., Fekhaoui, M., 2003.** Hydrologie et dynamique marégraphique de l'estuaire du Sebou (Gharb, Maroc), Bulletin. Institut Scientifique de Rabat, Section Sciences de la Vie 25, 57-65.
- El Jourmi, L., Amine, A., Boutaleb, N., Lazar, S., El Antri, S., 2012.** Multiple biomarker response in the mussel, *Perna perna* to assess the marine quality in the big Casablanca area. St. Cerc. St. CICBIA 13(4), 377-386.
- El Jourmi, L., Amine, A., Boutaleb, N., Abouakil, N., Lazar, S., El Antri, S., 2014.** Multimarker approach analysis in the brown mussel to evaluate the anthropogenic stress: A preliminary study. J. Mater. Environ. Sci. 5(5), 1326-1331.
- El Jourmi, L., Amine, A., Boutaleb, N., Abouakil, N., Lazar, S., El Antri, S., 2015.** The use of biomarkers (catalase and malondialdehyde) in marine pollution monitoring: Spatial variability. J. Mater. Environ. Sci. 6(6), 1592-1595.
- El Morhit, M., Fekhaoui, M., Serghini, A., El Blidi, S., El Abidi, A., Bennaakam, R., Yahyaoui, A., Jbilou, M., 2008.** Impact de l'aménagement hydraulique sur la qualité des eaux et des sédiments de l'estuaire du Loukkos (côte atlantique, Maroc). Bull. Inst. Sci. Rabat, section Sciences de la Terre 30, 39-47.
- El Mortaji, H., Elkhiaati, N., Benhra, A., El Haimeur, B., Bouhallaoui, M., Benbrahim, S., Kabine, M., Ramdani, M., 2011.** Imposex in *Stramonita haemastoma* (Gastropoda: Muricidae) along the Atlantic and Mediterranean coasts of Morocco. Bull. Inst. Sci. Rabat, section Sciences de la Vie 33, 13-18.
- Elbetieha, A., Al-Hamood, M.H., 1997.** Long-term exposure of male and female mice to trivalent and Cr (VI) compounds: effect on fertility. Toxicology 116, 19-47.
- Emsley, J., 1991.** The elements. Oxford University Press-Clarendon Press, New York, 264 p.
- Ernst, W., Weigelt, H., Rosenthal, H., Hansen, P.D., 1991.** Testing bioconcentration of organic chemicals with the common mussel (*Mytilus edulis*). Dans : Bioaccumulation in Aquatic Systems. Nagel, R., Loskill, R. (Editeurs). VCH VerlagsgesellschaftmbH Publisher, Weinheim, Germany, 99-131.
- Essedaoui, A., Sif, J., 2001.** Bio-accumulation des métaux lourds et induction des métalloprotéines au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis*. Actes Inst. Agron. Vet. 21(1), 17-25.



- Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., Jungens, G., 1992.** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic. Biol. Med.* 13, 341-390.
- Ezzaouaq, M., 1991.** Caractérisation hydrodynamique, physicochimique et bactériologique des eaux superficielles de l'estuaire du Bouregreg (Maroc) soumis aux rejets des villes de Rabat-Salé. Thèse D.E.S. Université Mohammed V, Faculté des Sciences Rabat, 140 p.

F

- Falfushynska, H.I., Delahaut, L., Stolyar, O.B., Geffard, A., Biagianti-Risbourg, S., 2009.** Multi-Biomarkers approach in different organs of *Anodonta cygnea* from the Dnister Basin (Ukraine). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 57(1), 86-95.
- Fergusson, J.E., 1990.** The heavy elements: chemistry, environmental impact and health effects, 1. Pergamon Press, Oxford, 614 p.
- Fernández, B., Campillo, J.A., Martínez-Gómez, C., Benedicto, J., 2010.** Antioxidant responses in gills of mussel (*Mytilus galloprovincialis*) as biomarkers of environmental stress along the Spanish Mediterranean coast. *Aquat. Toxicol.* 99, 186-197.
- Fernandez, C., Caltagirone, A., 1990.** Données préliminaires sur la population de *Paracentrotus lividus* de l'étang d'Urbino (Corse). *Rapp. P. V. Réun. Comm. int. Mer Médit.*, 32(1) B-V 10, 37.
- Figueira, E., Branco, D., Antunes, S.C., Gonçalves, F., Freitas, R., 2012a.** Are metallothioneins equally good biomarkers of metal and oxidative stress? *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 84, 185-190.
- Figueira, E., Cardoso, P., Freitas, R., 2012b.** *Ruditapes decussatus* and *Ruditapes philippinarum* exposed to cadmium: Toxicological effects and bioaccumulation patterns. *Comp. Biochem. Physiol. C, Pharmacol. Toxicol.* 156(2), 80-86.



- Fischer, W., Schneider, M., Bauchot, M.L., 1987.** Fiche FAO d'identification des espèces pour des besoins de la pêche. Méditerranée et mer noire. Zone de pêche 37. Révision 1. Volume 1. Végétaux et Invertébrés. Publication préparée par la FAO, résultat d'un accord entre la FAO et la commission des communautés européennes (projet GCP/INT/422/EEC) financée conjointement par ces deux organisations. Rome. FAO. 760 p.
- Fishelson, L., Bresler, V., Manelisa, R., Zuk-Rimon, Z., Dotan, A., Hornung, H., Yawetz, A., 1999.** Toxicological aspects associated with the ecology of *Donax trunculus* (Bivalvia, Mollusca) in a polluted environment. *Sci. Total Environ.* 226, 121-131.
- 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.
- Flammarion, P., Brion, F., Palazzi, X., Babut, M., Garric, J., Migeon, B., Noury, P., Thybaud, E., Tyler, C.R., 2000.** Estrogenic effects on chub (*Leuciscus cephalus*): induction of vitellogenin and effects on the testicular structure. *Ecotoxicology* 9, 127-135.
- Flammarion, P., Devaux, A., Nehls, S., Migeon, B., Noury, P., Garric, J., 2002.** Multibiomarker responses in fish from the Moselle river (France). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 51, 145-153.
- Foley, V., Sheehan, D., 1998.** Glutathione S-transferases of the yeast *Yarrowia lipolytica* have unusually large molecular mass. *Biochem. J.* 333, 839-845.
- Forlin, L., Blom, S., Celander, M., Sturve, J., 1996.** Effects on UDP glucuronosyl transferase, Glutathione-S-transferase, DT-diaphorase and Glutathione reductase activities in rainbow trout liver after long-term exposure to PCB. *Mar. Environ. Res.* 42(1-4), 213-216.
- Fossi Tankoua, O., Buffet, P.E., Amiard, J.C., Berthet, B., Mouneyrac, C., Amiard-triquet, C., 2013.** Integrated assessment of estuarine sediment quality based on a multi-biomarker approach in the bivalve *Scrobicularia plana*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 88, 117-125.
- Freed-man, J.H., Ciriolo, M.R., Peisach, J., 1989.** The role of glutathione in copper metabolism and toxicity. *J. Biol. Chem.* 264(10), 5598-5605.



- Frehi, H., Couté, A., Mascarell, G., Perrette-Gallet, C., Ayada, M., Kara, M.H., 2007.** Dinoflagellés toxiques et/ou responsables de blooms dans la baie d'Annaba (Algérie). *Comptes Rendus Biol.* 330, 615-628.
- Freitas, R., Costa, E., Velez, C., Santos, J., Lima, A., Oliveira, C., Maria Rodrigues, A., Quintino, V., Figueira, E., 2012a.** Looking for suitable biomarkers in benthic macroinvertebrates inhabiting coastal areas with low metal contamination: comparison between the bivalve *Cerastoderma edule* and the polychaete *Diopatra neapolitana*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 75(1), 109-118.
- Freitas, R., Pires, A., Quintino, V., Rodrigues, A.M., Figueira, E., 2012b.** Subcellular partitioning of elements and availability for trophic transfer: comparison between the bivalve *Cerastoderma edule* and the polychaete *Diopatra neapolitana*. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 99, 21-30.
- Funes, V., Alhama, J., Navas, J.I., Lopez-Barea, J., Peinado, J., 2006.** Ecotoxicological effects of metal pollution in two mollusc species from the Spanish South Atlantic littoral. *Environ. Poll.* 139, 214-223.

G

- Gagné, F., Blaise, C., Pellerin, J., Gauthier-Clerc, S., 2002.** Alteration of the biochemical properties of female gonads and vitellins in the clam *Mya arenaria* at contaminated sites in the Saguenay Fjord. *Mar. Environ. Res.* 53, 295-310.
- 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. *Environ. Sc. Technol.* 38, 1723-1731.
- Garcia De Emilliani, M.O., 1997.** Effects of water level fluctuation in a river flood-plain lake system (Parana River, Argentina). *Hydrobiologia* 357, 1-15.
- Gaujous, D., 1995.** La pollution des milieux aquatiques: 2^{ème} édition, aide mémorielle: Technique et documentation, Lavoisier, 220 p.
- Geffard, A., Amiard-Triquet, C., Amiard, J. C., Mouneyrac, C., 2001.** Temporal variations of metallothionein and metal concentrations in the digestive gland of oysters (*Crassostrea gigas*) from a clean and a metal-rich site. *Biomarkers* 6(2), 91-107.



- Geffard, A., Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., 2002.** Use of metallothionein in gills from oysters (*Crassostrea gigas*) as a biomarker: Seasonal and intersite fluctuations. *Biomarkers* 7(2), 123-137.
- Geffard, A., Amiard-Triquet, C., Amiard, J.C., 2005.** Do seasonal changes affect metallothionein induction by metals in mussels, *Mytilus edulis*?. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 61(2), 209-220.
- George, G.S., Buchanan, G., 1990.** Isolation, properties and induction of plaice liver cytosolic glutathione S-transferases. *Fish Physiol. Biochem.* 8(6), 437-449.
- George, N.S., Young G., 1988.** Purification and properties of plaice liver cytosolic glutathione-s-transferases. Glutathione peroxidase activity from *Arabidopsis thaliana*. Eur. glutathione structural family includes a nuclear chloride channel and a ryanodine. *Mar. Environ. Res.* 24, 93-96.
- Géret, F., Cosson, R.P., 2000.** Utilisation des métallothionéines comme biomarqueur de la contamination métallique : variabilité entre sites et organes chez l'huître *Crassostrea gigas*. *Oceanol. Acta* 23(3), 261-271.
- Géret, F., Jouan, A., Turpin, V., Bebianno, M.J., Cosson, R.P., 2002a.** Influence of metal exposure on metallothionein synthesis and lipid peroxidation in two bivalve mollusks: the oyster (*Crassostrea gigas*) and the mussel (*Mytilus edulis*). *Aquat. Living Resour.* 15, 61-66.
- Géret, F., Serafim, A., Barreira, L., Bebianno, M.J., 2002b.** Effect of cadmium on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the clam *Ruditapes decussatus*. *Biomarkers* 7(3), 242-256.
- GESAMP (IMO/FAO/Unesco/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution), 1989.** Long-term consequences of low-level effects of marine contamination: An analytic approach. *Rep. Stud. GESAMP* (40), 14 p.
- Gharsallah, Z., 2002.** Evaluation de la pollution du littoral d'Annaba : qualité micro biologique de l'eau et teneur en métaux lourds du sédiment superficiel. Thèse de Magister. Université d'Annaba, 82 p.



- Gherras Touahri, H., Boutiba, Z., Benguedda, W., Shaposhnikov, S., 2016.** Active biomonitoring of mussels *Mytilus galloprovincialis* with integrated use of micronucleus assay and physiological indices to assess harbor pollution. Mar. Pollut. Bull., <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.029>
- Giacoletti, A., Rinaldi, A., Mercurio Mirto, M.S., Sara, G., 2016.** Local consumers are the first line to control biological invasions: a case of study with the whelk *Stramonita haemastoma* (Gastropoda: Muricidae). Hydrobiologia 772, 117-129.
- Giarratano, E., Gil, M.N., Malanga, G., 2011.** Seasonal and pollution-induced variations in biomarkers of transplanted mussels within the Beagle Channel. Mar. Pollut. Bull. 62 (6), 1337-1344.
- Giarratano, E., Gil, M.N., Malanga, G., 2013.** Assessment of antioxidant responses and trace metal accumulation by digestive gland of ribbed mussel *Aulamomya atra atra* from northern Patagonia. Ecotoxicol. Environ. Saf. 92, 39-50.
- Giguère, A.Y., Couillard, Y., Campbell, P.G.C., Perceval, O., Hare, L., Pinel-Alloul, B., Pellerin J., 2003.** Steady-state distribution of metals among metallothionein and other cytosolic ligands and links to cytotoxicity in bivalves living along a polymetallic gradient. Aquat. Toxicol. 64, 185-200.
- Gilliers, C., Amara, R., Bergeron, J.P., Le Pape, O., 2004.** Comparison of growth and condition indices of flatfish juvenile (sole, dab and plaice) in different coastal nursery grounds. Envir. Biol. Fishes, 71, 189-198.
- GIS, Posidonie. 1996.** Groupement d'Internet Scientifique d'études et de protection de l'environnement marin. Biologie méditerranéenne, nuisance et pollution.
- Gismondi, E., Beisel, J.N., Cossu-Leguille, C., 2012.** Influence of gender and season on reduced glutathione concentration and energy reserves of *Gammarus roeseli*. Environ. Res. 118, 47-52.
- Goldberg, E.D., Koide, M., Hodge, V., Flegal, A.R., Martin, J., 1983.** U.S. Mussel Watch: 1977-1978 results on trace metals and radionuclides. Estuar. Coast. Shelf Sci., 16(1), 69-93.
- Goldsborough, L.G., Robinson, G.G.C., 1996.** Pattern in wetlands, Chapter 4. In: Algal Ecology in Freshwater Benthic Ecosystems. Stevenson, R.J., Bothwell, M.L., Lowe, R.L., eds., Academic Press, 77-117.



- González-Fernández, C., Albentosa, M., Campillo, J.A., Viñas, L., Romero, D., Franco, A., Bellas, J., 2015.** Effect of nutritive status on *Mytilus galloprovincialis* pollution biomarkers: Implications for large-scale monitoring programs. *Aquat. Toxicol.* 167, 90-105.
- Gorbi, S., Virno Lamberti, C., 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. *Mar. Environ. Res.* 65(1), 34-49.
- Gowland, B.T.G., McIntosh, A.D., Davies, I.M., Moffat, C.F., Webster, L., 2002.** Implications from a field study regarding the relationship between polycyclic aromatic hydrocarbons and glutathione S-transferase activity in mussels. *Mar. Environ. Res.* 54(3-5), 231-235.
- Goyal, N., Jain, S.C., Banerjee, U.C., 2003.** Comparative studies on the microbial adsorption of heavy metals. *Adv. Environ. Res.* 7, 311-319.
- Grant, J., 1996.** The relationship of bioenergetics and the environment to the field growth of cultured bivalves. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 200(1-2), 239-256.
- Gravez, V., Bernard, G., 2006.** Pollution marine : Les définitions. www.com.univ-mrs.fr.
- Grimes, S., 2010.** Peuplements benthiques des substrats meubles de la côte Algérienne : taxonomie, structure et statut écologique. Thèse de doctorat. Option : biologie et pollution marines. Université d'Ahmed Ben Bella. Oran. Algérie. 362 p.
- Gueddah D., 2003.** Evaluation de la pollution industrielle et urbaine dans la region de Skikda: impact sur l'écosystème marin côtier. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Sciences de la Mer, Université Badji Mokhtar, Annaba, 145 p.
- Gueddah, D., Djebbar, A.B., 2006.** Pollution par les métaux lourds du sédiment marin dans la région de Skikda (Algérie). N° Spécial : 2^{ème} Colloque Euro-méditerranéen de biologie de l'environnement.
- Guemouda, M., Meghlaoui, Z., Daas, T., Daas-Maamcha, O., Scaps, P., 2014.** Monitoring pollution in East Algerian coasts using biochemical markers in the polychaete annelid *Perinereis cultrifera*. *Ann. Biol. Res.* 5(2), 31-40.



H

- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., 1974.** Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. biol. Chem.* 249, 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 Biol.* 337, 117-122.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1999.** Free Radicals in Biology and Medicine, third ed; Oxford University Press, Oxford.
- Hamza-Chaffai, A., Amiard, J.C., Pellerin, J., Joux, L., Berthet, B., 2000.** The potential use of metallothionein in the clam (*Ruditapes decussatus*) as a biomarker of in situ metal exposure. *Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol.* 127(2), 185-197.
- Hamza-Chaffai, A., Pellerin, J., Amiard, J.C., 2003.** Health assessment of a marine bivalve *Ruditapes decussatus* from the Gulf of Gabès (Tunisia). *Environ. Int.* 28 (7), 609-617.
- Handy, R.D., Galloway, T.S., Depledge, M.H., 2003.** A proposal for the use of biomarkers for the assessment of chronic pollution and in regulatory toxicology. *Ecotoxicology* 12, 331-43
- Hansen, A.L., Robinson, R.J., 1953.** The determination of organic phosphorus in sea water with perchloric acid oxidation. *J. Mar. Res.* 12, 31-42.
- Harach-Rass, A., El Kharrim, K., Belghyti, D., 2012.** Analyses physico-chimiques des eaux du site ramsar sidi boughaba (maroc). *Science Lib Editions Mersenne* 4, 2111-4706.
- Harris, E.D., 1992.** Regulation of antioxidant enzymes. *FASEB J.* 6(9), 2675-2683.
- Havense, K.E., 1991.** Fish induced sediment resuspension: effect on the phytoplankton biomass and community structure in shallow hypereutrophic lake. *J. plankton Res.* 13, 1163-1176
- Haynes, D., Leeder, J., Rayment, P., 1997.** A comparison of the bivalve species *Donax deltoides* and *Mytilus edulis* as monitors of metal exposure from effluent discharges along the Ninety Mile Beach, Victoria, Australia. *Mar. Pollut. Bull.* 34(5), 326-331.
- Hceflcd (Haut Commissariat Aux Eaux et Forêt et la Lutte Contre la Désertification), 2006.** Etude sur la pisciculture au barrage Almassira, CR dar CHAFAAI, Cercle d'Elbrouge, Province de Settlat, 201 p.



Hceflcd (Haut Commissariat Aux Eaux et Forêt et la Lutte Contre la Désertification), 2007.

Etude diagnostique de la zone humide AL Massira- Faija, cercle d'EL Brouj et Cercle de Settât (Maroc), 242 p.

Hébert, S., Légaré, S., 2000. Suivi de la qualité des rivières et petits cours d'eau. Québec, Direction du suivi de l'état de l'environnement, ministère de l'Environnement, envirodoq no ENV-2000-0487, rapport n° QE-121, 24 p.

Hem, J.D., 1972. Chemistry and occurrence of cadmium and zinc in surface water and ground water. *Water Resour. Res.* 8, 661-679.

Hem, J.D., 1976. Geochemical controls on lead concentration in stream water and sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 40, 599-609.

Hickman, C.S., 1992. Reproduction and development of trochophore gastropods. *Veliger* 35, 245-272.

Hickman, R.W., Illingworth, J., 1980. Condition cycle of the green lipped mussel *Perna canaliculus*, in New Zealand. *Mar. Biol.* 60, 27-38.

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. 124 p.

Himmi, N., Fekhaoui, M., Foutlane, A., Bourchich, H., El Maroufy, M., Benazzou, T., Hasnaoui, M., 2003. Relation plancton descripteurs physique et chimique dans un bassin de maturation (Lagunage Mixte Ben Slimane - Maroc). *Riv. Idrobiol. Perugia* 42(1-3), 107-129.

Hinesly, T.D., Jones, R.L., Ziegler, E.L., Tyler, J.J., 1977. Effects of annual and accumulative applications of sewage sludge on assimilation of zinc and cadmium by corn (*Zea mays* L.). *Environ. Sci. Technol.* 11(2), 182-188.

Hoarau, P., Gnassia-Barelli, M., Roméo, M., Girard, J.P., 2001. Differential induction of Glutathione S-transferases in the clam *Ruditapes decussatus* exposed to organic compounds. *Environ. Toxicol. Chem.* 20(3), 523-529.

Hong, S.H., Park, H.J., Kong, K.H., 1999. Purification and biochemical properties of glutathione S-transferase from *Oryza sativa*. *Comp. Biochem. Physiol. B* 122, 21-27.



- Horiguchi, T., Shiraishi, H., Shimizu, M., Morita, M., 1997.** Imposex in sea snails, caused by organotin (tributyltin and triphenyltin) pollution in Japan: A survey. Appl. Organometallic Chem. 11, 451-455.
- Horowitz, A., 1985.** A primer on Trace Metal Sediment Chemistry, United States Geological Survey.
- Howarth, R.W., Marino, R., 2006.** Nitrogen as the limiting nutrient for eutrophication in coastal marine ecosystems: evolving views over three decades. Limnol. Oceanogr. 51, 364-376.
- Hrs-Brenko, M., Claus, S., Bubic, S., 1977.** Synergistic effects of lead, salinity and temperature on embryonic development of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. Mar. Bio. 44, 109-115.
- Hubiche, J.L., 2002.** Cahier Indicateurs. Edition Loire Estuaire Cellule de mesures et de Bilans. Crédits photo: 1997 Photodisc. Inc.
- Hurlbut, C.S., Klein, C., 1982.** Manual de Mineralogía de Dana. Editorial Reverté, Barcelona, 564 p.
- Husson, F., Josse, J., Lê, S., Mazet, J., 2014.** FactoMineR: Factor Analysis and data mining with R. R package version 1.27.
- Huszar, V.L., Reynolds, C.S., 1997.** Phytoplankton periodicity and sequences of dominance in Amazonian flood-plain lake (Lago Batata, Para, Brazil), response to gradual environmental change. Hydrobiologia. 346, 169-181.
- Hytönen, T., Karels, A., Oikari, A., 2002.** Assessment of bioavailability and effects of chemicals due to remediation actions with caging mussels (*Anodonta anatina*) at a creosote-contaminated lake sediment site. Water Res. 36, 4497-4504.

I

- Islam, E., Yang, X.E., He, Z.L., Mahmood, Q., 2007.** Assessing potential dietary toxicity of heavy metals in selected vegetables and food crops. J. Zhejiang Univ. Sci. B 8, 1-13.
- Izaguirre, J.A., Catarello, D.P., Wozniak, J.M., Skeel, R.D., 2001.** Langevin stabilization of molecular dynamics. J. Chem. Phys. 114(5), 2090-2098.



J

- Jakanovic, M., 2001.** Biotransformation of organophosphorus compounds. *Toxicology* 166, 139-160.
- Jarque, S., Prats, E., Olivares, A., Casado, M., Ramón, M., Piña, B., 2014.** Seasonal variations of gene expression biomarkers in *Mytilus galloprovincialis* cultured populations: temperature, oxidative stress and reproductive cycle as major modulators. *Sci. Total Environ.* 499, 363-372.
- Jebali, J., Banni, M., De Almeida, E.A., Boussetta, H., 2007.** Oxidative DNA damage levels and catalase activity in the clam *Ruditapes decussatus* as pollution biomarkers of Tunisian marine environment. *Environ. Monit. Assess.* 124(1-3), 195-200.
- Josefczak, M., Remans, T., Vangronsveld, J., Cuypers, A., 2012.** Glutathione is a key player in metal-induced oxidative stress defenses. *Int. J. Mol. Sci.* 13(3), 3145-3175.
- Judas, A., 1994.** Influence de l'environnement sur les phases de reproduction, fécondation et développement larvaire des oursins: cas de *Sphaerechinus granularis* en rade de brest. DBO, DRA CNRS D1513 / IFREMER-Brest, Delix.

K

- Kadri, S., Dahel, A., Djebbari, N., Barour, C., Bensouilah, M., 2015.** Environmental parameters influence on the bacteriological water quality of the Algerian North East coast. *Adv. Environ. Biol.* 9, 180-189.
- Kaim, W., Schwederski, B., 1994.** Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life. John Wiley and Sons, Chichester, 1-401.
- Kaimoussi, A., Chafik, A., Cheggour, M., Mouzdahir, A. Bakkas, S., 2000.** Seasonal variations of metal concentrations (Cd, Cu, Zn, Fe and Mn) in mussel *Mytilus galloprovincialis* from El Jadida coastline (Morocco). *Mar. Life* 10(1-2), 77-85.



- Kaimoussi, A., Chafik, A., Mouzdahir, A., Bakkas, S., 2001.** The impact of industrial pollution on the Jorf Lasfar coastal zone (Morocco, Atlantic Ocean): the mussel as an indicator of metal concentration. *Earth Planet. Sci.* 333, 337-341.
- Kamel, N., 2014.** Effets combinés des facteurs environnementaux et des polluants chimiques chez la moule *Mytilus galloprovincialis* : Harmonisation des biomarqueurs d'exposition suivant les recommandations OSPAR et MEDPOL. Thèse de Doctorat. Université de Nantes, 190 p.
- Kamel, N., Burgeot, T., Banni, M., Chalhaf, M., Devin, S., Minier, C., Bousetta, H., 2014.** Effects of increasing temperatures on biomarker responses and accumulation of hazardous substances in rope mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from Bizerte lagoon. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21(9), 6108-6123.
- Kamisaka, K., Habig, W.H., Ketley, J.N., Arias, M., Jakoby, W.B., 1975.** Multiple forms of human glutathione S-transferase and their affinity for bilirubin. *Eur. J. Biochem.* 60(1), 153-161.
- Kappus, H., 1987.** Oxidative stress in chemical toxicity. *Arch. Toxicol.* 60, 144-149
- Kara, L., 2007.** Contribution à l'étude de l'évaluation de la quantité physico-chimique des eaux de baignade de la côte Larbi Ben M'hidi (W. Skikda). Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en écologie, Université de Constantine, 97 p.
- 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* L.). *Aqua. Res.* 31(12), 893-899.
- Katz, S.A., Salem, H., 1994.** The biological and environmental chemistry of chromium. VCH pub., New York, 65-119.
- Keblouti, K., Ouerdachi, K., Berhail, S., 2015.** The use of weather radar for rainfall-runoff modeling, case of Seybouse watershed (Algeria). *Arab. J. Geosci.* 8(1), 1-11.
- Keeran, W.S., Lee, R.F., 1987.** The purification and characterization of glutathione s-transferase from the hepatopancreas of the blue crab, *Calinectes sapidus*. *Arch. Biochem. Biophys.* 255, 233-243.
- Khammar H., 2007.** Caractères chimiques des effluents urbains introduits au littoral d'Annaba. Mémoire de magister. Univ. Annaba., 49 p.



- Khati Hadj Moussa, W., 2009.** Etude de la qualité des eaux du golfe d'Annaba par l'utilisation d'un mollusque sentinelle, la moule *Perna perna* : essai in vivo et *in situ*. Application à la biosurveillance de l'environnement marin. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba. 87 p.
- Khati, W., Ouali, K., Bensouilah, M., Gnassia-Barelli M., Roméo, M., 2007.** Effet du cadmium sur certains biomarqueurs de stress chez la moule *Perna perna* du golfe d'Annaba (Algérie). *Mésogée* 63, 51-57.
- 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.
- Khebbeb, M.E.H., Nadji S., Amrani A., 2010.** The effect of cadmium exposure on malonedialdehyde and reduced glutathione concentrations in several tissues of a bivalve mollusc (*Ruditapes decussatus*) fished from Mellah lagoon (North East of Algeria). *Ann. Biol. Res.* 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. *J. F. A. E.* 4, 340-346.
- Khessiba, A., Hoarau, P., Gnassia-Barelli, M., Aïssa, P., Roméo, M., 2001.** Biochemical response of the mussel *Mytilus galloprovincialis* from Bizerta (Tunisia) to chemical pollutant exposure. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 40(2), 222-229.
- Klaassen, C.D., Liu, J., Choudhuri, S., 1999.** Metallothionein: an intracellular protein to protect against cadmium toxicity. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 39, 267-294.
- Klerks, P.L., Levinton, J.S., 1989.** Effects of heavy metals in a polluted aquatic ecosystem. In: *Ecotoxicology: problems and approaches* (eds. Levin, S.A., Harwell, M.A., Kelly, J.R., Kimball K.D.), 40-67
- Knapen, D., Bervoets, L., Verheyen, E., Blust, R., 2004.** Resistance to water pollution in natural Gudgeon (*Gobio gobio*) populations may be due to genetic adaptation. *Aquat. Toxicol.* 67(2), 155-65.
- Krishna Das, 2006.** Ecotoxicologie Marine et Biochimie de la pollution. Programme de cours 2006-2007. Université de Liège.



L

- Labrot, F., Ribera, D., Saint-Denis, M., Narbonne, J.F., 1996.** In vitro and in vivo studies of potential biomarkers of lead and uranium contamination: lipid peroxidation, acetylcholinesterase, catalase and glutathione peroxidase activities in three non-mammalian species, *Biomarkers* 1, 21-28.
- Lacaze, J.C., 1996.** L'eutrophisation des eaux marines et continentales : causes, manifestations, conséquences et moyens de lutte. Edition Ellipses. Paris, 191 p.
- Lacaze, J.C., Ramade, F., 1993.** La dégradation de l'environnement côtier, conséquences écologique. *Science de l'environnement* 8. Edition Masson. Paris, 149 p.
- Lackner, R., 1998.** Oxidative stress in fish by environmental pollutants. In: Braunbeck, T., Hinton, D.E., Streit, B. (Eds), *Fish ecotoxicology*. Birkhauser Verlag, Basel, Boston, Berlin, 203-224.
- Ladhar-Chaabouni, R., Mokdad-Gargouri, R., Denis, F., Hamza-Chaffai, A., 2008.** Cloning and characterization of cDNA probes for the analysis of metallothionein gene expression in the Mediterranean bivalves: *Ruditapes decussatus* and *Cerastoderma glaucum*. *Mol. Biol. Rep.* 36(5), 1007-1014.
- Ladhar-Chaabouni, R., Machreki-Ajmi, M., Hamza-Chaffai, A., 2009a.** Spatial distribution of cadmium and some biomarkers in *Cerastoderma glaucum* living in a polluted area. *Mar. Biol. Res.* 5(5), 478-486.
- Ladhar-Chaabouni, R., Smaoui-Damak, W., Hamza-Chaffai, A., 2009b.** In vivo variation of some biomarkers with time and cadmium concentration in the cockle *Cerastoderma glaucum*. *Mar. Biol. Res.* 5(5), 487-495.
- Ladhar-Chaabouni, R., Machreki-Ajmi, M., Hamza-Chaffai, A., 2012.** Use of metallothioneins as biomarkers for environmental quality assessment in the Gulf of Gabès (Tunisia). *Environ. Monit. Assess.* 184(4), 2177-2192.
- Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., 1997.** Intérêt d'une approche multiparamétrique pour le suivi de la qualité de l'environnement. In: Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., Ramade, F. (Eds.), *Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects Fondamentaux*. Masson, Paris, 393-401



- Lahbib, Y., Abidli, S., Trigui El Menif, N., 2011.** Spawning and intracapsular development of *Stramonita haemastoma haemastoma* (Gastropoda: Muricidae) collected in northern Tunisia. Mar. Biol. Res. 7(7), 719-726.
- Lalli, C., Gimer, S., 1989.** Pelagic Snails, the biology of planktonic gastropod molluscs. Ed. Stanford university press, USA, 259 p.
- Lam, P.K.S., 2009.** Use of biomarkers in environmental monitoring. Ocean Coast. Manag. 52 (7), 348-354.
- Lamare, V., Müller, Y., 2008.** Bouche de sang *Stramonita haemastoma* (Linnaeus, 1767). In : Doris, 27/07/2017, <http://doris.ffessm.fr/Especies/Stramonita-haemastoma-Bouche-de-sang-124>.
- Lane, T. W., Morel, F.M.M., 2000.** A biological function for cadmium in marine diatoms. Proceedings of the National Academy of Sciences 97(9), 4627- 4631.
- Langston, W.J., Spence, S.K., 1995.** Biological factors involved in metal concentrations observed in aquatic organisms. In Tessier, A., Turner, D.R., (Editors), Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. Chichester: John Wiley and Sons Ltd, 407-478.
- Lantzy, R.J., Mc Kenzie, F.T., 1979.** Atmospheric trace metals: global cycles and assessment of man's impact. Geochim. Cosmochim. Acta 43, 511-523.
- Larson A., Bengtsson B.E., Svanberg O., 1975.** Some hematological and biochemical effects of cadmium on fish. In: effects of pollution on aquatic organisms. A.P.M Lockwood. Ed Cambridge uni. Press, 35-47.
- Lasiak, T.A., 1986.** The reproductive cycles of the intertidal bivalves *Crassostrea cucullata* (Born, 1778) and *Perna perna* (Linnaeus, 1758) from the Transkei coast, southern Africa. Veliger 29, 226-230.
- Lasiak, T.A., Barnard, T.C.E., 1995.** Recruitment of the brown mussel *Perna perna* on to natural substrata: a refutation of the primary/secondary settlement hypothesis. Mar. Ecol. Prog. Ser. 120, 147-153.
- Lau, P.S., Wong, H.L., Garrigues, P.H., 2004.** Seasonal variation in antioxidative responses and acetylcholinesterase activity in *Perna viridis* in eastern oceanic and western estuarine waters of Hong Kong. Cont. Shelf Res. 24(16), 1969-1987.



- Lavarías, S., García, C., Crespo, R., Pedrini, N., Heras, H., 2013.** Study of biochemical biomarkers in freshwater prawn *Macrobrachium borellii* (Crustacea : Palaemonidae) exposed to organophosphate fenitrothion. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 96, 10-16.
- Lavradas R.T., Rocha R.C.C., Bordon I.C.A.C., Saint Pierre T.D., Godoy J.M., Hauser-Davis R.A., 2016.** Differentiel metallothionein, reduced glutathione and metal levels in *Perna perna* mussels in two environmentally impacted tropical bays in southeastern Brazil. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 129, 75-84.
- Le Blanc, G.A., Cochrane, B.J., 1987.** Identification of multiple glutathione s-transferases from *Daphnia magna*. *Comp. Biochem. Physiol.* 88, 39-46.
- Le Claire L., 1972.** La sédimentation holocène sur le versant méridional du bassin Algéroaléas (précontinent algérien). *Mémoire Muséum National Histoire Naturelle. Nouvelle Série C. Science de la terre. Tome XXIV. Fascicule unique*, 391 p.
- Le Gall, P., Bucaille, D., Dutot, P., 1989.** Résistance aux variations de salinité chez *Paracentrotus* et *Psammechinus*. *Vie Mar. H.S.* 10, 83-84.
- Le Pennec, G., Le Pennec, M., 2003.** Induction of glutathione S-transferases in primary cultured digestive gland acini from the mollusk bivalve *Pecten maximus* (L.): application of a new cellular model in biomonitoring studies. *Aquat. Toxicol.* 64(2), 131-142.
- Legras, S., Mouneyrac, C., Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., Rainbow, P.S., 2000.** Changes in metallothionein concentrations in response to variation in naturel factors (salinity, sex, weight) and metal contamination in crabs from a metal-rich estuary. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 246(2), 259-279.
- Leiniö, S., Lehtonen, K.K., 2005.** Seasonal variability Seasonal variability in biomarkers in the bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma balthica* from the northern Baltic Sea. *Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol.* 140(3-4), 408-421.
- Lemaire, N., Pellerin, J., Fournier, M., Girault, L., Tamigneaux, E., Cartier, S., Pelletier, E., 2006.** Seasonal variations of physiological parameters in the blue mussel *Mytilus* spp. from farm sites of eastern Quebec. *Aquaculture* 261, 729-751.
- Lemee, R., 2002.** Les mollusques. www.club-aquabulles.fr/lecoindelabio/mollusques.
- Lemghich, I., Benajiba, M.H., 2007.** Survey of imposex in prosobranch molluscs along the northern Mediterranean coast of Morocco. *Ecol. Indic.* 7, 209-214.



- Levi, Y., 2007.** Evaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives, AFSSA-AFSSET, groupe de travail : cyanobactéries et cyanotoxines, Nancy, 227 p.
- Limaverde, A.M., Rebello Wagener, A. de L., Fernandez, M.A., Scofield, A. de L., Coutinho, R., 2007.** *Stramonita haemastoma* as a bioindicator for organotin contamination in coastal environments. Mar. Environ. Res. 64, 384-398.
- Lindner, G., 2011.** Guide des coquillages marins. Edition Delachaux et Niestlé. 319 p.
- Liu, H., Probst, A., Liao, B., 2005.** Metal contamination of soils and crops affected by the Chenzhou lead/zinc mine spill (Hunan, China). Sci. Total. Environ. 339(1-3), 153-166.
- Liu, L.L., Suen, I.J., 1996.** Organotins promoting the development of imposex in the oyster drill *Thais clavigera*. J. Fish. Soc. Taiwan 23, 149-154.
- Livingstone, D.R., 1981.** Induction of enzymes as a mechanism for the seasonal control of metabolism in marine invertebrates: glucose-6-phosphate dehydrogenases from the mantle and hepatopancreas of the common mussel *Mytilus edulis* L. Comp. Biochem. Physiol. B, Comp. Biochem. 69(2), 147-156.
- Livingstone, D.R., 2001.** Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. Mar. Pollut. Bull. 42(8), 656-666.
- Louiz, I., Ben Hassine, O.K., 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. Mar. Pollut. Bull. 107(1), 305-314.
- Lowe, D.M., Pipe, R.K., 1994.** Contaminant induced lysosomal membrane damage in marine mussel digestive cells: an in vitro study. Aquat. Toxicol. 30(4), 357-365.
- Lucas, A., Beninger, P.G., 1985.** The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. Aquaculture 44, 187-200.
- Lum, R.R., 1987.** Cadmium in freshwaters: the Great Lakes and St. Lawrence River. In: Nriagu J.O., Sprague, J.B. (Eds.), Cadmium in the Aquatic Environment. Wiley, New York, 35-50.
- Lykkesfeldt, J., 2007.** Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. Clin. Chim. Acta 380(1-2), 50-58.



M

- Machreki-Ajmi, M., Ketata, I., Ladhar-Chaabouni, R., Hamza-Chaffai, A., 2008.** The effect of in situ cadmium contamination on some biomarkers in *Cerastoderma glaucum*. *Ecotoxicology* 17(1), 1-11.
- Mackie, G.L., Schloesser, D.W., 1996.** Comparative biology of zebra mussels in Europe and North America: An overview. *Am. Zool.* 36, 244-258.
- Mahan, B.H., 1987.** Química. Curso Universitario. Fondo Educativo Interamericano S. A.
- Mainstone, G., Glson, J., Prr, W., 1993.** Phosphate in fresh water, Standards for nature conservation. *English Nature Research Reports* 73, 91 p.
- Manduzio, H., Monsinjon, T., Galap, C., Leboulenger, F., Rocher, B., 2004.** Seasonal variations in antioxidant defences in blue mussels *Mytilus edulis* collected from a polluted area: major contributions in gills of an inducible isoform of Cu/Zn-superoxide dismutase and of glutathione S-transferase. *Aquat. Toxicol.* 70(1), 83-93.
- Marchand, M., Abarnou, A., Marcaillou-Lebaut, C., 1990.** Les polychlorobiphényles (PCB) en milieu marin : biogéochimie et écotoxicologie. Rapport scientifique et technique N°18 de l'IFRIMER, France, 162 p.
- Marchand, M., Kantin, R., 1997.** Les métaux traces en milieu aquatique. *Océanis* 23(4), 595-629.
- Martelli, A., Rousselet, E., Dycke, C., Bouron, A., Moulis, J., 2006.** Cadmium Toxicity in Animal Cells by Interference with Essential Metals. *Biochimie* 88(11), 1807-1814.
- Martínez-Lara, E., George ,S.G., López-Barea, J., Bárcena, J.A., 1997.** Purification and characterization of multiple glutathione transferase isoenzymes from grey mullet liver. *Cell Mol. Life Sci.* 53(9), 759-768.
- Martinez-Lara, E., George, S.G., Lopez Barea, J., Barcena, J.A., 1997.** Purification and characterization of multiple glutathione s-transferase isoenzymes form grey mullet liver. *Cell. Mol. life sci.* 53, 759-768.
- Mc Lean, J., Beveridge, T.J., 2001.** Chromate reduction by a pseudomonad isolated from a site contaminated with chromated copper arsenate. *Applied and Environmental Microbiology* 67, 1076-1084.



- Mc Quaid, C.D., Lawrie, S.M., 2005.** Supply-side ecology of the brown mussel, *Perna perna*: an investigation of spatial and temporal variation in, and coupling between, gamete release and larval supply. *Mar. Biol.* 147(4), 955-963.
- Mebarki, R., Khebbab, M.E.H., Soltani, N., 2015.** Biomonitoring of El Mellah lagoon (Northeast, Algeria): Seasonal variation of biomarkers in *Cerastoderma glaucum* (Mollusc, Bivalvia). *J. Entomol. Zool. Stud.* 3(4), 408-413.
- Mejdoub, Z., Fahd, A., Loutfi, M., Kabine, M., 2017.** Oxidative stress responses of the mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to emissary's pollution in coastal areas of Casablanca. *Ocean Coast. Manag.* 136, 95-103.
- Mergler, D., Anderson, H.A., Chan, L.H., Mahaffey, K.R., Murray, M., Sakamoto M., Stern, A.H., 2007.** The panel on health risks and toxicological effects of methyl mercury. Methyl mercury exposure and health effects in humans: a worldwide concern. *Ambio*, 36, 3-11.
- Merzouki, M., Talib, N., Sif, J., 2009.** Indice de condition et teneurs de quelques métaux (Cu, Cd, Zn et Hg) dans les organes de la moule *Mytilus galloprovincialis* de la côte d'El Jadida (Maroc) en mai et juin 2004. *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie*, 31(1), 21-26.
- Metayer, C., Gamiard, J.C., Amiard-Triquet, C., Berthet, B., 1985.** Facteurs biologiques et écologiques contrôlant le niveau d'éléments traces (Cd, Pb, Cu, Zn) chez les Moules et les Huîtres de la Baie de Bourgneuf. *Bull. Soc. Sc. Nat. Ouest Fr.* 7(2), 53-69.
- Meziane, K., Kerfouf, A., 2018.** Current Situation of *Stramonita heamastoma* (Linnaeus 1758) (Gasteropod Mollusk) in the Western Coast of Algeria. *IJSBAR*. 39(2), 40-46.
- Michelet, F., gueguen, R., Leroy, P., Wellman, M., Nicolas, A., Sies, G., 1995.** Blood and plasma glutathione measured in healthy subjects by HPLC: Relation to sex, again, biological variables and life habits. *Ceint. Chem.* 41(10), 1509-1517.
- Millet, B., 1989.** Fonctionnement hydrodynamique du bassin de Thau. Validation écologique d'un modèle numérique de circulation (programme Ecothau). *Oceanol. Acta* 12, 37-46.
- Minier, C., Borghi, V., Moore, M.N., Porte, C., 2000.** Seasonal variation of MXR and stress proteins in the common mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Aquat. Toxicol.* 50, 167-176.



- Miquel, M., 2001.** Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport Office Parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques (Dir.). Rapport Sénat n°261. France, 360 p.
- Monteiro, D.A., De Almeida, J.A., Rantin, F.T., Kalinin, A.L., 2006.** Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, *Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticides Folisuper 600 (methyl parathion). Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol. 143(2), 141-149.
- Moore, J. W., Ramamoorthy, S., 1984.** Heavy Metals in Natural Waters: Applied Monitoring and Impact Assessment. Springer-Verlag, New York, pp. 58-76.
- Moraïetou- Apostolopoulou, M., Verriopoloup, G., 1982.** Individual and combined toxicity of three heavy metals, Cu, Cd and Cr for the marine Copepod (lisbeholothuriae), 87, 83-87.
- Morin, A., 2002.** Animaux structures et fonctions. Ed. Université d'Ottawa, Canada. p. 142.
- Mouchel, J.M., Thévenot, D., 2003.** Support de cours d'Ecotoxicologie du CEREV « Centre d'Enseignement et de Recherche Eau Ville environnement ».
- Mougraud, Y., Martinez, E., Geffard, A., Andral, B., Stanisiere, J.Y., Amiard, J.C., 2002.** Metallothionein concentration in the mussel *Mytilus galloprovincialis* as a biomarker of response to metal contamination: validation in the field. Biomarkers 7, 479-490.
- Mouneyrac, C., Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., 1998.** Effects of natural factors (salinity and body weight) on cadmium, copper, zinc and metallothionein-like protein levels in resident populations of oysters (*Crassostrea gigas*) from a polluted estuary. Mar. Ecol. Prog. Ser. 162, 125-135.
- Mouneyrac, C., Geffard, A., Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., 2000.** Metallothionein-like proteins in *Macoma balthica* : effects of metal exposure and natural factors. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 57, 34-42.



N

- Nabi, N.K., Aouaragh, R., 1992.** Pollution de l'environnement connaissances et contrôles. Ingéniorat d'Etat en Chimie Industrielle, Univ, des Sciences et de la Technologie d'Oran : 102 p.
- Nahrgang, J., Brooks, S.J., Evenset, A., Camus, L., Johsson, M., Smith, T.J., Lukina, J., Frantzen, M., Giarratano, E., Renaud, P.E., 2013.** Seasonal variation in biomarkers in blue mussel (*Mytilus edulis*), Icelandic scallop (*Chlamys islandica*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*). Implications for environmental monitoring in the Barents sea. *Aquat. Toxicol.* 127, 21-35.
- Naimo, T.J., 1995.** A review of the effects of heavy metals on freshwater mussels. *Ecotoxicology* 4(6), 341-362.
- Nakhlé, K. F., 2003.** Le mercure, le cadmium et le plomb dans les eaux littorales libanaises : Apports et suivi au moyen de bioindicateurs quantitatifs (Eponges, bivalves et gastéropodes). Thèse de doctorat. Interactions toxiques dans les écosystèmes. Université Paris 7, 246 p.
- Narbonne, J.F., Daubeze, M., Clérandeau, C., Garrigues, P., 1999.** Scale of classification based on biochemical markers in mussels: application to pollution monitoring in European coasts. *Biomarkers* 4, 415-424.
- Narbonne, J.F., Daubeze, M., Baumard, P., Budzinski, H., Clérandeau, C., Akcha, F., Mora, P., Garrigues, P., 2001.** Biochemical markers in mussel, *Mytilus* sp. and pollution monitoring in European coasts: data analysis. In: Garrigues, P., Barth, H., Walker, C.H., Narbonne, J.F. *Biomarkers in marine organisms : A practical approach*. Edition Elsevier Science B.V. 216-236.
- Narbonne, J.F., Aarab, N., Clerandeanu, 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.
- Nas/Nrc, 1989.** Recommended dietary allowances, National Academy of Science/National Research Council, Washington.



- Nassali, H., Ben Bouih, H., Srhiri, A., Dhahbi, M., 2005.** Influence des rejets des eaux usées sur la composition des eaux de surface et des sédiments superficiels du lac Merja Fouarate au Maroc. *Afr. Sci.* 1, 145-165.
- Neal, C., Neal, M., Wickham, H., Harrow, M., 2000.** The water quality of a tributary of the Thames, the Pang, southern England. *The science of the Total Environment.* 251/252, 459-475.
- Nelson D.A., Calabrese A., Nelson A., McInnes J.R., Wenzloff D., 1976.** Biological effects of heavy metals on juvenils Bay Scallops, *Argopecten irradians* in: short-term exposures. *Bull. Envi. Toxicol. Cont. Toxicol.* 16, 275-282.
- Nicholson, S., Lam, P.K.S., 2005.** Pollution monitoring in Southeast Asia using biomarkers in the mytilid mussel *Perna viridis* (Mytilidae: Bivalvia). *Environ. Int.* 31, 121-132.
- Nilsson, J.A., 2002.** Metabolic consequences of hard work. *Proc. R. Soc. Lond. B, Biol. Sci.* 269 (1501): 1735-1739.
- Nimmo, D.R., Hamaker, T., L. and Sommers, C.A., 1978.** Entire life cycle toxicity tests using mysids (*Mysidopsis bahia*) in flowing water. In *Bioassay Procedures for the Ocean Disposal Permit Program*. EPA-600/9-78-010. U.S.E.P.A., Gulf Breeze, FL.
- Nriagu, J.O., 1974.** Lead orthophosphates--IV Formation and stability in the environment. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 38(6), 887-898.
- Nriagu, J.O., 1978.** The biogeochemistry of lead in the environment. Elsevier, Amsterdam, 1011 p.
- Nriagu, J.O., 1979.** Global inventory of natural and anthropogenic emissions of trace metals to the atmosphere. *Nature* 279, 404-411.
- Nriagu, J.O., 1991.** Human influence on the global cycling of trace metals. In: J.D. Farmer (Ed.), *Heavy Metals in the Environment*. CEP Consultants, Edinburgh, 1-5.
- Nriagu, J.O., 1996.** A History of Global metal Pollution. *Science*, 272(April), 223-224.



O

- Okumus, I., Stirling, H.P., 1998.** Seasonal variations in the meat weight, condition index and biochemical composition of mussels *Mytilus edulis* L. in suspended culture in two Scottish sea lochs. *Aquaculture* 159, 249-261.
- OMS-IPCS, 1998.** Environmental Health Criteria n°200: copper, World Health Organisation, International Programme on chemical safety. <http://www.inchem.org/fullist.htm>.
- Orban, E., Di Lena, G., Nevigato, T., Casini, I., Marzetti, A., Caproni, R., 2002.** Seasonal changes in meat content, condition index and chemical composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) cultured in two different Italian sites. *Food Chem.* 77, 57-65.
- 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 ONESS /MATE/05/04. 11 p.
- Ounissi, M., Frehi, H., 1999.** Variabilité du microphytoplancton et des tintinnides d'un secteur hautement eutrophe du golfe d'Annaba (Algérie). *Cah. Biol. Mar.* 40, 141-153.
- Ounissi, M., Khelifi-Touhami, M., 1999.** Le Zooplancton du plateau continental d'El-Kala (Méditerranée sud-occidentale): composition et abondance en mai 1996. *J. Rech. Oceanogr.* 24, 5-11.
- Ounissi, M., Ziouch, O.R., Aounallah, O., 2014.** Variability of the dissolved nutrient (N, P, Si) concentrations in the bay of Annaba in relation to the inputs of the Seybouse and Mafragh estuaries. *Mar. Pollut. Bull.* 80, 234-244.

P

- Pampanin, D.M., Marangon, I., Volpato, E., Campesan G., Nasi, C., 2005.** Stress biomarkers and alkali-labile phosphate level in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) collected in the urban area of Venice (Venice Lagoon, Italy). *Environm. Pollut.* 136(1), 103-107.



- Paulet, Y.M., Dorange, G., Cochard, J.C., Le Pennec, M., 1992.** Reproduction et recrutement chez *Pecten maximus* L. Ann. Inst. Océanogr. Paris 68(1-2), 45-64.
- Paul-Pont, I., Gonzalez, P., Baudrimont, M., Nili, H., de Montaudouin, X., 2010a.** Short-term metallothionein inductions in the edible cockle *Cerastoderma edule* after cadmium or mercury exposure: discrepancy between mRNA and protein responses. Aquat. Toxicol. 97(3), 260-267.
- Paul-Pont, I., Gonzalez, P., Baudrimont, M., Jude, F., Raymond, N., Bourasseau, L., Le Goïc, N., Haynes, F., Legeay, A., Paillard, C., de Montaudouin, X., 2010b.** Interactive effects of metal contamination and pathogenic organisms on the marine bivalve *Cerastoderma edule*. Mar. Pollut. Bull. 60(4), 515-525.
- Pellerin-Massicotte, J., 1997.** Influence of elevated temperature and air-exposure on MDA levels and catalase activities in digestive glands of the Blue mussel (*Mytilus edulis* L.). J. Rech. Océanogr. 22(3), 91-98.
- Perez-Lopez, M., Anglade, P., Bec-Ferte, M.P., Debrauwer, L., Perdu, E., Cravedi, J.P., 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 physiol. Biochem. 22, 21-32.
- Peteiro, L.G., Babarro J.M.F., Labarta, U., Fernandez-Reiriz M.J., 2006.** Growth of *Mytilus galloprovincialis* after the Prestige oil spill. ICES J. Mar. Sci. 63, 1005-1013.
- Pezo R., Maco J., Canepa, J., 1985.** Cambiental por actividades petroleras en los ríos Pastaza, Tigre, Corrientes, Samiria y Amazonas. Instituto de investigaciones de la Amazonia peruana (IIAP), Iquitos, Peru, 59p. In: Loayza-Muro, R., Elias-letts, R., 2007. Responses of the mussel *Anodontites trapesialis* (Unionidae) to environmental stressors: Effects of pH, temperature and metals on filtration rate. Environmental Pollution, 149, 209-215.
- Phelan, J.M., Finnegan, D.L., Ballantine, D.S., Zoller, W.H., Hart, M.A. et Moyers, J., 1982.** Airborne aerosols measurements in the quiescent plume of Mount St. Helen in September, 1980. J. Geophys. Res. 90, 1093-1096.
- Phelps, H.L., Hetzel, E.W., 1987.** Oysters size, age, and copper and zinc accumulation. J. Shellfish Res. 6, 67-70.



- Phillips, D.J.H., 1976.** The common mussel *Mytilus edulis* as an indicator of pollution by zinc, cadmium, lead and copper. I. Effects of environmental variables on uptake of metals. Mar. Biol. 38(1), 59-69.
- Phillips, D.J.H., Rainbow, P.S., 1993.** Biomonitoring of trace aquatic contaminants. Environmental management series, Alden pcess Ltd, Oxford, 371 p.
- Pierce, S., Tappel, A., 1987.** Glutathion peroxidase activities from rat liver. Biochem. Biophys. Acta 523, 27-36.
- Plumlee, G.S. et Ziegler, T.L., 2003.** The medical geochemistry of dust, soils and other earth materials. In: B.S. Lollar (Ed.), Environmental Geochemistry. Treatise on Geochemistry. Elsevier-Pergamon, Oxford, 264-310.
- PNUE/PAM., 2004.** Programme des nations unies pour l'environnement. Plan d'action pour la méditerranée PAM, MEDPOL. Lignes directrices pour l'élaboration d'indicateurs d'état écologique et de réduction de stress. N° 154 de la série de rapport techniques de PAM.
- Pompella, A., Maelloaro, E., Casini, A.A., Farrali, M., Ciccoli, J.M., 1987.** Measurement of lipid Peroxydation in vivo : a comparaison of different procedures. Lipids 22, 206-211.
- Popham, J.D., D'Auria, J.M., 1983.** Combined effect of body size, season and location on trace element levels in Mussels (*Mytilus edulis*). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 12 (1), 1-14.
- Prakash, N.T., Rao, K.S., 1995.** Modulations in antioxidant enzymes in different tissues of marine bivalve *Perna viridis* during heavy metal exposure. Mol. Cell. Biochem. 146 (2), 107-13.
- Price, N. M., Morel, F.M.M., 1990.** Cadmium and cobalt substitution for zinc in a marine diatom. Nature 344(6267), 658-660.
- Purvina, S., Béchemin, C., Balode, M., Verite, C., Arnaud, C., Maestrini, S.Y., 2010.** Release of available nitrogen from river discharged dissolved organic matter by heterotrophic bacteria associated with the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. Est. J. Ecol. 59(3), 184-196.



R

- R Core Team, 2014.** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienne, Austria. <http://www.r-project.org/>.
- Rabaoui, L., Balti, R., Zrelli, R., Tlig-Zouari, S., 2013.** Assessment of heavy metals pollution in the gulf of Gabes (Tunisia) using four mollusk species. *Mediterr. Mar. Sci.* 15, 45-58.
- Rain, F., Fernex, F., 1982.** Teneurs en métaux lourds dans les sédiments des baies de Nice et de Ville Franche-sur-mer (méditerranée, France). Origine de contamination. *Rev. INT. Oceanogr. Medit Tomes L. XIII- L.XIV.*, 85-96.
- Ram, R.N., Sathyanesan, A.G., 1983.** Effects of mercuric chloride on the reproductive cycle of the teleostean fish *Channa punctatus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 30, 24-27.
- Ramade, F., 1992.** Précis d'écotoxicologie. Masson, Paris, 300 p.
- Ramírez, R., Tuya, F., Haroun, R.J., 2009.** Spatial patterns in the population structure of the whelk *Stramonita haemastoma* (Linnaeus, 1766) (Gastropoda: Muricidae) in the Canarian Archipelago (eastern Atlantic). *Sci. Mar.* 73, 431-437.
- Rao, J.V., 2006.** Biochemical alterations in euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus* exposed to sub-lethal concentrations of an organophosphorus insecticide monocrotophos. *Chemosphere* 65(10), 1814-1820.
- Reed, D.J., 1990.** Glutathione: toxicological implications. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 30, 603-631.
- 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. *Aquat. Toxicol.* 68(2), 167-178.
- Regoli, F., Principato, G., 1995.** Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. *Aquat. Toxicol.* 31(2), 143-164.



- Reidy, G.F., Rose, H.A., Viseton, S., Murray, M., 1990.** Increased glutathione S-transferase activity and glutathione content in an insecticide-resistant strain of *Tribolium castaneum* (Herbst). *Pest. Biochem. Physiol.* 36, 269-279.
- Rejsek, F., 2002.** Analyse des eaux : aspects réglementaires et techniques. Collection : biologie technique. Edition Canopé - CRDP de Bordeaux. France. p.360.
- Renholdt, R., 1976.** Distribution of selected metals in tissue samples of carp, *Cyprinus carpio*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 15(3), 374-377.
- Richardson, B.J., Mak, E., De Luca-Abbott, S.B., Martin, M., McClellan, K., Lam, P.K., 2008.** Antioxidant responses to polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in green-lipped mussels (*Perna viridis*): do mussels "integrate" biomarker responses? *Mar. Pollut. Bull.* 57(6-12), 503-514.
- Riedel, G.F., Abbe, G.R., Sanders, J.G., 1998.** Temporal and spatial variations of trace metal concentrations in oysters from the Patuxent River, Maryland. *Estuaries* 21, 423-434.
- Rilov, G., Benayahu, Y., Gasith, A., 2001.** Low abundance and skewed population structure of the whelk *Stramonita haemastoma* along the Israeli Mediterranean coast. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 218, 189-202.
- Rilov, G., Gasith, A., Benayahu, Y., 2002.** Effect of an exotic prey on the feeding pattern of a predatory snail. *Mar. Environ. Res.* 54, 85-98.
- Rilov, G., Gasith, A., Benayahu, Y., 2005.** Effect of disturbance on foraging: Whelk activity on wave-exposed rocky shores with minimal tidal range. *Mar. Biol.* 147, 421-428.
- RINBIO., 2001.** Réseau Intégrateurs Biologiques, novembre Evaluation de la qualité des eaux basée sur l'utilisation de stations artificielles de moules en Méditerranée : résultats de la campagne 2000. Ifremer, direction de l'environnement et de l'aménagement littoral.
- Ringwood, A.H., Connors, D.E., 2000.** The effects of glutathione depletion on reproductive success in oysters, *Crassostrea virginica*. *Mar. Environ. Res.* 50(1-5), 207-211.
- Ringwood, A.H., Connors, D.E., DiNovo, A., 1998.** The effects of copper exposures on cellular responses in oysters. *Mar. Environ. Res.* 46 (1-5), 591-595.
- Ringwood, A.H., Hoguet, J., Keppler, C., Gielazyn, M., 2004.** Linkages between cellular biomarker responses and reproductive success in oysters *Crassostrea virginica*. *Mar. Environ. Res.* 58(2-5), 151-155.



- Ritz, D.A., Swain, R., Elliott, N.G., 1982.** Use of the mussel *Mytilus edulis planulatus* (Lamarck) in monitoring heavy metal levels in seawater. Aust. J. Marine Freshwater Res. 33(3), 491-506.
- RNB, 1999.** Réseau National de Bassin. Les micropolluants dans les cours d'eau français, 3 années d'observations (1995 à 1997). Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement et les agences de l'eau. France.
- RNO, Edition., 2003.** Travaux du Réseau National d'Observation de la Qualité du Milieu Marin. Surveillance environnementale, IFREMER.
- RNO, Edition., 2006.** Surveillance du milieu marin. Travaux du réseau National d'Observation de la qualité du milieu marin. Ifremer.
- Roche, H., Buet, A., Ramade, F., 2003.** Mise en evidence et validation de biomarqueurs écotoxicologiques dans la population d'anguilles d'un étang de la reserve naturelle nationale de Camargue, le vaccares exposée a des polluants organiques persistants. Rev. Ecol. 58, 127-141.
- Rodier, J., Geoffray, C., Kovacsik, G., Laporte, G., Plissier, M., Scheidhauer, J., Verneaux, J., Vial, J., Rodi, L., 1978.** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer : chimie, physicochimie, bactériologie, biologie. 6^{ème} Ed. Dunod. Paris, 1135 p.
- Rodier, J., 1996.** L'analyse de l'eau: eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. Chimie, physicochimie, bactériologie, biologie. 8^{ème} Ed. Dunod Bordas, Paris, 1135 p.
- Rodier, J., 2009.** L'analyse de l'eau, 9^e édition. DUNOD (éditeur), Paris, France, 1579 p.
- Rodier, J., Bazin, C., Broutin, J. P., Champsaur, H., Rodi, L., 2005.** L'analyse de l'eau. Eaux naturelles. Eaux résiduaires. Eau de mer. 8^{ème} Ed. DUNOD. Paris, 1383 p.
- Roesijadi, G., 1992.** Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. Aquat. Toxicol. 22(2), 81-113.
- Roesijadi, G., 1996.** Metallothionein and its role in toxic metal regulation. Comp. Biochem. Physiol. C, Pharmacol. Toxicol. Endocrinol. 113(2), 117-123.
- Roesijadi, G., Klerks, P., 1989.** Kinetic analysis of Cadmium binding to metallothionein and other intracellular ligands in oyster gills. J. Exper. Zool. 251(1), 1-12.



- Roesijadi, G., Robinson, W.E., 1994.** Metal regulation in aquatic animals: mechanisms of uptake, accumulation and release. In: Malins, D.C., Ostrander, K.G. (Eds.), *Aquatic Toxicology: Molecular, Biochemical and Cellular Perspectives*. CRC/Lewis Publisher, Boca Raton (FL), 387-420.
- Roméo, M., Hoarau, P., Garelo, G., Gnassia-Barelli, M., Girard, J.P., 2003.** Mussel transplantation and biomarkers as useful tools for assessing water quality in the NW Mediterranean. *Environ. Pollut.* 122(3), 369-378.
- Rooney, C.P., McLaren, R.G. Cresswell, R.J., 1999.** Distribution and phytoavailability of lead in a soil contaminated with lead shot. *Water Air and Soil Pollution* 116(3), 535-548.
- Rosety, M., Rosety-Rodríguez, M., Ordonez, F.J., Rosety, I., 2005.** Time course variations of antioxidant enzyme activities and histopathology of gilthead seabream gills exposed to malathion. *Histol. Histopathol.* 20(4), 1017-1020.
- Rouane-Hacene, O., 2013.** Biosurveillance de la qualité des eaux côtières du littoral occidental Algérien par la suivi des indices biologiques et la biodisponibilité et la bioaccumulation des métaux lourds (Zn, Cu, Pd, 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. 295 p.
- Rouane-Hacene, O., Boutiba, Z., Belhaouari, B., Guibbolini-Sabatier, M.E., Francour, P., Risso-de Faverny, 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.
- Rouibah, M., Boulahdid, M., Boudjellal, B., Eddalia, N., Ounadi, F., 2005.** Etude de la pollution du littoral Algérois et du lac de Reghaia. Par l'APPL, ISMAL, 73 p.

S

- Saavedra, Y., Gonzalez, A., Fernandez, P., Blanco, J., 2004.** The effect of the size on trace metal levels in raft cultivated mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Sci. Total Environ.* 318, 115-124.



- Sáenz, L.A., Seibert, E.L., Zanette, J., Fiedler, H.D., Curtius, A.J., Ferreira, J.F., De Almeida, E.A., Marques, M.R.F, Bainy, A.C.D., 2010.** Biochemicals biomarkers and metals in *Perna perna* mussels from mariculture zones of Santa Catarina, Brazil. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 73(5), 796-804.
- Saint-Denis, M., Labrot, F., Narbonne, J.F., Ribera, D., 1998.** Glutathione, glutathione-related enzymes, and catalase activities in the earthworm *Eisenia fetida andrei*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 35(4), 602-614.
- Saker, I.E., 2007.** Pollutions chimiques par les effluents industriels directs introduits littoral d'Annaba. Mémoire de magister Univ. Annaba. 34 p.
- Salazar, M.H., Salazar, S.M., 1991.** Assessing site-specific effects of TBT contamination with mussel growth rates. *Mar. Environ. Res.* 32, 131-150.
- Sanchez, W., 2007.** Approche multibiomarqueurs chez l'Épinoche à trois épines (*Gasterosteus Aculeatus* L.) : un modèle pour la surveillance des écosystèmes aquatiques continentaux. Thèse de Doctorat, Museum national d'histoire naturelle, France, 270 p.
- Sani, M., Ghanem-Boughanmi, N., Gadacha, W., Sebai, H., Boughattas, N.A., Reinberg, A., Ben-Attia, M., 2007.** Malondialdehyde content and circadian variations in brain, kidney, liver, and plasma of mice. *Chronobiol. Int.* 24, 1-15
- Santos, J.J.B., 2011.** Spatial-temporal distribution and recruitment of *Stramonita haemastoma* (Linnaeus, 1758) (Mollusca) on a sandstone bank in Ilhéus, Bahia, Brazil. *Braz. J. Biol.* 71, 799-805.
- Santovito, G., Boldrin, F., Irato, P., 2015.** Metal and metallothionein distribution in different tissues of the Mediterranean clam *Venerupis philippinarum* during copper treatment and detoxification. *Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol.* 174-175, 46-53.
- Schiedek, D., Broeg, K., Barsiene, J., Lehtonen, K.K., Gercken, J., Pfeifer, S., Vuontisjärvi, H., Vuorinen, P.J., Dedonyte, V., Koehler, A., Balk, L., Schneider, R., 2006.** Biomarker responses as indication of contaminant effects in blue mussel (*Mytilus edulis*) and female eelpout (*Zoarces viviparus*) from the Southwestern Baltic sea. *Mar. Pollut. Bull.* 53(8-9), 387-405.
- Schlumberger, O., 2002.** Mémento de pisciculture d'étang. 4^{ème} édition CEMAGREF, 237 p.



- Schmidt, W., O'Shea, T., Quinn, B., 2012.** The effect of shore location on biomarker expression in wild *Mytilus* spp. and its comparison with long line cultivated mussels. Mar. Environ. Res. 80, 70-76.
- Schmidt, W., Power, E., Quinn, B., 2013.** Seasonal variations of biomarker responses in the marine blue mussel (*Mytilus* spp.). Mar. Pollut. Bull. 74(1), 50-55.
- Schneider, W., 1992.** Fiche FAO d'identification des espèces pour des besoins de la pêche. Guide de terrain des ressources marines commerciales du golfe de Guinée. Service des ressources marines. Division des ressources halieutiques et de l'environnement. Département des pêches, FAO.
- Semadi, A., Deruelle, S., 1993.** Lead pollution monitoring by transplanted lichens in Annaba area (Algeria). Rev. Poll. Atmos. 35 (140), 86-102.
- Sensi, S.L., Jeng, J.M., 2004.** Rethinking the excitotoxic ionic milieu: the emerging role of Zn^{2+} in ischemic neuronal injury. Curr. Mol. Med. 4, 87-111.
- Serafim, A., Bebianno, M.J., 2010.** Effect of a polymetallic mixture on metal accumulation and metallothionein response in the clam *Ruditapes decussatus*. Aquat. Toxicol. 99 (3), 370-378.
- Serafim, M.A., Company, R.M., Bebianno, M.J., Langston, W.J., 2002.** Effect of temperature and size on metallothionein synthesis in the gill of *Mytilus galloprovincialis* exposed to cadmium. Mar. Environ. Res. 54(3-5), 361-365.
- Seyni, S., 2006.** Contrôle environnemental de la production primaire du lac de Guiers au Nord du Sénégal Thèse de Doctorat de 3^{ème} cycle de Biologie Végétale. Univ Cheik Anta Diop. 199 p.
- Sheehan, D., Power, A., 1999.** Effects of seasonality on xenobiotic and antioxidant defence mechanisms of bivalve molluscs. Comp. Biochem. Physiol. C, Pharmacol. Toxicol. Endocrinol. 123(3), 193-199.
- Shelly, C., Lu, M.D, 2009.** Regulation of glutathione synthesis. Mol. Aspects Med. 30(1-2), 42-59.
- Sidoumou, Z., Gnassia-Barelli, M., Siau, Y., Morton, V., Roméo, M., 2006.** Heavy metal concentrations in molluscs from the Senegal coast. Environ. Int. 32, 384-387.



- Sierra-Marquez, L., Sierra-Marquez, J., De la Rosa, J., Olivero-Verbel, J., 2018.** Imposex in *Stramonita haemastoma* from coastal sites of Cartagena, Colombia. *Braz. J. Biol.* 78(3), 548-555. <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.173301>
- Sies, H., 1999.** Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic. Biol. Med.* 27, 916-921.
- Sif, J., Essedaoui, A., Ferssiwi, A., 2002.** Concentration du Cu, Zn et Cd au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* : rôle des métallothionéines dans la détoxification des métaux lourds. *J. Rech. Océanogr.* 27(3), 284-287.
- Sifi, K., Chouahda, S., Soltani, N., 2007.** Biosurveillance de l'environnement par la mesure de biomarqueurs chez *Donax trunculus* dans le golfe d'Annaba (Algérie). *Mésogée* 63, 11-18.
- 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 d'Annaba, 140 p.
- Sifi, K., Amira, A., Soltani, N., 2013.** Oxidative stress and biochemical composition in *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba (Algeria). *Adv. Environ. Biol.* 7(4), 595-604.
- Sittig, M., 1976.** Toxic metals: pollution control and worker protection » Noyes Data corporation, 350 p.
- Smaoui-Damak, W., Hamza-Chaffai, A., Bebianno, M.J., Amiard, J.C., 2004.** Variation of metallothioneins in gills of the clam *Ruditapes decussatus* from the Gulf of Gabès (Tunisia). *Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol.* 139(4), 181-188.
- Smith, S., Peterson, P.J., Kwan, K.H.M., 1989.** Chromium accumulation, transport and toxicity in plants. *Toxicol. Environ. Chem.* 24, 241-251.
- Smolders, R., Bervoets, L., Blust, R., 2002.** Transplanted zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) as active biomonitors in an effluent-dominated river. *Environ. Toxicol. Chem.* 21, 1889-1896.



- Sobrino-Figueroa, A.S., Cáceres-Martínez, C., Botello, A.V., Nunez-Nogueira, G., 2007.** Effect of cadmium, chromium, lead and metal mixtures on survival and growth of juveniles of the scallop *Argopecten ventricosus* (Sowerby II, 1842). J. Environ. Sci. Health Part A 42, 1443-1447.
- Sokolowski, A., Bawazir, A.S., wolowicz, M., 2004.** The effect of seasonal cycle, weight and sex of individuals on trace metal concentrations in the brown mussel *Perna perna* from the coastal waters of Yemen (Gulf of Aden). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 46, 67-80.
- Solé, M., Porte, C., Albaigés, J., 1995a.** The use of biomarkers for assessing the effects of organic pollution in mussels. Sci. Total. Environ. 159(2-3), 147-153.
- Solé, M., Porte, C., Albaiges J., 1995b.** Seasonal variation in the mixed-function oxygenase system and antioxidant enzymes of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. Environment. Toxic. Chem. 14, 157-164
- Solorzano, L., 1969.** Determination of ammonia in natural water by the phenolhypochlorite method. Limnol. Oceanog., 14, 799-801.
- 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(1-4), 47-56.
- Soto, M., Ireland, M.P., Marigómez, I., 2000.** Changes in mussel biometry on exposure to metals: implications in estimation of metal bioavailability in Mussel-Watch programmes. Sci. Total Environ. 247, 175-187.
- Soualili, D., Dubois, Ph., Gosselin, P., Pernet, Ph., Guillou M., 2008.** Assessment of seawater pollution by heavy metals in the neighbourhood of Algiers: use of the sea urchin, *Paracentrotus lividus*, as a bioindicator. ICES J. Mar. Sci. 65, 132-139.
- Splittgerber, A.G., Tappel, A.L., 1979.** Inhibition of glutathione peroxidase by cadmium and other metals. Arch. Biochem. Biophys. 197, 534-542.
- Srain, B., Rudolph, A., 2010.** Acetylcholinesterase activity, antioxidant defenses, and lipid peroxidation in the clam *Semele solida*: Can this species be used as a bioindicator?. Rev. Biol. Mar. Oceanogr. 45(2), 227-233.



- Steadman, B.L., Farag, A.M., Bergman, H.L., 1991.** Exposure-related patterns of biochemical indicators in rainbow trout exposed to no. 2 fuel oil. *Environ. Toxicol. Chem.* 10, 365-374.
- Stephensen, E., Sturve, J., Forlin, L., 2002.** Effects of redox cycling compounds on glutathione content and activity of glutathione-related enzymes in rainbow trout liver. *Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol.* 133(3), 435-442.
- Stickle, W.B., Zhang, Z., 2003.** Long-term trends in imposex in six populations of *Stramonita haemastoma*. *Bull. Mar. Sci.* 72, 685-694.
- Stohs, J.S., Bagchi, D., Hassoun, E., Bagchi, M., 2000.** Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions. *J. Environ. Pathol. Oncol.* 19(3), 201-213.
- Strömberg, T., 1982.** Effect of heavy metals (Zn, Hg, Cu, Cd, Pb, Ni) on the length growth of *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.* 72, 69-72.
- Sunderman Jr., F.W., 1987.** Biochemical indices of lipid peroxidation in occupational and environmental medicine. In: Foa, V., Emmett, E.A., Maroni, M., Colomi, A. (Eds.), *Occupational and Environmental Chemical Hazards: Cellular and Biochemical Indices for Monitoring Toxicity*. Wiley, Interscience, New York, 151-158.
- Suzuki, T., Miyata, N., Horitsu, H., Kawai, K., Takamizawa, K., Tai, Y., Okazaki, M., 1992.** NAD(P)H-dependent chromium(VI) reductase of *Pseudomonas ambigua* G-1 : a Cr(V) intermediate is formed during the reduction of Cr(VI) to Cr(III). *The Journal of Bacteriology* 174, 5340-5345.

T

- Taleb, M.Z., Mega, N., Bouragba-benazza, M., Boutiba, Z., Senouci, M., 2006.** Use of ESA satellite imagery and in situ data for water quality bio-monitoring in the Algerian western coastal zone. *ESA Tiger Workshop, Cape-Town (South Africa)*, 20-21.
- Tanguy, A., Moraga, D., 2001.** Cloning and characterization of a gene coding for a novel metallothionein in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (CgMT2): a case of adaptive response to metal-induced stress? *Gene* 273, 123-30.



- Tanguy, A., Mura, C., Moraga, D., 2001.** Cloning of a metallothionein gene and characterization of two other cDNA sequences in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (CgMT1). *Aquat. Toxicol.* 55(1-2), 35-47.
- Tarsila, M.A., João, M., de Matos, N., 2006.** Two new *Terebellid polychaetes* (Polychaeta : Terebellidae) from the state of Sao Paulo, southeastern Brazil. *Zootaxa* 1205, 31-54.
- Thomas, S., 2000.** Les différents producteurs primaires d'un petit barrage tropical africain: dynamiques et interactions (Brobo, Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat d'Etat, Université Paris 6. 246 p.
- Timmermans, B.M.H., Hummel, H., Bogaards, R.H., 1996.** The effect of polluted sediment on the gonadal development and embryogenesis of bivalves. *Sci. Total. Environ.* 187, 231-236.
- Tlili S., Métais I., Boussetta H., Mouneyrac, C., 2010.** Linking changes at sub-individual and population levels in *Donax trunculus*: Assessment of marine stress. *Chemosphere* 81(6), 692-700.
- Tran, D., Boudou, A., Massabuau, J., 2001.** How water oxygenation level influences cadmium accumulation pattern in the asiatic clam *Corbicula fluminea*: a laboratory and field study. *Environ. Toxicol. Chem.* 20, 2073-2080.
- Tran, D., Boudou, A., Massabuau, J., 2002.** Relationship between feeding-induced ventilatory activity and bioaccumulation of dissolved and algal-bound cadmium in the asiatic clam *Corbicula fluminea*. *Environ. Toxicol. Chem.* 21, 327-333.
- Trevisan, R., Arl, M., Sacchet, C.L., Engel, C.S., Danielli, N.M., Melloa, D.F., Brocardob, C., Marisc, A.F., Dafrea, A.L., 2012.** Antioxidant deficit in gills of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) exposed to chlorodinitrobenzene increases menadione toxicity. *Aquat. Toxicol.* 108, 85-93.
- Turja, R., 2015.** Biological effects of contaminants in Mussels (*Mytilus trossulus*) transplanted in Northern Baltic Sea coastal areas (doctoral dissertation) Faculty of Biological and Environmental Sciences. Department of Environmental Sciences. Division of Aquatic Sciences. University of Helsinki (66 pp. ISBN 978-951-51-0819-7 (PDF)).



U

- Uchiyama, M., Mihara, M., 1978.** Determination of malondialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.* 86, 271-280.
- Ucun, H., Bayhan, Y.K., Kaya, Y., Cakıcı, A., Algur, O.F., 2002.** Biosorption of chromium (VI) from aqueous solution by cone biomass of *Pinus sylvestris*. *Bioresour. Technol.* 85, 155-158.
- Uguz, C., Iscan, M., Ergüven, A., Isgor, B., Togan, I., 2003.** The bioaccumulation of nonylphenol and its adverse effect on the liver of rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). *Environ. Res.* 92(3), 262-270.
- Ulmer, L., 1997.** Werden die Alpen zur Seniorenresidenz? [Bevölkerungsveränderungen]. Diplomarbeit Geogr. Institut Univ. Zürich. VIII, 152 S. Fig., Tab., Karten. [u.a. Surselva GR], p. 2574.
- Usero, J., Morillo, J., Gracia, I., 2005.** Heavy metal concentrations in molluscs from the Atlantic coast of southern Spain. *Chemosphere* 59(8), 1175-1181.

V

- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullos, M., 2006.** Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 64(2), 178-189.
- Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E., 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 13(2), 57-149.
- Van der Velde, G., Hermus, K., Van der Gaag, M., Jenner, H., 1992.** Cadmium, zinc and copper in the body, byssus and shell of the mussels, *Mytilopsis leucophaeta* and *Dreissena polymorpha* in the brackish noordzeekanaal of the Netherlands. *Limnologie Aktuell* 2, 213-226.



- Varo, I., Navarro, J.C., Amat, F., Guilhermino, L., 2002.** Characterization of cholinesterases and evaluation of the inhibitory potential of Chlorpyrifos and Dichlorvos to *Artemia salina* and *Artemia parthenogenetica*. *Chemosphere* 48, 563-569.
- Verlecar, X.N., Jena, K.B., Chainy, G.B., 2007.** Biochemical markers of oxidative stress in *Perna viridis* exposed to mercury and temperature. *Chem. Biol. Interact.* 167(3), 219-226.
- 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. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 76(4), 745-752.
- Vernberg, W.B., De Coursey, P.J., O'Hara, J., 1974.** Multiple factor effects on physiology and behavior of the fiddler crab. *Uca pugilator*. In Vernberg, F.J., Vernberg, W.B., (eds.), *Pollution and physiology of marine organisms*. Academic Press, New York, 381-426.
- Viale, P., 1977.** Ecologie des cétacés en Méditerranée nord-occidentale : leur place dans l'écosystème, leur réaction à la pollution marine par les métaux. Thèse de Doctorat d'Etat. Sciences Naturelles, Univ. Pierre et Marie-Curie, Paris vi : 312 p.
- Viarengo, A., Canesi, L., Pertica, M., Poli, G., Moore, M.N., Orunesu, M., 1990.** Heavy metal effects on lipid peroxidation in the tissues of *Mytilus galloprovincialis* lam. *Comp. Biochem. Physiol. C, Comp. Pharmacol.* 97, 37-42.
- Viarengo, A., Canesi, L., Pertica, M., Livingstone, D.R., 1991.** Seasonal variations in the antioxidant defence systems and lipid peroxidation of the digestive gland of mussels. *Comp. Biochem. Physiol. C, Comp. Pharmacol.* 100(1-2), 187-190.
- Viarengo, A., Ponzano, E., Dondero, F., Fabbri, R., 1997.** A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: an application to Mediterranean and Antarctic molluscs. *Mar. Environ. Res.* 44, 69-84.
- Viarengo, A., Burlando, B., Cavaletto, M., Marchi, B., Ponzano, E., Blasco, J., 1999.** Role of metallothionein against oxidative stress in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Am. J. Physiol.* 277 (6), 1612-1619.
- Viarengo, A., Nott, J.A., 1993.** Mechanisms of heavy metal cation homeostasis in marine invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol. C, Pharmacol. Toxicol.* 104(3), 355-372
- Viarengo, A., Burlando, B., Ceratto, N., Panfoli, I., 2000.** Antioxidant role of metallothioneins: a comparative overview. *Cell. Mol. Biol.* 46(2), 407-417.



- Viarengo, A., Lowe, D., Bolognesi, C., Fabbri, E., Koehler, A., 2007.** The use of biomarkers in biomonitoring: a 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comp. Biochem. Physiol. C, Toxicol. Pharmacol.* 146(3), 281-300.
- Vidal-Liñán, L., Bellas, J., Campillo, J.A., Beiras, R., 2010.** Integrated use of antioxidant enzymes in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, for monitoring pollution in highly productive coastal areas of Galicia (NW Spain). *Chemosphere* 78(3), 265-272.
- Vincent, M., 2006.** Etude d'expertise en Aquaculture - Environnement - Pêche - Pollution. Saint-Maximin - France.
- Vincke, J.F., 1982.** Projet régional de développement de l'aquaculture en Méditerranée.
- Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullos, 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. *Mar. Pollut. Bull.* 54(9), 1361-1371.
- Von Westernhagen, V., Dethlefsen, V., Rosenthal, H., 1980.** Correlation between cadmium concentration in the water and tissue residue levels in Dab, *Limanda limanda* and Plaia, *Pleuronectes platessa*. *J. Mar. Biol. Ass. UK.* 60, 45-58.

W

- W.H.O., 1995.** Inorganic Lead: Environmental Health Criteria, vol. 165. International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva.
- Wang, L., Yan, B., Liu, N., Li, Y., Wang, Q., 2008.** Effects of cadmium on glutathione synthesis in hepatopancreas of freshwater crab, *Sinopotamon yangtsekiense*. *Chemosphere* 74(1), 51-56.
- Wang, L., Pan, L., Liu, N., Liu, D., Xu, C., Miao, J., 2011.** Biomarkers and bioaccumulation of clam *Ruditapes philippinarum* in response to combined cadmium and benzo[α]pyrene exposure. *Food Chem. Toxicol.* 49(12), 3407-3417.



- Wang, Z., Yan, C., Vulpe, C.D., Yan, Y., Chi, Q., 2012.** Incorporation of in situ exposure and biomarkers response in clams *Ruditapes philippinarum* for assessment of metal pollution in coastal areas from the Maluan Bay of China. Mar. Pollut. Bull. 64(1), 90-98.
- Wasmund, N., Andrushaitis, A., Łysiak-Pastuszek, E., Müller-Karulis, B., Nausch, G., Neumann, T., Ojaveer, H., Olenina, I., Postel, L., Witek, Z., 2001.** Trophic Status of the South-eastern Baltic sea: a comparison of coastal and open areas. Estuar. Coast. Shelf. Sci. 53, 849-864.
- Water Quality Criteria, 1963 .** The resources agency of californiastate water quality control board, 550 p.
- Weckbecker, G., Cory, J.G., 1988.** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione- depleted mouse leukemia L 1210 cells in vitro. Cancer Lett. 40, 257-264.
- Wedepohl, KH., 1995.** The composition of continental crust. Geochim. Cosmochim. Acta 59(7), 1217-1232.
- Wiegner, T.N., Sybil, P., Seitzinger, S.P., 2006.** Bioavailability of dissolved organic nitrogen and carbon from nine rivers in the eastern United States. Aquat. Microb. Ecol. 43, 277-287.

Y

- Yo, C.L., Liu, C.L., Tsai, C.Y., Sun, K.H., Liao, T.S., Lin, W.M., Chen, H.L., Y H.S., 1993.** Prostaglandin E 2 suppresses phytohemagglutinin -induced immune responses of normal human monoculatr cells by decreasing intracellular glutathione generation, but not due to increased DNA strand breaks or apoptosis. Agents Actions 40, 191-199.
- Yong, R.N., Mohamed, A.M.O., Warkentin, B.P., 1993.** Principles of Contaminant Transport in Soils. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 327 p.



Yüzereroğlu, T.A., Gök, G., Çoğun, H.Y., Firat, Ö., Aslanyavrusu, S., Maruldal, O., Kargin, F., 2009. Heavy metals in *Patella caerulea* (Mollusca, Gastropoda) in polluted and non-polluted areas from the Iskenderun Gulf (Mediterranean Turkey). *Environ. Monit. Assess.* 167, 257-264.

Z

Zanette, J., Almeida, E.A., da Silva, A.Z., Guzenski, J., Ferreira, J.F., Di Mascio, P., Freire Marques, M.R., Bainy, A.C.D., 2011. Salinity influences glutathione S-transferase activity and lipid peroxidation responses in the *Crassostrea gigas* oyster exposed to diesel oil. *Sci. Total Environ.* 409, 1976-1983.

Zarogian, G.E., Morrison, G., 1981. Effect of cadmium body burdens in adult *Crassostrea virginica* on fecundity and viability of larvae. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 27, 344-348.

Zera, A.J., Harshman, L.G., 2001. The physiology of life history trade-offs in animals. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 32, 95-126.

Zhang, J., Li, X., 1987. Chromium pollution of soil and water in Jinzhou. *J. Chi. Pre. Med.* 21, 262-264.

Ziouch, O.R., 2014. Nutrient distribution in the bay of Annaba under the influence of the Seybouse and the Mafragh estuaries inputs (Southwestern Mediterranean). Thèse de doctorat. Option : environnement littoral. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. 117 p.

Zorita, I., Bilbao, E., Schad, A., Cancio, I., Soto, M., Cajaraville, M.P., 2007. Tissue- and cell-specific expression of metallothionein genes in cadmium- and copper-exposed mussels analyzed by in situ hybridization and RT-PCR. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 220(2), 186-196.



Références
bibliographiques

Webographie

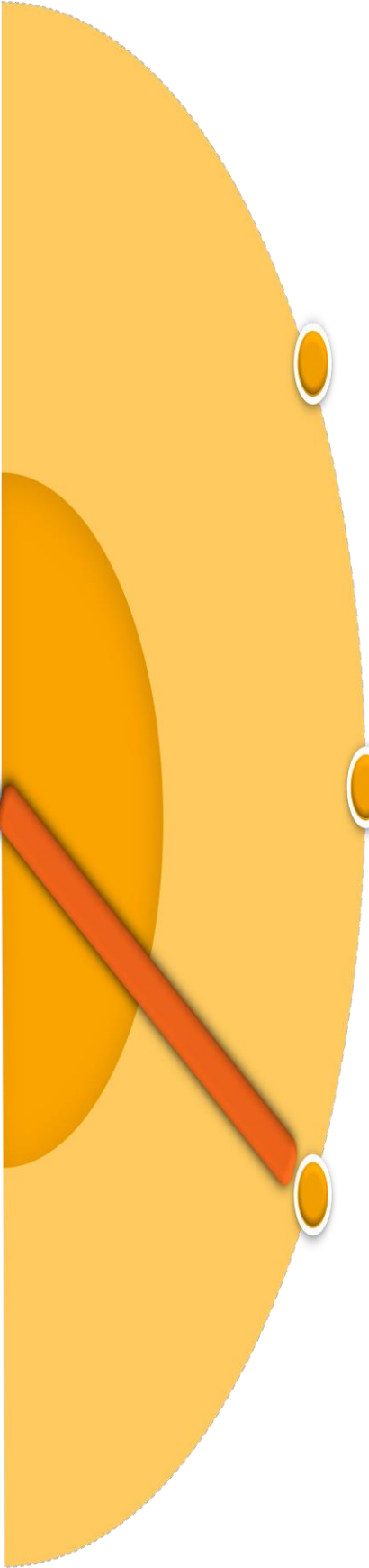
Annexes



Webographie

Site web 1 : <https://biologiedelapeau.fr/spip.php?mot152>

Site web 2 : <https://fr.tutempo.net>



Références
bibliographiques

Webographie

Annexes



Annexe 1 : Composition des réactifs utilisés pour la mesure des paramètres physico-chimiques

Dosage de l'ammonium (NH_4^+)

○ Composition et préparation des produits nécessaires au dosage

Solution de phénol - nitroprussiate

Produits utilisés

- Phénol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$).
- Nitroprussiate de sodium dihydraté ($\text{Na}_2 \text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}, 2\text{H}_2\text{O}$).

Préparation

- Dissoudre 65 g de phénol dans 800 ml d'eau distillée.
- Ajouter 1.5 g du Nitroprussiate de sodium dihydraté.
- Mélanger puis compléter à 1000 ml.
- Conserver la solution au réfrigérateur.

NB : La solution est stable entre 2 à 3 semaines.

Solution alcaline complexante

Produits utilisés

- Citrate trisodique dihydraté ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7, 2\text{H}_2\text{O}$).
- Hydroxyde de sodium (NaOH).

Préparation

- Dissoudre 375 g de citrate trisodique et 30 g de NaOH dans 800 ml d'eau distillée.
- Mélanger puis compléter à 1000 ml.

NB : La solution est stable pendant plusieurs mois à une température ambiante.

Solution complexante au chlore

Produits utilisés

- Solution alcaline complexante.
- Dichloroisocyanurate de sodium dihydraté ($\text{C}_3\text{Cl}_2\text{N}_3\text{NaO}_3, 2\text{H}_2\text{O}$).

Préparation

- A la solution alcaline complexante, ajouter 8 g de dichloroisocyanurate de sodium dihydraté par litre.

NB : La solution est instable. A préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse. Elle ne peut être utilisée qu'une semaine.



○ **Composition et préparation de la solution étalon diluée d'ammonium**

Solution étalon concentrée d'ammonium à 10000 μM

Produits utilisés

- Sulfate d'ammonium $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$.

Préparation

- Sécher du sulfate d'ammonium à 105 °C pendant 1 heure.
- Peser 0.661 g de sulfate d'ammonium pour 1000 ml de solution préparée en fiole jaugée, avec de l'eau distillée.
- Conserver à température ambiante et à l'abri de la lumière.

NB : La solution est stable pendant une année.

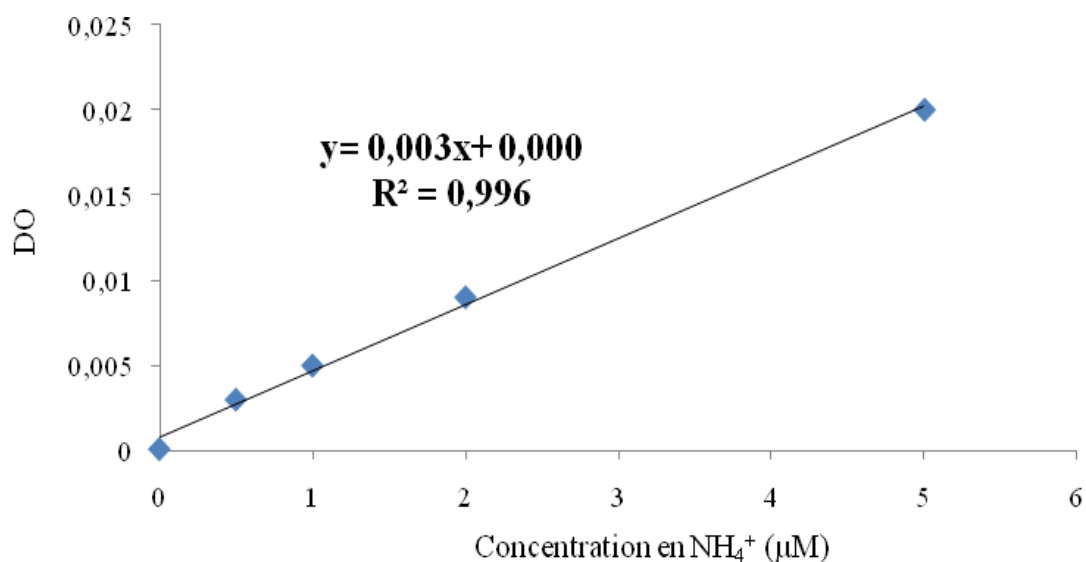
Solution étalon diluée d'ammonium à 500 μM

Préparation

- Diluer 20 fois la solution étalon concentrée (10000 μM) pour obtenir la solution étalon diluée (500 μM).

NB : La solution doit être préparée juste avant usage, elle ne se conserve que quelques heures.

○ **Représentation graphique de la courbe d'étalonnage de l' NH_4^+**





Dosage des Nitrites (NO_2^-)

○ Composition et préparation des réactifs nécessaires au dosage

Solution de sulfanilamide

Produits utilisés

- Acide chlorhydrique à 37%
- Sulfanilamide ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$).

Préparation

- Diluer 50 ml d'acide chlorhydrique dans 250 ml d'eau distillée.
- Ajouter 5 g de sulfanilamide, puis compléter à 500 ml.

NB : La solution est stable pendant plusieurs mois. A Conserver à l'abri de la lumière.

Solution de N-naphtyl-éthylène diamine

Produits utilisés

- Dichlorohydrate de N-(1-naphtyl)-éthylène diamine (NED) ($\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2, 2\text{HCl}$).

Préparation

- Dissoudre 0.5 g de NES dans 500 ml d'eau distillée.

NB : Conserver la solution à 4 °C et à l'abri de la lumière, et la renouveler tous les mois ou dès qu'elle prend une coloration brune.

○ Composition et préparation de la solution étalon de NO_2^-

Solution étalon concentrée de nitrite à 5000 μM

Produits utilisés

- Nitrite de sodium anhydre (NaNO_2).

Préparation

- Sécher le nitrite de sodium à 100 °C pendant 1 heure.
- Dissoudre 0.345 g dans 1000 ml d'eau distillée.

NB : Conserver la solution à température ambiante et à l'abri de la lumière, et la renouveler tous les mois.



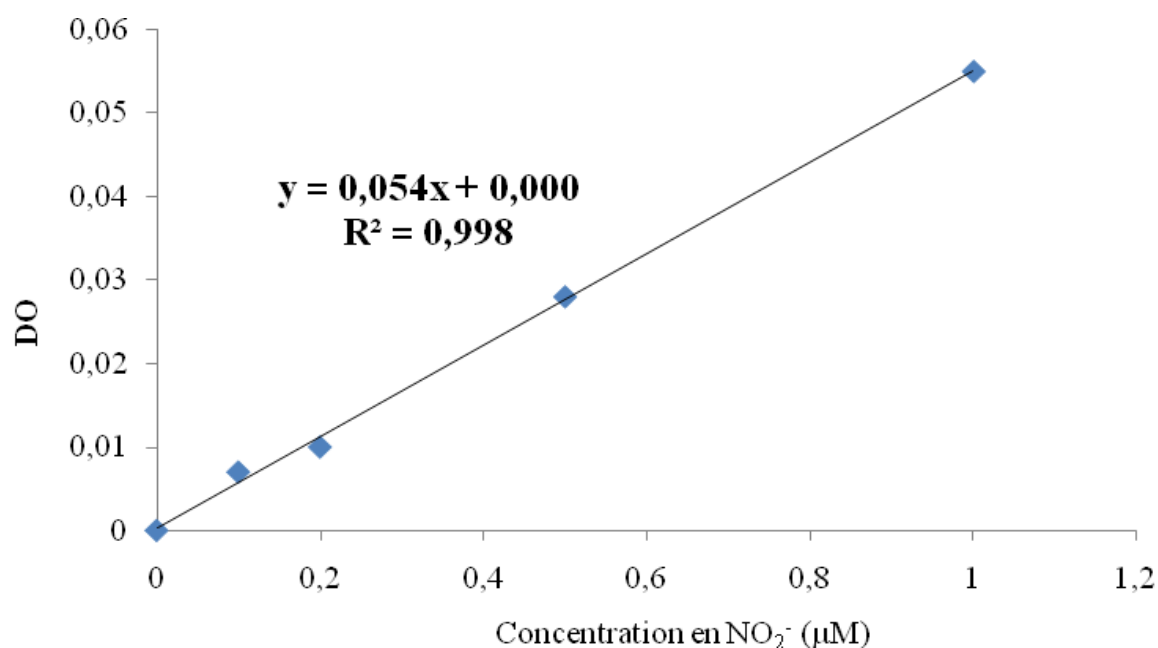
Solution étalon diluée de nitrite à 50 μM

Préparation

- Diluer 100 fois la solution étalon concentrée avec de l'eau distillée.

NB : Cette solution ne se conserve que quelques heures.

○ Représentation graphique de la courbe d'étalonnage des NO_2^-





Dosage des Nitrates (NO_3^-)

- **Composition et préparation des réactifs nécessaires au dosage des NO_3^-**

Solution de chlorure d'ammonium

Produits utilisés

- Chlorure d'ammonium (NH_4Cl).

Préparation

- Dissoudre 240 g de NH_4Cl dans 700 ml d'eau distillée.
- Mélanger puis compléter à 1000 ml.
- Conserver la solution dans un flacon en plastique à température ambiante.

NB : La solution est stable indéfiniment à température ambiante.

Solution d'hydroxyde de sodium

Produits utilisés

- Hydroxyde de sodium (NaOH).

Préparation

- Dissoudre 17 g de NaOH dans 800 ml d'eau distillée.
- Mélanger puis compléter à 1000 ml.
- Conserver la solution dans un flacon en plastique à température ambiante.

NB : La solution est stable indéfiniment à température ambiante.



Dosage des Orthophosphates (PO_4^{-3})

○ Composition et préparation des réactifs nécessaires au dosage

Solution d'acide ascorbique

Produits utilisés

- Acide ascorbique ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$).
- Acide sulfurique 95 - 97%

Préparation

- Pour la préparation de l'acide sulfurique à 2.9 M
 - Ajouter 160 ml d'acide sulfurique dans 800 ml d'eau distillée.
 - Mélanger puis compléter à 1000 ml.

NB : La solution est stable indéfiniment à température ambiante.

- Pour la préparation de la solution d'acide ascorbique
 - Dans 100 ml d'acide sulfurique (2.9 M), dissoudre 5 g d'acide ascorbique.
 - Conserver la solution à 4 °C et à l'abri de la lumière.

NB : La solution est stable que quelques semaines.

Solution d'acide de molybdène et d'antimoine

Produits utilisés

- Heptamolybdate d'ammonium tétrahydraté ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$).
- Oxytartrate d'antimoine (III) et de potassium ($\text{K}_2\text{Sb}_2 (\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_{12}), 3\text{H}_2\text{O}$).

Préparation

- Dans 450 ml d'acide sulfurique (2.9 M), dissoudre 13 g d'héptamolybdate d'ammonium tétrahydraté.
- Dissoudre 0.3 g d'oxytartrate d'antimoine (III) et de potassium dans 50 ml d'eau distillée, mélanger puis l'ajouter à la solution d'héptamolybdate d'ammonium tétrahydraté.
- Conserver la solution à température ambiante.

NB : La solution est stable pendant plusieurs mois.



○ **Composition et préparation de la solution étalon d' PO_4^{3-}**

Solution étalon concentrée d'orthophosphate à 500 μM

Produits utilisés

- Dihydrogénophosphate de potassium anhydre (KH_2PO_4).

Préparation

- Sécher le dihydrogénophosphate de potassium à 105 °C pendant 1 heure.
- Dissoudre 0.6805 g dans 1000 ml d'eau distillée.
- Conserver à température ambiante et à l'abri de la lumière.

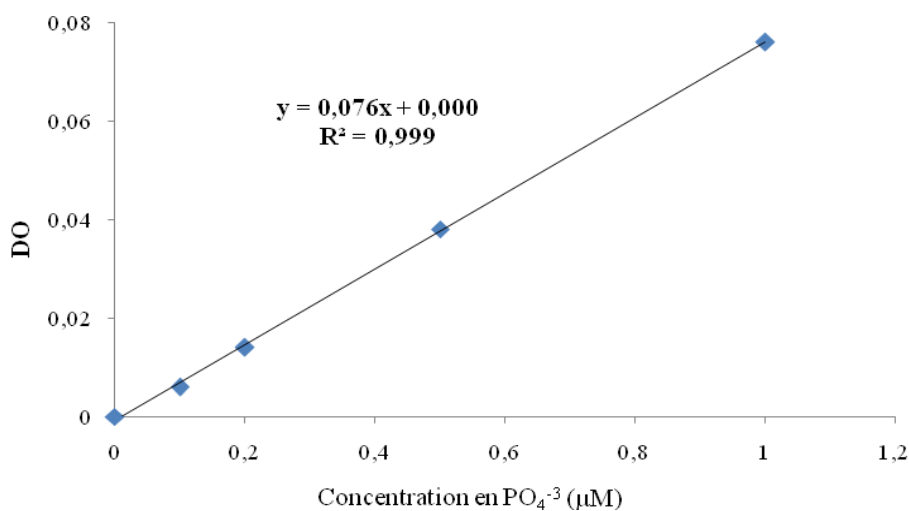
NB : La solution est stable pendant une année.

Solution étalon diluée d'orthophosphate à 50 μM

Préparation

- Diluer 100 fois la solution étalon concentrée pour obtenir la solution étalon diluée.
- Conserver la solution quelques jours au réfrigérateur.

○ **Représentation graphique de la courbe d'étalonnage des PO_4^{3-}**





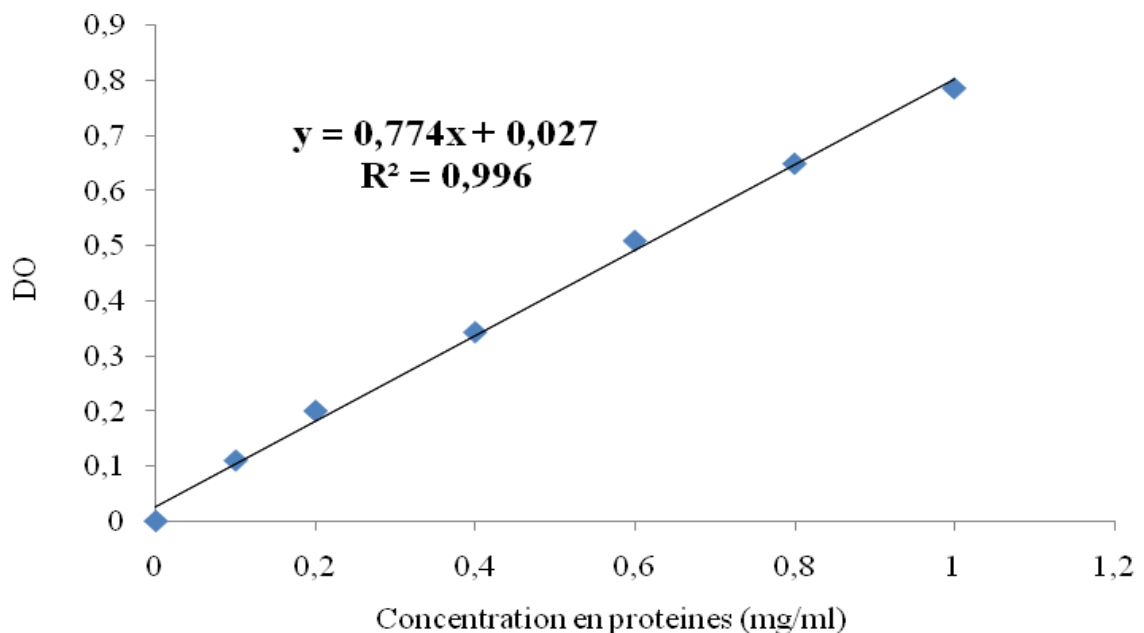
Annexe 2 : Composition des produits nécessaires aux dosages des biomarqueurs

Protéines

○ Composition et préparation du réactif nécessaire au dosage

Réactif protéique
Produits utilisés - Bleu brillant de Coomassie (G250). - Éthanol 95% - Acide phosphorique 85%
Préparation - Dissoudre 100 mg du bleu brillant de Coomassie dans 50 ml d'éthanol. - Agiter 2 heures puis ajouter 100 ml d'acide phosphorique. - Mélanger puis ajuster avec de l'eau distillée jusqu'à 1000 ml. - Agiter puis filtrer sur papier filtre whatman n°1. - Solution stable pendant plusieurs semaines à l'obscurité et à 4 °C.

○ Représentation graphique de la courbe d'étalonnage des protéines





Glutathion réduit (GSH)

○ Composition et préparation des produits nécessaires au dosage

Solution d'acide sulfosalicylique à 4%

Produit utilisé

- Acide sulfosalicylique.

Préparation

- Dissoudre 4 g de l'acide sulfosalicylique dans 80 ml d'eau distillée.
- Mélanger puis ajuster avec de l'eau distillée jusqu'à 100 ml.
- Solution à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Réactif d'Ellman à 10 mM

Produits utilisés

- Acide 5.5'-dithio-bis-2 nitrobenzoïque (DTNB).
- Méthanol absolu.

Préparation

- Dissoudre 0.0396 g de DTNB dans 10 ml de méthanol absolu.
- Solution instable à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Tampon Tris-HCl à l'EDTA (pH = 9.6)

Produits utilisés

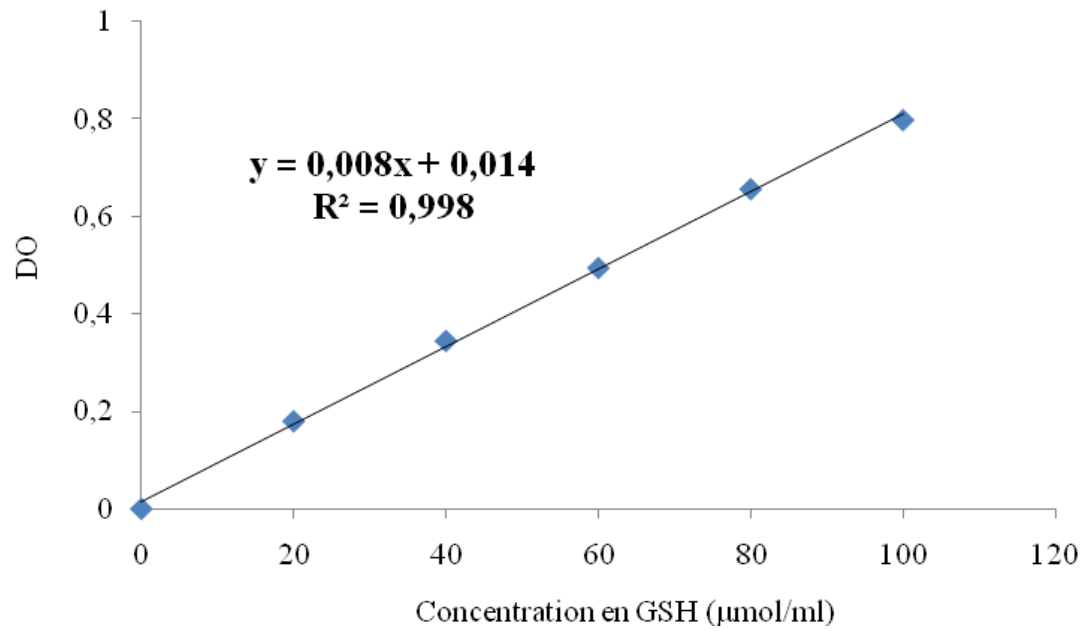
- Tris 0.4 M
- EDTA 20 mM
- Acide chlorhydrique (HCl) 37%

Préparation

- Pour la préparation de 500 ml de tampon, dissoudre 24.22 g de Tris dans 400 ml d'eau distillée.
- Ajouter 2.92 g d'EDTA.
- Mélanger puis compléter à 500 ml avec de l'eau distillée.
- Ajuster le pH à 9.6 avec quelques gouttes d'HCl.
- Solution à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.



○ Représentation graphiques de la courbe d'étalonnage du GSH





Glutathion S-transférase

○ Composition et préparation des produits nécessaires au dosage

Tampon phosphate à 0.1 M (pH = 6.5)

Produits utilisés

- Dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4).
- Hydrogénophosphate de potassium (K_2HPO_4).

Préparation

- Dissoudre 13.6 g de KH_2PO_4 dans 1000 ml d'eau distillée (Solution A).
- Dissoudre 17.4 g de K_2HPO_4 dans 1000 ml d'eau distillée (Solution B).
- Ajuster le pH de la solution (A) à l'aide de la solution (B).
- Solution stable pendant plusieurs semaines à 4 °C.

Solution 1-chloro -2.4 - dinitrobenzène à 20 mM

Produits utilisés

- 1- Chloro-2.4-dinitrobenzène (CDNB).
- Ethanol absolu.

Préparation

- Dissoudre 0.04 g de CDNB dans 10 ml d'éthanol absolu.
- Solution instable à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Solution de glutathion réduit à 20 mM

Produit utilisé

- Glutathion réduit (GSH).

Préparation

- Dissoudre 0.06 g de GSH dans 10 ml d'eau distillée.
- Solution instable à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.



Catalase

○ Composition et préparation des produits nécessaires au dosage

Tampon phosphate à 0.1 M (pH = 7.5)

Produits utilisés

- Dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4).
- Hydrogénophosphate de potassium (K_2HPO_4).

Préparation

- Dissoudre 13.60 g de KH_2PO_4 dans 1000 ml d'eau distillée (solution A).
- Dissoudre 17.40 g de K_2HPO_4 dans 1000 ml d'eau distillée (solution B).
- Ajuster le pH de la solution (B) à l'aide de la solution (A).
- Solution stable pendant plusieurs semaines à 4 °C.

Peroxyde d'hydrogène à 5%

Produits utilisés

- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) 30%
- Tampon phosphate (pH = 7.5) 0.1 M

Préparation

- Pour la préparation de 100 ml de peroxyde d'hydrogène à 5%, ajouter 16.66 ml d' H_2O_2 à 83.34 ml de tampon phosphate.
- Solution instable à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.



Malondialdéhyde

○ Composition et préparation des produits nécessaires au dosage

Solution d'acide phosphorique à 1%

Produits utilisés

- Acide phosphorique (H_3PO_4) 98%

Mode opératoire

- Ajouter 1.02 ml de l'acide phosphorique à 98.98 ml d'eau distillée.
- Solution stable à température ambiante.

Solution d'acide thiobarbiturique à 0.6%

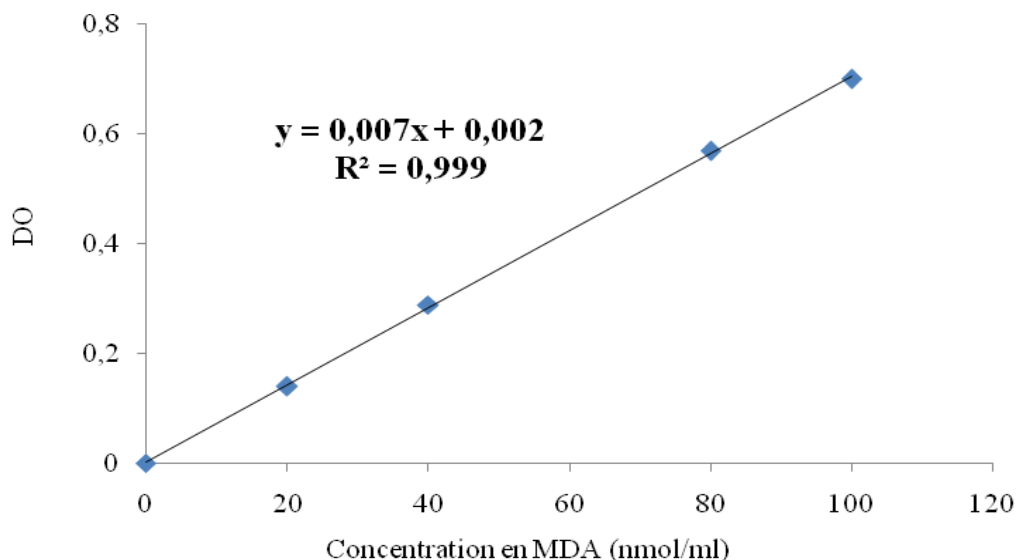
Produits utilisés

- Acide thiobarbiturique (TBA).

Mode opératoire

- Dissoudre 0.6 g du TBA dans 80 ml d'eau distillée.
- Mélanger puis titrer avec une solution de NaOH (2N) jusqu'à la dissolution complète du TBA.
- Compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.
- Solution instable à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

○ Représentation graphique de la courbe d'étalonnage du MDA





Métallothionéine

○ Composition et préparation des produits nécessaires au dosage

Solution de lavage

Produits utilisés

- Ethanol 87%
- Chloroforme.
- Tampon d'homogénéisation sans leupeptine, β -mercaptoéthanol et PMSF.

Préparation

- Pour la préparation de 100 ml de tampon de lavage, ajouter à 87 ml d'éthanol, 1 ml de chloroforme et 12 ml tampon d'homogénéisation.
- Conserver le flacon à - 20 °C.
- Solution stable pendant plusieurs mois.

Solution de chlorure de sodium à 0.25 M

Produits utilisés

- Chlorure de sodium (NaCl).

Préparation

- Dissoudre 1.46 g de NaCl dans 80 ml d'eau distillée.
- Mélanger, puis compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.
- Solution stable durant plusieurs mois à 4 °C.

Solution d'acide chlorhydrique (1 N) contenant 4 mM d'EDTA

Produits utilisés

- Acide chlorhydrique (HCl) 37%
- Acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) 4 mM

Préparation

- Pour la préparation d'une solution d'HCl (1N), diluer 7.66 ml d'HCl dans 250 ml d'eau distillée.
- Dissoudre 0.292 g d'EDTA dans la solution HCl (1N), puis agiter au vortex pendant quelques secondes jusqu'à la dissolution complète de l'EDTA.
- Solution à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.



Réactif d'Ellman à 0.43 mM

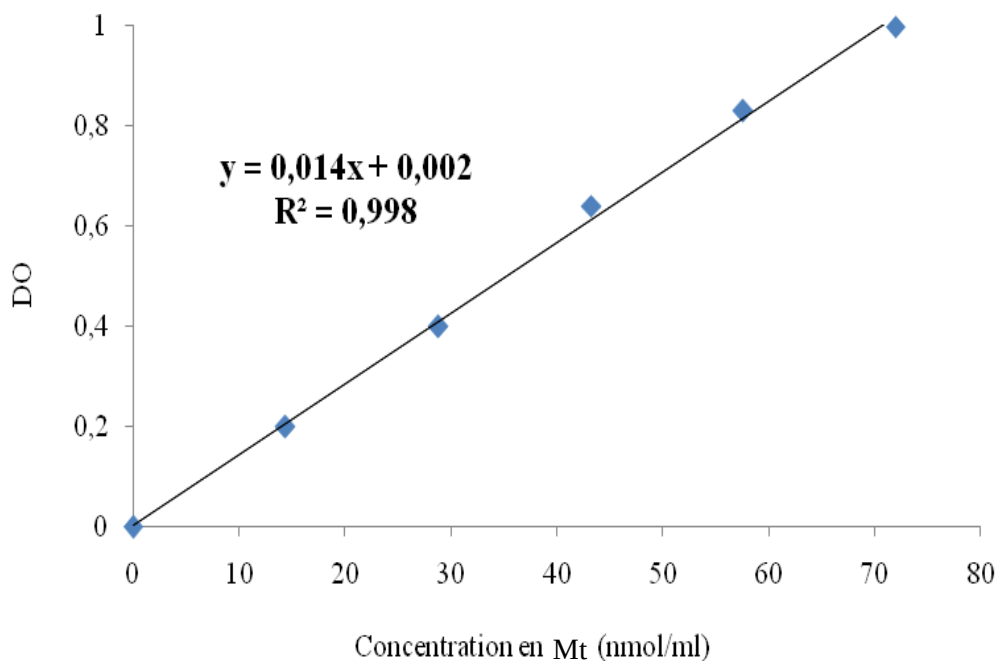
Produits utilisés

- Chlorure de sodium (NaCl) 2 M
- Acide 5.5'- dithio-bis-2 nitrobenzoïque (DTNB) 0.43 mM
- Tampon phosphate (pH = 8) 0.2 M
 - Dissoudre 27.21 g de KH_2PO_4 dans 1000 ml d'eau distillée (Solution A).
 - Dissoudre 34.82 g de K_2HPO_4 dans 1000 ml d'eau distillée (Solution B).
 - Ajuster le pH de la solution (B) à l'aide de la solution (A).
 - Solution stable pendant plusieurs semaines à 4 °C.

Préparation

- Pour la préparation de 100 ml du réactif d'Ellman, dissoudre dans 80 ml du tampon phosphate à 0.2 M (pH = 8), 11.65 g de NaCl et 17.04 mg de DTNB.
- Mélanger, puis compléter à 100 ml avec du tampon phosphate.
- Agiter au vortex pendant quelques secondes jusqu'à la dissolution complète du DNTB.
- Solution instable à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

○ Représentation graphique de la courbe d'étalonnage de la Mt





Communication nationale :

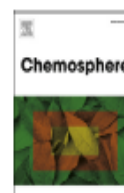
BOUZAHOUANE Hana, BAROUR C. et OUALI K. (2018). "Bioaccumulation des éléments traces métalliques dans la glande digestive d'un gastéropode marin *Stramonita haemastoma* à partir du littoral Nord-est Algérien" dans les actes du Premier Séminaire National sur l'eau ; l'Environnement et Santé. El-Tarf (Algérie) le 06 et 07 Mars 2018 (communication affichée).

Communication internationale :

BOUZAHOUANE Hana, BAROUR C. et OUALI K. (2018). "Mesure de deux biomarqueurs du stress environnemental dans la glande digestive d'un gastéropode marin à partir du littoral Nord-est Algérien" dans les actes du Premier Colloque International de Bioressources et Economie Bleue et Verte. Hammamet (Tunisie) du 26 au 29 Avril 2018 (communication affichée).

Publication internationale :

Hana Bouzahouane, Choukri Barour, Noomene Sleimi, Kheireddine Ouali. Multi-biomarkers approach to the assessment of the southeastern Mediterranean Sea health status: Preliminary study on *Stramonita haemastoma* used as a bioindicator for metal contamination. Chemosphere 207 : 725-741. Facteur d'impact IF (2017) : 4.589, H Index : 197.



Multi-biomarkers approach to the assessment of the southeastern Mediterranean Sea health status: Preliminary study on *Stramonita haemastoma* used as a bioindicator for metal contamination

Hana Bouzahouane^{a,*,}, Choukri Barour^a, Noomene Sleimi^b, Kheireddine Ouali^c

^a Department of Biology, Faculty of Natural and Life Sciences, Mohamed Cherif Messaïdia University, Souk-Ahras, 41000, Algeria

^b UR: Matériaux, Nanomatériaux et Ecosystèmes, Faculté des Sciences de Bizerte, Université de Carthage, Tunisia

^c Laboratory of Environmental Biosurveillance, Department of Biology, Faculty of Sciences, Badji Mokhtar University, BP 12, El Hadjar, Annaba 23000, Algeria

HIGHLIGHTS

- A significant spatiotemporal variation in *S. haemastoma* biomarker responses from the Annaba Gulf and the El Kala coastline.
- A significant levels of trace metal elements (TME) in the digestive gland of *S. haemastoma*.
- The response of the different biomarkers studied is due to anthropogenic disturbances and to the location of the site.
- *S. haemastoma* could be used in surveillance programs as a bioindicator of contamination by TME from the Mediterranean sea.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 February 2018

Received in revised form

18 May 2018

Accepted 20 May 2018

Available online 25 May 2018

Handling Editor: Jim Lazorchak

Keywords:

Catalase

Glutathione

Glutathione S-Transferase

Malondialdehyde

Metallothionein

Trace metal elements

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the responses of different biochemical parameters associated with environmental pollution in the digestive gland of the gastropod mollusc *Stramonita haemastoma*. Physicochemical parameters and trace metal elements (Copper (Cu), Zinc (Zn), Chromium (Cr), Cadmium (Cd) and Lead (Pb)) were measured in seawater. Spatiotemporal variations in reduced glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA) and metallothionein (Mt) as well as the specific activities of glutathione S-transferase (GST) and catalase (CAT) were evaluated in digestive gland of this species during a one-year period in 2013–2014. Samples collection was conducted at three sites. The results obtained showed seasonal fluctuations in GST and CAT activities and in the rate of Mt content. In addition, intersite variations in GSH, MDA, Mt and CAT were recorded in individuals. Also, trace metal elements concentrations determined by season in the digestive gland revealed spatial and temporal variations for Cu and Zn but they are below the limit of detection for Cd and Pb. The highest values were generally recorded in spring for Cu and in winter for Zn. In this first regional study using *S. haemastoma* as a model, the biomarkers measured were seen to be inducible parameters to evaluate the health state of the organism and the overall quality of the study sites.

© 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Marine ecosystems are highly vulnerable to pollution due to their recipient position from continents (Belabed et al., 2013b). Marine pollution has different origins. It can be of industrial (such

as hydrocarbons, trace metal elements (TME) or chemicals) or agricultural origin (such as nutrients or pesticides) or simply be produced by domestic discharges following the presence of numerous wastewater outfall urban areas, wherein a wide variety of pollutants are concentrated (Valavanidis et al., 2006). The presence of these compounds in environmental media, biota and food poses nowadays a serious threat to human health and environmental integrity.

Metal pollution is one of the most abundant and dangerous forms of anthropogenic pollution threatening the littoral zone.

* Corresponding author. Department of Biology, Faculty of natural and life sciences, Mohamed Cherif Messaïdia University, Souk-Ahras, 41000, Algeria.

E-mail addresses: hana_microbiologie@yahoo.fr, h.bouzahouane@univ-soukahrass.dz (H. Bouzahouane).

Metal pollutants derive in the marine environment mainly by superficial runoff of rain, by direct atmospheric deposition and by discharges from sewage and industrial establishments. Maritime traffic is also a considerable source of metals given their presence in the antifouling paints composition of boats (Boulajfene et al., 2017). TME are micropollutants that can affect the marine environment health, as they do not undergo biological or chemical degradation. As a result, TME can accumulate in different trophic chain links at toxic concentrations in marine organisms. Due to the TME solubility, seawater analysis sample cannot be considered a reliable means of determining the pollution degree of marine environment. However, study of TME bioaccumulation in organisms exposed to them is a very important means of assessing metal pollution (Belhaouari et al., 2011). Metal contamination can have adverse effects on aquatic organisms after assimilation and accumulation. Nevertheless, not all metals have the same health impact: some (copper "Cu" and zinc "Zn") are essential at low doses and harmful at high doses, while others (cadmium "Cd" and lead "Pb") are harmful at even low doses. It is important to say that the toxic effects of Cd and Pb in marine species are multiple. Cd indirectly induces the production of reactive oxygen species (ROS) and lipid peroxidation by interference with antioxidant systems. It is also described as an inhibitor of DNA damage repair (Kamel, 2014). At the sublethal level, it can cause physiological effects (abnormalities in embryonic and larval development in bivalve molluscs) and growth inhibitions (Chiffolleau et al., 2001). Sobrino-Figueroa et al. (2007) have shown that Cd is the most toxic metal on juvenile populations of *Argopecten ventricosus*, which inhibits their growth, followed by Pb. In the mussel *Mytilus edulis*, the toxic effect of Pb can result in a competition with divalent essential metals with disruption of their metabolism: notably calcium, magnesium and Cu (Belabed, 2010). Cu is an important and essential micro-element that acts as a respiratory pigment in marine invertebrates. Its accumulation in the cell is the cause of cytotoxicity, which is manifested by enzymatic inhibition of the pyruvate oxidase system, glucose-6-phosphodehydrogenase and glutathione reductase (Kamel, 2014). High concentrations of this metal can lead to oxidative damage to lipids and proteins. It can also cause DNA deformation. Furthermore, it has been shown that, in excess, Zn becomes a prooxidant by inducing the indirect production of free radicals, and by inhibiting the enzymatic activity of certain antioxidant enzymes such as glutathione reductase and peroxidase (Sensi and Jeng, 2004).

In general, environmental or ecotoxicological monitoring in a marine ecosystem is based on two complementary approaches: biomarkers and bioindicators (Valavanidis et al., 2006).

Biomarkers can indicate links between contaminants and ecological responses and can be used to indicate the presence of harmful substances in the marine environment (Fernández et al., 2010), but data obtained are sometimes difficult to interpret due to the large amount of natural variables affecting biological processes, which could act as confounding factors on biomarkers responses (González-Fernández et al., 2015). So, the use of a biomarkers battery is a trust approach to assess the environment health state and to increase the possibility for the detection of early biological changes (Almamoori et al., 2013).

Many species have been used as bioindicators of pollution, especially the bivalves: *M. galloprovincialis*, *Perna perna* and *Donax trunculus* (Abbes et al., 2003; Sifi et al., 2007, 2013; Amira et al., 2011; Soltani et al., 2012; Bensouda and Soltani-Mazouni, 2014).

The littoral is highly vulnerable to a wide assortment of contaminants and micropollutants directly released into the seas and oceans, to which are added those released into the air and drained by soils and rivers (Bensouda-Talbi, 2015).

The east Algerian coastline is the most important touristic and

economic zone. It is continuously affected by various contaminants from urban, agricultural, harbor and industrial activities (Boucetta et al., 2016a).

The Annaba Gulf and the El Kala coastline, which represent the extreme northeastern part of the Algerian coastline, know as well as the rest of the latter, the same environmental problems. They are exposed to the risks of the different types of anthropogenic pollution that have an impact on the organisms that live there and on humans.

The Annaba Gulf is a standout amongst the most vital vacationer and financial focuses on the east coast of Algeria. It is considered as the receptacle for all residues, toxic or not, produced by the various industrial units located along the coast. This has made fishery stocks threatened by pollution linked to burgeoning economic activity. In addition, previous work has shown that the Annaba Gulf region is influenced by metal-rich effluents and is subjected to agricultural, industrial and urban activities as well as tourism development (Semadi and Deruelle, 1993; Abdenour et al., 2000; Beldi et al., 2006); with the impact of many chemicals and stressors, making the assessment of the marine ecosystem quality essential.

The El Kala coastline is minimally influenced by anthropogenic inputs, given the low urbanization of the region. Moreover, there is a notable absence of industries and consequently, little or no industrial atmospheric or continental pollution (Ounissi and Khelifi-Touhami, 1999).

Stramonita haemastoma, a gastropod mollusc commonly known as "Bakouma" in Algeria, has been the subject of several studies concerning its use as a bioindicator of tributyltin pollution (imposex phenomenon) (Chiavarini et al., 2003; Lemghich and Benajiba, 2007; El Mortaji et al., 2011). To date, however, much less attention has been paid to this species in ecotoxicology.

In this context, a multiparametric approach was implemented using more than one biomarker for the evaluation of the oxidative stress potential of *S. haemastoma* population. For this purpose, we chose to monitor seasonal variations in the rate of reduced glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), and metallothionein (Mt), as well as the specific activity of glutathione S-transferase (GST) and catalase (CAT) in this gastropod mollusc from three study sites: Cap de Garde (Annaba Gulf), Aouinète beach and Messida beach (El Kala coast) in the East coastal zone of Algeria.

Despite the importance and the large diversity of gastropods and their ability to bioaccumulate TME, they only interested few ecotoxicological studies (Yüzereroğlu et al., 2009; Belhaouari et al., 2011; Rabaoui et al., 2013; Boulajfene et al., 2017). This led us to conduct a seasonal study on the accumulation of Cu, Zn, Cd and Pb in the digestive gland of the same species and to analyze these same TME as well as Chromium (Cr) in the seawater to assess the environmental quality of the marine ecosystem.

2. Materials and methods

2.1. Sampling sites

The study area corresponds to the extreme northeastern part of the Algerian coastline (extreme southeast of the Mediterranean), which is bounded on the west by Cap de Garde and on the east by Cap Segleb and includes the Annaba Gulf and the El Kala coastal zone (Fig. 1). The Annaba Gulf is a bay open to the Mediterranean Sea on the north, bounded by two headlands: Rosa to the east (8°15'E, 36°58'N) and Garde to the west (7°47'E, 36°58'N), which are approximately 40 km apart with a maximum depth not exceeding 65 m (Sifi et al., 2007; Belabed et al., 2008; Belabed et al., 2013b; Amri et al., 2017a). The Annaba Gulf receives fresh water through two wadis: the Mafrag in the east and the Seybouse in the

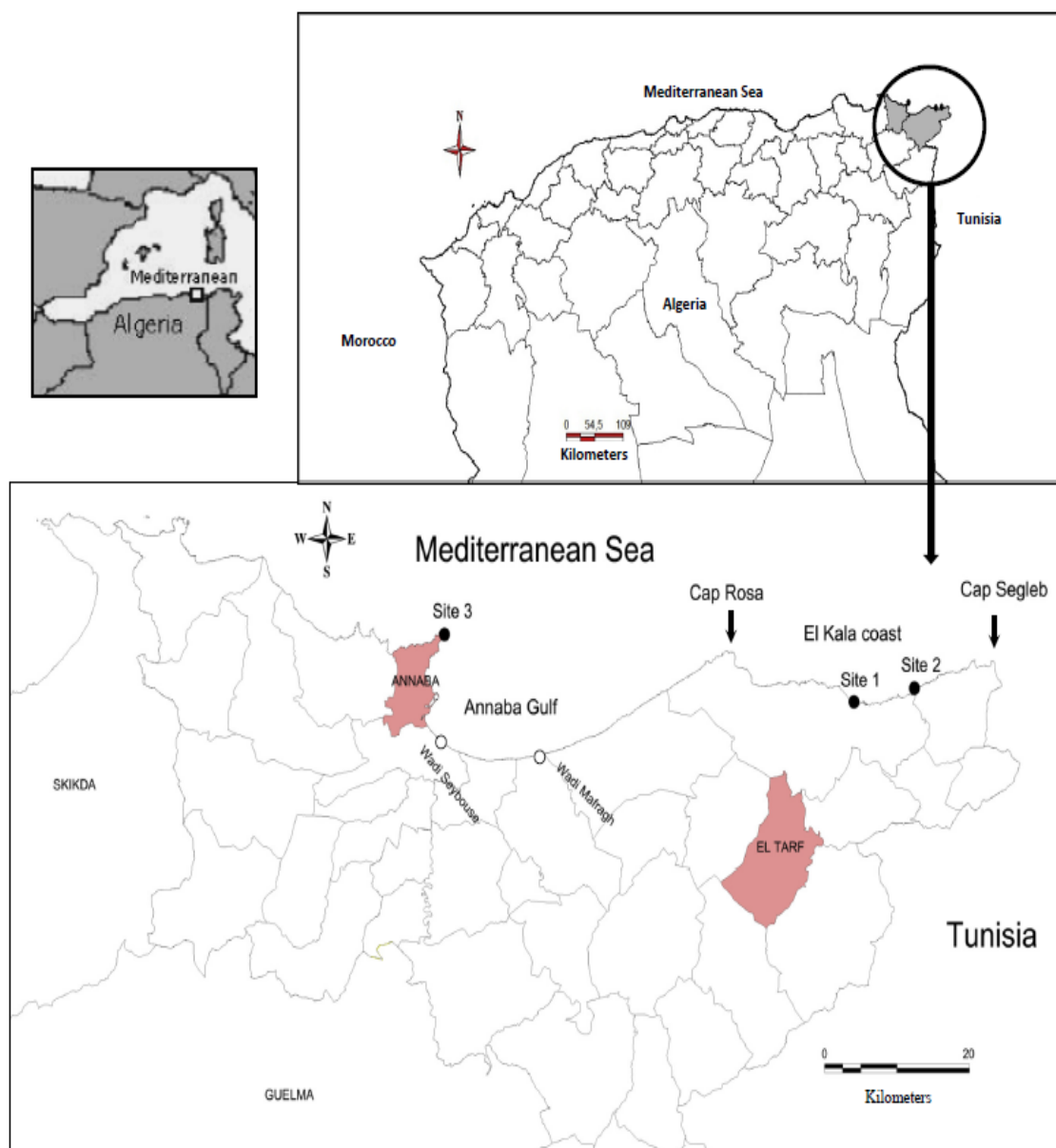


Fig. 1. Map of the three selected sampling sites.

southeast (the second longest river in Algeria), whose flow is very irregular according to the seasons. These wadis are an important source of TME in the Annaba Gulf (Belabed et al., 2013b; Boutabia-Trea et al., 2017), they receive agricultural water discharges and domestic releases from important conurbations (Khelifi-Touhami et al., 2006) and untreated sewage (Abdennour et al., 2000). Moreover, discharges from industries such as Arcelor Mittal (El Hadjar), which represents the largest integrated steel production site of the Maghreb region, and other major industrial complexes: mechanical production site, cement works, battery recycling sites and metallic equipment manufacturing plants ... (Belabed et al., 2013b). The El Kala coastline is located at the extreme east of the Algerian coast; it extends from Cap Rosa to the west ($8^{\circ}15'E$ and $36^{\circ}58'N$) and Cap Segleb (the Tunisian border) to the east ($8^{\circ}13.6'E$, $36^{\circ}57'N$). The coastline receives very few continental extrusions (Wadis Nhal, Boutribicha and Messida) because of the low freshwater inputs (Ounissi and Khelifi-Touhami, 1999).

The choice of study sites was based on the sites accessibility, the

abundance of the species studied and the sampling ease. Three monitoring sites were selected, one located in the Annaba Gulf and two on the El Kala coastline:

- Aouinète beach (Site 1) is located in the eastern part of the El Kala coast ($36^{\circ}45'38.2''N$, $8^{\circ}31'21''E$) and is not exposed to any source of pollution because of its location, which is quite remote from the various discharges. However, Aouinète beach is frequented by summer visitors.
- Messida beach (Site 2) is also located in the eastern part of the El Kala coast ($36^{\circ}54'52.3''N$, $8^{\circ}31'21''E$) and is frequented by fishermen and summer vacationers. Messida beach receives wastewater discharges through the Wadi Messida, which is currently threatened by human activities; this constitutes a considerable threat to the fauna and flora of the study area. The Wadi Messida is a coastal canal connecting the Lake Tonga with the Mediterranean Sea. This canal is located between $36^{\circ}53'60''N$ and $8^{\circ}31'0''E$, its length is approximately 1500 m

with a maximum depth of 2.5 m in the center (Benhalima et al., 2015).

- Cap de Garde (Site 3) is located in the west of the Annaba Gulf (36°58'04"N, 7°47'32"E), approximately 300 m southeast of the cap tip. It is assumed that Cap de Garde is not exposed to any source of pollution due to its location away from the various discharges, apart from the presence of a few houses not linked to the sewerage network. The Shems les Bains tourist complex is one of these and is accessible during summer.

2.2. Environmental characterization

Water temperature, pH, salinity, dissolved oxygen, and conductivity were measured *in situ* at the time of sampling using a field multi-parameter (WTW Multi 340i). Measurements of nitrates (NO_3^-), nitrites (NO_2^-), ammoniacal nitrogen (NH_4^+), orthophosphates (PO_4^{3-}) as well as suspended solids (MES) were performed in the laboratory using the manual colorimetric methods of Aminot and Kérouel (2004a). Water samples were collected in plastic bottles and transported in a cooler.

2.3. Sampling strategy

Four seasonal samplings of the *S. haemastoma* gastropod were conducted during the years 2013–2014 at the three (3) study sites. Gastropods sampling (approximately 15 per site and per season) was performed in autumn (September 2013: sampling 1), winter (January 2014: sampling 2), spring (May 2014: sampling 3) and summer (August 2014: sampling 4). Six individuals were subjected to biochemical analyses and 9 individuals to analyses of TME concentrations. The gastropods collection was carried out by hand or by diving between 0 and 2 m below the seawater surface. The collection was random and did not consider the gastropod's sex. Each harvest was placed in plastic containers containing 15 individuals bathing in their original water, depending on each site and for each season. These gastropods were then transported to the laboratory for biochemical and chemical analysis. The size of all the individuals studied was greater than 41 mm from the apex to the end of the siphonal channel.

2.4. Sample preparation

Upon return to the laboratory, the animals were dissected, and their total soft masses were frozen at -20°C . After being thawed, the digestive gland (maintained at 4°C throughout the duration of the assays) was ground in phosphate buffer (0.1 M, pH 7.5) using an Ultra-Turrax homogenizer; the homogenate obtained was centrifuged at $9000 \times g$ for 20 min. The supernatant, which contained the cytosol, endoplasmic reticulum, Golgi apparatus and cytosolic proteins, was recovered for the biochemical assay and was designated S9.

2.5. Determination of related oxidative stress biomarkers

2.5.1. Reduced glutathione (GSH)

The GSH level was estimated according to the method of Weckbecker and Cory (1988), based on the absorbance of 2-nitro-5-mercaptopuric acid resulting from the reduction of 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) by the thiol (SH) group of the glutathione. The absorbance was measured at 412 nm. The glutathione concentration was expressed in nmol mg^{-1} protein.

2.5.2. Glutathione S-transferase (GST)

The assay of GST activity was performed according to Habig et al.

(1974). This assay consists of providing the enzyme with a substrate: 1-chloro-2, 4-dinitrobenzene (CDNB), which reacts readily with reduced glutathione. The conjugation reaction of these two products results in the formation of a novel molecule, which absorbs light at a 340 nm wavelength. The optical density (OD) was measured every minute for 5 min. The specific GST activity was expressed in $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ protein.

2.5.3. Catalase (CAT)

CAT activity was performed according to the method of Saint-Denis et al. (1998). This method is based on the measurement of the reduction of oxygenated water (H_2O_2) into an oxygen molecule (O_2) and two molecules of water (H_2O) in the presence of CAT at a UV wavelength of 240 nm. CAT activity was expressed in $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ protein.

2.5.4. Malondialdehyde (MDA)

MDA content was assayed according to the method of Uchiyama and Mihara (1978), whose principle is based on the spectrophotometric measurement of the red colour produced during the thiobarbituric acid reaction and MDA content. The intensity of the colour increases with the MDA concentration. The absorbance was measured at 532 nm. MDA contents were determined using 1, 1, 3, 3-tetra ethoxypropane as a standard with the results expressed in nmol mg^{-1} protein.

2.5.5. Metallothionein (Mt)

Mt level was assayed according to the method of Viarengo et al. (1997). The absorbance was measured at 412 nm. The Mt concentration was determined using the equation $1 \text{ mol Mt} = 20 \text{ mol GSH}$ and was expressed in nmol g^{-1} tissue.

2.6. Extraction and measurement of trace metal elements (TME) in water and digestive gland of *S. haemastoma*

The TME extraction (Cu, Zn, Cd and Pb) in the digestive gland was performed via hot nitro-perchloric acid ($\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$; 4 v/1 v) attack. Specifically, 50 mg of the digestive gland fine powder, previously dried in an oven at 60°C for 72 h, was placed in the presence of 8 ml of the nitro-perchloric acid mixture in teflon bottles. After 2 h of mineralization at 110°C , 50 ml of 0.5% nitric acid was added. The solutions thus obtained were filtered and kept cold (4°C) until the assay. The Cu and Zn were measured directly upon mineralization or after dilution using a Perkin Elmer atomic absorption spectrophotometer (PinAAde 900T, USA) in flame mode. The TME measurement (Cu, Zn, Cr, Cd and Pb) in seawater was directly conducted without the addition of nitric acid. For each metallic element, a standard range was prepared from a 1000 mg L^{-1} Perkin Elmer stock solution (Bankaji et al., 2016). The results were expressed in mg g^{-1} dry weight for the digestive gland and in mg L^{-1} for water.

2.7. Statistical analysis

The statistical analysis of the results was performed using software R, version 3.1.2 (R Core Team, 2014), created by Ihaka and Gentleman (1996). The condition of normal distributions was verified in advance by the application of the Shapiro-Wilk test. The distributions were mostly asymmetrical, which led us to choose non-parametric alternatives for the statistical analysis. The data are presented as the averages plus or minus standard error ($m \pm se$). Intersite and interseason comparisons were performed using the Kruskal-Wallis nonparametric test. This last was followed by the Dunn's test application (pairwise comparisons) in the case of hypothesis rejection by the Kruskal-Wallis test. Furthermore, a

principal component analysis (PCA) was performed using the FactoMineR package (Husson and Josse, 2014) on standardized data, whose objective is to characterize, by a multivariate approach, the structuration of spatiotemporal variations at the Algerian coastline. In addition, a dendrogram based on Hierarchical ascending classification "HAC" was constructed to better visualize the similarities between the study sites.

3. Results

3.1. Environmental characterization

The spatiotemporal variations of physicochemical parameters and TME (Cu, Zn, Cr, Cd and Pb) in water are represented in Table 1. The thermal water values varied between 22.73 ± 2.72 °C at site 1 and 23.65 ± 2.92 °C at site 2. However, they presented seasonal fluctuations with values ranged from 15.50 ± 0.50 °C to 27.27 ± 0.27 °C in winter and summer, respectively. Regarding pH, the analytical data revealed similar mean values in the three sites, they are between 8.51 ± 0.09 at site 3 and 8.58 ± 0.06 at site 1, which marks an alkaline pH in all the study sites. Salinity showed a variation between the sites, mean values of 31.42 ± 2.29 PSU at site 2 and 36.98 ± 0.22 PSU at site 3 were observed. The spring period is characterized by a decrease in salinity with 31.37 ± 3.25 PSU, while the highest mean values were recorded in winter with 36.47 ± 0.09 PSU. Dissolved Oxygen levels reveal similar means between the three sites, they were ranged from 9.66 ± 0.28 mg L⁻¹ to 12.42 ± 1.41 mg L⁻¹ at site 2 and site 3, respectively. Conductivity results showed that the mean values ranged from 47.35 ± 5.77 mS cm⁻¹ at site 2 to 55.95 ± 0.18 mS cm⁻¹ at site 3; the maximum seasonal mean values are registered in autumn with 56.17 ± 0.15 mS cm⁻¹ and the lowest mean values are recorded in spring with 45.30 ± 7.28 mS cm⁻¹. We noted that nutritional salts concentrations are similar in all sites except for NO₃⁻ where they were of the order of 2.95 ± 0.77 µM at site 1 and 10.97 ± 2.05 µM at site 3; between 0.24 ± 0.06 µM at site 2 and 0.46 ± 0.29 µM at site 3 for NO₂⁻; between 2.24 ± 0.54 µM at site 1 and 3.92 ± 0.75 µM at site 2 for NH₄⁺; between 0.74 ± 0.13 µM at site 2 and 0.98 ± 0.05 µM at site 3 for PO₄³⁻. Mean values of suspended solids were in the order of 28.32 ± 1.55 mg L⁻¹ at site 2 and 34.00 ± 2.48 mg L⁻¹ at site 1. The spring period was characterized by the lowest suspended solids means with 24.95 ± 3.13 mg L⁻¹, while the highest mean values were in the autumn period with 36.67 ± 2.15 mg L⁻¹.

With regard to TME in water, the mean Cu concentrations of the

three sites ranged from 0.14 ± 0.00 mg L⁻¹ at site 2 to 0.16 ± 0.00 mg L⁻¹ at site 1. The mean Zn concentrations were between 0.01 ± 0.00 mg L⁻¹ at site 3 and 0.02 ± 0.00 mg L⁻¹ at site 1 and site 2; they reached their maximum values in winter with 0.03 ± 0.00 mg L⁻¹. The mean Cr concentrations ranged from 0.07 ± 0.01 mg L⁻¹ at site 2 to 0.09 ± 0.01 mg L⁻¹ at site 3. For Cd and Pb, the concentrations were below the limit of detection.

The application of the Kruskal-Wallis test for the comparison of physicochemical parameters and TME in water showed that there were significant intersite differences for Salinity, NO₃⁻ and Cu; as well as significant differences among seasons for water temperature and Zn. No significant spatial and seasonal variations differences were observed for others parameters.

3.2. Biomarker response

In general, by examining the box plots (Figs. 2 and 3), we found that the intersite and seasonal variations in the parameters were important. A comparison of the minimum and maximum values highlighted the extent of the range of variation in the parameters.

Based on the box plots in Figs. 2A and 3A, we observed that the GSH values at sites 1 and 2 showed less variation than those at site 3. The mean values ranged from 12.73 ± 2.45 nmol mg⁻¹ protein at site 3 to 28.12 ± 1.75 nmol mg⁻¹ protein at site 2, with a minimum value (3.05 nmol mg⁻¹ protein) recorded at site 3. Mean values of 18.43 ± 2.05 nmol mg⁻¹ protein in spring and 23.60 ± 3.74 nmol mg⁻¹ protein in winter were observed.

Regarding GST activity, the box plots in Figs. 2B and 3B show that the concentrations were high but remained similar among different sites. The mean values ranged from 109.26 ± 12.82 nmol min⁻¹ mg⁻¹ protein at site 2 to 147.78 ± 9.79 nmol min⁻¹ mg⁻¹ protein at site 3, with a maximum value (264.15 nmol min⁻¹ mg⁻¹ protein) recorded at site 2. Mean values of 81.09 ± 13.21 nmol min⁻¹ mg⁻¹ protein in winter and 183.72 ± 7.46 nmol min⁻¹ mg⁻¹ protein in spring were observed.

CAT activity presented in Figs. 2C and 3C reveals significant variation of this parameter at site 2. The mean values ranged between 62.69 ± 5.10 µmol min⁻¹ mg⁻¹ protein and 106.55 ± 9.96 µmol min⁻¹ mg⁻¹ protein at site 3 and 2, respectively. The maximum value was recorded at site 2, with 222.97 µmol min⁻¹ mg⁻¹ protein. Mean values of 52.91 ± 3.93 µmol min⁻¹ mg⁻¹ protein in autumn and 113.70 ± 8.53 µmol min⁻¹ mg⁻¹ protein in spring were observed. The seasonal variation exhibited different dispersions and was much higher in winter period.

Table 1

Seasonal and spatial variations of physicochemical parameters and TME concentrations in water samples analyzed at the three sampling sites of Annaba Gulf and El Kala coastline (Mean values $\pm$ SE, n = 3).

Variable	Site 1	Site 2	Site 3	Autumn	Winter	Spring	Summer
Temperature (°C)	$22.73 \pm 2.72a$	$23.65 \pm 2.92a$	$22.90 \pm 2.26a$	$25.63 \pm 0.47ab$	$15.50 \pm 0.50a$	$23.97 \pm 0.83ab$	$27.27 \pm 0.27b$
pH	$8.58 \pm 0.06a$	$8.54 \pm 0.04a$	$8.51 \pm 0.09a$	$8.59 \pm 0.04a$	$8.52 \pm 0.14a$	$8.51 \pm 0.07a$	$8.56 \pm 0.05a$
Salinity (PSU)	$35.23 \pm 1.16ab$	$31.42 \pm 2.29a$	$36.98 \pm 0.22b$	$35.97 \pm 1.43a$	$36.47 \pm 0.09a$	$31.37 \pm 3.25a$	$34.37 \pm 1.87a$
Dissolved oxygen (mg L ⁻¹)	$11.27 \pm 0.62a$	$9.66 \pm 0.28a$	$12.42 \pm 1.41a$	$10.00 \pm 0.72a$	$11.74 \pm 1.26a$	$12.41 \pm 1.78a$	$10.32 \pm 0.51a$
Conductivity (mS cm ⁻¹)	$53.40 \pm 1.66a$	$47.35 \pm 5.77a$	$55.95 \pm 0.18a$	$56.17 \pm 0.15a$	$55.77 \pm 0.19a$	$45.30 \pm 7.28a$	$51.70 \pm 2.62a$
NO ₃ ⁻ (µM)	$2.95 \pm 0.77a$	$6.25 \pm 1.91ab$	$10.97 \pm 2.05b$	$3.56 \pm 1.70a$	$10.48 \pm 3.10a$	$7.96 \pm 2.91a$	$4.89 \pm 1.76a$
NO ₂ ⁻ (µM)	$0.24 \pm 0.12a$	$0.24 \pm 0.06a$	$0.46 \pm 0.29a$	$0.08 \pm 0.02a$	$0.13 \pm 0.10a$	$0.72 \pm 0.30a$	$0.35 \pm 0.05a$
NH ₄ ⁺ (µM)	$2.24 \pm 0.54a$	$3.92 \pm 0.75a$	$3.66 \pm 1.76a$	$3.40 \pm 1.29a$	$2.74 \pm 0.45a$	$2.68 \pm 0.90a$	$4.28 \pm 2.35a$
PO ₄ ³⁻ (µM)	$0.78 \pm 0.09a$	$0.74 \pm 0.13a$	$0.98 \pm 0.05a$	$0.85 \pm 0.10a$	$0.74 \pm 0.13a$	$0.94 \pm 0.09a$	$0.82 \pm 0.17a$
Suspended matter (mg L ⁻¹)	$34.00 \pm 2.48a$	$28.32 \pm 1.55a$	$28.43 \pm 4.17a$	$36.67 \pm 2.15a$	$30.81 \pm 3.16a$	$24.95 \pm 3.13a$	$28.57 \pm 2.30a$
Cu (mg L ⁻¹)	$0.16 \pm 0.00a$	$0.14 \pm 0.00b$	$0.15 \pm 0.00ab$	$0.15 \pm 0.00a$	$0.16 \pm 0.00a$	$0.14 \pm 0.01a$	$0.15 \pm 0.00a$
Zn (mg L ⁻¹)	$0.02 \pm 0.00a$	$0.02 \pm 0.00a$	$0.01 \pm 0.00a$	$0.01 \pm 0.00a$	$0.03 \pm 0.00b$	$0.01 \pm 0.00a$	$0.01 \pm 0.00c$
Cr (mg L ⁻¹)	$0.08 \pm 0.01a$	$0.07 \pm 0.01a$	$0.09 \pm 0.01a$	$0.08 \pm 0.01a$	$0.08 \pm 0.01a$	$0.07 \pm 0.02a$	$0.09 \pm 0.01a$
Cd (mg L ⁻¹)	< 0.028	< 0.028	< 0.028	< 0.028	< 0.028	< 0.028	< 0.028
Pb (mg L ⁻¹)	< 0.45	< 0.45	< 0.45	< 0.45	< 0.45	< 0.45	< 0.45

a and b indicate that inter-sites and seasonal variation is significant at $p < 0.05$, using the Dunn's test.

Limit of detection: Cu = 0.077 mg L⁻¹, Zn = 0.01 mg L⁻¹, Cr = 0.07 mg L⁻¹, Cd = 0.028 mg L⁻¹, Pb = 0.45 mg L⁻¹.

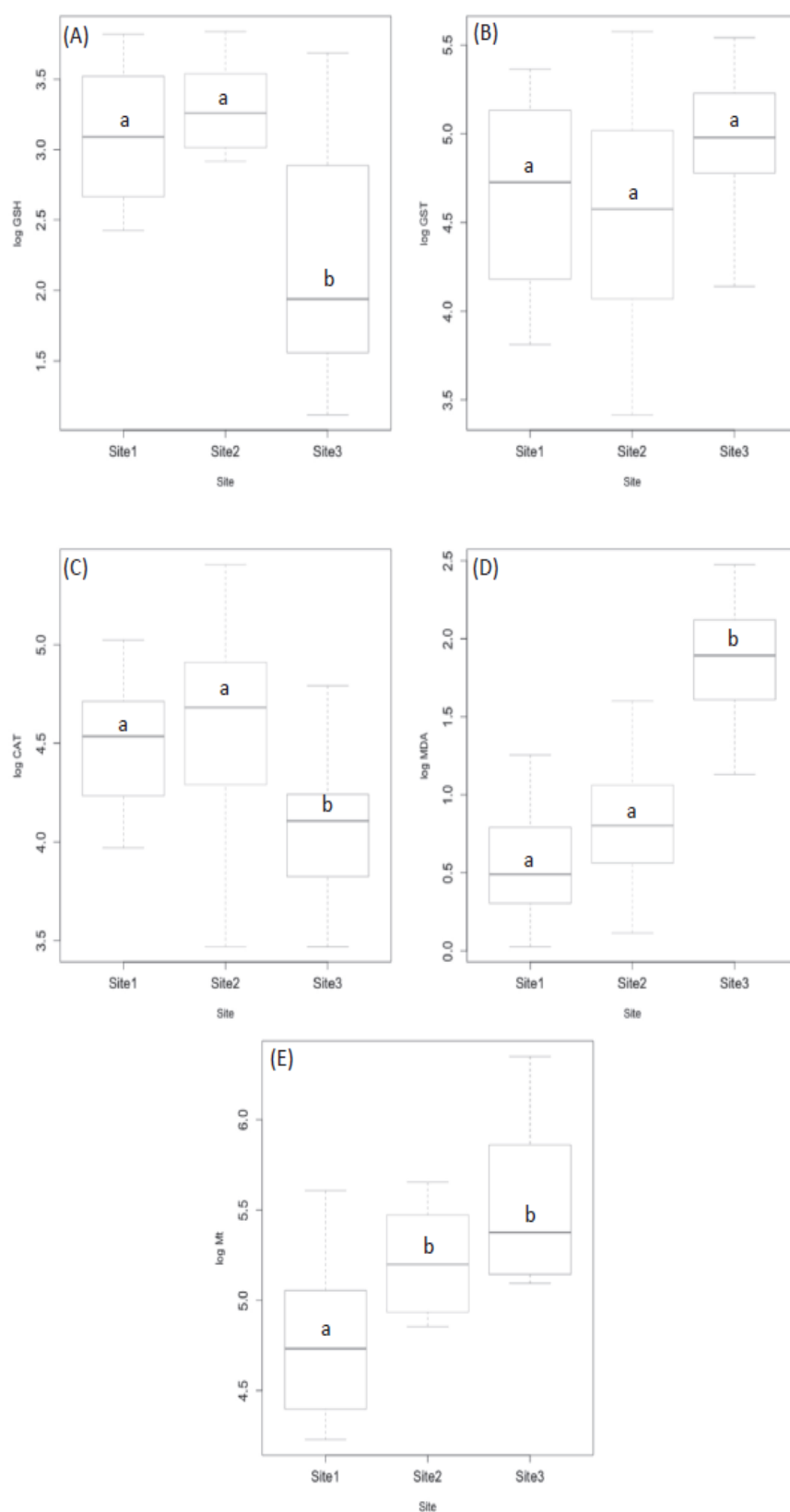


Fig. 2. Spatial variations in biomarker response in the digestive gland of *S. haemastoma* collected from Aouinète beach (Site 1), Messida beach (Site 2) and Cap de Garde (Site 3): GSH (A), GST (B), CAT (C), MDA (D) and Mt (E). a and b indicates that intersite variation is significant at $p < 0.05$, using the Dunn's test. Boxplots labeled with the same letter are not significantly different at $p < 0.05$ (Mean values $\pm$ SE, n = 6).

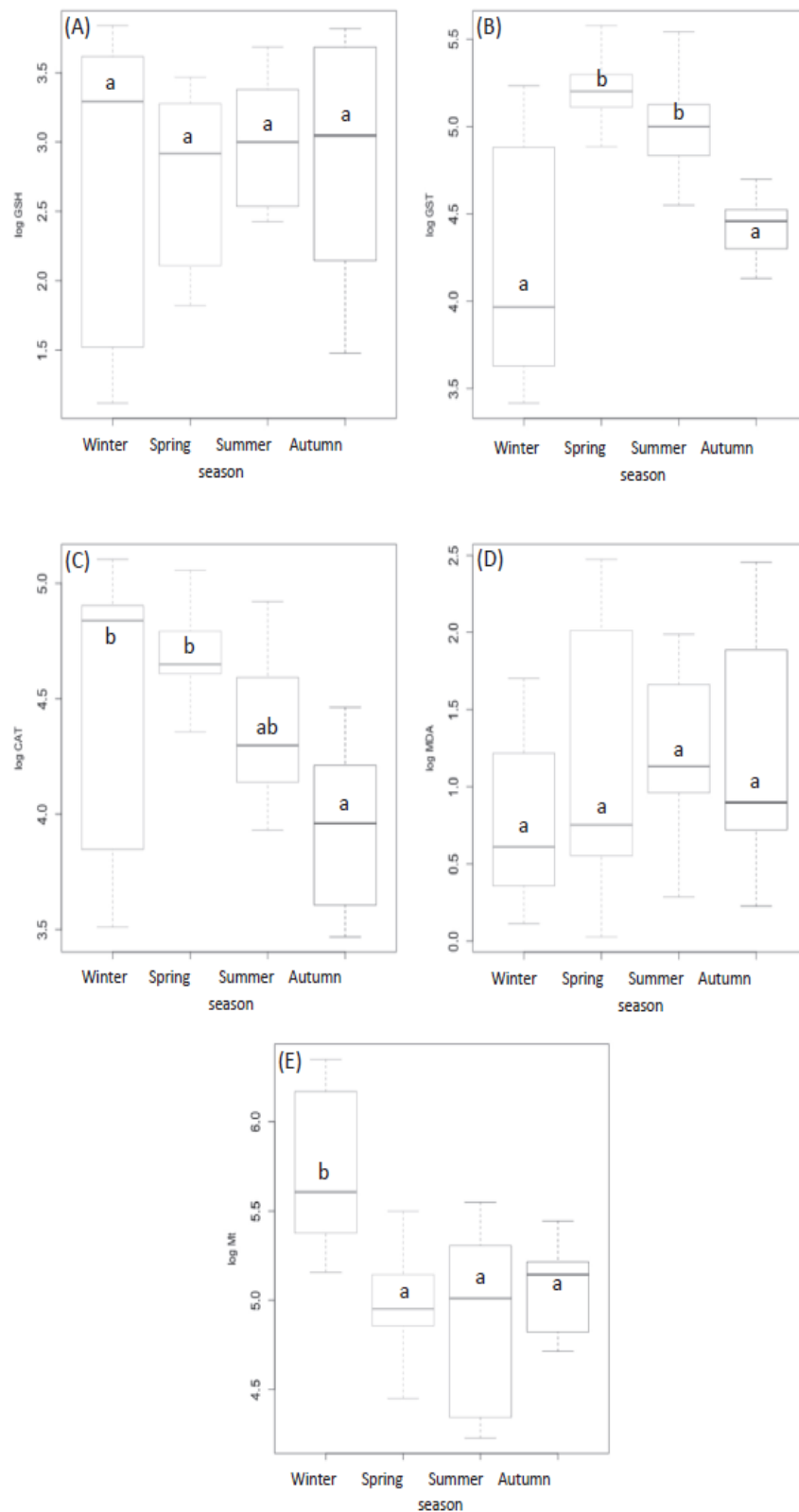


Fig. 3. Seasonal variations in biomarker response in the digestive gland of *S. haemastoma* collected from Aouinète beach (Site 1), Messida beach (Site 2) and Cap de Garde (Site 3): GSH (A), GST (B), CAT (C), MDA (D) and Mt (E). a and b indicates that seasonal variation is significant at $p < 0.05$, using the Dunn's test. Boxplots labeled with the same letter are not significantly different at $p > 0.05$ (Mean values $\pm$ SE, $n = 6$).

The MDA box plots (Figs. 2D and 3D) clearly showed that the variation in this parameter at the 3 sites was almost the same. However, the site 3 values were higher than those recorded in sites 1 and 2. The mean values ranged from $1.87 \pm 0.15 \text{ nmol mg}^{-1}$ protein at site 1 to $6.85 \pm 0.54 \text{ nmol mg}^{-1}$ protein at site 3, with a maximum of $11.88 \text{ nmol mg}^{-1}$ protein at site 3. Mean values of $2.54 \pm 0.33 \text{ nmol mg}^{-1}$ protein in winter and $4.41 \pm 0.93 \text{ nmol mg}^{-1}$ protein in spring were observed. Thus, the box plots of the seasonal variation revealed the existence of homogeneity in the four seasons.

By analysing the Mt box plots (Figs. 2E and 3E), we noted the existence of an increasing gradient ($S1 < S2 < S3$) of Mt levels. The mean values ranged from $129.46 \pm 18.09 \text{ nmol g}^{-1}$ tissue to $280.18 \pm 44.68 \text{ nmol g}^{-1}$ tissue at site 1 and 3, respectively, with a minimum of $68.57 \text{ nmol g}^{-1}$ tissue at site 1 and a maximum of $572.14 \text{ nmol g}^{-1}$ tissue at site 3. Mean values of $152.86 \pm 23.72 \text{ nmol g}^{-1}$ tissue in summer and $330.24 \pm 51.99 \text{ nmol g}^{-1}$ tissue in winter were observed. An examination of the box plots revealed the existence of heterogeneity in all four seasons.

3.3. TME in the digestive gland

Cu box plots (Fig. 4A and C) and Zn (Fig. 4B and D) revealed spatiotemporal variation. The mean Cu values ranged from $0.26 \pm 0.03 \text{ mg g}^{-1}$ dry weight (dw) to $0.67 \pm 0.09 \text{ mg g}^{-1}$ dw at site 2 and 3, respectively, with a maximum of 1.80 mg g^{-1} dw at site 3 and a minimum of 0.06 mg g^{-1} dw at site 1. Mean values of $0.18 \pm 0.03 \text{ mg g}^{-1}$ dw in winter and $0.62 \pm 0.11 \text{ mg g}^{-1}$ dw in spring were observed. The average Zn values ranged from $0.25 \pm 0.03 \text{ mg g}^{-1}$ dw at site 3 to $0.54 \pm 0.03 \text{ mg g}^{-1}$ dw at site 2. The maximum value was recorded at site 2, with 0.79 mg g^{-1} dw, and the minimum value was 0.08 mg g^{-1} dw at site 3. Mean values of $0.28 \pm 0.05 \text{ mg g}^{-1}$ dw in summer and $0.48 \pm 0.03 \text{ mg g}^{-1}$ dw in winter were observed. For Cd and Pb, the concentrations were below the limit of detection.

The results of the Kruskal-Wallis test for the comparison of variables for both site and season revealed significant intersite differences ($p < 0.05$) for all variables except GST. The effect of the "site" factor appeared to be very marked, and there were significant

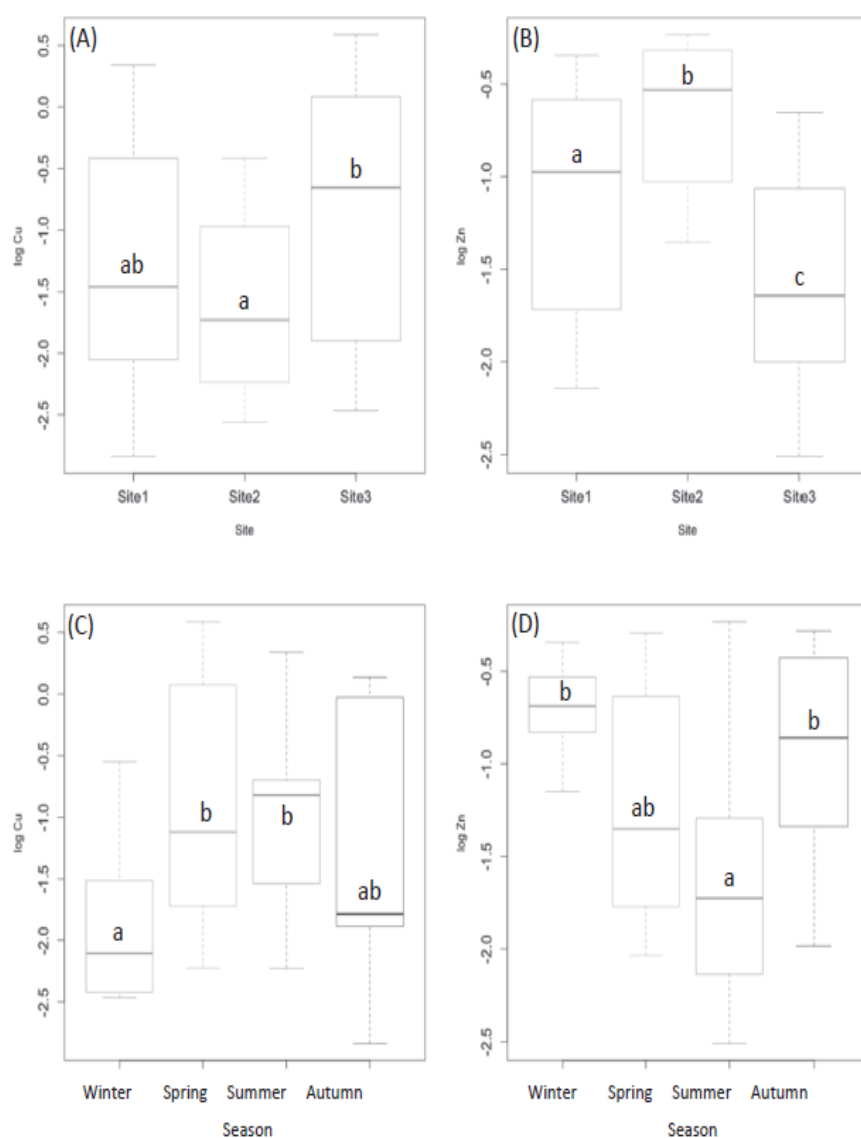


Fig. 4. Spatial (A, B) and seasonal (C, D) variation in Metal trace elements in the digestive gland of *S. haemastoma* collected from Aquinète beach (Site 1), Messida beach (Site 2) and Cap de Garde (Site 3): Cu (A, C) and Zn (B, D). a and b indicates that seasonal and intersite variations are significant at $p < 0.05$, using the Dunn's test (Mean values $\pm$ SE, $n = 9$).

differences among seasons ($p < 0.05$) for all parameters except GSH and MDA.

Dunn's test clearly shows that there are significant intersite differences for all of the following combinations:

- As regards GSH, CAT and MDA (Fig. 2A, C and 2D), the difference is between individuals collected from Site 3 and those of Site 1 and Site 2, which allowed us to group these sites into two groups: the Site 1 and Site 2 represent the group (a), the Site 3 corresponds to the group (b).
- For Mt (Fig. 2E), Dunn's test was permitted the classification of sites into two groups, group (a) includes Site 1 and group (b) matches Site 2 and Site 3.
- Concerning Cu (Fig. 4A), Dunn's test allows us to classify the study sites into three groups, where significance difference occurred between the group (ab) corresponding to Site 1, group (a) and (b) representing Site 2 and Site 3, respectively.
- For Zn (Fig. 4B), Dunn's test permits the classification of the sites in three groups: (a), (b) and (c). This classification clearly shows the existence of a difference between all sites.

Dunn's test also reveals significant differences between seasons for the following combinations:

- Concerning GST and Mt (Fig. 3B and E), this test allows us to classify the seasons into two groups: for GST group (a) representing winter and autumn, the group (b) corresponds to spring and summer. For Mt group (a) contains spring, summer and autumn, the group (b) includes winter.
- Eventually Dunn's test reveals that CAT, Cu and Zn levels divided seasons into three groups: for CAT (Fig. 3C) group (a) includes autumn, group (b) matches winter and spring, group (ab) corresponds to summer. For Cu (Fig. 4C) group (a) contains winter, group (b) spring and summer, group (ab) autumn. For Zn (Fig. 4D) group (a) represents summer, group (b) autumn and winter, group (ab) spring.

3.4. Seasonal and intersite variation of parameters by Principal Component Analysis (PCA)

The use of Principal Component Analysis (PCA) as a preliminary and exploratory descriptive approach made it possible to visualize the structuring of the temporal and spatial variation at the three sites according to 20 variables: water temperature (T), pH, salinity (Sal), dissolved oxygen (Oxy), conductivity (Cond), NO_3^- (Nitri), NO_2^- (Nitri), NH_4^+ (Ammon), PO_4^{3-} (Orth), suspended solids (MES), Cu, Zn, Cr in water (Cu.e, Zn.e, Cr.e), GSH, GST, CAT, MDA, Mt and Cu, Zn in the digestive gland (CuDG, ZnDG). Our PCA (Fig. 5) clearly shows that the first two factorial axes yielded nearly 46.58% of the information. Axis 1 explains 26% of the total variation, it is positively correlated with the variables MDA ($r = 0.86$), Cr.e ($r = 0.74$), CuDG ($r = 0.71$), Nitri ($r = 0.64$), Oxy ($r = 0.64$) and Sal ($r = 0.52$) which strongly contribute to the construction of this axis ($\cos^2 = 0.74$, $\cos^2 = 0.54$, $\cos^2 = 0.50$, $\cos^2 = 0.41$, $\cos^2 = 0.40$ and $\cos^2 = 0.27$, respectively); and negatively with the variables ZnDG ($r = -0.75$), GSH ($r = -0.59$) and Zn.e ($r = -0.53$), which also contribute significantly to its construction ($\cos^2 = 0.56$, $\cos^2 = 0.35$ and $\cos^2 = 0.28$, respectively). In addition, axis 2 explains 20.58% of the total variation, it is built mainly by the strong positive correlations of the variables Cond ($r = 0.82$), Sal ($r = 0.78$), Cu.e ($r = 0.71$) and Zn.e ($r = 0.52$) and the negative correlation of variables GST ($r = -0.80$) and T ($r = 0.61$) which contribute considerably to its construction ($\cos^2 = 0.67$, $\cos^2 = 0.61$, $\cos^2 = 0.51$, $\cos^2 = 0.27$, $\cos^2 = 0.64$ and $\cos^2 = 0.37$, respectively).

3.5. Hierarchical ascending classification (HAC) of intersite variation

Fig. 6 shows the dendrogram resulting from the HAC based on the intersite variation in the measured parameters. An examination of the dendrogram indicates the existence of two clusters. The first cluster encompasses site 3, which corresponds to the Cap de Garde beach in the Annaba Gulf. The second cluster consists of sites 1 (Aouinète beach) and 2 (Messida beach), which represent the El Kala coastline.

4. Discussion

4.1. Environmental characterization

Temperature is one of the most sensitive physico-chemical parameters to natural changes, it varies according to the outside temperature (air), seasons, the geological nature of the soil and the depth of the water level relative to the sediment surface (Rodier et al., 2005); and anthropogenic changes such as wastewater discharges. In the three study sites, water thermal values did not show large variations. However, they revealed the existence of a typically mediterranean seasonal cycle. The recorded pH values demonstrated a slight water alkalinity and did not show a variation between the three sites. The dissolved oxygen of the seawater at site 2, which is very close to the northern part of the Messida canal, revealed slightly lower mean values compared to the other sites, this would probably be related to biodegradable organic matter loads. These will undergo oxidation which will result in increased consumption of oxygen leading to a decrease in its content in water. The results obtained of temperature, pH and the dissolved oxygen correspond with the work performed in the northeastern coast of Algeria (Kadri et al., 2015; Amri et al., 2017b). Salinity showed the absence of a difference between the seasons with a nonsignificant decrease in spring due to the arrival of continental freshwater, which is linked to the abundance of rains that dilute seawater. We also noted a significant difference recorded between the three study sites, where the decrease in salinity at site 2 may be due to its proximity to the Messida canal which is characterized by low salinity. Our results seem to be in agreement with the means observed in the Mediterranean Sea which are in the order of 38–39 PSU (Aminot and Kérouel, 2004b) and with those measured on the Algerian coasts, particularly on the Annaba Gulf (Hadjadji et al., 2014; Ounissi et al., 2014; Kadri et al., 2015; Amri et al., 2017b). The water conductivity showed no significant seasonal fluctuations, values were slightly high in autumn and low in spring. These variations could be explained by the dilution phenomenon during wet periods (Nassali et al., 2005) and the high evaporation and low water flow during the dry period (El Morhit et al., 2008). The monitoring of NO_3^- , NO_2^- and NH_4^+ concentrations is often systematic in water quality surveillance programs (Aminot and Kérouel, 2004a), because these elements play a crucial role in the coastal waters eutrophication (Howarth and Marini, 2006). The NO_3^- concentrations recorded in the water of site 3 were slightly higher than other two sites. According to Bremond and Perrodon (1979), concentrations above $12 \mu\text{g L}^{-1}$ of NO_3^- are directly related to human activity. In addition, the NO_3^- concentrations showed insignificant seasonal fluctuations, with high values in winter period that would be the result of enrichment due to active nitrification. The results obtained from nutritional salts are more or less similar compared to the work performed at the Annaba Gulf (Ziouch, 2014; Boutabia-Trea, 2016; Amri et al., 2017b). The analysis of the results obtained showed that waters from the three sites are not overloaded with suspended solids. In the coastal environment, suspended solids are most often associated with continental inputs or solid

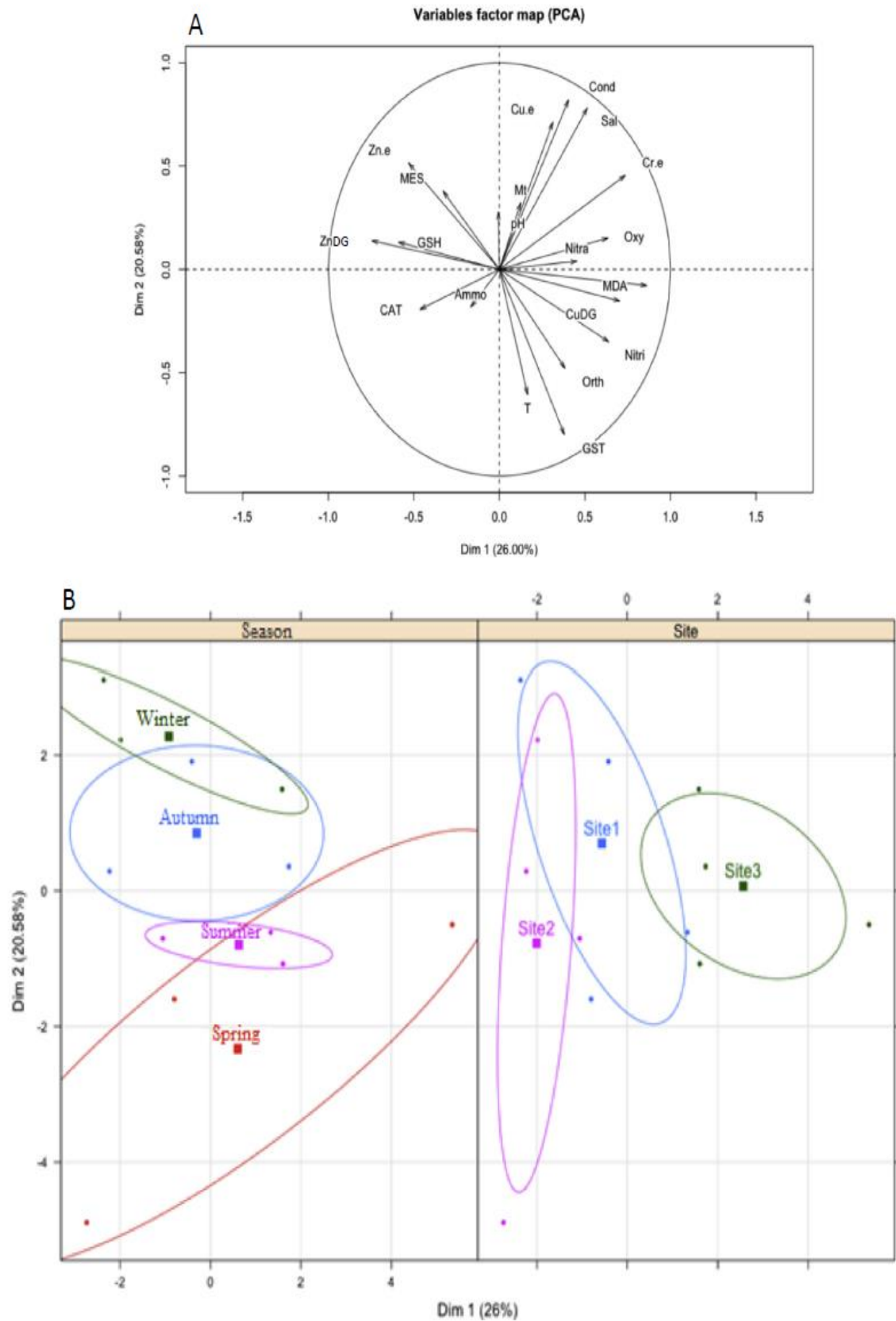


Fig. 5. Principal component analysis based on the spatiotemporal variation. Factorial plane: D1: 26%, D2: 20.58%. (A): Correlation circle of variables assayed with the first two principal axes. (B): Projection of seasons and sites on the first two principal axes.

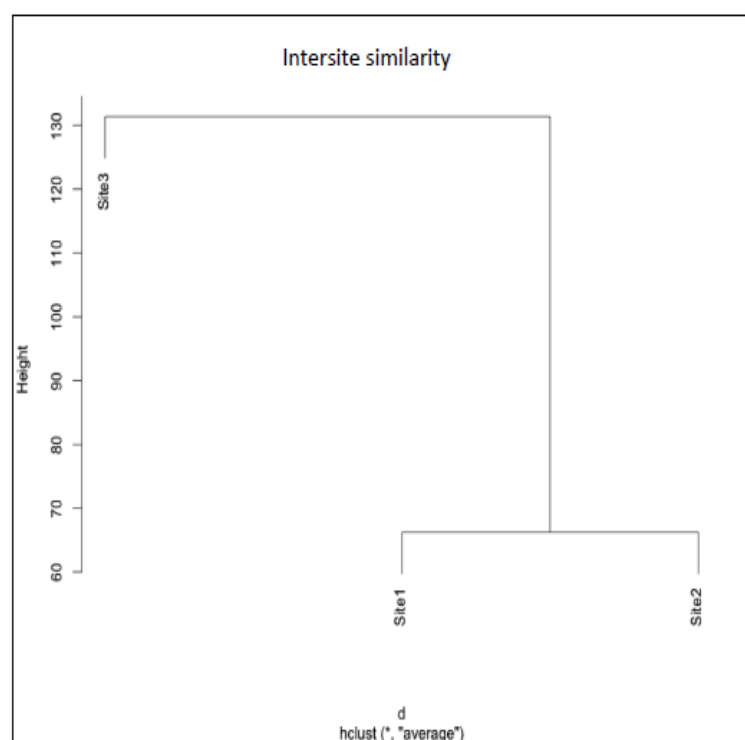


Fig. 6. Hierarchical ascending classification of sampling sites according to the variation of the measured parameters. Aouinète beach (Site 1), Messida beach (Site 2) and Cap de Garde (Site 3).

material resuspension by swell and tidal currents (Aminot and Kérourat, 2004a). Likewise, suspended solids concentrations showed no significant seasonal fluctuations; the waters appear a little less loaded in suspended solids in the spring, this would be explained by the dilution phenomenon caused by floods (Neal et al., 2000).

The measured TME in the surface seawaters of these three sampling sites revealed that the three elements (Cu, Zn and Cr) are present while the two others (Cd and Pb) are less than the limit of detection. The order of enrichment of these TME was identical for the three sites by placing the Cu in first position followed by Cr then Zn. This enrichment in TME would have for origin the numerous emissaries of wastewater from the surrounding agglomerations without any preliminary treatment, of which the El Kala littoral and especially the Annaba Gulf are the receptacles. Also, the use of motorized boats by the fishermen, all year long and those of Jet Ski in summer and autumn period could be at the origin of TME water enrichment. It is reported that fuels contain TME (Calamari and Naeve, 1994). Belabed et al. (2008) reports that Cu is strongly present in the sediment of many sites in the Annaba Gulf, suggesting that the main source in this element is telluric and would be related to the soil geology of this part of the coastline. In the Mediterranean area, the importance of runoff and erosion is likely to increase transfers of pesticides based on Cu to surface waters. In the case of our study area, the main natural sources of exposure would be soil dust, plant decomposition and forest fires. In addition, these levels are probably related to industrial discharges (fertilizer manufacturing plant "FERTIAL"). Concerning Zn, it would come naturally from wind transport of soil particles and forest fires. But with regard to anthropogenic inputs, they would result from agricultural spreading (feeding of animals, slurry), urban activities (road traffic, garbage incineration), whereas Cr is used by several industries (colors and lacquers, photography films, wood, leather ...). Belabed et al. (2013b) and Boutabia-Trea (2016) report the

presence of these three TME in the sediment of the Annaba Gulf. Enrichment in TME during the wet and rainy season would be mainly due to the increase of metallic pollutants loads in the runoff waters of the first floods.

4.2. Response of biomarkers to environmental stress

The application of biomarkers to bioindicators is an important approach in the field of aquatic biomonitoring to assess the effects of and relationship between exposure to environmental pollutants and increased long-term effects on individuals and populations. The use of a battery of biomarkers in field surveillance has increased over the past decade.

Coastal waters are exposed to several disturbance mechanisms; chemical pollution associated with industrial production and high urbanization are among the most important concerns (Giarratano et al., 2010). The study of biological responses in sentinel species exposed to different contaminants has become a useful tool for assessing the quality of the environment. Many ecotoxicological biomarkers proposed over the past three decades based on molecular and cellular responses represent the first signals of environmental disturbance and are commonly used in biomonitoring programs (Moore et al., 2004; Viarengo et al., 2007). In the present work, seasonally monitored biomarker responses were measured in the digestive gland of *S. haemastoma*. On the whole, the results significantly highlight a spatiotemporal effect. The fluctuations in our biomarkers seem to reflect a disturbance of the environment.

GSH is a tripeptide (γ -L-glutamyl-L-cysteinyl glycine) that plays a central role in intracellular antioxidant defence processes due to its cysteine thiol group (Beldi, 2007). No seasonal variation in GSH levels was observed in *S. haemastoma*, but the results generally showed reduces rates compared to others such as those of Verlecar et al. (2008), Borvinskaya et al. (2016), Lavradas et al. (2016) and Amri et al. (2017b) who have demonstrated a seasonal variation in

GSH concentrations in the digestive gland of green-lipped mussel *Perna viridis*, the whitefish (*Coregonus muksun* and *Coregonus lavaretus*), *P. perna* and *Paracentrotus lividus*, respectively. To prevent the cellular damage caused by high ROS levels, GSH could be used for detoxification, resulting in its decrease (Gismondi et al., 2012). Several studies have helped elucidate the relationship between the decrease in the GSH rate and the level of environmental contamination; this was observed by Gorbi et al. (2008) in *M. galloprovincialis* transplanted in the Adriatic Sea and exposed to polluted TME sediments, and by Sifi et al. (2013) in *D. trunculus*. However, a significant effect of the sampling site was highlighted in the present work. Site 3 individuals had the lowest GSH level. This site represents the Annaba Gulf, which is subject to many permanent discharges of urban, industrial and port origin. Relatively high TME concentrations (Zn and Cu) were previously obtained in *D. trunculus* tissues in the same Gulf (Beldi et al., 2006). The decrease in GSH levels clearly indicates the stress of GSH-dependent detoxification pathways aimed at reducing peroxides to non-toxic, water-soluble primary alcohols. GSH is key in metal scavenging in the organism due to the high affinity of metals to its (–SH) group (Jozefczak et al., 2012). GSH has been proposed to complex and detoxify metal cations as soon as they enter the cells, representing a first line of defence against metal cytotoxicity. According to the literature, metal accumulation in biological tissues can result in the reduction of GSH availability (Lavradas et al., 2016). Verlecar et al. (2007) reported a decrease in GSH level in *P. viridis* exposed to TME. This decrease was observed in the digestive gland of *Crassostrea virginica* (Ringwood et al., 2004), in *P. perna* exposed to Cd and Cu (Khati et al., 2007, 2012), in the hepatopancreas of the freshwater crab *Sinopotamon yangtsekiense* (Wang et al., 2008), in *Ruditapes decussatus* exposed to Cd (Khebbab et al., 2010) and in the clam *Semele solida* exposed to anthropogenic pollution in the Chile Gulf (Sraín and Rudolph, 2010).

The environment subjected to numerous pollutants imposes on certain animal species to develop mechanisms of detoxification of xenobiotics and resistance to oxidative stress. These mechanisms, including GST activity, are used as defence biomarkers (Amiard-Triquet et al., 2009). GST can be induced by certain pollutants and is therefore widely used as a stress biomarker (Cunha et al., 2007; Lam, 2009). In the present work, results related to the GST activity revealed a significant response absence of this enzyme with respect to site. Similar results were reported by Van der Oost et al. (2003), who showed similar activity between a reference site and a polluted site. However, seasonal variations were revealed. Maximal activity was noted in spring. Our results seem to be in agreement with the work of Guemouda et al. (2014) and Amri et al. (2017b), which showed differences in GST activity as a function of season, with spring peaks in the annelid polychaete *Perinereis cultrifera* and in the sea urchin *P. lividus*, respectively. Seasonal oscillations in GST activity were reported by Duarte et al. (2011), Giarratano et al. (2013), Schmidt et al. (2013), Jarque et al. (2014), Benali et al. (2015) and Balbi et al. (2017) in mussels; by Nahrgang et al. (2013) in *M. edulis* and *Chlamys islandica*; and by Fossi Tankoua et al. (2013), Barda et al. (2014), Braghirolli et al. (2016) and Louiz et al. (2016) in *Scrobicularia plana*, *Macoma balthica*, *Hyalaea kaimgang* and *Gobius niger*, respectively. Variations in GST activity would be due to an oxidative stress closely related to environmental factors and the environment quality such as food availability, physicochemical parameters of water (Mebarki et al., 2015), and the level of pollutants in tissues, which may vary with time. Moreover, the GST activity induction can be regarded as an adaptive response to an altered environment (Vidal-Liñán et al., 2010). This enzymatic induction catalyses the conjugation reaction between GSH and endogenous substrates and xenobiotics, allowing the formation of hydrophilic compounds which are less toxic and easy to eliminate

(Cunha et al., 2007; Schmidt et al., 2012). This would be also likely due to the exposure of sites to various sources of pollution. Beldi et al. (2006) revealed an increase in GST activity as a function of water pollution in the Annaba Gulf, which is characterized by the introduction of pollutants via the rivers and wadis (Chaoui et al., 2013; Bougherira et al., 2015; Keblouti et al., 2015). Similar results were obtained in the sea urchin *P. lividus*, in which GST activity was used as a biomarker of environmental contamination in a coastal area of Portugal (Cunha et al., 2005). Abbassi et al. (2015) have described a relationship between environmental pollution and GST activity in *M. galloprovincialis*. Several other studies showed higher GST activity in organisms from polluted sites when compared to those from reference sites (Sáenz et al., 2010; Bouzenda et al., 2017; Mejdoub et al., 2017). Increased GST activity has also been reported by several other authors in *D. trunculus* from Annaba Gulf (Sifi et al., 2007; Amira et al., 2011; Soltani et al., 2012; Bensouda and Soltani-Mazouni, 2014). Barhoumi et al. (2014) showed that GST was induced in *M. galloprovincialis* by organochlorine pesticides such as Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT). Likewise Lavarías et al. (2013) indicated that GST induced in the prawn *Macrobrachium borellii* exposed to organophosphate fenitrothion. GST activity variation may also be related to the age and the reproductive cycle (Lau et al., 2004; Giarratano et al., 2011).

Many authors have advocated using CAT as a biomarker in assessing the oxidative contaminants. CAT is the primary antioxidant defence involved in H_2O_2 detoxification. It has a very important role in the protection of aquatic invertebrates (Valavanidis et al., 2006). CAT activity in *S. haemastoma* showed relatively the same profile as GST, with a significant increase in spring. The CAT activity induction can be attributed to higher levels of exogenous hydrogen peroxide, which is the major cellular precursor of the toxic hydroxyl radical ($OH^\cdot$) (Mejdoub et al., 2017). Our results are supported by the work of Guemouda et al. (2014) and Amri et al. (2017b), which focused on the strong CAT activity in spring in *P. cultrifera* and *P. lividus*, respectively on the eastern coast of Algeria. Kamel et al. (2014) and Balbi et al. (2017) revealed seasonal variation in CAT activity in the digestive gland of *M. Galloprovincialis* and Barda et al. (2014) in *M. balthica*. These enzymatic responses, particularly those of CAT, can be modulated by seasonal changes in both environmental and biological factors, potentially affecting responsiveness and susceptibility to pollutants (Amiard-Triquet, 2009). This phenomenon has been described by Gorbi et al. (2008). Our outcomes reveal a site effect, demonstrated by an increase in CAT activity in individuals collected at site 2. The latter receives discharges of wastewater and agricultural waste through the Wadi Messida, which is currently threatened by human activities (Benhalima et al., 2015). The increase in this activity at site 2 could then be explained by exposure to discharges from the Wadi Messida causing terrigenous inputs during periods of flooding. Thus, it is likely that environmental factors have an influence on CAT activity. Induction of this activity was recorded in *M. galloprovincialis* (Box et al., 2007); in the same species due to TME (Vlahogianni et al., 2007); in *P. viridis* due to organic contaminants (PAHs) and organochlorine pesticides (Richardson et al., 2008); in *Bathylomolodus azoricus* due to metal contamination (Cu) (Company et al., 2008); in *R. decussatus* collected at several sites on the Tunisian coast following a pollution gradient (Jebali et al., 2007; Banni et al., 2009); and in *D. trunculus* (Tili et al., 2010; Amira et al., 2011; Soltani et al., 2012; Bensouda and Soltani-Mazouni, 2014). El Jouri et al. (2012, 2014, 2015) showed that this activity was high in *P. perna* in polluted sites compared to reference sites. Chandurvelan et al. (2015) demonstrated that CAT act to neutralise the ROS effects that can be generated by metal exposure.

Based on our results and the work described above, the CAT and GST activities are induced simultaneously and present a high values

in spring period, it would be mainly caused by biological processes: This season corresponds to the period just before spawning. This later occurred between the end of spring and the beginning of the summer (Lahbib et al., 2011). The increased metabolic rates during spring period could possibly increase the rate of ROS formation and causes oxidative stress (Verlecar et al., 2007). According to Giarratano et al. (2013), the simultaneous induction of GST and CAT activities suggests a similar pattern for hydrogen peroxide elimination.

MDA is the byproduct of lipid peroxidation stimulated by ROS, which alters the cell membrane structure. The MDA content is closely related to the degradation of the cell membrane and reveals the effects of a xenobiotic penetration into the organism. MDA is therefore an early indicator of oxidative stress (Del Rio et al., 2005; Lykkesfeldt, 2007). Our results showed a site effect revealed by a slight increase in the MDA concentration at site 3 in the Annaba Gulf. In general, organisms with lowered antioxidant status could be more susceptible to lipid peroxidation, and therefore presenting higher levels of MDA (Giarratano et al., 2011). According to Soltani et al. (2012) and Sifi et al. (2013), the presence of large amounts of pollutants can overwhelm the antioxidant system, which caused lipid peroxidation of cell membranes by a high MDA level in *D. trunculus* at a site exposed to industrial pollution in the same Gulf. The increase in MDA concentrations, a potency marker of the lipid peroxidation, can be explained by environmental TME contamination, which cause overproduction of free radicals in the cell. It is known that the exposure of aquatic organisms to TME may increase ROS generation, which can lead to an imbalance in antioxidant defences, enhance oxidative stress and generate lipid peroxidation (Giarratano et al., 2013). Giguère et al. (2003) showed an increase in MDA concentrations in *Perna grandis* exposed to metal contamination in its natural environment. Tili et al. (2010) noted the same observation in *D. trunculus* in a polluted site compared to a reference site in the Tunis Gulf. Similar results were reported by Vlahogianni et al. (2007) and Abbassi et al. (2015) in *M. galloprovincialis*; by Bergayou et al. (2009) in *S. plana* and *Cerastoderma edule* from an estuary; by Banni et al. (2009) and Kamel et al. (2014) in the digestive glands of *R. decussatus* and *M. galloprovincialis*, respectively; by El Jourmi et al. (2012, 2014, 2015) in *P. perna*; and by Khati et al. (2012) in the same species exposed to Cu and Cd. Machreki-Ajmi et al. (2008) noted an increase in MDA concentrations at a site with high Cd levels compared to a control site, as well as the oyster *C. gigas* exposed to diesel oil (Zanette et al., 2011) and *Chlamys farreri* exposed to ammonia nitrogen (Wang et al., 2012).

Mts are the proteins most susceptible to metal contamination in many marine organisms (Choi et al., 2007, 2008; Zorita et al., 2007). They are involved in homeostasis of essential metals such as Cu and Zn, but also performs a major role in the detoxification of non-essential metals (Chandurvelan et al., 2015).

In this study, the Mt quantification in the digestive gland of the gastropod *S. haemastoma* revealed spatiotemporal fluctuations. The highest concentrations were recorded in individuals collected in winter and at site 3, which represents the Annaba Gulf. Kamel et al. (2014) noted seasonal variation in Mt in the digestive gland of *M. galloprovincialis*. Mt induction is considered a good biomarker of exposure to TME and is commonly used in environmental biomonitoring programs (Viarengo et al., 2007; Banni et al., 2007). Falfushynska et al. (2009) revealed that Mt was an adequate biomarker for environmental pollution in *Anodonta* sp. On the other hand, it was demonstrated that metallic elements such as Cu, Zn and Cd accumulated in the *R. decussatus* tissues exposed distinctly and/or to a mixture of these metals, causing strong induction of Mt synthesis (Serafim and Bebianno, 2010). De Montaudouin et al. (2010) and Paul-Pont et al. (2010a, 2010b)

noted that the Mt concentration reflected metal contamination in *C. edule* and *Ruditapes philippinarum*. El Jourmi et al. (2012, 2014) showed high levels of Mt in *P. perna* at polluted sites compared to reference sites. The Mt induction has been reported by Ladhar-Chaabouni et al. (2009b) in *Cerastoderma glaucum* exposed to Cd, by Figueira et al. (2012b) in *R. decussatus* and *R. philippinarum* both exposed to Cd, by Figueira et al. (2012 (a)) and Freitas et al. (2012a, 2012b) in *C. edule* exposed to metals, by Khati et al. (2012) in *P. perna*, exposed to Cu and by Santoviro et al. (2015) in *Venerupis philippinarum* exposed to Cu and Zn. Ladhar-Chaabouni et al. (2009a) found that an increase in the amount of bioaccumulated Cd was followed by an increase in the Mt synthesis in the digestive gland of *C. glaucum*.

However, the Mt accumulation in the tissues could also be due to oxidative stress irrespective of the TME presence in the environment. Indeed, Banni et al. (2007) reported significant increases in Mt isoforms in terms of both protein and mRNA in *M. galloprovincialis* not exposed to TME but showing a state of oxidative imbalance. Other than metal exposure, Mt can also be induced by other factors, such as physicochemical factors (salinity, temperature, dissolved oxygen, etc.) and by the physiological state of the organism (age, sex, reproductive stage) (Boulajfene et al., 2017).

4.3. Trace metal elements (Cu and Zn) in the digestive gland

Their concentrations in the digestive gland of *S. haemastoma* revealed their accumulation, and monitoring of their concentrations showed similar seasonal fluctuations at the three study sites, with maximum bioaccumulation observed in spring and at site 3 for Cu and in winter and at site 2 for Zn. Season is an important factor, and numerous studies have shown that Cu and Zn concentrations measured in marine species vary seasonally. Our results are comparable to those observed by Beldi et al. (2006) and Belabed et al. (2008), in which a significant seasonal effect was revealed with relatively high levels of Zn in winter in the *D. trunculus* tissues at a polluted site and in *P. perna*, respectively, in the Annaba Gulf; by Boucetta et al. (2016b) in the marine gastropod *Phorcus (Osilinus) turbinatus* in the same Gulf; by Belhaouari et al. (2011) in *Osilinus turbinatus* and by Kamel et al. (2014) and Rouane-Hacene et al. (2015) in *M. galloprovincialis*. Thus, the analyzed elements (Cu and Zn) in the *S. haemastoma* gastropod presented marked seasonal fluctuations with a spring and winter maximum concentration of Cu and Zn, respectively. The increased Cu concentration in spring may be related to the release of TME in the water after the organic matters degradation of the colloidal and dissolved phases when water temperatures increase (Belabed et al., 2017). The winter Zn maximum concentration could be explained by the fact that at this time of year, storms act as a major restructuring force by changing significantly the manner of sediments granulometric distribution; this increases the sediments resuspension rate that can lead to higher remobilization rates and consequently, a significant bioavailability metals in sediments and water (Boutabia-Trea et al., 2015). Furthermore, during this cold period the increased rains led to an important inflow of fresh water to the coastal zone from the wadi system and so induce the salinity decrease. TME uptake and accumulation in body tissues is affected by element bioavailability which generally tends to increase with decreasing salinity, according to the free TME ions concentration in the surrounding seawater (Belabed et al., 2013b). Likewise, Cu and Zn concentration reached a maximum level during the cold period, which corresponding to a high storage period of energy reserves before spawning (corresponding to a period that body reserves have been depleted due to the reproduction).

It is generally accepted that the TME accumulation mainly

occurs through three compartments: water, food and sediments. However, the efficiency of metals absorption from these sources may vary according to ecological needs, animal metabolism and TME concentrations in water, food and sediments, as well as other factors such as salinity and temperature. Importantly, the diet of our studied species (carnivorous) allows it to bioconcentrate and amplify TME in the digestive gland through feeding on animal prey (bivalves). It can be deduced that the accumulation of these metals in mussels may lead to an increase in metal concentrations in *S. haemastoma*. Biological factors such as food acquisition capability (Saavedra et al., 2004), sex (Sokolowski et al., 2004), age, size and spawning contribute significantly to the variation in TME bioaccumulation. Among abiotic factors, physicochemical factors (such as temperature, salinity, dissolved oxygen, and pH) of the environment play an essential role because they influence both the physicochemical form of the metals (and thus their bioavailability) and the metabolic processes of species (such as osmoregulation, respiration, reproduction, and trophic activity), which partly depend on the kinetics of metal accumulation and excretion. These environmental factors are site-specific and vary over time. The results of this study demonstrate the importance of anthropogenic inputs into the contamination of the Annaba Gulf and the El Kala coastline by TME: the highest levels of Cu and Zn were observed in the digestive gland of organisms inhabiting site 3 (Cu) located in the Annaba Gulf, which receives industrial (FERTIAL factory), urban and domestic discharges; and site 2 (Zn) located on the El Kala coast, which receives wastewater discharges and agricultural waste through the Wadi Messida. These high concentrations were primarily due to the main anthropogenic discharges from the Annaba Gulf, corresponding to the emissaries of untreated sewage due to the polluting loads carried by the Wadis Seybouse and Mafragh, Wadi Forcha, Wadi Sidi Harb, Wadi Edheh, Wadi Kouba, Wadi Bouhdid and Wadi Bedjima. These polluting loads are also influenced by port activity on the one hand and a major road axis on the other hand. In the marine environment, coastal areas close to estuaries or rivers are subject to periodic anthropogenic contamination by TME. Previous studies have highlighted the importance of the FERTIAL industrial complex in the emission of various discharges into the atmosphere and water of the Annaba Gulf (Belabed et al., 2008). In addition, Cu and Zn have been detected in sediments of the same Gulf (Abdennour et al., 2010; Belabed et al., 2013b, 2017; Boutabia-Trea et al., 2017) and in lake Tonga's surface sediments (Messida Wadi is the Tonga lake's connection with the Mediterranean Sea) (Belabed et al., 2013a). The low levels found at site 1 could be explained by the remoteness of this site from the major sources of contamination.

To authorize the consumption of these edible organisms, international legislations of regulatory agencies have fixed the maximum allowable concentrations of some TME as follows: for the United States Environmental Protection Agency (USA EPA) Cu $20 \mu\text{g g}^{-1}$ wet weight and Zn $30 \mu\text{g g}^{-1}$ wet weight; and for the Food and Agriculture Organisation of the United Nations (FAO) Cu $30 \mu\text{g g}^{-1}$ wet weight and Zn $50 \mu\text{g g}^{-1}$ wet weight (Lavradas et al., 2016). By comparing the average concentrations of TME measured in our species with the sanitary thresholds tolerated, it appears that the Cu and Zn levels constitute a danger to consumers, since they are higher than the recommended maximum allowable doses. This bioaccumulation is likely to affect the physiological processes of this gastropod, which has been demonstrated in bivalves (Merzouki et al., 2009).

4.4. PCA and HAC

Axis 1 explains a clear difference between the group consisting of two sites 1 and 2, which represent the El Kala coastline, and that

of site 3 representing the Annaba Gulf, which is characterized by high rates of MDA, Cr.e, CuDG, Nitri, Oxy and Sal, and lower levels of ZnDG, GSH and Zn.e compared to other sites.

Axis 2 allowed us to identify the specificity of site 2 compared to other sites because it is characterized by lower rates in Cond, Sal, Cu.e and Zn.e, and higher rates in T and GST compared to other sites. Moreover, axis 2 highlighted a seasonal pattern that distinguishes between the spring-summer group and the autumn-winter group. It can be concluded that axis 1 differentiates the sites and axis 2 differentiates the seasons.

In general, the typology of the dendrogram obtained by the HAC agrees with our results regarding the spatiotemporal variation in the measured parameters. The induction of GSH-dependent detoxification pathways and increased lipid peroxidation were more marked during spring at site 3, which represents the Annaba Gulf. Indeed, according to several works cited above, metal pollution is relatively high in water and sediments in this Gulf, particularly during this period.

5. Conclusion

This work provides an example of antioxidant multibiomarkers potentiality, emphasizing the importance of setting how the seasonality affects the antioxidant status of the gastropod *S. haemastoma*. A global analysis of *S. haemastoma* responses of a parameters battery reflects a discrimination of sites. The interpretation of these responses in an environmental context is very complex taking into account all possible causes. Biomarkers responses could be allocated to differences in both pollution levels and seasonal variability. It could be concluded that there were direct or indirect effects of climatic conditions and/or other seasonal exogenous and endogenous factors on the variation in the measured parameters. Change of season means change of the whole complex of these factors. It has also been shown that TME founded in water and the digestive gland of *S. haemastoma* are significant and clearly reflect the pollution levels in both coasts. This first study in the area confirm that variations of antioxidant parameters could be used as prospective biomarkers of toxicity in environmental monitoring programs; and demonstrate that *S. haemastoma* is a useful tool in biomonitoring of aquatic pollution and can be employed as a sentinel species. Referring to international guideline values the concentration levels detected in our samples indicate significant contamination by TME, so *S. haemastoma* can be considered as contaminated and seems to have an ability to accumulate TME. Finally to better understand the direct effect of these pollutants, this work needs more detailed studies *in vivo* (experimental data).

Acknowledgments

This study was supported by Directorate General for Scientific Research and Technological Development (DGRSDT).

References

- Abbassi, M., Banaoui, A., Kaaya, A., Elkhoul, A., Nadir, M., Lefrere, L., 2015. Biomarker approach to the assessment of the health status of Moroccan marine ecosystems: preliminary study in Sidi Ifni coast (South of Morocco). *J. Mater. Environ. Sci.* 6, 3086–3093.
- 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. *Bull. INSTM* 8, 123–126.
- Abdennour, C., Smith, B.D., Boulakoud, M.S., Samraoui, B., Rainbow, P.S., 2000. Trace metals in shrimps and sediments from Algerian water. *J. Catalog. Mater. Environ.* 3, 9–12.
- Abdennour, C., Drif, F., Boulakoud, M.S., Ounissi, M., 2010. Trace metals in the mussel *Donax trunculus* of Annaba estuaries, Algeria. *Oceanography* 1, 15–20.
- Almamoori, A.M.J., Salman, J.M., Hughes, R., Al-Saadi, A.A.H., 2013. Biochemical

- changes in two species of molluscs as environmental biomarkers of pollution in Hilla river, Iraq. *I.J.S.N.* 4, 40–43.
- Amiard-Triquet, C., 2009. Behavioural disturbances: the missing link between sub-organismal and supra-organismal responses to stress? Prospects based on aquatic research. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 15, 87–110.
- Amiard-Triquet, C., Berthe, T., Créach, A., Denis, F., Dourou, C., Gévaert, F., Mouneyrac, C., Ramond, J.B., Petit, F., 2009. Tolerance in organisms chronically exposed to estuarine pollution. In: Amiard-Triquet, C., Rainbow, P.S. (Eds.), *Environmental Assessment of Estuarine Ecosystems, a Case Study*. CRC Press/Taylor and Francis Group, pp. 135–157.
- Aminot, A., Kérouel, R., 2004a. Nutriments minéraux dissous (nitrite, nitrate, ammonium, phosphate, silicate). In: Aminot, A., Kérouel, R. (Eds.), *Hydrobiologie des écosystèmes marins : paramètres et analyses*. Edition Ifremer, Brest, pp. 217–283.
- Aminot, A., Kérouel, R., 2004b. Caractéristiques physicochimiques majeures. In: Aminot, A., Kérouel, R. (Eds.), *Hydrobiologie des écosystèmes marins : paramètres et analyses*. Edition Ifremer, Brest, p. 41, 37.
- Amira, A., Sifi, K., Soltani, N., 2011. Measure of environmental stress biomarkers in *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba (Algeria). *Eur. J. Exp. Biol.* 1, 7–16.
- Amri, S., Bensouilah, M., Ouaili, K., 2017a. Variation of the condition index and sex-ratio of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in the Southeast Mediterranean. *J. Biol. Sci.* 17, 76–83.
- Amri, S., Samar, M.F., Sellem, F., Ouaili, K., 2017b. Seasonal antioxidant responses in the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck 1816) used as a bioindicator of the environmental contamination in the South-East Mediterranean. *Mar. Pollut. Bull.* 122, 392–402.
- Balbi, T., Fabbri, R., Montagna, M., Camisassi, G., Canesi, L., 2017. Seasonal variability of different biomarkers in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) farmed at different sites of the Gulf of La Spezia, Ligurian sea, Italy. *Mar. Pollut. Bull.* 116, 348–356.
- Bankaji, I., Çağador, I., Sleimi, N., 2016. Assessing of tolerance to metallic and saline stresses in the halophyte *Suaeda frutescens*: the indicator role of antioxidative enzymes. *Ecol. Indic.* 64, 297–308.
- Banni, M., Dondero, F., Jebali, J., Guerbej, H., Boussetta, H., Viarengo, A., 2007. Assessment of heavy metal contamination using real-time PCR analysis of mussel metallothionein mt10 and mt20 expression: a validation along the Tunisian coast. *Biomarkers* 12, 369–383.
- Banni, M., Bouraoui, Z., Ghedira, J., Clearandeanu, C., Jebali, J., Boussetta, H., 2009. Seasonal variation of oxidative stress biomarkers in clams *Ruditapes decussatus* sampled from Tunisian coastal areas. *Environ. Monit. Assess.* 155, 119–128.
- Barda, L., Purina, I., Rimsa, E., Balode, M., 2014. Seasonal dynamics of biomarkers in infaunal clam *Macoma balthica* from the Gulf of Riga (Baltic sea). *J. Mar. Syst.* 129, 150–156.
- Barhoumi, B., Le Menach, K., Clérandeanu, C., Ben Ameur, W., Budzinski, H., Driss, M.R., Cachot, J., 2014. Assessment of pollution in the Bizerte lagoon (Tunisia) by the combined use of chemical and biochemical markers in mussels, *Mytilus galloprovincialis*. *Mar. Pollut. Bull.* 84, 379–390.
- Belabed, B.E., Djabourabi, A., Bensouilah, M., 2008. Teneurs en Plomb, Cadmium, Mercure et Zinc relevées dans la chair de la moule, *Perna perna*, dans le littoral d'Annaba. *Revue Synthèse des sciences et de la technologie de l'université Badji Mokhtar-Annaba* 18, 12–22.
- Belabed, B.E., 2010. La pollution par les métaux lourds dans la région d'Annaba « Sources de contamination des écosystèmes aquatiques ». Doctoral thesis. University of Badji Mokhtar (Annaba), Algeria.
- Belabed, B.E., Frossar, V., Dhihi, A., Turki, S., Aleya, L., 2013a. What factors determine trace metal contamination in Lake Tonga (Algeria)? *Environ. Monit. Assess.* <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3300-6>.
- Belabed, B.E., Laffray, X., Dhihi, A., Fertouna-Belakhal, M., Turki, S., Aleya, L., 2013b. Factors contributing to heavy metal accumulation in sediments and in the intertidal mussel *Perna perna* in the Gulf of Annaba (Algeria). *Mar. Pollut. Bull.* 74, 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. *Environ. Monit. Assess.* 189, 265. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-5968-5>.
- Beldi, H., Gimbert, F., Maas, S., Scheffler, R., Soltani, N., 2006. Seasonal variations of Cd, Cu, Pb, and Zn in the edible mollusc *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from gulf of Annaba, Algeria. *Afr. J. Agric. Res.* 1, 85–90.
- Beldi, H., 2007. Etude de *Gambusia affinis* (Poisson, Téléostéen) et *Donax trunculus* (Mollusque, Pélécyopode) : Ecologie, physiologie et impact de quelques altérégènes. Doctoral thesis. University of Badji Mokhtar (Annaba), Algeria.
- Belhaouari, B., Rouane-Hacene, O., Bouhadiba, S., Boutiba, Z., 2011. Utilisation d'un Gastéropode marin *Osilinus turbinatus* en biosurveillance marine : application aux métaux lourds du littoral algérien Occidental. *J. Sci. Hal. Aquat.* 3, 89–96.
- 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. *Mar. Pollut. Bull.* 95, 385–394.
- Benhalima, L., Bensouilah, M., Ouzrout, R., 2015. Antibiotic-resistant bacteria isolated from waters of Messida coastal canal within an agricultural area (North-East Algeria). *Adv. Environ. Biol.* 9, 147–156.
- Bensouda, L., Soltani-Mazouni, N., 2014. Measure of oxidative stress and neuro-toxicity biomarkers in *Donax trunculus* from the Gulf of Annaba (Algeria): case of the year 2012. *Annu. Res. Rev. Biol.* 4, 1902–1914.
- Bensouda-Talbi, L., 2015. Etude biochimique, enzymologique et cytologique chez *Donax trunculus* : rapport avec le cycle biologique et la pollution dans le golfe de Annaba. Doctoral thesis. University of Badji Mokhtar (Annaba), Algeria.
- Bergayou, H., Mouneyrac, C., Pellerin, J., Moukrim, A., 2009. Oxidative stress responses in bivalves (*Scrobicularia plana*, *Cerastoderma edule*) from the Oued Souss estuary (Morocco). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72, 765–769.
- Borvinskaya, E.V., Sukhovskaya, I.V., Kochneva, A.A., Vasilyeva, O.B., Nazarova, M.A., Smirnov, L.P., Nemova, N.N., 2016. Seasonal variability of some biochemical parameters in the whitefish (*Coregonus muksun* and *Coregonus lavaretus*). *Contemp. Probl. Ecol.* 9, 195–202.
- Boucetta, S., Beldi, H., Draredja, B., 2016a. Effects of metal pollution on the activities of acetylcholinesterase and glutathione -S transferase in *Phorcus (Osilinus) turbinatus* (Gastropoda, Trochidae) of the coast east Algerian. *Adv. Environ. Biol.* 10, 46–60.
- Boucetta, S., Beldi, H., Draredja, B., 2016b. Seasonal variation of heavy metals in *Phorcus (Osilinus) turbinatus* (gastropod, Trochidae) in the eastern Algerian coast. *Glob. Vet.* 17, 25–41.
- Bougherira, N., Hani, A., Djabri, L., Chouchane, S., 2015. Assessment of contaminant migration in groundwater from an industrial development area, Annaba District NE Algeria. *Eng. Geol. Soc. Territ.* https://doi.org/10.1007/978-3-319-09054-2_80.
- Boulajfene, W., Stroglyoudi, E., Catsiki, V.A., El Mlayah, A., Tlig-Zouari, S., 2017. Bio-monitoring of metal impact on metallothionein levels in the gastropod *Phorcus turbinatus* (Born, 1778) in the northeastern and the eastern coasts of Tunisia. *Mar. Pollut. Bull.* 120, 274–285.
- Boutabia-Trea, S., Habbachi, W., Bensouilah, M., 2015. Evaluation of the metallic contamination level in the gulf of Annaba (northeastern Algeria) using a *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Adv. Environ. Biol.* 9, 75–81.
- Boutabia-Trea, S., 2016. *Posidonia oceanica* (L.) Delile, bioindicateur de la pollution métallique du golfe d'Annaba (Nord-Est Algérie). Doctoral Thesis: plant biology. University of Badji Mokhtar (Annaba), Algeria.
- Boutabia-Trea, S., Habbachi, W., Bensouilah, M., 2017. Assessment of metallic trace elements using the Seagrass *Posidonia oceanica* and the surface sediment from North Eastern of Algeria. *Asian J. Biol. Sci.* 10, 17–26.
- Bouzenda, R., Soltani, N., Khebbab, 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*. *J. Entomol. Zool. Stud.* 5, 366–372.
- Box, A., Sureda, A., Galgani, F., Pons, A., Deudero, S., 2007. Assessment of environmental pollution at Balearic Islands applying oxidative stress biomarkers in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Comp. Biochem. Physiol. Part C* 146, 531–539.
- Braghirolli, F.M., Oliveira, M.R., Oliveira, G.T., 2016. Seasonal variability of metabolic markers and oxidative balance in freshwater amphipod *Hyalella Katingang* (Crustacea, Amphipoda). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 130, 177–184.
- Bremond, R., Perrodon, C., 1979. Paramètres de la qualité des eaux. 2^{ème} édition du ministère de l'environnement et cadre de vie. France, p. 259.
- Calamari, D., Naeve, H., 1994. Revue de la pollution dans l'environnement aquatique africain. Document technique de CPCA 25. FAO, Rome, p. 42.
- Chandurvelan, R., Marsden, I.D., Glover, C.N., Gaw, S., 2015. Assessment of a mussel as a metal bioindicator of coastal contamination: relationships between metal bioaccumulation and multiple biomarker responses. *Sci. Total Environ.* 511, 663–675.
- Chaoui, W., Bousnoubra, H., Chaoui, K., 2013. Etude de la vulnérabilité à la pollution des eaux superficielles et souterraines de la région de Bouchehouf (Nord-Est Algérie). *Nat. Technol. C* 8, 33–40.
- Chiavarini, S.P., Massaniso, P., Nicolai, P., Nobili, C., Morabito, R., 2003. Butyltins concentration levels and imposex occurrence in snails from the Sicilian coasts (Italy). *Chemosphere* 50, 311–319.
- Chiffolleau, J.F., Auger, D., Chartier, E., Michel, P., Truquet, I., Ficht, A., Gonzalez, J.L., Romana, L.A., 2001. Spatiotemporal changes in cadmium contamination in the Seine estuary (France). *Estuaries* 24, 1029–1040.
- Choi, C.Y., An, K.W., Nelson, E.R., Habibi, H.R., 2007. Cadmium affects the expression of metallothionein (MT) and glutathione peroxidase (GFX) mRNA in goldfish, *Carassius auratus*. *Comp. Biochem. Physiol. Part C* 145, 595–600.
- Choi, Y.K., Jo, P.G., Choi, C.Y., 2008. Cadmium affects the expression of heat shock protein 90 and metallothionein mRNA in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Comp. Biochem. Physiol. Part C* 147, 286–292.
- Company, R., Serafim, A., Cosson, R.P., Fiala-Médioni, A., Camus, L., Colaço, A., Serrão-Santos, R., Bebianno, M.J., 2008. Antioxidant biochemical responses to long-term copper exposure in *Bathymodiolus azoricus* from Menez-Gwen hydrothermal vent. *Sci. Total Environ.* 389, 407–417.
- Cunha, I., Garcia, L.M., Guilhermino, L., 2005. Sea-urchin (*Paracentrotus lividus*) glutathione S-transferases and cholinesterase activities as biomarkers of environmental contamination. *J. Environ. Monit.* 7, 288–294.
- 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*). *Comp. Biochem. Physiol. Part C* 145, 648–657.
- De Montaudouin, X., Pau-Pont, I., Lambert, C., Gonzalez, P., Raymond, N., Jude, F., Legeay, A., Baudrimont, M., Dang, C., Le Grand, F., Le Goïc, N., Bourasseau, L., Paillard, C., 2010. Bivalve population health: multistress to identify hot spots. *Mar. Pollut. Bull.* 60, 1307–1318.
- Del Rio, D., Stewart, A.J., Pellegrini, N., 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr. Metab. Cardiovasc Dis* 15, 316–328.

- Duarte, C.A., Giarratano, E., Amin, O.A., Comoglio, L.J., 2011. Heavy metal concentrations and biomarkers of oxidative stress in native mussels (*Mytilus edulis chilensis*) from Beagle Channel coast (Tierra del Fuego, Argentina). *Mar. Pollut. Bull.* 62, 1895–1904.
- El Jourmi, L., Amine, A., Boutaleb, N., Lazar, S., El Antri, S., 2012. Multiple biomarker response in the mussel, *Perna perna* to assess the marine quality in the big Casablanca area. *St. Cerc. St. CIBIA* 13, 377–386.
- El Jourmi, L., Amine, A., Boutaleb, N., Abouakil, N., Lazar, S., El Antri, S., 2014. Multimarker approach analysis in the brown mussel to evaluate the anthropogenic stress: a preliminary study. *J. Mater. Environ. Sci.* 5, 1326–1331.
- El Jourmi, L., Amine, A., Boutaleb, N., Abouakil, N., Lazar, S., El Antri, S., 2015. The use of biomarkers (catalase and malondialdehyde) in marine pollution monitoring: spatial variability. *J. Mater. Environ. Sci.* 6, 1592–1595.
- El Morhit, M., Fekhaoui, M., Serghini, A., El Blidi, S., El Abidi, A., Bennaakam, R., Yahyaoui, A., Jbilou, M., 2008. Impact de l'aménagement hydraulique sur la qualité des eaux et des sédiments de l'estuaire du Loukos (côte atlantique, Maroc). *Bull. Inst. Sci. Rabat. Sect. Sci. de la Terre* 30, 39–47.
- El Mortaji, H., Elkhiahi, N., Benhra, A., El Haimeur, B., Bouhallaoui, M., Benbrahim, S., Kabine, M., Ramdani, M., 2011. Imposax in *Stramonita haemastoma* (Gastropoda: Muricidae) along the Atlantic and Mediterranean coasts of Morocco. *Bull. Inst. Sci. Rabat. Sect. Sci. de la Vie* 33, 13–18.
- Falfushynska, H.I., Delahaut, L., Stolyar, O.B., Geffard, A., Biagianti-Risbourg, S., 2009. Multi-Biomarkers approach in different organs of *Anodonta cygnea* from the Dniester Basin (Ukraine). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 57, 86–95.
- Fernández, B., Campillo, J.A., Martínez-Gómez, C., Benedicto, J., 2010. Antioxidant responses in gills of mussel (*Mytilus galloprovincialis*) as biomarkers of environmental stress along the Spanish Mediterranean coast. *Aquat. Toxicol.* 99, 186–197.
- Figueira, E., Branco, D., Antunes, S.C., Gonçalves, F., Freitas, R., 2012a. Are metallothioneins equally good biomarkers of metal and oxidative stress? *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 84, 185–190.
- Figueira, E., Cardoso, P., Freitas, R., 2012b. *Ruditapes decussatus* and *Ruditapes philippinarum* exposed to cadmium: toxicological effects and bioaccumulation patterns. *Comp. Biochem. Physiol. Part C* 156, 80–86.
- Fossi Tankoua, O., Buffet, P.E., Amiard, J.C., Berthet, B., Mouneyrac, C., Amiard-triquet, C., 2013. Integrated assessment of estuarine sediment quality based on a multi-biomarker approach in the bivalve *Scrobicularia plana*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 88, 117–125.
- Freitas, R., Costa, E., Velez, C., Santos, J., Lima, A., Oliveira, C., Maria Rodrigues, A., Quintino, V., Figueira, E., 2012a. Looking for suitable biomarkers in benthic macroinvertebrates inhabiting coastal areas with low metal contamination: comparison between the bivalve *Cerastoderma edule* and the polychaete *Diopatra neapolitana*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 75, 109–118.
- Freitas, R., Pires, A., Quintino, V., Rodrigues, A.M., Figueira, E., 2012b. Subcellular partitioning of elements and availability for trophic transfer: comparison between the bivalve *Cerastoderma edule* and the polychaete *Diopatra neapolitana*. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 99, 21–30.
- Giarratano, E., Duarte, C.A., Amin, O.A., 2010. Biomarkers and heavy metal bioaccumulation in mussels transplanted to coastal waters of the Beagle Channel. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 73, 270–279.
- Giarratano, E., Gil, M.N., Malanga, G., 2011. Seasonal and pollution-induced variations in biomarkers of transplanted mussels within the Beagle Channel. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 1337–1344.
- Giarratano, E., Gil, M.N., Malanga, G., 2013. Assessment of antioxidant responses and trace metal accumulation by digestive gland of ribbed mussel *Aulacomyza atra atra* from northern Patagonia. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 92, 39–50.
- Giguère, A.Y., Couillard, Y., Campbell, P.G.C., Perceval, O., Hare, L., Pinel-Alloul, B., Pellerin, J., 2003. Steady-state distribution of metals among metallothionein and other cytosolic ligands and links to cytotoxicity in bivalves living along a polymetallic gradient. *Aquat. Toxicol.* 64, 185–200.
- Gismondi, E., Beisel, J.N., Cossu-Leguille, C., 2012. Influence of gender and season on reduced glutathione concentration and energy reserves of *Gammarus roeselii*. *Environ. Res.* 118, 47–52.
- González-Fernández, C., Albentosa, M., Campillo, J.A., Viñas, L., Romero, D., Franco, A., Bellas, J., 2015. Effect of nutritive status on *Mytilus galloprovincialis* pollution biomarkers: implications for large-scale monitoring programs. *Aquat. Toxicol.* 167, 90–105.
- Gorbi, S., Virno Lamberti, C., Notti, A., Benedetti, M., Fattorini, D., Molledo, G., Regoli, F., 2008. An ecotoxicological protocol with caged mussels, *Mytilus galloprovincialis*, for monitoring the impact of an offshore platform in the Adriatic Sea. *Mar. Environ. Res.* 65, 34–49.
- Guemouda, M., Meghlaoui, Z., Daas, T., Daas-Maamcha, O., Scaps, P., 2014. Monitoring pollution in East Algerian coasts using biochemical markers in the polychaete annelid *Perinereis cultrifera*. *Ann. Biol. Res.* 5, 31–40.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jacobi, W.B., 1974. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249, 7130–7139.
- Hadjadji, I., Frelh, 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 Biol.* 337, 117–122.
- Howarth, R.W., Marino, R., 2006. Nitrogen as the limiting nutrient for eutrophication in coastal marine ecosystems: evolving views over three decades. *Limnol. Oceanogr.* 51, 364–376.
- Husson, F., Josse, J., 2014. In: Multiple Correspondence Analysis. In the Visualization and Verbalization of Data. Greenacre and Blasius, Chapman and Hall.
- Ihaka, R., Gentleman, R., 1996. R: a language for data analysis and graphics. *J. Comput. Graph Stat.* 5, 299–314.
- Jarque, S., Prats, E., Olivares, A., Casado, M., Ramón, M., Piña, B., 2014. Seasonal variations of gene expression biomarkers in *Mytilus galloprovincialis* cultured populations: temperature, oxidative stress and reproductive cycle as major modulators. *Sci. Total Environ.* 499, 363–372.
- Jebali, J., Banni, M., De Almeida, E.A., Boussetta, H., 2007. Oxidative DNA damage levels and catalase activity in the clam *Ruditapes decussatus* as pollution biomarkers of Tunisian marine environment. *Environ. Monit. Assess.* 124, 195–200.
- Joseficzak, M., Remans, T., Vangronsveld, J., Cuypers, A., 2012. Glutathione is a key player in metal-induced oxidative stress defenses. *Int. J. Mol. Sci.* 13, 3145–3175.
- Kadri, S., Dahel, A., Djebbari, N., Barour, C., Bensouilah, M., 2015. Environmental parameters influence on the bacteriological water quality of the Algerian North East coast. *Adv. Environ. Biol.* 9, 180–189.
- Kamel, N., 2014. Effets combinés des facteurs environnementaux et des polluants chimiques chez la moule *Mytilus galloprovincialis*: Harmonisation des biomarqueurs d'exposition suivant les recommandations OSPAR et MEDPOL. Doctoral thesis. University of Nantes.
- Kamel, N., Burgeot, T., Banni, M., Chalhaf, M., Devin, S., Minier, C., Boussetta, H., 2014. Effects of increasing temperatures on biomarker responses and accumulation of hazardous substances in rope mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from Bizerte lagoon. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 6108–6123.
- Keblouti, K., Ouerdachi, K., Berhail, S., 2015. The use of weather radar for rainfall-runoff modeling, case of Seybouse watershed (Algeria). *Arab. J. Geosci.* 8, 1–11.
- Khat, W., Ouali, K., Bensouilah, M., Gnassia-Barelli, M., Roméo, M., 2007. Effet du cadmium sur certains biomarqueurs de stress chez la moule *Perna perna* du golfe d'Annaba (Algérie). *Mesogée* 63, 51–57.
- Khat, W., Ouali, K., Mouneyrac, C., Banaoui, A., 2012. Metallothioneins in aquatic invertebrates: their role in metal detoxification and their use in biomonitoring. *Energy Proced.* 18, 784–794.
- Khebbab, M.E.H., Nadji, S., Amrani, A., 2010. The effect of cadmium exposure on malondialdehyde and reduced glutathione concentrations in several tissues of a bivalve mollusc (*Ruditapes decussatus*) fished from Mellah lagoon (North East of Algeria). *Ann. Biol. Res.* 1, 166–173.
- Khelifi-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. *J. F. A. E.* 4, 340–346.
- Ladhar-Chaabouni, R., Machreki-Ajmi, M., Hamza-Chaffai, A., 2009a. Spatial distribution of cadmium and some biomarkers in *Cerastoderma glaucum* living in a polluted area. *Mar. Biol. Res.* 5, 478–486.
- Ladhar-Chaabouni, R., Smaoui-Damak, W., Hamza-Chaffai, A., 2009b. In vivo variation of some biomarkers with time and cadmium concentration in the cockle *Cerastoderma glaucum*. *Mar. Biol. Res.* 5, 487–495.
- Lahbib, Y., Abidli, S., Trigui, E., Menif, N., 2011. Spawning and intracapsular development of *Stramonita haemastoma haemastoma* (Gastropoda: Muricidae) collected in northern Tunisia. *Mar. Biol. Res.* 7, 719–726.
- Lam, P.K.S., 2009. Use of biomarkers in environmental monitoring. *Ocean Coast Manag.* 52, 348–354.
- Lau, P.S., Wong, H.L., Garrigues, P.H., 2004. Seasonal variation in antioxidative responses and acetylcholinesterase activity in *Perna viridis* in eastern oceanic and western estuarine waters of Hong Kong. *Coast. Shelf Res.* 24, 1969–1987.
- Lavarias, S., García, C., Crespo, R., Pedrini, N., Heras, H., 2013. Study of biochemical biomarkers in freshwater prawn *Macrobrachium borellii* (Crustacea: Palaemonidae) exposed to organophosphate fenitrothion. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 96, 10–16.
- Lavradas, R.T., Rocha, R.C.C., Bordon, L.C.A.C., Saint Pierre, T.D., Godoy, J.M., Hauser-Davis, R.A., 2016. Differential metallothionein, reduced glutathione and metal levels in *Perna perna* mussels in two environmentally impacted tropical bays in southeastern Brazil. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 129, 75–84.
- Lemghich, I., Benajiba, M.H., 2007. Survey of imposax in prosobranch molluscs along the northern Mediterranean coast of Morocco. *Ecol. Indic.* 7, 209–214.
- Louiz, I., Ben Hassine, O.K., Palluel, O., Ben-Attia, M., Ait-Aïssa, S., 2016. Spatial and temporal variation of biochemical biomarkers in *Gobius Niger* (Gobiidae) from a southern Mediterranean lagoon (Bizerte lagoon, Tunisia): influence of biotic and abiotic factors. *Mar. Pollut. Bull.* 107, 305–314.
- Lykkesfeldt, J., 2007. Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. *Clin. Chim. Acta* 380, 50–58.
- Machreki-Ajmi, M., Ketata, I., Ladhar-Chaabouni, R., Hamza-Chaffai, A., 2008. The effect of in situ cadmium contamination on some biomarkers in *Cerastoderma glaucum*. *Ecotoxicology* 17, 1–11.
- Mebariki, R., Khebbab, M.E.H., Soltani, N., 2015. Biomonitoring of El Mellah lagoon (Northeast, Algeria): seasonal variation of biomarkers in *Cerastoderma glaucum* (mollusc, Bivalvia). *J. Entomol. Zool. Stud.* 3, 408–413.
- Mejdoub, Z., Fahd, A., Loutfi, M., Kabine, M., 2017. Oxidative stress responses of the mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to emissary's pollution in coastal areas of Casablanca. *Ocean Coast Manag.* 136, 95–103.
- Merzouki, M., Talib, N., Sif, J., 2009. Indice de condition et teneurs de quelques métaux (Cu, Cd, Zn et Hg) dans les organes de la moule *Mytilus galloprovincialis* de la côte d'El Jadida (Maroc) en mai et juin 2004. *Bull. Inst. Sci. Rabat. Sect. Sci. de la Vie* 31, 21–26.
- Moore, M.N., Lowe, D., Köhler, A., 2004. Biological effects of contaminants: measurement of lysosomal membrane stability. *ICES Tech. Mar. Environ. Sci.* 36, 31.
- Nahrgang, J., Brooks, S.J., Evensen, A., Camus, L., Johsson, M., Smith, T.J., Lukina, J., Frantzen, M., Giarratano, E., Renaud, P.E., 2013. Seasonal variation in biomarkers in blue mussel (*Mytilus edulis*), Icelandic scallop (*Chlamys islandica*) and Atlantic

- cod (*Gadus morhua*)- Implications for environmental monitoring in the Barents sea. *Aquat. Toxicol.* 127, 21–35.
- Nassali, H., Ben Bouh, H., Srhiri, A., Dhahbi, M., 2005. Influence des rejets des eaux usées sur la composition des eaux de surface et des sédiments superficiels du lac Merja Fouarate au Maroc. *Afr. Sci.* 1, 145–165.
- Neal, C., Neal, M., Wickham, H., Harrow, M., 2000. The water quality of a tributary of the Thames, the Pang, southern England. *Sci. Total Environ.* 251–252, 459–475.
- Ounissi, M., Khelifi-Touhami, M., 1999. Le Zooplancton du plateau continental d'El-Kala (Méditerranée sud-occidentale): composition et abondance en mai 1996. *J. Rech. Océanogr.* 24, 5–11.
- Ounissi, M., Ziouch, O.R., Aounallah, O., 2014. Variability of the dissolved nutrient (N, P, Si) concentrations in the bay of Annaba in relation to the inputs of the Seybouse and Mafragh estuaries. *Mar. Pollut. Bull.* 80, 234–244.
- Paul-Pont, I., Gonzalez, P., Baudrimont, M., Nili, H., de Montaudouin, X., 2010a. Short-term metallothionein inductions in the edible cockle *Cerastoderma edule* after cadmium or mercury exposure: discrepancy between mRNA and protein responses. *Aquat. Toxicol.* 97, 260–267.
- Paul-Pont, I., Gonzalez, P., Baudrimont, M., Jude, F., Raymond, N., Bourasseau, L., Le Goïc, N., Haynes, F., Legeay, A., Paillard, C., de Montaudouin, X., 2010b. Interactive effects of metal contamination and pathogenic organisms on the marine bivalve *Cerastoderma edule*. *Mar. Pollut. Bull.* 60, 515–525.
- R Core Team, 2014. *A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria*. <http://www.r-project.org/>.
- Rabaoui, L., Balti, R., Zrelli, R., Tlig-Zouari, S., 2013. Assessment of heavy metals pollution in the gulf of Gabes (Tunisia) using four mollusk species. *Mediterr. Mar. Sci.* 15, 45–58.
- Richardson, B.J., Mak, E., De Luca-Abbott, S.B., Martin, M., McClellan, K., Lam, P.K., 2008. Antioxidant responses to polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in green-lipped mussels (*Perna viridis*): do mussels “integrate” biomarker responses? *Mar. Pollut. Bull.* 57, 503–514.
- Ringwood, A.H., Hoguet, J., Keppler, C., Gielazyn, M., 2004. Linkages between cellular biomarker responses and reproductive success in oysters *Crassostrea virginica*. *Mar. Environ. Res.* 58, 151–155.
- Rodier, J., Bazin, C., Broutin, J.P., Champsaur, H., Rodi, L., 2005. L'analyse de l'eau. Eaux naturelles. Eaux résiduaires. Eau de mer, 8ème Ed. DUNOD, Paris, p. 1383.
- Rouane-Hacène, O., Boutba, Z., Belhaoui, B., Guibolini-Sabatier, M.E., Francour, P., Risse-de Favorny, 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, 362–374.
- Saavedra, Y., Gonzalez, A., Fernandez, P., Blanco, J., 2004. The effect of the size on trace metal levels in raft cultivated mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Sci. Total Environ.* 318, 115–124.
- Sáenz, I.A., Seibert, E.L., Zanette, J., Fiedler, H.D., Curtius, A.J., Ferreira, J.F., De Almeida, E.A., Marques, M.R.F., Bainy, A.C.D., 2010. Biochemicals biomarkers and metals in *Perna perna* mussels from mariculture zones of Santa Catarina, Brazil. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 73, 796–804.
- Saint-Denis, M., Labrot, F., Narbonne, J.F., Ribera, D., 1998. Glutathione, glutathione-related enzymes and catalase activities in the earthworm *Eisenia fetida andrei*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 35, 602–614.
- Santovito, G., Boldrin, F., Irato, P., 2015. Metal and metallothionein distribution in different tissues of the Mediterranean clam *Venerupis philippinarum* during copper treatment and detoxification. *Comp. Biochem. Physiol. Part C* 174–175, 46–53.
- Schmidt, W., O'Shea, T., Quinn, B., 2012. The effect of shore location on biomarker expression in wild *Mytilus* spp. and its comparison with long line cultivated mussels. *Mar. Environ. Res.* 80, 70–76.
- Schmidt, W., Power, E., Quinn, B., 2013. Seasonal variations of biomarker responses in the marine blue mussel (*Mytilus* spp.). *Mar. Pollut. Bull.* 74, 50–55.
- Semadi, A., Deruelle, S., 1993. Lead pollution monitoring by transplanted lichens in Annaba area (Algeria). *Rev. Pollut. Atmos.* 35, 86–102.
- Sensi, S.L., Jeng, J.M., 2004. Rethinking the excitotoxic ionic milieu: the emerging role of Zn^{2+} in ischemic neuronal injury. *Curr. Mol. Med.* 4, 87–111.
- Serafim, A., Bebianno, M.J., 2010. Effect of a polymetallic mixture on metal accumulation and metallothionein response in the clam *Ruditapes decussatus*. *Aquat. Toxicol.* 99, 370–378.
- Sifi, K., Chouahda, S., Soltani, N., 2007. Biosurveillance de l'environnement par la mesure de biomarqueurs chez *Donax trunculus* dans le golfe d'Annaba (Algérie). *Mesogee* 63, 11–18.
- Sifi, K., Amira, A., Soltani, N., 2013. Oxidative stress and biochemical composition in *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba (Algeria). *Adv. Environ. Biol.* 7, 595–604.
- Sobrinho-Figueroa, A.S., Cáceres-Martínez, C., Botello, A.V., Nunez-Nogueira, G., 2007. Effect of cadmium, chromium, lead and metal mixtures on survival and growth of juveniles of the scallop *Argopecten ventricosus* (Sowerby II, 1842). *J. Environ. Sci. Health Part A* 42, 1443–1447.
- Sokolowski, A., Bawazir, A.S., Wolowicz, M., 2004. The effect of seasonal cycle, weight and sex of individuals on trace metal concentrations in the brown mussel *Perna perna* from the coastal waters of Yemen (Gulf of Aden). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 46, 67–80.
- 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, 47–56.
- Strain, B., Rudolph, A., 2010. Acetylcholinesterase activity, antioxidant defenses, and lipid peroxidation in the dam *Semele solida*: can this species be used as a bioindicator? *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.* 45, 227–233.
- Tlili, S., Métais, I., Boussetta, H., Mouneyrac, C., 2010. Linking changes at sub-individual and population levels in *Donax trunculus*: assessment of marine stress. *Chemosphere* 81, 692–700.
- Uchiyama, M., Mihara, M., 1978. Determination of malondialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.* 86, 271–280.
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullos, M., 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 64, 178–189.
- Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 13, 57–149.
- Verlecar, X.N., Jena, K.B., Chainy, G.B., 2007. Biochemical markers of oxidative stress in *Perna viridis* exposed to mercury and temperature. *Chem. Biol. Interact.* 167, 219–226.
- Verlecar, X.N., Jena, K.B., Chainy, G.B., 2008. Seasonal variation of oxidative biomarkers in gills and digestive gland of green-lipped mussel *Perna viridis* from Arabian sea. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 76, 745–752.
- Viarengo, A., Ponzano, E., Dondero, F., Fabbri, R., 1997. A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: an application to Mediterranean and Antarctic molluscs. *Mar. Environ. Res.* 44, 69–84.
- Viarengo, A., Lowe, D., Bolognesi, C., Fabbri, E., Koehler, A., 2007. The use of biomarkers in biomonitoring: a 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comp. Biochem. Physiol. Part C* 146, 281–300.
- Vidal-Liñán, L., Bellas, J., Campillo, J.A., Beiras, R., 2010. Integrated use of antioxidant enzymes in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, for monitoring pollution in highly productive coastal areas of Galicia (NW Spain). *Chemosphere* 78, 265–272.
- Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullos, 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. *Mar. Pollut. Bull.* 54, 1361–1371.
- Wang, L., Yan, B., Liu, N., Li, Y., Wang, Q., 2008. Effects of cadmium on glutathione synthesis in hepatopancreas of freshwater crab, *Sinopotamon yangtsekiense*. *Chemosphere* 74, 51–56.
- Wang, Z., Yan, C., Vulpe, C.D., Yan, Y., Chi, Q., 2012. Incorporation of in situ exposure and biomarkers response in clams *Ruditapes philippinarum* for assessment of metal pollution in coastal areas from the Maluan Bay of China. *Mar. Pollut. Bull.* 64, 90–98.
- Weckbecker, G., Cory, J.G., 1988. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L 1210 cells in vitro. *Cancer Lett.* 40, 257–264.
- Yüzüeroğlu, T.A., Gök, G., Çoğun, H.Y., Fırat, Ö., Aslanyavrus, S., Marudal, O., Kargin, F., 2009. Heavy metals in *Patella caerulea* (Mollusca, Gastropoda) in polluted and non-polluted areas from the Iskenderun gulf (Mediterranean Turkey). *Environ. Monit. Assess.* 167, 257–264.
- Zanette, J., Almeida, E.A., da Silva, A.Z., Guzinski, J., Ferreira, J.F., Di Mascio, P., Freire Marques, M.R., Bainy, A.C.D., 2011. Salinity influences glutathione S-transferase activity and lipid peroxidation responses in the *Crassostrea gigas* oyster exposed to diesel oil. *Sci. Total Environ.* 409, 1976–1983.
- Ziouch, O.R., 2014. Nutrient Distribution in the Bay of Annaba under the Influence of the Seybouse and the Mafragh Estuaries Inputs (South-western Mediterranean). Doctoral Thesis: Coastal Environment. University of Badji Mokhtar (Annaba), Algeria.
- Zorita, I., Bilbao, E., Schad, A., Cancio, I., Soto, M., Cajarville, M.P., 2007. Tissue- and cell-specific expression of metallothionein genes in cadmium- and copper-exposed mussels analyzed by in situ hybridization and RT-PCR. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 220, 186–196.