

SOMMAIRE

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUCTION..... | 1 |
| 2. MATERIEL ET METHODES | 15 |
| 2.1.Origine de la mer Méditerranée | 15 |
| 2.2.Caractéristiques générales de la Mer Méditerrané..... | 15 |
| 2.3.Bathymétrie de la Méditerranée | 16 |
| 2.4.Circulation générale et masses d'eaux de la méditerranée | 17 |
| 2.5.Climat de la mer Méditerranée..... | 18 |
| 2.6.Les biocénoses marines en Méditerranée..... | 18 |
| 2.7.La biodiversité de la Mer Méditerranée..... | 19 |
| 2.8. Rôle et place des polychètes dans la Mer Méditerranée..... | 20 |
| 2.9.Les menaces sur le littoral méditerranéen..... | 22 |
| 2.10. Le littoral algérien..... | 22 |
| 2.11. Présentation des sites d'étude | 24 |
| 2.12. Méthode de récolte | 27 |
| 2.13. Inventaire et biodiversité | 28 |
| 2.14. Indices écologiques..... | 28 |
| 2.15. Impact de la pollution sur <i>Perinereis cultrifera</i>..... | 30 |
| 2.15.1. Paramètres physico-chimiques de l'eau de mer..... | 31 |
| 2.15.2. Les hydrocarbures totaux dans l'eau de mer..... | 33 |
| 2.15.3. Les bioindicateurs de pollution..... | 37 |
| 2.15.4. Dosage des biomarqueurs..... | 52 |
| 2.15.4.1. Les cholinestérases..... | 53 |
| 2.15.4.2. Activité des glutathion S-tranférases (GSTs)..... | 54 |
| 2.15.4.3. Activité Catalase (CAT)..... | 56 |
| 2.15.4.4. Dosage des protéines..... | 57 |

| | |
|---|-----------|
| 2.16. Analyse phylogénétique du complexe d'espèces jumelles <i>P. cultrifera</i> | 58 |
| 2.16.1. Les marqueurs génétiques | 58 |
| 2.16.2. Échantillonnage pour analyse moléculaire | 60 |
| 2.16.3. Préparation des échantillons de <i>P. cultrifera</i> avant l'extraction de l'ADN | 64 |
| 2.16.4. Extraction de l'ADN génomique | 64 |
| 2.16.5. PCR (Polymerase chain reaction) | 65 |
| 2.16.6. Electrophorèse sur gel d'agarose | 67 |
| 2.16.7. Séquençage automatique | 68 |
| 2.16.8. Outils d'analyses bioinformatiques | 69 |
| 2.17. Analyse statistique | 70 |
| 3. RESULTATS | 71 |
| 3.1. Inventaire et biodiversité | |
| 3.1.1. Annélides polychètes | 71 |
| 3.1.2. Faune associée | 75 |
| 3.1.3. Flore | 76 |
| 3.1.4. Indices écologiques | 78 |
| 3.1.5. Indice de diversité (H') et équitabilité | 87 |
| 3.2. Étude biochimique : Impact de la pollution sur <i>P. cultrifera</i> | 88 |
| 3.2.1. Évolution des paramètres physico-chimiques de l'eau | 88 |
| 3.2.1.1. Température..... | 88 |
| 3.2.1.2. pH | 89 |
| 3.2.1.3. Salinité | 90 |
| 3.2.1.4. Oxygène dissous..... | 91 |
| 3.2.1.5. DBO ₅ | 92 |

| | |
|---|------------|
| 3.2.2. Dosage des hydrocarbures totaux dans l'eau de mer..... | 93 |
| 3.2.2.1.Courbe d'étalonnage..... | 93 |
| 3.2.2.2.Concentration des hydrocarbures totaux dans l'eau de mer..... | 94 |
| 3.2.3. Les paramètres morphométriques..... | 95 |
| 3.2.3.1. Variation du poids frais..... | 95 |
| 3.2.3.2.Variation de la taille..... | 100 |
| 3.2.3.3.Variation du nombre de sétigères..... | 106 |
| 3.2.4. Variations mensuelles de l'activité des biomarqueurs au stress environnemental | |
| 3.2.4.1.Dosage des protéines..... | 111 |
| 3.2.4.2.Variations mensuelles de l'activité de l'AChE..... | 111 |
| 3.2.4.3. Variations mensuelles de l'activité de la GST..... | 117 |
| 3.2.4.4.Variations mensuelles de l'activité de la Catalase..... | 122 |
| 3.3.Analyse phylogénétique du complexe d'espèces jumelles de <i>P. cultrifera</i>..... | 127 |
| 3.3.1. Comparaison entre les poids des différents sites..... | 127 |
| 3.3.2. Résultats d'essais d'amplifications par PCR..... | 128 |
| 3.3.3. Alignement des séquences ITS chez <i>P. cultrifera</i>..... | 129 |
| 3.3.4. Alignement des séquences <i>Cyt-b</i> chez <i>P. cultrifera</i> | 129 |
| 4. DISCUSSION GENERALE..... | 134 |
| 5. CONCLUSION..... | 152 |
| 6. RESUME | 153 |
| 7. Références bibliographiques..... | 156 |

Annexe

LISTE DES FIGURES

| N° | Titre | Page |
|----|--|------|
| 1 | Relation entre la sensibilité et la pertinence écologique des biomarqueurs choisis à différents niveaux de l'organisation biologique (Huggett <i>et al.</i> , 1992). | 9 |
| 2 | Situation générale des bassins de la mer Méditerranée. (1) Détroits Ouest de l'Arc de Crète, (2) détroits Est de l'Arc de Crète, (3) Le Bassin de Rhodes, (4) le Bassin d'Antalya, (5) le Bassin Cilicien, (6) le Bassin de Lattaquié, (7) Les champs abyssaux d' <i>Herodotus</i> [in Alhammoud (2005)] | 16 |
| 3 | Bathymétrie de la Méditerranée (en mètres) (in Alhammoud, 2005). | 17 |
| 4 | Circulation superficielle en Méditerranée (Millot & Taupier-Letage, 2005) | 18 |
| 5 | Profils de diversité spécifique d'invertébrés benthiques en Méditerranée (Zenetos <i>et al.</i> , 2003, in Anonyme, 2006). | 20 |
| 6 | Distribution des espèces d'Annélides polychètes dans les différents bassins de la Méditerranée (Arvanitidis <i>et al.</i> , 2002, in Zaabi 2013). | 21 |
| 7 | Littoral algérien (in Grimes, 2010). | 23 |
| 8 | Localisation des sites d'échantillonnage sur le littoral Est Algérien (El-kala, Annaba et Skikda, Collo) (Meghlaoui, 2013). | 24 |
| 9 | Localisation de plage El-Mordjène (El-Kala). © map data 2015 Google. | 25 |
| 10 | Localisation de plage St-Cloud (Annaba). © map data 2015 Google. | 25 |
| 11 | Localisation de plage Stora (Skikda). © map data 2015 Google. | 26 |
| 12 | Localisation de plage Ain Doula (Collo). © map data 2015 Google. | 27 |
| 13 | Méthode d'échantillonnage (A : Chimique et B : Par raclage). | 28 |
| 14 | Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). | 35 |
| 15 | Vue générale de <i>Perinereis cultrifera</i> (Photo × 8). | 39 |
| 16 | Partie antérieure dorsale de <i>Perinereis cultrifera</i> . (Photo x 10). | 40 |
| 17 | Région antérieure et médiane de <i>P. cultrifera</i> , vue dorsale ; montrant la métamérisation du corps (Photo x 2,5). | 40 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 18 | Organisation d'un parapode de <i>P. cultrifera</i> (Photo x 16). | 41 |
| 19 | Partie postérieure de <i>P. cultrifera</i> , vue dorsale ; montrant le pygidium (Photo x 8,5). | 41 |
| 20 | Coupe transversale d'un segment moyen du corps d'un Néreidés (Beaumont et Cassier, 1987). | 42 |
| 21 | Tête et trompe extroversée de <i>Nereidae</i> . Les chiffres romains indiquent l'ordre des groupes de paragnathes (Fauvel, 1923). | 43 |
| 22 | Distribution spatio-temporelle des individus de <i>Perenereis cultrifera</i> . HMVEM : hautes mers de vives eaux moyennes ; BMVEM : basses mers de vives eaux moyennes. (Scaps <i>et al.</i> , 1992). | 45 |
| 23 | Cycle de vie de <i>Perinereis cultrifera</i> (Cazaux, 1970). | 46 |
| 24 | Mode de reproduction chez les Néréidiens (Durchon, 1967). | 48 |
| 25 | Transformations morphologiques des parapodes chez un mâle mature de <i>Perinereis cultrifera</i> (Durchon, 1955). | 49 |
| 26 | Modifications hétéronéréidiennes des parapodes chez <i>P. cultrifera</i> (Bauchot-Botin et Bobin, 1954). | 50 |
| 27 | Modèle schématique d'un réseau de galeries de <i>P. cultrifera</i> (Scaps <i>et al.</i> , 1998). | 51 |
| 28 | Formation des cellules vivantes (http://www.courscapitole.com/doku.php/niveau:lycee/svt) | 59 |
| 29 | Modes de transcription de l'ADN en ARN dans le nucléole (Trang, 2006). | 60 |
| 30 | Localisation des sites d'échantillonnage de <i>Perinereis cultrifera</i> sur le littoral Est Algérien (El-kala, Annaba et Skikda, Collo, Boumerdes, Alger, Saint-Aubin sur Mer, Saint Pabu et Roscoff) (Meghlaoui, 2013). | 60 |
| 31 | Localisation du site Boumerdes © map data 2015 Google. | 61 |
| 32 | Localisation du site Pointe Pescade (Alger). © map data 2015 Google. | 62 |
| 33 | Localisation du site Saint-Pabu. © map data 2015 Google. | 63 |
| 34 | Localisation du site Saint-Aubin sur mer. © map data 2015 Google. | 63 |
| 35 | Localisation du site Roscoff. © map data 2015 Google. | 64 |
| 36 | Appareil de PCR ou thermocycleur utilisé pour la réaction d'amplification de l'ADN (Photo personnelle). | 66 |
| 37 | Principe de la PCR = amplification exponentielle de l'ADN (Source = Wikipedia). | 66 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 38 | Petite cuve à électrophorèse | 68 |
| 39 | Progression des échantillons d'ADN déposés dans les puits de gels (de l'anode vers la cathode). | 68 |
| 40 | séquenceur automatique et séquences obtenues après séquençage. | 69 |
| 41 | Répartition des paragnathes au niveau de différentes lobes (Face dorsale; A, et face ventrale; B) chez <i>P. cultrifera</i> (Photo ×32). | 71 |
| 42 | Répartition des paragnathes au niveau de différentes lobes chez <i>P. macropus</i> (A; face dorsale, B; face ventrale) (Photo ×32). | 72 |
| 43 | Répartition des paragnathes au niveau de différentes lobes chez <i>Platynereis dumerilli</i> (A; face dorsale, B; face ventrale) (Photo ×32). | 73 |
| 44 | Répartition des paragnathes au niveau de différentes lobes chez <i>Nereis falsa</i> (A; face dorsale, B; face ventrale) (Photo ×32). | 73 |
| 45 | Présentation de <i>Nereis diversicolor</i> (vue générale) (Photo ×8). | 74 |
| 46 | Présentation de <i>Lepidonotus clava</i> (A: Partie postérieure (Photo × 32), B: Corp entier (Photo ×8)) | 75 |
| 47 | Espèces identifiées de la faune associée au niveau des quatre sites d'étude : El-Kala, Annaba, Skikda et Collo durant la période de Janvier 2011 à Décembre 2013 (×8). | 75 |
| 48 | Espèces identifiées de la flore associée au niveau des quatre sites d'étude : El-Kala, Annaba, Skikda et Collo durant la période de Janvier 2011 à Décembre 2013 (×8). | 76 |
| 49 | Dominance de la macrofaune benthique présente au niveau du site d'El-Kala au cours de la période d'étude de Janvier 2011 à Décembre 2013. | 82 |
| 50 | Dominance de la macrofaune benthique présente au niveau du site d'Annaba au cours de la période d'étude de Janvier 2011 à Décembre 2013. | 83 |
| 51 | Dominance de la macrofaune benthique présente au niveau du site de Skikda au cours de la période d'étude de Janvier 2011 à Décembre 2013. | 85 |
| 52 | Dominance de la macrofaune benthique présente au niveau du site de Collo au cours de la période d'étude de Janvier 2011 à Décembre 2013. | 86 |
| 53 | Variations mensuelles de la température (°C) au niveau des trois sites étudiés (Janvier 2011, Décembre 2011). | 88 |
| 54 | Variations mensuelles du pH au niveau des trois sites étudiés (Janvier 2011, Décembre 2011). | 89 |
| 55 | Variations mensuelles de la salinité mg/l au niveau des trois sites étudiés (Janvier 2011, Décembre 2011). | 90 |
| 56 | Variations mensuelles de l'oxygène dissous au niveau des trois sites étudiés (Janvier 2011, Décembre 2011). | 91 |
| 57 | Paramètres physico-chimiques (DBO ₅ en mg/l) de l'eau de mer dans les sites d'étude. | 92 |
| 58 | Courbe d'étalonnage des hydrocarbures totaux (ppm). | 93 |

| | | |
|-----------|--|------------|
| 59 | Concentrations des Hydrocarbures totaux (mg/l) dans l'eau de mer des sites d'étude en Mai 2012. ($m \pm s$, $n = 3$). | 94 |
| 60 | Variations mensuelles du poids corporel (g) chez <i>P. cultrifera</i> au niveau des trois sites étudiés (Janvier 2011, Décembre 2011). | 96 |
| 61 | Variations mensuelles du poids corporel (g) chez <i>P. cultrifera</i> d'El-Mordjène (El-Kala) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 97 |
| 62 | Variations mensuelles du poids corporel (g) chez <i>P. cultrifera</i> dans le site St-Cloud (Annaba) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 98 |
| 63 | Variations mensuelles du poids corporel (g) chez <i>P. cultrifera</i> dans le site de Stora (Skikda) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 99 |
| 64 | variations mensuelles de la taille (mm) au niveau des trois sites étudiés (Janvier 2011, Décembre 2011). | 102 |
| 65 | Variations mensuelles de la taille (mm) chez <i>P. cultrifera</i> pour le site d'El-Mordjène (El-Kala) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 103 |
| 66 | Variations mensuelles de la taille chez <i>P. cultrifera</i> pour le site St-Cloud (Annaba) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 104 |
| 67 | Variations mensuelles de la taille (mm) chez <i>P. cultrifera</i> pour le site de Stora (Skikda) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 105 |
| 68 | Variations mensuelles du nombre de sétigères au niveau des trois sites étudiés (Janvier 2011, Décembre 2011). | 107 |
| 69 | Variations mensuelles du nombre de sétigères chez <i>P. cultrifera</i> dans le site d'El-Mordjène (El-Kala) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 108 |
| 70 | Variations mensuelles du nombre de sétigères chez <i>P. cultrifera</i> dans le site de St-Cloud (Annaba) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 109 |
| 71 | Variations mensuelles du nombre de sétigères chez <i>P. cultrifera</i> dans le site de Stora (Skikda) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 110 |
| 72 | Dosage des protéines : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (μg) (R^2 : coefficient de détermination). | 111 |
| 73 | Variations mensuelles de l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/mn/ mg de protéines) chez <i>P. cultrifera</i> récoltées dans trois sites : El-Kala, Annaba et Skikda au cours de l'année 2011 ($m \pm s$; $n=4$). | 113 |
| 74 | Variations mensuelles de l'activité de l'AChE pour le site d'El-Mordjène (El-Kala) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 114 |
| 75 | Variations mensuelles de l'activité de l'AChE dans le site St-Cloud (Annaba) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 115 |
| 76 | Variations mensuelles de l'activité de l'AChE pour le site Stora (Skikda) de l'année 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 116 |
| 77 | Variations mensuelles de l'activité de la Glutathion S-transférase ($\mu\text{M}/\text{mn}/ \text{mg}$ de protéines) chez <i>P. cultrifera</i> récoltées dans trois sites : El-Kala, Annaba et Skikda au cours de l'année 2011 ($m \pm s$; $n=4$). | 118 |
| 78 | Variations mensuelles de l'activité de la GST pour le site El-Mordjène (El-kala) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 119 |
| 79 | Variations mensuelles de l'activité de la GST pour le site de St-Cloud (Annaba) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 120 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| 80 | Variations mensuelles de l'activité de la GST dans le site de Stora (Skikda) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 121 |
| 81 | Variations mensuelles de l'activité de la catalase ($\mu\text{M}/\text{mn}/ \text{mg}$ de protéines) chez <i>P. cultrifera</i> récoltées dans trois sites : El-Kala, Annaba et Skikda au cours de l'année 2011 ($m \pm s$; $n=4$) | 123 |
| 82 | Variations mensuelles de l'activité de la catalase pour le site d'El-Mordjène (El-Kala) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 124 |
| 83 | Variations mensuelles de l'activité de la catalase pour le site de St-Cloud (Annaba) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 125 |
| 84 | Variations mensuelles de l'activité de la catalase dans le site de Stora (Skikda) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 126 |
| 85 | Comparaison entre le poids des différentes populations de la manche française et de la côte algérienne. | 128 |
| 86 | Profil électrophorétique après amplification avec les amorces : <i>Perinerin</i> et 40 SRP, Marqueurs de taille : 100 paires de base, et 1 kilobase. | 129 |
| 87 | Profil électrophorétique après amplification avec l'amorce ITS 1 et ITS 2. | 129 |
| 88 | Alignement des séquences ITS 1 chez <i>P. cultrifera</i> | 130 |
| 89 | Alignement des séquences ITS 2 chez <i>P. cultrifera</i> . | 131 |
| 90 | Profil électrophorétique après amplification avec les amorces : <i>Cyt-b</i> , COI après une extraction de leurs ADN en utilisant la méthode d'extraction CCDB. | 131 |
| 91 | Alignement des séquences <i>cyt-b</i> | 132 |
| 92 | Arbre phylogénétique basé sur les séquences de <i>Cyt-b</i> isolées chez <i>P. cultrifera</i> des 9 populations (Annexe 1). | 133 |

LISTE DES TABLEAUX

| N° | Titre | Page |
|----|--|------|
| 1 | Valeurs de quelques indices moléculaires caractérisant l'origine des HAP (Thompson, 1999). | 36 |
| 2 | Dosage des protéines : Réalisation de la gamme d'étalonnage. | 58 |
| 3 | Liste des oligonucléotides et les températures d'hybridation utilisées lors de la réaction | 67 |
| 4 | Espèces identifiées et recensées au niveau de quatre sites d'étude : El-Kala, Annaba, Skikda et Collo durant 2011, 2012 et 2013. | 77 |
| 5 | Nombre d'individus (ni) des différentes espèces du peuplement (Janvier 2011-Décembre 2013). | 79 |
| 6 | La diversité (H') et l'équipartition (E) du peuplement de macroinvertébrés dans les différents sites étudiés. | 87 |
| 7 | ANOVA à un facteur contrôlé des variations de la température de l'eau de mer au niveau (El-Kala, Annaba et Skikda) durant l'année 2011. | 89 |
| 8 | ANOVA à un facteur contrôlé des variations du pH de l'eau de mer au niveau (El-Kala, Annaba et Skikda) durant l'année 2011. | 90 |
| 9 | ANOVA à un facteur contrôlé des variations de la salinité de l'eau de mer au niveau (El-Kala, Annaba et Skikda) durant l'année 2011. | 91 |
| 10 | ANOVA à un facteur contrôlé des variations de l'O ₂ dissous de l'eau de mer au niveau (El-Kala, Annaba et Skikda) durant l'année 2011. | 92 |
| 11 | ANOVA à un facteur contrôlé du dosage du DBO ₅ dans l'eau de mer au niveau des trois sites d'étude (El-Kala, Annaba et Skikda) durant l'année 2011. | 93 |
| 12 | Concentrations des Hydrocarbures totaux dans l'eau de mer prélevée des stations d'étude en Mai 2012 ($m \pm s$; $n = 3$). | 94 |
| 13 | Analyse de la variance à un seul facteur contrôlé des concentrations des Hydrocarbures totaux dans les sites d'étude. | 95 |
| 14 | Variations mensuelles du poids corporel (g) chez <i>P. cultrifera</i> , analyse ANOVA à un critère de classification entre les sites pour le même mois, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 96 |
| 15 | ANOVA à un critère de classification du poids corporel chez <i>P. cultrifera</i> pour le site d'El-Mordjène (El-Kala) durant l'année 2011. | 97 |
| 16 | ANOVA à un facteur contrôlé des poids corporel chez <i>P. cultrifera</i> dans le site St-Cloud (Annaba). | 98 |
| 17 | ANOVA à un facteur contrôlé des poids corporel chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> dans le site de Skikda. | 99 |
| 18 | ANOVA à deux facteurs contrôlés du poids chez <i>P. cultrifera</i> dans les trois sites d'étude en 2011. | 100 |

| | | |
|-----------|--|------------|
| 19 | variations mensuelles de la taille (mm) chez <i>P. cultrifera</i> , ANOVA à un critère de classification entre les sites pour le même mois, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 101 |
| 20 | ANOVA à un critère de classification pour la taille chez <i>P. cultrifera</i> pour le site d'El-Mordjène (El-Kala) durant l'année 2011. | 102 |
| 21 | ANOVA à un critère de classification pour la taille chez <i>P. cultrifera</i> pour le site d'Annaba durant l'année 2011. | 103 |
| 22 | ANOVA à un critère de classification de la taille chez <i>P. cultrifera</i> pour le site de Stora (Skikda) durant l'année 2011. | 104 |
| 23 | ANOVA à deux facteurs contrôlés de la taille chez <i>P. cultrifera</i> dans les trois sites d'étude en 2011. | 105 |
| 24 | variations mensuelles du nombre de sétigères chez <i>P. cultrifera</i> , ANOVA à un critère de classification entre les sites pour le même mois avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 106 |
| 25 | ANOVA à un facteur contrôlé du nombre de sétigères chez <i>P. cultrifera</i> dans le site d'El-Mordjène (El-Kala). | 107 |
| 26 | ANOVA à un facteur contrôlé du nombre de sétigère chez <i>P. cultrifera</i> dans le site St-Cloud (Annaba). | 108 |
| 27 | ANOVA à un critère de classification du nombre de sétigères chez <i>P. cultrifera</i> dans le site d'Annaba. | 109 |
| 28 | ANOVA à deux facteurs contrôlés du nombre de sétigères chez <i>P. cultrifera</i> dans les trois sites d'étude en 2011. | 110 |
| 29 | Dosage des protéines : réalisation de la gamme d'étalonnage. | 111 |
| 30 | variations mensuelles de l'activité de l'AChE (nM/mn/ mg de protéines) chez <i>P. cultrifera</i> , ANOVA à critère de classification entre les sites pour le même mois, avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 112 |
| 31 | ANOVA à un critère de classification des variations mensuelles de l'activité de l'AChE chez <i>P. cultrifera</i> pour le site El-Mordjène (El-Kala). | 113 |
| 32 | ANOVA à un facteur contrôlé des variations mensuelles de l'activité de l'AChE chez <i>P. cultrifera</i> pour le site St-Cloud (Annaba). | 114 |
| 33 | ANOVA à un facteur contrôlé des variations mensuelles de l'activité de l'AChE chez <i>P. cultrifera</i> pour le site Stora (Skikda). | 115 |
| 34 | ANOVA à deux facteurs contrôlés de l'activité enzymatique de l'AChE chez <i>P. cultrifera</i> dans les trois sites d'étude en 2011. | 116 |
| 35 | Variations mensuelles de l'activité de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/ \text{mg}$ de protéines) chez <i>P. cultrifera</i> , ANOVA à un critère de classification entre les sites pour le même mois avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 118 |
| 36 | ANOVA à un facteur contrôlé des variations mensuelles de l'activité de la GST chez <i>P. cultrifera</i> dans le site El-Mordjène (El-Kala). | 119 |
| 37 | ANOVA à un critère à un facteur contrôlé des variations de l'activité de La GST chez <i>P. cultrifera</i> dans le site de St-Cloud (Annaba). | 120 |

| | | |
|-----------|--|------------|
| 38 | ANOVA à un facteur contrôlé des variations mensuelles de l'activité de la GST chez <i>P. cultrifera</i> du site de Stora (Skikda). | 121 |
| 39 | ANOVA à deux facteurs contrôlés de l'activité enzymatique de la GST chez <i>P. cultrifera</i> dans les trois sites d'étude en 2011. | 122 |
| 40 | Variations mensuelles de l'activité de la catalase (nM/mn/ mg de protéines) chez <i>P. cultrifera</i> , avec la classification de Tukey ($m \pm s$). | 123 |
| 41 | ANOVA à un facteur contrôlé des variations de l'activité de la catalase chez <i>P. cultrifera</i> dans le site d'El-Mordjène (El-Kala). | 124 |
| 42 | ANOVA à un facteur contrôlé des variations mensuelles de l'activité de la catalase chez <i>P. cultrifera</i> dans le site de St-Cloud (Annaba). | 125 |
| 43 | ANOVA à un facteur contrôlé des variations mensuelles de l'activité de la catalase chez <i>P. cultrifera</i> pour le site de Stora (Skikda). | 126 |
| 44 | ANOVA à deux facteurs contrôlés de l'activité enzymatique de la catalase chez <i>P. cultrifera</i> dans les trois sites d'étude en 2011. | 127 |
| 45 | Analyse de la variance à un seul facteur contrôlé des poids des individus des deux populations (côtes algérienne et de la Manche française). | 128 |

Liste des abréviations

40 SRP : Signal-peptide recognition particle

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

ANOVA : Analysis of Variance

ARN Acide riboNucléique

AV 1 : Analyse de la Variance à un critère de classification

AV2 : Analyse de la Variance à deux critères de classification

BaA : Benz(a)Anthracène

BaP : Benzo(a)Pyrène

CTAB : Cetyl trimethylammonium bromide

DBO5 : La demande biochimique en oxygène

ddntp : didésoxyribonucléotide

EDTA : Éthylène Diamine Tétra-Acétique

H₂O₂ :peroxyde d'hydrogène

NaCl : Chlorure de Sodium

PNUE : Programme des Nations Unies pour l'Environnement

TBE : Tris, Borate, EDTA

W.H.O : World Health Organization



INTRODUCTION GENERALE

1. INTRODUCTION GENERALE

Depuis le début du siècle, l'environnement (atmosphérique, terrestre et aquatique) a été soumis à la pression croissante des activités industrielles et humaines dont les effets se sont fait rapidement sentir. Face aux multiples dégradations occasionnées au milieu marin, l'intérêt de la communauté scientifique s'est orienté vers l'évaluation du stade de destruction de cet environnement à différents points du globe. Ainsi, les travaux réalisés en Californie (Reish, 1973), en France (Bellan, 1967a, Dauvin, 1993, 2007 ; Dauvin *et al.*, 2010 ; Grall et Glemarec, 1997, Glemarec, 2003; Labrune *et al.*, 2006), en Ecosse (Pearson et Rosenberg, 1978), en Suède (Rosenberg et Warwick 1988), en Grèce (Zenetos et Bogdanos, 1987), en Grande Bretagne (Warwick *et al.*, 2002), dans les eaux européennes (Borja *et al.*, 2000, 2003, 2004) montrent que l'étude de la distribution des espèces macrozoobentiques est une méthode assez précise et facile à utiliser qui renseigne sur le niveau de perturbation du milieu. La macrofaune benthique se révèle donc comme un bon témoin des variations de l'environnement (Dauvin, 1993). La sédentarité et la dynamique des espèces macrobenthique ainsi que leur longévité leur permettent de mémoriser et d'intégrer les variations du milieu ; elles fournissent ainsi un signal relativement clair, susceptible de détecter une perturbation du système (Glémarec et Hily, 1981 ; Bellan, 1984; Dauvin, 1993).

La biodiversité est l'un des thèmes centraux des études en écologie. Elle correspond à la variabilité existante parmi les organismes vivants et les systèmes écologiques auxquels ils appartiennent, et peut être appréhendée à trois niveaux hiérarchiques d'organisation du vivant (Harper et Hawksworth, 1994 ; May 1994) : la diversité au sein d'une espèce (diversité génétique), la diversité entre les espèces (diversité spécifique) et la diversité des communautés (diversité des écosystèmes). Dans le contexte marin, la biodiversité est définie donc comme la variété des formes de vie et dans les océans, les eaux côtières et estuaires et les processus qui les maintiennent (Olsgard *et al.* 2003).

Par ailleurs, les données sur la biodiversité des milieux marins restent peu connues comparativement à celle du milieu terrestre, ce qui a engendré une mal conservation et une gestion irrationnelle des ressources aquatiques. L'autre problème est que l'immense majorité des organismes marins sont de petite taille et se cachent généralement dans les végétations, dans la vase, le sable... etc. Les fonds des substrats infralittoraux constituent une zone d'étude

particulièrement intéressante grâce à sa grande biodiversité quantitative et qualitative et à la diversité des phénomènes biologiques qui se développent dans ceux-ci.

Les Annélides polychètes constituent avec les Mollusques bivalves, les Crustacés et les Echinodermes les groupes dominant de la macrofaune des substrats meubles. Elles sont utilisées dans la majorité des études écologiques des communautés benthiques étant donné qu'elles apportent des renseignements tout à fait indispensables pour comprendre, dans une première phase, les changements profonds que subissent actuellement les écosystèmes marins, et agir en conséquence pour limiter les dégâts (Zaabi-Sendi, 2013).

Ainsi, les communautés benthiques intègrent les perturbations et répondent par des fluctuations de leurs paramètres de structure, tels que le nombre d'espèces et l'abondance (Boero, 1994, Occhipinti-Ambrogi *et al.*, 2005). De ce fait, les polychètes sont largement utilisés comme des indicateurs des conditions écologiques des écosystèmes marins et côtiers (Pearson et Rosenberg, 1978, Bilyard 1987, Gibson *et al.*, 2000)

D'une manière générale, ces organismes relativement sédentaires, ont des cycles vitaux longs qui leur permettent d'intégrer les effets des perturbations tant accidentelles que chroniques (Dauvin, 1993, Reiss et Kröncke, 2005) et présentent différents degrés de tolérance au stress (Torres-Gavila, 2008).

La classe Polychaeta qui fait partie du Phylum Annelida, important groupe d'animaux fréquemment nommés « vers segmentés », représente la plupart de la diversité des annélides (Rouse et Pleijel 2001). Les polychètes sont probablement le groupe les plus abondant et le plus divers dans les sédiments marins. Ils colonisent une grande diversité d'habitats marins, des substrats meubles aux substrats durs, depuis la zone intertidale à la zone hadale et sont considérés comme des indicateurs permettant d'identifier les principales conditions qui contrôlent la structure et le fonctionnement des communautés benthiques. Avec plus de 10000 espèces décrites dans le monde (Minelli, 1993 ; Huchings, 1998 ; Rouse et Pleijel 2001), sur le plateau continental et dans les zones profondes, les polychètes représentent entre 40 et 80% de l'endofaune (Sanders *et al.*, 1965). Ces organismes ont développé différentes stratégies de vie pour s'adapter à un grand nombre d'habitats, particulièrement sur les substrats durs et les

sédiments sableux et vaseux ; ces stratégies incluent une grande variabilité morphologique, de types d'alimentation et de modes de reproduction (Ruppert et Barnes, 1994). Les polychètes sont un des groupes les plus caractéristiques des communautés benthiques des fonds meubles (Know, 1977 ; Labrune *et al.*, 2007) et un des plus riches taxons benthiques en ce qui concerne la richesse spécifique (Arvanitidis *et al.*, 2002). Ce groupe domine souvent la macrofaune benthique et peut être considéré comme un bon « proxy » pour décrire la distribution des communautés macrobenthiques (Olsgard et Somerfield, 2000) quand il est le composant principal de la macrofaune (Mackie *et al.*, 1995). Ils comprennent la majorité (60-70%) des individus macrozoobenthiques des fonds marins meubles (Knox, 1977 ; Dogan *et al.*, 2005 ; Mutlu *et al.*, 2010) et peuvent être utilisés comme marqueurs de différentes conditions écologiques (Gambi et Giangrande, 1986). Ils représentent jusqu'à 90-100% des peuplements zoobenthiques dans les sédiments meubles perturbés (Çinar *et al.*, 2006).

La présence/absence de certaines espèces peut refléter les changements environnementaux tels que pollutions, enrichissements en nutriments (Pearson et Rosenberg, 1978 ; Wang, 2004). Dans les eaux peu profondes et profondes, la composition spécifique, la diversité et l'abondance sont aussi influencées par les perturbations environnementales (Levin et Gage 1998 ; Glover *et al.*, 2001). Dans les systèmes marins, les polychètes comme « proxies » de la biodiversité benthique peuvent être très informatifs pour évaluer les conditions ou santé des environnements benthiques (Reish, 1955 ; Pearson et Rosenberg, 1978 ; Bellan *et al.*, 1988 ; Pocklington et Wells, 1992 ; Belan, 2003 ; Ergen *et al.*, 2006). Dans la plupart des cas, les assemblages des polychètes montrent les mêmes patrons de distribution que la totalité de la faune benthique (Fauchald, 1973) et peuvent donc être considérés comme représentants de la biodiversité marine (Olsgard *et al.*, 2003). De plus, les polychètes sont considérés comme appropriés aux études biogéographiques (Gobin et Warwick, 2006) car, contrairement à d'autres taxons, leur taxonomie est relativement bien décrite. Cependant Rouse et Pleijel (2001) ont mentionné que la systématique des polychètes est encore instable principalement en raison de nombreuses synonymies, ils englobent aussi plusieurs niveaux trophiques et histoires de vie et sont très souvent très bien représentés par un bon nombre d'espèces et de familles dans les échantillons (Hutchings, 1998 ; Cole et Chapman, 2007).

Plusieurs facteurs influencent la distribution et l'abondance des polychètes : ceux-ci incluent la structure du sédiment, la quantité de matière organique contenue dans les sédiments, la profondeur, la salinité et la température (Hutchings, 1998). Dans le cadre des relations existantes entre les polychètes et les paramètres environnementaux, Labrune *et al.* (2007) ont étudié celles des polychètes du golfe de Lyon (Nord-Ouest de la Méditerranée) avec les sédiments de fonds meubles et les principaux paramètres environnementaux, en établissant des relations très significatives entre les espèces et la qualité environnementale du sédiment.

En Méditerranée, 1172 espèces de polychètes ont été décrites (Coll *et al.*, 2010) dans les zones côtières et profondes, elles représentent entre 40% et 80% de l'endofaune (Sanders *et al.*, 1965). Le groupe des polychètes est considéré comme le plus riche taxon en terme de richesse spécifique (Arvanitidis *et al.*, 2002), il est utilisé comme un bon indicateur des conditions écologiques (Gambi et Giangrandi, 1986). Par ailleurs, les polychètes, maillon fondamental de la chaîne trophique, constituent une source alimentaire essentielle pour de nombreux consommateurs de rang supérieur, en particulier les poissons et les céphalopodes. La connaissance des différents groupes trophiques nous donne une idée sur le mode et le niveau d'utilisation de l'énergie dominante dans le milieu, à partir desquels nous pouvons déduire le degré de structuration des communautés benthiques. Partant de la base qu'à plus grande complexité trophique et une plus grande présence des niveaux supérieurs (carnivores), plus grand sera son degré de structuration (Bianchi et Morri, 1985). Dans ce sens, les polychètes présentent un haut degré de diversification trophique et fonctionnelle en assumant une grande importance dans le flux énergétique global de la communauté benthique marine (Torres-Gavila, 2008).

La pollution de l'environnement est un problème d'actualité ; elle affecte pratiquement tous les écosystèmes y compris l'environnement marin et résulte du cumul des apports anthropiques (molécules /énergie) (Livingstone, 1993) qui peuvent être de sources différentes : les activités industrielles, agricoles, le développement des villes et des réseaux routiers. Les contaminants rejetés dans l'environnement finissent par se retrouver plus ou moins rapidement dans les milieux aquatiques, en particulier estuariens et côtiers, où ils peuvent avoir des effets à court et à long terme (Burton, 1992), ils s'accumulent au niveau des

sédiments qui constituent alors de véritables réservoirs des contaminants (Gagnon et Fisher, 1997 ; De Mora, 1999 ; Berne, 2000 ; Griscom *et al.*, 2000 ; Chapman et Wang, 2001).

La pollution des écosystèmes aquatiques est un problème majeur tant pour la population humaine, utilisatrice des ressources en eau, que pour les populations végétales et animales pour lesquelles l'eau représente le milieu de vie. Les eaux usées qui dans de nombreux pays ne sont que peu ou pas traitées, transportent et déversent leur lot de polluants et de matière organique dans les eaux côtières favorisant ainsi l'eutrophisation et la bioaccumulation d'éléments toxiques dans les organismes marins (Boening, 1999 ; Daby, 2006).

L'écosystème marin représente 71% du globe terrestre, constitue une immense réserve de ressources énergétiques, minérales et biologiques. Cependant l'altération actuelle du milieu aquatique est favorisée aussi bien par la poussée démographique que par les progrès de la technologie industrielle (Neuveu *et al.*, 2001). En effet, les côtes sont depuis toujours le lieu privilégié d'installation des villes, des ports et des industries. De plus, la moitié de la population mondiale actuelle est localisée à moins de 50 Km de rivages où l'eau est devenue par la force des choses le véhicule naturel des déchets domestiques et industriels (Munkittrick et McCrty, 1995). De plus, le milieu se retrouve 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 répandus dans les sols et qui seront drainés par les rivières et les fleuves (Damiens *et al.*, 2004 ; Valavanidis *et al.*, 2006).

Afin de protéger et de conserver les ressources des écosystèmes aquatiques, les recherches se sont orientées vers des programmes de biosurveillance par des approches chimiques et biologiques. Les analyses chimiques permettent la mesure de la concentration des agents xénobiotiques dans le milieu contaminé (Perez-Lopez *et al.*, 2000). Les analyses biologiques intègrent les interactions entre polluants et organismes en considérant que les effets des polluants sur les écosystèmes peuvent être précocement observés à des niveaux inférieurs de l'organisation biologiques (cellules, tissus) avant que la communauté ne soit affectée (Huscheck et Hansen, 2005 ; Duquesne et Kuster, 2010).

Les programmes de biosurveillance reposaient initialement sur l'évaluation de la toxicité d'une substance chimique par des tests de toxicité classiques sur un organisme vivant et ceci dans des conditions bien définies (Keddy *et al.*, 1994 ; Norris *et al.*, 1999). Cependant, ces tests même s'ils restent indispensables, sont longs et ne permettent pas de déterminer la toxicité d'un polluant avant l'observation d'un effet sur la mortalité ou la reproduction (McCarthy et Shugart, 1990). Il était donc important de développer des paramètres biochimiques et physiologiques plus sensibles mesurés chez des espèces vivantes plus spécifiques, afin d'obtenir une réponse plus précoce de l'impact d'une pollution et de prédire *in situ* ces effets néfastes sur l'environnement marin et ses organismes (Peakall, 1994) en faisant appel à l'usage d'espèces bioaccumulatrices comme indicateur biologique de contamination (Ramade, 1992). Actuellement la collaboration entre les scientifiques et les gestionnaires de l'environnement marin a permis le développement d'outils d'évaluation écotoxicologique plus spécifiques basés sur deux approches complémentaires, les bioindicateurs et les biomarqueurs (Viarengo *et al.*, 2007).

Selon la définition, 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. Ces perturbations sont dépendantes de plusieurs critères, incluant entre autre, la sensibilité, la reproductibilité et la pertinence écologique pour bien représenter les phénomènes en cause (Lagadic *et al.*, 1997). Les organismes aquatiques utilisés comme bioindicateurs (les algues, les invertébrés, et les vertébrés), sont considérés comme des indicateurs biologiques de la pollution et doivent répondre aux critères suivant la pertinence, la fiabilité, la robustesse, la sensibilité, et la reproductibilité (Philips et Rainbow, 1994). Il est reconnu que les annélides polychètes sont de bons indicateurs de bioaccumulation, notamment des contaminants organiques et des métaux dont quarante-huit espèces appartenant à vingt familles différentes ont servi de modèle afin d'estimer les effets de polluants sur l'environnement marin (Reish et Gerlinder, 1997).

La famille des Nereididae comporte 43 genres et 535 espèces (Hutching *et al.*, 2000). Elle présente une large répartition géographique et écologique, dans presque tous les habitats marins côtiers, estuariens et d'eau douce (Wilson, 2000; Gözler *et al.*, 2009) ; sédentaires ou

bien errantes, les espèces vivent habituellement dans les sédiments ou les substrats durs, ce qui garantit une exposition chronique aux polluants. De par leur forte biomasse, elles jouent un rôle fondamental dans l'écologie et le fonctionnement des communautés benthiques (Hutchings, 1998 ; Giangrande *et al.*, 2005) et des systèmes qui habitent (Gillet *et al.*, 2008). Elles constituent également une source alimentaire importante pour de nombreux oiseaux et poissons benthiques (Scaps *et al.*, 2002), et sont largement utilisées en tant qu'appât pour la pêche sportive et professionnelle (Fidalgo et Costa, 1999 ; Batista *et al.*, 2003) et aliment pour l'aquaculture (Olive, 1999).

L'annélide polychète *Perinereis cultrifera* (Grübe, 1840) fait partie de la famille des Nereidae ou bien encore appelée *Nereididae*. C'est un ver de couleur bronze vert avec un rouge clair dorsal, on le trouve parmi les Rhodophycées, algues rouges meublant les trottoirs et banquettes et il existe en grand nombre dans différents types d'habitats, typiquement marin, ou encore d'eau saumâtre, au niveau des substrats meubles ou encore durs (Maltagliati *et al.*, 2000) ; et montre une tolérance physiologique élevée aux variations extrêmes des facteurs environnementaux comme la température et la salinité (Wells *et al.*, 1992).

Perinereis cultrifera est essentiellement utilisé en tant qu'appât pour la pêche sportive à la ligne et pour la pêche récréative. Ce ver est largement exploité sur le littoral Est-Algérien et est employé pour la pêche à la daurade (*Dicentrarchus labrax*) et la sole (*Solea solea*) et d'autres variétés de poissons tels que le pageot, le petit loup et le marbré (Rouabah, 2003). Elle joue un rôle dans la chaîne alimentaire comme proie pour des poissons, crevettes et oiseaux (García-Alonso *et al.*, 2006), Et semble être un aliment nutritif supplémentaire stimulant la maturité des gonades du poisson *Solea solea* (Cardinaletti *et al.*, 2008), les quelques études entreprises sur *Perinereis cultrifera* ont surtout été d'ordre écologique et éthologique (Marcel, 1962 ; Boisseau, 1962) et moins d'ordre génétique. Or, comme l'ont déjà signalé de nombreux auteurs, il est fondamental de bien préciser le statut taxonomique des espèces d'importance commerciale et/ou écologique.

L'évaluation des biomarqueurs du stress oxydatif est un bon outil environnemental pour évaluer l'exposition et les effets des xénobiotiques sur les organismes (McLoughlin *et al.*, 2000). un biomarqueur se définit comme un changement observable et/ou mesurable au

niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant (Lagadic *et al.*, 1997; Galloway & Depledge, 2001; Van der Oost *et al.*, 2003). Pour minimiser les dommages des ROS induits, les organismes ont développé des complexes de défenses anti-oxydatives de nature à la fois enzymatiques et non enzymatique. Les défenses anti-oxydatives non enzymatiques comprennent des molécules de bas poids moléculaire qui agissent comme des piègeurs de radicaux libres tel que le glutathion (GSH) (Nowakowska *et al.*, 2012), l'enzyme de neurotoxicité acétylcholinestérase (AChE) est l'une des enzymes les plus efficaces du système nerveux qui est concentrée au niveau des synapses cholinergiques et synapses neuromusculaires où elle joue un rôle important dans la neurotransmission par hydrolyse rapide du neurotransmetteur acétylcholine à la choline et acétate (Kwong, 2002).

Les enzymes de biotransformation comme la glutathion S-transférase (GST) (Stien *et al.*, 1998), le glutathion (GSH) (Souissi *et al.*, 2008), la superoxide dismutase (SOD) (Orbea *et al.*, 2000), la catalase (Stegeman *et al.*, 1992), la glutathion peroxydase (GPX) (Halliwell & Guetteridge, 1999), la peroxydation lipidique (Dotan *et al.*, 2004) et la Métallothionéine (Viarengo *et al.*, 2000). Les catalases sont des hémoprotéines tétramériques qui, avec un atome de fer par sous-unité, ont une masse d'environ 240 KDa. Elle sont sensibles à certains contaminants inducteurs de stress oxydatif au niveau des membranes cellulaires, comme les HAP, PCB ou certains pesticides (Livingstone, 1993) et les métaux (Labrot *et al.*, 1996). Des activités enzymatiques et d'autres composants sub-cellulaires sont communément utilisés comme biomarqueurs (Jemec *et al.*, 2009) car ils ont la capacité d'identifier les mécanismes potentiellement responsables d'effet à des niveaux d'organisation plus élevés, ce qui en a fait des outils prometteurs pour des applications en écotoxicologie (Figure 1).

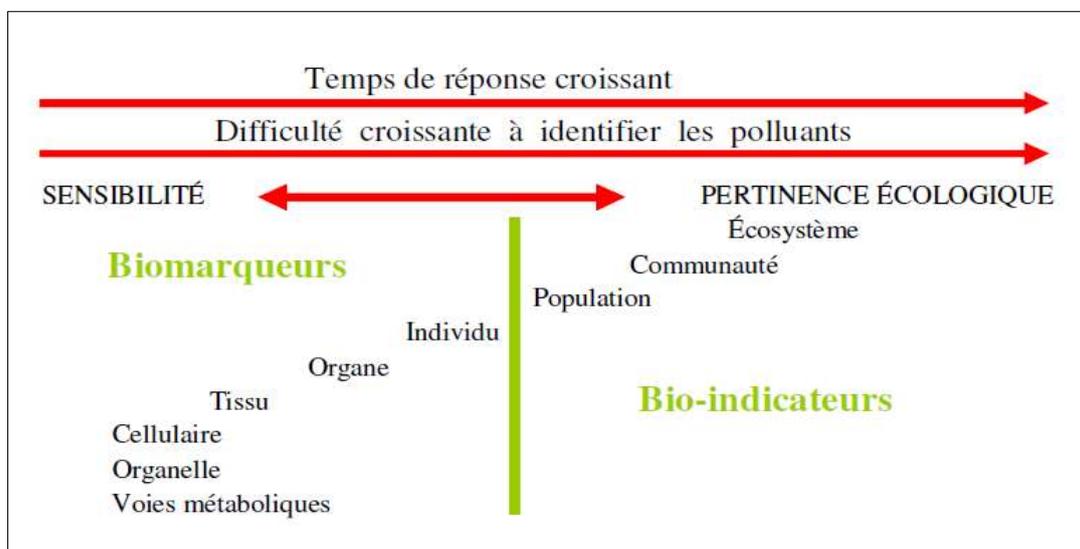


Figure 1 : Relation entre la sensibilité et la pertinence écologique des biomarqueurs choisis à différents niveaux de l'organisation biologique (Huggett *et al.*, 1992).

Il est admis qu'il existe plus de 4 millions de substances chimiques, essentiellement des substances organiques issues de la biosynthèse animale et végétale (Marchand, 2002). Aujourd'hui, on estime qu'il y a plus de 100.000 produits chimiques qui sont utilisés régulièrement dans l'industrie et qui sont des contaminants et polluants potentiels de l'écosystème global. Environ 2000 produits chimiques sont transportés par voie maritime, en vrac ou en colis. Les substances chimiques toxiques sont rejetées dans l'environnement de deux manières : soit directement, lorsqu'elles sont utilisées comme telles par l'homme, c'est le cas des pesticides, des fertilisants et des différents solvants, soit indirectement, sous forme de déchets industriels provenant de diverses activités la fabrication industrielle, l'incinération, la consommation de carburants ou les rejets accidentels (Mouchel et Thévenot, 2003). Ces substances peuvent être classées en quelques grandes catégories comme suit : les métaux lourds, les hydrocarbures, les pesticides, les biocides, les substances eutrophisantes et organiques de synthèse (Marchand et Kantin, 1997 ; Marchand et Brunot, 1997).

Les hydrocarbures que l'on retrouve dans les pétroles bruts (la base de notre consommation énergétique est estimée à environ 86 millions de tonnes/an) et les produits raffinés sont utilisés comme carburants (essences, kérosènes, fuels domestiques, fuels lourds) et produits de base de la synthèse organique industrielle. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), qui résultent de la combustion complète des produits pétroliers, sont les

plus préoccupants pour les milieux aquatiques. Les émissions dans l'atmosphère d'HAP sont estimées à plusieurs milliers de tonnes.

Le phénomène de pollution par les hydrocarbures a une importance de plus en plus grande sur les plans environnemental, sanitaire et économique. Cette pollution peut avoir un impact soit direct ou indirect, sur la santé humaine et l'équilibre des écosystèmes aussi bien marins que continentaux. La qualité des sols peut également en être altérée (Mbonigaba *et al.*, 2009). Les effets dévastateurs de l'industrialisation pétrolière et leur impact ont été évalués sur l'environnement. En effet, de nombreux dégâts réels ont été constatés lors d'accidents (fuite de pétrole...etc), de rejets ou de déversements volontaires, pouvant entraîner des catastrophes écologiques irréversibles (Soltani, 2004).

Depuis l'accident de l'Erika de nombreux laboratoires ont décidé d'étudier les effets d'une contamination par hydrocarbures d'espèces marines appartenant à différents niveaux trophiques (Bocquené *et al.*, 2004; Budzinski *et al.*, 2004; Davoodi & Claireaux, 2007; Geffard *et al.*, 2004; Tronczynski *et al.*, 2004).

La mer méditerranée a été classée parmi les sept mers les plus menacées et parmi l'une des cinq régions où les problèmes environnementaux sont les plus graves par PNUE (Ramade, 1993 ; Boudouresque, 1996). Elle représente la plus vaste mer fermée du monde avec une surface de trois millions de km². Elle compte plus de trois cent ports et supporte 30 % du commerce maritime mondial et 20 à 25 % du transport international de pétrole : la ligne pétrolière la plus importante, avec environ 90 % du trafic pétrolier total de la région, relie le Canal de Suez en Egypte avec Gibraltar ; en passant par la Sicile et Malte, puis elle suit les côtes Tunisiennes, Algériennes et Marocaines (Abousamra, 2005).

Le littoral algérien est incontestablement une zone stratégique pour l'avenir et le développement futur du pays. Près des deux tiers de la population algérienne réside sur 4 à 4,5% du territoire national, et ce sur une centaine de kilomètres allant des côtes vers l'arrière-pays. Les wilayas littorales qui occupent 2% du pays concentrent plus de 40% de la population (PNAE-DD, 2002). L'Algérie avec ses longues côtes d'environ 1600 Km, regroupent un éventail d'habitats, et la biodiversité marine algérienne est considérée parmi les

plus élevées du bassin méditerranéen (Grimes *et al.*, 2004), grâce à la diversité biologique des espèces d'intérêt écologique et économique. Par ailleurs, le littoral algérien abrite de nombreuses espèces vulnérables ou menacées, et à cet égard, il reste un élément clé de la conservation de la biodiversité marine et côtière de l'ensemble du bassin méditerranéen.

Le nord-Est de l'Algérie est un biotope caractérisé par la flore et une faune très riche, principalement au niveau du Parc National d'El-Kala (Benyacou et chabi, 2000). Les efforts réalisés en matières d'inventaire des ressources naturelles en Algérie ont conduit à la découverte d'une riche faune de mollusques terrestres dans quelques biotopes : de l'Ouest (Tlemcem) (Damerdji *et al.*, 2005 ; Damerdji, 2008, 2010, 2012, 2013 ; Damerdji et Amara, 2013) à l'Est (Boudechiche, 2007 ; Larba et Soltani, 2013).

Pour comprendre la structure des communautés biologiques observées aujourd'hui, il est nécessaire d'en retracer l'histoire (Losos, 1996), afin de séparer les composantes historiques (au sens d'une échelle de temps évolutive) des composantes écologiques récentes. Les méthodes d'analyses comparatives, de plus en plus performantes, permettent ainsi de discriminer la part relative des contraintes phylogénétiques ou environnementales dans la distribution d'un caractère (ou d'une stratégie) au sein d'un groupe d'espèces pour lequel on dispose d'une phylogénie robuste (Bauwens et Diaz-Uriate, 1997 ; Pierce et Crawford, 1997). En effet, du fait de leur apparentement, les individus d'un même clade ne constituent pas des échantillons indépendants au sens statistique du terme. Par conséquent, toute comparaison à caractère biologique ou écologique ne pourra se faire avec rigueur que si l'on peut apprécier le degré d'interdépendance entre les espèces, une solution qui permet de reconstruire la phylogénie de la population étudiée pour apprécier les relations d'apparentement des espèces étudiées (Hillis, 1997).

Les mesures génétiques s'avèrent souvent très utiles et surtout plus informatives lorsqu'on cherche à distinguer les populations entre elles. Les techniques dérivées de la méthode PCR (Polymerase Chain Reaction; réaction de polymérisation en chaîne) sont notamment remarquablement efficaces pour identifier des espèces, des variétés ou des individus par empreinte génétique (Struck *et al.*, 2002; Roubah & Rouabah, 2007; Zanol *et al.*, 2007). Cette technique (PCR) repose sur les connaissances acquises en matière de

structure de l'ADN composant les génomes. Il s'agit d'amplifier des séquences nucléotidiques qui sont spécifiques soit d'espèces, soit de variétés, soit d'individus.

Les outils de mesure de la biodiversité intra spécifique, sont généralement basés sur les caractères phénotypiques ou visibles des populations. Cependant, les mesures génétiques s'avèrent souvent très utiles lorsqu'on cherche à distinguer des populations entre elles. L'étude comparative de deux formes épitoques de l'annélide polychète *P. cultrifera*, présentes en Manche-Atlantique et en Méditerranée, met en évidence d'importantes différences morphologiques et biochimiques qui permettent de les différencier.

La synthèse des données portant sur la biologie de *P. cultrifera* a mis en évidence que la période et le mode de reproduction, ainsi que l'âge à maturité et les paramètres biométriques varient fortement selon la localisation géographique des populations. Si l'on s'en tient aux populations qui ont été les mieux étudiées, c'est-à-dire celles présentes en Manche-Atlantique d'une part et en Méditerranée d'autre part, on constate que l'on peut distinguer trois formes de *Perinereis cultrifera* :

- La forme épitoque des côtes de la Manche et de l'Océan Atlantique, caractérisée par son poids important et son grand nombre de segments, plus de 120 segments.
- La forme atoque de la baie d'Alger, nettement moins grosse et possédant moins de 80 segments.
- La forme épitoque de Salammbô en Tunisie, intermédiaire entre les deux formes.

Compte tenu du fait que la description de cette espèce est ancienne et uniquement fondée sur le nombre et la distribution des paragnathes ou denticules cornés à la surface du probocis, et qu'elle présente de fortes variabilités selon la localisation géographique des populations, nous sommes en droit de se demander si sur l'ensemble de l'aire de répartition de l'espèce, les populations sont génétiquement identiques ? La présence de deux stratégies de reproduction (atoque et épitoque) et de trois morphotypes selon les caractéristiques biométriques, résulte-t-elle seulement des différentes conditions écologiques ? Ou est-elle en relation avec l'existence

d'un complexe d'espèce ? Pour répondre à ces questions nous avons fait appel aux outils de la biologie moléculaire afin d'apporter plus de précision.

Bien que les gènes ribosomiaux ARNr et l'ADN mitochondrial ont été utilisés pour l'évaluation des relations phylogénétiques et des divergences anciennes (Mindell et Honeycutt, 1990; Zardoya et Meyer, 1996; Van de Peer et De Wachter, 1997; Abouheif *et al.*, 1998; Naylor et Brown, 1998; Zardoya *et al.*, 1998), la majorité des recherches ont été menées sur l'ADN mitochondrial afin d'évaluer les populations ou bien les relations taxonomiques à des niveaux plus bas (Meyer, 1993; Rocha-Olivares *et al.*, 1999; Lovejoy et de Araùjo, 2000; Tsigenopoulos et Berrebi, 2000). L'ADN mitochondrial est une molécule d'ADN circulaire contenue dans les mitochondries des cellules eucaryotes. Certaines caractéristiques de l'ADN mitochondrial en font un matériel de choix pour la phylogénie. Il s'agit d'un ADN abondant dans les cellules, puisque il se retrouve à des milliers d'exemplaires par cellule. Il présente une vitesse de mutation plus importante que dans le génome nucléaire. Le Cytochrome *b* (*cyt-b*) a été considéré comme l'un des gènes le plus utilisé dans les études phylogénétique et probablement le mieux connu dans les gènes mitochondriaux avec la structure et la fonction de sa protéine (Esposti *et al.*, 1993). Le gène codant la première sous-unité de la Cytochrome Oxydase (COI), est soumis autant qu'un gène codant à une pression sélective importante et présente un grand niveau de variabilité. Cette variabilité est en soi une information intéressante pour la discrimination, comme dans le cas des ITS (Espaceur Interne Transcrit), des espèces, des populations voir même les individus de la même population (Chu *et al.*, 1999 ; Harrison et Crespi, 1999 ; Tang *et al.*, 2003).

Chez les bivalves la différenciation des espèces sur des bases morphologiques est désormais insuffisante. Les séquences d'ITS et de COI ont permis une meilleure ségrégation entre les espèces comme le cas pour *C. glaucum* et *C. edule* (Nikula et Vainola, 2003 ; Freire *et al.*, 2005), *M. edulis* et *M. galloprovincialis* (Kijewski *et al.*, 2009) et *C. gigas* et *C. angulata* (Arnaud et George, 2000). Des différences inter et intra-populationnelles ont été également mises en évidence chez certaines espèces de bivalves tels que *Perna viridis* (Wood *et al.*, 2007), *M. edulis* et *M. galloprovincialis* (Gérard *et al.*, 2008), *C. glaucum* et *C. edule* (Freire *et al.*, 2005).

Toutes les caractéristiques précédemment décrites ont contribué aux choix de ce sujet d'étude auxquelles s'ajoute l'importance des sites étudiés vu leurs localisations géographiques ainsi que le niveau de pollution. Les principaux objectifs de ce travail sont :

- Etablir un inventaire faunistique des espèces d'Annélides polychètes présentes au niveau du littoral Est algérien ainsi que la flore et faune associées, et l'étude de la structure des peuplements par l'utilisation des paramètres de structure : la richesse spécifique RS; l'abondance A; les indices de diversité : *Indice de Shannon-Weaver (H')* et *Equitabilité (J')*, des espèces présentes au niveau de quatre sites du littoral Est algérien d'El-Kala jusqu'à Collo durant trois années 2011, 2012 et 2013.
- Présenter un bilan de la qualité du milieu marin en étudiant des paramètres physico-chimiques des eaux côtières des trois sites (El-Kala, Annaba et Skikda), des indices biologiques (biométrie), suivi d'un dosage des hydrocarbures totaux dans la région de Skikda, et estimer le niveau de pollution en évaluant l'activité enzymatique de la GST, la Catalase, et de l'activité spécifique de l'ACHé chez l'annélide polychète *P. cultrifera*.
- Comparer entre les deux populations de l'espèce *P. cultrifera* de la Manche Française et du littoral Algérien, à partir de l'ADN génomique extrait, où des essais de PCR seront réalisés sur les amorces : *cyt- b*, *Perinerin*, 40 SRP, Cytochrome Oxydase (COI) et les amorces du gène du marqueur nucléaire ITS (1 et 2), afin de caractériser les amorces spécifiques chez cette espèce. Aussi une étude phylogénétique sera réalisée pour le gène *cyt-b*.



MATERIEL ET METHODES

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Origine de la mer Méditerranée

L'origine de la Méditerranée est une histoire de mer et de terre qui commence à l'ère secondaire il y'a deux cent vingt millions d'années (Anonyme, 2000). La mer Méditerranée est formée par l'effondrement du continent hypothétique Nord-africain de la Tyrrhénide. Elle représente les restes de l'ancienne Téthys, mer plus vaste ayant séparé au cours des temps géologiques le continent Nord européen et le continent africain (Augier, 1973). Cet effondrement consécutif à la surrection des plissements alpins qui l'environnent de leurs reliefs jeunes, a formé deux bassins (occidental et oriental) séparés par un seuil de 135 m de profondeur entre la Sicile et la Tunisie. La mer Méditerranée est symbole de la mer bleue qui se distingue des autres mers du monde non seulement par le reflet de l'azur mais aussi par la limpidité et la transparence de ses eaux

2.2. Caractéristiques générales de la Mer Méditerranée

La Mer Méditerranée est une mer semi fermée, située entre les latitudes 30°N et 45°N et entre les longitudes 60E et 360 E ; elle est reliée à l'océan Atlantique par le détroit de Gibraltar (Anonyme, 2000). Cette mer intérieure possède une superficie globale de 2,51 millions de km². L'importance de cette masse d'eau à l'échelle régionale explique la grande extension spatiale du domaine climatique méditerranéen (Douguédroit, 1997). Elle est subdivisée en deux parties principales : la Méditerranée occidentale et la Méditerranée orientale (Tchernia, 1980, in Alhammoud, 2005). Chaque partie est elle-même formée de plusieurs bassins (Figure 2).

- La Méditerranée occidentale est formée de quatre bassins principaux : la mer d'Alboran, le bassin Algérien, le bassin Liguro-Provençal et la mer Tyrrhénienne (Alhammoud, 2005).
- La Méditerranée orientale comprend quatre bassins principaux : le bassin Ionien (BI), le bassin Levantin (BL), la mer Egée et la mer Adriatique.

Le bassin oriental possède une plateforme continentale plus étendue que le bassin occidental principalement en mer Adriatique et en mer Egée (Anonyme, 2000). Ils sont séparés par le détroit de Sicile d'une profondeur de 430 mètres.

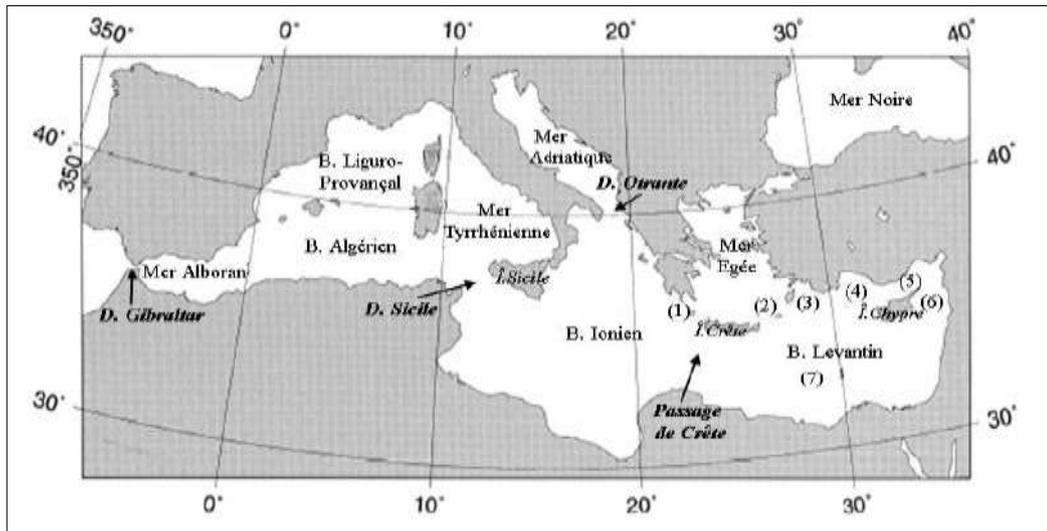


Figure 2 : Situation générale des bassins de la mer Méditerranée. (1) Détroits Ouest de l'Arc de Crète, (2) détroits Est de l'Arc de Crète, (3) Le Bassin de Rhodes, (4) le Bassin d'Antalya, (5) le Bassin Cilicien, (6) le Bassin de Lattaquié, (7) Les champs abyssaux d'Herodotus (in Alhammoud, 2005).

2.3. Bathymétrie de la Méditerranée

La Méditerranée forme un bassin de près de 3 millions de km², qui s'étire d'Est en Ouest sur environ 3800 km entre le détroit de Gibraltar et les côtes du Levant. En largeur, ses dimensions sont plus restreintes : 800 km entre Alger et Gênes pour son maximum mais seulement 140 km entre la Sicile et le Cap-Bon en Tunisie. Dans son couloir le plus étroit, au niveau du détroit de Gibraltar, ce sont 13 petits kilomètres qui séparent le Maroc de l'Espagne (Abis, 2004). Alors que les parties centrales du bassin occidental atteignent 2500 à 2900 m de profondeur, certaines zones du bassin oriental sont beaucoup plus profondes (Pérès, 1973). Le Bassin Levantin est la limite Est de la Méditerranée, il atteint une profondeur moyenne de 2500-3000 m (Figure 3). Ses plus profonds sous-bassins sont le Bassin de Rhodes (4000 m) et les champs abyssaux d'Herodotus (3500 m).

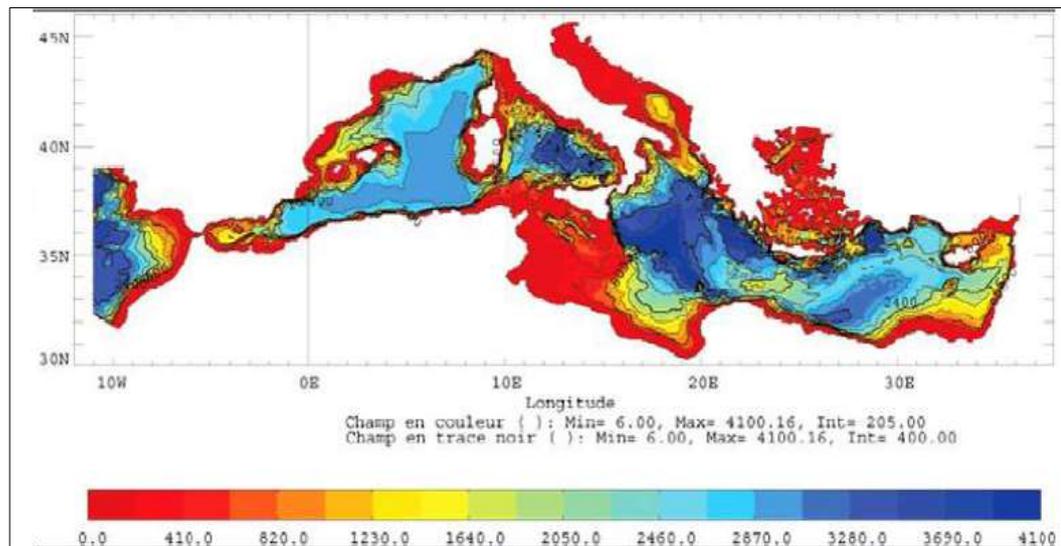


Figure 3 : Bathymétrie de la Méditerranée (en mètres) (*in* Alhamoud, 2005).

2.4. Circulation générale et masses d'eaux de la méditerranée

La mer Méditerranée est loin d'être une mer calme, mais les tempêtes n'atteignent jamais, dans ce bassin clos, la même durée et la même violence que celle de l'Atlantique (Augier, 1973). Les eaux superficielles, globalement refroidies en hiver et dont la salinité s'élève en rapport avec l'évaporation estivale, atteignent sous l'effet des coups de mistral une densité critique supérieure à celle des eaux sous-jacentes, elles plongent alors et créent une baisse du niveau en surface qui tend à être comblée par les eaux environnantes moins denses (Kantin *et al.*, 2006). D'après Pérès (1973), le bilan en eau de la Méditerranée est déficitaire, l'évaporation l'emportant sur les précipitations et les apports fluviaux, cette différence est compensée par l'océan Atlantique, ce qui, très schématiquement, correspond au niveau de Gibraltar, à un courant superficiel entrant de l'ordre de $10 \cdot 10^5$ m³/sec et à un contre-courant de sortie d'eau méditerranéenne des profondeurs intermédiaires de $95 \cdot 10^4$ m³/sec. Le courant d'origine Atlantique se dirige vers la Sicile (Figure 4). Une branche de ce courant remonte vers le Nord et le Nord-Ouest, longe la côte italienne où elle rencontre une autre branche qui longe l'Ouest de la Corse ; ensemble elles baignent les côtes liguro provençales et tournent dans le sens inverse des aiguilles d'une montre (Lacombe et Tchernia, 1972).

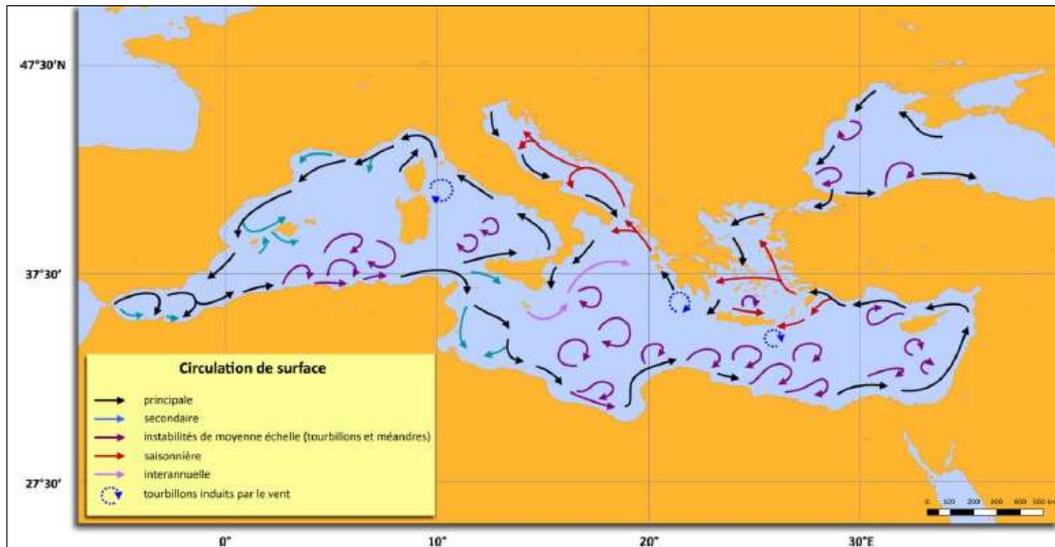


Figure 4 : Circulation superficielle en Méditerranée (Millot et Taupier-Letage, 2005).

2.5. Climat de la mer Méditerranée

Le climat constitue le moteur principal de la machine thermodynamique responsable de la circulation thermohaline méditerranéenne. Le système climatique méditerranéen est principalement caractérisé par des étés chauds et secs et des hivers relativement doux et humides, à l'exception de diverses régions du Sud et Sud-Est soumises à un climat aride (Anonyme, 2000 ; Alhammoud, 2005).

D'une manière générale, la température varie de 5 à 10°C durant l'automne et l'hiver et de 20 à 25°C durant l'été. La moyenne pluviométrique varie entre 400 et 700 mm, le minimum étant de 200 mm à Suez et le maximum de 1400 mm à Gêne et à Marseille.

2.6. Les biocénoses marines en Méditerranée

En Méditerranée, on peut distinguer deux types de biocénoses vu leur intérêt respectifs, les peuplements de substrats meubles et ceux de substrats durs (Kantin *et al.*, 2006) :

- **Les biocénoses des sédiments meubles** : représentent de larges étendues ; certaines unités sont remarquables au niveau de leur diversité et de leur rôle fonctionnel (zones de nurserie, protection du littoral...), et sont particulièrement sensibles à la contamination pélagique (par les particules qui constituent la vase) ou à l'enrichissement en matière organique dans le sédiment.

- **Les biocénoses des substrats rocheux** : ces biocénoses présentent de manière générale, un fort intérêt en termes de biodiversité, de production primaire macrophytique et de sensibilité à la qualité de l'eau.

À côté de ces deux types de biocénoses, la Méditerranée présente de nombreuses autres biocénoses qui constituent ses fonds. Citons les herbiers à magnoliophytes marines essentiellement les herbiers de posidonie (*Posidonia oceanica*), qui constituent d'immenses herbiers dans toute la Méditerranée. Les herbiers servent de frayère pour les poissons, dégagent de l'oxygène, produisent une biomasse qui sert de base à de multiples chaînes alimentaires, fixent les fonds et les sédiments, amortissent les houles et par la suite protègent les rivages et les plages (Molinier et Picard, 1952; Boudouresque et Meinesz, 1982).

Le coralligène est considéré également comme l'un des habitats ayant la plus haute valeur écologique de la Méditerranée en raison de sa richesse et de sa grande diversité. Le coralligène est un concrétionnement biogénique typique de la Méditerranée essentiellement constitué par des algues corallines vivantes dans des conditions de luminosité faible et dans des eaux relativement calmes (CAR/ASP, 2003). Ces constructions abritent une faune variée et riche ayant fréquemment des besoins et des relations très divers.

2.7. La biodiversité de la Mer Méditerranée

En Méditerranée, le nombre d'espèces, estimé à 12 000 espèces, est plus important dans le bassin Ouest que le bassin Est (Boudouresque, 2004). Selon une étude (Coll *et al.*, 2010), 17 000 espèces marines sont présentes en Méditerranée. Bien que l'homothermie profonde, constitue le facteur le plus important qui régit la distribution verticale du benthos méditerranéen (Emig & Geistdoerfer, 2004), d'autres facteurs interviennent également tels que, la salinité, la granulométrie, la pression, la nourriture disponible et l'hydrodynamisme. Cette variété de conditions conduit à un étage bathyal plus hétérogène que celui de l'océan Atlantique (Emig, 1989; Laubier et Emig, 1993).

Pour l'ensemble de la faune méditerranéenne, la tendance générale est un appauvrissement spécifique en allant de l'ouest vers l'est (Emig et Geistdoerfer, 2004). Par exemple les annélides polychètes sont plus nombreux dans le bassin occidental (884) que dans les autres mers du bassin oriental (Figure 5). Les espèces vivant dans les deux bassins, se trouvent toujours dans des zones

plus profondes dans le bassin oriental, ce qui est une tendance générale dans tous les océans, c'est-à-dire une distribution bathymétrique des espèces bathyales moins profondes sur la côte Ouest que sur la côte Est (Zezina, 1987).

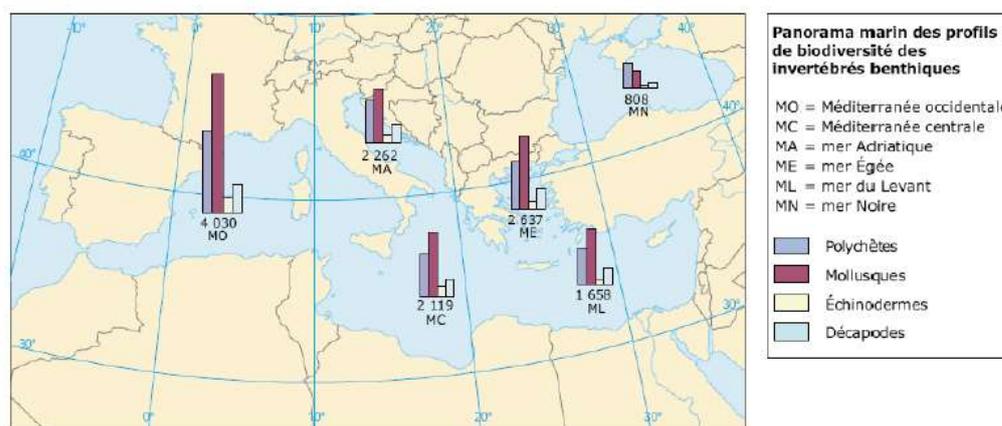


Figure 5 : Profils de diversité spécifique d'invertébrés benthiques en Méditerranée (Zenetos *et al.*, 2003 ; *in* Anonyme, 2006).

La flore de la mer Méditerranée ne constitue pas, en elle-même une unité géographique, elle représente 18% de la flore marine mondiale. Il existe en Méditerranée des espèces cosmopolites qui se retrouvent dans toutes les mers et océans du monde comme *Ulva lactuca* et autres *Enteromorpha*, particulièrement tolérantes s'adaptant à une grande variété de conditions écologiques et que l'on qualifie d'ubiquistes, eurythermes et euryhalines (Augier, 1973). Une des caractéristiques de l'écosystème méditerranéen est l'herbier de Posidonie *Posidonia oceanica*. Il est en même temps constructeur des fonds marins et stabilisateur des littoraux donc garant de la pérennité des rivages. Il représente aussi une zone de production primaire ainsi qu'un lieu de frayère et de nurseries pour de nombreuses espèces marines.

2.8. Rôle et place des polychètes dans la Mer Méditerranée

Les polychètes forment une classe de vers segmentés appartenant au phylum des Annélides. Ils constituent un groupe écologique uniforme dont la majorité des espèces vivent à la surface ou dans le sédiment. Les Annélides polychètes sont considérés comme le groupe d'invertébrés macrobenthiques le plus important en nombre d'espèces et le plus dominant en terme d'abondance et de biomasse et qui contribue, le plus, dans la totalité de la macrofaune benthique (Fauchald, 1977 et Knox, 1977). Les polychètes occupent la majorité des écosystèmes marins, mais ils sont plus abondants dans la zone littorale.

Le nombre actuel des polychètes est estimé de 25000 à 30000 espèces (Mackie *et al.*, 1997). Selon Arvanitidis *et al.* (2002), 1036 espèces de polychètes ont été signalées dans la mer Méditerranée et la mer Noire. Parmi ces espèces, 73 sont considérées comme Amphi-Atlantiques, 297 comme Atlanto-Méditerranéennes, 428 comme cosmopolites, 195 espèces endémiques et 44 comme espèces Indo-Méditerranéennes. Le nombre et le pourcentage des espèces de polychètes dans les différentes régions de la Méditerranée sont illustrés dans la figure 6. Une nette diminution en nombre d'espèces est enregistrée de l'Ouest vers l'Est de la Méditerranée. Les vers polychètes constituent un maillon essentiel dans la chaîne trophique marine, ils ont le même rôle écologique que les Oligochètes sur terre, ils fournissent de la nourriture à de nombreux animaux de la chaîne alimentaire (Toonen, 2003). Au niveau du benthos, ce sont des transformateurs actifs de la matière organique détritique en matière minérale assimilable par les végétaux. La diversité des régimes trophiques des polychètes leur permet de s'adapter à presque tous les milieux marins en adoptant leur structure trophique à ce qu'offre le milieu comme conditions de vie. Ils entrent aussi directement dans le régime alimentaire des Poissons et des Céphalopodes (Ben Amor, 1984).

Les Annélides polychètes constituent également un outil biologique efficace pour déceler les signes de dégradation du milieu grâce à leurs réponses face aux perturbations. L'importance de ce taxon dans la structure des communautés et le contrôle de la qualité de l'environnement a été étudiée par un certain nombre d'auteurs, notamment Pocklington et Wells, 1992 et Hutchings, 1998.

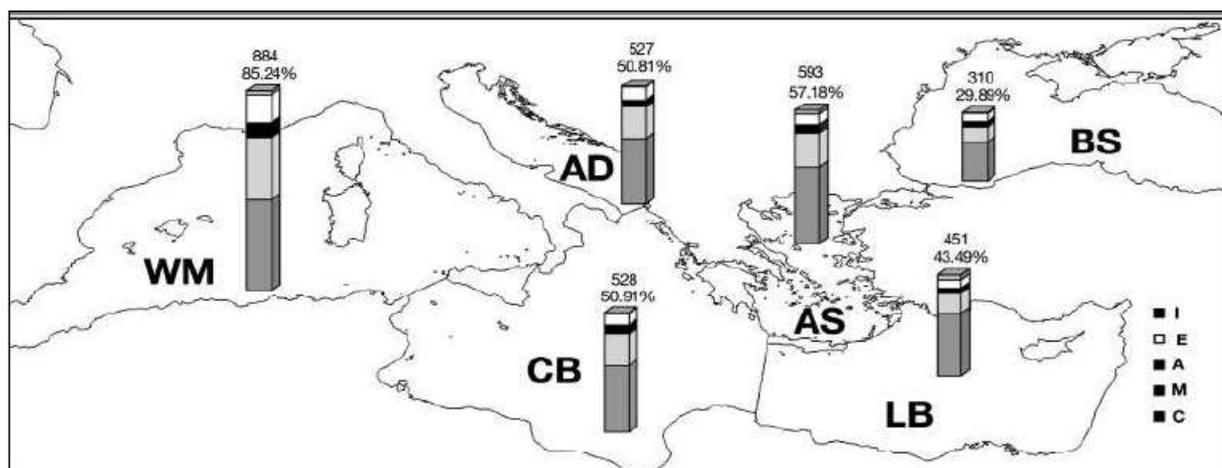


Figure 6 : Distribution des espèces d'Annélides polychètes dans les différents bassins de la Méditerranée. WM: Ouest Méditerranée; CB: bassin central; AD: Mer Adriatique; AS: Mer Égée; LB: Bassin Levantin; BS: Mer Noire; M: Atlanto-Méditerranéennes; A: Amphi-Atlantiques; C: Cosmopolites; E: Endémiques; I: Indo-Méditerranéennes (in Zaabi, 2013, Arvanitidis *et al.*, 2002).

2.9. Les menaces sur le littoral méditerranéen

La Méditerranée dans son ensemble compte environ 45000 Km de côtes. La population totale des pays côtiers méditerranéens est de 450 millions d'habitants environ. Ainsi, près de la moitié de la population méditerranéenne vit près de la côte (Kantin *et al.*, 2006). Ce surdéveloppement autour des côtes méditerranéennes a pour corollaire une augmentation de la pression anthropique et une raréfaction des zones où l'environnement est à l'état naturel et non atteint par l'anthropisation (Kantin *et al.*, 2006). Ceci fait que l'urbanisation du littoral et l'amplification des activités humaines est un des problèmes majeurs de la région méditerranéenne, conduisant souvent à une réduction de la biodiversité attribuable à la destruction et à l'altération physique des habitats (Anonyme, 2006). Les pollutions d'origine tellurique représentent 80% des pollutions affectant les eaux côtières, les 20% restant sont dues aux pollutions maritimes (Coudert, 2007). En termes de biodiversité, la Méditerranée est considérée comme une des mers les plus menacées de la planète. Cent quatre (104) (soit 0.01%) espèces en danger ont été recensées, parmi lesquelles l'emblématique phoque moine *Monacus monacus* et la tortue couanne *Caretta caretta*. Les invasions biologiques constituent, à l'échelle mondiale, la deuxième cause de perte de biodiversité, après la destruction physique des habitats. En Méditerranée, on dénombre près de 500 espèces marines non indigènes, introduites majoritairement (64%) via le canal de Suez et les navires. La plus médiatisée des invasions biologiques en Méditerranée concerne l'algue *Caulerpa taxifolia* et, dans une moindre mesure, l'algue *Caulerpa racemosa* (PNUE, 2007).

C'est pour cette raison que plusieurs espèces végétales et animales sont protégées en Méditerranée et mises sous surveillance. Citons par exemple comme espèces protégées, la Posidonie *Posidonia oceanica*, endémique de la Méditerranée, la Cymodocée *Cymodocea nodosa*, le corail rouge *Corallium rubrum* et la tortue couanne *Caretta caretta*.

2.10. Le littoral algérien

Le littoral algérien est situé sur la rive du bassin méditerranéen de direction générale SO-NE, il est caractérisé par un plateau continental réduit à l'exception dans la région d'El-Kala (wilaya d'El Tarf) à l'extrême Est et de Ghazaouet (Wilaya de Tlemcen) à l'extrême Ouest (Zeghdoudi, 2006). Il se présente comme une succession de baies et de golfes plus au moins ouverts séparés par des régions très escarpées. Les hautes falaises qui bordent en générale cette côte sont naturellement

soumises à des érosions marines et éoliennes. Le réseau hydrographique aboutissant en mer compte 31 oueds, dont les plus importants sont les oueds Tafna, Chelliff, Mazafran, El Harrach, Soummam, Sebaou, Isser, El Kebeir, Saf Saf, Seybouse. Ce réseau alimente le milieu marin en apports terrigènes. Les oueds constituent des collecteurs de tous les polluants issus des activités humaines, agricoles et industrielles. (Grimes, 2010).

L'Algérie dispose d'un littoral d'environ de 1600 Km, de la frontière algéro-tunisienne à l'Est à la frontière algéro-marocaine à l'Ouest. Les trois quarts de l'espace algérien sont soumis aux influences climatiques hyper-aride, aride et semi-aride. Les plaines littorales sont séparées des hautes plaines et des hauts plateaux de l'intérieur par le grand massif de l'Atlas tellien et bénéficient ainsi d'un climat moins torride et plus humide. La répartition spatiale des pluies sur cette longue bande de l'Algérie du Nord oppose un littoral oriental, relativement bien arrosé, aux plaines de l'ouest, plus sèches (Douguédroit, 1997). Le nord-Est de l'Algérie est un biotope caractérisé par la flore et une faune très riche, principalement au niveau du Parc National d'El-Kala (Benyacoub et chabi, 2000) (Figure 7).



Figure 7 : Littoral algérien (*in* Grimes, 2010).

2.11. Présentation des sites d'étude

Ce travail a été réalisé sur quatre sites au niveau du littoral Nord-Est Algérien : plage El-Mordjène à El-Kala, plage St-Cloud à Annaba, plage Stora à Skikda et enfin plage Ain dawla à Collo. Ces quatre sites ont servi pour l'étude de la biodiversité des annélides polychètes (Figure 8).

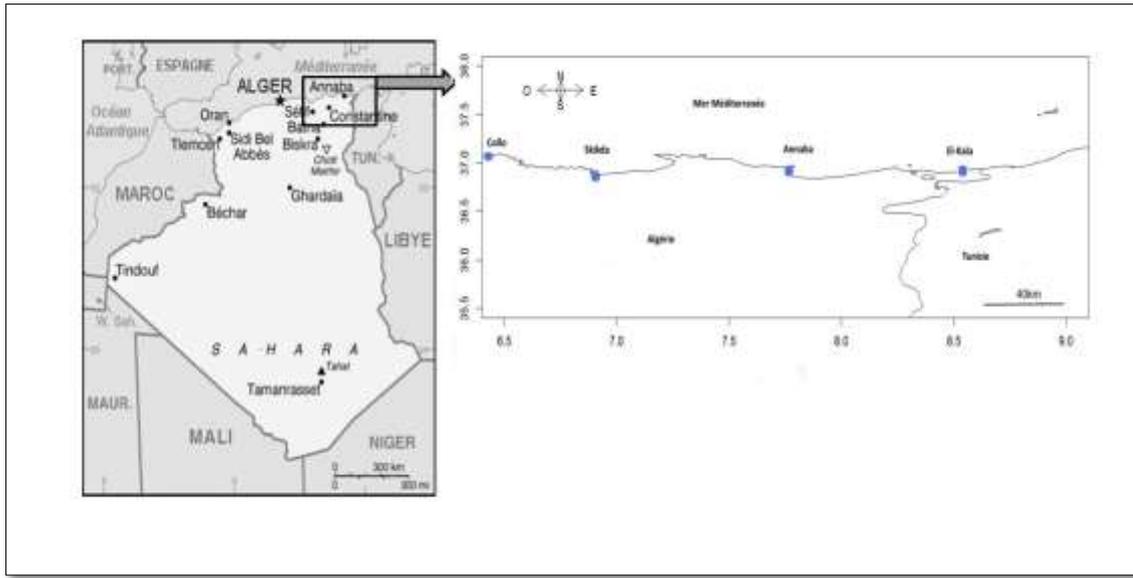


Figure 8 : Localisation des sites d'échantillonnage sur le littoral Est Algérien (El-Kala, Annaba et Skikda, Collo) (Meghlaoui, 2013).

2.11.1. Plage El-Morjène El-Kala :

La plage El-Morjène (El-Kala) est située dans la wilaya d'El-Taref à l'extrême Est de l'Algérie à 25 km de la frontière Tunisienne et à 80 km de la wilaya d'Annaba, sa position géographique : $36^{\circ}53'53.33''N$ et $8^{\circ}27'3.28''E$. Elle a servi de site de référence pour notre étude de par son éloignement de toute source polluante. Le site a été classé réserve de la biosphère par l'UNESCO en 1990.

C'est une zone humide formant un écosystème très riche en termes de biodiversité. Le site d'El-Morjène (El-Kala) est caractérisé par la dominance du granite dans la composition des roches de la zone intertidal et on trouve des grès numidien (grès : roche sédimentaire à gros grains composée de masses consolidées de sable déposé par le mouvement de l'eau ou du vent) (Figure 9).



Figure 9 : Localisation de plage El-Mordjène (El-Kala). © map data 2015 Google.

2.11.2. Plage St-Cloud Annaba :

La plage St-Cloud est située dans la wilaya d'Annaba, sa position géographique : $36^{\circ}54'5.79''N$ et $7^{\circ}45'22.20''E$. La plage St-Cloud est localisée près du port, de plus cette plage est caractérisée par la présence de polluants urbains et anthropiques. La baie reçoit des apports en eau douce par le biais du Oued Seybouse au Sud-Ouest qui véhicule des rejets d'origine agricoles, domestiques et industrielles (Khelifi-Touhami *et al.*, 2006 ; Ounissi, 2007).

Cette station reçoit d'autres rejets des effluents urbains (Khammar, 2007) et industriels de plusieurs usines installées sur la côte (Saker, 2007). Cette plage reste donc exposé à de grands risques de pollution marine d'origine tellurique, mais aussi celles provoquées par les navires. A Annaba les trottoirs et banquettes sont constituées de roches métamorphiques composées de gneiss et de quartzite. Le maximum de marnage dans ces régions est de l'ordre de 1 mètre (Rouabah, 2003) (Figure 10).



Figure 10 : Localisation de plage St-Cloud (Annaba). © map data 2015 Google.

2.11.3. Plage Stora (Skikda) :

Le troisième site d'échantillonnage est la plage de Stora dans la Wilaya de Skikda, sa position géographique : $36^{\circ}52'18.86''N$ et $6^{\circ}54'3.28''E$, située sur la côte de la ville de Skikda à 180 km de la frontière tunisienne. Ce site est caractérisé par la présence de polluants tels que les HAP et par l'implantation du complexe pétrochimique en plus des activités anthropiques. À Skikda, les roches sont composées essentiellement de gneiss paléozoïque et protozoïque du socle kabyle (Baoult, 1974).

Le littoral de Skikda est caractérisé par un trafic maritime intense ; des rejets urbains d'une grande ville ; et bien connu pour être affecté par les émissions de la zone industrielle pétrochimique. La pollution causée par le transport, la transformation et le stockage des hydrocarbures et leurs dérivés (Figure 11).



Figure 11 : Localisation de plage Stora (Skikda). © map data 2015 Google.

2.11.4. Plage Ain Dawla (Collo) :

La plage Ain Dawla est située dans la commune de Collo dans la wilaya de Skikda, à 250 km de la frontière tunisienne, et à 71 km à l'Ouest de la Wilaya de Skikda et à l'Est de la ville de Jijel et au Sud de la région de Tamalous. Sa position géographique : $37^{\circ}0'5.38''N$ et $6^{\circ}33'16.65''E$. La ville de Collo se situe à environ 70 km à l'Ouest de Skikda et 120 km au nord de Constantine.

C'est une région hautement touristique avec ses plages de sable fin, ses sites panoramiques avec vue imprenables sur la mer, ses vestiges historiques à très grande valeur historique et culturelle. La région de Collo tire ses revenus de la pêche et de la commercialisation et du

traitement du poisson. À Collo les roches sont composées essentiellement de granite, gneiss et de schiste socle kabyle (Figure 12).



Figure 12 : Localisation de plage Ain Doula (Collo). © map data 2015 Google.

2.12. Méthode de récolte :

Une récolte mensuelle a été effectuée sur une période de trois années, de janvier 2011 à décembre 2013 au niveau des quatre sites d'étude (El-Kala, Annaba, Skikda et Collo) du littoral Nord Est algérien. Les prélèvements ont été effectués au niveau de la zone intertidale avec des conditions climatiques et de vitesse de vent ≤ 10 Km/h et à marée basse. La technique d'échantillonnage est aléatoire simple, qui consiste à réaliser des prélèvements au hasard et de façon indépendante sur une superficie de 1m^2 de quadrat en utilisant des produits chimiques tels que l'eau de javel ou du KMnO_4 diluée à 10%, cette technique permet de forcer les animaux à quitter leurs galeries (Rouabah et Scaps, 2003). Ce type de procédé entraîne des destructions dramatiques de l'environnement et des ressources biotiques, et les vers récoltés avec cette méthode sont utilisés pour l'étude écologique.

Il existe une autre méthode qui consiste à racler la végétation à l'aide d'un grattoir. Ce mode de récolte est difficile, fatigant et demande beaucoup de temps. De plus, il est moins rentable dans la mesure où un nombre important de vers est sectionné suite au bris mécanique. Par conséquent, ce mode de récolte est de plus en plus abandonné et est remplacé par d'autres méthodes qui semblent être plus rentables car elles sont rapides et permettent surtout de prélever des individus entiers et en grande quantité. Les vers non amputés ont été utilisés dans les analyses biochimiques. la conservation se fait dans des bols avec des galeries de carton ou des algues naturelles à une température variant de 4 à 12°C , avec une durée de collecte des individus comprise entre 3 et 5 heures, selon les conditions météorologiques et de la densité des vers. Les vers ont été triés et

identifiés sous loupe binoculaire au laboratoire et les individus ont été individuellement pesés, après séchage sur papier filtre, afin de déterminer le poids frais essuyé. Le nombre de sétigères et la taille ont été déterminés et les vers ont été par la suite conservés dans de l'alcool à 96%, et ceux destinés pour les dosages ont été conservés dans les tampons de conservation (Figure 13).



Figure 13 : Méthode d'échantillonnage (A : Chimique et B : Par raclage).

2.13. Inventaire et biodiversité

Afin de définir la faune associée aux annélides, ainsi que la biodiversité des 4 sites d'étude, nous avons effectué une étude qualitative et quantitative des organismes échantillonnés. Les individus récoltés ont été identifiés et classés par groupes zoologiques, ce qui nous a permis de dresser une liste taxonomique ; ensuite le nombre d'individus a été comptabilisé, et exprimé par m² à la fois par récolte et par station.

2.14. Indices écologiques

Dans le but de déterminer la structure des communautés benthiques ainsi que leur diversité spécifique, on a eu recours à l'utilisation d'indices de composition tels que : la richesse spécifique (S) ; la richesse moyenne (S') ; La fréquence relative (F), et des indices de structure tels que : l'indice de diversité de Shannon et Weaver (H') et l'équitabilité (E). Ces méthodes servent habituellement à montrer les caractéristiques générales des communautés qui ne sont pas fonction de taxons spécifiques. Elles sont plus faciles à utiliser que les méthodes multivariées, mais tout

comme les méthodes graphiques et distributionnelles, elles ne sont pas aussi sensibles pour détecter les changements (Warwick et Clarke, 1991).

2.14.1. Indices de composition :

▪ **Richesse spécifique total (S)** : est le nombre d'espèces rencontrées dans la région d'étude (Blondel, 1975 ; Ramade, 1984).

▪ **Richesse moyenne (S')** : est exprimée par le rapport du nombre total d'individus (Ki) pour chacune des espèces sur le nombre total de relevés (N) effectuées (Blondel, 1975).

$$S' = Ki/N$$

▪ **La fréquence relative (f)** : elle permet d'étudier la distribution d'une espèce dans une région donnée et de dire si elle est commune, rare ou très rare (Dajoz, 1985). Elle est donnée par la formule suivante

$$f = ni/N \times 100$$

ni : abondance spécifique de l'espèce i.

N : abondance du peuplement.

Espèce commune : présente dans plus de 50% de relevés.

Espèce rare : présente dans 25 à 50% e relevés.

Espèce très rare : présente dans moins de 25% de relevés.

2.14.2. Indices de structure :

▪ **La diversité de Shannon et Weaver (H')**: la diversité d'un peuplement exprime le degré de complexité de ce peuplement. Elle s'exprime par un indice qui intègre à la fois, la richesse du peuplement et les abondances spécifiques. Parmi les indices disponibles permettant d'exprimer la structure du peuplement, nous avons retenu celui de Shannon et Weaver (1963).

$$H' = -\sum_{i=1}^n P_i \log_2 P_i \quad \text{où} \quad P_i = ni/N \quad \text{Log}_2 P_i = \text{Log } pi \times 3,322$$

ni : effectif de l'espèce i.

N : effectif total du peuplement.

H' est exprimé en Bit (Binary digit = unités binaires d'information)

Cet indice mesure le degré de complexité d'un peuplement. Une valeur élevée de cet indice correspond à un peuplement riche en espèces dont la distribution d'abondance est équilibrée. Par contre une valeur faible de cet indice correspond soit à un peuplement caractérisé par un petit nombre d'espèces pour un grand nombre d'individus, soit à un peuplement dans lequel il y a une espèce dominante (Magurran, 1988).

▪ **L'équitabilité :**

Elle constitue une seconde dimension fondamentale de la diversité (Ramade, 1984). L'équitabilité (H) est définie comme le rapport de la diversité spécifique (H') à la diversité maximale (H max) (Ponel, 1983), elle s'exprime comme suit :

$$E = H'/H' \text{ max} \quad \text{où} \quad H' \text{ max} = \text{Log}_2 S$$

Les valeurs de l'équitabilité varient entre 0 et 1. Quand E est inférieur à 0,5 et tend vers 0, ceci traduit que les effectifs des populations en présence sont en déséquilibre entre elles au sein d'un peuplement où une ou deux espèces seulement pullulent par rapport aux autres. Si E est supérieur à 0,5 et tend vers 1, il s'établit un équilibre entre les effectifs des différentes espèces composant cette population. (Barbault, 1981).

2.15. Impact de la pollution sur *Perinereis cultrifera*

Afin d'étudier l'impact de la pollution sur les écosystèmes marins, nous avons choisi trois sites du littoral algérien pour évaluer l'état des écosystèmes pour cela durant l'année 2011 :

- Prélèvements des paramètres physico-chimiques de l'eau de mer sur les trois sites : El-Mordjène (El-Kala), St-Cloud (Annaba) et Stora (Skikda).
- Dosage des hydrocarbures totaux de l'eau de mer au niveau des sites : El-Mordjène (El-Kala), St-Cloud (Annaba) et Stora (Skikda).
- Mesure des paramètres biométriques : Poids (g), Taille (mm), Nombre de sétigère chez *P. cultrifera*.
- Dosage des biomarqueurs (AChE, GST et CAT) chez *P. cultrifera* au niveau d'El-Mordjène (El-Kala), St-Cloud (Annaba) et Stora (Skikda).

2.15.1. Paramètres physico-chimiques de l'eau de mer

Il nous a paru important de mesurer certains paramètres physico-chimiques (Température, pH, O₂ dissous, Salinité, DBO₅) car ils donnent une appréciation préliminaire de la qualité et le degré de la pollution du milieu. Ils ont été mesurés *in situ*, au niveau des trois sites d'El Kala (Plage El-Morjane), Annaba (Plage Saint Cloud), Skikda (Plage Stora) avec un Oxymètre-multiparamètre (Multi 340 i/SET).

Lors d'études d'évaluation de la qualité du milieu marin, les caractéristiques physico-chimiques doivent être prises en compte et ce pour les raisons suivantes :

2.15.1.1. La température

La température est un paramètre important pour la caractérisation de la pollution des eaux marines (Chapman et Kimstach, 1996). En effet, diminuant la teneur en oxygène, les températures relativement élevées agissent comme pollutions additionnelles ayant ainsi des répercussions sur les cycles biologiques (*in* Gueddah, 2003)

D'un point de vue réglementaire, selon le décret exécutif n°93-160 du 10 juillet 1993, les rejets industriels ne doivent pas atteindre une température au-delà de 30°C.

2.15.1.2. Le pH

En milieux côtiers ou estuariens, certains rejets industriels ou apports d'eaux continentales sont la cause de variations du pH qui s'avère dans ce cas un indice de pollution (Aminot, 1983). Le paramètre de pH mesure la concentration des protons H⁺ contenus dans l'eau, et donc l'acidité ou l'alcalinité de l'eau sur une échelle logarithmique de 0 à 14. Il influence la plupart des mécanismes chimiques et biologiques dans les eaux. Habituellement (Chapman et Kimstach, 1996). L'importance de la mesure du pH, bien que très répandue, est en fait limitée aux effluents industriels. Il diminue en présence des teneurs élevées en matière organique et augmente en période d'étiage, lorsque l'évaporation est importante (Meybeck *et al.*, 1996).

Selon le décret exécutif n°93-164 du 10 juillet 1993 définissant la qualité requise des eaux de baignade, le pH ne doit pas dépasser une valeur limite comprise entre 6 et 8.

2.15.1.3. L'oxygène dissous

L'oxygène dissout est un paramètre très important car il est responsable de la majorité des processus biologiques des écosystèmes aquatiques. (*in* Gueddah, 2003). La nitrification de l'azote ammoniacal est une source de déficit en oxygène, par ailleurs, des développements de phytoplanctons en zones eutrophes, peuvent engendrer des sur-saturations.

L'appauvrissement du milieu en oxygène dissout provoque l'apparition de pollutions bactériologiques impliquant des maladies infectieuses, alors que le phénomène de corrosion est proportionnel aux teneurs élevées de l'oxygène dissous.

Selon le décret exécutif n°93-164 du 10 juillet 1993 définissant la qualité requise des eaux de baignade, Le taux de saturation en oxygène ne doit pas dépasser une valeur limite comprise entre 80 et 120%.

2.15.1.4. La salinité

Dans l'étude du milieu marin, la mesure de la salinité est importante du fait qu'elle exerce une influence significative sur la densité de l'eau de mer. Représentant la proportion de sels minéraux dissous dans l'eau de mer, elle permet d'identifier les masses d'eaux d'origine différentes et de suivre leurs mélanges au large comme à la côte.

Comme la température, la salinité joue un rôle non négligeable dans le maintien de certains processus biologiques en combinaison avec d'autres facteurs (Damiens *et al.*, 2000).

2.15.1.5. DBO₅

La DBO₅ traduit la quantité d'oxygène moléculaire utilisée par les microorganismes pendant une période d'incubation de 5 jours à 20 °C pour décomposer la matière organique, dissoute ou en suspension, contenue dans un litre d'eau. D'après Chapman et Kimstach (1996), la DBO₅ des eaux naturelles est inférieure à 2 mg/l. Les eaux recevant des rejets domestiques présentent des concentrations supérieures à 10 mg/l.

La DBO₅ est exprimée aussi la quantité d'oxygène nécessaire aux microorganismes décomposeurs pour dégrader et minéraliser en 5 jours la matière organique présente dans un litre d'eau polluée. Plus la DBO₅ est élevée, plus la quantité de matières organiques présentes dans l'échantillon est élevée.

2.15.2. Les hydrocarbures totaux dans l'eau de mer

2.15.2.1. Présentation des HAP

Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) sont une série d'hydrocarbures dont les atomes de carbone sont disposés en anneaux fermés (benzénique) unis les uns aux autres sous forme de groupes (4 à 7 noyaux benzéniques). Ces composés sont générés par la combustion de matières fossiles (notamment par les moteurs diesels) sous forme gazeuse ou particulaire. Le plus étudié est le benzo(a)pyrène (*in* Geffard, 2001).

Les composés organiques sont représentés par plusieurs classes, les alcanes, les polychlorobiphényles (PCB), les pesticides, les dioxines et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Ces composés proviennent de sources diverses et ont des propriétés chimiques différentes. Ils sont stables, lipophiles et possèdent au moins un noyau aromatique (*in* Geffard, 2001).

Les HAP sont des hydrocarbures formés de cycles benzéniques condensés sous forme linéaire ou angulaire. La figure 14 représente les différents HAP et ont été choisis parmi les polluants prioritaires définis par l'Agence pour la Protection de l'Environnement Américaine (EPA) en raison de leur toxicité et de leurs propriétés mutagènes (Keith et Teillard, 1979). De plus, en comparaisons aux PCB et dioxines, peu de normes environnementales ont été établies pour ces contaminants (Ex : Géode pour les boues de dragage), alors qu'ils sont encore actuellement générés et déversés dans l'environnement.

Les HAP ont trois origines ; la plus importante est la source pyrolytique qui correspond à la combustion incomplète de la matière organique à haute température (Neff, 1979 ; McElroy *et al.*, 1989). La seconde est pétrogénique, elle correspond à tous les déversements de pétrole dans l'environnement (naturels ou anthropiques). Enfin la dernière, moins importante, est la diagenèse précoce, processus qui transforme les dépôts sédimentaires et les roches en pétrole. (Neff, 1979 ; McElroy *et al.*, 1989). Les apports en HAP dans l'environnement résultent de phénomènes naturels (feux de forêts, éruptions volcaniques ou fuites de réserves naturelles de pétrole), mais surtout d'activités humaines, comme la combustion du pétrole, charbon, gaz naturel ou du bois (sources

pyrolytiques) ou encore le déversement de pétrole lors de son exploitation, de son transport ou lors des opérations de dégazage (sources pétrogéniques).

Les divers processus de formation des HAP génèrent des distributions différentes pouvant être utilisées comme empreinte moléculaire. Plusieurs indices (rapport de la concentration entre deux HAP) ont été développés afin de pouvoir identifier la source des HAP présents dans une matrice sédimentaire. Certains de ces indices, correspondant aux rapports de concentration entre isomères, sont présentés dans le tableau 1.

Le passage des hydrocarbures dans l'organisme humain s'effectue par inhalation, par ingestion, mais également par transfert au travers de la peau. Plusieurs études épidémiologiques en milieu professionnel ont montré que le Benzène et les HAP sont impliqués dans l'apparition de certaines formes de cancers chez l'homme. Les HAP peuvent avoir un caractère toxique aigu ou chronique, mais également un effet mutagène (génotoxicité) (*in* Geffard, 2001). Une des caractéristiques en ce qui concerne la toxicité des HAP, est la différence d'effets biologiques que l'on peut observer entre deux isomères (Ex, le BeP et le BaP). La génotoxicité de ces composés est affectée par leur transformation au sein des organismes. Au cours des mécanismes de détoxification (augmentation du caractère hydrosoluble du composé pour être éliminé), il peut y avoir formation de composés électrophiles qui se fixent sur les sites nucléophiles de l'ADN et de l'ARN, provoquant des dysfonctionnements cellulaires, pouvant conduire au développement de cancers.

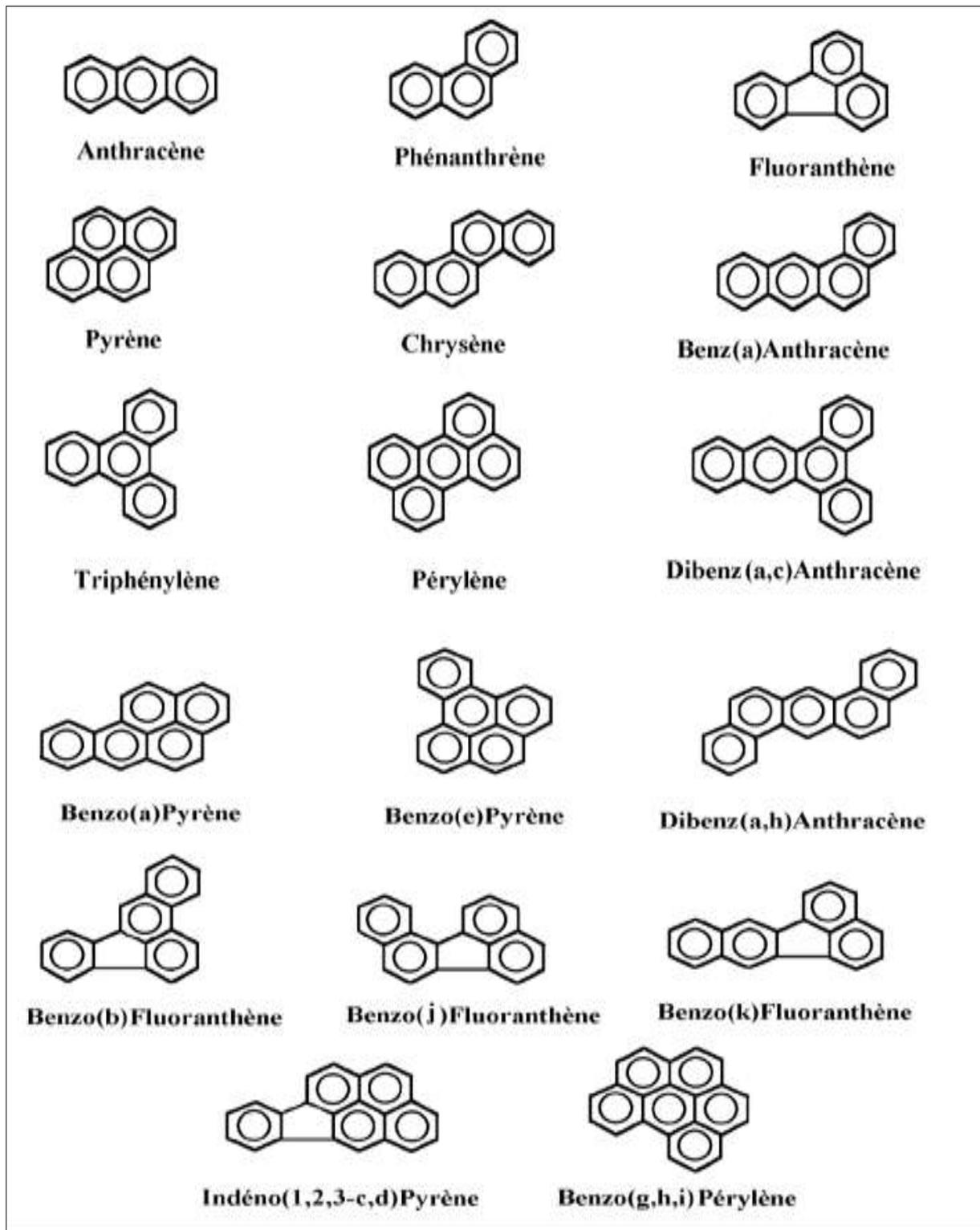


Figure 14 : Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (*in* Geffard, 2001).

Tableau 1 : Valeurs de quelques indices moléculaires caractérisant l'origine des HAP (Thompson, 1999, in Geffard, 2001).

| Indice | Phe/An | Fluo/Pyr | Chrys/BaA | BeP/BaP |
|------------------------|--------------------------------|-------------|---|----------------|
| Source Pyrolytique | 1-10 | >1 | < 1 | < 2 |
| Source pétrogénique | >25 | < 1 | >1 | >5 |
| Références | Garrigues <i>et al.</i> , 1995 | Soclo, 1986 | Sicre <i>et al.</i> , 1987 Raoux, 1991 | Broyelle, 1997 |

2.15.2.2. Extraction et dosage des hydrocarbures totaux

L'extraction des hydrocarbures à partir des échantillons est effectuée selon la norme AFNOR T 90-114. Les hydrocarbures totaux sont constitués par des produits extractibles par le trichlorométhane (CHCl₃) en milieu acide, puis dosés après purification par spectrophotométrie Ultraviolet/visible à une longueur d'onde de 400 nm (selon la loi de Beer Lambert).

Un volume de 500 ml d'échantillon est versé dans une ampoule à décanter et acidifié par 1 ml d'acide chlorhydrique HCl à 50 %, auquel on ajoute 2 à 3 gouttes d'un indicateur coloré mixte (constitué de rouge de méthyle, de vert bromocrésol et dilué dans l'alcool éthylique) permettant de contrôler le pH. On ajoute 50 ml de CHCl₃ au milieu réactionnel, suivi de plusieurs agitations dynamiques avec une purge de l'ampoule après chaque agitation. Le temps de décantation est de quelques minutes. La phase organique recueillie (CHCl₃) est filtrée sur du papier filtre contenant le sodium disulfate Na₂S₂O₂, pour éliminer toutes traces d'humidité. Le dosage de l'échantillon filtré se fait grâce au spectrophotomètre UV/Visible de type CE 1021-CECILX avec des cellules en quartz de 10 mm d'épaisseur.

Après la réalisation de la gamme d'étalonnage de 0 à 25 ppm, lire les absorbances de l'étalon et des échantillons à analyser, à une longueur d'onde de 400 nm. Les concentrations finales des hydrocarbures totaux sont calculées en mg/l et/ou mg/g à partir de l'équation de la droite de régression de la courbe d'étalonnage.

2.15.3. Les bioindicateurs de pollution

L'essentiel des contaminants de l'environnement aquatique induits par les activités humaines se retrouvent dans les écosystèmes. Pour être plus pertinent, le biomonitoring doit donc s'orienter vers l'utilisation de modèles biologiques les plus représentatifs de ce compartiment (Durou *et al.*, 2007 (a)). Le recours à des méthodes basées sur des observations qualitatives et/ou quantitatives des organismes vivants dans les milieux naturels est rapidement apparu comme un moyen potentiel de pallier les insuffisances des méthodes d'analyses chimiques. Ainsi, dès le début du XX^e siècle, les organismes aquatiques ont été utilisés comme indicateur de la qualité de l'eau des rivières (Lagadic *et al.*, 1998), d'où le nom de bioindicateur défini comme espèces ou groupes d'espèces qui, par leur présence et/ ou leur abondance, sont significatifs d'une ou de plusieurs propriétés de l'écosystème dont ils font partie (Guelorget et Perthuisot, 1984). D'innombrables travaux ont été publiés sur l'emploi de bioindicateurs tels que les espèces bioaccumulatrices destinés à évaluer la qualité des milieux naturels. En effet, l'accumulation de certains polluants par les organismes bioaccumulateurs facilite leur mise en évidence et leur quantification par des méthodes chimiques et/ou physiques (Amiard *et al.*, 1989). De plus, les espèces bioaccumulatrices retenues comme bioindicateurs sont en général des espèces sessiles, abondantes, relativement résistantes aux toxiques et d'une durée de vie suffisante qui leur confère une capacité d'intégration des variations de la qualité du milieu (Amiard *et al.*, 1989). La palourde *R. decussatus* et la coque *C. glaucum* ont été utilisées comme bioindicateurs de pollution métallique de leur environnement (Machreki-Ajimi et Hamza-Chaffai, 2006 ; Smaoui-Damak *et al.*, 2004). En effet, la palourde a été utilisée par le réseau national de surveillance des zones de production des mollusques bivalves qui a été mis en place depuis 1995, ainsi que les mollusques bivalves (*Scrobicularia plana*, *Cerastoderma edule* et *Mytilus edulis*), un annélide polychète (*Nereis diversicolor*), et un poisson benthique (*Pomatoschistus microps*) qui ont déjà fait l'objet de diverses études de biomarqueurs (Durou *et al.*, 2007 (a) ; Durou et Moureyrac, 2007 (b) ; Durou *et al.*, 2007 (b) ; Durou *et al.*, 2008 ; Mouneyrac *et al.*, 2008 ; Bergayou *et al.*, 2009 ; Bocquéné *et al.*, 2004 (b) ; Vieira *et al.*, 2008).

Nous avons choisi *P. cultrifera* pour notre étude de par son abondance dans différents habitats typiquement marin, sa présence tout au long de l'année en quantité assez importante, sa facilité à être échantillonnée, identifiée et maintenue en laboratoire, sa résistance aux facteurs environnementaux naturels comme : la variation de la salinité (Michel, 1898 ; Ferronnière, 1911 ; Regnard, 1913 ; Smith, 1955, 1956 ; Clark et Haderlie, 1960 ; Bogucki et Wojtezak, 1964 ; Smith, 1964 ; Fletcher, 1974 ; Heip et Herman, 1979 ; Nelson-Smith *et al.*, 1990 ; Ozoh et Jones, 1990 ;

Healy, 1997 ; Scaps, 2002), de température (Garwood et Olive, 1981 ; Lambert *et al.*, 1992), de la période d'hypoxie (Theede *et al.*, 1969 ; Gamenick *et al.*, 1996), des perturbations physiques (Bonsdorff, 1980 ; Lewis *et al.*, 2003) et chimiques, Comme tous les polychètes, elle joue un rôle important dans la bioturbation et le transfert de matière organique et des nutriments de la colonne d'eau vers le sédiment. Vu que cette espèce vit dans les galeries qu'elle construit dans les sédiments (Scaps *et al.*, 1998), elle est en contact étroit avec les polluants. Les travaux de Luoma et Bryan. (1982) ont rapporté qu'elle présente des concentrations en cuivre, directement liés à celle de sédiment. D'autres études confirment sa facilité d'accumuler des contaminants comme le cadmium et le zinc (Volpi Ghirardini *et al.*, 1999) et l'arsenic (Waring et Maher, 2005). En considérant ces caractères biologiques et écotoxicologiques, on peut donc utiliser *P. cultrifera* comme espèce bioindicatrice de pollution marine.

2.15.3.1. Présentation du matériel biologique : *P. cultrifera*

P. cultrifera, annélide polychète de la famille des *Nereidae* a été décrite par Grube en 1840, elle est présente en Mer du Nord, Atlantique, du pourtour méditerranéen (Algérie, Espagne, France, Italie, Tunisie) ainsi que dans l'Océan Indien et l'Océan Pacifique (Fauvel, 1923 ; Durchon, 1957). *P. cultrifera* construit des galeries sous les blocs dans les sédiments hétérogènes et Durchon (1951) a même signalé, qu'au voisinage de la manche, elle était capable de creuser des galeries dans les strates de calcaire bathonien d'où l'appellation *Perinereis cultrifera* qui vient de la capacité du ver à creuser des galeries dans la roche. Du latin *cultrifera* qui vient de couteau ou couper dans la roche.

Perinereis cultrifera a été classé par (Fauchold et Bellan, 2009).

| | |
|------------------------|-----------------------------------|
| Règne : | Animal |
| Embranchement : | Annélide |
| Classe : | Polychète |
| Sous classe : | Aciculata |
| Ordre : | Phylloclodocide |
| Famille : | Nereididae (Johnston, 1865) |
| Genre : | <i>Perinereis</i> (Kinberg, 1866) |
| Espèce : | <i>cultrifera</i> (Grube, 1840). |

2.15.3.1.1. Morphologie externe

P. cultrifera (Grübe, 1840), est un ver qui mesure 3 à 6 centimètres de long et 4 à 5 mm de large. Le corps est divisé en une centaine de métamères, tous semblables, à l'exception des deux segments les plus antérieurs constituant la tête, et du dernier segment ou pygidium. A la tête font suite un grand nombre de segments munis latéralement de parapodes portant des faisceaux de soies chitineuses (Figure 15).



Figure 15 :Vue générale de *Perinereis cultrifera* (Photo $\times 8$).

La tête ou région céphalique (Figure 16), caractérisé par la présence de la bouche et des organes sensoriels. Elle est formée du prostomium, en avant de la bouche ventrale, et du péristomium, qui porte cette bouche.

Le prostomium, ou acron, triangulaire, porte dorsalement deux paires d'yeux simples, et plus en avant, une paire d'antennes filiformes. Ventralement et latéralement, deux palpes renflés sont insérées au voisinage de la bouche. Le prostomium, comme d'ailleurs le pygidium, n'est pas homologue des autres segments, il ne présente pas extérieurement d'expansions locomotrices, ni intérieurement de cœlome, son origine embryologique est d'ailleurs différente.

Le péristomium porte ventralement la bouche, latéralement il présente des organes sensoriels allongés, les cirres tentaculaires, au nombre de quatre paires. De tels cirres se retrouvent sur les parapodes du tronc, avec deux paires pour chaque métamère ; on doit considérer les cirres du péristomium, très allongés, comme dérivant de parapodes réduits dans leurs autres parties ; on est donc conduit à considérer le prostomium comme résultant de la fusion de deux métamères.

À la bouche fait suite le pharynx, qui peut se dévagner en se retrouvant et se projetant extérieurement, il dépasse alors largement le prostomium et forme une trompe armée d'épaississements chitineux. Le pharynx invaginé est visible par transparence.

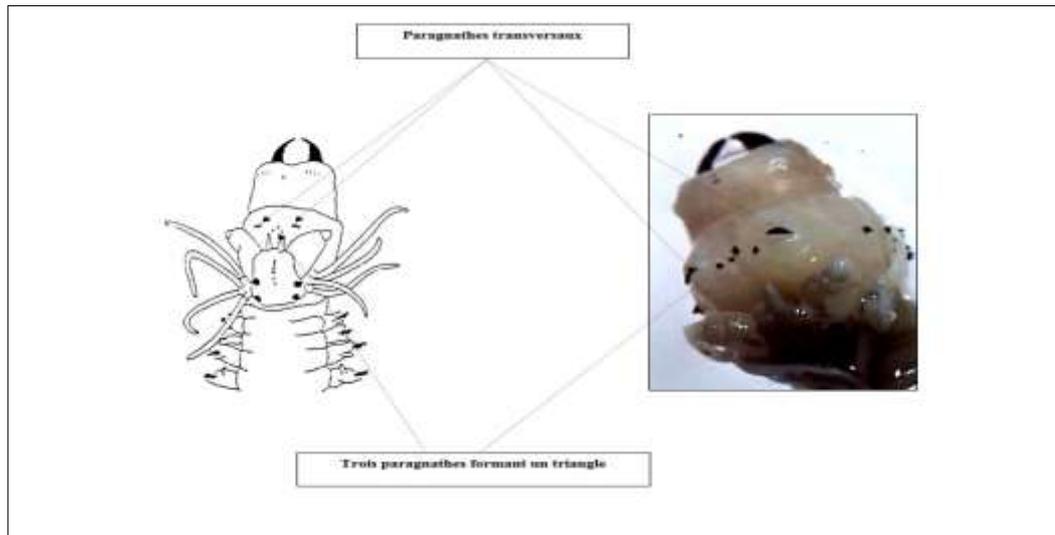


Figure 16: Partie antérieure dorsale de *Perinereis cultrifera*. (Photo x 10).

Le tronc, où la segmentation externe bien visible correspond à la métamérisation. Il est formé de nombreux métamères, plus petits à l'extrémité postérieure, où ils se forment successivement, tant que l'animal grandit, en avant du pygidium. Chaque métamère présente latéralement une paire d'expansions de la paroi du corps, les parapodes, à rôle locomoteur (Figure 17).



Figure 17 : Région antérieure et médiane de *P. cultrifera*, vue dorsale ; montrant la métamérisation du corps (Photo x 2,5).

Un parapode est divisé en deux rames, une rame dorsale ou notopode, une rame ventrale ou neuropode. Chaque rame porte un bouquet de soies chitineuses et est soutenue par une baguette chitineuse, l'acicule, elle présente encore un prolongement sensoriel filiforme; le cirre, il existe une cirre dorsal et une cirre ventral, à chaque parapode (Figure 18).

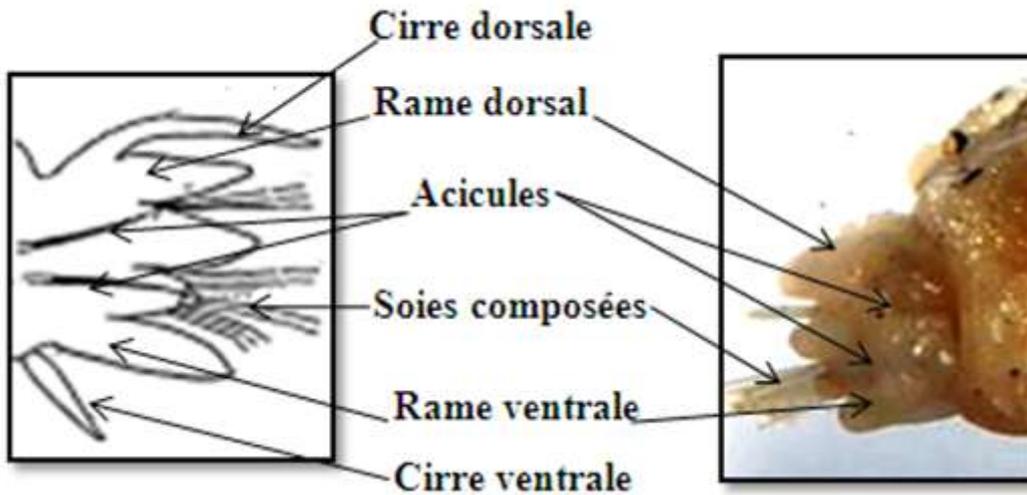


Figure 18 : Organisation d'un parapode de *P. cultrifera* (Photo x 16).

Le pygidium, partie postérieure qui porte l'anus (Figure 19), qui est terminal. Comme le prostomium, le pygidium n'est pas homologue des autres segments, ce n'est pas un métamère, il ne présente pas de parapodes et ne comporte pas de cœlome. Il montre deux fins prolongements tactiles, les cirres caudaux.



Figure 19 : Partie postérieure de *P. cultrifera*, vue dorsale; montrant le pygidium (Photo x 8,5).

2.15.3.1.2. Anatomie interne

Une coupe transversale pratiquée dans un segment moyen permet de situer les différents organes. Sous l'épiderme se trouve une couche de muscles circulaires transversaux et quatre muscles longitudinaux (Figure 20). Dans l'espace laissé libre par la masse musculaire, chaque segment comporte une paire de sacs cœlomiques. Le tube digestif s'étend en ligne droite dans l'axe longitudinal du corps et se différencie dans sa partie antérieure en une trompe garnie de denticules cornés ou paragnathes et portant deux mâchoires. Le système circulatoire est entièrement clos et est

constitué d'un vaisseau ventral et d'un vaisseau dorsal reliés entre eux au niveau de chaque segment par une paire de vaisseaux se ramifiant dans les parapodes. Les produits génitaux sont situés dans le coelome et flottent librement dans le liquide coelomique où ils poursuivent leur développement. Arrivés à maturité, les produits génitaux seront libérés dans l'eau de mer où s'effectuera la fécondation. Les animaux ne survivent pas à la suite de l'émission des produits sexuels, ils sont donc dits smelpares.

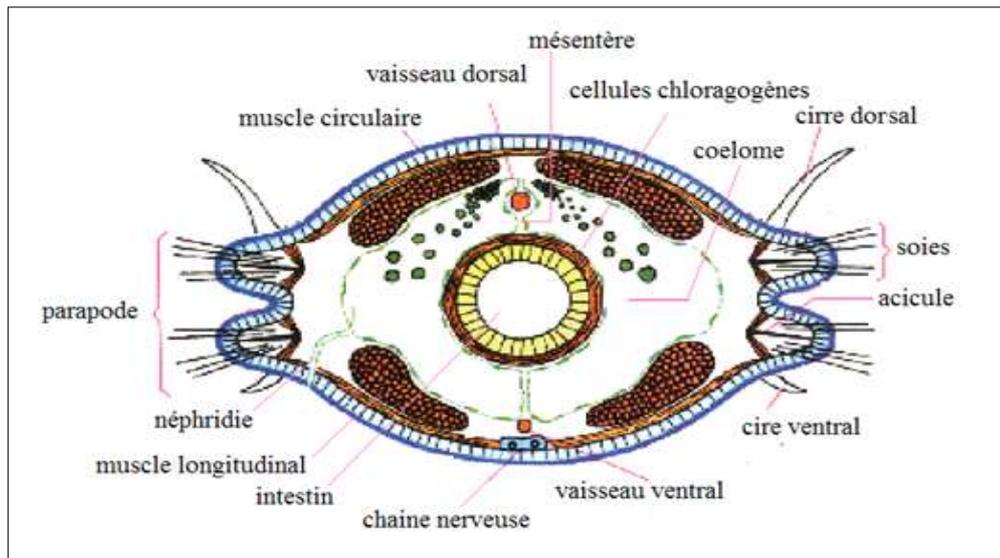


Figure 20 : Coupe transversale d'un segment moyen du corps d'un Néréidés (Beaumont et Cassier, 1987).

2.15.3.1.3. Critères d'identification

L'identification de notre matériel biologique est basée sur la forme et la répartition des paragnathes éléments clés de la description du genre *Perinereis*. Les caractères morphologiques des parapodes et de la structure des soies peuvent être également examinés.

La présence simultanée de deux antennes, deux pattes et quatre yeux sur un prostomium bien individualisé, de quatre paires de cires tentaculaires, une paire de mâchoires dentelées des parapodes biramées et des soies composées, nous conduit à la famille des *Nereidae* (Fauchald, 1977).

L'observation des deux anneaux terminaux (I, II, III, IV) et oraux (V, VI, VII, VIII) montre que le nombre des paragnathes diffère fortement selon la localisation géographique (Rouabah et Rouabah, 2007 ; Rouabah *et al.*, 2009).

L'observation d'un gros paragnathe en forme de barre transversale zone VI de chaque côté est caractéristique du genre. L'observation de petits cônes en forme de triangle zone V est caractéristique de l'espèce.

Au niveau des zones VII et VIII, une double rangée transversale des paragnathes forme ce qu'on appelle le double collier. Les parapodes sont biramés à l'exception des deux métamères et portent des soies (Figure 21).

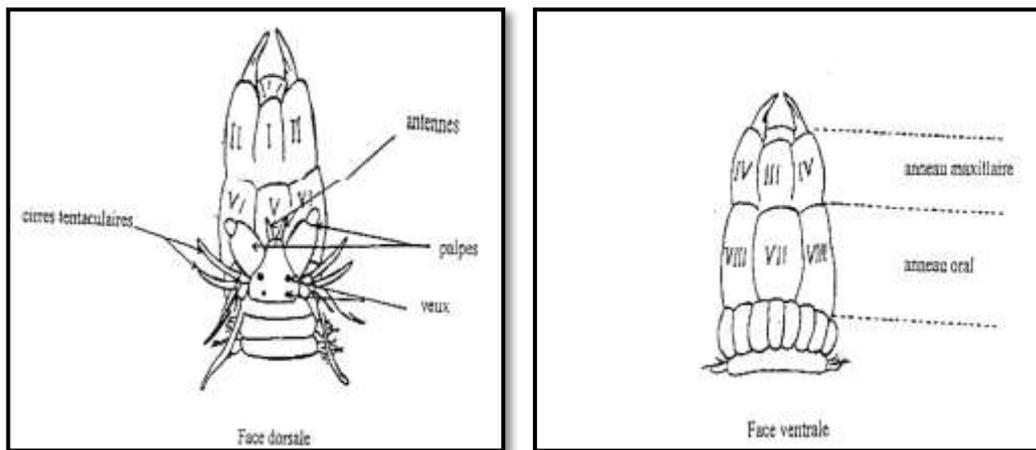


Figure 21 : Tête et trompe extroversée de *Nereidae*. Les chiffres romains indiquent l'ordre des groupes de paragnathes (Fauvel, 1923).

2.15.3.1.4. Différenciation des sexes

Le sexe de *P. cultrifera* a été mis en évidence par un examen macroscopique à l'aide d'une loupe binoculaire du contenu cœlomique. Une courte incision à l'aide d'une épingle a été faite au niveau de la ligne médio ventrale du corps.

Trois catégories ont été identifiées :

- Absence de gamètes : les vers sont dits indifférenciés ou asexués.
- Présence de gamètes sphériques de couleur jaune claire : les ovocytes indiquant les femelles matures de grande taille clairement visibles à travers la paroi du corps.
- Visualisation des amas spermatiques de couleur blanc laiteux correspondant aux mâles.

2.15.3.1.5. Cycle de développement

Le cycle de vie de certaines espèces d'annélides polychètes est caractérisé par des transitions écologiques qui s'opèrent à deux niveaux (Porchet, 1996), une transition liée au développement et à la croissance des adultes et, une autre, liée à la reproduction (dissémination de l'espèce).

En 1992, Scaps a mis en évidence que la structure dimensionnelle de la population de *P. cultrifera* localisée à la pointe de Corn Ar Gazel dans le Finistère varie selon le niveau bathymétrique (Figure 22). Les juvéniles principalement localisées dans le haut de la zone à *Fucus serratus* migrent au cours de la phase de croissance et de différenciation sexuelle vers le bas de cette même zone où s'accomplissent les transformations morpho-anatomiques liées à l'épitoquie. Les adultes benthiques quittent leur galerie et montent dans la colonne d'eau la nuit pour libérer leurs gamètes. Cette libération des gamètes est synchrone. La fécondation se fait dans la colonne d'eau (fécondation externe), le zygote se dépose et adhère au substrat. La libération des gamètes se fait par éclatement de la paroi du corps et entraîne la mort des individus, il s'agit donc d'une espèce semelpare.

En 1970, Cazaux a décrit le cycle de vie de cette espèce dans le bassin d'Arcachon et a souligné son caractère « benthopélagique » à phase semi-pélagique brève. Les œufs sont lécitotrophes et benthiques et, dans le cas de la forme atoque de *P. cultrifera* pourrait être incubée par le mâle (Pérès et Rancurel, 1948) ou par la femelle (Durchon, 1957 ; Cazaux, 1970). La fécondation est externe et a lieu dans l'eau de mer. L'œuf fécondé subit un développement embryonnaire qui conduit à une larve trocophore lécitotrophe qui se métamérise en métatrocophore. L'éclosion a lieu au stade erpochète (3 sétigères, 10 jours). Les larves dont les couronnes ciliaires peu développées limitent l'entraînement en pleine eau, rampent le plus souvent sur le fond « phase semipélagique » ou demeurent dans le tube parental dans le cas de la forme atoque. Au terme de la phase semi-pélagique, la sédentarisation a lieu au stade erpochète 4 sétigères (obtenu après 19 jours sous conditions expérimentales dans une eau à 12°C).

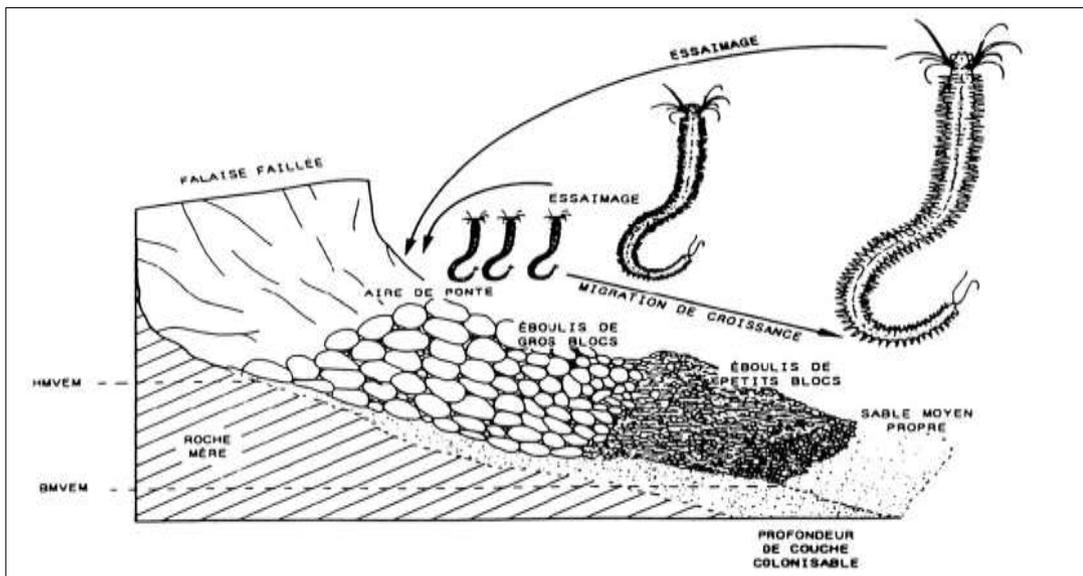


Figure 22 : Distribution spatio-temporelle des individus de *Perenereis cultrifera*. **HMVEM** : hautes mers de vives eaux moyennes ; **BMVEM** : basses mers de vives eaux moyennes. (Scaps *et al.*, 1992).

Les erpochètes perdent leur ciliature et deviennent totalement benthiques. Le juvénile, jeune ver de 10 à 11 sétigères adopte le mode de vie de l'adulte. Selon Herpin (1925) et Cazaux (1965), au cours de la première année, les individus privilégient la croissance segmentaire. Pendant la seconde année, la croissance pondérale domine et la différenciation sexuelle s'affirme ; la maturité sexuelle est atteinte à la fin de la troisième année (Figure 23).

D'après Scaps (2000), le comportement des larves de *Perinereis cultrifera*, dont les couronnes ciliaires extrêmement peu développées limitent leur entraînement en pleine eau, favorise l'isolement géographique des individus présents d'une part en Manche-Atlantique et d'autre part en Méditerranée, ce qui aurait mené à terme à une spéciation allopatrique.

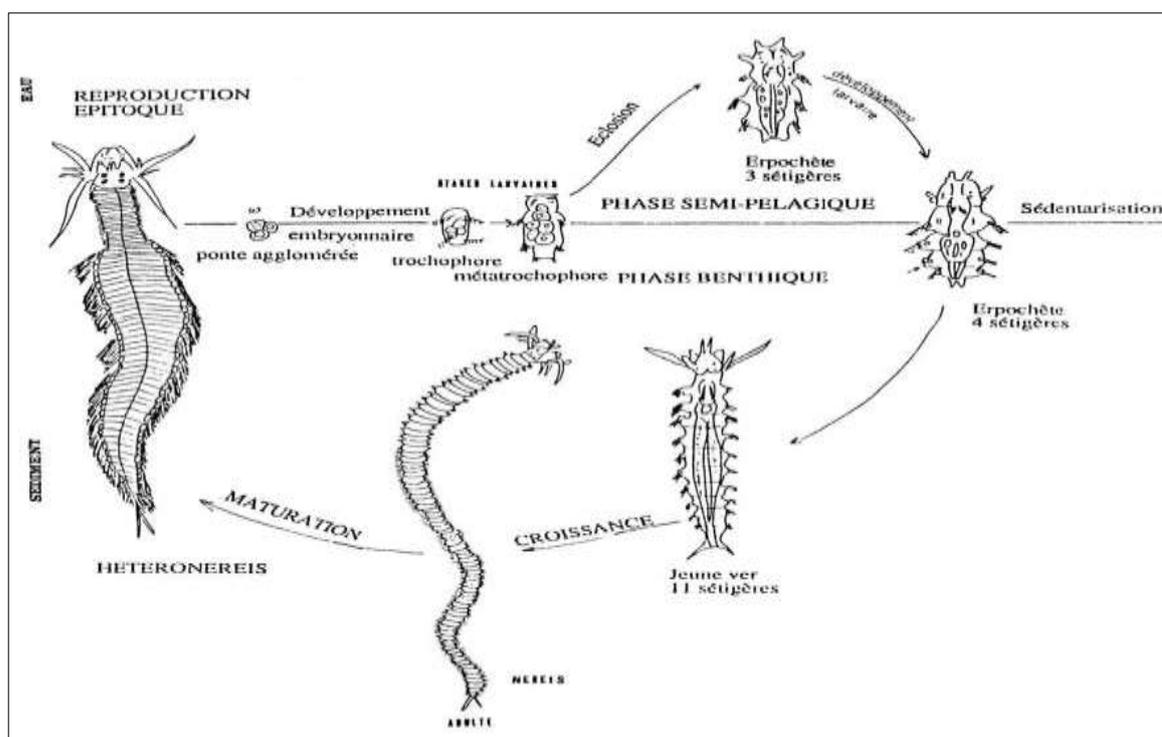


Figure 23: Cycle de vie de *Perinereis cultrifera* (Cazaux, 1970).

2.15.3.1.6. Cycle, mode de reproduction et âge de maturité

Au laboratoire, les vers ont été fixés dans une solution de formol à 8%. Ils ont été ensuite soumis à un examen microscopique afin de noter la présence des modifications morphologiques caractéristiques de l'épitoque. De plus, un examen microscopique du contenu coelomique de chaque individu a été effectué de manière à séparer les individus en trois catégories : mâles, femelles et indifférenciés. Pour cela, une incision a été réalisée au niveau du 20^{ème} sétigère et environ 1 ml du liquide coelomique a été prélevé à l'aide d'une pipette pasteur puis observé sur une lame sous microscope. Les mâles ont été identifiés par la présence d'amas spermatiques et les individus matures par celle de spermatozoïdes. Les femelles ont été identifiées par la présence d'ovocytes et les individus ne présentant pas de produits génitaux dans leur contenu coelomique, ont été considérés comme étant des individus sexuellement indifférenciés. Pour déterminer la période de reproduction et l'état de maturité, les diamètres de 30 ovocytes ont été mesurés pour chaque femelle à l'aide d'un micromètre oculaire gradué et calibré.

L'état d'épitoque pour *P. cultrifera* a été apprécié à partir de l'observation au microscope des parapodes prélevés dans la région médiane des vers, ce qui a permis de distinguer les quatre stades

décrits par Bauchot-Boutin et Bobin (1954) : Stade I (Atoque), Stade II et III (Stades intermédiaires), Stade IV (épitoque parfaite).

P. cultrifera est une espèce gonochorique. Selon la localisation géographique des populations, la reproduction s'effectue sans modifications morphologiques « atoque » ou elle s'accompagne de transformations somatiques appelées « épitoque » (Durchon, 1967).

La reproduction de *P. cultrifera* est de type épitoque en Manche et en Atlantique, la ponte a lieu en pleine eau d'avril à juillet selon la provenance des individus et est suivie de la mort des géniteurs (Herpin, 1925 ; Fage et Legendre, 1927 ; Durchon, 1951 ; Cazaux, 1965).

La durée de vie de cette espèce est de 3 ans (Scaps *et al.*, 1992). En Méditerranée, sur la baie d'Alger le mode de reproduction est de type atoque (Marcel, 1962), l'épitoque n'a été observée que très rarement et a été par conséquent considérée comme étant un phénomène accidentel.

Cependant, Des travaux rapportent qu'en Méditerranée, la reproduction de *P. cultrifera* peut être de type épitoque dans la lagune de Venise en Italie (Ansaloni *et al.*, 1986), à Annaba sur le littoral Nord Est Algérien, (Rouabah, 2003) et à Salammbô sur les côtes de Tunisie (Zghal et Ben-Amor 1986 & 1989). Les périodes d'essaimage se situent respectivement en mars et en mai.

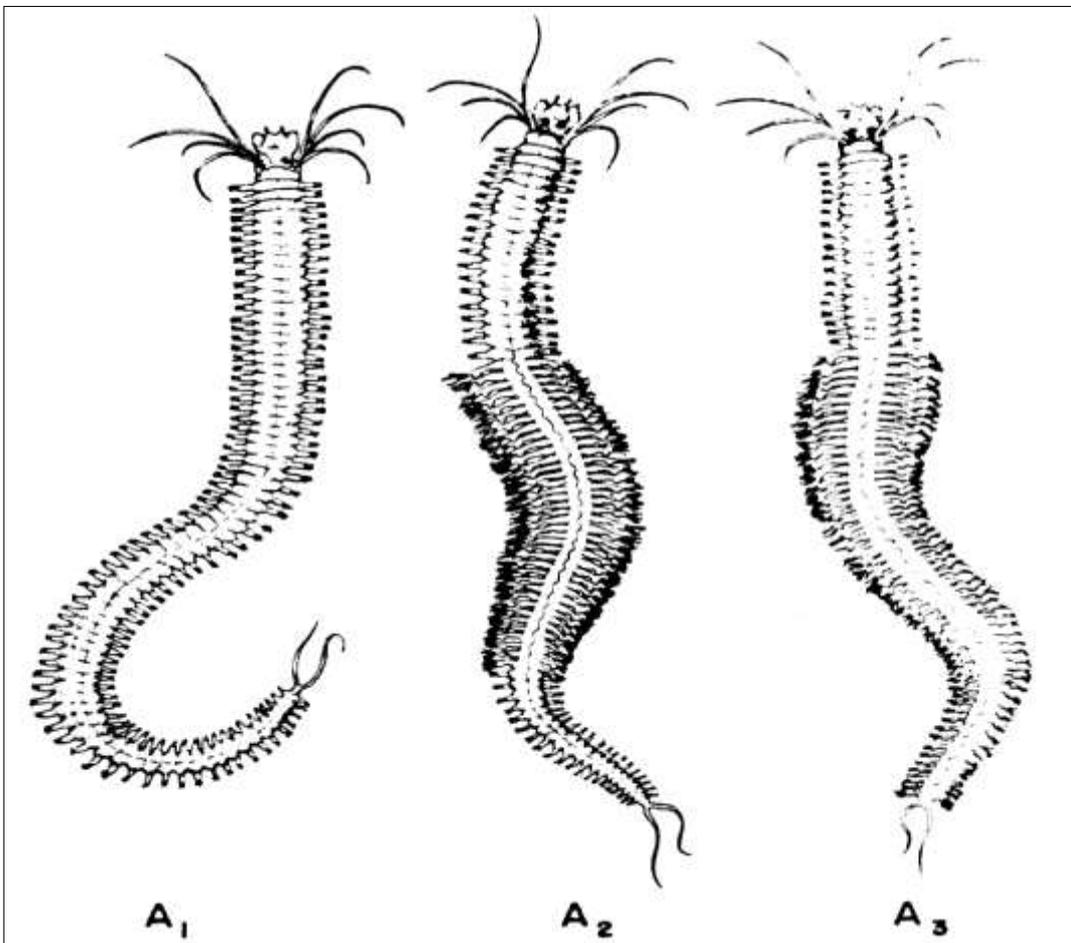
D'après Durchon (1957), selon les localités il pourrait y avoir présence simultanée des deux formes de reproduction avec une prédominance plus ou moins marquée de l'une ou de l'autre. *P. cultrifera* serait une espèce monotélique en Manche et polytélique en Méditerranée.

Ces modifications sont profondes et affectent la morphologie et l'anatomie si bien que les premiers auteurs avaient créé le genre *Heteronereis* pour ces stades sexués. Les *Heteronereis* présentent une région où les segments sont tassés les uns contre les autres de telle manière que l'animal devient plus court, plus large et aplati (Figure 24). La femelle prend la couleur vert bouteille et le mâle la couleur blanchâtre. La tête des *Heteronereis* porte des yeux hypertrophiés. Les 19 ou 20^{ème} segment antérieur ne subissent pas de transformations.

Selon le niveau où s'étend la zone modifiée, on distingue les *Heteronereis* à épitoque médiane ou à épitoque médiane et postérieure (Durchon, 1967). *P. cultrifera* appartient à cette dernière catégorie.

Bauchot-Boutin et Bobin. (1954) ont étudié en détail les modifications des parapodes chez *P. cultrifera* et ont montré que les rames dorsales et ventrales des parapodes développent des lamelles foliacées richement vascularisées tandis que les soies nérédiennes sont remplacées par des soies hétéronérédiennes disposées en éventail et composées d'une hampe striée portant en son extrémité une mince palette ovale, transparente finement denticulée (Figure 25).

Ces mêmes auteurs ont mis en évidence l'existence de quatre stades, entre l'état atoque qui correspond au « stade 0 » et l'état parfaitement épitoque qui correspond au « stade IV » en passant par des stades intermédiaires d'épitoquie « stade II » et « stade III ».



- A₁ – Reproduction sans épitoquie
- A₂ – Reproduction avec épitoquie médiane
- A₃ – Reproduction avec épitoquie médiane et postérieure

Figure 24 : Mode de reproduction chez les Néréidiens (Durchon, 1967).

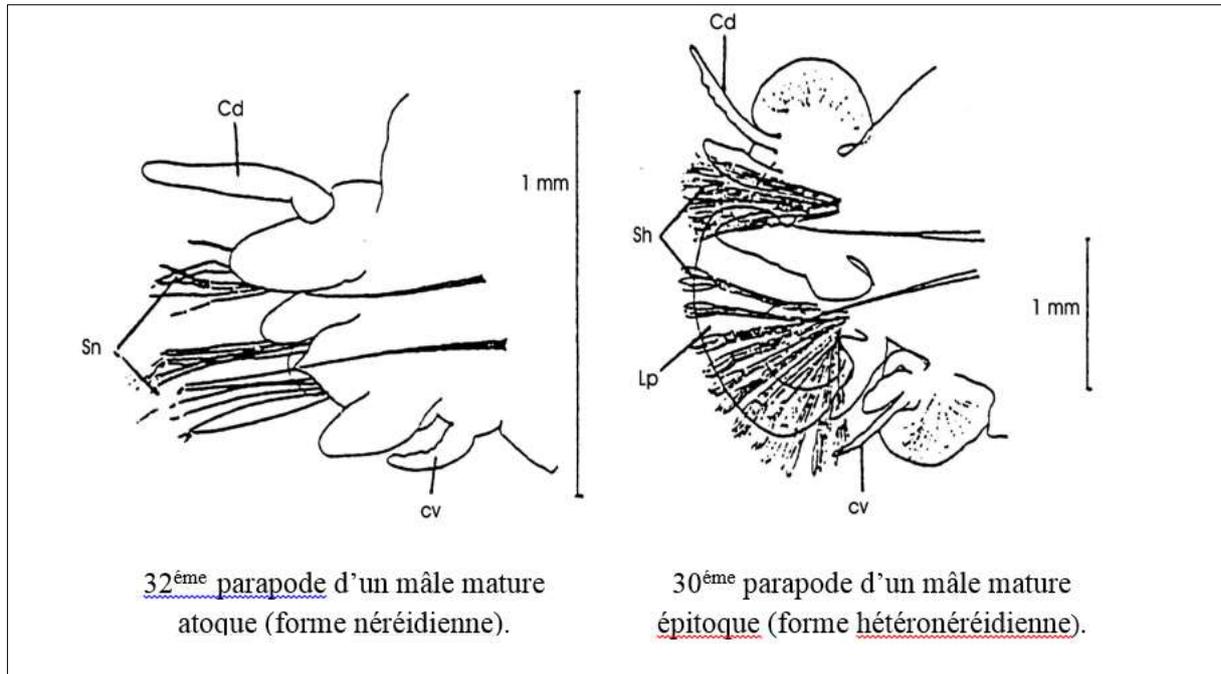


Figure 25 : Transformations morphologiques des parapodes chez un mâle mature de *Perinereis cultrifera* (Durchon, 1955). **Cd** : cirre dorsal ; **Lp** : lamelle parapodiale; **Sh** : Soies hétéronéréidiennes, **Cv** : cirre ventrale ; **Sn** : soies néréidiennes.

Les modifications anatomiques consistent en une histolyse musculaire et du tube digestif qui cesse d'être fonctionnel. Chez *P. cultrifera*, les modifications sont plus accentuées chez les mâles que chez les femelles. Les individus touchés par l'épitoquie passent d'une vie sédentaire à une vie pélagique. Cette phase reproductive très brève s'effectue au cours de l'essaimage et s'accompagne de la mort des géniteurs après l'émission des produits sexuels. (Figure 26).

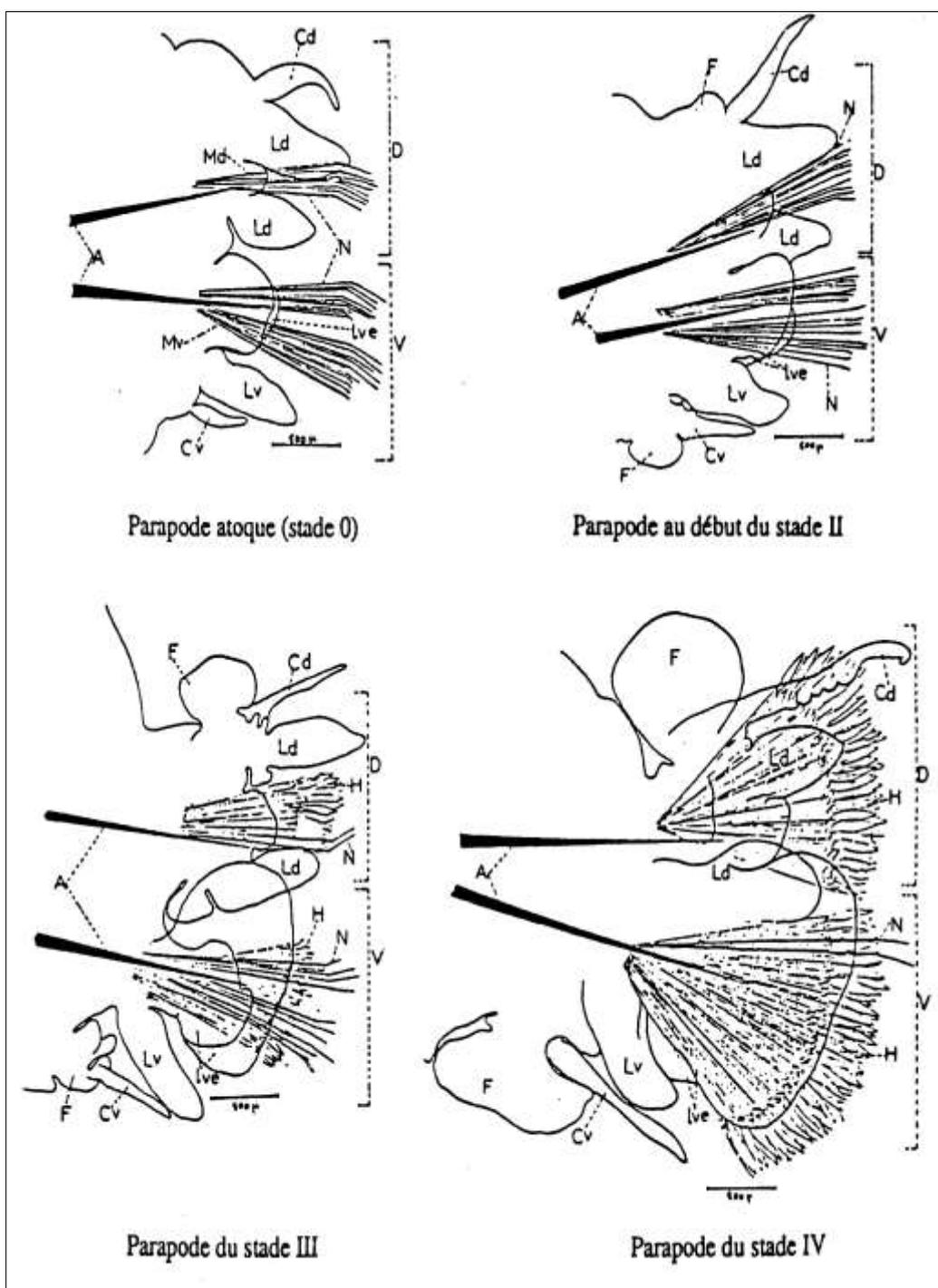


Figure 26 : Modifications hétéronéréidiennes des parapodes chez *P. cultrifera* (Bauchot-Botin et Bobin, 1954). **A** : acicules ; **Cd** : cirre dorsal ; **Cv** : cirre ventral ; **D** : rame dorsale ; **F** : lobes foliacés des cirres dorsal et ventral ; **H** : soies hétéronéréidiennes ; **Ld** : languette dorsale ; **Lv** : languette ventrale ; **Lve** : Lèvre du mamelon sétigère ventral ; **Md** : mamelon sétigère dorsal ; **Mv** : mamelon sétigère ventral ; **N** : soies néridiennes ; **V** : rame ventrale.

2.15.3.1.7. Nature du biotope occupé

En Manche et en Atlantique, *P. cultrifera* est rencontrée dans les cavités et les fissures de roches ou sous les pierres de la zone intertidale, depuis la ceinture à *Pelvetia caniculata* jusqu'à celle à *Laminaria sp* (Allen et Tood, 1900 ; Herpin, 1925 ; Durchon, 1951 ; Boisseau, 1962 ; Cazaux, 1965 ; Cabioch *et al.*, 1968 ; Retière et Richoux, 1973 ; Scaps, 1998). Sa densité est maximale au niveau de la zone à *Fucus*, elle est également rencontrée dans la vase à *Zostera*. Toutefois dans la région de Roscoff, Cabioch *et al.*, (1968) signalent sa présence en domaine subtidal, notamment parmi les Rhodophyceae et les *Lithotamniun*. Les observations réalisées par Durchon (1951) montrent qu'au voisinage de Luc-sur-mer en Manche, cette espèce est capable de creuser des galeries dans les strates des calcaires bathoniens.

Scaps *et al.*, (1998) indiquent qu'en Manche et en Atlantique, *P. cultrifera* construit, dans les sédiments hétérogènes, des galeries en forme de U ou de Y en relation avec un réseau de gouttières de surface auquel un bloc tient lieu de toit (Figure 27). En Méditerranée, cette espèce est récoltée aux « Anciens Ports Puniques » de Salammbô, près de Tunis, dans un substrat sablo-vaseux de salinité variable où elle vit sous les pierres ensablées ou carrément dans la vase (Zghal et Ben Amor, 1989). Près d'Alger, à la « Pointe Pescade », on la rencontre dans les schistes et calcaires cristallins (Marcel, 1962), à Annaba, à Saint-Cloud *Perinereis cultrifera* occupe les schistes et calcaires cristallins sur le littoral rocheux parmi les *Rhodophyceae* (Rouabah, 2003).

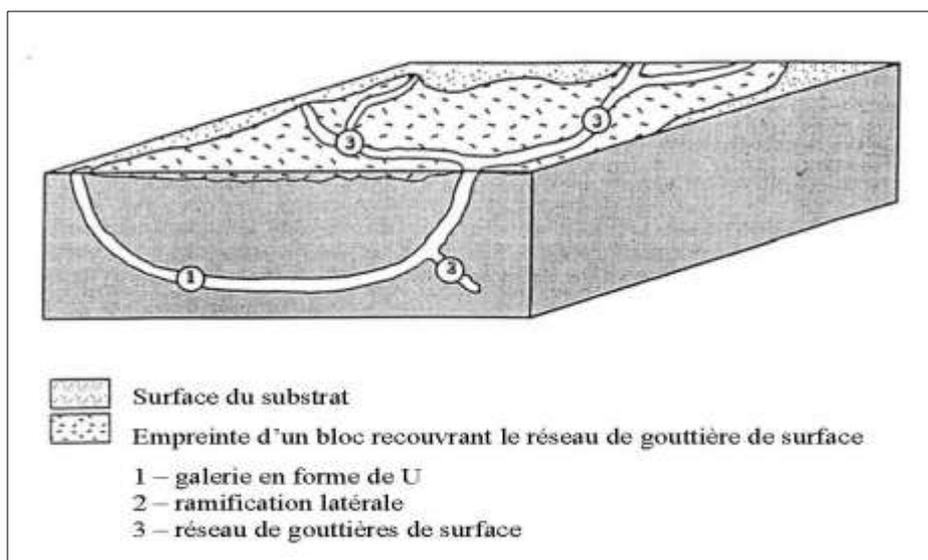


Figure 27 : Modèle schématique d'un réseau de galeries de *P. cultrifera* (Scaps *et al.*, 1998).

2.16.4. Dosage des biomarqueurs :

Depledge donne en 1993 une définition générale d'un biomarqueur comme étant « un changement biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental qui peut être mesuré dans des tissus ou des fluides corporels ou au niveau de l'organisme entier qui met en évidence l'exposition à/ou les effets d'un ou plusieurs polluants chimiques. » Parmi les biomarqueurs, De Lafontaine *et al.* (2000) ont identifié différentes catégories, reconnaissant ainsi les biomarqueurs de défense et les biomarqueurs de dommage. Les biomarqueurs de défense sont des activités de détoxification de xénobiotiques. Ces mécanismes ont potentiellement un impact positif sur la santé des organismes, dans la mesure où ils vont leur permettre de faire face et de survivre dans des zones contaminées. Les biomarqueurs de dommage quant à eux vont révéler une atteinte plus ou moins importante du métabolisme des organismes, pouvant les affecter dans leur capacité à se reproduire, voire à survivre. Plusieurs biomarqueurs, de défense ou de dommage, entrant dans la catégorie des « core biomarkers », c'est-à-dire ceux qui ont fait l'objet à la fois d'une validation en laboratoire et sur le terrain (Amiard & Amiard-Triquet, 2008), sont intéressants dans le cadre de la mise en place d'un biomonitoring en Baie de Saint-Brieuc.

Les expérimentations en conditions contrôlées ont largement démontré que les biomarqueurs peuvent être utilisés pour évaluer l'exposition des individus à des xénobiotiques et, dans certains cas, les effets de ceux-ci sur les structures et fonctions vitales de l'organisme (Huggett *et al.* 1992). Ces bases expérimentales ont permis d'envisager l'utilisation des biomarqueurs dans le milieu naturel, notamment dans le cadre des programmes de surveillance de la qualité de l'environnement (McCarthy *et Shugart*, 1990 ; Peakall, 1992).

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 malonedialdéhyde et l'inhibition de l'acétylcholinestérase (Lagadic *et al.*, 1997).

2.15.4.1. Les cholinestérases

L'activité des cholinestérases entre dans la catégorie des biomarqueurs de dommage. L'AChE étant une enzyme essentielle à la transmission correcte des informations nerveuses, leur inhibition est utilisée depuis des décennies en médecine humaine en tant qu'indice d'exposition aux neurotoxiques. Pour cela, c'est un des premiers biomarqueurs qui fut proposé en biosurveillance. En effet, il apparaît pour de nombreux auteurs que la mesure de l'activité de l'acétylcholinestérase est le meilleur révélateur de contamination du milieu, notamment du milieu marin, par les pesticides organophosphorés et les carbamates (Galgani et Bocquéné, 1990 ; Amiard et Amiard-Triquet, 2008). Toutefois, d'autres contaminants (métaux lourds, détergents, toxines algales) peuvent également jouer sur l'inhibition de l'AChE, de même que l'amplitude de la réponse des organismes à l'exposition aux inhibiteurs est fonction de l'espèce animale (Bocquéné et Galgani, 2004). L'activité de cette enzyme reflète l'état du stress général de l'organisme ainsi que la neurotoxicité des xénobiotiques.

Les acétylcholinestérases sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse de l'acétylcholine en choline et acide acétique (Matozzo *et al.*, 2005). Dans les jonctions neuromusculaires et interneurales, la terminaison nerveuse libère un médiateur chimique, l'acétylcholine, qui va permettre la transmission de l'influx nerveux. Lors d'une stimulation nerveuse, l'acétylcholine libérée des terminaisons nerveuses dans l'espace synaptique, active les récepteurs cholinergiques postsynaptiques. L'interaction de l'acétylcholine avec le récepteur provoque une dépolarisation de la membrane post-synaptique, générant ainsi un potentiel d'action qui assure la transmission du signal nerveux. L'hydrolyse de l'acétylcholine par l'acétylcholinestérase, permet au système de revenir à son état de repos (Bocquéné *et al.*, 1997). L'inhibition de l'AChE par de nombreux neurotoxiques tels que les métaux lourds provoque une transmission permanente de l'influx nerveux causant de nombreuses anomalies telles que la paralysie et même la mort (Matozzo *et al.*, 2005).

- **Dosage de l'Acétylcholinestérase (AChE)**

Le dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) est réalisé selon la méthode d'Ellman *et al.* (1961) qui consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ASCh) dont l'hydrolyse libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. La thiocholine en présence de DTNB (acide 5,

5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque) forme un complexe de couleur jaune dont l'intensité est lue à une longueur d'onde de 412 nm.

Les corps entiers de *P. culrifera* sont homogénéisés dans 1 ml de solution détergente (solution D) [38,03 mg EGTA (acide éthylène glycol-bis, β-aminoéthyl éther NNN'N tétra-acétique), 1 ml triton X 100%, 5,845 g NaCl (chlorure de sodium), 80 ml tampon tris (10 mM, pH 7)], puis centrifugés (5000 trs / mn, 5 mn). Le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme.

Le dosage de l'activité de l'AChE est réalisé sur une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 100 µl DTNB préparé extemporanément [39,6 mg DTNB, 15 mg CO₃HNa (bicarbonate de sodium), 10 ml tampon tris (0,1 M, pH 7)] et 1 ml de tampon tris (0,1 M, pH 7). Après 3 à 5 minutes, 100 µl de substrat acétylthiocholine préparé extemporanément [23,6 mg ASCh, 1 ml eau distillée] sont ajoutés. La lecture des absorbances s'effectue toutes les 4 mn pendant 20 mn à une longueur d'onde de 412 nm contre un blanc où 100 µl de la solution détergente remplace les 100 µl du surnageant.

L'activité spécifique est calculée selon la formule suivante :

$$\text{AChE } (\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg des protéines}) = \frac{\Delta \text{DO} \times \text{Vt}}{1,36 \times \text{Vs}} / \text{mg des protéines}$$

X : nanomole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (nM / mn / mg de protéines).

Δ Do : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps

1,36×10⁴ : coefficient d'extinction molaire du DTNB

Vt : volume total dans la cuve : 1,3 ml [0,1 ml surnageant + 0,1 ml DTNB + 1 ml tampon tris (0,1 M, pH 7) + 0,1 ml acétylthiocholine]

Vs : volume du surnageant dans la cuve : 0,1 ml

Mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

2.15.4.2. Activité des glutathion S-tranférases (GSTs)

Les Glutathion S-Tranférases sont une famille de multi-enzymes impliquées dans la phase II des processus de détoxification de xénobiotiques. Les réactions de phase II consistent à lier les métabolites à des composés hydrosolubles, augmentant ainsi l'hydrophilie des contaminants, et, de fait, leur taux d'excrétion (Bocquené *et al.*, 2004). Les GSTs augmentent le taux de conjugaison du glutathion par une déprotonation de la GSH, ce qui en fait un biomarqueur de défense. En effet, ces enzymes de biotransformation permettent la survie d'espèces dans un milieu détérioré. Les produits de conjugaison formés dans le foie peuvent être excrétés intacts dans la bile (chez les vertébrés), ou bien ils peuvent ensuite être métabolisés en acides mercapturiques et excrétés dans l'urine (Pecore, 2001). La mesure de

leur activité est la plus utilisée pour la détection de substances organiques (pesticides organochlorés et PCBs), en particulier chez les invertébrés, pour lesquels l'activité de l'enzyme EROD (éthoxyrésorufine-*O*-dééthylase), autre biomarqueur de défense, ne peut pas être mesurée (Amiard & Amiard-Triquet, 2008). Cette enzyme joue également un rôle dans la protection cellulaire contre le stress oxydatif (Durou *et al.*, 2007(a)).

- **Dosage de la glutathion S-transférase (GST) :**

Le dosage de la GST est réalisé selon Habig *et al.* (1974), basé sur la mesure photométrique de la cinétique de conjugaison du produit formé avec le CDNB (1-Chloro-2-4-Dinitrobenzène), en présence d'un cofacteur le GSH (Glutathion réduit).

En vue de l'estimation de l'activité spécifique de la GST, les corps de *Perinereis cultrifera* sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate de sodium¹ (0,1M, pH6) à l'aide d'un broyeur à ultrasons (Sonifer B-30). L'homogénat ainsi obtenu est centrifugé (13000 tours/min pendant 30 min) et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme.

Le protocole de dosage est réalisé comme suit : Une fraction aliquote du surnageant de 0,2 ml est ajoutée à 1,2 ml du mélange CDNB (1 mM) – GSH² (5 mM) dans du tampon phosphate (0,1 M, pH 6). La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions où 0,2 ml d'eau distillée remplace le surnageant. Les densités optiques sont mesurées toutes les minutes pendant 5 minutes à 340 nm dans un spectrophotomètre SHIMADZI- UV- 1202. La quantité en protéines des différents échantillons biologiques a été préalablement déterminée.

| | | |
|---|--------|------------------------------------|
| 1 - 17,805 g Na ₂ HPO ₄ (a) | —————> | dilués dans 500 ml d'eau distillée |
| 6,39 g NaHPO ₄ (b) | —————> | dilués dans 500 ml d'eau distillée |

Mélanger 61,5 ml de la solution (a) avec 438,5 ml de la solution (b) et ajouter ensuite 21,3925 g de saccharose.

Mélanger 4,052 mg de CDNB avec 30,73 mg de GSH et ajouter ensuite 0,8 ml d'éthanol et 20 ml de tampon phosphate.

L'activité spécifique de la GST est déterminée d'après la formule suivante:

$$\text{GST } (\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg des protéines}) = \frac{\Delta \text{DO} \times V_t}{9,6 \times E \times V_s} / \text{mg des protéines}$$

GST : Activité spécifique de la GST (mM/min/mg de protéines).

Δ Do: pente de la droite de régression des densités optiques obtenus à 340 nm.

Volume totale de la cuve (ml) : 1,2 ml du mélange CDNB- GSH + 0,2 ml du surnageant.

9,6: coefficient d'extinction molaire du CDNB ($\text{mM}^{-1} \text{Cm}^{-1}$)

E : épaisseur de la cuve =1 cm.

Prise d'essai (ml) = 0,2 ml.

Prot: quantité en protéines exprimée en mg.

2.15.4.3. Activité Catalase (CAT)

La catalase est une enzyme largement distribuée dans la nature puisqu'on la retrouve aussi bien chez les microorganismes aérobies, que dans les plantes ou les cellules animales. Son activité traduit une biotransformation des polluants, mais également une lutte contre un stress oxydant, conjointement à la GST. En effet, l'une de ses multiples fonctions physiologiques consiste à réguler les niveaux d' H_2O_2 en le décomposant en H_2O et O_2 . Ceci explique qu'elle soit utilisée comme marqueur impliqué dans la défense primaire contre les dommages oxydatifs (Pellerin-Massicote, 1997). Ainsi, l'activité catalase peut être évaluée en suivant la décomposition de H_2O_2 par spectrophotométrie à 240 nm, à une température recommandée de 20°C, les températures plus élevées pouvant inhiber la CAT, à pH 7 (Aebi, 1983). Sa détermination est directement liée à une diminution de l'absorbance de l'échantillon.

- **Dosage de la catalase (CAT):**

Le dosage de la catalase est réalisé selon la méthode de Claiborne A. (1985), basé sur l'hydrolyse de H_2O_2 en H_2O et O_2 . En vue de l'estimation de l'activité enzymatique de la catalase, les femelles de *P. cultrifera* sont homogénéisées dans 1ml de tampon phosphate (100M, pH 7,4) à l'aide d'un broyeur à ultrasons (Sonifer B-30). L'homogénat ainsi obtenu est centrifugé (15000 tours/min pendant 10 minutes) et le surnageant récupéré servira de source d'enzyme. Le protocole de dosage est réalisé comme suit : une fraction aliquote de 0,2ml est ajoutée à 0,8ml de tampon phosphate (100M, pH 7,4) et 0,2 ml d'eau oxygénée (500mM, 30V). la lecture se fait contre un blanc préparé avec 0,2ml H_2O_2 et 0,8ml Tampon phosphate. Les densités optiques sont mesurées toutes les 5 secondes pendant 30 secondes à 240 nm d'absorbance dans un spectrophotomètre SHIMADZI-UV-1202. La quantité en protéines des différents échantillons biologiques a été préalablement déterminée.

- 1- 16,11g Na₂ H PO₄ (a) —————> dilués dans 500 ml d'eau distillée
- 2- 1.38g Na H₂ PO₄ (b) —————> dilués dans 500 ml d'eau distillée.

Mélanger 404 ml de la solution (a) avec 96 de la solution (b)

L'activité spécifique de la catalase est déterminée d'après la formule suivante :

$$\text{Catalase} = \frac{\Delta Do / mn}{0,04 \times \text{mg de proteine}}$$

CAT : Activité spécifique de la catalase (μM/min/mg de protéine).

ΔDo : pente de la droite de régression de densités optiques obtenues à 240 nm

2.15.4.4. Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode de Bradford. (1976), qui consiste à additionner à une fraction aliquote de 100 μl du surnageant ou de la gamme étalon, 4 ml de réactif du bleu brillant de coomassie (BBC) G 250¹. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (BSA)² comme standard (Tableau 2).

50 g de BBC + 25 ml d'éthanol 95°, après agitation (2h) on ajoute 50 ml d'acide orthophosphorique à 85% + eau distillée q.s.p 500 ml.

1 mg BSA + 1 ml eau distillée.

Tableau 2 : Dosage des protéines : Réalisation de la gamme d'étalonnage.

| Tubes | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|-----------------------------|-----|----|----|----|----|-----|
| Quantité de BSA (µl) | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 |
| Eau distillée (µl) | 100 | 80 | 60 | 40 | 20 | 0 |
| Réactif BBC (ml) | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Quantité de BSA (µg) | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 |

2.17. Analyse phylogénétique du complexe d'espèces jumelles *P. cultrifera*

2.17.1. Les marqueurs génétiques

Des outils moléculaires ont été utilisés pour l'identification et la différenciation des espèces. Ces outils sont représentés par les macromolécules biologiques telles que l'ADN, l'ARN ou les protéines (Figure 28). Ces molécules sont des polymères constitués de l'enchaînement de briques moléculaires de base dont la succession constitue la séquence primaire. Ainsi, l'ADN peut être considéré comme un texte écrit dans un alphabet à 4 lettres : Adénine (A), Thymines (T), Guanine (G) et Cytosine (C) et les protéines comme un texte écrit dans un alphabet à 20 lettres, les 20 acides aminés. La parenté des êtres vivants considérés est reflétée par la similarité de ces séquences primaires.

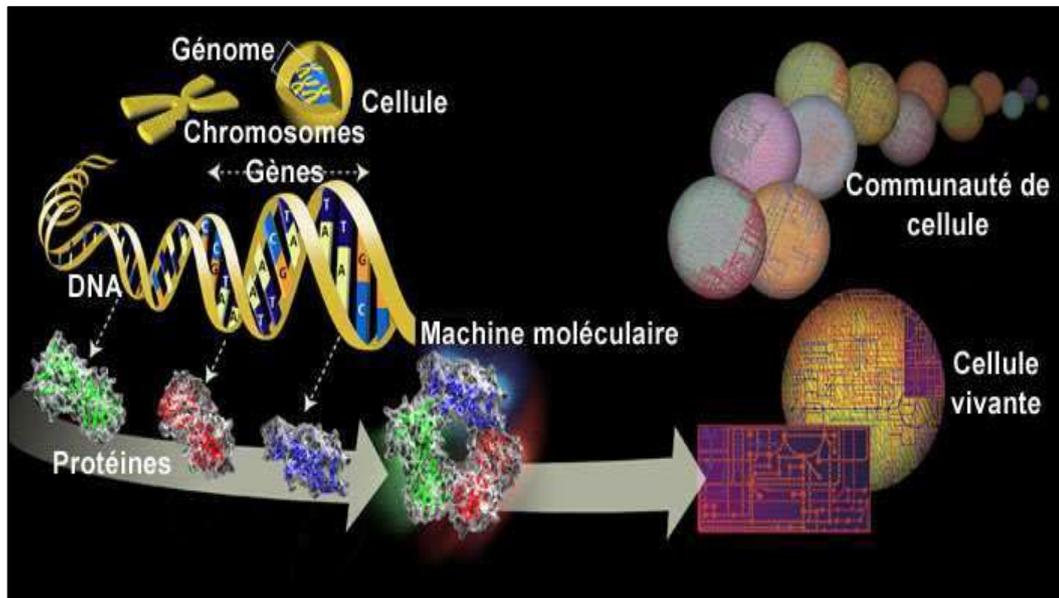


Figure 28 : Formation des cellules vivantes

(<http://www.courscapitole.com/doku.php/niveau:lycee/svt>)

Parmi les outils moléculaires on peut citer les ADN des gènes et des régions intercalaires ribosomales et les ADN mitochondriaux. Les gènes d'ARN ribosomal 28S ont été utilisés comme marqueurs de l'évolution parce qu'ils sont ubiquistes et homogènes dans tous les types de cellules ainsi qu'en raison de la constance de leur structure (Woese, 1987). Ces séquences sont efficaces pour établir des relations phylogénétiques parmi les taxons éloignés jusqu'au niveau d'ordres et/ou de classes (Beati *et al.*, 2004; Cadoret *et al.*, 1999) Les cassettes ribosomales (Figure 29) sont présentes en plusieurs centaines de copies par génome eucaryote. Une cassette ribosomale comprend les gènes 18S, 5,8S et 28S qui sont séparés par les régions intercalaires (Internal Transcribed Spacer: ITS-1 et ITS-2). Internal Transcribed Spacer (Espaceur Interne Transcrit): fragments non fonctionnels d'ARN situés entre les fragments d'ARN ribosomiques au sein d'un même précurseur; au cours de la maturation de l'ARN les ITS sont excisés et dégradés alors que les fragments fonctionnels vont constituer les ribosomes.

Les régions bordant les cassettes correspondent aux zones transcrites externes (External Transcribed Spacer : ETS) (Harris et Crandall, 2000). Les régions ITS-1 et ITS-2 sont beaucoup moins conservées car la pression sélective qui s'exerce sur ces parties non codantes est moindre. Pour ces raisons, la séquence des ITS est employée plus précisément pour discriminer les espèces et rarement pour établir les liens de parenté qui existent au-delà du statut des espèces (Imai *et al.*, 2004 ; Zhang et Simmons, 2006).

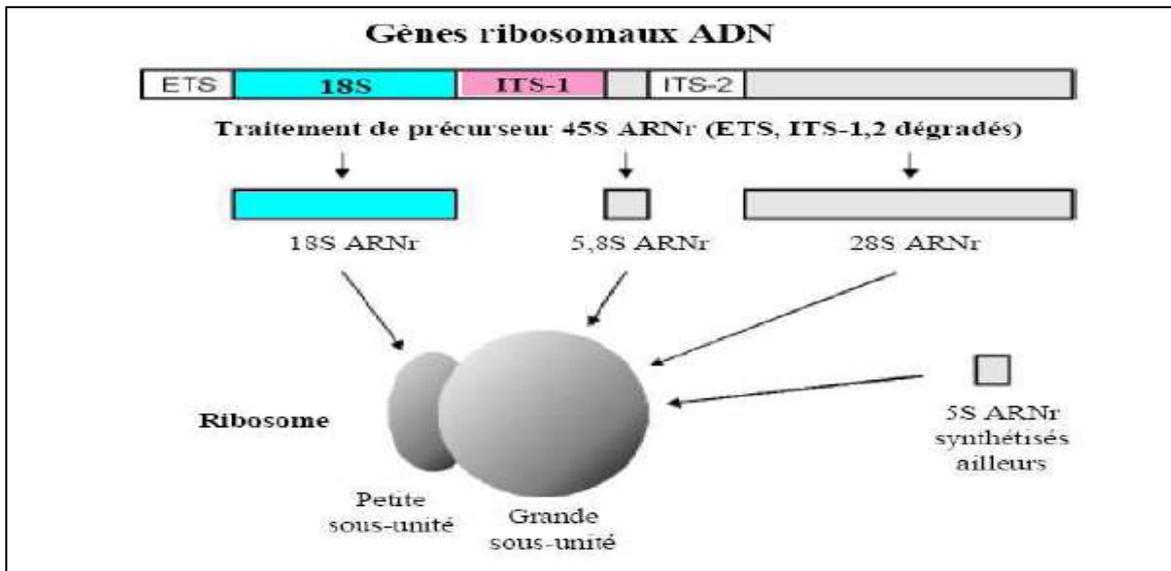


Figure 29 : Modes de transcription de l'ADN en ARN dans le nucléole : L'ADN codant les ARNr (ARN ribosomiques) est transcrit en un preARNr (précurseur 45S) dans le nucléole. Le preARNr est ensuite découpé en trois ARNr (18S, 5,8S et 28S). Simultanément dans le nucléoplasme de l'ADN codant les protéines constitutives des ribosomes est transcrit en ARN messager. L'ARN messager est traduit en protéines dans le cytoplasme. Les protéines traduites rentrent dans le noyau et dans le nucléole, elles s'associent avec les ARN ribosomiques pour former des ribosomes. Les ribosomes néoformés sortent du noyau et migrent dans le cytoplasme jouer leur rôle. Les séquences qui portent les gènes responsables de la synthèse d'ARNr sont présentes sur l'ADN dans le nucléole ; à l'exception de l'ADNr 5S qui est nucléoplasmique (Trang, 2006).

2.17.2. Échantillonnage pour analyse moléculaire

Les échantillons de *P. cultrifera* ont été collectés au niveau de 6 sites du littoral algérien (El-Kala, Annaba, Skikda, Collo, Boumerdes et Alger Pointe Pescade) et 3 sites de la manche française (Saint-Aubin sur Mer, Saint Pabu et Roscoff) (Figure 30)



Figure 30 : Localisation des sites d'échantillonnage de *Perinereis cultrifera* sur le littoral Est Algérien (El-kala, Annaba et Skikda, Collo, Boumerdes, Alger, Saint-Aubin sur Mer, Saint Pabu et Roscoff) (Meghlaoui, 2013).

2.16.2.1. Site de Boumerdes

La Wilaya de Boumerdes est une wilaya côtière du centre du pays qui s'étend sur une superficie de 1 456,16 Km² avec 100 Km de profil littoral allant du cap de Boudouaou El Bahri à l'Ouest, à la limite Est de la commune de Afir . sa position géographique : 36° 46' 00" Nord 3° 28' 00" Est. Boumerdès est réputée pour ses rues larges et moins encombrées, ses espaces verts et ses belles plages comme celles d'Aïn Taya, Figuier et Zemmouri. Elle dispose également de zones d'expansion touristique tout au long de sa côte (complexes touristiques, forêts...etc) (Figure 31)



Figure 31: Localisation du site Boumerdes © map data 2015 Google.

2.16.2.2. Site de Pointe Pescade

la plage Raïs Hamidou (anciennement Pointe-Pescade lors de la colonisation) est située à 68 km de boumerdes est une commune de la wilaya d'Alger en Algérie, située dans la banlieue Nord-Ouest d'Alger. Elle est située à une altitude de 36° 49' 03" Nord et de longitude de 3° 00' 41" Est. La baie d'Alger est située dans la partie centrale de la côte algérienne entre les longitudes Est : de 03°01'00" E à 03°14'30" E et les latitudes Nord : de 36°44'30" N à 36°49'15" N. De forme semi-circulaire et avec une superficie approximative de l'ordre de 180 Km², elle s'inscrit en creux dans la plaine de La Mitidja. Elle est délimitée par deux caps, La Pointe Pescade (Raïs Hamidou) à l'Ouest et le cap Matifou (Tamentfoust) à l'Est ainsi que par la Méditerranée occidentale au Nord. Deux Oueds se déversent dans la baie d'Alger, ce sont Oued El Hamiz et Oued El Harrach (Figure 32).



Figure 32 : Localisation du site Pointe Pescade (Alger). © map data 2015 Google.

2.16.2.3. Site de Saint-Pabu (Corn ar Gazel)

Saint-Pabu est une commune du nord du département du Finistère, dans la région Bretagne, en France. Située entre 48° 33' 52" Nord et 4° 35' 47" Ouest. Saint-Pabu est située à 27 km au nord-ouest de Brest. Cette localité, en bordure de la mer d'Iroise est située sur la rive gauche de l'aber dénommé Aber-Benoît et possède deux écoles, une église et plusieurs plages.

Le territoire de la commune se répartit sur trois zones :

- un espace dunaire en bordure de la côte de la Manche. Cet espace se poursuit sur les communes voisines de Lampaul-Ploudalmezeau et Ploudalmezeau (massif dunaire de Tréompan) et constitue l'un des plus importants massifs dunaires du Léon ;
- une zone agricole sur la bordure nord du plateau du Léon ;
- une frange côtière étroite le long de l'aber Benoît où se succèdent prairies et versants boisés (Figure 33).

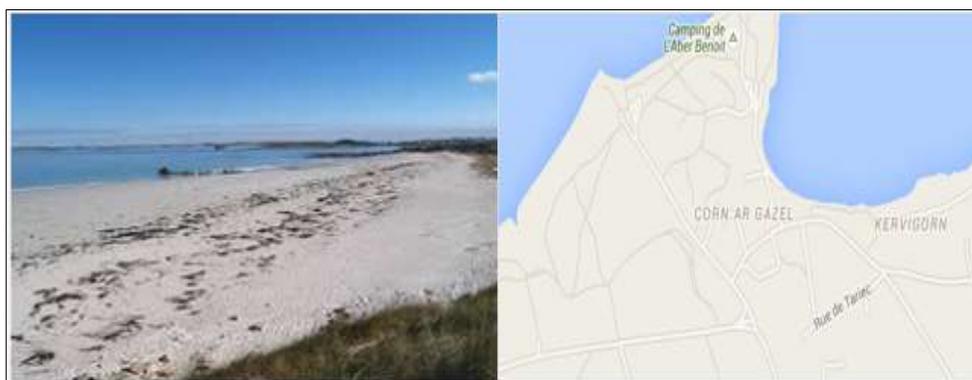


Figure 33: Localisation du site Saint-Pabu. © map data 2015 Google.

2.16.2.4. Site de Saint-Aubin-sur-Mer

Située entre 49° 19' 45" Nord et 0° 23' 19" Ouest c'est une commune française, située dans le département du Calvados en région Basse-Normandie, 49° 19' 45" Nord 0° 23' 19" Ouest . La commune est une station balnéaire de la Côte de Nacre. Son bourg est à 5 km au nord-ouest de Douvres-la-Délivrande, à 18 km au nord de Caen et à 27 km à l'est de Bayeux. Le point culminant (30 m) se situe en limite sud, dans la moitié rurale du territoire (Figure 34).



Figure 34 : Localisation du site Saint-Aubin sur mer. © map data 2015 Google.

2.16.2.5. Site de Roscoff

Roscoff est une commune française du Léon, dans le département du Finistère, en Bretagne. Sa position géographique est entre 48° 43' 38" Nord et 3° 59' 04" Ouest. La Station biologique de Roscoff. Recherchée pour ses embruns iodés et la douceur d'un climat maintenue par un courant marin qui ne varie qu'entre 8 °C et 18 °C. Roscoff est un lieu séjour de post-cure qui a vu naître le

concept de centre de thalassothérapie en 1899, l'institut Rochcroum, et propose, outre une maison de vacances médicalisée, la clinique Kerlena, un hôpital héliamarin de référence fondé en 1900, le Centre de Perharidy. L'île de Batz est desservie par des vedettes à départ du vieux port de Roscoff (Figure 35).



Figure 35 : Localisation du site Roscoff. © map data 2015 Google.

2.16.3. Préparation des échantillons de *P. cultrifera* avant l'extraction de l'ADN

Nous avons utilisé 10 individus de *P. cultrifera* de chaque population, puis on a choisi des morceaux de même taille de 10 mg pour chaque répétition. À l'aide d'un papier absorbant nous avons éliminé l'alcool des tissus afin d'obtenir des tissus secs. Nous avons ensuite coupé en fine lamelles les têtes pour faciliter la digestion par l'enzyme. Enfin, nous avons déposé les tissus dans une plaque 96 Well standard microplate et fermer la plaque avec un tapis 96 cap seeling mats.

2.17.4. Extraction de l'ADN génomique

La technique d'extraction utilisée est celle basée sur le CTAB (Canadian Centre for DNA Barcoding) (Winnepenninckx *et al.*, 1993). Ce protocole a été modifié et adapté aux annélides. A 10 mg de tissus broyé dans 5 ml de la solution d'extraction 2×CTAB (4gr :2% CTAB, 20 ml : 1M tris-Hcl , Ph 8.0, 8ml : 20 mM EDTA , pH 8.0 , 16,4 gr : NaCl, QSP : 200ml). Ajouter 0,5 ml de protéinase K (10 mg/ml). Incubation de la plaque pendant toute une nuit à 56°C dans une chambre humide et la protéger avec un film. Le lendemain, Centrifugation à 1500 g (RCF) pendant 5 min, puis transférer 50µl du surnageant dans une nouvelle plaque propre. Rajouter 100µl (PBB) Plant Binding Buffer (Binding Buffer : 80ml, H₂O : 16ml). L'incubation se fait pendant 5min à

température ambiante. Mélanger avec la micropipette 5 à 10 fois. Prendre 150µl du mélange et le mettre dans une plaque micro-filter watman 800 et en dessous mettre un filtreur. Centrifuger pendant 5min à 5000g. rajouter 180 µl PWB (Protein Wash Buffer) (Binding Buffer : 50m, EtOH 96% : 50ml).Centrifugation 5000 g pendant 2min. rajouter 750 µl de WB (wash buffer) (EtOH 96% : 300ml, 1M NaCl: 23.75 ml, 1M tris-HCl , pH 7.4 : 4.75ml, 0.5M EDTA, pH 8.0 : 0.475 ml). Centrifugation 5000g pendant 5 min. Incubation à 56°C pendant 30min. Centrifugation pendant 5 min à 1500g. Rajouter 60µl H₂O dans chaque puits en dessous d'une nouvelle plaque standard.Laisser à température ambiante pendant 1min, et Centrifuger à 5000 g pendant 5min.L'ADN récupéré est purifié et quantifié par dosage spectrophotométrique à 260 et 280 nm. L'intégrité de l'ADN génomique extrait est contrôlée sur gel d'électrophorèse.

2.17.5. PCR (Polymerase chain reaction)

La PCR (*Polymerase Chain Reaction*) consiste en l'amplification exponentielle d'un fragment d'ADN spécifique par copies multiples à l'aide de deux amorces spécifiques (petites séquences oligonucléotidiques en général de 20 nucléotides) et d'une enzyme, la *Taq* ADN polymérase. Elle permet de repérer un fragment d'ADN ou de gène précis, même présent en quantité infime dans un mélange, puis de le multiplier rapidement. Il s'agit d'une répllication *in vitro* de séquence spécifique d'ADN dite d'intérêt ou ADN cible à partir d'un extrait d'ADN (ADN matriciel). La PCR utilise de manière répétitive la propriété des ADN polymérase de ne pouvoir synthétiser un brin complémentaire d'ADN qu'à partir de l'extrémité 3'OH d'une amorce. La PCR repose sur trois étapes qui sont indispensables pour toute synthèse d'ADN et qui sont répétées plusieurs fois : dénaturation de l'ADN matrice, hybridation des amorces à l'ADN cible dénaturé et élongation des amorces par l'ADN polymérase. Tous les éléments nécessaires à la réaction sont regroupés dans un microtube qui sera soumis aux différentes températures correspondant à chaque étape grâce au thermocycleur (Figure 36). La quantité d'ADN étant multipliée par deux à chaque cycle, au fil des cycles la quantité d'ADN va augmenter de façon exponentielle (Figure 37). On obtient, théoriquement 2^n copies de la séquence cible pour n cycles. Cette réaction nécessite des oligonucléotides (amorces) s'hybridant avec les extrémités 3' de la portion de la séquence à amplifier, une enzyme ADN polymérase, des nucléotides ou dNTP (déoxyribonucléotides triphosphates: dATP, dGTP, dTTP, dCTP) et un milieu réactionnel contenant une concentration précise en Magnésium sous forme de MgCl₂, un élément clef de l'efficacité de la réaction intervenant en tant que cofacteur enzymatique. L'enzyme assurant l'amplification est une ADN

polymérase dont la plus utilisée est la *Taq DNA* polymérase issue de la bactérie thermophile *Thermus aquaticus*. Les produits utilisés lors de cette réaction d'amplification sont les suivants : dNTP (dATP, dCTP, dTTP, dGTP) 10 μmol chacun = 100 mM, préparation d'1 mL de dNTP 500 μM chacun pour une utilisation à 100 μM final (5 μL dATP + 5 μL dTTP + 5 μL dGTP + 5 μL dCTP + 980 μL H₂O UP stérile). Taq DNA polymérase 5u. μL -1



Figure 36 : Appareil de PCR ou thermocycleur utilisé pour la réaction d'amplification de l'ADN (Photo personnelle).

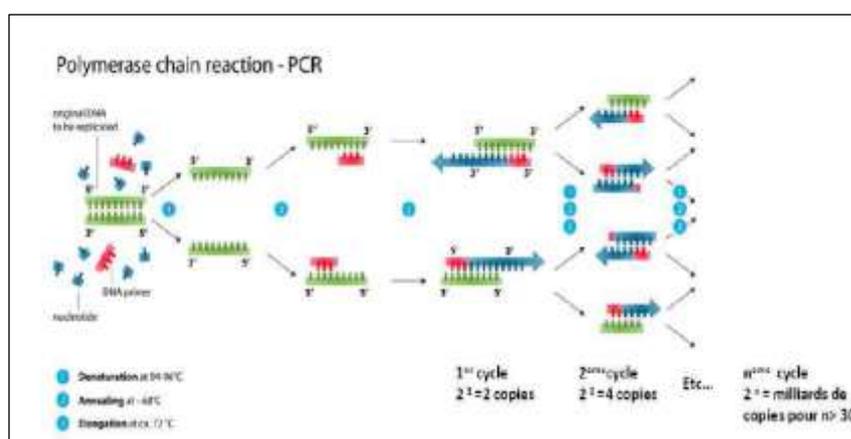


Figure 37 : Principe de la PCR = amplification exponentielle de l'ADN (Source = Wikipedia).

Les PCR ont été réalisées suivant le protocole du Kit puReTaq Ready-To-Go PCR beads (Amersham). 100 ng d'ADN matrice ont été utilisés. La réaction de PCR se fait en présence des composants suivante : 5 μl : dream taq buffer ($\times 10$), 4 μl : dNTP (2mM), 5 μl : Amorces (2 μM) utilisées (Tableau 3), 10 μl ADN génomique, 0,2 μl : dream taq polymérase. Les étapes

d'amplification sont constituées d'une dénaturation de 1 min à 95°C, d'une hybridation de 1 min à une température variable suivant les amorces utilisées et d'une élévation de 1 min à 72°C. cycles d'amplification sont effectués par PCR. Le programme comporte quarante cycles.

Tableau 3: Liste des oligonucléotides et les températures d'hybridation utilisées lors de la réaction de PCR.

| Nom de l'amorce | Température d'hybridation (°C) |
|-------------------------------------|--------------------------------|
| Internal transcribed spacer (ITS 1) | 50 |
| Internal transcribed spacer (ITS 2) | 60 |
| cytochrome oxidase I (COI) | 57 |
| Cytochrome B (Cytb) | 50 |
| 40 SRP | 57 |
| Perinerin | 57 |

2.17.6. Electrophorèse sur gel d'agarose

La quantité d'ADN obtenue (produits de PCR) est déposée sur un gel d'électrophorèse. Les électrophorèses sont réalisées sur un gel d'agarose (1 %) en présence d'un tampon de migration TAE 1X (4,84 g Tris ; 1,14 ml acide acétique ; 2 ml EDTA 0,5M) et de bromure d'éthidium (BET) qui est un intercalant de l'ADN et permet la visualisation de celui-ci sous rayonnement Ultra Violet (UV). L'ADN migre dans le gel d'agarose de la cathode vers l'anode (les acides nucléiques étant chargés négativement dans la gamme de pH utilisée). Un courant d'environ 100 volts est appliqué aux bornes de la cuve. A l'issue de la migration, l'ADN est visualisé sous U.V et photographié à l'aide d'une caméra Polaroid MP4. La taille du fragment est déterminée par comparaison avec le marqueur de taille qui a migré sur le même gel.

- **Préparation des gels :**

1.4 g d'agarose sont fondus à ébullition dans 100 mL de tampon d'électrophorèse TBE 0.5× (Tris base 44.5 mM, acide borique 44.5 mM, EDTA 1 mM). Après refroidissement, le gel est coulé

dans la cuve à électrophorèse. Une fois pris en masse dans la cuve (Figure 38), il est recouvert de tampon d'électrophorèse (TBE 0.5x).

Les échantillons sont lestés par un dixième du volume de tampon de charge 10× (10 µL d'ADN + 1 µL de tampon de charge) et déposés dans les puits du gel (Figure 39) dont l'un contient de l'ADN utilisé comme marqueur de taille (1kb DNA ladder). Le bleu de bromophénol contenu dans le tampon de charge, migre comme un fragment de 300 pb dans un gel à 0,8% d'agarose et permet de suivre la progression de l'électrophorèse (Métais, 1996).

A la fin de la migration, le gel est placé pendant 15 minutes dans un bain d'eau UP contenant 0,5µg/ml de bromure d'éthidium (BET) pour permettre la visualisation des bandes d'ADN grâce à la fluorescence rouge-orangé du complexe acides nucléiques-BET excité par la lumière ultraviolette (312nm). Le gel est par la suite photographié sur une table UV.

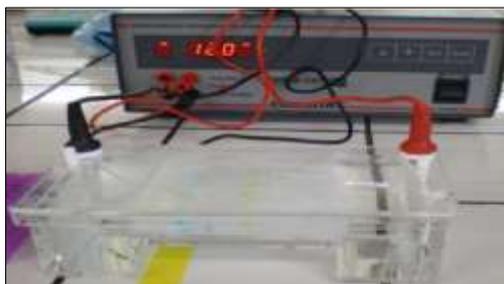


Figure 38 : Petite cuve à électrophorèse



Figure 39 : Progression des échantillons d'ADN déposés dans les puits de gels (de l'anode vers la cathode).

2.17.7. Séquençage automatique

Le séquençage d'un ADN consiste en la détermination de la succession des nucléotides qui le composent. Le séquençage a été réalisé grâce à un séquenceur automatique (3130 Applied-Biosystems) (Figure 40) capable de faire les réactions de séquence et de lire les résultats. Cette méthode requiert l'utilisation des nucléotides fluorescents marqués par 4 fluorochromes différents. Une fois la réaction de séquence est terminée, la taille des fragments obtenus est déterminée par une chromatographie. Le séquenceur détecte la fluorescence sortant des colonnes de chromatographie, repérant ainsi les fragments d'ADN et leur taille précise. Le résultat est présenté par la machine sous forme de courbes représentant la fluorescence détectée, à chaque marqueur correspond une couleur de courbe (rouge pour T, vert pour A, bleu pour C et noir pour G). Les réactions de séquences sont réalisées en microplaques de 96 puits sur thermocycleur (Perkin Elmer) dans un volume final de 10 µl contenant le produit de PCR traité (10 ng), 1 µl du tampon de l'enzyme « Big

Dye buffer», 1,5 µl d'un « mix » (enzyme, dNTP, ddNTP marqués), 1,6 µl Amorces (2 µM), 2 µl : produit PCR. Le programme de la réaction comporte 25 cycles : 1 min de dénaturation à 96°C, 5s d'hybridation à 50°C et 4 min d'élongation à 60°C. Les produits sont précipités en présence de, d'EDTA 5µl (125 mM) et 60 µl d'éthanol 100%. Après agitation, les produits sont gardés pendant 15 min à température ambiante avant d'être centrifugés, à 3000 g pendant 30 min à 4 °C. Juste après l'arrêt de la machine, retourner d'un coup sec la plaque pour éliminer le surnageant. Centrifuger ensuite la plaque à l'envers pendant 2 min à 200 g. Vérifier qu'il ne reste plus d'alcool dans les puits. Remettre ensuite les échantillons en suspension en rajoutant 20 µl de formamide (Applied Biosystems). Puis passage sur le séquenceur capillaire après avoir dénaturer la plaque 5min à 94°C.

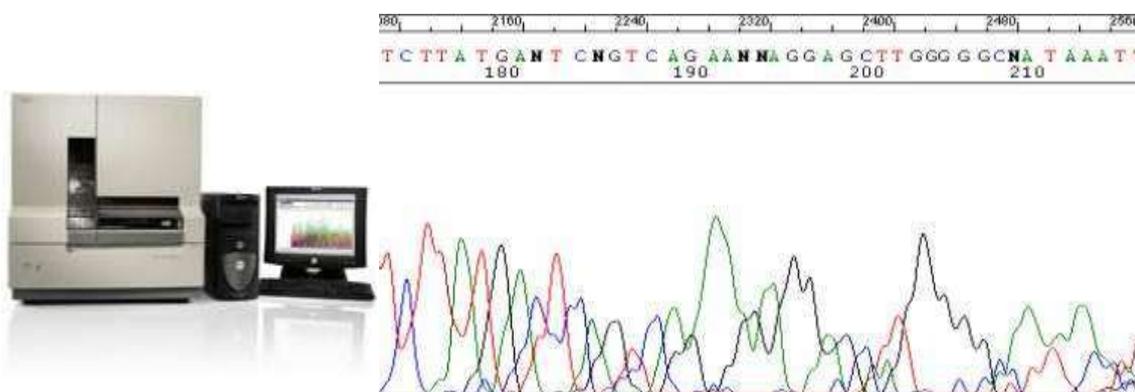


Figure 40 : séquenceur automatique et séquences obtenues après séquençage (Chabouni, 2009).

2.17.8. Outils d'analyses bioinformatiques

Pour cela deux types d'analyses ont été utilisés :

- Les Banques de séquences nucléiques : La banque de données consultée au cours de cette étude est GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) (Bethesda, Etats-Unis)
- Les programmes bioinformatiques de traitement des séquences nucléiques : La recherche de similitudes entre les séquences nucléiques dans une banque de données est réalisée par le biais d'un Blast (Basic Local Alignment Search Tool). Le site NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) permet l'utilisation de cette application en accès libre. Les alignements de séquences sont traités avec logiciel Codoncode aligner (v 5.0.2) licence disponible au niveau du laboratoire Génétique et Evolution des Populations Végétales (GEPV) et aligner à l'aide du logiciel bioedit v5

2.18. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont exprimés par la moyenne arithmétique plus ou moins l'écart type ($m \pm s$). Le logiciel R d'analyse et de traitement statistique des données version 3.0.3 pour windows 7 a été utilisé pour les représentations graphiques et pour les analyses statistiques.

L'analyse de régression linéaire permet d'une part de déterminer les différentes équations de régression linéaire au sens des moindres carrés et les coefficients de détermination ajustés (R^2) du type $y = ax + b$. Ces équations sont utilisées dans le calcul des activités enzymatiques de l'AChE, GST et CAT, et dans le dosage des HAP.

L'analyse de la variance à un et à deux critères de classification (ANOVA) a été utilisée afin de comparer les moyennes pour les indices morphométriques (poids, taille, nombre de sétigères), les différents dosages (AChE, GST, et CAT, HAP) en fonction des différents sites d'échantillonnage, de plus, le test HSD (honest significative difference) de Tukey nous permet de classer les différents mois et sites (Hsu, 1996).



RESULTATS

3. RESULTATS

3.1. Inventaire et biodiversité

Nous avons réalisé un inventaire faunistique des espèces d'annélides polychètes présentes au niveau de quatre sites du littoral Est-algérien (El-Kala, Annaba, Skikda et Collo) durant trois années de Janvier 2011 à Décembre 2013. Nous avons aussi récolté la faune et flore qui partagent le même habitat, et procéder à l'identification et au classement des différentes espèces selon le groupe zoologique comme suit :

3.1.1. Annélides polychètes

Les espèces de *Nereidae* inventoriées sont : *P. cultrifera*, *N. falsa*, *P. macropus*, *Pl. dumerilii*, *N. diversicolor*; avec la présence d'autres annélides polychètes qui sont : *Lepidonotus clava*, *Scolelepis squamata*, *Lumbrinereis sp*, *Terebellidae sp* et des espèces non identifiées.

3.1.1.1. *Perinereis cultrifera* (Grübe, 1840)

Perinereis cultrifera a été décrite par Grübe, 1840. Son corps est de forme semicylindrique entre 100 à 125 sétigères, elle possède un large prostomium, 2 paires de yeux, 2 palpes cylindriques, 2 antennes pointues et 4 paires de tentacules. La disposition des paragnathes a été décrite par Fauvel en 1923 comme suit : trois paragnathes disposés en triangle au niveau de lob (V) avec une double rangée transversale disposé en deux lignes régulières (Figure 41; A, B). Cette espèce a été localisée dans les stations d'El Morjane (El Kala) de Saint Cloud (Annaba), de Stora (Skikda) et d'Ain doula (Collo).

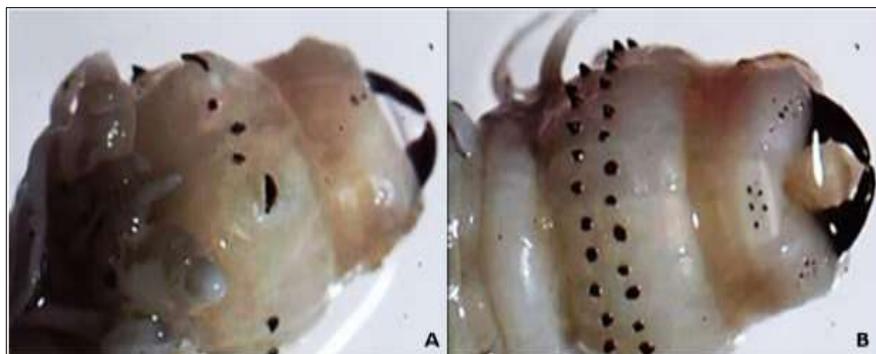


Figure 41 : Répartition des paragnathes au niveau de différentes lobes (Face dorsale; A, et face ventrale; B) chez *P. cultrifera* (Photo $\times 32$).

3.1.1.2. *Perinereis macropus* (Claparède, 1870)

Perinereis macropus a été décrite par Claparède en 1870, présente un corps tronqué en avant, effilé en arrière de 57 à 99 sétigères, de couleur vert foncé uniforme à la face dorsale et blanchâtre ventralement, Le prostomium carré, quatre yeux noirs en carré. Antennes subulées, bien plus courtes que les palpes qui sont gros, ovoïdes, divergents. Segment buccal de moitié plus long que le suivant. Cirres tentaculaires postérieurs atteignant le 3^{ème} à 5^{ème} sétigère. Mâchoires noires, courtes et larges à 8-12 dents. Paragnathes: I = 2 à 4, II = amas triangulaires, III = amas rectangulaire, flanqué de 2-3 denticules de chaque côté; IV = amas triangulaires; V = 1 gros et 5 à 12 le plus souvent 10, subégaux en ligne irrégulière ou en groupe, pas de semis de fins denticules, VI = de chaque côté, un paragnathe transversal, VII-VIII = une ligne sinueuse de moyens et petits, plus une large bande de très fins et très nombreux, en semis (Figure 42; A, B). Cette espèce se trouve dans la station d'El-Morjène (El-Kala), Stora (Skikda), et à Ain doula (Collo).

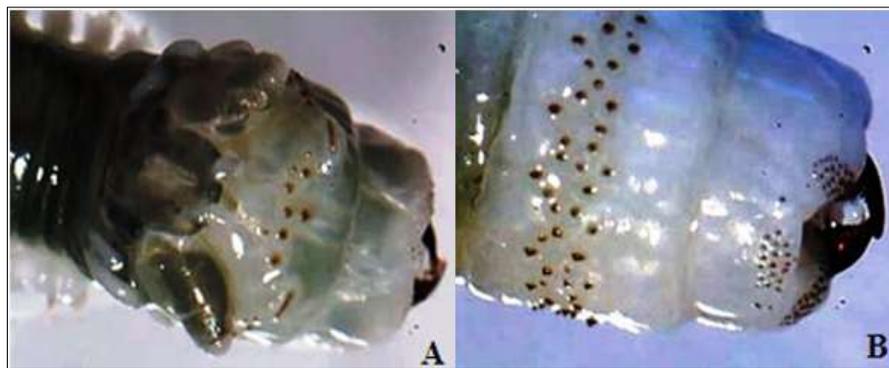


Figure 42 : Répartition des paragnathes au niveau de différents lobes chez *P. macropus* (A; face dorsale, B; face ventrale) (Photo $\times 32$).

3.1.1.3. *Platynereis dumerilii* (Audouin & Milne-Edwards, 1833)

Platynereis dumerilii présente au niveau du site El-Morjène (El-Kala). Cette espèce a été décrite par Audouin & Milne-Edwards. Le nombre de sétigères est compris entre 32 et 60. Elle est d'une coloration très variable, jaunâtre, rosée, rougeâtre, avec des chromatophores violets. Le prostomium en cône tronqué, légèrement bilobé en arrière, avec quatre gros yeux, des antennes subulées à peu près de la longueur des palpes ovoïdes, et le segment buccal à peine plus long que le suivant. Les cirres tentaculaires très longs, les postérieurs atteignant le 10^e-15^e sétigères,

mâchoires sont pâles, courtes, larges, et portent 5 à 20 dents. Les paragnathes sont très petits, fins, pectinés, et parfois très pâles et difficiles à voir : I = 0, II = 0; III = petit amas transversal à 2 rangés; IV = plusieurs rangées parallèles pectinées; V = 0; VI = de chaque côté, 1-2 arcs concentriques; VII et VIII = 5 à 7 amas de 1 à 2 rangés chacun, petits et pâles (Figure 43; A, B).

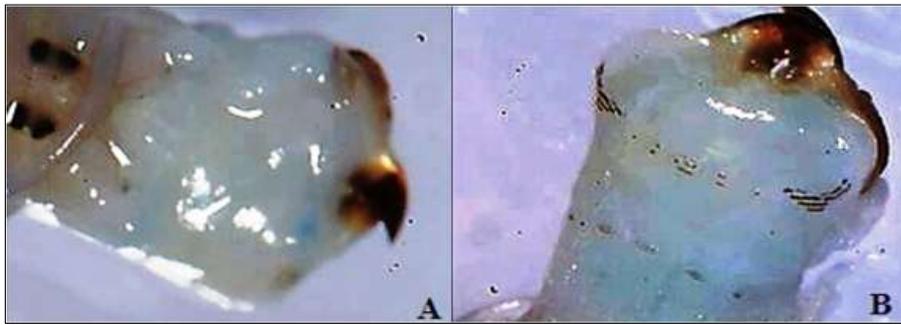


Figure 43 : Répartition des paragnathes au niveau de différents lobes chez *Platynereis dumerilli* (A; face dorsale, B; face ventrale) (Photo $\times 32$).

3.1.1.4. *Nereis falsa* (Quatrefages, 1865)

Cette espèce a été décrite pour la première fois par Quatrefages en 1865 à un corps grêle, effilé, et présente 42 à 93 sétigères de couleur blanchâtre laiteuse. Le prostomium est allongé, quatre yeux disposés en carré, et des antennes de la longueur des palpophores. Les palpes sont grosses et ovoïdes, le segment buccal plus long que le suivant, et les cirres tentaculaires postérieurs atteignent du 3 au 8 sétigère, et des mâchoires à 7 à 9 dents. La disposition des paragnathes est comme suit : I, et II = amas arqués; III = amas rectangulaire; IV = amas arqués; V = 0; VI = de chaque côté, 4-5 gros paragnathes massés en croix ; VII-VIII = 2 à 3 rangées irrégulières d'assez gros denticules subégaux (Figure 44 ; A, B). cette espèce est présente au niveau des quatre sites.



Figure 44 : Répartition des paragnathes au niveau de différents lobes chez *Nereis falsa* (A; face dorsale, B; face ventrale) (Photo $\times 32$).

3.1.1.5. *Nereis diversicolor* (O. F. Müller, 1776)

Cette espèce vit dans la vase présente au niveau d'El-Kala et Skikda, décrite en 1776 par O. F. Müller. Corps mou, aplati, effilé postérieurement. 90 à 120 sétigères. le Prostomium est subtriangulaire, 4 petits yeux noirs en trapèze, Antennes subulées bien plus courtes que les palpes qui sont gros, cylindriques, à petit palpostyle en bouton. Cirres tentaculaires postérieurs atteignant le 5^e sétigère. Segment buccal presque 2 fois aussi long que le suivant. Mâchoires à 5-8 dents. Paragnathes : I = 0, 1 ou 2; II = 1 ou 2 rangs obliques; III = amas assez large de nombreux petits paragnathes disposés sur plusieurs rangs; IV = amas obliques; V = 0; VI = de chaque côté, un groupe de 4 à 8 petits; VII-VIII = une ceinture irrégulière à 2-3 rangs de petits denticules (Figure 45).



Figure 45 : Présentation de *Nereis diversicolor* (vue générale) (Photo $\times 8$).

3.1.1.6. *Lepidonotus clava* (Montagu, 1808)

C'est une espèce d'Annélide Polychète errante décrite par Montagu en 1808, elle est caractérisée par un corps de largeur uniforme (Figure 46 ; A, B), avec quatre yeux noirs disposés en rectangle, les antérieurs sont plus grands. Le prostomium portant une antenne médiane au milieu, et une paire d'antenne latérales plus courtes que la médiane, avec deux paires de cirres tentaculaires accompagnés de quelques soies arquées, et une paire de palpes plus longue que les cirres tentaculaires. La tête est recouverte par une paire d'élytres. Elle est présente au niveau du site de Skikda

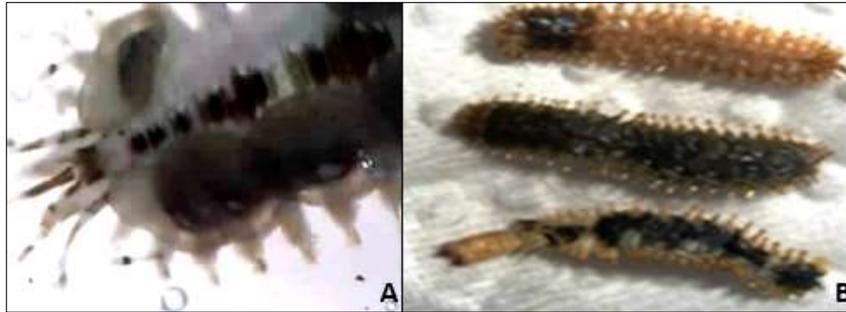


Figure 46 : Présentation de *Lepidonotus clava* (A: Partie postérieure (Photo $\times 32$) , B: Corp entier (Photo $\times 8$))

3.1.2. Faune associée

Pour l'inventaire de la faune associée à *P. cultrifera* nous avons pu identifier trois espèces de mollusques gastéropodes : *Diodora greaca*, *Patella sp*, *Tricolia speciosa* et une espèce de mollusque bivalve : *Mitylus galloprovincialis*, ainsi que des espèces d'arthropodes : *Eriphia verrucosa*, *Isopoda sp* non identifiée et une espèce d'arthropode amphipode non identifiée : *Amphipoda sp* (Figure 47). La présence de toutes ces espèces a été notée au niveau des quatre sites d'étude : El-Mordjène (El-Kala), St-Cloud (Annaba), Stora (Skikda) et Ain Dawla (Collo) (Tableau 4).

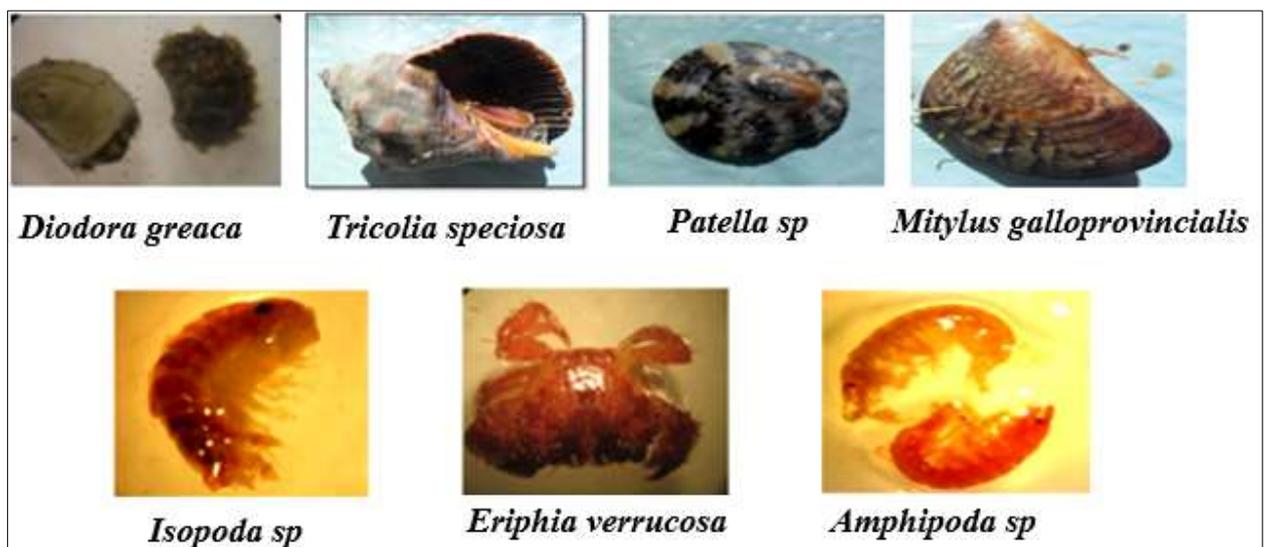


Figure 47 : Espèces identifiées de la faune associée au niveau des quatre sites d'étude : El-Kala, Annaba, Skikda et Collo durant la période de Janvier 2011 à Décembre 2013 ($\times 8$).

3.1.3. Flore

Par la même occasion, un inventaire de la flore associée à *P. cultrifera* a été effectué, nous avons pu identifier trois espèces d'algues *Colpomenia sinuosa* et *Corallina elongata* appartenant à l'embranchement des Rhodophyta, et *Ulva lactuca* appartenant à l'embranchement des Chlorophyta, parmi les différentes algues récoltés dans les stations étudiées, nous avons reconnus: l'algue verte: *Ulva lactuca* (figure 48 A), l'algue brune :*Colpomenia sinuosa* (figure 48 B) et les algues rouges *Corallina elongata* (Figure 48 C). Ces trois algues ont été présentes au niveau des quatres sites : El-Mordjène (El-Kala), St-Cloud (Annaba), Stora (Skikda) et Ain Dawla (Collo).

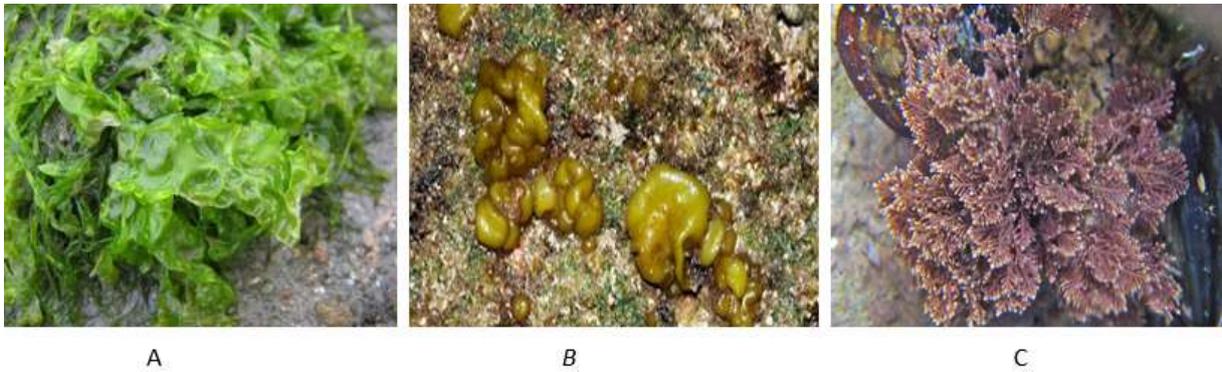


Figure 48 : Espèces identifiées de la flore associée au niveau des quatre sites d'étude : El-Kala, Annaba, Skikda et Collo durant la période de Janvier 2011 à Décembre 2013 (×8).

Le Tableau 4 représente la répartition des différentes espèces, nous avons observé une répartition des espèces qui est assez homogène au niveau des trois sites : Annaba, Skikda et Collo, mais une diversification plus importantes et une abondance au niveau du site d'El-Kala. Nous avons recensé 15 espèces de macroinvertébrés au niveau d'El-Kala au cours des trois années contre 10 à 12 espèces au niveau d'Annaba, Skikda et Collo.

3.1.4. Indices écologiques

Les indices écologiques étudiés sont les indices de composition et les indices de structures : l'abondance, la richesse totale, la fréquence relative, l'indice de diversité et l'équitabilité. Le nombre d'individus des différentes espèces est très variable. Les espèces retrouvées en grand nombre dans tous les sites sont *Perinereis cultrifera* (Annélide, Polychète) et *Mitylus galloprovincialis* (Mollusques) durant toute la période d'étude. Par ailleurs, nous avons remarqué la présence de plusieurs espèces au niveau du site d'El-Kala comparativement avec les autres sites. Les espèces recensées au niveau de ce site sont : *Perinereis cultrifera*, *Perinereis macropus*, *Nereis falsa*, *Platynereis dumerilli*, *Térébélidae sp*, *Lumbrineris sp* (Tableau 5).

Tableau 5 : Nombre d'individus (ni) des différentes espèces du peuplement (Janvier 2011- Décembre 2013).

| | | 2011 | | | | 2012 | | | | 2013 | | | |
|----------------------|----------------------------------|-------------|------------|------------|------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | El-Kala | Annaba | Skikda | Collo | El-Kala | Annaba | Skikda | Collo | El-Kala | Annaba | Skikda | Collo |
| Néreiidiens | <i>P. culrifera</i> | 389 | 317 | 307 | 146 | 289 | 245 | 190 | 50 | 214 | 142 | 78 | 68 |
| | <i>P. macropus</i> | 48 | 0 | 22 | 68 | 403 | 203 | 0 | 0 | 18 | 0 | 11 | 35 |
| | <i>N.falsa</i> | 193 | 128 | 136 | 0 | 35 | 0 | 13 | 47 | 134 | 137 | 0 | 0 |
| | <i>Pl. dumerilii</i> | 11 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 15 | 0 | 0 | 0 |
| | <i>N.diversicolor</i> | 19 | 13 | 0 | 0 | 23 | 16 | 0 | 0 | 20 | 14 | 0 | 0 |
| Annélides Polychètes | <i>Lepidonotus clava</i> | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 9 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 |
| | <i>Scolelepis squamata</i> | 7 | 1 | 5 | 2 | 9 | 2 | 1 | 2 | 10 | 3 | 1 | 2 |
| | <i>Lumbrinereis sp</i> | 17 | 0 | 0 | 0 | 8 | 1 | 0 | 3 | 7 | 0 | 9 | 8 |
| | <i>Terebellidae sp</i> | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 | 0 | 0 |
| mollusques | <i>Diodora graeca</i> | 18 | 1 | 28 | 3 | 23 | 4 | 22 | 12 | 22 | 3 | 21 | 11 |
| | <i>Patella sp</i> | 46 | 20 | 13 | 7 | 50 | 17 | 11 | 5 | 44 | 22 | 11 | 4 |
| | <i>Tricolia speciosa</i> | 18 | 1 | 27 | 3 | 15 | 4 | 22 | 3 | 21 | 2 | 23 | 5 |
| | <i>Mitylus galloprovincialis</i> | 657 | 247 | 144 | 155 | 489 | 244 | 134 | 122 | 324 | 233 | 165 | 131 |
| Arthropodes | <i>Eriphia verrucosa</i> | 2 | 4 | 3 | 1 | 3 | 2 | 1 | 3 | 2 | 3 | 4 | 1 |
| | <i>Isopoda sp</i> | 34 | 55 | 23 | 11 | 55 | 43 | 23 | 65 | 76 | 34 | 22 | 65 |
| Amphipodes | <i>Amphipoda sp</i> | 27 | 13 | 12 | 11 | 23 | 22 | 21 | 44 | 23 | 45 | 55 | 65 |
| Abondance N | | 1487 | 800 | 730 | 407 | 1437 | 803 | 447 | 356 | 938 | 638 | 407 | 395 |

3.1.4.1. Dominance de la macrofaune benthique présente au niveau du site d'El-Kala

Au niveau de la plage El-Morjène (El-Kala) nous avons récolté 1820 individus appartenant à la famille des *Nereidae*, avec des dominances inégales. En effet, les résultats obtenus nous révèlent une abondance importante de *P. cultrifera* avec un pourcentage de (58,94% ; 38,08% ; et 53,36% respectivement pour 2011, 2012 et 2013), suivie de *N. falsa* avec 33,42% en 2013 et 29,24% en 2011. *P. macropus* domine avec 53,1% en 2012, et enfin, *Pl. dumerilii* et *N. diversicolor* ont été représentées en très faible pourcentage et ce pendant toute la période d'étude (Figure 49).

Chez les autres familles d'annélides nous avons observé la présence de *Scolecipis Squamata* avec (28% ; 45% ; et 32% respectivement pour 2011, 2012 et 2013), *lumbrinereis sp* avec (68% ; 40% ; et 28% respectivement pour 2011, 2012 et 2013) et enfin *Terebellidae sp* avec (4% ; 15% ; et 32% respectivement pour 2011, 2012 et 2013) (Figure 49).

Chez les Mollusques, l'espèce *Mitylus galloprovincialis* représente l'espèce la plus abondante avec plus de 81,92%, 74,32%, et 63,28% respectivement pour 2011, 2012 et 2013) par rapport aux autres mollusques : *Diadora graeca*, *Tricolia speciosa* et *Patella sp* au niveau des quatre sites et ce durant toute la période d'étude (Figure 49).

Les autres arthropodes présents au niveau du site d'El-Kala tels que : *Eriphia verrucosa* et *Isopoda sp* sont les plus répandus avec 4,23% en 2011, 8,36% en 2012, et 14,84% en 2013. Enfin, *Amphipoda sp* est représentée avec 3,37% en 2011, 3,49% en 2012 et 4,49% en 2013 (Figure 49).

3.1.4.2. Dominance de la macrofaune benthique présente au niveau du site d'Annaba

Nous avons recensé 1215 individus faisant partie de la famille des *Nereidae* avec une dominance de *P.cultrifera* atteignant des pourcentages de 69,21%, 52,8% et 48,46% respectivement pour les années 2011, 2012 et 2013, suivie de *N. falsa* (27,95 %) et *N. diversicolor* (2,84 %) en 2011. Concernant *P. macropus*, il a été enregistré une dominance de cette espèce avec 43,75 % contre 3,45% *N. diversicolor* pour l'année 2012. Enfin en 2013, *N. falsa* était plus abondante (46,76 %) alors que *N. diversicolor* ne représentait que 4,78 % (Figure 50).

Chez les autres espèces d'annélides présentes, on a enregistré la présence de *Scolecipis Squamata* avec 14,29 % ; 66,67 % respectivement pour 2011, 2012, alors qu'en 2013, on a

remarqué qu'elle était la seule espèce abondante (100%) dans le lieu de récolte. Nous avons aussi noté la présence de *lumbrinereis sp* avec 85,71% en 2011 et 33,33% en 2012 (Figure 50).

L'espèce la plus représentée chez les mollusques au niveau du site d'Annaba est *Mitylus galloprovincialis* avec un maximum enregistré en 2011 de 81,92% suivie de *Patella sp* et enfin par *Diadora graeca* et *Tricolia speciosa*, faiblement représentés et ce durant toute la période d'étude. Quant aux autres, les arthropodes (*Isopoda sp*) sont les plus abondants comparativement à *Eriphia verrucosa* (Figure 50).

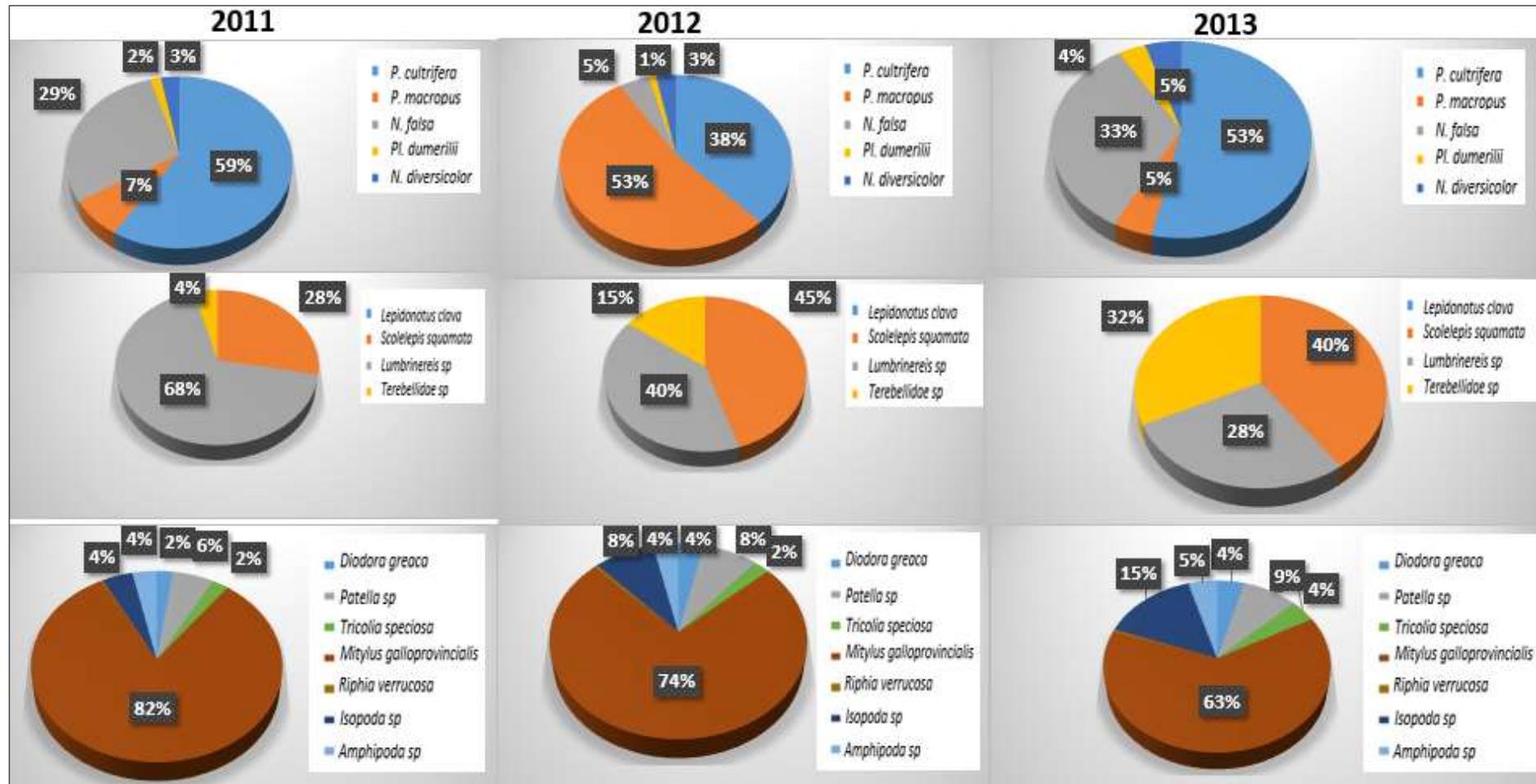


Figure 49 : Dominance de la macrofaune benthique présente au niveau du site d'El-Kala au cours de la période d'étude de Janvier 2011 à Décembre 2013.

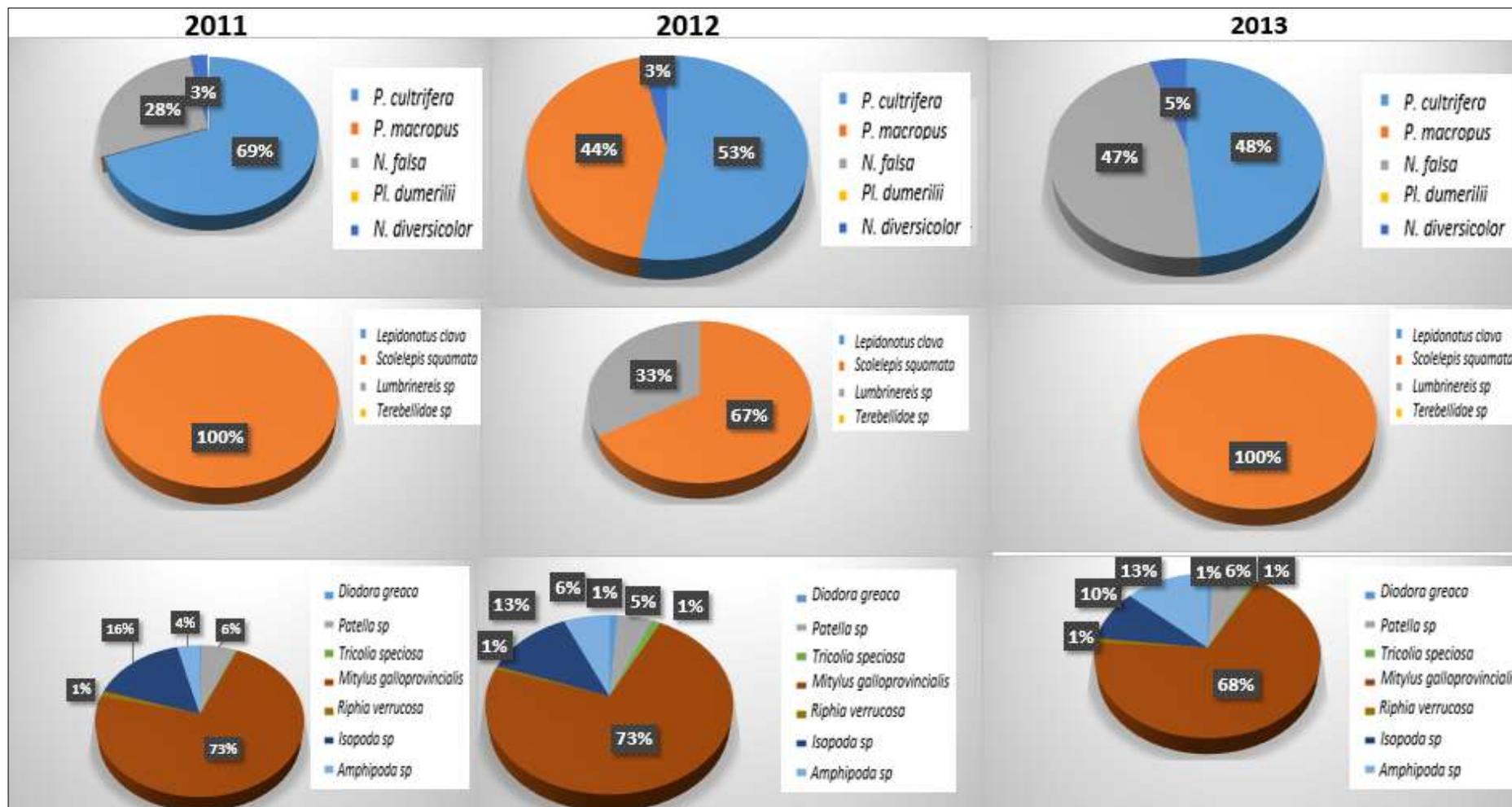


Figure 50 : Dominance de la macrofaune benthique présente au niveau du site d'Annaba au cours de la période d'étude de Janvier 2011 à Décembre 2013.

3.1.4.3. Dominance de la macrofaune benthique présente au niveau du site de Skikda

Nous avons inventorié 872 espèces faisant partie de la famille des *Nereidae*. En 2011, nous avons noté la présence et l'abondance de *P. cultrifera* par rapport à *P. macropus* et *N. falsa* avec 66,02%. En 2012, on a observé une abondance de 93,6% de *P. cultrifera* et une absence totale de *P. macropus*. Enfin, en 2013, une absence de *N. falsa* a été enregistrée contrairement à une dominance de *P. cultrifera* avec 87,64%. Pour les autres, nous avons observé la présence de *Lepidonotus clava* et de *Scolelepis squamata* durant toute la période d'étude, et une présence de *Lumbrinereis sp* uniquement en 2013 (Figure 51).

Mitylus galloprovincialis reste l'espèce la plus prépondérante avec un maximum de 57,26% en 2012. Aussi, nous avons recensés des arthropodes (*Isopoda sp*) avec une fréquence maximale de 9,83 % en 2012, et des Amphipodes (*Amphipoda sp*) dont la présence variait de 4,32% à 18,27% entre 2011 et 2013 (Figure 51).

3.1.4.4. Dominance de la macrofaune benthique présente au niveau du site de Collo

Au niveau du site de Collo, nous avons récolté 414 individus de la famille des *Nereidae* et l'espèce la plus répandue au niveau de ce site est *P. cultrifera* avec 68,22 %, 51,55% et 66,02% respectivement pour 2011, 2012 et 2013, suivie de *P. macropus* avec 31,78% et 33,98% entre 2011 et 2013, et de *N. falsa* avec 48,45% en 2012. Chez les autres espèces d'annélides rencontrées au niveau de ce site, il a été noté la présence de *Scolelepis squamata* et *Lumbrinereis sp* uniquement en 2012 et en 2013 (Figure 52).

Le mollusque bivalve *Mitylus galloprovincialis* représente 81,15% en 2011, comparativement aux autres mollusques (*Diadora graeca*, *Tricolia speciosa* et *Patella sp*). Les arthropodes présents au niveau du site de Collo sont représentés par *Eriphia verrucosa* et des arthropodes (*Isopoda sp*) qui étaient les plus répandus avec un pourcentage maximal de 25,59% en 2012 et *Amphipoda sp* avec 23,05% en 2013 (Figure 52).

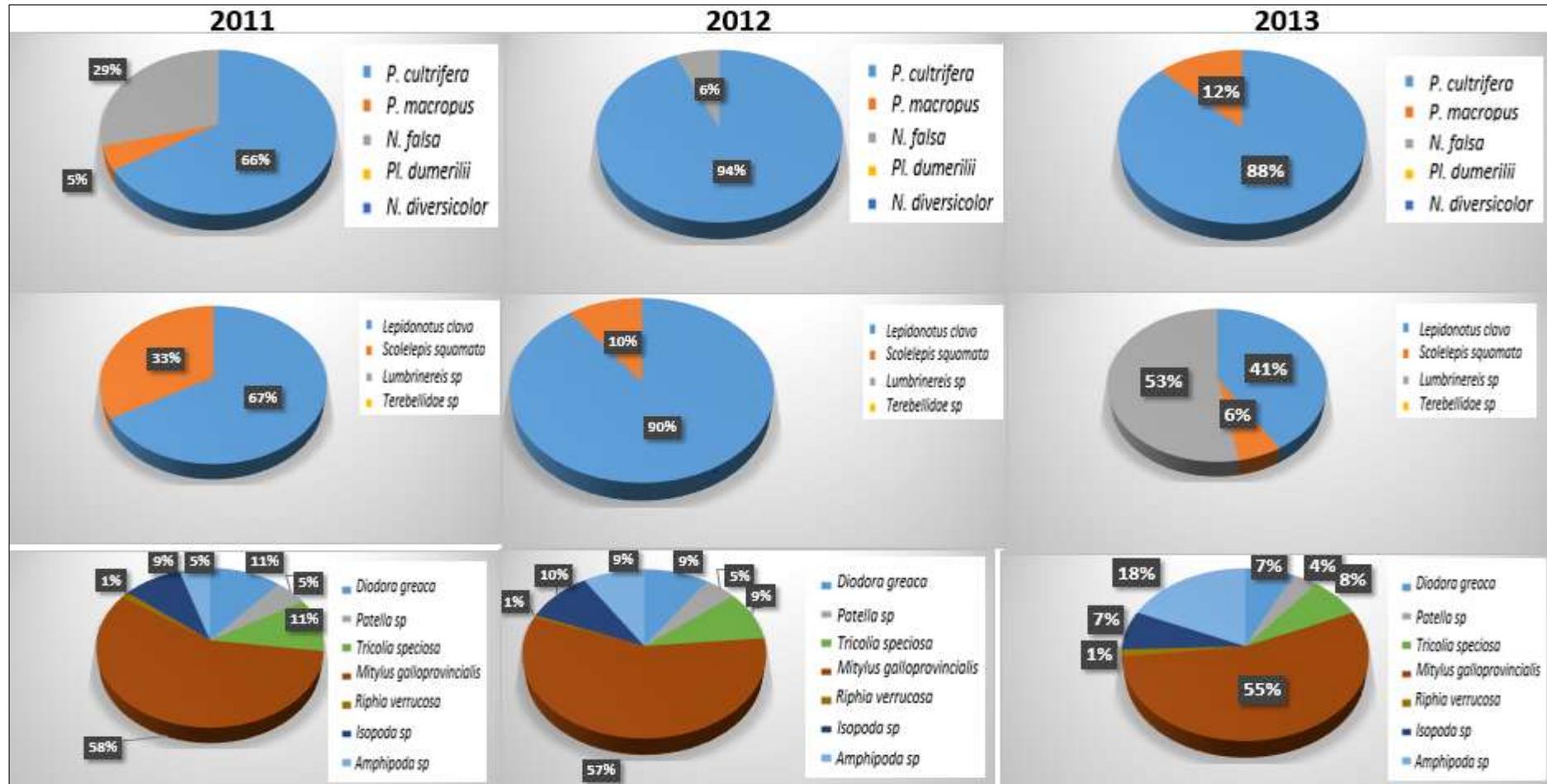


Figure 51 : Dominance de la macrofaune benthique présente au niveau du site de Skikda au cours de la période d'étude de Janvier 2011 à Décembre 2013.

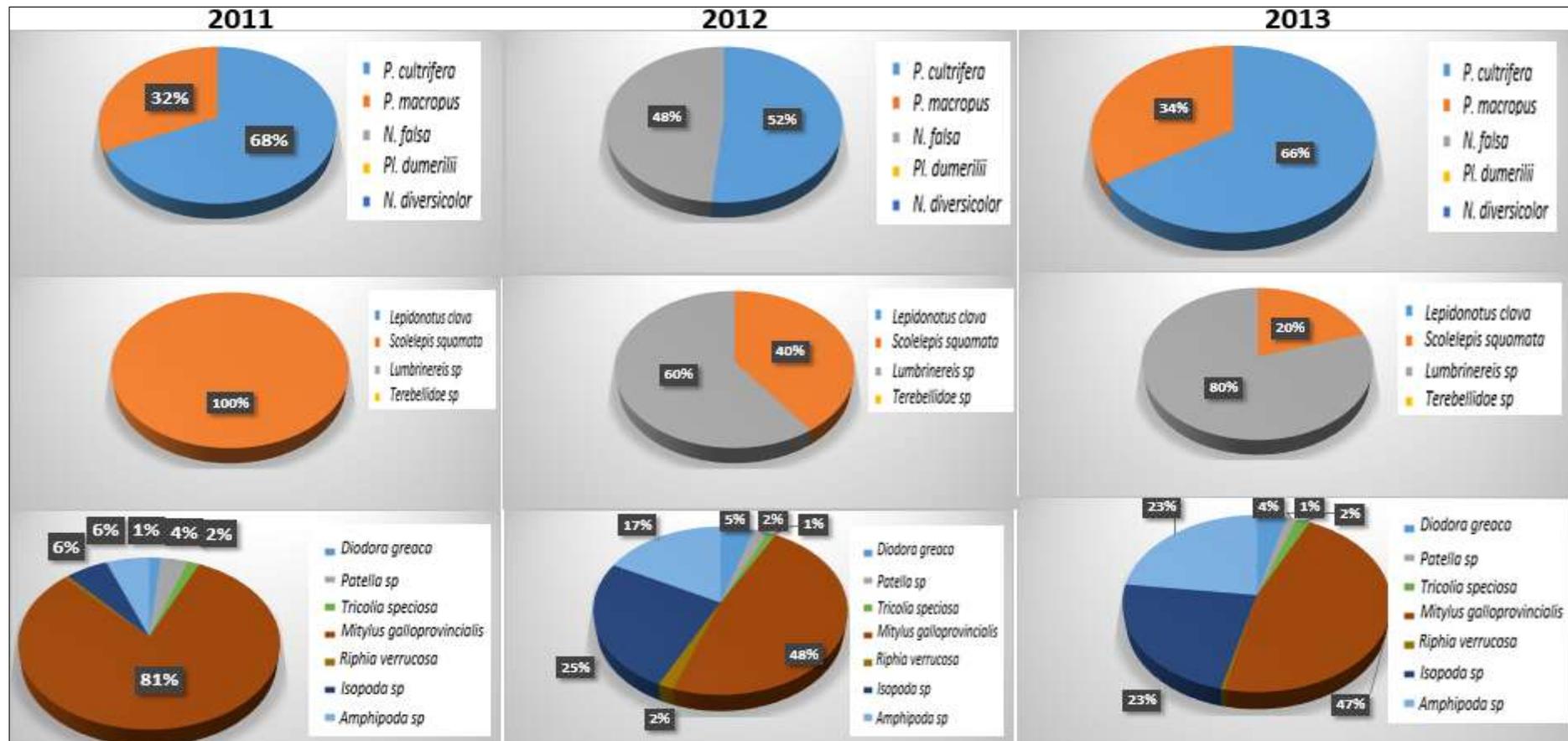


Figure 52 : Dominance de la macrofaune benthique présente au niveau du site de Collo au cours de la période d'étude de Janvier 2011 à Décembre 2013.

3.1.5. Indice de diversité (H') et équitabilité :

La diversité (H') des peuplements des quatre sites du littoral Est Algérien varie de 0,428 Bit à El-Kala, de 0,148 Bit à Annaba, de 0,323 Bit à Skikda et de 0,098 Bit à Collo en 2011. En 2012, elle varie selon les sites avec 0,161 Bit à El-Kala, 0,12 Bit à Annaba, 0,002 Bit à Skikda et 0,329 Bit à Collo. En 2013, la diversité (H') plus importante à El-Kala avec 0,575 Bit, 0,09 Bit à Annaba, 0,4 Bit à Skikda et 0,176 Bit à Collo.

En 2011, l'équitabilité est comprise entre un maximum à El-Kala avec 0,109 et un minimum à Collo avec 0,03. En 2012, les sites d'El-Kala et de Collo sont ceux où l'équitabilité est la plus élevée avec respectivement 0,04 et 0,09. Durant l'année 2013, l'équitabilité atteint son maximum sur les trois années, avec 0,14 à El-Kala et 0,05 à Collo et la valeur la plus faible a été enregistrée à Annaba (0,02) (Tableau 6).

Tableau 6 : La diversité (H') et l'équipartition (E) du peuplement de macroinvertébrés dans les différents sites étudiés.

| Années | Sites | H' | E |
|--------|---------|-------|--------|
| 2011 | El-Kala | 0,428 | 0,109 |
| | Annaba | 0,148 | 0,04 |
| | Skikda | 0,323 | 0,08 |
| | Collo | 0,098 | 0,03 |
| 2012 | El-Kala | 0,161 | 0,04 |
| | Annaba | 0,12 | 0,03 |
| | Skikda | 0,002 | 0,0006 |
| | Collo | 0,329 | 0,09 |
| 2013 | El-Kala | 0,575 | 0,14 |
| | Annaba | 0,09 | 0,02 |
| | Skikda | 0,4 | 0,11 |
| | Collo | 0,176 | 0,05 |

3.2. Étude biochimique : Impact de la pollution sur *P. cultrifera*

3.2.1. Évolution des paramètres physico-chimiques de l'eau

Les paramètres physico-chimiques de l'eau de mer mesurés durant l'année 2011 dans les trois sites d'étude (El-Kala, Annaba et Skikda) sont représentés dans les figures 52, 53, 54, 55 et 56.

3.2.1.1. Température

L'évolution de la température (°C) durant l'année 2011 présente une même tendance pour les trois sites. Par ailleurs, la température montre des fluctuations importantes en rapport avec les saisons. En effet, le minimum a été enregistré pendant la saison hivernale avec 15,3°C à El-Kala en Janvier, et variait entre 13,9 °C et 14,5 °C et ce en Décembre respectivement à Annaba et à Skikda. Une augmentation progressive de la température a été notée à partir d'Avril atteignant son maximum en Août avec 29,3 °C à El-Kala et 29 °C à Skikda et en Juillet avec 28,8 °C à Annaba. En période automnale une diminution de la température a été observée pour les trois sites d'étude (Figure 53).

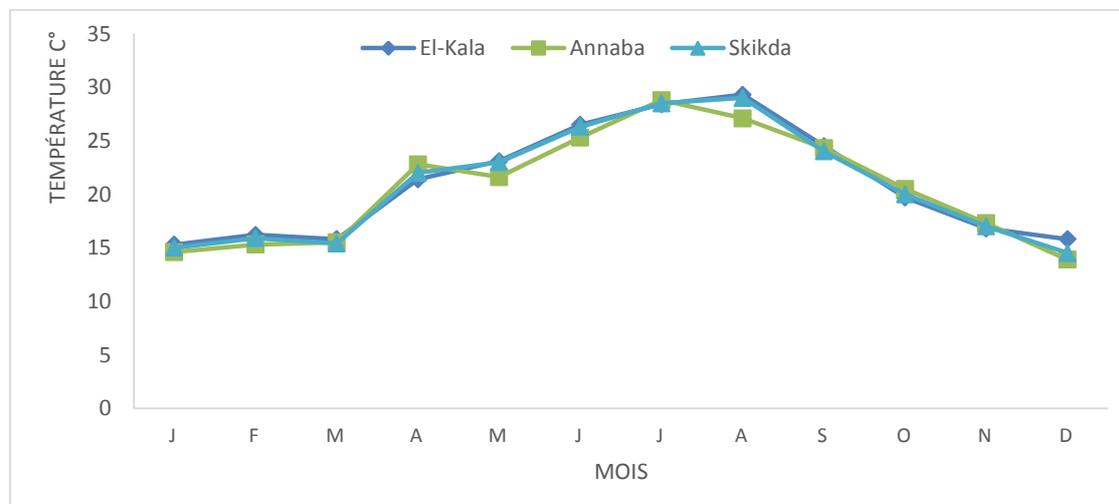


Figure 53 : Variations mensuelles de la température (°C) au niveau des trois sites étudiés (Janvier 2011, Décembre 2011).

L'analyse de la variance à un critère de classification n'a pas montré de différence significative entre les sites (El-Kala, Annaba et Skikda) pour la température (Tableau 7)

Tableau 7 : ANOVA à un facteur contrôlé des variations de la température de l'eau de mer au niveau (El-Kala, Annaba et Skikda) durant l'année 2011.

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|-----------|--------------|---------------|--------------|--------------|
| Factorielle | 2 | 1,4 | 0,714 | 0,026 | 0,974 |
| Résiduelle | 33 | 911,4 | 27,618 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs**,: Test de Fisher; **P**: Seuil de signification.

3.2.1.2. pH

La mesure du pH au cours de la période d'étude n'a pas montré de fluctuations dans le site d'El-Kala où le pH était légèrement alcalin et la valeur minimale était de 6,9 en Août et la valeur maximale atteignait 8,6 en Janvier. Le pH variait entre un minimum de 7 en Août et un maximum de 8,5 en Janvier à Annaba. Enfin, à Skikda la valeur minimale enregistrée était de 6,8 en Septembre contre une valeur maximale de 8,3 en Janvier (Figure 54).

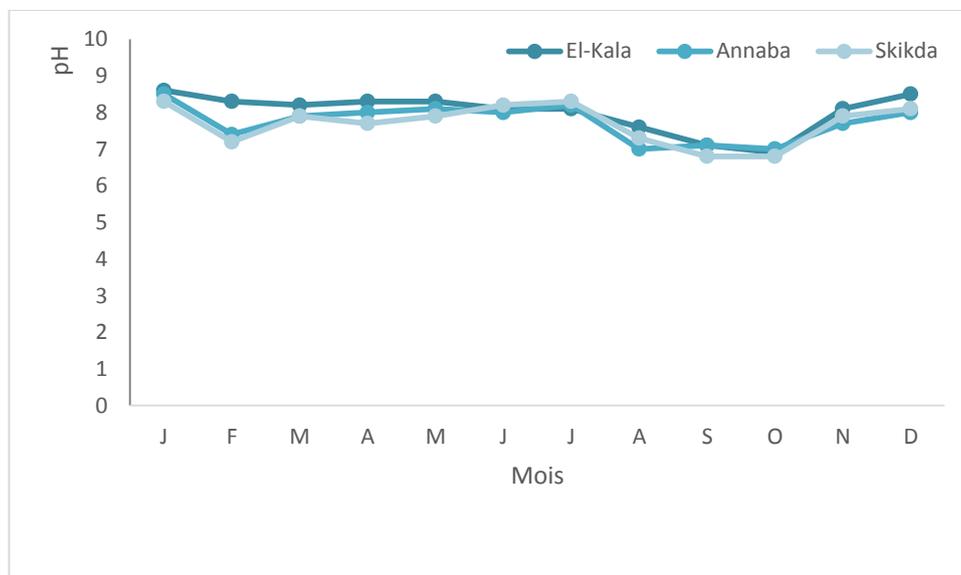


Figure 54 : Variations mensuelles du pH au niveau des trois sites étudiés (Janvier 2011, Décembre 2011).

L'analyse de la variance à un critère de classification n'a pas montré de différence entre les sites (El-Kala, Annaba et Skikda) pour le pH (Tableau 8).

Tableau 8 : ANOVA à un facteur contrôlé des variations du pH de l'eau de mer au niveau (El-Kala, Annaba et Skikda) durant l'année 2011.

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|-----------|--------------|---------------|--------------|--------------|
| Factorielle | 2 | 0,672 | 0,3358 | 1,207 | 0.312 |
| Résiduelle | 33 | 9,178 | 0,2781 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs,:** Test de Fisher; **P**: Seuil de signification.

3.2.1.3. Salinité

La salinité n'a pas présenté de variations entre les sites d'étude durant l'année 2011. En effet, elle présentait une augmentation progressive à partir d'Avril atteignant son maximum au mois de septembre dans le site d'El-Kala avec une valeur de 38,6 mg/l. Au mois d'Octobre et à Annaba, une valeur de 36 mg/l a été enregistrée, ainsi qu'au mois d'Août où la valeur de 32,5 mg/l a couronné le site de Skikda. Les valeurs les plus faibles de la salinité ont été enregistrées au mois de décembre avec 24,6 mg/l, 22,5 mg/l et 20,8 mg/l respectivement au niveau d'El-Kala, d'Annaba et de Skikda (figure 55).

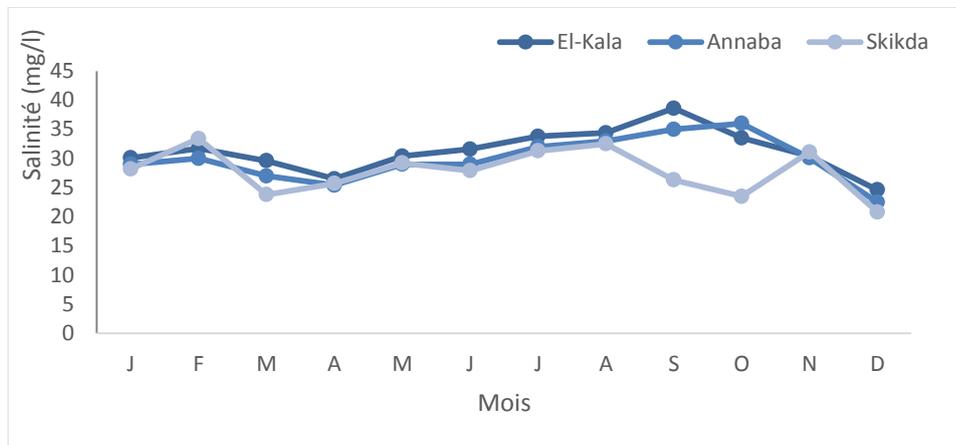


Figure 55 : Variations mensuelles de la salinité mg/l au niveau des trois sites étudiés (Janvier 2011, Décembre 2011).

L'analyse de la variance à un critère de classification n'a pas montré de différence entre les sites (El-Kala, Annaba et Skikda) pour la salinité (Tableau 9).

Tableau 9 : ANOVA à un facteur contrôlé des variations de la salinité de l'eau de mer au niveau (El-Kala, Annaba et Skikda) durant l'année 2011.

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|-----------|--------------|--------------|--------------|---------------|
| Factorielle | 2 | 72.5 | 36.23 | 2.491 | 0.0983 |
| Résiduelle | 33 | 480.1 | 14.55 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs**,: Test de Fisher; **P**: Seuil de signification.

3.2.1.4. Oxygène dissous

La variation mensuelle de l'oxygène dissous (mg/l) au cours de l'année 2011 atteint leur maximum au mois de janvier pour El-Kala et Annaba avec des valeurs de 19,51 mg/l et 15,4 mg/l et au mois de Février avec une valeur de 12,74 mg/l à Skikda. On a observé une diminution progressive dans les valeurs de l'O₂ dissous atteignant leurs minimum au mois d'Octobre au niveau des trois sites avec les valeurs de : 4,75 mg/l, 4,1 mg/l et 3,53 mg/l respectivement pour El-Kala, Annaba et Skikda (figure 56).

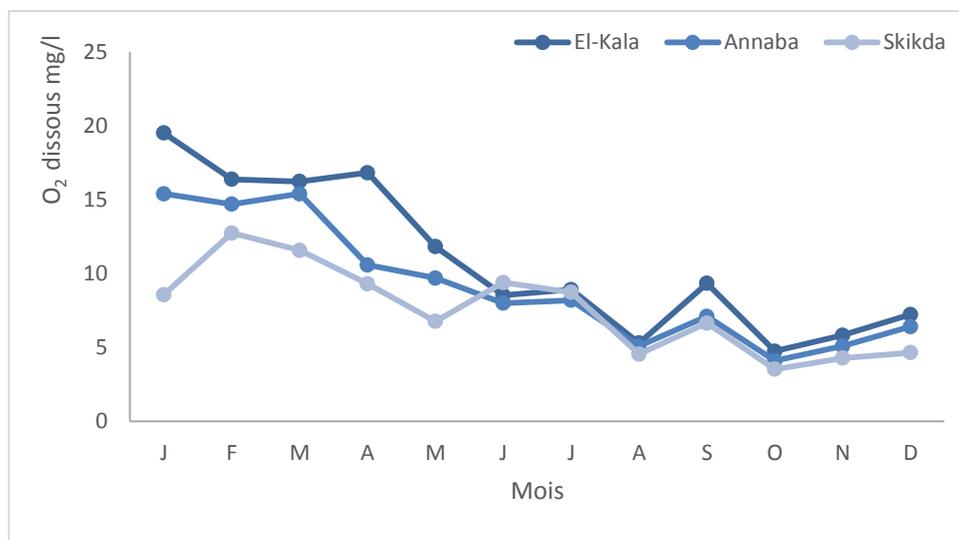


Figure 56 : Variations mensuelles de l'oxygène dissous au niveau des trois sites étudiés (Janvier 2011, Décembre 2011).

L'analyse de la variance à un critère de classification n'a pas montré de différence entre les sites (El-Kala, Annaba et Skikda) pour l'O₂ dissous (Tableau 10).

Tableau 10 : ANOVA à un facteur contrôlé des variations de l'O₂ dissous de l'eau de mer au niveau (El-Kala, Annaba et Skikda) durant l'année 2011.

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Factorielle | 2 | 66,4 | 33,19 | 1,921 | 0,162 |
| Résiduelle | 33 | 570,2 | 17,28 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs**,: Test de Fisher; **P**: Seuil de signification.

3.2.1.5. DBO₅

Pour la DBO₅, les résultats de dosage ne montrent pas de variations entre les sites avec un minimum de 3,61 mg/l dans la plage de St-Cloud (Annaba), et un maximum de 4,1 mg/l dans la plage Stora (Skikda) (Figure 57).

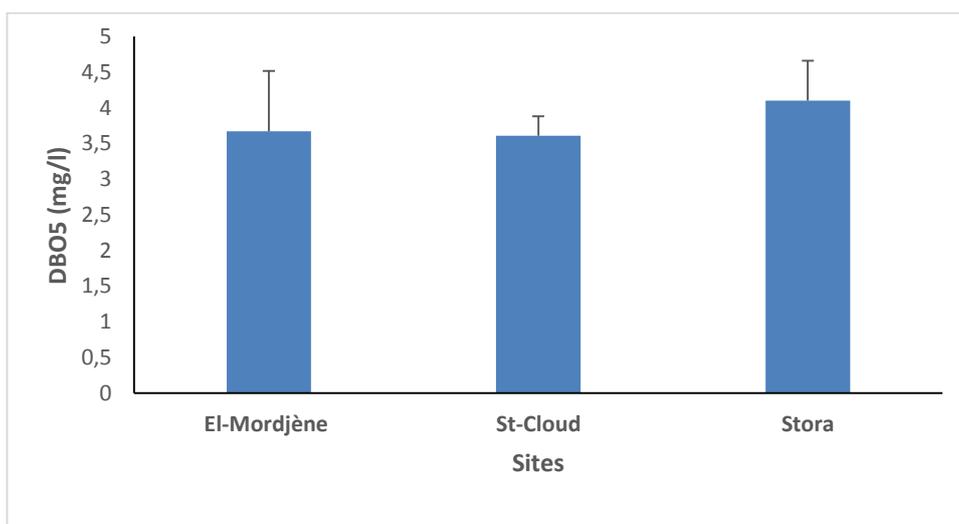


Figure 57 : Paramètres physico-chimiques (DBO₅ en mg/l) de l'eau de mer dans les sites d'étude.

L'analyse de la variance indique qu'il n'existe pas de différence significative entre les moyennes de la DBO₅ mesurées dans les trois sites d'étude (El-Kala, Annaba et Skikda) (Tableau 11).

Tableau 11 : ANOVA à un facteur contrôlé du dosage du DBO₅ dans l'eau de mer au niveau des trois sites d'étude (El-Kala, Annaba et Skikda) durant l'année 2011.

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|-------------|-----|-------|-------|-------|-------|
| Factorielle | 2 | 3,322 | 1,661 | 1,596 | 0,278 |
| Résiduelle | 6 | 6,244 | 1,041 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs**,: Test de Fisher; **P**: Seuil de signification.

3.2.2. Dosage des hydrocarbures totaux dans l'eau de mer :

3.2.2.1. Courbe d'étalonnage

La gamme d'étalonnage a été effectuée pour déterminer la courbe d'étalonnage pour les hydrocarbures totaux, et l'équation de la droite de régression linéaire avec les moindres carrés et les coefficients de détermination ajustés (R^2), est utilisée pour calculer les concentrations des hydrocarbures totaux dans nos échantillons d'eau de mer (Figure 58).

L'équation de la droite de régression exprimant les absorbances affichés en fonction des concentrations des hydrocarbures (ppm), avec un coefficient de détermination $R^2 = 99,8\%$.

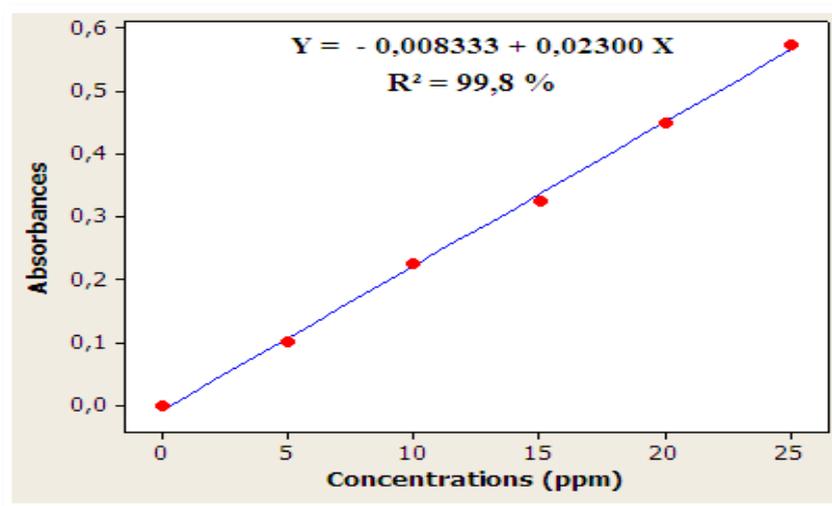


Figure 58 : Courbe d'étalonnage des hydrocarbures totaux (ppm)

3.2.2.2. Concentration des hydrocarbures totaux dans l'eau de mer

Les concentrations des hydrocarbures totaux dans l'eau de mer montrent une différence très significative entre les sites, variant de 2,87 mg/l enregistrée à la plage El-Mordjène et de 4,78 mg/l à Stora (Skikda) (Tableau 12).

Tableau 12: Concentrations des Hydrocarbures totaux dans l'eau de mer prélevée des stations d'étude en Mai 2012 ($m \pm s$; $n = 3$).

| Stations Paramètres | El Mordjène | St- Cloud | Stora |
|--------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Hydrocarbures totaux (mg/l) | 2,87 ± 0,058 | 2,94 ± 0,057 | 4,78 ± 0,666 |

Le test de Tukey a permis de comparer les trois sites où une classification a été mise en évidence pour les répartir en deux groupes : le groupe A représentant le site de Stora, qui est le plus contaminé par les hydrocarbures totaux, du groupe B qui correspond aux sites : St-Cloud et El-Mordjène (Figure 59).

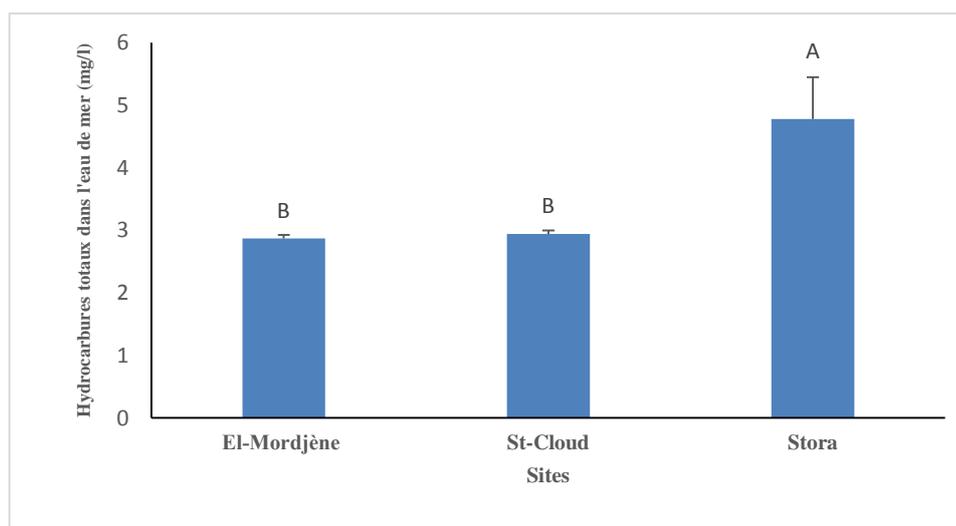


Figure 59 : Concentrations des Hydrocarbures totaux (mg/l) dans l'eau de mer des sites d'étude en Mai 2012. ($m \pm s$, $n = 3$).

L'ANOVA à un seul critère de classification montre que la différence entre les stations est très hautement significative avec $p < 0,001$ (Tableau 13).

Tableau 13 : Analyse de la variance à un seul facteur contrôlé des concentrations des Hydrocarbures totaux dans les sites d'étude.

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|------------|--------------|--------------|--------------|---------------------|
| Factorielle | 2 | 6.992 | 3.496 | 14982 | 8.02e-12 *** |
| Résiduelle | 6 | 0.001 | 0.000 | | |

DDL: Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs**,: Test de Fisher; **P**: Seuil de signification.

3.2.3. Les paramètres morphométriques

3.2.3.1. Variation du poids frais

Le poids frais des individus de *P. cultrifera* récoltés au niveau des trois sites d'étude (El-Kala, Annaba et Skikda) a été déterminé mensuellement durant l'année 2011.

Les variations mensuelles du poids frais des individus de *P. cultrifera* montrent une augmentation progressive du poids de janvier avec un maximum atteint au mois d'avril (0.306 ± 0.001 ; 0.248 ± 0.004 et 0.191 ± 0.005 g) respectivement pour les sites d'El-Kala, d'Annaba et de Skikda, puis une diminution du poids atteignant un minimum au mois d'Août (0.098 ± 0.002 ; 0.085 ± 0.001 et 0.074 ± 0.004 g) respectivement à El-Kala, Annaba et Skikda, et c'est à signaler qu'une légère augmentation en décembre a été enregistrée (Figure 60).

L'analyse statistique ANOVA à un facteur contrôlé a révélé une différence très hautement significative entre les sites pendant toute la période d'étude, le test de Tukey a classé les sites en trois groupes : le groupe A correspondant au site d'El-Kala, groupe B : celui d'Annaba et groupe C : à celui de Skikda (Tableau 14).

Tableau 14 : Variations mensuelles du poids corporel (g) chez *P. cultrifera*, analyse ANOVA à un critère de classification entre les sites pour le même mois, avec la classification de Tukey (m ± s).

| | El-Kala | Annaba | Skikda | P |
|-----------|-----------------|----------------|---------------|--------------|
| Janvier | 0,175 ± 0,001 A | 0.142± 0.003 B | 0.121±0.002 C | 4.37e-07 *** |
| Février | 0,193 ±0,0005 A | 0.188±0.005 B | 0.136±0.004 C | 4.26e-06 *** |
| Mars | 0,24 ± 0,002 A | 0.204±0.001 B | 0.162±0.004 C | 1.72e-07 *** |
| Avril | 0,306 ± 0,001 A | 0.248±0.004 B | 0.191±0.005 C | 1.14e-07 *** |
| Mai | 0,257± 0,003 A | 0.216±0.003 B | 0.17±0.007 C | 2.37e-06 *** |
| Juin | 0,218±0,001 A | 0.179±0.004 B | 0.139±0.004 C | 5.36e-07 *** |
| Juillet | 0,175±0,005 A | 0.138±0.001 B | 0.11±0.003 C | 2.69e-06 *** |
| Août | 0,098± 0.002 A | 0.085±0.001 B | 0.074±0.004 C | 0.000139 *** |
| Septembre | 0,134±0.001 A | 0.102±0.002 B | 0.096±0.005 C | 3.13e-05 *** |
| Octobre | 0,15±0.004 A | 0.121±0.002 B | 0.104±0.005 C | 2.52e-05 *** |
| Novembre | 0,163±0.003 A | 0.133±0.003 B | 0.111±0.004 C | 1.09e-05 *** |
| Décembre | 0,169±0.004 A | 0.139±0.002 B | 0.119±0.003 C | 6.43e-06 *** |

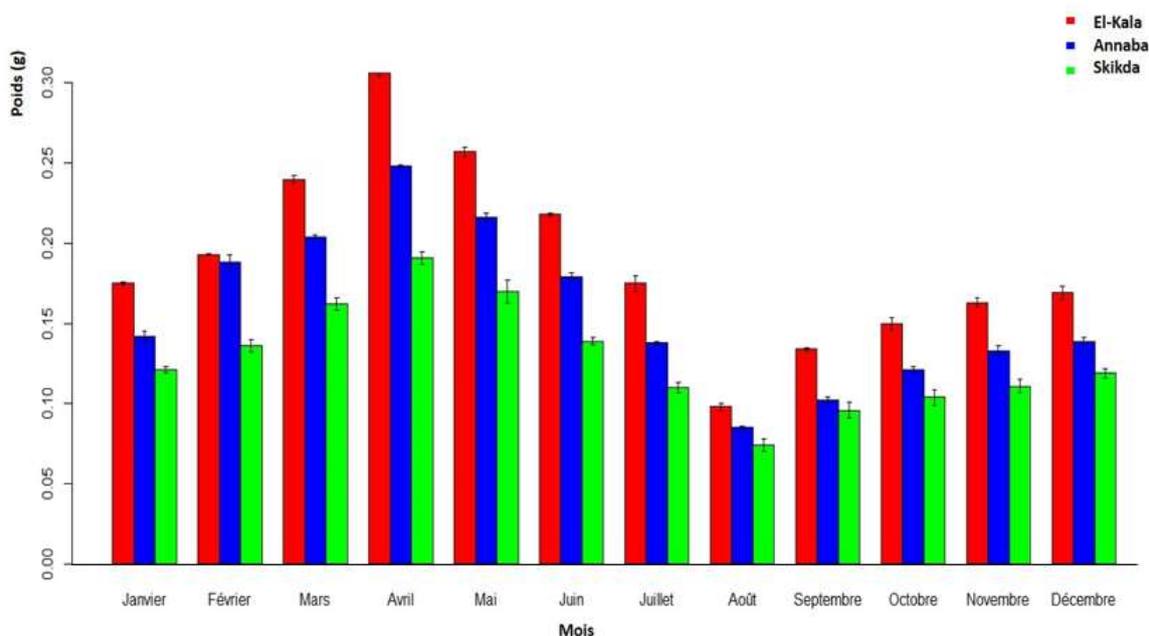


Figure 60 : Variations mensuelles du poids corporel (g) chez *P. cultrifera* au niveau des trois sites étudiés (Janvier 2011, Décembre 2011).

L'ANOVA à un seul critère de classification pour le site d'El-Mordjène (El-Kala) a montré une différence très hautement significative entre les mois (Tableau 15).

Tableau 15 : ANOVA à un critère de classification du poids corporel chez *P. cultrifera* pour le site d'El-Mordjène (El-Kala) durant l'année 2011.

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|-----------|----------------|-----------------|-------------|----------------------|
| Factorielle | 11 | 0,10812 | 0,009829 | 1134 | <2e-16 *** |
| Résiduelle | 24 | 0,00021 | 0,000009 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs,:** Test de Fisher; **P**: Seuil de signification.

Le test de Tukey a permis de classé les valeurs du poids corporel en onze groupes pour le site d'El-Mordjène (El-Kala) durant l'année 2011 (Figure 61).

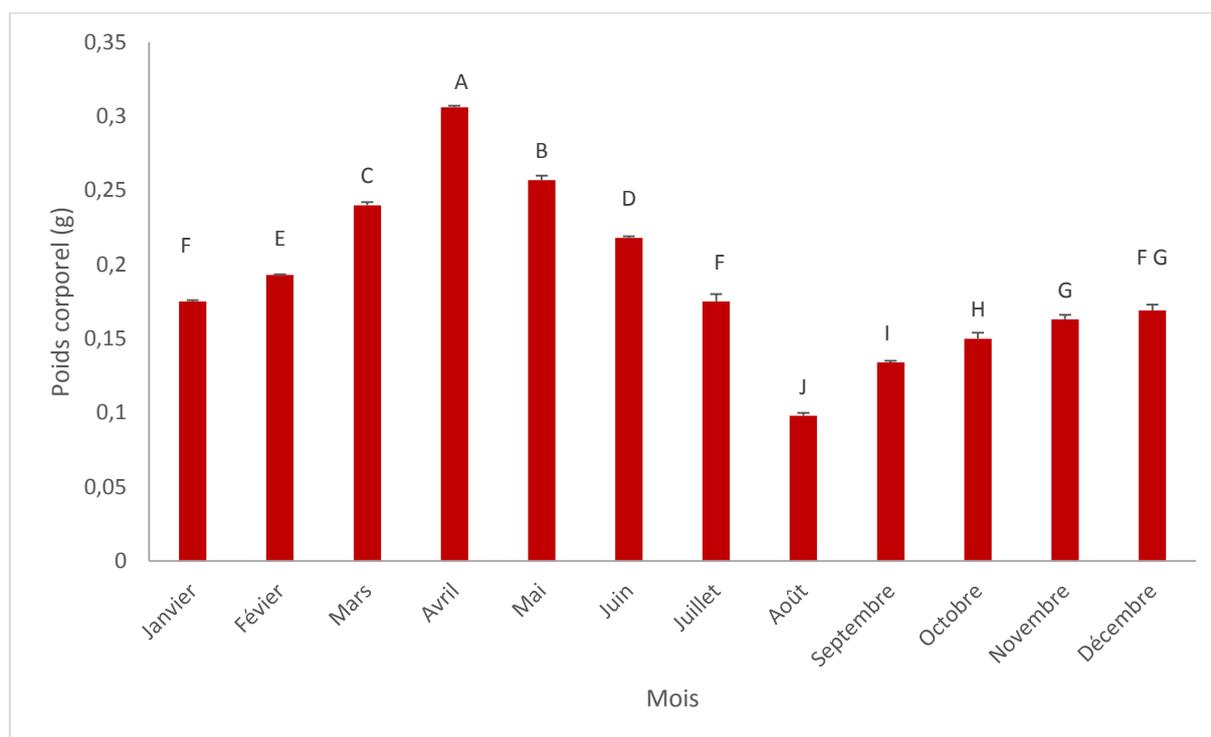


Figure 61 : Variations mensuelles du poids corporel (g) chez *P. cultrifera* d'El-Mordjène (El-Kala) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'ANOVA à un seul critère de classification pour le site de St-Cloud (Annaba) a montré une différence très hautement significative entre les mois durant l'année 2011 (Tableau 16).

Tableau 16 : ANOVA à un facteur contrôlé des poids corporel chez *P. cultrifera* dans le site St-Cloud (Annaba).

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|------------|----------------|-----------------|--------------|----------------------|
| Factorielle | 11 | 0,07939 | 0,007217 | 736 | <2e-16 *** |
| Résiduelle | 24 | 0,00024 | 0,000010 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs**,: Test de Fisher; **P**: Seuil de signification.

Le test de Tukey a classé les mois en neuf groupes pour le site de St-Cloud (Annaba) durant l'année 2011 (Figure 62).

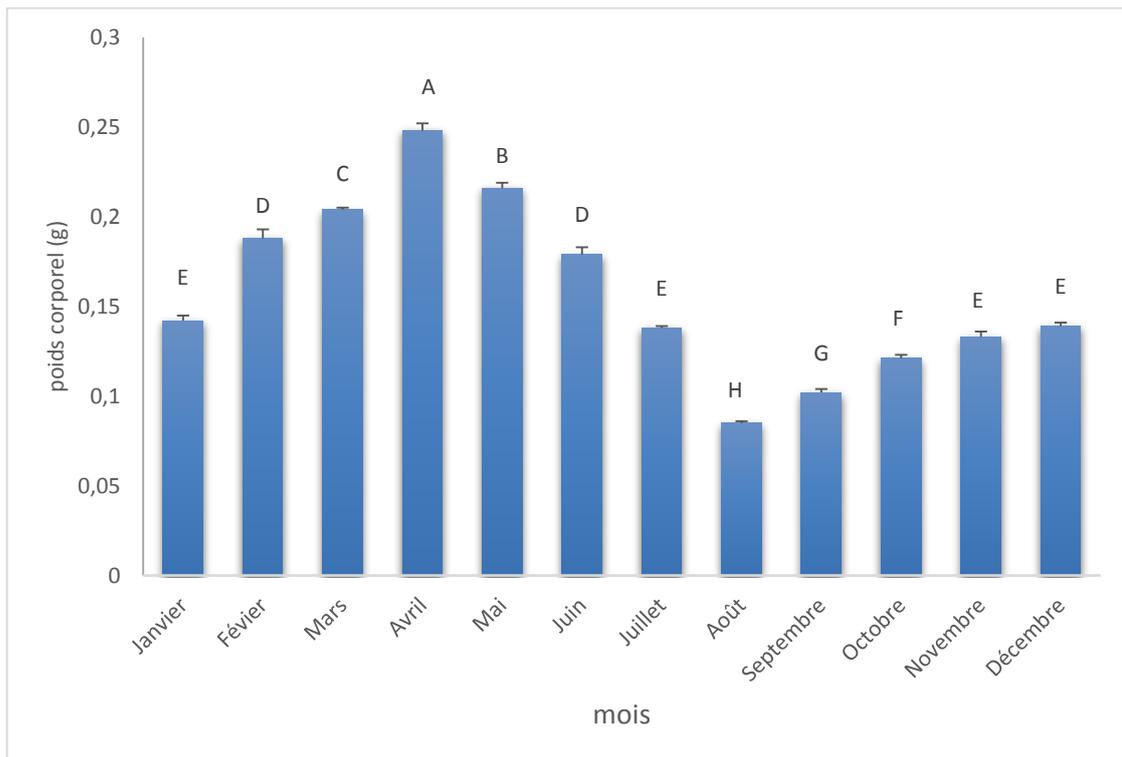


Figure 62 : Variations mensuelles du poids corporel (g) chez *P. cultrifera* dans le site St-Cloud (Annaba) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'ANOVA à un seul critère de classification pour le site de Stora (Skikda) a montré une différence très hautement significative entre les mois (Tableau 17).

Tableau 17 : ANOVA à un facteur contrôlé des poids corporel chez les femelles de *P. cultrifera* dans le site de Skikda.

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|-----------|----------------|-----------------|--------------|----------------------|
| Factorielle | 11 | 0,03698 | 0,003362 | 148,3 | <2e-16 *** |
| Résiduelle | 24 | 0,00054 | 0,000023 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs**,: Test de Fisher; **P**: Seuil de signification.

Le test de Tukey a regroupé les mois du site de Stora (Skikda) en neuf groupes durant l'année 2011 (Figure 63).

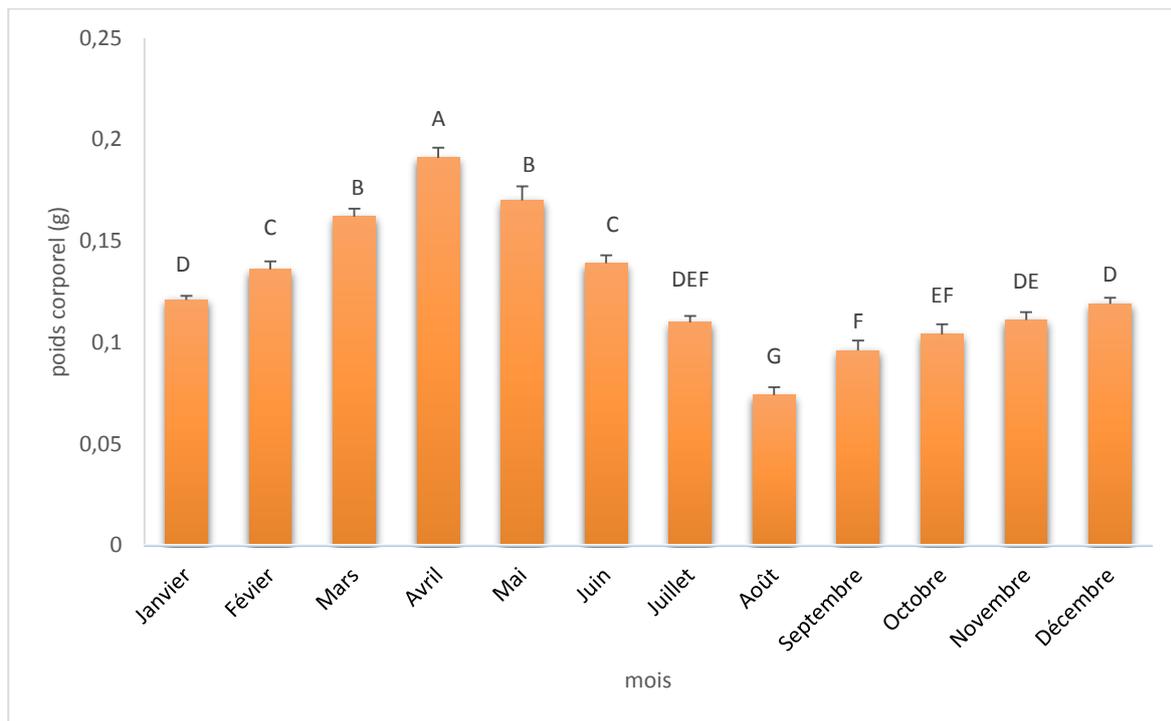


Figure 63 : Variations mensuelles du poids corporel (g) chez *P. cultrifera* dans le site de Stora (Skikda) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'analyse ANOVA à deux critères de classification (Sites, Mois) réalisée pour le poids chez *P. cultrifera* au niveau des trois sites durant l'année 2011 a révélé une différence très hautement significative entre les sites et entre les mois et une interaction sites/mois non significative (Tableau 18).

Tableau 18 : ANOVA à deux facteurs contrôlés du poids chez *P. cultrifera* dans les trois sites d'étude en 2011.

| Source de variation | DDL | SCE | CM | F obs. | P |
|---------------------------|-----|---------|---------|--------|--------------|
| Sites | 1 | 0,06919 | 0,06919 | 45,271 | 9,58 e-10*** |
| Mois | 1 | 0,06439 | 0,06439 | 42,131 | 2,96 e-09*** |
| Interaction stations/mois | 1 | 0,00214 | 0,00214 | 1,402 | 0,239 |
| Erreur résiduelle | 104 | 0,15895 | 0,00153 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs.**: Test de Fisher; **P**: Seuil de signification.

3.2.3.2. Variation de la taille

La taille des individus de *P. cultrifera* récoltés au niveau des trois sites d'étude (El-Kala, Annaba et Skikda) a été mesurée mensuellement durant l'année 2011.

Nous avons observé une augmentation progressive de la taille chez les individus de *P. cultrifera* au niveau des trois sites d'étude de février à mai ($51,33 \pm 1,52$; 47 ± 1 et 42 ± 1 mm) respectivement pour les sites d'El-Kala, d'Annaba et de Skikda. Une diminution de la taille a été notée au mois d'Août (30 ± 1 ; 27 ± 1 et $21,33 \pm 1,52$ mm) correspondant aux sites d'El-Kala, d'Annaba et de Skikda. Une légère augmentation a été observée au mois de Décembre (Figure 64).

L'analyse statistique ANOVA à un critère de classification a révélé une différence très hautement significative entre les sites pour les mois de : Janvier, Février, Mars, Avril, Mai, septembre, Octobre, Novembre et Décembre ($p < 0,01$). Le test de Tukey a classé les sites en trois groupes un groupe A pour le site d'El-Kala, un groupe B correspondant à Annaba et un groupe C à celui de Skikda (Tableau 19).

Pour le mois de Juin, l'analyse ANOVA à un critère de classification a montré une différence hautement significative entre les sites ($p < 0,05$). Les sites sont réparties en deux groupes le groupe A correspond à le site d'El-Mordjène (El-Kala), et le groupe B représente le site de Saint Cloud (Annaba) et de Stora (Skikda), où il existe une différence entre les individus d'El Mordjène et les individus des autres sites, mais aucune différence n'a été enregistrée entre les individus des stations du groupe B, ainsi qu'entre les stations étudiées durant le mois de Juillet (Tableau 19).

L'analyse ANOVA à un critère de classification pour le mois d'Août a présenté une différence hautement significative ($p < 0,05$) entre les sites. Le test de Tukey nous a permis de classer les sites en deux groupes : le groupe A renferme les individus d'El Morjane et de St-Cloud qui possèdent les valeurs du poids les plus élevées, et le groupe B représenté par les individus du site de Stora (Tableau 19).

Tableau 19 : variations mensuelles de la taille (mm) chez *P. cultrifera*, ANOVA à un critère de classification entre les sites pour le même mois, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

| | El-Kala | Annaba | Skikda | p |
|-----------|--------------|--------------|---------------|--------------|
| Janvier | 39±1 A | 34 ±1 B | 30±1 C | 0,000103 *** |
| Février | 38±1 A | 33±1 B | 28±1 C | 5,69e-05 *** |
| Mars | 43,66±1,52 A | 41,33±1,52 B | 33 ±1 C | 0,000182 *** |
| Avril | 46±1 A | 42,66±1,52 B | 39±1 C | 0,00117 ** |
| Mai | 51,33±1,52 A | 47±1 B | 42±1 C | 0,00024 *** |
| Juin | 41±1 A | 38±1 B | 37±1 B | 0,00659 ** |
| Juillet | 36±1 A | 34,33±1,52 A | 33±1 A | 0,0593 |
| Août | 30±1 A | 27±1 A | 21,33±1,52 B | 0,00151 ** |
| Septembre | 31,33±0,57 A | 28±1 B | 23±1 C | 7,59e-05 *** |
| Octobre | 30,33±0,57 A | 29±1 B | 22±1 C | 7,59e-05 *** |
| Novembre | 35±1 A | 30±1 B | 23,33±1, 52 C | 6,62e-05 *** |
| Décembre | 36±1 A | 33±1 B | 29±1 C | 0,000422 *** |

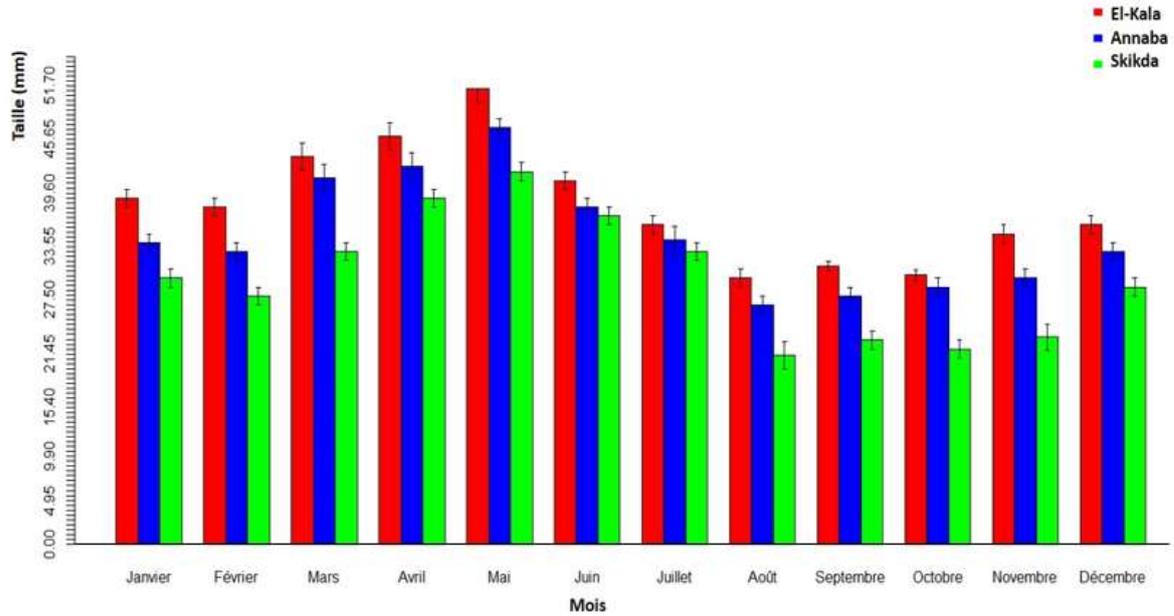


Figure 64 : variations mensuelles de la taille (mm) au niveau des trois sites étudiés (Janvier 2011, Décembre 2011).

L'ANOVA à un seul critère de classification pour le site d'El-Kala a montré une différence très hautement significative entre les mois (Tableau 20).

Tableau 20: ANOVA à un critère de classification pour la taille chez *P. cultrifera* pour le site d'El-Mordjène (El-Kala) durant l'année 2011.

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|-----------|---------------|---------------|--------------|----------------------|
| Factorielle | 11 | 1403,6 | 127,60 | 114,8 | <2e-16 *** |
| Résiduelle | 24 | 26,7 | 1,11 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrés des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs.**: Test de Fisher; **P**: Seuil de signification.

Le test de Tukey a classé les mois du site El-Mordjène (El-Kala) en neuf groupes durant l'année 2011 (Figure 65).

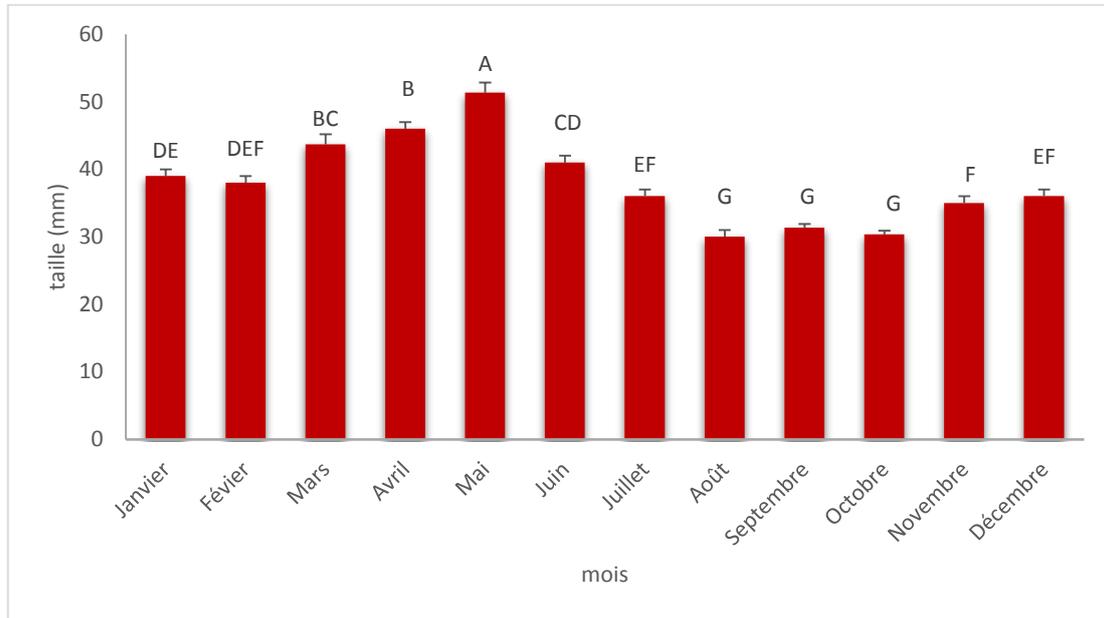


Figure 65 : Variations mensuelles de la taille (mm) chez *P. cultrifera* pour le site d' El-Mordjène (El-Kala) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'ANOVA à un seul critère de classification dans le site d'Annaba a montré une différence très hautement significative entre les mois (Tableau 21).

Tableau 21 : ANOVA à un critère de classification pour la taille chez *P. cultrifera* pour le site d'Annaba durant l'année 2011.

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|------------|-------------|---------------|--------------|----------------------|
| Factorielle | 11 | 1385 | 125,87 | 94,4 | <2e-16 *** |
| Résiduelle | 24 | 32 | 1,33 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrées des écarts; **CM:** Carré moyen; **F obs,:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification,

Le test de Tukey a permis de classé les mois pour le site St-Cloud (Annaba) en huit groupes durant l'année 2011 (Figure 66).

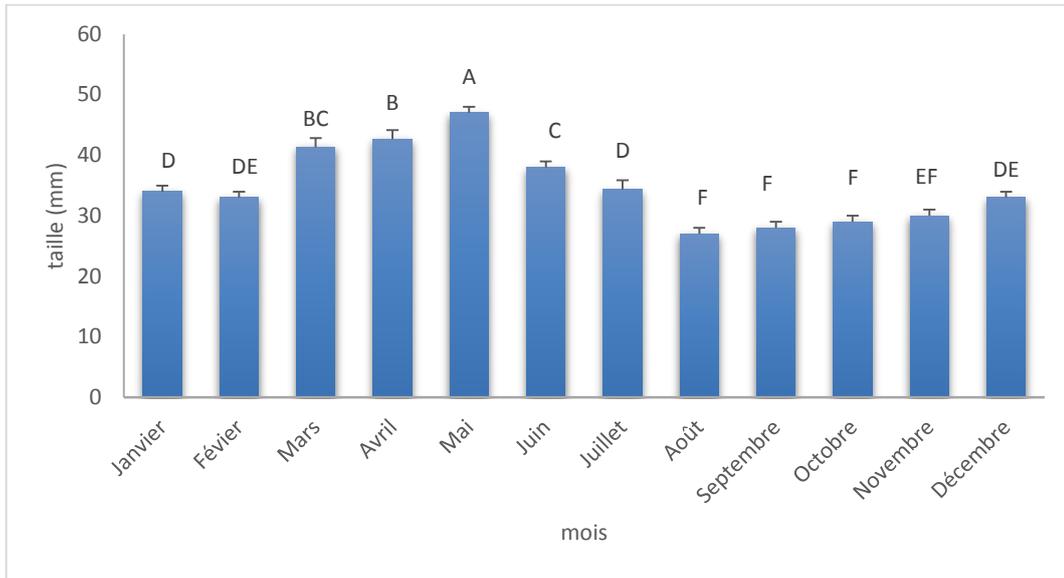


Figure 66 : Variations mensuelles de la taille chez *P. cultrifera* pour le site St-Cloud (Annaba) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'ANOVA à un seul critère de classification pour le site de Stora (Skikda) a montré une différence très hautement significative entre les mois (Tableau 22).

Tableau 22 : ANOVA à un critère de classification de la taille chez *P. cultrifera* pour le site de Stora (Skikda) durant l'année 2011.

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|------------|---------------|---------------|--------------|----------------------|
| Factorielle | 11 | 1494,9 | 135,90 | 111,2 | <2e-16 *** |
| Résiduelle | 24 | 29,3 | 1,22 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrées des écarts; **CM:** Carré moyen; **F obs,:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification,

Le test de Tukey a regroupé les mois en sept groupes pour les mois du site Stora (Skikda) durant l'année 2011 (Figure 67).

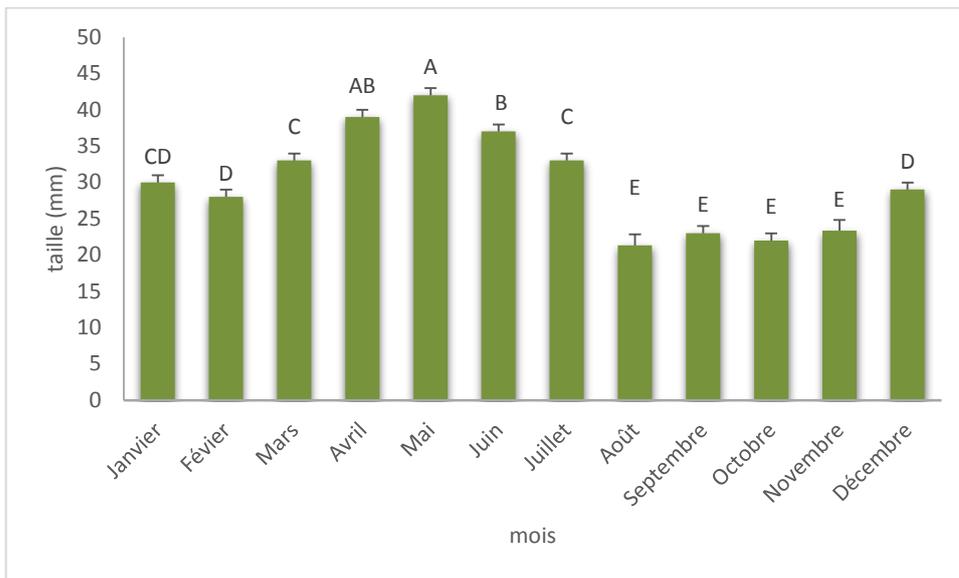


Figure 67 : Variations mensuelles de la taille (mm) chez *P. cultrifera* pour le site de Stora (Skikda) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'analyse ANOVA à deux critères de classification (Sites, mois) réalisée sur les données relatives au niveau des trois sites pour la taille a révélé une différence très hautement significative entre les sites et entre les mois, et une interaction sites/mois non significative (Tableau 23).

Tableau 23 : ANOVA à deux facteurs contrôlés de la taille chez *P. cultrifera* dans les trois sites d'étude en 2011.

| Source de variation | DDL | SCE | CM | F obs. | P |
|---------------------------|-----|--------|--------|--------|--------------|
| Sites | 1 | 1128,1 | 1128,1 | 37,397 | 1,71 e-08*** |
| Mois | 1 | 1236,5 | 1236,5 | 40,990 | 4,50 e-09*** |
| Interaction stations/mois | 1 | 1,7 | 1,7 | 0,057 | 0,811 |
| Erreur résiduelle | 104 | 3137,3 | 30,2 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrées des écarts; **CM:** Carré moyen; **F obs.:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification.

3.2.3.3. Variation du nombre de sétigères

Les variations du nombre de sétigères chez les individus de *P. cultrifera* au niveau des trois sites d'étude, montrent une augmentation de leur nombre à partir du mois Janvier jusqu'au mois d'Avril avec un maximum atteint de : $75,66 \pm 4,93$; 67 ± 2 et $54,33 \pm 1,52$ sétigères correspondant respectivement à El-Kala, Annaba et Skikda, suivi d'une diminution au mois d'Août présentant les valeurs les plus faibles avec $36,33 \pm 1,52$; $32,33 \pm 1,52$ et $24,66 \pm 2,51$ sétigères, au niveau des différents sites respectifs d'El-Kala, d'Annaba et de Skikda (Figure 68).

L'analyse de la variance de la variation mensuelle du nombre de sétigères par le test de Tukey, a permis de comparer toutes les moyennes et de classer les sites étudiés en trois groupes et ce pour tous les mois: le groupe A correspond au site d'El-Mordjène, le groupe B à celui d'Annaba et le groupe C à Skikda où nous avons enregistré une différence entre les individus d'El-Mordjène et les individus des autres sites (Tableau 24).

Tableau 24 : variations mensuelles du nombre de sétigères chez *P. cultrifera*, ANOVA à un critère de classification entre les sites pour le même mois avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

| | El-Kala | Annaba | Skikda | P |
|-----------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------|
| Janvier | 64 ± 1 A | $48,66 \pm 2,08$ B | 41 ± 2 C | 1,09e-05 *** |
| Février | $62,33 \pm 2,08$ A | $54,66 \pm 1,52$ B | $47,66 \pm 2,51$ C | 0,000414 *** |
| Mars | $65,66 \pm 2,08$ A | $58,33 \pm 1,52$ B | $50 \pm 3,6$ C | 0,000896 *** |
| Avril | $75,66 \pm 4,93$ A | 67 ± 2 B | $54,33 \pm 1,52$ C | 0,000543 *** |
| Mai | $71,66 \pm 3,78$ A | $59,33 \pm 1,52$ B | $48,33 \pm 1,52$ C | 8,76e-05 *** |
| Juin | 70 ± 2 A | 55 ± 2 B | 42 ± 2 C | 7,96e-06 *** |
| Juillet | $51,66 \pm 1,52$ A | $44,33 \pm 1,52$ B | 37 ± 1 C | 3,91e-05 *** |
| Août | $36,33 \pm 1,52$ A | $32,33 \pm 1,52$ B | $24,66 \pm 2,52$ C | 0,000843 *** |
| Septembre | 41 ± 1 A | $36,33 \pm 2,08$ B | 31 ± 1 C | 0,00047 *** |
| Octobre | $44,66 \pm 1,52$ A | $39,66 \pm 2,51$ B | $32,33 \pm 1,52$ C | 0,000658 *** |
| Novembre | $47,33 \pm 1,52$ A | $38,33 \pm 1,52$ B | 38 ± 1 C | 0,000251 *** |
| Décembre | $51,66 \pm 1,52$ A | $47 \pm 2,64$ B | $38,33 \pm 1,52$ C | 0,00048 *** |

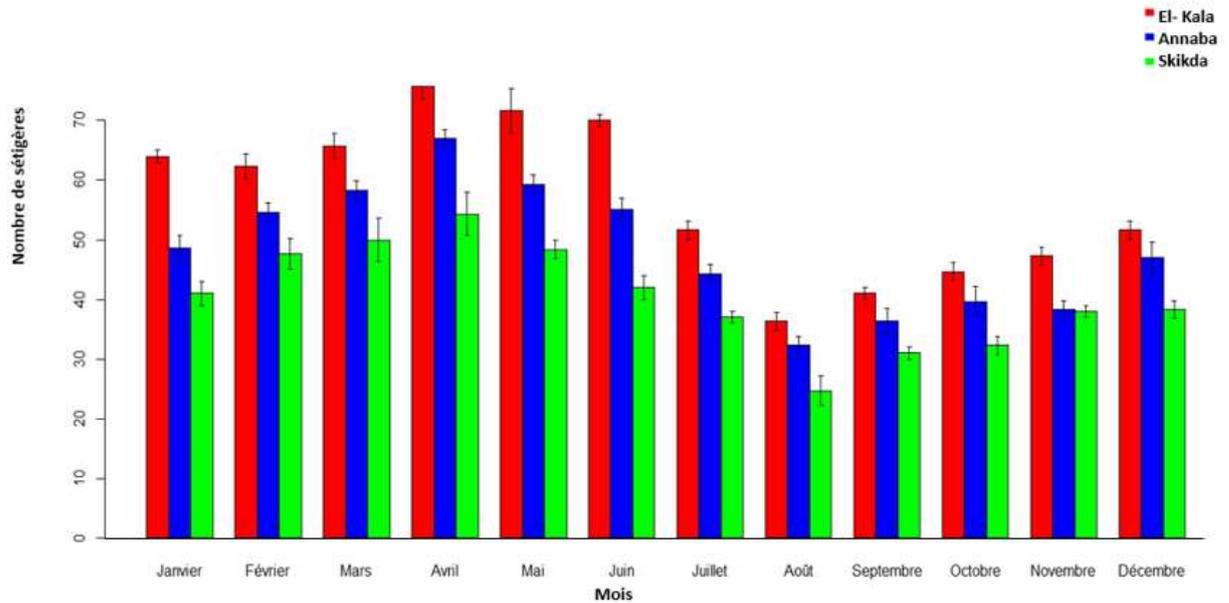


Figure 68 : Variations mensuelles du nombre de sésigères au niveau des trois sites étudiés (Janvier 2011, Décembre 2011).

L'ANOVA à un seul critère de classification pour le site d'El-Mordjène (El-Kala) a montré une différence très hautement significative entre les mois (Tableau 25).

Tableau 25 : ANOVA à un facteur contrôlé du nombre de sésigères chez *P. cultrifera* dans le site d'El-Mordjène (El-Kala).

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|------------|-------------|--------------|--------------|----------------------|
| Factorielle | 11 | 5611 | 510,1 | 94,17 | <2e-16 *** |
| Résiduelle | 24 | 130 | 5,4 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs**,: Test de Fisher; **P**: Seuil de signification,

Le test de Tukey a permis les valeurs moyennes du nombre de sésigères pour le site d'El-Mordjène (El-Kala) en douze groupes durant l'année 2011 (Figure 69).

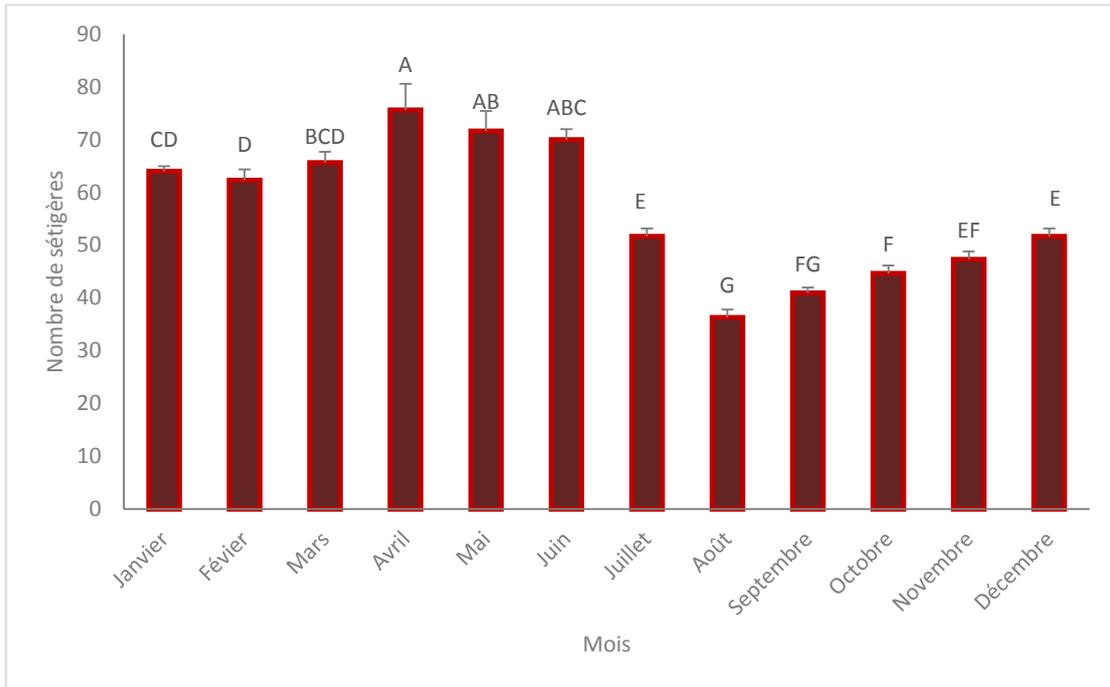


Figure 69 : Variations mensuelles du nombre de sétigères chez *P. cultrifera* dans le site d'El-Mordjène (El-Kala) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'ANOVA à un seul critère de classification pour le site St-Cloud (Annaba) a montré une différence très hautement significative entre les mois du nombre de sétigères (Tableau 26).

Tableau 26 : ANOVA à un facteur contrôlé du nombre de sétigère chez *P. cultrifera* dans le site St-Cloud (Annaba).

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|-----------|-------------|--------------|--------------|---------------------|
| Factorielle | 11 | 3741 | 340,1 | 92,75 | <2e-16*** |
| Résiduelle | 24 | 88 | 3,7 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrées des écarts; **CM:** Carré moyen; **F obs,:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification,

Le test de Tukey a classé les mois pour le site St-Cloud (Annaba) en douze groupes durant l'année 2011 (Figure 70).

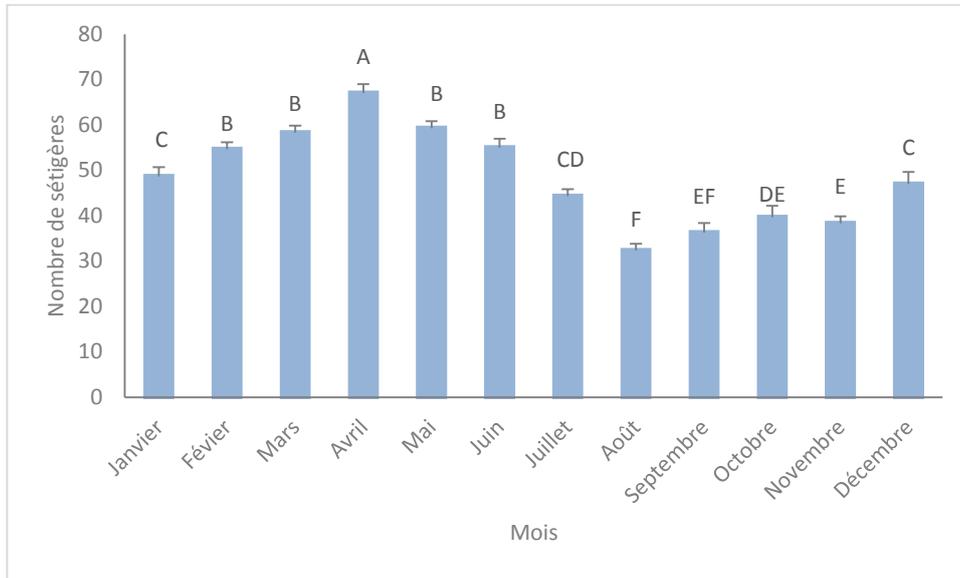


Figure 70 : Variations mensuelles du nombre de sétigères chez *P. cultrifera* dans le site de St-Cloud (Annaba) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'ANOVA à un seul critère de classification pour le site de Stora (Skikda) a montré une différence très hautement significative entre les mois pour le nombre de sétigères (Tableau 27).

Tableau 27 : ANOVA à un critère de classification du nombre de sétigères chez *P. cultrifera* dans le site d'Annaba.

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|-------------|-----|------|--------|-------|--------------|
| Factorielle | 11 | 2483 | 225,69 | 58,88 | 1,27e-14 *** |
| Résiduelle | 24 | 92 | 3,83 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrées des écarts; **CM:** Carré moyen; **F obs,:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification

Le test de Tukey a regroupé les mois du site Stora (Skikda) en douze groupes durant l'année 2011 (Figure 71).

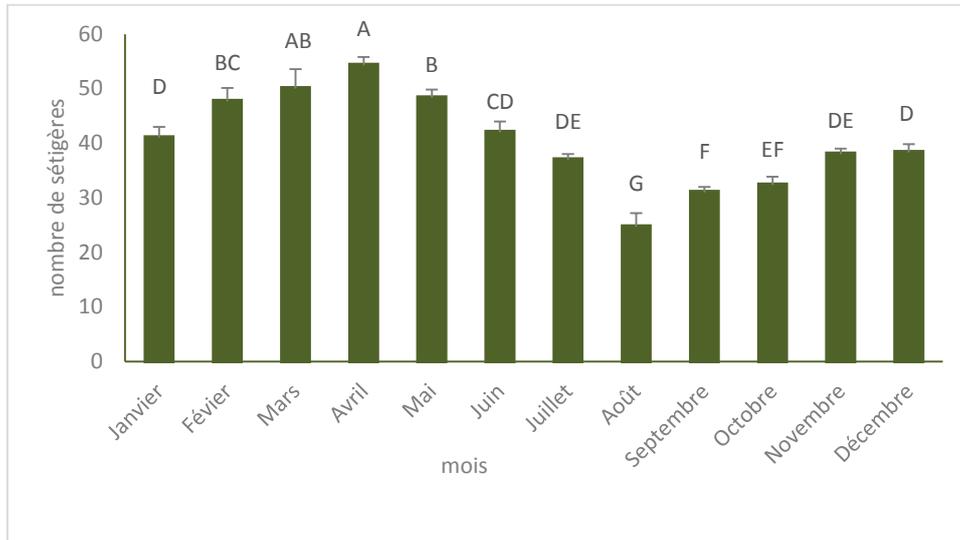


Figure 71 : Variations mensuelles du nombre de sétigères chez *P. cultrifera* dans le site de Stora (Skikda) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'analyse ANOVA à deux critères de classification (Sites, mois) réalisée sur les données relatives au niveau des trois sites pour le nombre de sétigères a révélé une différence très hautement significative entre les sites et entre les mois et non significative pour l'interaction sites/mois (Tableau 28).

Tableau 28 : ANOVA à deux facteurs contrôlés du nombre de sétigères chez *P. cultrifera* dans les trois sites d'étude en 2011.

| Source de variation | DDL | SCE | CM | F obs. | P |
|---------------------------|-----|------|------|--------|--------------|
| Sites | 1 | 4868 | 4868 | 72,855 | 1,23 e-13*** |
| Mois | 1 | 4987 | 4987 | 74,647 | 7,22 e-14*** |
| Interaction stations/mois | 1 | 210 | 210 | 3,136 | 0,0795 |
| Erreur résiduelle | 104 | 6948 | 67 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrées des écarts; **CM:** Carré moyen; **F obs.:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification.

3.2.4. Variations mensuelles de l'activité des biomarqueurs au stress environnemental

3.2.4.1. Dosage des protéines

Tableau 29 : Dosage des protéines : réalisation de la gamme d'étalonnage

| | | | | | | |
|-----------------------------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|
| Quantité de BSA (μg) | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 |
| Absorbance (DO) | 0 | 0,149 | 0,357 | 0,506 | 0,639 | 0,794 |

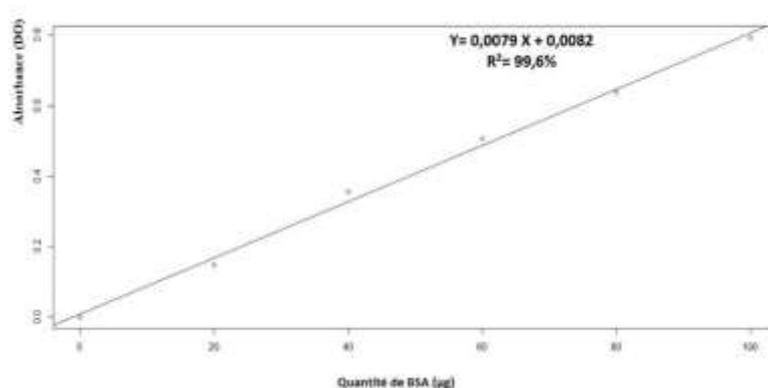


Figure 72 : Dosage des protéines : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (μg) (R^2 : coefficient de détermination).

3.2.4.2. Variations mensuelles de l'activité de l'AChE :

L'activité spécifique de l'AChE exprimée en $\text{nmol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines a été déterminée mensuellement au niveau des corps des femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites (El-Kala, Annaba, et Skikda) du littoral Est algérien durant l'année 2011. Cette activité est calculée par application de la formule d'Ellman *et al.* (1961) en utilisant les pentes des droites de régression exprimant l'absorbance en fonction du temps.

Nous avons enregistré des variations saisonnières significatives ($p < 0,05$) de l'activité de l'AChE au niveau des trois sites. L'activité de l'AChE augmente au printemps, et diminue en été puis devient plus ou moins stable en automne et en hiver (Figure 73). La valeur maximale de l'activité de l'AChE a été enregistrée au mois d'Avril au niveau des trois sites ($34,00 \pm 0,07$; $28,38 \pm 1,86$ et $25,60 \pm 0,76$ $\text{nmol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les individus collectés respectivement à El-Kala, Annaba et Skikda, quant aux valeurs enregistrées au mois d'Août ($22,58 \pm 0,67$; $19,47 \pm 0,83$ et $14,69 \pm 1,21$ $\text{nmol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), elles sont des

plus faibles et correspondent aux individus collectés respectivement à El-Kala, Annaba et Skikda).

L'analyse statistique ANOVA à un critère de classification a révélé une différence très hautement significative entre les sites pour les mois de Mars, Mai, Juin, Juillet, Septembre, Octobre, Novembre et Décembre, très significative entre les mois de Janvier et Février et significative seulement au mois d'Août (Tableau 30).

Le test de Tukey permet de classer les sites en trois groupes pour les mois de Mars, Mai, Juin, Juillet, Septembre, Octobre, Novembre et Décembre. Le groupe A renferme le site d'El-Mordjène, le groupe B représente le site d'Annaba, et le groupe C concerne le site de Stora (Tableau 30).

Deux groupes ont été relevés aux mois de Janvier et d'Avril : le groupe A représente le site d'El-Mordjène et le groupe B correspond aux sites de St-Cloud et de Stora (Tableau 30).

Enfin, pour les mois de Février et d'Août, les sites ont été regroupés en trois groupes : le groupe A qui correspond au site d'El-Mordjène, le groupe AB qui renferme le site St-Cloud et le groupe B celui de Stora (Tableau 30).

Tableau 30 : variations mensuelles de l'activité de l'AChE (nM/mn/ mg de protéines) chez *P. cultrifera*, ANOVA à critère de classification entre les sites pour le même mois, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

| | El-Kala | Annaba | Skikda | P |
|-----------|---------------------|----------------------|---------------------|--------------|
| Janvier | 26,36±1,08 A | 21,77±1,98 B | 18,84±0,76 B | 0,00159 ** |
| Février | 30,41±0,95 A | 26,72±2,15 AB | 23,43±1,15 B | 0,00395 ** |
| Mars | 31,99±1,37 A | 25,33±1,74 B | 19,46±0,91 C | 0,000102 *** |
| Avril | 34±0,072 A | 28,38±1,86 B | 25,6±0,76 B | 0,000331 *** |
| Mai | 31,34±1,13 A | 25,7±0,58 B | 21,48±0,95 C | 3,75e-05 *** |
| Juin | 29,19±2,02 A | 21,08±0,86 B | 17,51±0,88 C | 0,000123 *** |
| Juillet | 31,52±0,93 A | 24,5±0,94 B | 19,73±0,51 C | 6,88e-06 *** |
| Août | 22,58±0,67 A | 19,47±0,83 AB | 14,69±1,21 B | 0,0214 * |
| Septembre | 23,07±1,84 A | 21,49±1,85 B | 15,02±0,57 C | 0,000572 *** |
| Octobre | 26,25±1,24 A | 20,3±0,75 B | 18,46±0,59 C | 0,000917 *** |
| Novembre | 25,48±0,86 A | 20,55±0,61 B | 14,89±0,61 C | 5,41e-06 *** |
| Décembre | 27,7±1,37 A | 21,03±0,8 B | 14,6±2,87 C | 2,88e-05 *** |

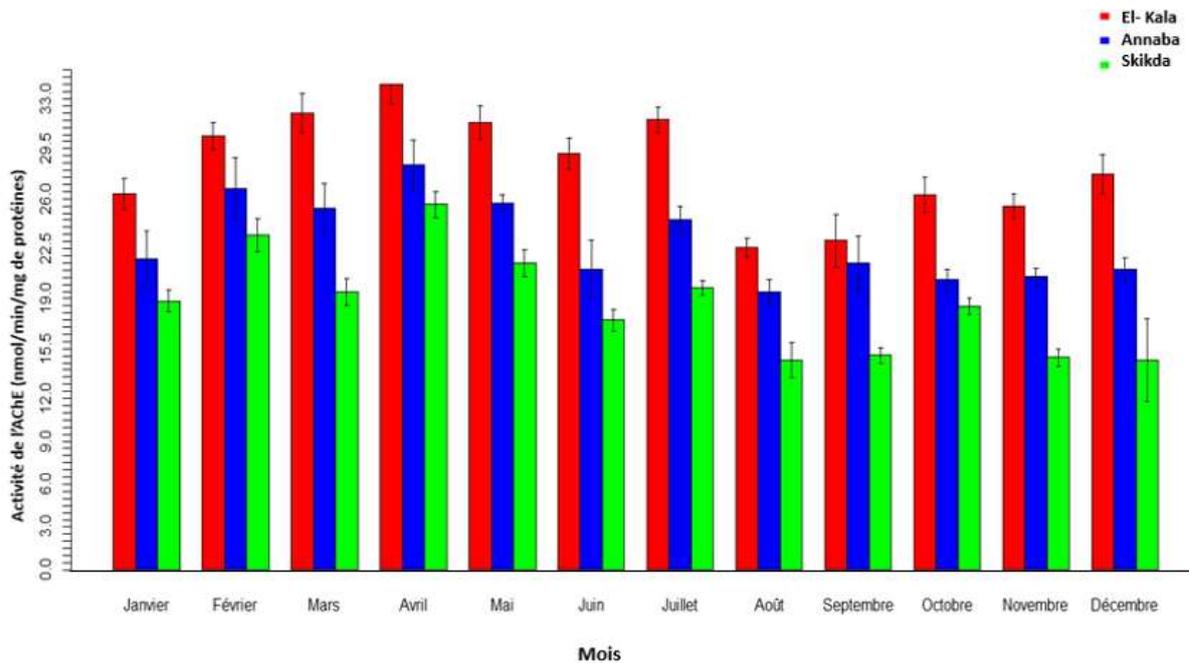


Figure 73 : Variations mensuelles de l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/mn/ mg de protéines) chez *P. cultrifera* récoltées dans trois sites : El-Kala, Annaba et Skikda au cours de l'année 2011 ($m \pm s$; $n=4$).

L'analyse ANOVA à un seul critère de classification pour le site d'El-Mordjène (El-Kala) a montré une différence très hautement significative entre les mois (Tableau 31).

Tableau 31 : ANOVA à un critère de classification des variations mensuelles de l'activité de l'AChE chez *P. cultrifera* pour le site El-Mordjène (El-Kala).

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|-----------|--------------|--------------|--------------|--------------------|
| Factorielle | 11 | 441,8 | 40,16 | 26,38 | 9,7e-11 *** |
| Résiduelle | 24 | 36,5 | 1,52 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrés des écarts; **CM:** Carré moyen; **F obs,:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification.

Le test de Tukey a classé les variations de l'AChE entre les mois pour le site El-Mordjène (El-Kala) en neuf groupes durant l'année 2011 (Figure 74).

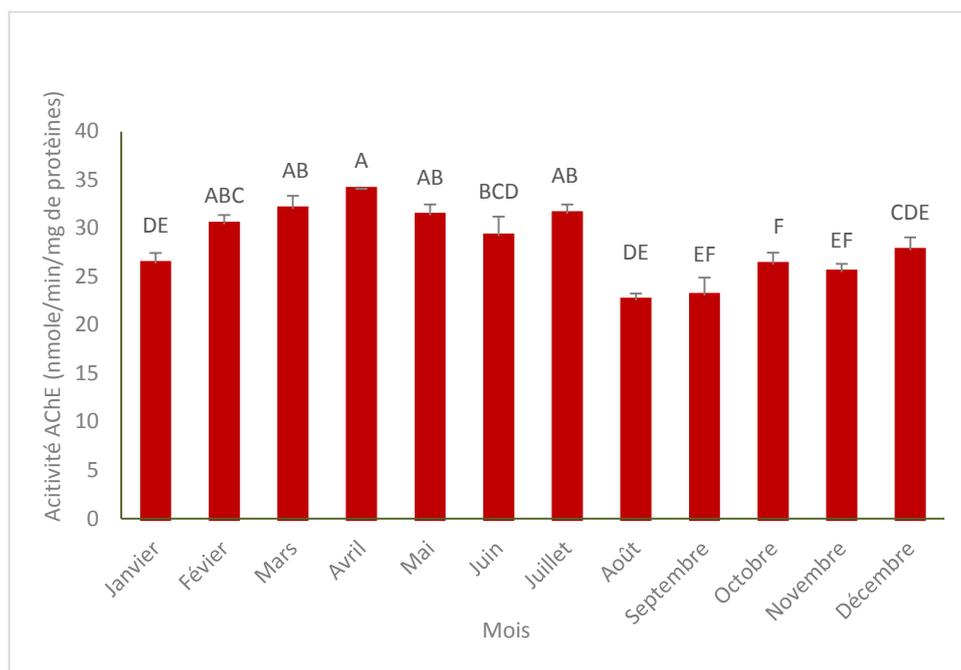


Figure 74 : Variations mensuelles de l'activité de l'AChE pour le site d'El-Mordjène (El-Kala) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'analyse ANOVA à un seul critère de classification pour le site de St-Cloud (Annaba) a montré une différence très hautement significative entre les mois (Tableau 32).

Tableau 32 : ANOVA à un facteur contrôlé des variations mensuelles de l'activité de l'AChE chez *P. cultrifera* pour le site St-Cloud (Annaba).

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|-----------|---------------|---------------|-------------|---------------------|
| Factorielle | 11 | 284,58 | 25,871 | 13,6 | 9,04e-08 *** |
| Résiduelle | 24 | 45,67 | 1,903 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrées des écarts; **CM:** Carré moyen; **F obs:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification.

Le test de Tukey a classé les variations de l'AChE entre les mois pour le site St-Cloud (Annaba) en neuf groupes durant l'année 2011 (Figure 75).

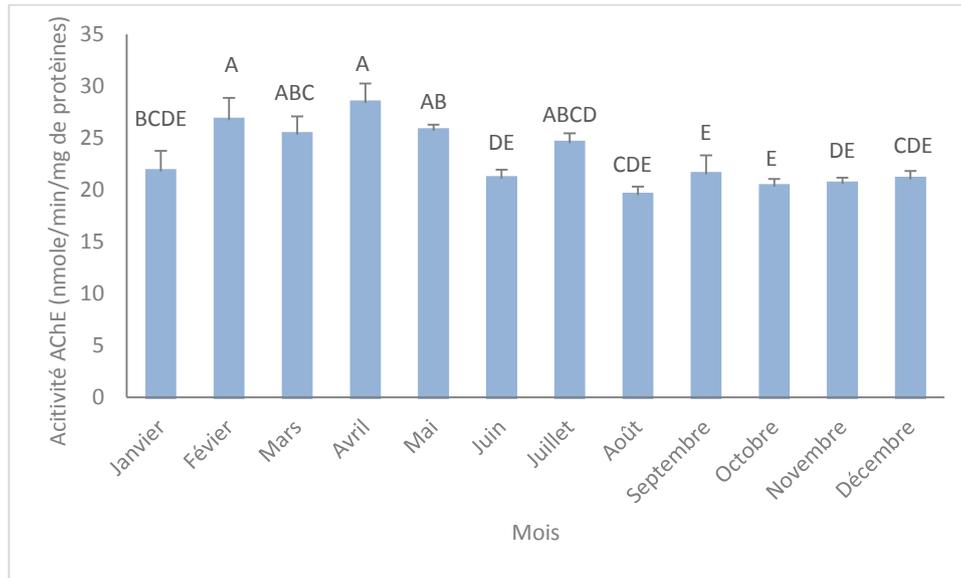


Figure 75 : Variations mensuelles de l'activité de l'AChE dans le site St-Cloud (Annaba) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'ANOVA à un seul critère de classification pour le site de Stora (Skikda) a montré une différence très hautement significative entre les mois (Tableau 33).

Tableau 33 : ANOVA à un facteur contrôlé des variations mensuelles de l'activité de l'AChE chez *P. cultrifera* pour le site Stora (Skikda).

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|------------|--------------|--------------|--------------|--------------------|
| Factorielle | 11 | 373,1 | 33,92 | 25,33 | 1,5e-10 *** |
| Résiduelle | 24 | 32,1 | 1,34 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrées des écarts; **CM:** Carré moyen; **F obs,:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification.

Le test de Tukey a classé les variations mensuelles de l'activité de l'AChE entre les mois pour le site Stora (Skikda) en huit groupes durant l'année 2011 (Figure 76).

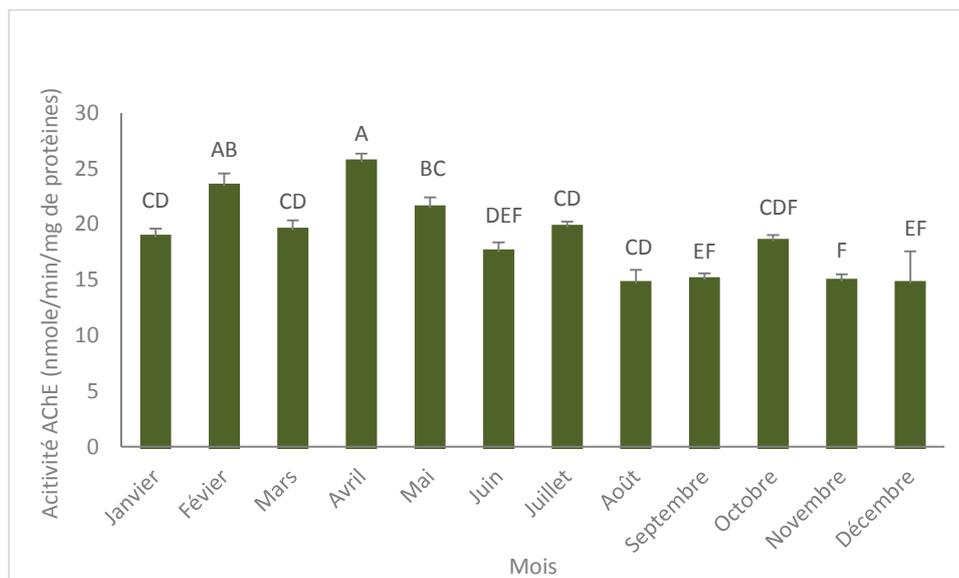


Figure 76 : Variations mensuelles de l'activité de l'AChE pour le site Stora (Skikda) de l'année 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'analyse ANOVA à deux critères de classification (Sites, mois) réalisée pour l'activité de l'AChE au niveau des trois sites étudiés en 2011 a révélé une différence très hautement significative pour les sites et les mois et non significative entre l'interaction sites/mois (Tableau 34).

Tableau 34: ANOVA à deux facteurs contrôlés de l'activité enzymatique de l'AChE chez *P. cultrifera* dans les trois sites d'étude en 2011.

| Source de variation | DDL | SCE | CM | F obs. | P |
|---------------------------|-----|--------|--------|---------|--------------|
| Sites | 1 | 1542,7 | 1542,7 | 204,736 | < 2 e-16*** |
| Mois | 1 | 439,6 | 439,6 | 58,337 | 1,33 e-11*** |
| Interaction stations/mois | 1 | 1,3 | 1,3 | 0,177 | 0,675 |
| Erreur résiduelle | 104 | 783,7 | 7,5 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrées des écarts; **CM:** Carré moyen; **F obs.:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification.

3.2.4.3. Variations mensuelles de l'activité de la GST

L'activité de la GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) a été estimée par application de la formule de Habig *et al.*, (1974) en utilisant les pentes des droites de régression exprimant l'absorbance en fonction du temps.

Les individus d'El-Kala présentent une activité GST qui varie entre un maximum de $6,54 \pm 1,3 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines au mois d'Avril et un minimum de $4,52 \pm 0,753 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines au mois d'Août. Au niveau du site d'Annaba les valeurs les plus élevées sont enregistrées au mois d'Avril ($8,84 \pm 0,93 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) et les plus faibles correspondent à celles du mois d'Août ($5,11 \pm 2,49 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines). Enfin, à Skikda la valeur la plus élevée a été observée au mois d'Avril ($9,77 \pm 0,7 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) alors que la plus faible a été enregistrée au mois d'Août ($6,67 \pm 1,06 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) (Figure 77).

L'analyse ANOVA à un critère de classification a montré qu'une augmentation significative a été enregistrée aux mois de Janvier, Février, Mars, Juillet, Octobre et Novembre. Le test de Tukey a permis de classer les sites en trois groupes : le groupe A qui correspond au site de Stora, le groupe AB représentant le site de St-Cloud et le groupe B celui de El-Mordjène (Tableau 35).

L'analyse ANOVA a permis d'enregistrer une différence significative au mois d'Avril et le test de tukey a mis en évidence un classement des sites en deux groupes : le groupe A correspondant au site de Stora et le groupe B à ceux de St-Cloud et d'El-Mordjène (Tableau 35). Une différence hautement significative a été observée en Août et en Septembre. Le test de Tukey a regroupé les sites en trois groupes : le groupe A qui renferme le site de Stora, le groupe B correspond au site de St-Cloud et le groupe C celui d'El-Mordjène (Tableau 35).

L'analyse ANOVA à un critère de classification ne présente aucune différence significative aux mois de Mai, de Juin et de Décembre. Le test de Tukey a regroupé les sites en un seul groupe A (Tableau 35).

Tableau 35 : Variations mensuelles de l'activité de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) chez *P. cultrifera*, ANOVA à un critère de classification entre les sites pour le même mois avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

| | El-Kala | Annaba | Skikda | P |
|-----------|-------------|---------------|--------------|---------|
| Janvier | 5,48±0,62 B | 6,47±0,65 AB | 7,51±1 A | 0,011 * |
| Février | 5,35±0,82 B | 6,63±0,26 AB | 8,54±1,31 A | 0,014 * |
| Mars | 5,58±0,7 B | 6,76±0,98 AB | 8,43±0,96 A | 0,022* |
| Avril | 6,54±1,3 B | 8,84±0,93 B | 9,77±0,7 A | 0,011* |
| Mai | 6,18±1,14 A | 8,2±0,7 A | 8,6±0,59 A | 0,072 |
| Juin | 6,59±1,26 A | 8,36 ±0,98 A | 8,7 ±0,38 A | 0,071 |
| Juillet | 6,27±0,94 B | 7,35 ±0,71 AB | 8,47 ±0,75 A | 0,044* |
| Août | 4,52±0,75 C | 5,11 ±2,49 B | 6,67±1,06 A | 0,003** |
| Septembre | 5,23±0,79 C | 7,55±0,91 B | 9,57±0,64 A | 0,002** |
| Octobre | 5,09±1,57 B | 6,44± 0,46 AB | 9,15±1,49 A | 0,023* |
| Novembre | 5,76±0,67 B | 6,87±1,28 AB | 9,19±0,99 A | 0,016* |
| Décembre | 4,67±0,31 A | 7,65±1,41 A | 9,27±0,86 A | 0,334 |

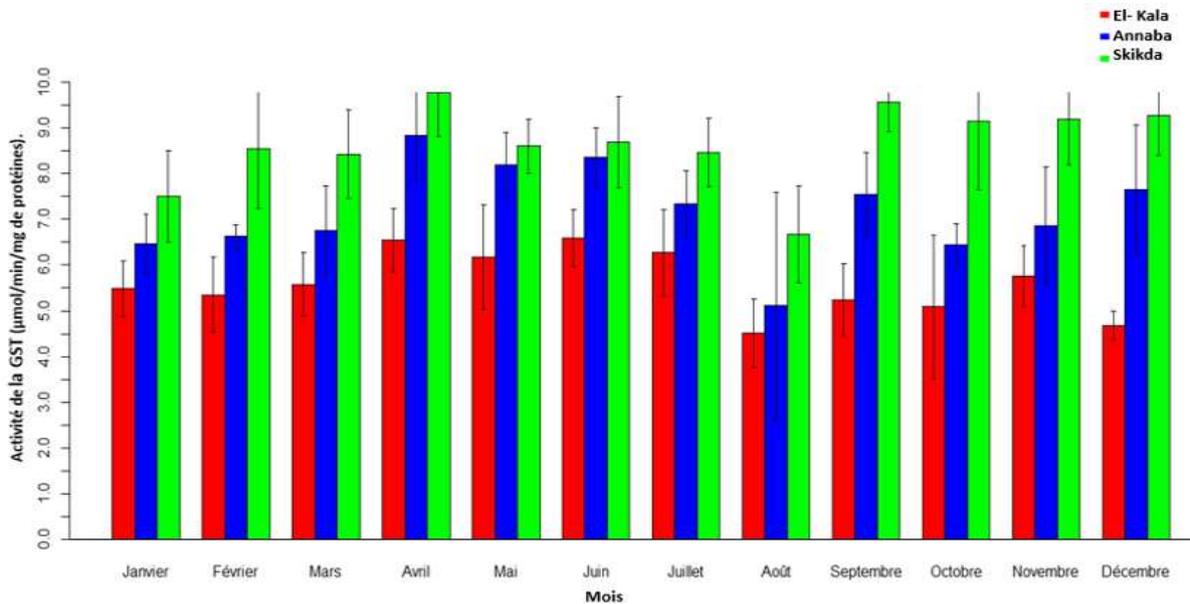


Figure 77 : Variations mensuelles de l'activité de la Glutathion S-transférase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) chez *P. cultrifera* récoltées dans trois sites : El-Kala, Annaba et Skikda au cours de l'année 2011 ($m \pm s$; $n=4$).

L'ANOVA à un seul critère de classification dans le site d'El-Mordjène (El-Kala) ne présente aucune différence significative entre les mois pour l'activité de la GST (Tableau 36).

Tableau 36 : ANOVA à un facteur contrôlé des variations mensuelles de l'activité de la GST chez *P. cultrifera* dans le site El-Mordjène (El-Kala).

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|------------|--------------|---------------|--------------|--------------|
| Factorielle | 11 | 15,52 | 1,4105 | 1,495 | 0,197 |
| Résiduelle | 24 | 22,64 | 0,9433 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs,:** Test de Fisher; **P**: Seuil de signification

Le test de Tukey a classé les variations mensuelles de la GST durant toute l'année pour le site El-Mordjène (El-Kala) en un seul groupe (A) durant l'année 2011 (Figure 78).

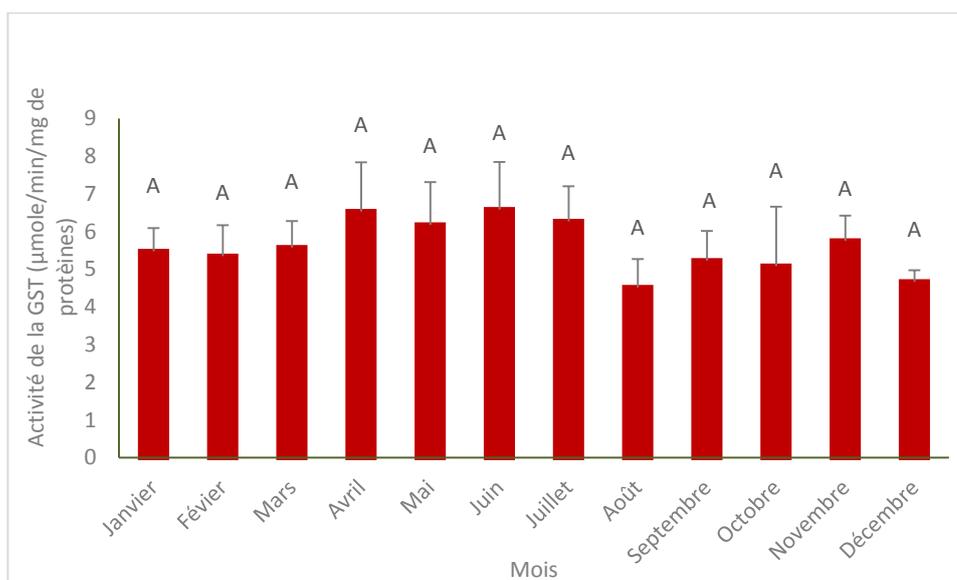


Figure 78 : Variations mensuelles de l'activité de la GST pour le site El-Mordjène (El-kala) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'ANOVA à un seul critère de classification pour le site de St-Cloud (Annaba) a montré une différence significative entre les mois pour l'activité de la GST (Tableau 37).

Tableau 37 : ANOVA à un critère à un facteur contrôlé des variations de l'activité de La GST chez *P. cultrifera* dans le site de St-Cloud (Annaba).

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|------------|--------------|--------------|--------------|------------------|
| Factorielle | 11 | 36,67 | 3,334 | 2,747 | 0,0186 ** |
| Residuelle | 24 | 29,13 | 1,214 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs**,: Test de Fisher; **P**: Seuil de signification

Le test de Tukey a classé les variations mensuelles de la GST entre les mois pour le site de St-Cloud (Annaba) en Trois groupe l'année durant 2011 (Figure 79).

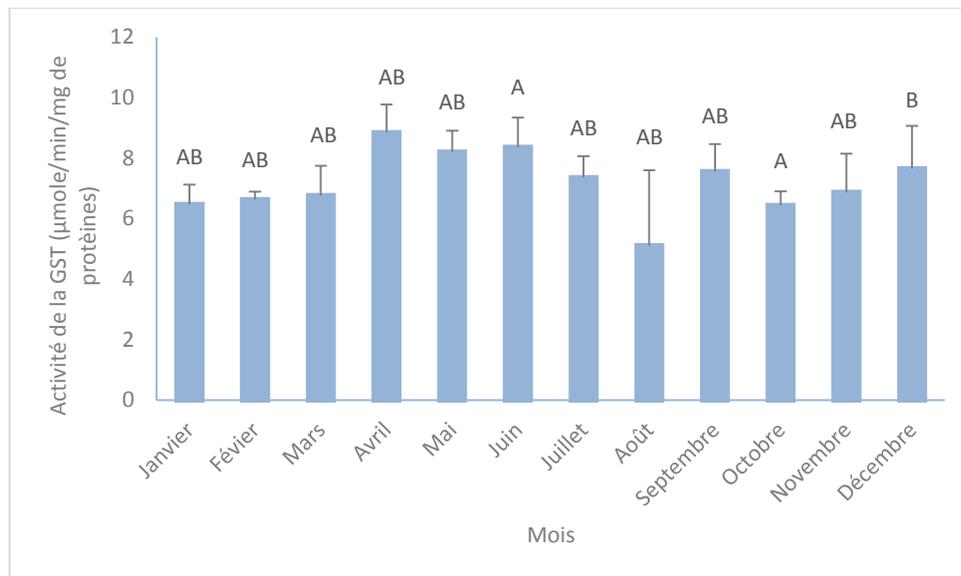


Figure 79 : Variations mensuelles de l'activité de la GST pour le site de St-Cloud (Annaba) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'ANOVA à un seul critère de classification pour le site Stora (Skikda) a montré une différence significative entre les mois pour l'activité de la GST (Tableau 38).

Tableau 38 : ANOVA à un facteur contrôlé des variations mensuelles de l'activité de la GST chez *P. cultrifera* du site de Stora (Skikda).

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|------------|--------------|---------------|--------------|-----------------|
| Factorielle | 11 | 25,08 | 2,2798 | 2,539 | 0,0273 * |
| Residuelle | 24 | 21,55 | 0,8978 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs**,: Test de Fisher; **P**: Seuil de signification

Le test de Tukey a classé les variations mensuelles de la GST entre les mois pour le site de Stora (Skikda) en Trois groupes (Figure 80).

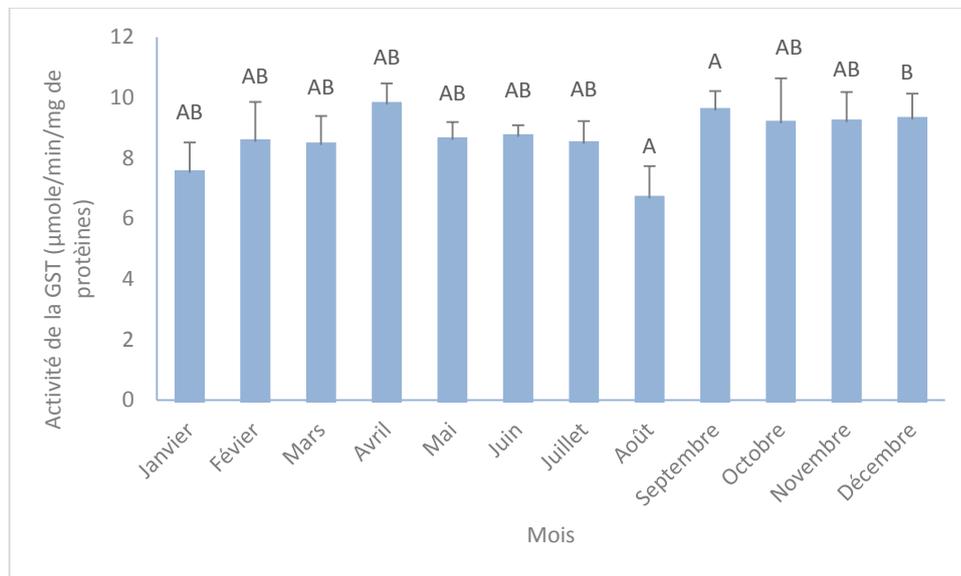


Figure 80 : Variations mensuelles de l'activité de la GST dans le site de Stora (Skikda) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'analyse ANOVA à deux critères de classification (Sites, mois) réalisée pour l'activité de la GST au niveau des trois sites d'étude a révélé une différence très hautement significative entre les sites et non significative entre les mois et l'interaction sites/mois (Tableau 39).

Tableau 39 : ANOVA à deux facteurs contrôlés de l'activité enzymatique de la GST chez *P. cultrifera* dans les trois sites d'étude en 2011.

| Source de variation | DDL | SCE | CM | F obs. | P |
|---------------------------|-----|--------|--------|---------|-------------|
| Sites | 1 | 167,44 | 167,44 | 116,122 | < 2 e-16*** |
| Mois | 1 | 0,21 | 0,21 | 0,144 | 0,705 |
| Interaction stations/mois | 1 | 0,43 | 0,43 | 0,295 | 0,588 |
| Erreur résiduelle | 104 | 149,97 | 1,44 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs.:** Test de Fisher; **P**: Seuil de signification,

3.2.4.4. Variations mensuelles de l'activité de la Catalase :

L'activité spécifique de la catalase (CAT) exprimée en $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines a été mesurée mensuellement au niveau des corps des femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites du littoral Est algérien (El-Kala, Annaba, et Skikda) au cours de l'année 2011. Cette activité est évaluée par application de la formule Claiborne (1985) en utilisant les pentes des droites de régression exprimant l'absorbance en fonction du temps.

Les individus d'El-Kala présentent une activité de la catalase variant entre un maximum de $1,48 \pm 0,02 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines au mois d'Avril et un minimum de $1,28 \pm 0,02 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines au mois d'Août. Au niveau du site d'Annaba les valeurs varient entre $1,79 \pm 0,02 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines au mois d'Avril et $1,53 \pm 0,02 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines au mois d'Août. Enfin, à Skikda la valeur la plus élevée a été observée au mois d'Avril avec $1,983 \pm 0,01 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines, alors que la plus faible valeur a été enregistrée au mois d'Août avec $1,88 \pm 0,01 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines (Figure 81).

L'analyse de la variance à un seul critère de classification a révélé une différence très hautement significative de l'activité de la catalase entre les sites et pour le même mois. Le test de tukey a permis de classer les sites en trois groupes : le groupe A correspondant au site de Stora (Skikda), le groupe B à celui de St-Cloud (Annaba) et le groupe C à El-Mordjène (El-Kala) (Tableau 40).

Tableau 40 : Variations mensuelles de l'activité de la catalase (nM/mn/ mg de protéines) chez *P. cultrifera*, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

| | El-Kala | Annaba | Skikda | P |
|-----------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Janvier | 1,37±0,01 C | 1.61±0.01 B | 1.91±0.02 A | 7.06e-08 *** |
| Février | 1,39±0,01 C | 1.68±0.02 B | 1.95±0.02 A | 1.01e-07 *** |
| Mars | 1.46±0.02 C | 1.7±0.01 B | 1.98±0.01 A | 1.11e-07 *** |
| Avril | 1.48±0.02 C | 1.79±0.02 B | 1.98±0.01 A | 2.72e-07 *** |
| Mai | 1.4±0.01 C | 1.78±0.02 B | 1.94±0.03 A | 6.47e-07 *** |
| Juin | 1.41±0.03 C | 1.71±0.02 B | 1.91±0.02 A | 9.31e-07 *** |
| Juillet | 1.38±0.01 C | 1.68±0.02 B | 1.91±0.03 A | 7.3e-07 *** |
| Août | 1.28±0.02 C | 1.53±0.02 B | 1.88±0.01 A | 6.73e-08 *** |
| Septembre | 1.35±0.02 C | 1.59±0.01 B | 1.94±0.03 A | 5.94e-07 *** |
| Octobre | 1.37±0.02 C | 1.56±0.02 B | 1.96±0.01 A | 1.04e-07 *** |
| Novembre | 1.39±0.01 C | 1.6±0.01 B | 1.95±0.01 A | 2.44e-08 *** |
| Décembre | 1.38±0.01 C | 1.58±0.01 B | 1.91±0.01 A | 3.42e-08 *** |

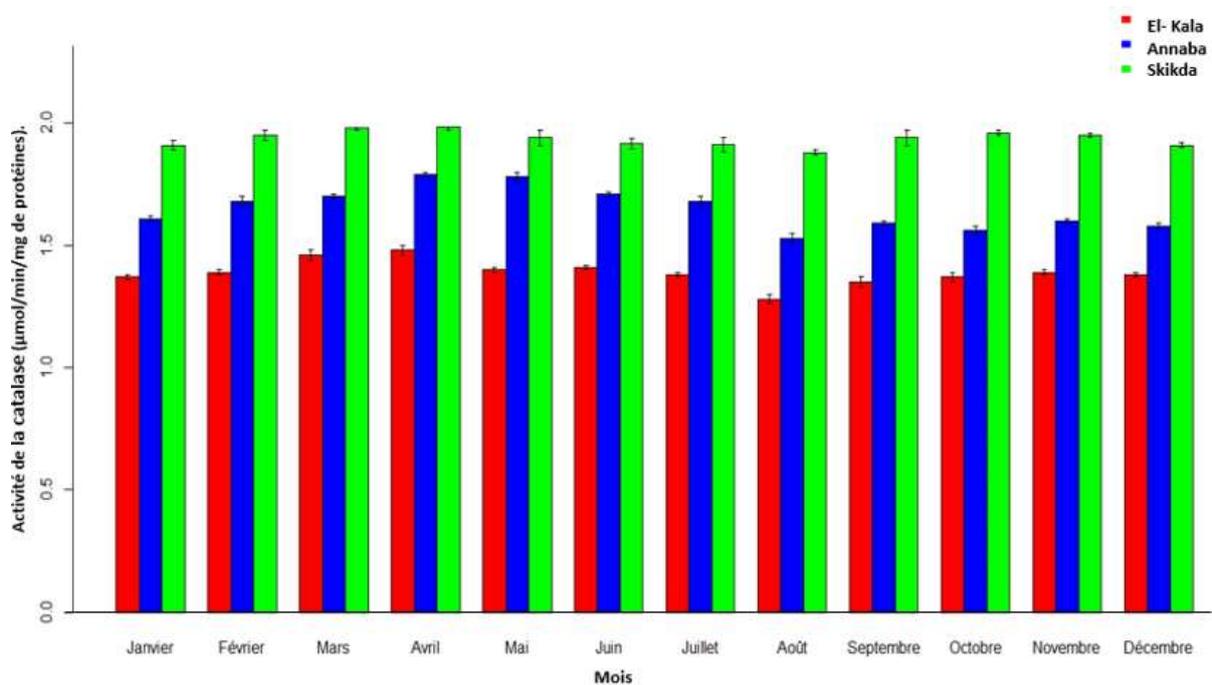


Figure 81 : Variations mensuelles de l'activité de la catalase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) chez *P. cultrifera* récoltées dans trois sites : El-Kala, Annaba et Skikda au cours de l'année 2011 ($m \pm s$; $n=4$).

L'ANOVA à un seul critère de classification pour le site El-Mordjène (El-Kala) a montré une différence hautement significative de l'activité de la catalase entre les mois (Tableau 41).

Tableau 41 : ANOVA à un facteur contrôlé des variations de l'activité de la catalase chez *P. cultrifera* dans le site d'El-Mordjène (El-Kala).

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|------------|----------------|-----------------|--------------|---------------------|
| Factorielle | 11 | 0.08110 | 0.007372 | 17.58 | 6.92e-09 *** |
| Résiduelle | 24 | 0.01007 | 0.000419 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs**,: Test de Fisher; **P**: Seuil de signification

Le test de Tukey a classé les variations mensuelles de l'activité de la catalase entre les mois pour le site d'El-Mordjène (El-Kala) en huit groupes durant l'année 2011 (Figure 82).

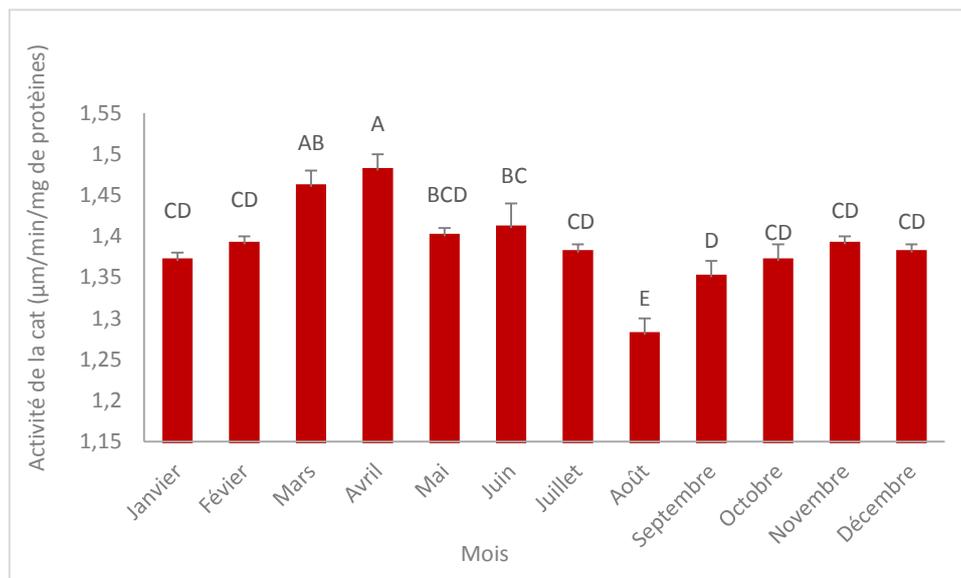


Figure 82 : Variations mensuelles de l'activité de la catalase pour le site d'El-Mordjène (El-Kala) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'ANOVA à un seul critère de classification pour le site de St-Cloud (Annaba) a montré une différence hautement significative pour l'activité de la catalase entre les mois (Tableau 42).

Tableau 42 : ANOVA à un facteur contrôlé des variations mensuelles de l'activité de la catalase chez *P. cultrifera* dans le site de St-Cloud (Annaba).

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|------------|---------------|-----------------|--------------|---------------------|
| Factorielle | 11 | 0.2358 | 0.021439 | 58.47 | 1.38e-14 *** |
| Résiduelle | 24 | 0.0088 | 0.000367 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs**,: Test de Fisher; **P**: Seuil de signification

Le test de Tukey a classé les variations mensuelles de la catalase entre les mois pour le site de St-Cloud (Annaba) en cinq groupes durant l'année 2011 (Figure 83)

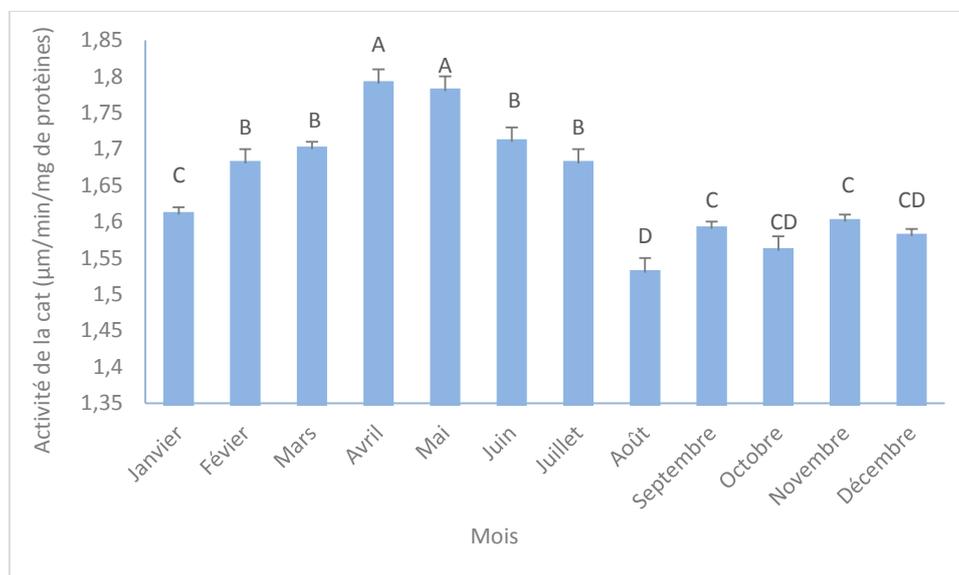


Figure 83 : Variations mensuelles de l'activité de la catalase pour le site de St-Cloud (Annaba) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'ANOVA à un seul critère de classification pour le site de Stora (Skikda) a montré une différence hautement significative entre les mois pour l'activité de la GST (Tableau 43).

Tableau 43: ANOVA à un facteur contrôlé des variations mensuelles de l'activité de la catalase chez *P. cultrifera* pour le site de Stora (Skikda).

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|------------|----------------|-----------------|--------------|---------------------|
| Factorielle | 11 | 0.03136 | 0.002851 | 5.183 | 0.000373 *** |
| Résiduelle | 24 | 0.01320 | 0.000550 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrées des écarts; **CM:** Carré moyen; **F obs,:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification

Le test de Tukey a classé les variations mensuelles de la catalase entre les mois pour le site de Stora (Skikda) en cinq groupes durant l'année 2011 (Figure 84).

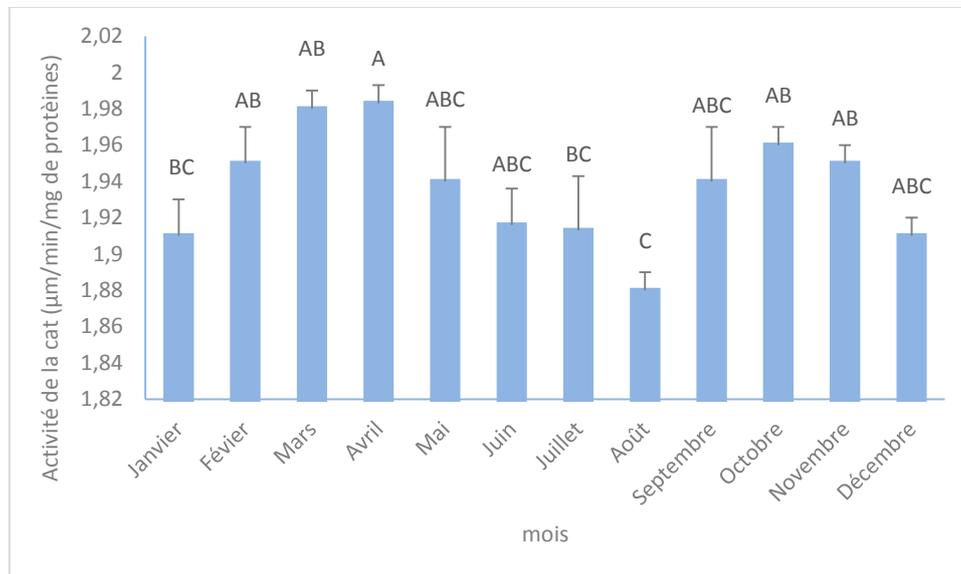


Figure 84 : Variations mensuelles de l'activité de la catalase dans le site de Stora (Skikda) en 2011, avec la classification de Tukey ($m \pm s$).

L'analyse ANOVA à deux critères de classification (Sites, mois) réalisée sur les données relatives au niveau des trois sites pour l'activité de la catalase a révélé une différence très hautement significative entre les sites et entre les mois et une interaction site/mois non significative (Tableau 44).

Tableau 44 : ANOVA à deux facteurs contrôlés de l'activité enzymatique de la catalase chez *P. cultrifera* dans les trois sites d'étude en 2011.

| Source de variation | DDL | SCE | CM | F obs. | P |
|---------------------------|-----|-------|-------|----------|------------|
| Sites | 1 | 5,363 | 5,363 | 1740,865 | < 2 e16*** |
| Mois | 1 | 0,059 | 0,059 | 19,135 | 2,9 e05*** |
| Interaction stations/mois | 1 | 0,003 | 0,003 | 1,049 | 0,308 |
| Erreur résiduelle | 104 | 0,320 | 0,003 | | |

DDL : Degré de liberté; **SCE**: Sommes des carrées des écarts; **CM**: Carré moyen; **F obs.:** Test de Fisher; **P**: Seuil de signification.

3.3. Analyse phylogénétique du complexe d'espèces jumelles de *P. cultrifera*

3.3.1. Comparaison entre les poids des différents sites :

Nous avons mesuré le poids des individus de *P. cultrifera* récoltés au niveau de la Manche française et de la côte algérienne. En effet, les poids des individus de la Manche française sont plus importants que ceux de la côte algérienne. Chez les individus de la manche française, le poids varie entre $1,25 \pm 0,58$ g ; $1,82 \pm 0,59$ g et $0,99 \pm 0,80$ g correspondant respectivement à Saint-Aubin, Saint-Pabu et Roscoff contre des poids variables de $0,1295 \pm 0,07$ g; $0,077 \pm 0,05$ g; $0,0464 \pm 0,031$ g ; $0,0718 \pm 0,02$ g; $0,1058 \pm 0,05$ g et de $0,1247 \pm 0,04$ g qui correspondent à El-Kala, Annaba, Skikda, Collo, Alger pointe pescade et Boumerdes (Figure 85), L'analyse statistique présente une différence hautement significative ($p < 0,05$) entre le poids des individus récoltés au niveau de la Manche française et ceux de la côte algérienne.

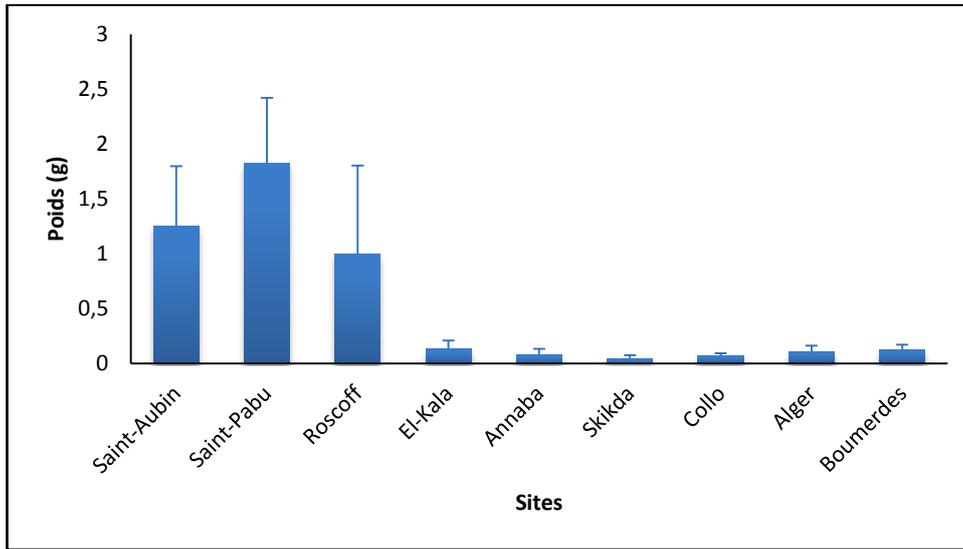


Figure 85 : Comparaison entre le poids des différentes populations de la manche française et de la côte algérienne.

L'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification montre une différence hautement significative entre les poids des individus de chaque population. (Tableau 45)

Tableau 45 : Analyse de la variance à un seul facteur contrôlé des poids des individus des deux populations (côtes algérienne et de la Manche française).

| | DDL | SCE | CM | F obs | P |
|--------------------|-----------|---------------|--------------|--------------|------------------|
| Factorielle | 8 | 35,508 | 4,439 | 29,99 | 0,000 *** |
| Résiduelle | 81 | 11,986 | 0,148 | | |

DDL: Degré de liberté; **SCE:** Sommes des carrées des écarts; **CM:** Carré moyen; **F obs,:** Test de Fisher; **P:** Seuil de signification,

3.3.2. Résultats d'essais d'amplifications par PCR:

Après l'extraction de l'ADN des différentes populations de *P. cultrifera*, nous avons effectué des essais de PCR sur des amorces pour voir quelle amorce est spécifique à notre espèce. Les résultats obtenus pour les deux amorces *Perinerin*, ainsi que pour 40 SRP ne montrent pas d'amplifications au niveau de l'ADN de *P. cultrifera* (Figure 86)

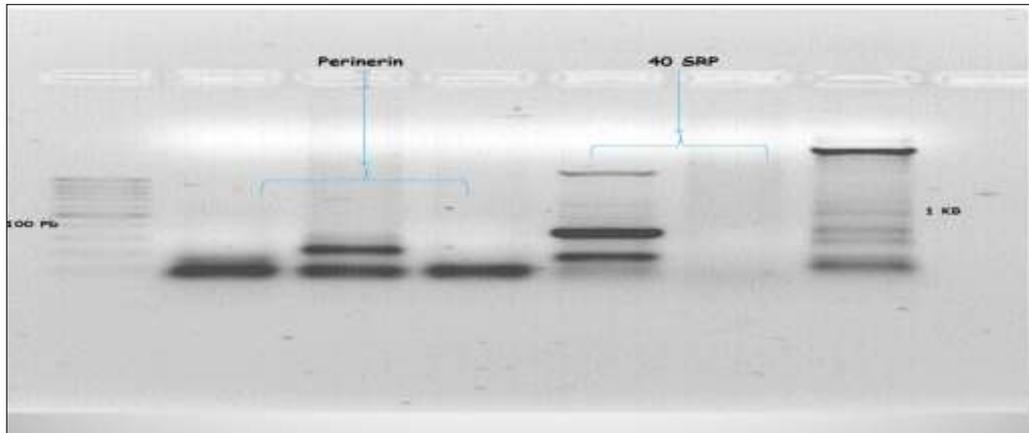


Figure 86 : Profil électrophorétique après amplification avec les amorces : *Perinerin* et 40 SRP, Marqueurs de taille : 100 pairs de base, et 1 kilobase.

Les PCR réalisées avec l'amorce ITS 1 a permis d'amplifier un fragment d'ADN à 1250 pb et ITS 2 à 687 pb (Figure 87).

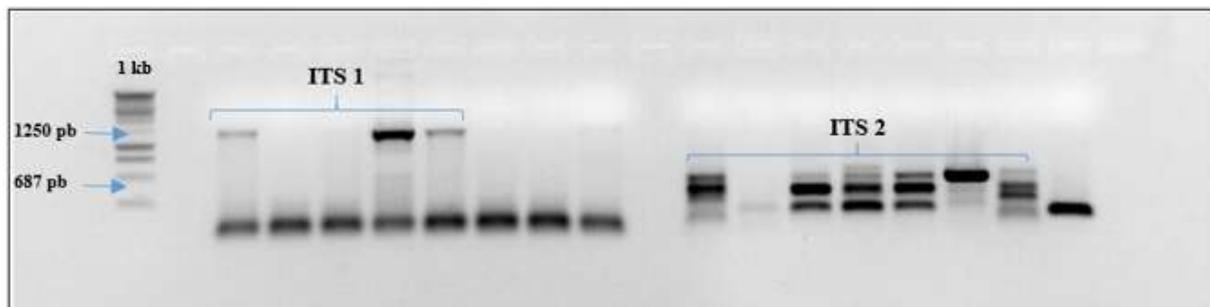


Figure 87 : Profil électrophorétique après amplification avec l'amorce ITS 1 et ITS 2.

3.3.3. Alignement des séquences ITS chez *P. cultrifera*

Les séquences d'ITS (1 et 2) de 30 individus ont été amplifiées par PCR puis séquencées. Une fois récupérées, les séquences sont nettoyées à l'aide du logiciel Codon code aligner (v 5.0.2) licence disponible au niveau du laboratoire Génétique et Evolution des Populations Végétales (GEPV) et alignées à l'aide du logiciel bioedit v5. Mise à part les divergences des caractères morphologiques (nombre et disposition des paragnathes) et le mode de reproduction (atoquie et/ou épitoquie), et parmi les résultats qui sont encore en cours de traitement, certains montrent bien la présence de la séquence « CGAGAGACACG » correspondant à ITS1 et « AATTGAGACA » à celle de

ITS2, détectées chez l'ensemble d'individus analysés, confirmant que ces différentes espèces du genre *Perinereis* et issues de différents sites appartiennent à un clade monophylétique de l'arbre phylogénétique de l'ITS1 et de l'ITS2 (Figures 88, 89).

| | | | |
|-------------|---|---------------|--|
| PC120 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| Ind roscoff | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| P.rulieri3 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| P.rulieri4 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC115 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC117 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC118 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC119 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC121 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC169 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC173 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC174 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC177 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC211 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC214 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC215 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC260 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC261 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC264 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC266 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC267 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC338 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC339 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC64 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC43 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC439 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC440 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | ---TGAGCATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC60 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | AGAGGAGTATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC48 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | AGAGGAGTATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |
| PC9 | AGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTTTCOGTAGGTTGAACTGCGGAAAGGATCAATTAC | DGAGAGACACACG | AGAGGAGTATCGAGAGAGAGGGGCCCCCGGGGCCCCGGAGGCCCCGAGTGGAA-CCGTTA |

Figure 88 : Alignement des séquences ITS 1 chez *P. cultrifera*

| | |
|-------------|---|
| PC120 | A~CAACTTTGAAACGGG-GGA-TCCCTCCG-CGGGGG-TCCATTAATAAAGGCAAC-CCGC-TGGC-AAAAG-TGGTGG-CAAATTGAGACACA-TT-GGA-CATCCA |
| Ind roscoff | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| P.rulieri3 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| P.rulieri4 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC115 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC117 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC118 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC119 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC121 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC169 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC173 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC174 | AA~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC177 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC211 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC214 | AAA~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC215 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC260 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC261 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC264 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC266 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC267 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC338 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC339 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC64 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC43 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC439 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC440 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC60 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC48 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |
| PC9 | A~CAACTCTGAGCGG-TGGA-TCACTCGGC-TGTTGCG-TGATGAAGAGCGCAGC-CAGC-TGCC-AGAAG-TGATG-TCAAATTGAGACACA-TT-GAA-CATCGA |

Figure 89 : Alignement des séquences ITS 2 chez *P. cultrifera*.

3.3.4. Alignement des séquences Cyt-*b* chez *P. cultrifera*

En ce qui concerne le COI, l'électrophorèse ne montre pas d'amplification de l'ADN à la taille attendue de l'amorce. Par ailleurs, pour le Cyt-*b* le profil électrophorétique montre bien qu'il y a une amplification à la taille de 271 paires de bases (Figure 90).

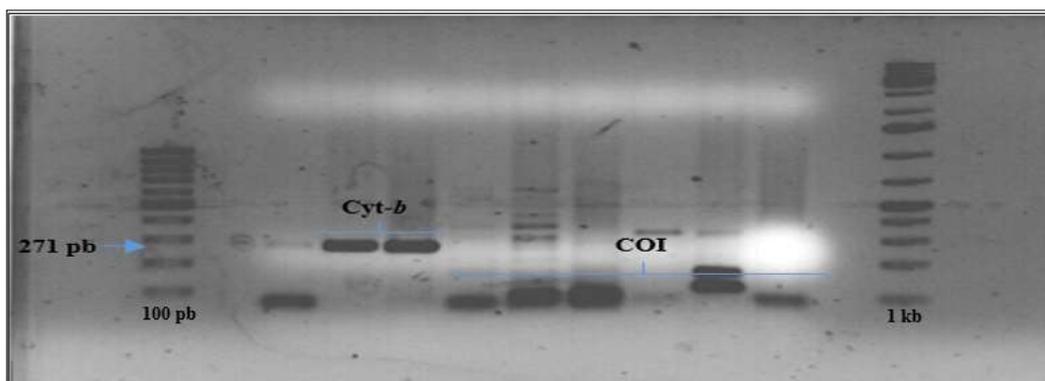


Figure 90 : Profil électrophorétique après amplification avec les amorces : Cyt-*b*, COI après une extraction de leurs ADN en utilisant la méthode d'extraction CCDB.

Les résultats primaires des séquences du *cyt-b* de 82 individus amplifiées par PCR et séquencées, nettoyées et alignées à l'aide du logiciel Codoncode aligner (v 5.0.2) licence disponible au niveau du laboratoire Génétique et Evolution des Populations Végétales (GEPV) de l'université des sciences et technologies de Lille 1 (France) nous ont révélé que le fragment contient 270 paires de bases et correspondant à la séquence suivante : « TGGAATAAAA.....TCCACTGCAA », certains montrent bien la présence de la séquence « GTTTGATGTAAAAATAGTAGGTGTAA » (Figure 91).

| | | | | | | | | | |
|-----------------|--|-----------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| PC123-cytb-C5* | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| Sr-PC169 | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| Ac-PC122 | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| Sr-PC171 | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| SP-PC49 | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| Sr-PC170 | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| Sr-PC172 | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| Sr-PC173 | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| << SA-PC2 | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| SA-PC5 | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| << SP-PC44 | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| SP-PC46 | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| << SP-PC42 | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| SP-PC50 | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| Ro-PC63 | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| SP-PC51 | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| PC78-cytb-B4* | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| PC79-cytb-C4* | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| Ro-PC59 | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| EK-PC82 | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| PC58-cytb-B3* | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| PC65-cytb-F3* | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| CytComparison3: | TCGTTTGATGTAAAAATACTAGGTTGTAATATAGATAGGCCATAACAATAAATGGTATAAGGAACTGAAGGG | GAAAAATCGGTTAAGAGTTGG | | | | | | | |
| | 170 | 180 | 190 | 200 | 210 | 220 | 230 | 240 | 250 |

Figure 91 : Alignement des séquences *cyt-b*

La construction de l'arbre phylogénétique a permis d'observer une distribution hiérarchique entre les individus de chaque population. En effet, l'analyse des différentes populations montre qu'il y a peu d'haplotypes par population, cela suggère beaucoup de brassage entre populations. On observe en effet sur les arbres phylogénétiques que les individus des différents sites se répartissent dans les différents clades, sans regroupement spécifique de individus par site de récolte comme le cas des individus de *Perinereis cultrifera* récoltés à El-Kala (EKPC) (Figure 92).

DISCUSSION GENERALE



4. DISCUSSION GENERALE

La macrofaune benthique représente une fraction importante de la richesse, de la diversité et de l'abondance dans les communautés marines. D'après Afli *et al.* (2005), La biodiversité, ou diversité biologique, est la variété et la variabilité de tous les organismes vivants. Ceci inclut la variabilité génétique à l'intérieur des espèces et de leurs populations, la variabilité des espèces et de leurs formes de vie, la diversité des complexes d'espèces associées et de leurs interactions.

De plus, la majorité de ces organismes possèdent un certain nombre de caractéristiques qui les rend des bioindicateurs de choix pour la qualité du milieu marin et leur importance a déjà été soulignée par de nombreux travaux de recherche (Fresi *et al.*, 2005; Liehr *et al.*, 2005; Occhipinti-Ambrogi, 2005; Rumohr, 2005).

L'Algérie a connu un développement urbain, agricole, industriel et touristique, ce qui menace la qualité de son milieu marin. L'évacuation des rejets urbains et industriels directement en mer représente une des principales causes de la détérioration de l'écosystème côtier engendrant des dysfonctionnements des différents compartiments physiques et biologiques de cet écosystème. Plusieurs travaux scientifiques réalisés ont confirmé cette situation (Boutefnouchet *et al.*, 2005 ; Taleb et Boutiba, 2007 ; Sifi *et al.*, 2007 ; Alioua *et al.*, 2008 ; Bordjiba *et al.*, 2009, Guemouda *et al.*, 2014).

Afin d'expliquer ces phénomènes de détérioration des écosystèmes sur les organismes marins vis-à-vis des polluants, on a besoin de mettre en évidence les fluctuations des facteurs environnementaux qui agissent de façon certaine sur la biodiversité de ces espèces (Salvat, 1967). L'évaluation de la qualité du milieu marin pourrait être reflétée par l'étude de ses composantes abiotiques et biotiques (Pai, 2007).

4.1. Biodiversité

En plus de son utilisation dans les études d'inventaire de la diversité biologique, la biodiversité est devenue indispensable dans l'évaluation environnementale, par l'utilisation d'espèces bioindicatrices. L'étude de la biodiversité marine au sein des espèces et entre les espèces, ainsi que celle des écosystèmes sera d'une grande utilité pour ce qui est des espèces

d'intérêt commerciale ou écologique ou encore pour la protection de la nature (Rouabah A. et Rouabah L, 2007).

Plusieurs auteurs ont noté une diversité remarquable des écosystèmes marins littoraux en méditerranée (Boudouresque, 1997; Ramos-Espla et Sanchez-Lizaso, 2002; Ballesteros, 2003). Cette diversité ainsi que la richesse de ces écosystèmes permet la prolifération de la faune et de la flore associée. Les polychètes sont souvent une composante importante de toute communauté benthique (Papageorgiou *et al.*, 2006). Sur les côtes Tunisiennes, le total d'espèces de polychètes signalées (375 espèces) pour 1300 km de côtes (Zaabi-Sendi, 2013), paraît un peu loin en comparaison avec d'autres régions Méditerranéennes, telles que les côtes françaises qui comptent 641 espèces (Dauvin *et al.*, 2006) et l'Italie avec 876 espèces (Castelli *et al.*, 2008). Néanmoins, ce nombre est plus élevé pour les côtes Marocaines qui listent 80 espèces (Dakki, 2004).

Mirza et Gray (1981) ont constaté une diminution la diversité des espèces le long d'un gradient de zones relativement propres à des zones très touchées par la pollution organique. Ils ont constaté que *Capitella capitata*, *Polydora sp* et *Nereimyra punctata* ont été très abondantes au niveau des sites les plus pollués et étaient donc désigné comme indicateurs des conditions polluées. Parmi ces trois espèces, à la fois *C. capitata* et *Polydora spp* avaient été précédemment caractérisé par Pearson et Rosenberg (1978) comme indicateurs de l'enrichissement organique.

En Méditerranée, le total d'espèces inventorié est de douze mille espèces animales et végétales, mais inégalement répartis entre les différents groupes zoologiques. Par ailleurs, chaque année, plusieurs dizaines de nouvelles espèces apparaissent en Méditerranée, Afli (2005), a signalé que la biodiversité de la Méditerranée orientale est inférieure à celle de la Méditerranée occidentale.

Les inventaires effectués nous ont permis de mettre en évidence les différentes espèces qui sont associées à notre espèce (*P. cultrifera*). Des espèces de la famille des *neridae* : *N. falsa*, *P. macropus*, *Pl. dumerilii*, *N. diversicolor*; avec la présence d'autres annélides polychètes qui sont : *Lepidonotus clava*, *Scolelepis squamata*, *Lumbrinereis sp*, *Terebellidae* et des espèces non identifiées. En Plus de cette espèce, d'autres espèces ont été inventoriées

comme *Diodora greaca*, *Patella sp*, *Tricolia speciosa* et une espèce de mollusque bivalve : *Mitylus galloprovincialis*, ainsi que des espèces d'arthropodes : *Eriphia verrucosa*, *Isopoda sp* non identifiée et une espèce d'arthropode amphipode non identifiée : *Amphipoda sp*, mais surtout six espèces d'annélides polychètes se présentant comme suit :

Lors de nos prospections, *Perinereis cultrifera* (Grübe, 1840) a été trouvée dans le site d'El Morjane (El Kala), de Saint Cloud (Annaba), de Stora (Skikda), et d'Ain doula (Collo). Elle est connue en Algérie sous l'appellation vernaculaire de « ver vert de roche », exploitée de façon régulière, de par sa répartition géographique, elle intéresse les pays de la façade atlantique (France, Grande Bretagne, Portugal) et du pourtour méditerranéen (Algérie, Espagne, France, Italie, Tunisie) (Guemouda, 2015, Younsi, 2006; 2014, Rouabah A. et Rouabah L., 2007), à Roscoff par Cabioch *et al.* (1968), au Golfe normano-breton par Retière en (1979), en Manche (Dauvin *et al.*, 2003), et dans les côtes Tunisiennes par Ayari (2009).

Perinereis macropus (Claparède, 1870) habite en mer basse, dans les fentes des rocher, à un niveau élevé et dans les Algues calcaires de la Manche, et de l'Atlantique (Fauvel, 1923). Elle se trouve dans les roches calciques. Pendant notre période d'étude, cette espèce a été trouvée à El-Morjène (El-Kala), Stora (Skikda), et à Ain doula (Collo). Elle a été repérée au niveau des côtes Tunisiennes par Ayari. (2009), et Zaabi-Sendi. (2013) dans un sédiment de texture sable grossier à 2 m de profondeur.

Platynereis dumerilii (Audouin & Milne-Edwards, 1833) présente au niveau du site El-Morjène (El-Kala), est une espèce identifiée depuis 1968 à Roscoff par Cabioch *et al.*(1968), au Golfe normano-breton par Retière (1979), au Baie de seine par Bellan (1961). Elle se trouve au niveau dragages côtiers et en mer basse parmi les Algues, dans un tube muqueux ou membraneux, en Mer du Nord, en Atlantique (Fauvel, 1923), en Manche (Dauvin *et al.*, 2003), en côtes Tunisiennes par Ayari (2009) dans les sédiments de sable fin, à 2.5 m de profondeur par Zaabi (2013).

Nereis falsa (Quatrefages, 1865) a été localisée dans la Manche (Guernesey) ; l'Atlantique (Maroc), à l'est de l'Algérie, la Méditerranée (Naples, Monaco), et l'Adriatique (Fauvel, 1923). Elle a été trouvée au niveau des quatre sites d'étude (El Morjane, Saint Cloud, Pikini Djedid, et Ain doula). Des études antérieures ont été réalisées sur cette espèce et ont

montré que sa présence se limitait uniquement au site d'El-Kala (El-Mordjéne) (Younsi, 2006).

Nereis diversicolor (O. F. Müller, 1776) est présente sur les côtes et dans les estuaires du Maroc jusqu'en Scandinavie (Gillet et Torresani, 2003), dans l'estuaire de la Loire (Marchand, 1971). Elle forme des populations abondantes dans les vases fluides à *Scrobicularia plana*, et constitue un élément important des chaînes trophiques, largement consommée par les crustacés *Crangon crangon* et les poissons *Anguilla anguilla* et *Dicentrarchus labrax* à des densités variant de 35 à 3700 individus/m² (Scaps, 2002) et dont la biologie est abondamment documentée. Durant notre période d'étude elle a été recensée au niveau d'El-Kala et de Skikda.

Lepidenotus clava (Montagu, 1808) espèce a été repérée depuis 1968 à Roscoff par Cabioch *et al.* (1968), en Manche (Dauvin *et al.*, 2003). Elle habite sous les pierres dans la zone littorale, distribuée en Manche, en Méditerranée, en Atlantique, au Cap de Bonne-Espérance, et à l'Océan Indien (Fauvel, 1923). Elle a été signalée dans les côtes Tunisiennes par Trigui El-Menif *et al.* (2007), Ayari et Afli (2003, 2008), et Ayari (2009), et par Zaabi-sendi (2013) dans la station de Dar Allouch à 38 m de profondeur dans un sédiment gravier et au large de Dar Allouche à 60 m de profondeur dans un sédiment rocheux (substrat dur). Au niveau de nos sites d'échantillonnages cette espèce a été présente au niveau du site de Skikda.

Sur le plan répartition et abondance de toutes ces espèces, les Annélides polychètes y dominant, mais les bivalves (Mollusques) et les crustacés sont aussi très communs, l'association entre ces trois embranchements est assez classique (Ayari et Afli, 2003; Bigot et Amoureux, 2008).

L'indice de diversité est plus élevé à la station d'El-Kala par rapport aux autres sites durant toute la période d'étude la classant comme site riche en biodiversité. Les mêmes observations ont été enregistrées au niveau du site d'El-Kala (Guemouda, 2015 ; Younsi, 2014; Larba, 2014). L'étude de la biodiversité des Gastéropodes au niveau de la méditerranée (Espagne) montre que l'indice de diversité et l'indice de Shannon-Weaver sont en rapport avec la richesse des espèces (Puente, 1997). La valeur de l'indice de diversité diminue avec la richesse des gastéropodes (Damerdjji *et al.*, 2005).

La richesse en espèces au niveau du site El-Mordjéne (El-Kala) le classe comme site de référence. Ces résultats sont en accord avec les résultats de Weisshappel et Svavarsson (1998), qui ont notés que la structure de la biocénose benthique peut être influencée aussi par de nombreux facteurs environnementaux, comme la température, la profondeur, le type de sédiment et les apports en matière organique. L'analyse taxonomique de la faune associée montre que la répartition des différents embranchements n'est pas homogène car elle révèle une dominance des annélides suivis par les mollusques et les arthropodes. Les polychètes y dominent, mais les bivalves et les crustacés y sont aussi très communs. Les côtes Tunisiennes confèrent une biodiversité particulière (Afli *et al.*, 2005), avec 27 % de Mollusques, 15 % de Crustacés, 13 % de poissons, 10 % d'Annélides Polychètes, 8 % de Bryozoaires, 8 % Foraminifères, de 5 % Plathelminthes, 4 % de Spongiaires, 3 % de Nématodes, 3 % d'Echinodermes et 4 % pour d'autres espèces (Guemouda, 2015 ; Younsi, 2014 et Gasmi, 2010).

Les algues (à quelques exceptions près) empruntent à l'eau de mer tous les éléments minéraux qui leur sont nécessaires pour leur survie et leur développement et ne demandent au substrat qu'un point de fixation. Nous avons pu recenser trois sortes d'algues au niveau des sites d'étude (El-Kala, Annaba, Skikda et Collo). *Ulva lactuca* (Linné, 1753), pousse généralement au niveau de l'étage médio littoral supérieur à l'infra littoral, jusqu'à 10 mètres de profondeur. Elle a une grande tolérance à la pollution et aux apports anthropiques, d'où une présence dans les ports, dans les zones de ruissellement d'eau douce, et les flaques (Julien, 2010). Les algues rouges ou Rhodophytes sont représentés par *C. elongata* (Linné, 1758). Les Corallines sont des Rhodophycées, eucaryotes, en majorité des algues marines, avec plus de 564 espèces qui se trouvent sur les bords de mer à travers le monde. *Corallina elongata* est une algue calcifiée qui pousse dans les zones basses et moyennes littorales, sur les côtes rocheuses. *Corallina elongata* fournit un habitat pour de nombreux petits animaux qui se nourrissent de micro-organismes logés dans ses touffes denses. Cette algue ne tolère pas l'effet desséchant de l'air et devient blanche en s'exposant au soleil (Gayral, 1975). Enfin, *Colpomenia sinuosa* a réellement une très large distribution qui englobe toutes les mers du monde, tropicales à tempérées. Pour les côtes françaises, des observations fiables ont été faites à la Réunion, en Polynésie, en Corse, en Provence, à l'étang de Thau, sur les côtes atlantiques, et aux Caraïbes.

4.2. Paramètres physico-chimique de l'eau de mer

La température de l'eau est en relation directe avec la température atmosphérique. En effet, les valeurs les plus faibles sont enregistrées en hiver et en automne et les plus élevées au printemps et en été. Cependant, les courants marins peuvent approvisionner les régions par des masses d'eau froide (Agoumi et Orbi 1992). 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 agit sur la densité, la viscosité, la solubilité des gaz dans l'eau, 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 (W.H.O, 1987). Ceci vient du fait qu'elle affecte les propriétés physiques et chimiques de celle-ci ; en particulier sa densité, sa viscosité, la solubilité de ses gaz (notamment celle de l'oxygène) et la vitesse des réactions chimiques et biochimiques (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 a 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 stations d'étude, les résultats obtenus ne montrent pas de grandes variations au niveau des sites, et la température moyenne à El-Mordjène est supérieure à celle des autres stations. Les résultats obtenus correspondent avec les travaux réalisés au niveau du littoral Algérois par Rouibah *et al.* (2005), où ils ont enregistré une valeur de température dans une station contaminée inférieure à celle de la station de référence.

Les valeurs trouvées lors de notre étude sont inférieures à celles trouvées à partir de l'étude réalisée au niveau de site de Skikda (Gueddah, 2003; Kara, 2007; Bordjiba, 2009), au niveau de la baie d'Alger (Bachari-Houma, 2011), et par Allouti (2011) au niveau d'El Kala et de Skikda, où les résultats obtenus montrent que la température en Mai dans le site d'El Kala est inférieure à celle du site de Skikda, et le contraire est enregistré au mois de Juillet en

concordance avec nos résultats. Ces fluctuations sont en relation avec les conditions climatiques, notamment la température de l'air. D'après Vincke (1982), les températures les plus basses sont observées en hiver et les plus élevées en été. Aussi, les températures les plus basses sont observées en général en profondeur et les plus élevées en surface en relation avec les températures de l'air. Cependant, la température de surface peut être inférieure à celle du fond à cause de la circulation générale, l'influence des apports continentaux et les conditions météorologiques. Les conditions météorologiques sont très défavorables avec les fortes précipitations.

Les données statistiques indiquent qu'il n'existe pas de différence entre les stations étudiées, et aussi la diminution de la température dans les stations contaminées dans notre travail ne montre pas clairement l'effet de la pollution sur la température de l'eau. Des travaux ont été réalisés dans le but de déterminer la qualité des eaux rejetées par le séparateur API de la direction régionale du transport des hydrocarbures à Skikda et leurs effets sur la qualité des eaux dans le point d'évacuation, par Belkadi et Kharaaf (2004), ont enregistré une faible température dans le point de prélèvement, et sur un site voisin : le complexe de raffinage de pétrole de Skikda, où Bentayeb et Mechtouf (2007) rapportent aussi que la température était très élevée.

Le pH ou l'expression de l'acidité du milieu, compte parmi les paramètres physicochimiques qui conditionne 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 (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). 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). Les données collectées ne montrent pas une variation importante entre les trois sites, et présente généralement des valeurs similaires, l'alcalinité des différentes sites d'étude enseigne une bonne qualité du milieu pour la biodiversité et la production de la faune et de la flore aquatiques. Les observations ont été signalées au niveau du site de Skikda (Gueddah, 2003 ;

Gueddah, 2006 ; Kara, 2007; Bentayeb et Mechtouf, 2007, Allouti, 2011), au niveau d'El Kala (Benchikh, 2009; Allouti, 2011), au niveau du golfe d'Annaba (Sifi, 2009), du littoral Algérois (Rouibah *et al.*, 2005; Bachari-Houma, 2011), et à Oran (Rouane-Hacene, 2013). Ces résultats ont aussi été mis en évidence par d'autres auteurs, ayant auparavant étudié cette zone (Kaimoussi *et al.* 2001, Sif *et al.* 2002, Ferssiwi 2007).

L'oxygène dissous est consommé lors de l'oxydation hétérotrophe de la matière organique, et la respiration par la faune, et la flore aquatique. La quantité d'oxygène dissous dans l'eau est nécessaire à la vie aquatique et à l'oxydation des matières organiques essentielles à la vie aquatique en tant que nourriture (Tran *et al.*, 2001; Tran *et al.*, 2002). Trois facteurs influencent les variations de concentration en oxygène dans l'eau: la production d'O₂ par photosynthèse; La respiration entraînant une consommation de l'O₂ et 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 des eaux de mer dans les sites d'El Morjane est relativement élevé par rapport aux autres sites étudiés, ceci pourrait être expliqué par les mouvements de la marée, qui engendre un brassage continu de la masse d'eau et par conséquent un enrichissement de la phase dissoute. Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés dans la baie d'Alger par Bachari-Houma (2011), et dans la côte Oranaise pendant la période automnale par Rouane-Hacene (2013). Les valeurs faibles d'Oxygène ont été enregistrées dans le site d'Annaba et de Skikda. Le site de Skikda caractérisé par la présence des polluants organiques due aux rejets industriels de la plateforme pétrochimique.

La salinité désigne la quantité de sels dissous dans un liquide, il ne faut pas confondre ce paramètre avec la dureté de l'eau qui est relative à son dosage en calcium et en 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, mais il existe, à l'intérieur des terres, des masses d'eau et des sols totalement indépendants de la mer actuelle, qui tirent leur salinité directement du substratum lithologique (Lamotte, 1971). Les résultats obtenus à partir des mesures de la salinité effectués pendant la période d'étude montre une diminution de la salinité au mois de septembre et octobre au niveau du site de Skikda. Cette variation obtenue entre la période

hivernale et estivale est due à l'action conjuguée des fortes températures, qui engendrent de fortes évaporations et une baisse des précipitations (Soucek, 2007).

Dans ce travail les résultats obtenus à partir des mesures du taux de la salinité effectués pendant la période d'étude, sont supérieurs à ceux déterminés par Allouti (2011), dans les sites d'El-Mordjène (El Kala) et de Stora (Skikda) au mois de Février. En comparant les résultats obtenus, il nous a été confirmé l'inexistence d'une différence entre les stations étudiées, malgré la différence enregistrée entre les périodes d'étude, où la diminution de la salinité durant l'hiver et le printemps peut être due à l'effet de la dilution par les eaux de pluies, par contre son augmentation en période estivale est due à l'augmentation de la température et à la nature du substrat. Ces observations sont en accord avec les travaux réalisés au niveau de la côte Oranaise par Rouane-Hacene (2013), du site de Skikda par Gueddah (2003), et de la baie d'Alger (Bachari-Houma, 2011).

La mesure de DBO_5 permet d'estimer la teneur en matières organiques et mesurer le carbone biodégradable dans une eau usée (Eckenfelder, 1982). Les teneurs enregistrées lors de cette étude n'ont pas montré de variations entre les sites étudiés. Plus la valeur de la DBO_5 est élevée, plus la consommation d'oxygène par les micro-organismes est importante pour oxyder les matières organiques dissoutes ou en suspension dans l'eau. Il s'agit donc d'une consommation potentielle de dioxygène par voie biologique. Ce paramètre constitue un bon indicateur de la teneur en matières organiques biodégradables d'une eau au cours des procédés d'autoépuration (Harach-Rass *et al.*, 2012).

Cette observation a été signalée dans les travaux réalisés par Guemouda (2015) sur huit stations du littoral Algérien, par Bordjiba (2009) sur sept stations d'étude dans le site de Skikda, et par Rouane-Hacene (2013) sur la côte Oranaise. L'augmentation des teneurs en DBO_5 en période sèche peut être expliquée par l'instauration des conditions de dégradation de la matière organique par les microorganismes dont l'activité s'intensifie avec la diminution de la vitesse d'écoulement et le réchauffement des eaux (Harach-Rass *et al.*, 2012).

4.3. Dosage des hydrocarbures

Les résultats enregistrés à partir des concentrations des hydrocarbures totaux dans l'eau de mer dans les trois sites d'El-Mordjène (El-Kala) , St-Cloud et de Stora (Skikda) ont montré

une différence importante entre les concentrations observées au niveau du site de Skikda comparativement à ceux de d'Annaba et d'El-Kala. Des taux élevés d'hydrocarbures ont été enregistrés à Skikda au niveau des stations de l'Embouchure d'Oued Saf Saf, la station de l'Ancien port et la station de Pikini Djedid, alors que les plus faibles ont été constatés au niveau d'El-Mordjène (El-Kala) et à la vieille calle (Guemouda, 2015). Sakar (2007) a obtenu les mêmes valeurs en HCT que celles enregistrées à la grande plage à Skikda, mais plus élevées que celles du port de pêche de Stora qui est caractérisé par des activités portuaires diverses (transport des hydrocarbures, des marchandises et des voyageurs), et au niveau d'Oued Saf Saf, où les concentrations sont très importantes, et produites par les différents rejets occasionnés par l'industrie pétrochimique (rejets de GNL1/K, rejets de RA1/K, rejets de UTE).

Les stations d'El-Kala sont considérées comme zones d'étude de référence en raison de leur éloignement des sources de pollution, quoiqu'il n'existe pas d'écosystème idéal car les polluants peuvent être apportés par les mouvements de masses atmosphériques (Sturges, 1991). En ce qui concerne la ville de Skikda, les études ont montré que les résultats d'analyses obtenus présentent des concentrations élevées de polluants, dépassant de loin les valeurs limites fixées par la réglementation et une non-conformité avec celle-ci pour certains effluents urbains et industriels (in Gueddah, 2003).

4.4. Paramètres morphométriques

Le suivi mensuel des mesures biométriques montre une évolution similaire chez les individus des trois populations : le poids, la longueur totale du corps et le nombre de sétigères. Le poids augmente progressivement au début de la période d'étude, atteignant une valeur maximale au cours du mois d'Avril dans les trois sites (El-Kala, Annaba et Skikda). Cette augmentation est suivie d'une diminution du poids au début de Juin jusqu'au mois de d'Août. Ceci correspond avec la période de reproduction. Un certain nombre d'auteurs ont observé que différentes espèces de bivalves exposés à des pollutions environnementales pouvaient présenter une croissance lente (Soto *et al.*, 2000 ; Peteiro *et al.*, 2003). Elle peut aussi être associée à des épisodes de stress chimiques qui impliquent une perte de poids des tissus des

organismes, liée à une mobilisation des réserves énergétiques pour leur détoxification (Modassir et Ansari, 2000). Bien que les trois populations présentent une évolution similaire, on constate que les valeurs

enregistrées chez les individus d'El-Kala sont toujours élevées à celles des individus d'Annaba, et de Skikda. Cela est en accord avec plusieurs travaux réalisés sur *Nereis diversicolor* montrant que ces paramètres biométriques chez les vers en provenance du site contaminé n'ont jamais atteints une valeur supérieure à ceux du site sain. Ils ont également confirmé que les vers vivants dans des milieux perturbés présentent un stade de gain du poids réduit (Durou *et al.*, 2007; Durou *et al.*, 2008 ; Mouneyrac *et al.*, 2009; Gillet *et al.*, 2008).

La taille des individus augmente progressivement au début de la période d'étude, atteignant une valeur maximale au cours du mois de Mai dans tous les sites, suivie d'une diminution de celle-ci au mois d'Août. Ces résultats s'accordent avec ceux des variations mensuelles du poids. Bien que les trois populations présentent une évolution semblable, on constate que les valeurs enregistrées chez les individus d'El-Kala sont toujours élevées à celles enregistrées chez les individus d'Annaba, et de Skikda. Ceci est en accord avec une étude réalisée montrant l'effet du stress environnemental sur les Annélides Polychètes dans le site de Skikda et El-Kala (Boucenna, 2011), en révélant l'existence d'un effet pollution sur le poids et la taille chez les femelles de *P. cultrifera*. Les individus récoltés à Skikda (site contaminé) sont plus petits que ceux récoltés à El-Kala (site sain) et que la différence entre les deux populations est très importante. Dutrieux *et al.* (1989), indiquent que l'exposition chronique à des polluants organiques d'une espèce de *Nereididae* (*Nereis*) entraîne une diminution de la taille moyenne en fonction du gradient de pollution.

Le nombre de sétigères augmente progressivement au début de mois de Février pour atteindre des valeurs maximales au mois d'Avril on constate que les valeurs enregistrées chez les individus d'El Morjane (El-Kala) sont toujours élevées à celles enregistrées chez les individus de Saint Cloud (Annaba), et de Pikini Djedid (Skikda).

Les données indiquent qu'il existe une augmentation linéaire du nombre de sétigères, et qui sont indépendants des autres paramètres biométriques. Certains individus présentent un grand nombre de sétigères et une taille réduite du corps et vis versa. Çinar et Altun (2007) confirment que chez le *Nereididae Pseudonereis anomala*, la longueur du corps augmente par

addition de nouveaux métamères dans la région postérieure, tandis que la largeur des métamères antérieurs augmente proportionnellement avec l'augmentation du poids, de même qu'Omena et

Amaral (2001) expliquent que la largeur de la partie antérieure du corps augmente au fur et à mesure que la partie postérieure s'allonge. La croissance chez les Annélides Polychètes se fait par ajout de nouveaux métamères au niveau de la zone de croissance postérieure (Anderson, 1973; Glasby *et al.*, 2008).

4.5. Dosage des biomarqueurs

Afin d'évaluer l'impact écotoxicologique des polluants sur les organismes marins, l'utilisation des marqueurs biologiques ou biomarqueurs est envisageable. Ces derniers ont été largement utilisés dans le cadre des programmes de surveillance de la qualité de l'environnement vu leur capacité à fournir des informations sur l'état de santé des individus. Néanmoins, cet état de santé ne peut être révélé par utilisation d'un biomarqueur unique. L'utilisation *in situ* de batteries de biomarqueurs permettrait vraisemblablement une évaluation réaliste et fiable des effets écotoxicologiques des polluants sur les écosystèmes (Lagadic *et al.*, 1997). Cependant, cette application nécessite la présence d'organismes bioindicateurs. Les bivalves ont été considérés comme d'excellents indicateurs de contamination en raison de leur forte capacité de bioaccumulation de polluants, ce qui reflète et contrairement aux analyses réalisées sur le sédiment ou l'eau, la quantité de polluants biodisponibles dans l'environnement.

4.5.1. Dosage de l'activité enzymatique de l'AchE

En effet, l'Acétylcholinestérase constitue la cible privilégiée de certains insecticides (organophosphorés, carbamates), herbicides (triazines, paraquat) et autres molécules neurotoxiques (incluant les métaux lourds); surtout utilisée en milieu marin (Galgani et Bocquené, 1998), l'inhibition de l'activité de l'AchE s'est également révélée intéressante dans le cadre d'étude de la qualité des milieux aquatiques continentaux (Payne *et al.*, 1996;

Flammarion *et al.*, 1998; Sturm *et al.*, 1999; Barra *et al.*, 2001). Les mesures de l'inhibition de l'acétylcholinestérase dans les organismes aquatiques a déjà été utilisé comme un biomarqueur des effets des contaminants neurotoxiques (Habig et Di Giulio, 1988; Galgani et Bocquene, 1990; Payne *et al.*, 1996; Mc Henery *et al.*, 1997; Kirby *et al.*, 2000).

L'analyse de l'activité de l'AChE dans les différents tissus de l'organisme aquatique est considérée comme biomarqueur de la contamination des milieux aquatiques par les pesticides anticholinestérasiques (Zinkl *et al.*, 1991 ; Fernandez-Vega *et al.*, 1999 ; Dutta et Arend, 2003).

Il a été constaté une forte inhibition de l'activité enzymatique de l'AChE chez les individus de *P. cultrifera* récoltés au niveau des sites de St-Cloud (Annaba) et Stora (Skikda) comparativement à ceux récoltés à El-Mordjène (El-Kala). Cela témoigne l'exposition de ces organismes aux polluants tels que : les métaux lourds et les hydrocarbures. Nos résultats confirment cette inhibition, où des études ont déjà mis en évidence l'inhibition de l'activité de l'AChE par des contaminants incluant certains agents surfactants, les hydrocarbures combustibles et les métaux lourds (Herbert *et al.*, 1995; Bocquéné *et al.*, 1997; Forget *et al.*, 2003; Kammenga *et al.*, 2000; Dellali *et al.*, 2001). D'autres études ont montré que les éléments métalliques comme le mercure, le cadmium, le cuivre ou le zinc inhibent l'activité de l'acétylcholinestérase (Frasco *et al.*, 2005; Varo *et al.*, 2012; Tu *et al.*, 2012).

L'activité de l'AChE augmente au printemps, et diminue en été puis devient plus ou moins stable en automne et en hiver. La valeur maximale de l'activité de l'AChE a été enregistrée au mois d'Avril au niveau des trois sites quant aux plus faibles ont été constatées au mois d'Août. Moulton *et al.* (1996) ont étudié les effets de température sur la toxicité de deux inhibiteurs du cholinestérase pesticides aldicarbe ([méthylthio] 2-méthyl-2-propionaldéhyde O-oxime[méthylcarbamoyl]) et acéphate (O, S acetylphosphoramido-diméthyl- thioate) sur les moules d'eau douce *Elliptio complanatus*. Après une exposition de 96 h, ces auteurs ont montré que l'augmentation de la température expérimentale de 21 à 30 °C, provoque l'inhibition de l'AChE. Par ailleurs, Scaps et Borot (2000) expliquent que la salinité et la température peut également affecter l'activité de l'acétylcholinestérase chez *Nereis diversicolor*. En outre, les études effectuées sur *D. trunculus* au niveau du golfe d'Annaba ont montré une diminution de l'activité de l'AChE en rapport avec la pollution métallique (Abbes

et al., 2003; Abdennour *et al.*, 2004; Beldi *et al.*, 2006; Sifi *et al.*, 2007; Amira *et al.*, 2011; Soltani *et al.*, 2012). Hamza-Chaffai *et al.* (1998) ont également constaté que des niveaux élevés de cuivre ou de métaux lourds peuvent également affecter l'acétylcholinestérase chez les bivalves.

4.5.2. Dosage de l'activité enzymatique de la GST

Les Glutathions S-transférases (GST) sont des enzymes de métabolisation, dont la fonction est de conjuguer à une molécule de glutathion (qui possède un groupement nucléophile -SH) une grande variété de substrats (porteurs de groupements électrophiles) pour permettre leur élimination. Ces enzymes sont généralement solubles (cytosoliques) et présentes sous plusieurs isoformes, dont certaines sont inductibles par les contaminants qu'elles rendent moins toxiques. Leur intérêt réside dans leur utilisation en tant que biomarqueurs de contamination par les contaminants de type HAP, PCB et les pesticides dans le milieu marin (Boryslawskij *et al.*, 1988; Narbonne *et al.*, 1991).

Les individus présentent une activité enzymatique de la GST maximale au mois d'Avril et un minimale au mois d'Août au niveau des sites (El-Kala, Annaba et Skikda) et ce durant toute la période d'étude. Avec une induction de l'activité au niveau des sites pollués (Annaba et Skikda) par rapport au site d'El-Kala. De plus, la stimulation de l'activité de la GST a été observée par Won *et al.* (2011) chez l'Annélide polychète *Perinereis nuntia* après exposition au Cd, et aussi chez *Laeonereis acuta* qui a subi le même traitement (Sandrini *et al.*, 2008). Concernant les polluants organiques, on note également une induction de la GST avec le flucycloxuron (pesticide) chez *G. affinis* (Zaidi & Soltani, 2011). *P. cultrifera* a fait l'objet d'une étude où une induction de la GST chez les femelles récoltées d'Annaba a été enregistrée par rapport à celles d'El Kala (Tayebi et Malaoui, 2012). Des études similaires ont révélé une induction de la GST chez les Mollusques Bivalves tels que *Ruditapes decussatus* suite à une exposition à différents HAP (Hoarau *et al.*, 2001). Nos résultats sont cohérents avec d'autres études, où l'induction de la GST a eu lieu chez *Montastraea faveolata* exposée au benzo(a)pyrene (Ramos et Garcia, 2007) et chez *Montastraea annularis* (Downs *et al.*, 2005). Aussi, des études présentent des résultats similaires et indiquent une augmentation de l'activité de la GST chez les individus *D. trunculus* récoltés au niveau d'un site pollué (Amira *et al.*, 2011 ; Soltani *et al.*, 2012).

4.5.3. Dosage de l'activité enzymatique de la Catalase

L'activité de la catalase varie entre les sites en fonction des saisons. Une valeur maximale a été enregistrée en Avril, alors que la plus faible en Août avec une induction de l'activité dans

le site d'El-Kala par rapport aux sites d'Annaba et Skikda. Le stress oxydatif peut provenir de la production accrue des espèces réactives de l'oxygène (ROS) induites par des métaux lourds et de nombreux contaminants organiques (Livingstone, 2001). Les enzymes antioxydants sont des biomarqueurs du stress oxydatif ; cependant, les réponses à la pollution varient selon les espèces, les enzymes, et les contaminants (Pandey *et al.*, 2003). Le Cadmium peut diminuer la concentration et/ou l'activité des antioxydants ou conduire à leur augmentation dans les cellules en fonction de l'importance du stress (Ochi *et al.*, 1987; Yang *et al.*, 1997; Dagnino *et al.*, 2007; Cuypers *et al.*, 2010).

La catalase est une enzyme antioxydant impliquée dans la défense de la cellule contre les effets toxiques du peroxyde d'hydrogène en catalysant sa décomposition en eau et en oxygène, c'est un biomarqueur de stress oxydatif (Almeida *et al.*, 2007; Jebali *et al.*, 2007). L'induction de l'activité spécifique de la CAT en corrélation avec le SOD constitue la première ligne de défense contre le stress oxydatif (Asagba *et al.*, 2008). Des données montrent que l'activité de la CAT chez le individu *P. cultrifera* récoltés à Stora (Skikda), et à Saint Cloud (Annaba), est plus élevée d'une manière très importante par rapport aux femelles récoltées à El Morjane (El-Kala) qui traduit bien une perturbation par la présence de pollution par les métaux lourds et les hydrocarbures en provoquant l'induction de l'activité de la CAT; Une induction de l'activité de la CAT a été enregistré chez les individus de *D. trunculus* récolté au niveau d'un site pollué (Amira *et al.*, 2011), de même que chez *Mytilus galloprovincialis* (Box *et al.*, 2007). Les activités de la SOD et de la CAT ont montré une induction chez des bivalves exposés à 0,5 et 5 µg/L d'Aroclor 1254 pendant 18 jours (Cheung *et al.*, 2004) et chez des moules provenant de sites pollués par les HAP (entre 450 et 990 ng/g de poids sec) et PCB (entre 490 et 590 ng/g de poids sec) (Rocher *et al.*, 2006).

4.6. Analyse phylogénétique du complexe d'espèces jumelles *P. cultrifera*

De nombreux travaux ont montré l'existence de complexes d'espèces jumelles chez les Annélides polychètes appartenant aux genres *Arenicola*, *Capitella*, *Eulalia*, *Glycera*, *Hediste*, *Marenzelleria*, *Neanthes*, *Nephtys* et *polydora* (Grassle et grassle, 1976 ; Nicklas et Hoffmann, 1979 ; Mustaquim, 1988 ; Pesch et al., 1988 ; Cadman et Nelson-Smith, 1990 ; Weinberg et al., 1990 ; Fong et Garthwaite, 1994 ; Schmidt et Westheide, 1994 ; Manchenko et Radashevsky, 1994 ; Bastrop et al., 1995 ; Bonse et al., 1996 ; Röhner et al., 1996 ; Sato et Masuda, 1997 ; Sato, 1999). Les données de la littérature indiquent que *Perinereis cultrifera* peut être considérée comme une espèce à répartition cosmopolite.

Cependant, le statut taxonomique de nombreuses espèces d'annélides polychètes demeure à ce jour peu développé et celui de certaines espèces n'est toujours pas résolu. Ainsi, le grand nombre d'espèces à répartition cosmopolite reflète en partie nos lacunes dans ce domaine plutôt qu'une réelle tendance à une large répartition géographique. Fréquemment une révision attentionnée révèle qu'une espèce cosmopolite est souvent composée d'un certain nombre d'espèces possédant une aire de répartition géographique limitée (Hartley, 1984; Kupriyanova et Badyaev, 1998). D'autre part, on peut noter que selon la localisation géographique des populations, le mode et la période de reproduction, la durée de vie ainsi que la morphologie des individus varient fortement. A l'échelle géographique plus restreinte de la Manche-Atlantique et de la Méditerranée et dans l'état actuel de nos connaissances, on peut donc émettre l'hypothèse que l'existence de deux stratégies de reproduction et de deux morphes distincts est l'aboutissement d'un mécanisme de spéciation reflétant l'histoire évolutive des populations. Cette hypothèse semble particulièrement bien étayée par les résultats d'ordre morphologique et biochimique que nous avons obtenu lors de la comparaison des formes épitoques présentes en Manche et en Méditerranée. En effet, nous avons constaté d'importantes différences dans la morphologie et le nombre de paragnathes à la surface du proboscis. La congruence des données d'ordre écologique, morphologique et biochimique indiquent donc clairement que jusqu'à une révision plus poussée du complexe d'espèce *Perinereis cultrifera*, ce nom spécifique devrait être utilisé avec précautions de façon à éviter des comparaisons non justifiées d'études à caractères écologique ou biochimique réalisées à partir d'individus issus de différentes régions géographiques. Au cours des différents épisodes

géologiques qui ont bouleversé la mer Méditerranée, il est connu que se sont succédées plusieurs périodes d'assèchement et de remplissage qui aurait eu lieu à la transition Miocène-Pliocène, il y a environ 6 millions d'années. Ainsi la majorité des auteurs s'accordent à reconnaître que le peuplement actuel de la Méditerranée est récent, au moins pour l'essentiel, à travers du détroit de Gibraltar (Bellan-Santini *et al.*, 1994). La recolonisation se serait effectuée à partir des apports d'espèces provenant du proche Atlantique. Les résultats génétiques obtenus pour le gène d'intérêt *cyt-b* nous a révélé un brassage entre les individus des deux populations : de la manche française et de la Méditerranée ce qui nous a conduit à émettre deux hypothèses possibles : soit nos échantillons contiennent des espèces cryptiques, ou bien il y a partage d'haplotypes mitochondriaux entre espèces. Chez d'autres espèces, *Drosophila melanogaster* et *Drosophila similens* des populations de Normandie/Méditerranée et Bretagne/Méditerranée les résultats ont révélé des ressemblances entre les deux populations (Ohnishi *et al.*, 1983) ainsi qu'à celles établies entre les espèces parthénogénétiques de némathodes du genre *Meloidogyne* (Van der Beek *et al.*, 1998).

Pour les séquences ITS, nous avons pu réaliser des amplifications qui confirment bien nos résultats, car ces dernières ont déjà été séquencées chez d'autres espèces de *Perinereis*, Parmi lesquelles les séquences ITS1 et ITS2 qui ont été déterminées chez quatre espèces : *P. aibuhitensis*, *P. floridana*, *P. SP1* et *P. SP2* (Qui sont encore non identifiées) (Chen *et al.*, 2002).

En ce qui concerne les séquences de COI chez *P. cultrifera*, nous attendons les résultats de leur amplification qui se déroule au laboratoire de GEPV de Lille 1. Par ailleurs, chez d'autres espèces ces mêmes séquences ont déjà été déterminées comme le cas pour *C. glaucum* et *C. edule* (Nikula et Vainola, 2003 ; Freire *et al.*, 2005), *M. edulis* et *M. galloprovincialis* (Kijewski *et al.*, 2009) et *C. gigas* et *C. angulata* (Arnaud et George, 2000).



CONCLUSION

5. CONCLUSION

Notre étude a porté sur l'impact du stress environnemental sur la biodiversité des Annélides Polychètes qui sont bien représentés au niveau des estuaires des sédiments meubles et durs des zones intertidales. Le choix des sites a été établi selon le niveau de la pollution afin d'estimer la qualité des sites étudiés au niveau du littoral Algérien. Cette étude a comporté plusieurs aspects, telle qu'une étude écologique établie par l'établissement d'un inventaire des espèces. Suivie d'une analyse des indices de composition et des indices de structures durant une période de trois années (2011, 2012 et 2013). La détermination des paramètres physico-chimiques et morphométriques, la réalisation d'une biosurveillance des sites étudiés par les variations mensuelles des activités enzymatiques de biomarqueurs : AChE, GST et CAT, ainsi que la comparaison entre les populations selon le mode de reproduction et la comparaison au niveau génétique entre les populations de *P. cultrifera* du littoral Algérien et de la Manche française.

L'étude écologique nous a permis l'identification de cinq espèces de nereidiens *Perinereis cultrifera*, *Perinereis macropus*, *Platynereis dumerilii*, *Nereis falsa*, *Nereis diversicolor* avec d'autres espèces de différents embranchements : *Diodora graeca*, *Eriphia verrucosa*, *Phascolosoma granulatum*, ainsi que trois espèces d'algues : *Colpomenia sinuosa* *Ulva lactuca* *Corallina elongata*. Au niveau du site d'El Kala, la richesse et l'abondance sont les plus élevées par rapport à celles des trois autres sites, et selon l'indice de Shannon - Weaver, les quatre sites présentent une richesse en biodiversité et une abondance équilibrée, ce qui place El-Kala comme site riche en biodiversité.

L'analyse des paramètres physico-chimiques de l'eau de mer indique l'absence de différence entre les trois sites pour la température, le pH, la salinité, le taux d'O₂ dissous et pour le dosage de la DBO₅.

En ce qui concerne les paramètres morphométriques, trois paramètres (poids, taille, et nombre de sétigères) suivent la même tendance avec une diminution au niveau des sites pollués (Annaba et Skikda) et que le nombre de sétigère n'est pas proportionnel à la taille.

Le dosage des hydrocarbures totaux dans l'eau de mer présente une forte contamination du site de Skikda, justifiant l'exposition de ce dernier aux rejets industriels, notamment à ceux du complexe pétrochimique.

Les variations mensuelles de l'activité enzymatique des biomarqueurs ont indiqué une inhibition de l'activité de l'AChE au niveau des sites pollués (Annaba et Skikda) contrairement à El-Mordjène et ce durant toute la période d'étude. Par ailleurs, les activités enzymatiques pour la GST et la CAT ont permis d'enregistrer une induction de leurs activités au niveau des sites pollués (Annaba et Skikda).

Une étude préliminaire a été réalisée concernant les marqueurs génétiques spécifiques chez *P. cultrifera* (Annélide, Polychète) de la Manche française et du littoral Algérien. L'ADN génomique a été extrait selon la méthode CCDB puis des essais de PCR d'amorces universelles et spécifiques ont été amplifiées. Les résultats ont montré que les amorces spécifiques à *P. cultrifera* sont *cyt-b* et ITS et rarement COI que nous attendons la confirmation de nos collègues français. Enfin, nous avons séquencé 82 individus pour le gène *cyt-b* et en ce qui concerne les séquences des ITS sont en cours d'analyse.

Les résultats obtenus montrent un mélange entre les espèces des deux populations de la Manche française et du littoral Algérien. En effet, les individus des différents sites se répartissent dans les différents clades sans regroupement spécifique des individus par site de récolte. Cela laisse à supposer qu'il existe un déterminisme purement environnemental et non génétique

En perspective, il serait intéressant de compléter cette étude en :

- Etendant les sites de récoltes sur le centre et l'ouest du littoral Algérien afin de comparer entre les populations (mode de reproduction, biotope).
- Caractérisant les polluants présents au niveau des sites pollués.
- complétant l'étude comparative par analyse des gènes nucléaires ITS et d'étudier les divergences génétiques entre les deux populations.

RESUMES

1. Résumé

2. Abstract

3. ملخص

6. RÉSUMÉ

Les annélides polychètes colonisent une grande partie des habitats des sédiments meubles et durs des zones intertidales aux zones hadales, et considérés comme indicateurs de changement dans la structure et/ou le fonctionnement des communautés macrobenthiques. Cette étude a pour but de déterminer d'une part l'impact du stress environnemental sur la biodiversité des annélides polychètes du littoral Est-algérien et de se renseigner sur la qualité de l'écosystème marin, et d'autre part elle consiste à déterminer l'existence de complexe ou pas d'espèces jumelles de *Perinereis cultrifera* du littoral Algérien et de la Manche française.

L'étude de la biodiversité des annélides polychète dans les quatre sites (El-Kala, Annaba, Skikda et Collo) du littoral algérien durant trois années 2011, 2012 et 2013 nous a permis d'identifier cinq espèces : *Perinereis cultrifera*, *Perinereis macropus*, *Nereis falsa*, *Platynereis dumerilii* et *Nereis diversicolor* appartenant à la famille des Nereididae en plus que d'autres familles de polychète recensées : Aphroditidae, Phyllocidae, et Terebellidae. Aussi, des espèces de la faune et de la flore associées ont pu être identifiées.

L'effet du stress environnemental sur les organismes vivants, a permis d'une part de suivre les variations mensuelles des paramètres physico-chimiques et morphométriques (poids, taille, nombre de sétigères) et d'autre part mesurer le niveau de contamination par les hydrocarbures dans la région de Skikda et d'évaluer les variations mensuelles de l'activité de trois biomarqueurs : AChE, GST et CAT chez *P. cultrifera*. Les données des paramètres physico-chimiques n'ont pas montré de différences importantes entre les sites, alors que les paramètres morphométriques ont révélé une diminution du poids corporel, de la taille et du nombre de sétigères d'une manière significative chez les individus récoltés à Annaba et Skikda. Concernant le degré de pollution de la ville de Skikda, les résultats du dosage des hydrocarbures montrent que ce site est exposé à une pollution par les HAP, qui est dû à la présence du complexe pétrochimique et aux rejets industriels. Par ailleurs, le dosage des biomarqueurs a permis d'enregistrer une induction de l'activité enzymatique de la GST, de la CAT, et une inhibition de l'activité enzymatique de l'AChE chez les individus de *P. cultrifera* au niveau des sites contaminés (Annaba, Skikda) par rapport à ceux du site d'El-Kala.

L'étude génétique des deux populations de *P. cultrifera* du littoral Algérien et de la Manche française a montré que les *cyt-b* et les ITS (1 et 2) sont les amorces spécifiques de ces espèces et l'étude phylogénétique avec le gène *cyt-b* a révélé un mélange entre les individus des deux populations.

Mots clés : *Perinereis cultrifera*, biodiversité, Pollution, Hydrocarbures totaux, phylogénie.

6. Abstract

Polychaete annelids have colonized habitat hard intertidal sediments to hadales areas and considered indicators of change in the structure and function of macrobenthic communities. This study aims to determine firstly the impact of environmental stress on the biodiversity of polychaetes in the Algerian east coast and to determinate the quality of the marine ecosystem, secondly it is to determine the existence of complex or no sibling species of *Perinereis cultrifera* from Algerian coast and the French Channel.

The study of biodiversity of polychaete annelids at four sites (El-Kala, Annaba, Skikda and Collo) of the Algerian east coast for three years 2011, 2012 and 2013 has allowed us to identify five species: *Perinereis cultrifera*, *Perinereis macropus*, *Nereis falsa*, *Nereis diversicolor* and *Platynereis dumerilii* belonging to the family of Nereididae and others polychaete families identified: Aphroditidae, Phyllocidae and Terebellidae. Also, species of fauna and associated flora have been identified.

The effect of environmental stress on living organisms, allowed one hand to follow the monthly changes in physico-chemical parameters and morphometric (weight, size, number of segments) and also measure the level of contamination hydrocarbons in the region of Skikda and assess monthly changes in the activity of three biomarkers: AChE, GST and CAT in *P. cultrifera*. Data of physico-chemical parameters showed no significant differences between sites, while morphometric parameters showed a significant decrease in weight, size and number of segments in individuals of Annaba and Skikda. Regarding the degree of pollution of the city of Skikda, the assay results of hydrocarbons show that this site is exposed to PAH pollution, which is due to the presence of the petrochemical complex and industrial discharges. Moreover, the biomarker allowed to record an induction of the enzyme activity of GST, CAT, and inhibition of the AChE enzyme activity in individuals of *P. cultrifera* at sites contaminated (Annaba, Skikda) versus the site of El-Kala.

The genetic study of two populations of *P. cultrifera* of Algerian coast and the French Channel showed that *cyt-b* and ITS (1 and 2) are the specific primers of this species and the phylogenetic study with *cyt-b* gene revealed mixing between individuals of both populations.

Keywords: *Perinereis cultrifera*, Biodiversity, Pollution, Total hydrocarbons, phylogeny

ملخص

الحقليات متعددة الأشواك استعمرت الكثير من السكن ورواسب المد والجزر و تعتبر من مؤشرات تغيير في بنية و وظيفة المجتمعات البيئية وتهدف هذه الدراسة إلى تحديد من جهة تأثير التوتر البيئي على التنوع البيولوجي للحقليات المتعددة الأشواك في الساحل الجزائري وللتعرف على نوعية النظام الإيكولوجي البحري، ومن جهة أخرى هو لتحديد وجود أنواع مركب الإخوة من *Perinereis cultrifera* من الساحل الجزائري والمانش الفرنسية.

و قد سمحت لنا الدراسة التنوع البيولوجي للحقليات متعددة الأشواك للأربعة مواقع (القالة , عنابة , سكيكدة و القل) من الساحل الشرق الجزائري لمدة ثلاثة سنوات (2011, 2012 و 2013) بتحديد خمسة أنواع : *Perinereis cultrifera*, *Nereididae* و بالإضافة الى عائلات أخرى من الحقليات متعددة الأشواك : *Phyllocidae*, *Aphroditidae*, *Terebellidae* و أيضا الى أنواع الحيوانات و النباتات المشتركة مع *Perinereis cultrifera*.

تأثير التوتر البيئي على الكائنات الحية، سمح من جهة لمتابعة التغيرات الشهرية في البيانات الفيزيوكيميائية و المورفولوجيا (الطول , الوزن و عدد الحلقات) و من جهة أخرى قياس مستوى التلوث للهيدروكربونات في منطقة سكيكدة وتقييم التغيرات الشهرية في النشاط من ثلاثة مؤشرات حيوية: إستيراز ، القلبياتيون أ س – ترنسفيراز (GST) والكاتالاز (CAT) عند *P. cultrifera*. أظهرت البيانات الفيزيوكيميائية عدم وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين المواقع، في حين أظهرت البيانات المورفولوجيا انخفاض في الوزن ، و الطول عدد الحلقات بشكل معتبر عند *P. cultrifera* المتواجدة بعنابة وسكيكدة. فيما يتعلق حيث أن التراكيز المرتفعة للهيدروكربونات سجلت في الموقع سكيكدة الذي يرجع بدون شك لوجود منصة البتروكيماويات. وفيما يتعلق بالجانب الكيمياء الحيوية، هناك تحريض في النشاط الأنزيمي للقلبياتيون أ س- ترنسفيراز (GST) و الكاتالاز (CAT)، وتنشيط للنشاط الأنزيمي للأسيتيل كولين إستيراز (AChE) عند *P. cultrifera* في المواقع الملوثة (عنابة، سكيكدة، والقل) مقارنة موقع القالة.

الدراسة الجينية فيما يخص *P. cultrifera* المتواجدة في الساحل الجزائري والمانش الفرنسية أن cytochrome *b* و ITS (1,2) هي الاشعال محددة بالنسبة ل *P. cultrifera* ودراسة النشوء والتطور للجينات مع *cyt-b* كشفت عن وجود خليط بين أفراد الساحل الجزائري والمانش الفرنسية.

الكلمات المفتاحية : *P. cultrifera* , التنوع البيولوجي , التلوث , الهيدروكربونات , نسالة.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

7. Références bibliographiques

- Abbes A., Chouahda S. & Soltani N., 2003.** *Bulletins d'Institut National des Sciences Tec. Mer.* Actes des 6^{ème} journées de l'INSTM N° 8. Tunisie, 2003.
- Abdenmour C., Khelili K., Boulakoud M. S. & Rainbow P. S., 2004.** Trace metals in marine, brackish and freshwater prawns (Crustacea, Decapoda) from north- east Algeria. *Hydrobiologia*, **432**: 217-227
- Abis S., 2004.** « Entre unité et diversité : la Méditerranée plurielle ». Fondation Méditerranéenne d'Etudes Stratégiques, 26 pp.
- Abouheif E, Zardoya R, Meyer A., 1998.** Limitations of metazoan 18S rRNA sequence data: implications for reconstructing a phylogeny of the animal kingdom and inferring the reality of the Cambrian explosion. *Journal of Molecular Evolution*, **47**:394–405
- Abousamra, 2005.** <http://www.algerie-dz.com/>
- Aebi H., 1983.** Catalase. In : Bergmeyer H.U., *Methods of enzymatic analysis*, vol. 3. Academic Press, New-York, 237-286.
- Afli A., Ben Mustapha K., Jarboui O., Bradai M. N., Hattour A., Langar H. & Sadok S. 2005.** La biodiversité marine en tunis. Ministère de l'environnement et du développement durable, ministère de la recherche scientifique, de la technologie et du développement des compétences, *Amsterdam* **12** : 173-177.
- Agoumi A. et Orbi A., 1992.** Evolution météorologique et Upwelling le long de la côte atlantique marocaine. *Hydroécologie Appliquée*. **4** : 149-158.
- Alhammoud B., 2005.** Circulation générale océanique et variabilité à méso-échelle en Méditerranée orientale : approche numérique. Thèse de doctorat en océanographie physique à l'Université de la Méditerranée Aix-Marseille-II, 192 p.
- Alioua A., Maizi N., Semadi F., Tahar A & Kahoul M., 2008.** Détection et Etude de la Pollution Mercurielle à L'aide des bio Indicateurs dans la région d'Azzaba (Algérie Orientale). *European Journal of scientific Research*, **24** (1) :12-22.
- Allen E.J. & Tood R.A., 1900.** The fauna of the Salcombe Estuary. *Journal of the Marine Biological Association United Kingdom*, **6** (2): 150-217.
- 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*. 87p.

- Almeida E.A., DiasBainy A.C., MeloLoureiro A.P., MartinezRegina R., Miyamoto S., Onuki J., FujitaBarbosa L., MachadoGarcia C.C., MansoPrado F., Eliza Ronsein G., Sigolo C.A., Barbosa Brochini C., Gracioso Martins A.M., Gennari de Medeiros M.H., Di Mascio P., 2007.** Oxidative stress in Perna perna and other bivalves as indicators of environmental stress in the Brazilian marine environment: antioxidants, lipid peroxidation and DNA damage. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **146(A)**: 588-600.
- 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. *Polish Academy of Sciences*, **34**: 521-529.
- Amiard J.C., Amiard-Triquet C., 2008.** Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques. Paris, Lavoisier, 375 p.
- AMINOT A., CHAUSSEPIED M., 1983.** Manuel des analyses chimiques en milieu marin. Centre National pour l'exploitation des Océans, 396 p.
- Amira A., Sifi K. & Soltani N., 2011.** Measure of environmental stress biomarkers in *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba (Algeria). *European Journal of Experimental Biology*, **1(2)**:7-16.
- Anderson D. T., 1973.** Embryology and phylogeny in annelids and arthropods. International series of monographs in pure and applied biology, *New York, Pergamon Press*.
- Anonyme, 2000.** La Mer Méditerranée. Document extrait du cédérom « les géonautes enquêtent sur les océans ». OCA/CNES 2000.
- Anonyme, 2006.** Problèmes prioritaires pour l'environnement méditerranéen. *Rapport de l'Agence Européenne pour l'environnement, Rapport AEE*, **4**: 90.
- Ansaloni I., Pellizzato M., Predivelli D. & Zunarelli-Vandini R., 1986.** Policheti di interesse economico nella laguna di Venezia. *Nova Thalassia.*, **8** : 641-642.
- Arnaud H., Georges P., 2000.** Ressources génétiques et phylogéographie des huîtres creuses *Crassostrea gigas* et *Crassostrea angulata* : variabilité, différenciation et adaptation des populations naturelles et introduites = Genetic resources and phylogeography of two cupped oysters *Crassostrea gigas* and *Crassostrea angulata* : variability, differentiation and adaptation of wild and introduced populations. *INIST-CNRS, Cote INIST* : T 136636.
- Arvanitidis C., Bellan G., Drakopoulos P., Valavanis V., Dounas C., Koukouras A. & Eleftheriou A., 2002.** Seascape biodiversity patterns along the Mediterranean and the Black Sea: lessons from the biogeography of benthic polychaetes. *Marine Ecology Progress Series*, **244**, 139–152.

- Asagba S. O., Eriyamremu G. E. & Igberaese M. E., 2008.** Bioaccumulation of Cadmium and its biochemical effect on selected tissues of the catfish (*Clarias gariepinus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, **34**: 61-69.
- Audouin J.V. & Milne Edwards H., 1833.** Classification des Annélides, et description de celles qui habitent les côtes de la France. *Annales des Sciences Naturelles*, **29**: 195-269.
- Augier H., 1973.** Les particularités de la mer Méditerranée : son origine, son cadre, ses eaux, sa flore, sa faune, ses peuplements, sa fragilité écologique. *In*. La mer Méditerranée. Paris: CIHEAM (Options Méditerranéennes), 19, 27–53.
- Ayari R. & Afli A., 2003.** Bionomie benthique du petit golfe de Tunis. *Bulletin de l'Institut National des Sciences et Technologie de la Mer de Salammbô*, **30**: 79-87.
- Ayari R. & Afli A., 2008.** Functional groups to establish the ecological quality of soft benthic fauna within Tunis Bay (Western Mediterranean). *Vie et Milieu*, **58**: 67-75.
- Ayari R., Muir A., Aissa P., Paterson G. & Afli A., 2009.** An updated list of Polychaetous annelids from Tunisian coasts (Western Mediterranean Sea). *Cahier de Biologie Marine*, **50**: 1–13.
- 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*, 23p.
- Ballesteros E., 2003.** The coralligenous in the Mediterranean. RAC-SPA editor, Tunisia, 104 p.(under press).
- Baoult Jean François., 1974.** La thèse de villa.
- Barbault, R., 1981.** Ecologie des populations et des peuplements. *Ed. Masson, Paris*, 200p.
- Barra R., Notarianni V. & Gentili G., 2001.** Biochemical biomarker responses and chlorinate compounds in the fish *Leuciscus cephalus* along a contaminant gradient in a polluted river. *The Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **66**: 582-590.
- Bastrop R., Röhner M. & Jürss K., 1995.** Are there two species of the genus *Marenzelleria* in Europe? *Marine Biology*, **121**: 509-516.
- Batista F. M., Fidalgo e Costa P., Ramos A., Passos A. M., Pousão Ferreira P. & Cancela da Fonseca L., 2003.** Production of the ragworm *Nereis diversicolor* (O. F. Müller, 1776), fed with a diet for gilthead seabream *Sparus auratus* L., 1758: survival, growth, feed utilization and oogenesis. *Boletin Instituto Espanol De Oceanografia*, **19** (1-4): 447-451.

- Bauchot-Boutin M.L. & Bobin G., 1954.** Modifications hétéronéréidiennes des parapodes, des soies et des bulbes sétigères chez *Perinereis cultrifera* (Grübe) (Annélide Polychète). *Archives d'Anatomie Microscopique et de Morphologie Experimentale*, **43** : 137-162.
- BAUWENS D. & DIAZ-URIATE R., 1997.** Covariation of life-history traits in lacertid lizards: a comparative study. *The American Naturalist*, **149** (1) : 91-111.
- Beati L, Caceres A.G., Lee J.A., Munstermann L.E., 2004.** Systematic relationships among *Lutzomyia* and flies (Diptera: Psychodidae) of Peru and Colombia based on the analysis of 12S and 28S ribosomal DNA sequences. *The International Journal for Parasitology*, **34**: 225-234.
- Belan T.A., 2003.** Benthos abundance patterns and species composition in conditions of pollution in Amursky Bay (the Peter the Great Bay, the Sea of Japan). *Marine Pollution Bulletin*, **46**: 1111-1119.
- Beldi H., Gimbert F., Maas S., Scheifler R. & Soltani N., 2006.** Seasonal variations of Cd, Cu, Pb and Zn in the edible mollusk *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba, Algérie. *African Journal of Agricultural Research*, **1(4)**: 85-90.
- Belkadi N. & Kharaaf S., 2004.** Traitement des eaux usées industrielles. *Mémoire d'ingénieur d'état en Chimie Analytique. Université de Skikda*, 66p.
- Bellan G., 1961.** Contribution à l'étude des Annélides Polychètes de la région de Luc-surmer. *Bulletin de la Société Linnéenne de Normandie*, **10**: 87-100.
- Bellan G., 1976.** Action des facteurs de pollution sur les communautés benthiques. In “ La pollution des eaux marines ”, edited by J.M. Peres, Gauthier - Villars, Paris: 141- 148.
- Bellan G., 1984.** Indicateurs et indices biologiques dans le domaine marin. *Bulletin of Ecology*, **15**, 1, 13-20.
- Bellan G., Desrosiers G. & Willsie A., 1988.** Use of annelid pollution index for monitoring a moderately polluted littoral zone. *Marine Pollution Bulletin*, **19**, 662-665.
- Bellan, G., 1967a.** Pollution et peuplements benthiques sur substrat meuble dans la région de Marseille. Deuxième Partie. L'ensemble portuaire marseillais. *Revue Internationale d'Océanographie Médicale*, **8**, 51-95.
- Bellan-Santini D., Lacaze J.C. & Poizat C., 1994.** Les biocénoses marines et littorales de Méditerranée, synthèse, menaces et perspectives. *Collection Patrimoines Naturels. Volume n°19. Série patrimoine écologique. Muséum National d'Histoire Naturelle*: 1-246.
- Ben Amor Z., 1984.** Faune des polychètes de Tunisie. *Thèse de Doctorat. Faculté des sciences de Tunis*, 237 pp.

- 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*, 200p.
- 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-*, 99p.
- 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.*, 125p.
- Benyacoub S. & Chabi Y., 2000.** Egg size variation in Algerian population of the bleu tit (*Parus caeruleus ultramarinus*): effects of altitude and habitat. *Revue d'écologie terre vie*, **55**: 183-192.
- Bergayou H., Mouneyrac C., Pellerin J., Moukrim A., 2009.** Oxidative stress responses in bivalves (*Scrobicularia plana*, *Cerastoderma edule*) from the Oued Souss estuary (Morocco). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **72**, 765-769.
- Bernes, C., 2000.** Persistent Organic Polluants. *Aswedish view Of An International*.
- Bianchi C.N. & Morri C., 1985.** I Policheti come descrittori della struttura trofica degli ecosistemi marini. *Oebalia*, **11**, 203–214.
- Bigot L. & Amoureux J. M., 2008.** Définition de l'état de référence et contrôle de surveillance des masses d'eau de transition (MET)-*Directive Cadre sur l'Eau-Martinique 2008. Analyse de la macrofaune de substrat meuble. Rapport Equilibre/LOBB pour le compte d'Impact –Mer*, 22p.
- Bilyard G.R., 1987.** The value of benthic in fauna in marine pollution monitoring studies. *Marine Pollution Bulletin*, **18**, 581–585.
- Blondel J., 1975.** - L'analyse des peuplements d'oiseaux. Elément d'un diagnostic écologique .la méthode d'échantillons fréquentiels progressif (E.F.P). *Terre et Vie*, **29** (4) :533-589.
- Bocquené G., Galgani F., Walker C.H., 1997.** Les cholinesterases, biomarqueurs de neurotoxicité. In: Biomarqueurs en Ecotoxicologie: Aspects Fondamentaux. *Masson, Paris*. pp. 209-240.
- Bocquené G., Chantereau S., Clérendeau C., Beausir E., Ménard D., Raffin B., Minier C., Burgeot T., Pfohl Leszkowicz A., Narbonne J.F., 2004b.** Biological effects of the « Erika » oil spill on the common mussel (*Mytilus edulis*). *Aquatic Living Resources*, **17**,309-316.

- Bocquené G., Galgani F. & Walker C. H., 1997.** Les cholinesterases, biomarqueurs de neurotoxicité . In: Biomarqueurs en Ecotoxicologie: *Aspects Fondamentaux*. Masson, Paris, pp. 209-240.
- Bocquené G., Galgani F., 2004.** Les marqueurs biologiques des effets des polluants : l'acétylcholinestérase. France, IFREMER. 27 p.
- Boening D.W., 1999.** An evaluation of bivalves as biomonitors of heavy metals pollution in marine waters. *Environment*.
- Boero F., 1994.** Fluctuations and variations in coastal marine environments. *P.S.Z.N. I, Marine Ecology*, **15**, 3–25.
- Bogucki M., Wojtczak A., 1964.** Content of body water in *Nereis diversicolor* O.F.M. in various medium concentration. *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, **12**: 125-143.
- Boisseau J. 1962.** Contribution à la faune du bassin d'Arcachon. I. Annélides polychètes. *Procès-Verbaux de la Société Linnéenne de Bordeaux*, **99** : 113-126.
- Boisseau J., 1962.** Contribution à la faune du bassin d'Arcachon. I. Annélides polychètes. *Procès-Verbaux de la Société Linnéenne de Bordeaux*, **99**: 113-126.
- Bonsdorff E., 1980.** Macrozoobenthic recolonization of a dredged brackish water bay in SW Finland. *Ophelia* **1**: 145-155.
- Bordjiba O., Bekhouche F., Hassaine A. & Djenidi R., 2009.** Impact de la Pollution Par Les Hydrocarbures Sur la Qualité des Eaux Usées Dans la Région de Skikda (Nord-Est Algérien). *European Journal of Scientific Research*, **26(1)**: 87-97.
- Bordjiba O., Bekhouche F., Hassaine A. & Djenidi R., 2009.** Impact de la Pollution Par Les Hydrocarbures Sur la Qualité des Eaux Usées Dans la Région de Skikda (Nord-Est Algérien). *European Journal of Scientific Research*, **26(1)**: 87-97.
- Borja A., Franco J., Mixuka I., 2003.** The application of a marine biotic index to different sources affecting soft-bottom benthic communities along European coasts. *Marine Pollution Bulletin*, **46**, 835-845.
- Borja A., Franco J., Mixuka I., 2004.** The biotic indices and the Water Framework Directive: the required consensus in the new benthic monitoring tools. *Marine Pollution Bulletin*, **48**, 405–408.
- Borja A., Franco J., Perez V., 2000.** A marine biotic index to the establish ecology quality of softbottom benthos within European estuarine coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*, **40**, 1100–1114.
- Boryslawskij M., Garrod A. C., Pearson J. T., & Woodhead D., 1988.** Elevation of glutathione-S-transferase activity as a stress response to organochlorine compounds, in

- the freshwater mussel, *Sphaerium corneum*. *Marine Environmental Research*, **24**: 101-104.
- Boucenna N., 2011.** Effet du stress environnemental sur le système de détoxification chez *Perinereis cultrifera* (Annélides, Polychètes). *Mémoire de master. Département de Biologie. Université Badji-Mokhtar-Annaba*, 32pp.
- Boudechiche L., 2007.** Biodiversité des hélicidés du Parc National d'El-Kala (extrême Nord-Est Algérien). *Bulletin de l'INSTM*, **12**: 12-123.
- Boudouresque C. F., 1996.** Impact de l'homme et conservation du milieu marin en Méditerranée. *GIS Posidonie publications, 2^{ème} édition, Marseille* : 1-243.
- Boudouresque C.F. & Meineaz A., 1982.** Découverte de l'herbier de Posidonie. *Cahiers du Parc national de Port-cros, France*, **4**, 3-79.
- Boudouresque C.F., 2004.** Marine biodiversity in the Mediterranean: status of species, populations and communities. *Scientific Reports of Port-Cros national Park Travaux scientifiques, France*, **2** : 97-146.
- Boutefnouchet, N., Bouzerna, N & Chettibi, H., 2005.** Assesment of the Petrochemical Industry Pollution on the Skikda Bay, Algeria. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **2**(3) : 463-468.
- Box A., Sureda A., Galgani F., Pons A. & Deudero S., 2007.** Assessment of environmental pollution at Balearic Islands applying oxidative stress biomarkers in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, **146**: 531-539.
- Bradford M. M., 1976.** A rapid and sensitive methods for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principe of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**: 278-254.
- 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.
- Broyelle I., 1997.** Contribution à l'étude de la biochimie de la matière organique en milieu estuarien: cas des deltas du Rhône et de la Léna. *Thèse de l'Université de Paris 6, Paris*. 256 pp.
- Burton GA., 1992.** Sediment toxicity assessment. *Lewis Publishers, London*, 211 p.
- Butler P.A., Lowe JI., 1978.** Flowing sea water toxicity tests using oyster (*Crassostrea virginica*). In *Bioassay Procedures for the Ocean Disposal Permit Program, EPA-600/9-78-010*, 25-27.

- Cabioch L., L'Hardy J.P. & Rulier F., 1968.** Inventaire de la faune marine de Roscoff - Annélides. Editions de la station marine de Roscoff., pp. 1-98.
- Cadman P.S. & Nelson-Smith A., 1990.** Genetic evidence for two species of lugworm (*Arenicola*) in South Wales. *Marine Ecology Progress*.
- Cadoret J.P., Debon R., Cornudella L., Lardans V., Morvan A., Roch P., Boulo V., 1999.** Transient expression assays with the proximal promoter of a newly characterized actin gene from the oyster *Crassostrea gigas*. *FEBS Letters*. **460**: 81-5.
- CAR/ASP., 2003.** Projet pour la préparation d'un Plan d'Action Stratégique pour la Conservation de la Biodiversité dans la Région Méditerranéenne (PAS - BIO) : Le coralligène en Méditerranée. *Centre d'Activités Régionales pour les Aires Spécialement Protégées*, 65 pp.
- Cardinaletti, G., Mosconi, G., Salvatori, R., Lanari, D., Tomassoni, D., Carnevali, O & Polzonetti- Magni, A.M., 2008.** Effect of dietary supplements of mussel and polychaetes on spawning performance of captive sole, *Solea solea* (Linnaeus, 1758). *Animal Reproduction Science*. 36-46.
- Castelli A., Bianchi C.N., Cantone G., Çinar M. E., Gambi M. C., 2008.** Annelida Polychaeta. *Biologia Marina Mediterranea*, **15 (1)** : 323-373.
- Cazaux C., 1965 -** Evolution de *Perinereis cultrifera* (Grübe) au cours d'un cycle annuel à *Procès-Verbaux de la Société Linnéenne de Bordeaux*, **101** : 1-18.
- Cazaux C., 1970.** Recherche sur l'écologie et le développement larvaire des Polychètes de la région d'Arcachon. *Thèse doctorat d'état, Université Bordeaux*, 1-2 :355-180.
- Chapman D., Kimstach V., 1996.** Selection of water quality variables. Water quality assessments: a guide to the use of biota, sediments and water in environment monitoring, Chapman edition, 2nd ed. E & FN Spon, London, pp. 59-126.
- Chapman, P.M & Wang, F., 2001.** Assessing sediment contamination in estuaries. *Environmental. Toxicology and Chemistry*, **20(1)**: 3-22.
- Chen J. M., Pavlic G., Brown L., Cihlar J., Leblanc S.G., White H. P., Hall R. J., Peddle D., King D.J., Trofymow J. A., Swift E., Van der Sanden J., & Pellikka P., 2002.** Validation of Canada-wide leaf area index maps using ground measurements and high and moderate resolution satellite imagery. *Remote Sensing of Environment*, **80**:165-18.
- Chu K. H., Tong J., Chan T.Y., 1999.** Mitochondrial cytochrome oxidase I sequence divergence in some Chinese species of *Charybdis* (Crustacea: Decapoda: Portunidae). *Biochemical Systematics and Ecology*, **27**: 461-468.

- Çinar M. E. & Altun C., 2007.** A Preliminary Study on the Population Characteristics of the Lessepsian Species *Pseudonereis anomala* (Polychaeta: Nereididae) in Skenderun Bay (Levantine Sea, Eastern Mediterranean). *Turkish Journal of Zoology*, **31**: 403-410.
- Çinar M.E., Katagan T., Öztürk B., Egemen Ö., Ergen Z., Kocatas A., Önen M., Kirkim F., Bakir K., Kurt G., Dagli E., Kaymakçi A., Açık S., Dogan A. & Özcan T., 2006.** Temporal changes of soft-Bottom zoobenthic communities in and around Alsancak Harbor (Izmir Bay, Aegean Sea), with special attention to the autoecology of exotic species. *Marine Ecology*, **27**, 229-246.
- Clairborne A., 1985.** Catalase activity. In: Greenwald R.A. (Ed.), Handbook of Methods for Oxygen Radical Research. *CRC press, Boca Raton, Florida*, 283-284 pp.
- Claparède E., 1870.** Les annelides chétopodes du Golfe de Naples 1re partie. *Mémoires de la Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève*, **20**:1-225.
- Clark R.B., Haderlie E. C., 1960.** The distribution of *Nephtys cirrosa* and *N. hombergi* on the south-western coasts of England and Wales. *Journal of Animal Ecology*, **29**:117-147.
- Cole V.J & Chapman M.G., 2007.** Patterns of distribution of annelids: taxonomic and spatial inconsistencies between two biogeographic provinces and across multiple spatial scales. *Marine Ecology Progress Series*, **346**, 235-241.
- Coll M., Piroddi C., Steenbeek J., Kaschner K., Ben Rais Lasram F., Aguzzi J., Ballesteros E., Bianchi C.N., Corbera J., Dailianis T., Danovaro R., Estrada M., Frogia C., Galil B.S., Gasol J.M., Gertwagen R., Gil J., Guilhaumon F., Kesner-Reyes K., Kitsos M.S., Koukouras A., Lampadariou N., Laxamana E., Lopez-Fe de la Cuadra C.M., Lotze H.K., Martin D., Mouillot D., Oro D., Raicevich S., Rius-Barile J., Saiz-Salinas J.I., San Vicente C., Somot S., Templado J., Turon X., Vafidis D., Villanueva R. & Voultsiadou E., 2010.** The biodiversity of the Mediterranean Sea: estimates, patterns, and threats. *PLoS ONE*, **5** (8), e11842.
- Coudert E., 2007.** Protéger et valoriser le littoral Méditerranéen, bien commun menacé. *Les Notes du Plan Bleu*. Environnement et développement en Méditerranée, n. 6 mai 2007, 4 pp.
- Cuyppers A., Plusquin M., Remans T., Jozefczak M., Keunen E., Gielen H., Opendakker K., Nair A. R., Munters E., Artois T.J., Nawrot T., Vangronsveld J. & Smeets K., 2010.** Cadmium stress: An oxidative challenge. *Bio Metals*, **23**: 927-940.
- Daby D., 2006.** Coastal pollution and potential biomonitors of metals in Mauritius. *Water, Air and soil pollution*, **174** :63-91.
- Dagnino A., Allen J. I., Moore M. N., Broeg K., Canesi L. & Viarengo A., 2007.** Development of an expert system for the integration of biomarker responses in mussels into an animal health index. *Biomarkers*, **12** :155-172.

- Dajoz R., 1985.** Précis d'écologie. Ed. Bordas, Paris, 505p.
- Dakki M., 2004.** Programme d'Aménagement Côtière en Méditerranée marocaine : Etude de faisabilité. *Ministère de l'Aménagement du Territoire, de l'Eau et de l'Environnement. Royaume du Maroc*, 85 pp.
- Damerdji A & Amara A., 2013.** Composition et structure des Gastéropodes dans les stations à *Retama raetam* (Fabaceae) dans la région de Naâma (Algérie). *Afrique Science*, **09**(1) : 77-88.
- Damerdji A., 2008.** Contribution à l'étude écologique de la malacofaune de la zone sud de la région de Tlemcen, Université Aboubeker Belkaid Tlemcen. *Afrique Science*, **4**(1) : 138-153.
- Damerdji A., 2010.** Composition et structure des Gastéropodes dans les stations à *Thymus ciliatus* Desf. (Labiatae) aux alentours de Tlemcen (Algérie). *Afrique Science*, **6**(1) : 13-29.
- Damerdji A., 2012.** La faune malacologique sur différentes plantes médicinales dans la région de Tlemcen (Algérie). *Afrique Science*, **8**(1) : 15-23.
- Damerdji A., 2013.** Malacological diversity on some Lamiaceae in the region of Tlemcen (Northwest Algeria). *Journal of life science*, **7**(8): 856-861.
- Damerdji A., Ladjmi L. & Doumandji S., 2005.** Malacofaune associée à *Rosmarinus officinalis* L. (Labiatae) : inventaire et aperçu bioécologique près de Mansourah (Tlemcen, Algérie). *Revue science et technologie*, **23 C** : 11-20.
- Damien, G., His, E., Gnassia-Barelli, M., Quinioui, F. & Roméo, M., 2004.** Evaluation of biomarkers in oyster larvae in natural and polluted conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **138 C** : 121-128.
- Damiens G., His E., Gnassia-Barelli M., Quiniou F. & Roméo M., 2000.** Influence de la température et de la salinité sur la mesure de biomarqueurs chez des bivalves de *Crassostrea gigas*.
- Dauvin J.C., Bachelet G. & Bellan G., 2006.** Biodiversity and biogeographic relationships of the polychaete fauna in the Atlantic and Mediterranean French waters. *Scientia Marina*, **70(S3)**: 259-267.
- Dauvin J.C., 1993.** Le benthos: témoin des variations de l'environnement. *Oceanis*, **19**, 25–53.
- Dauvin J.C., 2007.** Paradox of estuarine quality: benthic indicators and indices, consensus or debate for the future. *Marine Pollution Bulletin*, **55**, 271–281.

- Dauvin J.C., Bellan G., Bellan-Santini, D., 2010.** Benthic indicators: from subjectivity to objectivity—Where is the line? *Marine Pollution Bulletin*, **60**, 947–953.
- Dauvin J.-C., Dewarumez J.-M. & Gentil F., 2003.** Liste actualisée des espèces d'Annélides Polychètes présentes en Manche. *Cahiers de Biologie Marine*, **44**: 67-95.
- De Lafontaine Y., Gagné F., Blaise C., Costan G., Gagnon P., Chan H.M., 2000.** Biomarkers in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) for the assessment and monitoring of water quality of the St Lawrence River (Canada). *Aquatic Toxicology*, **50**, 51-71.
- De Mora., 1999.** The oceanic environment. In : Harrison, R.M. (Ed), Understanding Our Environment. *Royal society of chemistry, Combridge*, 139-198.
- Dellali M., Gnassla-Barelli M., Rome O. M. & Aissa P., 2001.** The use of acetylcholinesterase activity in *Ruditapes decussatus* and *Mytillus galloprovincialis* in the biomonitoring of Bizerta lagoon. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, **130 C** : 227-235.
- Depledge M.H., 1994.** The rational basis for the use of biomarkers as ecotoxicological tools. In Fossi M.C and Leonzio C (ed). Nondestructive biomarkers in vertebrates. *Lewis Publishers, Boca Raton*. 261-285 pp.
- Dogan A., Çinar M.E., Onen M., Ergen Z. & Katagan T., 2005.** Seasonal dynamic of soft-bottom zoobenthic communities in polluted and unpolluted areas of Izmir Bay (Aegean Sea). *Senckenbergiana Maritima*, **35**, 133-145.
- Dotan Y., Lichtenberg D. & Pinchuk I., 2004.** Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Progress in Lipid Research*, **43**: 200-227.
- Douguédroit A., 1997.** Le climat du bassin méditerranéen. In : *Le climat, l'eau et les hommes*, ouvrage en l'honneur de Jean MOUNIER, Presses Universitaires de Rennes, 251-280 p.
- Downs C. A., Fauth J. E., Robinson C. E., Curry R., Lazendorf B., Halas J. C., Halas J. & Woodley C. M., 2005.** Cellular diagnostics and coral health: declining coral health in the Florida keys. *Marine Pollution Bulletin*, **51**: 558-569.
- Duquesne, S & Kuster, E., 2010.** Biochemical, metabolic, and behavioural responses and recovery of *Daphnia magna* after exposure to an organophosphate. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **72** : 394-399.
- Durchon M., 1951.** Les modalités de l'essaimage de *Perinereis cultrifera* Grube (Annélide Polychète) à Luc-sur-mer (Calvados). *Archives of Zoological Experimental Genetics Notes Review*, **88**: 1-6.
- Durchon M., 1957.** Problèmes posés par le comportement des néréidiens au moment de leur reproduction. *Année Biologique*, **33** : 31-42.

- Durchon M., 1967.** L'endocrinologie des Vers et Mollusques. *Ed. Masson, Paris*
- Durou C., Mouneyrac C., 2007.** Linking steroid hormone levels to sexual maturity index and energy reserves in *Nereis diversicolor* from clean and polluted estuaries. *General and Comparative Endocrinology*, **150**: 106-113.
- Durou C., Mouneyrac C., Amiard-Triquet C., 2008.** Environmental quality assessment in estuarine ecosystems : Use of biometric measurements and fecundity of the ragworm *Nereis diversicolor* (Polychaeta, Nereididae). *Water Research*, **42**: 2157-2165.
- Durou C., Poirier L., Amiard J.C., Budzinsky H., Gnassia-Barelli M., Lemenach K., Peluhet L., Mouneyrac C., Roméo M., Amiard-Triquet C., 2007 (a).** Biomonitoring in a clean and a multi-contaminated estuary based on biomarkers and chemical analyses in the endobenthic worm *Nereis diversicolor*. *Environmental Pollution*, **148** : 445-458.
- Durou C., Smith B.D., Roméo M., Rainbow P.S., Mouneyrac C., Mouloud M., Gnassia-Barelli M., Gillet P., Deutch B., Amiard-Triquet C., 2007 (b).** From biomarkers to population responses in *Nereis diversicolor* : Assessment of stress in estuarine ecosystems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **66**, 402-411.
- Dutrieux E., Martin F. & Guéloret O., 1989.** Oil pollution and Polychaeta in an estuarine mangrove community. *Oil and Chemical Pollution*, **5**: 239-262.
- Dutta H. M. & Arends D. A., 2003.** Effects of endosulfan on brain acetylcholinesterase activity in juvenile blue gill sun fish. *Environmental Research*, **91**:157-162.
- Eckenfelder W.W., 1982.** Gestion des eaux usées urbaines et industrielles. *Techniques et documentation, Lavoisier, Paris*, 503p.
- El Bliidi 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.
- Ellman G.L., Courtney K.D., Andreas V., Featherstone R.M., 1961.** A new and rapid colorimetric determination of AChE activity. *Biochemical Pharmacology*, **7**: 88-95.
- Emig C.C. & Geistdoerfer P., 2004.** Faune profonde en mer Méditerranée: les échanges historiques, géographiques et bathymétriques. *Carnets de Géologie*, 1-10.
- Emig C.C., 1989.** Distributional patterns along the Mediterranean continental margin (Upper Bathyal) using *Gryphus vitreus* (Brachiopoda) densities. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, Amsterdam, **71**, 253-256.
- Ergen Z., Çinar M.E., Dagli E. & Kurt G., 2006.** Seasonal dynamics of Soft-Bottom Polychaete in Izmir Bay (Aegean Sea, Eastern Mediterranean). *Scientia Marina*, **70**(S3), 197-207.

- Esposti D.M., De Vries S., Crimi M., Ghelli A., Patarnello T., Meyer A., 1993.** Mitochondrial cytochrome *b*: evolution and structure of the protein, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1143**:243–271.
- 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.
- Fage L. & Legendre R., 1927.** Pêches planctoniques à la lumière effectuées à Banuyls-sur-Mer et à Concarneau. *Archives of Zoological Experimental Genetics Notes Review*, **67** : 23-222.
- Fauchald K., 1973.** Polychaete from Central American sandy beaches. *Bulletin of the Southern California Academy of Science*, **72**, 19-31.
- Fauchald K., 1977.** The polychaete worms. Definitions and keys to the orders, families and genera. *Natural History Museum of Los Angeles County, Science Series*, **28**, 1–188.
- Fauvel P., 1923.** Polychètes errantes. In : Faune de France 4. *Lechevaliers, Paris* ; 488 pp.
- Fernandez-Vega C., Sancho E., Ferando M. D. & Andreu-Mliner E., 1999.** Thiobencarb toxicity and plasma AchE inhibition in the euppen eel. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* . 34B, 64.
- Ferrière G., 1911.** Etudes biologiques sur les zones supralittorales de la Loire-Inférieure. Bulletin de la Société des Sciences Naturelles de l'Ouest de la France, deuxième série **1**: 1-451.
- Ferssiwi 2007
- Fidalgo E. & Costa P., 1999.** Reproduction and growth in captivity of the Polychaeta *Nereis diversicolor* (O. F. Müller, 1776), using two different kinds of sediment: Preliminary assays. *Boletin Instituto Espanol De Oceanografia*, **15** (1-4): 351-355.
- Fischesser B. & Dupuis-Tate M. F., 2007.** *Le guide illustré de l'écologie*. Éditions de la Martinière & CEMAGREF-Paris.
- Flammarion P., Garric J. & Monod G., 1998.** Utilisation de l'activité enzymatique EROD chez les poissons des hydrosystèmes continentaux. In : Lagadic L., Caquet T., Amiard J. C. & Ramade F., Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. *Tec & Doc Lavoisier, Paris*, 57-75.
- Fletcher C. R. (1974).** Volume regulation in *Nereis diversicolor*. III. Adaptation to a reduced salinity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, **47**: 1221-1234.

- Fong P.P. & Garthwaite R.L., 1994.** Allozyme electrophoretic analysis of the *Hediste limnicola* – *H. diversicolor* – *H. japonica* species complex (Polychaeta : Nereidae). *Marine Biology*, **118**: 463-470.
- Forget J., Beliaeff B. & Bocquené G., 2003.** Acetylcholinesterase activity in copepods (*Tigriopus brevicornis*) from the Vilaine River estuary, France, as a biomarker of neurotoxic contaminants. *Aquatic Toxicology*, **62(3)**: 195-204.
- Frasco M.F., Fournier D., Carvalho F. & Guilhermino L., 2005.** Do metals inhibit acetylcholinesterase (AChE), Implementation of assay conditions for the use of AChE activity as a biomarker of metal toxicity. *Biomarkers*, **10** (5): 360–375.
- Freire R., Insua A., Méndez J., 2005.** *Cerastoderma glaucum* 5S ribosomal DNA: characterization of the repeat unit, divergence with respect to *Cerastoderma edule*, and PCR–RFLPs for the identification of both cockles. *Genome*, **48**:427-442.
- Fresi E., Scardi M. & Penna M., 2005.** Assessing environmental quality in benthic ecosystems : the role of community structure models. Indicators of stress in the marine benthos, *IOC workshop report*, **195**:45.
- Gagnon C & Fisher N.S., 1997.** The bioavailability of sediment-bound Cd, Co, and Ag to the mussel *Mytilus edulis*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **54** :174-156.
- Galgani F. & Bocquené G., 1998.** Biomarqueurs moléculaires d'exposition des organismes marins aux pesticides organo-phosphorés et carbamates. In : Lagadic G. L., Caquet T., Amiard J. C. & Ramade F. (Eds.). Utilisation des biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. Paris, Tec & Doc, 111-134.
- Galgani F., Bocquené G., 1990.** In vitro inhibition of acetylcholinesterase of four marine species by organophosphate and carbamates. *The Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. **45**, 243-249.
- Galloway T.S. & Depledge M. H., 2001.** Immunotoxicity in invertebrates: measurement and ecotoxicological relevance. *Ecotoxicology*, **10**: 5-23.
- Gambi M.C. & Giangrande A., 1986.** Distribution of soft-bottom Polychaetes in two coastal areas of the Tyrrhenian Sea (Italy): Structural analysis. *Estuarine. Coastal and Shelf Science*, **23** (6), 847–862.
- Gamenick I., Jahn A., Vopel K., Giere O., 1996.** Hypoxia and sulphide as structuring factors in a macrozoobenthic community on the Baltic Sea shore: colonisation studies and tolerance experiments. *Marine Ecology Progress Series*, **144**: 73-85.
- Garcia-Alonso J., Hoeger U., Rebscher N., 2006.** Régulation of vitellogenesis in *Nereis virens* (Annelida: Polychaeta) Effect of estradiol-17 on eleocytes. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **143** (1) (2006) 55-61.

- Garrigues P., Budzinski H., Manitz M.P., Wise S.A., 1995.** Pyrolytic and Petrogenic Inputs in recent Sediments: A definite signature through Phenanthrene and Chrysene Compound Distribution. *Pol Arom Comp*, **7**:275-284.
- Garwood P. R., Olive P. J. W., 1981.** The influence of environmental factors on the growth of oocytes in *Nereis diversicolor* (Annelida: Polychaeta). *Bulletin de la Société Zoologique de France*, **106**: 399-402.
- Gasmi H., 2010.** Effet du stress environnemental sur la biodiversité et la physiologie d'un bioindicateur de pollution *Perinereis cultrifera* (Annélide, Polychète) : Aspects biologique, morphométrique, et biochimique. *Thèse de Magistère en biologie et physiologie animale option Ecotoxicologie Université d'Annaba*, 99p.
- GAYRAL P., 1975.** Les algues : morphologie, cytologie, reproduction, écologie. *Ed Doin*,41p.
- Gérard K., Bierne N., Borsa P., Chenuil A., Féral J.P., 2008.** Pleistocene separation of mitochondrial lineages of *Mytilus* spp. Mussels from Northern and Southern Hemispheres and strong genetic differentiation among southern populations. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49** : 84–91.
- Giangrande A., Licciano M. & Musco L., 2005.** Polychaeta as environmental indicators revisited. *Marine Pollution Bulletin*, **50**: 1153-1162.
- Gibson G.R., Bowman M.L., Gerritsen J.O. & Snyderb D., 2000.** Estuarine and coastal marine waters. *bioassessment and biocriteria technical guidance EPA 822-B-00-024US*. Washington, DC7 Environmental Protection Agency, Office of Water, 296 pp.
- Gillet P., Mouloud M., Durou C. & Deutsch B., 2008.** Response of *Nereis diversicolor* population (Polychaeta: Nereididae) to the pollution impact, Authie and Seine estuaries (France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **76**: 201-210.
- Gillet P., Torresani S., 2003.** Structure of the population and secondary production of *Hediste diversicolor* (O.F. Müller, 1776), (Polychaeta, Nereidae) in the Loire estuary, Atlantic Coast, France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **56**, 621-628.
- Glasby C.J., Glasby S.P. & Pleijel F., 2008.** Worms by number. *The Royal Society B.*, 1-6.
- Glémarec M., Hily C., 1981.** Perturbations apportées à la macrofaune benthique de la baie de Concarneau par les effluents urbains et portuaires. *Acta decals applicion*, **2** (2), 132-150.
- Glémarec M., 2003.** Les indices biotiques en milieu marin. In "bioévaluation de la qualité environnementale des sédiments portuaires et des zones d'immersion". Alzieu (Coord.) Eds. Ifremer, 31-50.

- Glover A.G., Gordon P., Bett B.J., Gage J.D., Sibuet M., Sheader M. & Laurence H., 2001.** Patterns in Polychaete abundance and diversity from the Medeira Abyssal Plain, northeast Atlantic. *Deep-Sea Research I*, **48**, 217-236.
- Gobin J.F. & Warwick R.M., 2006.** Geographical variation in species diversity: A comparison of marine polychaetes and nematodes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **330**, 234-244.
- Gözler A. M., Agirbas E. & Sahin C., 2009.** Spatial And Temporal Distribution Of Nereididae (Polychaeta: Annelida) along the coast of the Turkish Eastern Black Sea in the Upper-Infralittoral Zone. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, **8** (2): 229-234.
- Grall J., Glémarec M., 1997.** Using biotic indices to estimate macrobenthic community perturbation in the Bay of Brest. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **44**: 43-53.
- Grassle J.P. & Grassle J.F., 1976.** Sibling species in the marine pollution indicator *Capitella capitata* (Polychaeta). *Science*, **192**: 567-569.
- Gray J.S., 1981.** The ecology of marine sediments: an introduction to the structure and function of benthic communities. *Cambridge Studies in Modern Biology*, 2. Cambridge University Press: Cambridge. ISBN 0-521-28027-3. 185 pp.
- Grimes S., Boutiba Z., Bakalem A., Bouderbala M., Boudjllal B., Boumaza S., Boutiba, Griscom, S.B., Fiher, N.S & Luoma, S.N., 2000.** Geochemical influences on assimilation of sediment-bound metals in clams and mussels. *Environmental Science & Technology*, **34** : 91-99.
- Grimes S., Boutiba Z., Bakalem A., Bouderbala M., Boudjllal B., Boumaza S., Boutiba M., Guedioura A., Hafferssas A., Hemida F., Kaidi N., Khelifi H., Kerzabi F., Merzoug A., Nouara A., Sellali B., Sellali-Merabtine H., Samroud R., Seridi H., Taleb M.Z. & Taouahria T., 2004.** Biodiversité Marine et littorale Algérienne. ISBN 9961-9547-O-X. Ouvrage domicile au laboratoire « Réseau de surveillance environnementale ». *Université Es Sénia*, Oran : 361p.
- Grimes S., 2010.** Peuplement benthiques des substrats meubles de la côte Algérienne, Taxonomie, Structure et Statut écologique. *Thèse de doctorat, Université d'Oran, Faculté des sciences*. 362p.
- Grübe E., 1840.** Actinien, Echinodermen und Würmer des Adriatischen und Mittelmeers. J.H. Bon, Königsberg, 92 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*.

- 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*, 145p.
- Guedioura M., A., Hafferssas A., Hemida F., Kaidi N., Khelifi H., Kerzabi F., Merzoug Maltagliati F., Peru A.P., Casu M., Rossi F., Lardicci C, Curini-Galletti M. & Castelli A., 2000.** Is *Syllis gracilis* (Polychaeta : Syllidae) a species complex ? An allozyme perspective. *Marine Biology*, **136** : 871-879.
- Guelorget O., Perthuisot J.P., 1984.** Indicateurs biologiques et diagnose écologique dans le domaine paralique. *Bulletin Ecology*, **15** : 67-76.
- Guemouda M., Meghlaoui Z., Daas T., Daas-Maamcha O., Scaps P., 2014.** Monitoring pollution in East Algerian coasts using biochemical markers in the polychaete annelid *Perinereis cultrifera*. *Annals of Biological Research*. **5** (2), p31.
- Guemouda M., 2015.** Impact de la pollution par les hydrocarbures sur *Perinereis cultrifera* (Annélides, Polychètes) dans le littoral Est-Algérien. *Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Biologie, Université Badji Mokhtar-Annaba*, 282 p.
- Habig C. & Di Giulio R. T., 1988.** The anticholinesterase effects of the cotton defoliant S,S,S,-tri-n -butyl phosphorotrithioate(DEF) on channel catfish. *Marine Environmental Research*, **24** : 193-197.
- Habig W.H., Pabst M.J. & Jakoby W.B., 1974.** The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*. **249**: 7130-7139.
- Halliwell B. & Gutteridge J.M., 1999.** Free radicals in medicine and biology. *Oxford University press*.
- Hamza-Chaffai A., Roméo M., Gnassia-Barelli M. & El abed A., 1998.** Effect of copper and lindane on some biomarkers measured in the clam *Ruditapes decussatus*, *The Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **61**: 397-404.
- 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.
- Harper J.L. & Hawksworth D.L., 1994.** Biodiversity: measurement and estimation preface. *Philosophica Transactions of the Royal Society of London*, **345**: 5-12.
- Harris D.J., Crandall K.A., 2000.** Intragenomic variation within ITS1 and ITS2 of freshwater crayfishes (Decapoda : Cambaridae): implications for phylogenetic and microsatellite studies. *Molecular Biology and Evolution*, **17**: 284-291.

- Harrison M.K., Crespi B.J., 1999.** Phylogenetics of Cancer Crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **12**: 186-199.
- Hateley J., Grant A., Taylor S.M. & Jones N.V., 1992** -Morphological and other evidence on the degree of genetic differentiation between populations of *Nereis diversicolor*. *Journal of the Marine Biological Association United Kingdom*, **72**: 365-381.
- 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 Settat, 201p.
- Hceflcd (Haut Commissariat Aux Eaux et Forêt et la Lutte Contre la Désertification), 2007.** Etude diagnostique de la zone humide AL Massira- Fajja, cercle d'EL Brouj et Cercle de Settat (Maroc), 242p.
- Healy B., 1997.** Long-term changes in a brackish lagoon, Lady's Island Lake, South-east Ireland. *Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy* **97 B**: 33-51.
- Herbert A., Guilhermino L., Assis H.C.S & Hansen P.D., 1995.** Acetylcholinesterase activity in aquatic organisms as pollution biomarker. *Zeitschrift Angewandt Zoologie*, **3**: 1-5.
- Herpin L., 1925.** Recherches biologiques sur la reproduction et le développement de quelques annélides polychètes. *Bulletin de la Société des Sciences Naturelles de l'Ouest de la France*, **4** : 1-250. Hill, Paris, 397 p.
- HILLIS D.M., 1997.** Biology recapitulates phylogeny. *Science*, **276**: 218-219.
- Himmi N., Fekhaoui M., Foutlane A., Bouchich H., El Maroufy M., Benazzou T. & Hasnaoui M., 2003.** Relation planctondescripteurs physique et chimique dans un bassin de maturation (Lagunage Mixte Ben Slimane - Maroc), *Riv. Idrobiol., Perugia*, **42(1-3)** : 107-129.
- Hoarau P., Gnassia-Barelli M., Roméo M. & Girard J. P., 2001.** Differential induction of Gluthatione -S-Transferases in the clam *Ruditapes decussates* exposed to organic compounds. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **20**: 523-529.
- Hubiche J. L., 2002.** Cahier INDICATEURS. Edition Loire Estuaire Cellule de mesures et de Bilans. Crédits photo: © 1997 Photodisc. Inc.
- Huggett R.J., Kimerle R.A., Mehrle P.M., Bergman H.L., 1992.** Biomarkers. Biochemicals, Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress. Boca Raton, Lewis Publisher. 347 p.

- Huscheck, G & Hansen, P.D., 2005.** Ecotoxicological classification of the Berlin river system using bioassays in respect to the European water directive. *Environmental Monitoring Assessment*, **121** : 15-31.
- Hutching P.A., Wilson R.S., Glasby C.J., Paxton H. & Watson- Russell C., 2000.** Appendix 1. In : Bessly P.L., Ross G.J.B & Glasby C.J.(Eds), Polychaetes and Allies : the Southern Synthesis Meelbourn : *CSIRO Publishing* : 242-243.
- Hutchings P., 1998.** Biodiversity and functioning of polychaete in benthic sediments. *Biodiversity and conservation*, **7**: 1133-1145.
- Imai H., Cheng J.H., Hamasaki K. & Numachi K.I., 2004.** Identification of four mud crab species (genus *Scylla*) using ITS-1 and 16S rDNA markers. *Aquatic Living Research* **17**:31-34.
- 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. *Environmental Monitoring Assessment*, **124**: 195–200.
- Jemec A., Drobne D., Tišler T., Sepik., 2009.** Biochemical biomarkers in environmental studies – lessons learnt from enzymes catalase, glutathione S-Transferase and cholinesterase in two crustacean species. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Johnston P.T., 1965.** *An Annotated Bibliography of Pathology in Invertebrates Other Than Insects*. Burgess Publishing. Minneapolis. MN.
- Julien, 2010.
- 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 contamination. *Les Comptes Rendus de l'Académie des sciences de Paris*, **333** : 337-341.
- Kammenga J.E., Dllinger R., Donker H.M., Koheler H.R., Smønsen V., Triebkorn R. & Weeks M.J., 2000.** Biomarkers in terrestrial invertebrates for ecotoxicological soil risk assessment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, **164**: 93-147.
- Kantin R., Andral B., Debard S., Denis J., Derolez V., Emery E., Ganzin N., Hervé G., Laugier T., Le Borgne M., L'Hostis D., Oheix J., Orsoni V., Raoult S., Sartoretto S. & Tomasino C., 2006.** Le Référentiel Benthique Méditerranéen (REBENT MED). IFREMER. R. INT. DOP/ LER-PAC/ 06-08, 124 pp.
- 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, 97p.

- Keddy C., Greene J.C. & Bonnell M.A., 1994.** Examen des biotests effectués sur des organismes entiers pour l'évaluation de la qualité des sols, des sédiments et des eaux douces au Canada. Ottawa (Ontario), Environnement Canada, direction générale de la conservation des écosystèmes.
- Keith L.H., Teillard W.A., 1979.** Priority pollutants. *A perspective view Environmental Science & Technology*, **13**:416-423.
- Khammar H., 2007.** Caractères chimiques des effluents urbains introduits au littoral d'Annaba. *Mémoire de Magister. Université d'Annaba*, 49p.
- Khélifi-Touhami M., Ounissi M., Saker I., Haridi A., Djorfi S. & Abdenour C., 2006.** The hydrology of the Mafrag estuary (Algeria): Transport of inorganic nitrogen and phosphorus to the adjacent coast. *Journal of food, agriculture and environment*, **4(2)**: 340-346.
- Kijewski T., Wijsman J.W.M., Hummel H., Wenne R., 2009.** Genetic composition of cultured and wild mussels *Mytilus* from The Netherlands and transfers from Ireland and Great Britain. *Aquaculture*. **287**: 292–296.
- KINGBERG 1866
- Kirby M.F., Morris S., Hurst M., Kirby S.J., Neall P., Tylor T. & Fagg A., 2000.** The use of cholinesterase activity in flounder (*Platichthys flesus*) muscle tissue as a biomarker of neurotoxic contamination in UK estuaries. *Marine Pollution Bulletin*, **40**: 780-791.
- Knox G.A., 1977.** In, *Essays in Polychaetous Annelids in Memory of Olga Hartman*, edited by D. J. Reish & K. Fauchald, Allan Hancock Foundation, University of Southern California, Los Angeles, 547–604.
- Kupriyanova E.K. & Dadayev A.V., 1998.** Ecological correlates of arctic *serpulidae* (Annelida, Polychaeta) distributions. *Ophelia*, **49**: 181-193.
- Kwong T.C., 2002.** Organophosphate pesticides : Biochemistry and clinical toxicology. *Therapeutic Drug Monitoring*, **24**: 144-149.
- 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 peroxydation, acetylcholinesterase and glutathione peroxydase activities in three non-mammalian species. *Biomarkers*, **1**: 21-28.
- Labrune C., Amouroux J.M., Sarda R., Dutrieux E., Thorin S., Rosenberg R., Grémare A., 2006.** Caractérisation of the ecological quality of the coastal Gulf of Lions (NW

- Mediterranean). A comparative approach based on three biotic indices. *Marine Pollution Bulletin*, **52**: 34-47.
- Labrune C., Grémare A., Amoureux J.M., Sarda R., Gil J. & Taboada S., 2007.** Assessment of soft-bottom polychaete assemblages in the Gulf of Lions (NW Mediterranean) based on a mesoscale survey. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **71**, 133–147.
- Lacombe H. & Tchernia P., 1972.** Caractères hydrologiques et circulation des eaux en Méditerranée. In: Mediterranean Sea, D. J. STANLEY, ed., Dowden, Hutchinson & Ross, Stroudsburg: 25–36.
- 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, p. 393-401.
- Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C., Ramade F., 1998.** Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. *Lavoisier. Paris*. 320 pp.
- Lambert R., Desrosiers G., Retière C., Miron G., 1992.** Activité de prospection de son aire d'alimentation par le polychète *Nereis diversicolor* (O.F. Müller): données préliminaires. *Cahiers de Biologie Marine*, **33**: 43-54.
- Lamotte M., 1971.** Ecologie animale organismes et milieu. *Doin Editeurs, sixième édition française*.
- Larba R & Soltani N., 2013.** Diversity of the terrestrial gastropods in the Northeast Algeria: Spatial and temporal distribution. *European journal of experimental biology*, **3**(4): 209-215.
- Larba R., 2014.** Biosurveillance de l'environnement dans la région Est: mesure de biomarqueurs chez *Helix aspersa* et corrélation avec les caractéristiques physico-chimiques des sols. *Thèse en vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat (LMD), Université Badji Mokhtar-Annaba*, 118p.
- Laubier L. & Emig C.C., 1993.** La faune benthique profonde de Méditerranée. In: DELLA CROCE F.R (ed.), Symposium Mediterranean Sea 2000. *Instituto de Scienze Ambientale Marina, Margherita Ligure*, 397–428.
- Lavado, R., Uren, R., Martin-Skilton, R., Torreblanca, A., Ramo, J., Raldu, D. & Porte, C., 2006.** The combined use of chemical and biochemical markers to assess water quality along the Ebro River. *Environment Pollution*, **139**, 330-339.
- Levin L.A. & Gage J.D., 1998.** Relationships between oxygen, organic matter and the diversity of bathyal macrofauna. *Deep-Sea Research II*, **45**, 129-163.

- Lewis L. J., Davenport J., Kelly T. C., 2003.** A study of the impact of a pipeline construction on estuarine benthic invertebrate communities: Part 2. Recolonization by benthic invertebrates after 1 year and response of estuarine birds. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **57**: 201-208.
- Liehr G. A., Zettler M. L., Leipe T. & Wilt G., 2005.** The ocean quahog *Arctica islandica* L. : a bioindicator for contaminated sediments. *Marine biology*, **147**: 671-679.
- Linné, 1753.
- Linné, 1758.
- Livingstone D.R., 2001.** Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin*, **42**: 656-666.
- Livingstone D.R., 1993.** Biotechnology and pollution monitoring : use of molecular biomarkes in the aquatic environment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **57** : 195-211.
- LOSOS L.B., 1996.** Phylogenetic perspectives on community ecology. *Ecology*, **77**(5) 1344-1354.
- Lovejoy N.R. & de Araùjo M.L.G., 2000.** Molecular systematics, biogeography, and population structure of Neotropical freshwater needlefishes of the genus *Potamorhaphis*. *Molecular Ecology*, **9**(3):259–268.
- Luoma S.N. & Bryan G.W., 1982.** A statistical study of environmental factors contrlling concentrations of heavy metals in the burrowing bivalve *Scrobicularia plana* and the polychaete *Nereis diversicolor*. *Estuarine Coastal Shelf Science*, **15** : 95-108.
- Machreki-Ajimi M., Hamza-Chaffai A., 2006.** Accumulation of cadmium and lead in *Cerastoderma glaucum* originating from the Gulf of Gabès, Tunisia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **76**: 529-537.
- Mackie A.S.Y., Parmiter C. & Tong L.K.Y., 1997.** Distribution and diversity of Polychaeta in the southern Irish Sea. *Bulletin Marine SCI*, **60**, 467–481.
- Magurran A.E., 1988.** Ecological Diversity and its measurement. *Princeton University Press, Princeton, NJ*.
- Maltagliati F., Peru A.P., Casu M., Rossi F., Lardicci C., Curini-Galletti M. & Castelli A., 2000.** Is *Syllis gracilis* (Polychaeta : Syllidae) a species complex ? An allozyme perspective. *Marine Biology*, **136** : 871-879.
- Manchenko G.P. & Radashevsky V.I., 1994.** Genetic differences between two allopatric sibling species of the genus *Polydora* (Polychaeta, Spionidae) from the West Pacific. *Biochemical Systematics and Ecology*, **22**: 767-773.

- Marcel R., 1962.** Cycle annuel de *Perinereis cultrifera* Grube (Annélide Polychète) à Alger. *Mémoires de la Société des Sciences Naturelles de Mathématiques de Cherbourg*, **19** : 39-54.
- Marchand M., 2002.** Pollution marine et contamination chimique. Peut-on éliminer les substances chimiques dangereuses du milieu marin ? *IFREMER, DEL/PC*.
- Marchand M., Brunot, C., 1997.** L'environnement littoral et marin. Institut français de l'environnement. *Etudes et travaux*, **16** : 116 p.
- Marchand M., Kantin R., 1997.** Les métaux traces en milieu aquatique. *Océanis*, **23**(4) : 595-629.
- Marchand, 1971
- Matozzo V., Tomei A., Marin M.G., 2005.** Acetylcholinesterase as a biomarker of exposure to neurotoxic compounds in the clam *Tapes philippinarum* from the Lagoon of Venice. *Marine Pollution Bulletin*, **50**: 1686–1693.
- May R.M., 1994.** Conceptual aspects of the quantification of the extent of biological diversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 345, 13-30.
- Mbonigaba J.J.M., Nzeyimana I., Bucagu C. & Culot M., 2009.** Caractérisation physique, chimique et microbiologique de trois sols acides tropicaux du Rwanda sous jachères naturelles et contraintes à leur productivité. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, **13**(4): 545-558.
- Mc Carthy, J.F. & Shugart, L.R., 1990.** Biomarkers of environmental contamination. Boca Raton Floride, Lewis (Eds.).
- Mc Henery J.G., Linley-Adams G.E., Moore D. C., Rodger G.K., Davies I. M., 1997.** Experimental field studies of effects of dichlorvos exposure on acetylcholinesterase activity in the gills of the mussel, *Mytilus edulis* L. *Aquatic Toxicology*, **38** : 125-143.
- Mc Loughlin N., Yin D., Maltby L., Wood R.M. & Yu H., 2000.** Evaluation of sensitivity and specificity of two crustacean biochemical biomarkers. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **19** : 2085-2092.
- McElroy A.E., Farrington J.W., Teal J.M., 1989.** Bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. In *Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment*. *Varanasi U, ed. CRC, Boca Raton, FL, USA*, pp 1-40.
- Métais I., 1996.** Recherche de marqueurs moléculaires chez le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) en relation avec des caractères phénotypiques. Application à la caractérisation variétale. *Thèse de Doctorat en Biologie moléculaire et cellulaire de l'UCO, Angers, France*.

- Meybeck M., Friedrich G., Thomas R. & Chapman D., 1996.** Rivers. Water quality assessments : a guide to the use of biota, sediments and water in environment monitoring, Chapman edition, *2nd ed. E & FN Spon, London*, pp. 59-126.
- Meyer A., 1993.** Evolution of mitochondrial DNA in fishes. In: Hochachka, Mommsen (eds) *Biochemistry and molecular biology of fishes*, **2**:1-38.
- Michel A., 1898.** Recherches sur la régénération chez les annélides. *Bulletin Scientifique de la France et de la Belgique*, **31**: 245-420.
- Millot C. & Taupier-Letage I., 2005.** Circulation in the Mediterranean Sea. *The Handbook of Environmental Chemistry*, Volume K, May, 29-66.
- Mindell D.P., Honeycutt R.L., 1990.** Ribosomal RNA in vertebrates: evolution and phylogenetic applications. *Annual Review Ecological System*, **21**:541-566.
- Minelli A., 1993.** Biological systematics : the state of the art. *Chapman & Hall. London*.
- Mirza F. B. & Gray J.S., 1981.** The fauna of benthic sediments from the organically enriched Oslofjord, Norway. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.*, **54**: 181-207.
- Modassir Y. & Ansari A., 2000.** Effect of petroleum hydrocarbon on physiological and biochemical parameters in an estuarine clam (*Paphia malabarica*). *Fishery Technology*, **37**: 40-45.
- Molinier R. & Picard J., 1952.** Recherche sur les herbiers de phanérogames marines du littoral méditerranéen français. *Annales de l'Institut océanographique*, **27** (3), 257-2.
- Montagu G., 1808.** Description of several marine animals found on the south coast of devonshire. *Trans. Linn. Soe. London*, vol. 9, pp. 81-114, pis. 2-8.
- Moriarty F. 1990.** The study of pollutants in Ecosystems. *Ecotoxicology Academic Press, London*.
- Mouchel J.M., Thévenot D., 2003.** Support de cours d'Ecotoxicologie du CEREV «Centre d'Enseignement et de recherche Eau Ville environnement ».
- Moulton *et al.* 1996.
- Mouneyrac C., Linot, S., Amiard J.C., Amiard-Triquet C., Métails I., Durou C., Minier C., Pellerin J., 2008.** Biological indices, energy reserves, steroid hormones and sexual maturity in the infaunal bivalve *Scrobicularia plana* from three sites differing by their level of contamination. *General and Comparative Endocrinology*. **157**:133-141.
- Munkittrick, K.R. & McCarty, L.S., 1995.** An integrated approach to aquatic ecosystem health: top-down, bottom-up or middle-out. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, **4**: 77-90.

- Mustaquim J., 1988.** Isoenzyme variation in three *Nereis* species from five localities in the UK. *Journal of the Marine Biological Association United Kingdom*, **68**: 549-553.
- Mutlu E., Çınar M.E. & Ergev M.B., 2010.** Distribution of soft-bottom polychaetes of the Levantine coast of Turkey, eastern Mediterranean Sea. *Journal of Marine Systems*, **79**, 23-35.
- Narbonne J. F., Garrigues P., Ribera D., Raoux C., Mathieu A., Lemaire P., Salaun, J. P. & Lafaurie M., 1991.** Mixed function oxygenase enzymes as tools for pollution monitoring: Field studies on the French coast of the Mediterranean Sea. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **100(C)**: 37-42.
- Naylor G.J.P., Brown W.M., 1998.** Amphioxus mitochondrial DNA, chordate phylogeny, and the limits of inference based on comparisons of sequences, *Systematic Biology*, **47(1)**:61–76.
- Neff J.M., 1979.** Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. Sources, fates and biological effects. *Applied science publishers Ltd. Ripples road, Barking, Essex, England*. 262pp.
- Nelson-Smith A., Knight-Jones P., Knight-Jones E. W., 1990.** Annelida. In The marine fauna of the British Isles and North-West Europe, Volume 1. Introduction and Protozoans to Arthropods, Hayward P. J., Ryland J. S. (ed.). *Oxford Science Publications, Oxford*, 201-306.
- Neveu A., Riou C., Bonhomme M., Chassin P. & Papy F., 2001.** L'eau dans l'espace rural. *vie et milieux aquatiques*. Paris. 3-62pp.
- Nicklas N.L. & Hoffmann R.J., 1979.** Genetic similarity between two morphologically similar species of polychaetes. *Marine Biology*, **52**: 53-59.
- Nikula R., Väinölä R., 2003.** Phylogeography of *Cerastoderma glaucum* (Bivalvia: Cardiidae) across Europe: a major break in the eastern Mediterranean. *Marine biology*, **143**: 339– 350.
- Norris D.O., Donahue S., Dores R.M., Lee J.K., Maldonado T.A., Ruth, T. & Woodling J.D., 1999.** Impaired adrenocortical response to stress by brown trout, living in metal-contaminated waters of the Eagle River, Colorado. *General and Comparative Endocrinology*, **113**: 1-9.
- Nouara A., Sellali B., Sellali-Merabtine H., Samroud R., Seridi H., Taleb M.Z. & Occhipinti-Ambrogi A., Savini D. & Forni G., 2005.** Macrobenthos community structural changes off Cesenatico coast (Emilia Romagna, Northern Adriatic), a six-year monitoring programme. *Science Total Environment*, **353**, 317–328.

- Nowakowska A., Laciak T. & Caputa M., 2012.** Organ profiles of the antioxidants system and the accumulation of metals in *Helix aspersa* snails. *Polish Journal of Environmental Studies*, **21**(5) : 1369-1375.
- O. F. Müller, 1776
- Occhipinti-Ambrogi A., Forni G. & Marchini A. 2005.** Testing different approaches for quality assessment using the benthic community : examples from the northern adriatic sea. Indicators of stress in the marine benthos, IOC Workshop Report, **195**: 23-26.
- Ochi T., Takahashi K. & Ohsawa M., 1987.** Indirect evidence for the induction of a prooxidant state by cadmium chloride in cultured mammalian cells and a possible mechanism for the induction. *Mutation Research*, **180**: 257-266.
- Ohnishi *et al.*, 1983
- Olive P.J.W., 1999.** Polychaeta aquaculture and Polychaeta science: A mutual synergism, *Hydrobiologia*, **402**: 175-183.
- Olsgard F. & Somerfield P.J., 2000.** Surrogates in marine benthic investigations- which taxonomic unit to target? *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, **7**:25-42.
- Olsgard F., Brattegard T. & Holthe T., 2003.** Polychaetes as surrogates for marine biodiversity: lower taxonomic resolution and indicator groups. *Biodiversity and conservation*, **12**: 1033-1049.
- Omena E.P. & Amaral A.C.Z., 2001.** Morphometric study of the Nereidid *Laeonereis acuta* (Annelida : Polychaeta). *Journal of the Marine Biological Association United Kingdom*, **81**: 423-426.
- Orbea A., Fahimi H.D. & Cajaraville M.P., 2000.** Immunolocalization of four antioxidant enzymes in digestive glands of mollusks and crustaceans and fish liver. *Histochemistry and cell biology*, **114**: 393-404.
- Ounissi M., 2007.** Devenir et incidences des flux de matières continentales enrichissantes et polluantes dans le littoral d'Annaba. Bilan final du projet de recherche ONEDD/MATE/05/04: 11p.
- Ozoh P.T.E. & Jones N.V., 1990.** Capacity adaptation of *Hediste (Nereis) diversicolor* embryogenesis to salinity, temperature and copper. *Marine Environmental Research*, **29**: 227-244.
- Pai I., 2007.** Ecology of Andaman Sea: past, present and future. *Journal of Cell and Animal Biology*. **1**(1) : 011-014.

- Pandey S., Parvez S., Sayeed I., Haque R., Bin-Hafeez B. & Raisuddin S., 2003.** Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish *Wallago attu* (Bl. & Schn.). *Science Total Environment*, **309**: 105–115.
- Papageorgiou N., Arvanitidis C. & Eleftheriou A., 2006.** Multicausal environmental severity: a flexible framework for microtidal sandy beaches and the role of polychaetes as an indicator taxon. *Estuarine Coastal Shelf Science*, **70**: 643-653.
- Payne J., Mathieu A., Melvin W. & Fancey L.L., 1996.** Acetylcholinesterase, an old biomarker with a new future. Field trials in association with two urban rivers and a paper mill in Newfoundland. *Marine Pollution Bulletin*, **32**: 225-231.
- Peakall D.B., 1992.** Animal Biomarkers as Pollution Indicators. *Chapman & Hall, London*.
- Peakall, D., 1994.** Biomarkers: the way forward in environmental assessment. *Toxicology and Ecotoxicology News*, **1**: 55-60.
- Pearson T.H. & Rosenberg R., 1978.** Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography and marine biology*, **16**: 229-311.
- Pecore R.G., 2001.** Whole system perspective : Steelhead, *Onchorhynchus mykiss*, glutathione S-Transferase as a biomarker of chlorpyrifos exposure. Bachelor of Science. *Oregon State University*. 45 p.
- Pellerin Massicote 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.). *Journal en Recherches Océanographiques*, **22**, 91-98.
- Pères J.M. et Picard J., 1964.** Nouveau manuel de bionomie benthique de la mer Méditerranée. *Recueil des travaux de la Station Marine d'Endoume*, **31** (47), 5–22.
- Pères J.M., & Rancurel P., 1948.** Observation sur la ponte de *Perinereis cultrifera* Grüube dans le golf de Marseille. *Bulletin de la Société Zoologique*, **73**: 97-100.
- Pères J.M., 1973.** Esquisse d'océanographie biologique de la Méditerranée. In. *La mer Méditerrané. Paris: CIHEAM* (Options Méditerranéennes), **19**, 55–57.
- Pérez-Lopez M., Anglade P., Bec-Ferté M.P., Debrauwer L., Perdu E., Cravedi J.P. & Rouimi P., 2000.** Characterization of hepatic and extrahepatic Glutathione S-transferases in rainbow trout (*Oncorhynchus mtkiss*) and their induction by 3,3', 4,4'-tetrachlorobiphenyle. *Fish physiology and Biochemistry*, **22**: 21-32.
- Pesch G.C., Pesch C.E. & Mueller C., 1988** – Chromosome complement from two populations of the marine worm *Neanthes arenaceodentata* (Annelida : Polychaeta). *Ophelia*, **28**:163-167.

- Peteiro L.G., Babarro J.M.F., Labarta U. & Fernandez-Reiriz M.J., 2006.** Growth of *Mytilus galloprovincialis* after the Prestige oil spill. *ICES Journal of Marine Science*, **63**: 1005-1013.
- Pezo R., Maco J. et Canepa J., 1985.** Cambiamental 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. et Elias -letts, R., 2007. Responses of the mussel *Anodontites trapesialis* (Unionia) to environmental stressors: Effects of pH, temperature and metals on filtration rate. *Environmental Pollution*, **149**: 209-215.
- Philips D.J.H. & Rainbow P.S., 1994.** Biomonitoring of trace aquatic contaminants Chapman and Hall. London.
- PIERCE V.A. & CRAWFORD D.L., 1997.** Phylogenetic analysis of glycolytic enzyme expression. *Science*, **276** : 256-259.
- PNAE-DD., 2002.** Plan National d'Actions pour l'Environnement et le Développement Problem. Swedish Environmental Protection Agency . *Stockholm, Sweden*, 152 p.
- PNUE. PAM.** Plan Bleu, 2007. Protéger et valoriser le littoral méditerranéen, bien commun menacé. Elisabeth Coudert, Plan Bleu. 4 pp.
- Pocklington P. & Wells P.G., 1992.** Polychaetes : key taxa for marine environmental quality monitoring. *Marine Pollution Bulletin*, **24**, 593-598.
- Puente, 1997
- Quatrefages Abmand D.B., 1865.** Histoire naturelle des annelés marins et d'eau douce. Annelides et géphyriens, *Paris, Librairie Encyclopédie de Rôret*, **1** :688.
- R Core Team., 2014.** R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria*. URL <http://www.R-project.org/>.
- Ramade, F., 1977,** *Ecotoxicologie*, Masson, Paris.
- Ramade F., 1984.** Eléments d'écologie : Ecologie fondamentale. Ed. *Mc. Graw Hill*, Paris, 397 p
- Ramade F., 1992.** *Precis d'ecotoxicologie*, Collection d'ecologie 22, Masson.
- Ramade F., 1993.** Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'environnement. *Ediscience. Paris*, 822 pp.
- Ramade F., 1998.** Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau. Ediscience Paris, FRA. 785p.

- Ramade F., 2002.** Dictionnaire encyclopédique de l'Écologie et des Sciences de l'environnement. Paris, Dunod Science.
- Ramos R. & Garcia E., 2007.** Induction of mixed-function oxygenase system and antioxidant enzymatiques in the coral *Montastraea faveolata* on acute exposure to benzo(a)pyrene, *Comparative Biochemistry and Physiology*. **144(C)**: 348-355.
- Ramos-Espla A. & Sanchez-Lizaso J.L., 2002.** Impacto del arrastre sobre comunidades circalitorales de fondos blandos dominadas por coralinaceas. ACTAS, Septima Reunion del Foro Cientifico Para la Pesca Espanola en el Mediterraneo. 103p.
- Raoux CY., 1991.** Modélisation du mécanisme de contamination par les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) des sédiments marins côtiers de Méditerranée conséquences sur la biodisponibilité des HAP dans le milieu marin. Thèse, Université de Bordeaux I, Bordeaux, France, 136pp.
- Regnard E., 1913.** Contribution à l'étude des Nereis de la région de Roscoff. *Mémoires de la Société Zoologique de France*, **26**: 72-111.
- Reish D.J. & Gerlinger T.V., 1997.** A review of the toxicological studies with polychaetous annelids. *Bulletin Marine Science*, **60**: 584-607.
- Reish D.J., 1955.** The relation of polychaetous annelids to harbor pollution. U.S. Public Health Rep., **70**: 1168-1174.
- Reish D.J., 1973.** The use of benthic animals in monitoring the marine environment. *Journal of Environmental planning and pollution Control*, I, 32-38
- Reiss H. & Kröncke I., 2005.** Seasonal variability of benthic indices: An approach to test the applicability of different indices for ecosystem quality assessment. *Marine Pollution Bulletin*, **50**, 1490–1499.
- Retière C. & Richoux P., 1973.** Ecologie des polychètes des lithoclastes intertidales. *Cahiers de Biologie Marine*, **14** : 39-55.
- Retière C., 1979.** Contribution à l'étude des peuplements benthiques du golfe normanno-breton. *Thèse Doctorat Etat, Sciences Naturelles, Université de Rennes*, 370pp.
- Rocha-Olivares A., Rosenblatt R.H., Vetter R.D., 1999.** Molecular evolution, systematics, and zoogeography of the rockfish subgenus *Sebastomus* (*Sebastes*, Scorpaenidae) based on mitochondrial cytochrome *b* and control region sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **11(3)**:441–458.
- Rocher B., Le Goff J., Peluhet L., Briand M., Manduzio H., Gallois J., Devier M.H., Geffard O., Gricourt L., Augagneur S., Budzinski H., Pottier D., André V., Lebailly P. & Cachot J., 2006.** Genotoxicant accumulation and cellular defence

- activation in bivalves chronically exposed to waterborne contaminants from the Seine River. *Aquatic Toxicology*, **79**: 65-77.
- Rodier J., 1996.** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. *Chimie, physico-chimie, bactériologie, biologie*. 8^{ème} Ed. Dunod Bordas, Paris, 1135p.
- Röhner M., Bastrop R. & Jürss K., 1997.** Genetic differentiation in *Hediste diversicolor* (Polychaeta : Nereididae) from the North Sea and Baltic Sea. *Marine Biology*, **130**: 171-180.
- Rosenberg R. & Warwick R.M., 1988.** Analysis of community attributes of the benthic macrofauna of Frierfjord, Langes und fjords and in a meso cosna experiment, *Marine Ecology Progress Series*, **46**: 151-156.
- Rouabah A., 2003.** Comparaison au plan biochimique et génétique de populations de l'annélide polychète *Perinereis cultrifera* du littoral français et algérien : précision des liens de parenté.
- Rouabah A & Rouabah L., 2007.** Biodiversité et complexe d'espèces *Perinereis cultrifera*: un exemple de spéciation. *Sciences et Technologies*, **25**, 79-87.
- Rouabah A & Scaps P., 2003A.** Life Cycle and Population Dynamics of the Polychaete *Perinereis cultrifera* from the Algerian Mediterranean Coast. P.S.Z.N: *Marine Ecology*., **24(2)** : 85-99.
- Rouabah A., Scaps, P. 2003B.** Two-dimensional electrophoresis analysis of proteins from epitokous forms of the polychaete *Perinereis cultrifera* from English Channel and the Mediterranean Sea. *Cahiers de Biologie Marine*, **44**: 227-236.
- Rouabah, A., Rouabah, L., Tahar. A., Scaps, P., 2009.** Variation in paragraph number of the Different Morphs of the polychaete *Perinereis* of *cultrifera* in Relation of Geographical Location and Types of Reproduction. *American Journal of Scientific Research*., **1**: -22.
- Rouane-Hacene O., 2013.** Biosurveillance de la qualité des eaux côtières du littoral occidental algérien, par le suivi des indices biologiques, de la biodisponibilité et la bioaccumulation des métaux lourds (Zn, Cu, Pb et Cd) chez la moule *Mytilus galloprovincialis* et l'oursin *Paracentrotus lividus*. *Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Biologie, Université d'Oran*, 295p.
- 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*, 73p.
- Rouse G. & Pleijel F., 2001.** Polychaetes. Oxford University Press, New York.
- Rumohr H., 2005.** A 5-7 successions model for the Baltic a future management tool, Indicators of stress in the marine benthos. IOC workshop report, **195**: 12-14.

- Ruppert E.E. & Barnes R.D., 1994.** Invertebrate Zoology. Harcourt Brace College Publishers, New York.
- Saker I.E., 2007.** Pollution chimiques par les effluents industriels directs introduits au littoral d'Annaba. Mémoire de Magister. Université d'Annaba, 34p.
- Salvat B., 1967.** La macrofaune carcinologique endogée des sédiments intertidaux (Tanaidacés, Isopodes, Amipodes), Ethologie, Bionomie et cycle biologique, *Thèse de Doctorat en sciences naturelles. Faculté des sciences. Université de Paris* : 275p.
- Sanchez W., Ait Aissa S., Palluel O., Ditché J.M. & Porcher J.M., 2007.** Preliminary investigation of multi-biomarker responses in three-spined stickleback (*Gasterosreus aculeatus* L.) sampled in contaminated streams. *Ecotoxicology*, **16**: 279-287.
- Sanders H.L., Hessler R.R. & Hampson G.R., 1965.** An introduction to the study of deep-sea benthic faunal assemblages along the Gay Head–Bermuda transect. *Deep-Sea Res.*, **12**, 845–867.
- Sandrini J. Z., Ventura Lima J., Regoli F., Fattorin D., Nottic A., Marinsa L. F. & Monserrat J. M., 2008.** Antioxidant responses in the nereidid *Laeonereis acuta* (Annelida, Polychaeta) after cadmium exposure. *Ecotoxicological Environment Safty*, **70**: 115–120.
- Sato M. & Masuda Y., 1997 -** Genetic differentiation in two sibling species of the brackish-water polychaete *Hediste japonica* complex (Nereididae). *Marine Biology*, **130**: 163-170.
- Scaps P. & Borot O., 2000.** Acetylcholinesterase activity of the polychaete *Nereis diversicolor*: effects of temperature and salinity. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **125(C)**: 377-383.
- Scaps P., 1992.** Bases biologiques de l'élevage de deux espèces d'annélides polychètes *Nereis diversicolor* (O.F. Müller) et *Perinereis cultrifera* (Grübe). *Thèse de l'Université de Rennes I*, 171 p.
- Scaps P., 2002.** A review of the biology, ecology and potential use of the ragworm *Hediste diversicolor* (O.F. Müller) (Annelida : Polychaeta). *Hydrobiologia*. **470**, 203-218.
- Scaps P., Descamps M. & Demuyneck S., 2002.** Biochemical and physiological responses induced by toxics in Annelida: Utilisation as biomarkers. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **9**: 165-173.
- Scaps P., Rouabah A., Lepretre A., 2000.** Morphological and biochemical evidence that *Perinereis cultrifera* (Polychaeta Annelida) is a complex of species. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **80** : 735-736.

- Scaps P., Brenot S., Retiere C & Desrosiers G., 1998.** Space occupation by the polychaetous annelid *Perinereis cultrifera* : influence of substratum heterogeneity and intraspecific interactions on burrow structure. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **78** :435-449.
- Schmidt H. & Westheide W. 1994** - Isozymes and general protein patterns as taxonomic markers in the taxon Nephthyidae (Annelida, Polychaeta). *Marine Biology*, **119**: 31-38.
- Shannon C.E. & Weaver W., 1963.** The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urban. 117 p.
- Sicre M.A., Marty J.C., Saliot A., Aparicio X., Grimalt J., Albaiges J., 1987.** Aliphatic and aromatic hydrocarbons in different sized aerosols over the Mediterranean sea : occurrence and origin. *Atmospheric environment*, **21**:2247-225.
- Sif *et al.* 2002.
- 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). *These de Doctorat en Ecotoxicologie. Université d'Annaba*, 140pp.
- Sifi K., Chouahda S & Soltani N., 2007.** Biosurveillance de l'environnement par mesure de biomarqueurs chez *Donax trunculus* (L., 1758) dans le golfe d'Annaba (Algerie). *Mésogée*, **63** : 11-18.
- 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). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, **139**: 181-188.
- Smith R. I., 1955.** On the distribution of *Nereis diversicolor* in relation to salinity in the vicinity of Tvaerminne, Finland and the Isefjord, Denmark. *Biological Bulletin. Marine Biological Laboratory, Woods Hole* **108** :326-345.
- Smith R. I., 1956.** The ecology of the Tamar estuary. VII. Observations on the interstitial salinity of intertidal muds in the estuarine habitat of *Nereis diversicolor*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **35**: 81-104.
- Smith R. I., 1964.** On the early development of *Nereis diversicolor* in different salinities, *Journal of Morphology*, **114**: 437-463.
- Soclo H., 1986.** Etude de la distribution des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les sédiments marins récents, identification des sources. Thèse. Université de Bordeaux I, Bordeaux, France, 158 pp.

- 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. *Bulletin de la Société Zoologique*, **137** (1-4): 47-56.
- Soltani M., 2004.** Distribution lipidique et voies métaboliques chez quatre bactéries Gram négatives hydrocarbonoclastes. Variation en fonction de la source de carbone. *Thèse de doctorat de l'université Paris 6, spécialité chimie analytique*, p. 284.
- 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. *Science of the Total Environment*, **247**: 175-187.
- Soucek D.J., 2007.** Sodium sulfate impacts feeding specific dynamic action, and growth rate in the fresh water bivalve *Corbicula fluminea*. *Aquatic Toxicology*, **83**: 315-322.
- Souissi M., Ouali K., Hadj Moussa W., Rouachdia R., Djabourabi A & Bensouilah M., 2008.** Proportioning of Biomarkers (GSH, GST, AChE, Catalase) Indicator of pollution at *Gambusia affinis* (Teleostei Fish) Exposed to Cadmium. *Environmental Research Journal*, **2**(4): 177-181.
- Stegeman J. J., Brouwer M., Di Giulio R. T., Förlin L., Fowler B. A., Sanders B. M. & Van Veld P. A., 1992.** Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect, In : *Biomarkers Biochemical Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress*. Huggett R.J., Kimerle R.A., Mehrle P.M. and Bergman H.L. Eds., **6**: 235.
- Stien X., Percic P., Gnassia-Barelli M., Romeo M. & Lafaurie M., 1998.** Evaluation of biomarkers in caged fishes and mussels to assess the quality of waters in a bay of the NW Mediterranean Sea. *Environmental Pollution*, **99**: 339-345.
- Struck H.T., Westheide W. & Purschke G., 2002.** Progenesis in Eunicida ("Polychaeta," Annelida)- separate evolutionary events. Evidence from molecular data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **25**: 190-199.
- Sturge W. D., 1991.** Pollution of the arctic atmosphere. *New York*: Elsevier, 289pp.
- Sturm A., Wogram J., Hansen P. D. & Liess M., 1999.** Potential use of cholinesterase in monitoring (*Gasterosteus aculeatus*) and relation to pollution. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **18**: 194-200.
- Taleb, M. Z. & Boutiba, Z., 2007.** La moule *Mytilus galloprovincialis* : bioindicatrice de pollution marine – cas du port d'Oran. *Sciences & Technologie*, **25 C** :59-64.
- Tang B., Zhou K., Song D., Yang G., Dai A., 2003.** Molecular systematics of the Asian mitten crabs, genus *Eriocheir* (Crustacea: Brachyura). *Molecular Phylogenetics Evolution*, **29**: 309-316.

- Taouahria T., 2004.** Biodiversité Marine et littorale Algérienne. ISBN 9961-9547-O-X.
- Tayebi A. & Malaoui M., 2012.** Impact de la pollution marine chez *Perinereis cultrifera* (Annélides, Polychètes) dans le littoral Est Algérien: Aspects morphométriques et activité enzymatique de la glutathion S-transférase. *Mémoire de Master en Ecotoxicologie. Université Annaba.*, 25p.
- Tchernia P., 1980.** Descriptive regional oceanography. *Pergamon Marine Series, London.*
- Tena J., 1992.** Anélidos Poliquetos del Antepuerto de Valencia: Ecología y Aspectos Tróficos. Tesis de Licenciatura, Universidad de Valencia. 270 pp.
- Tena J., Capaccioni-Azzati R., Torres-Gavila F.J. & Porras R., 1993.** Anélidos Poliquetos del Antepuerto de Valencia: Distribución y categorías tróficas. *Publicaciones especiales del Instituto Español de Oceanografía*, **11**:15–20.
- Theede H., Ponat A., Hiroki K., Schlieper C., 1969.** Studies on the resistance of marine bottom invertebrates to oxygen-deficiency and hydrogen sulphide, *Marine Biology* **2**: 325-337.
- Toonen R.J., 2003.** Invertebrate Non-Column: Sea cucumbers - Part II. *in* Advanced Aquarists Online Magazine.
- Torres-Gavila F.J., 1989.** Anélidos Poliquetos y Comunidades Bentónicas de la Desembocadura del río Segura. (Alicante, Mediterráneo Occidental). *Tesis de Licenciatura, Universidad Valencia*, 194 pp.
- Torres-Gavila F.J., 2008.** Estudio faunístico, ecológico y ambiental de La fauna de Anélidos poliquetos de substratos sueltos de Las Islas Chafarinas (Mar de Alboran, SW. Méditerranee). *Tesi Doctoral, Valencia*, 695 pp.
- 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. *Environmental toxicology Chemistry*, **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*. *Environmental toxicology Chemistry*, **21**: 327-333.
- Trang BQ., 2006.** Analyse de l'évolution phylétique de crustacés décapodes et de l'évolution moléculaire des éléments mobiles de la famille mariner présents chez ces organismes. *Thèse de doctorat de l'université du Maine, France.* pp 198.
- Trigui El-Menif N., Jaafar Kefi F., Ramdani M., Flower R. & Boumaiza M., 2007.** Habitat and associated fauna of *Lithophaga lithophaga* (Linné, 1758) in the Bay of Bizerta (Tunisia). *Journal of Shellfish Research*, **26**(2): 569-574.

- Truhaut R., 1977.** Ecotoxicology : objectives, principales, and perspectives. *Ecotoxicology Environmental Safty*, **1** : 151-173.
- Tsigenopoulos C.S. & Berrebi P., 2000.** Molecular phylogeny of North Mediterranean freshwater barbs (genus *Barbus*: Cyprinidae) inferred from cytochrome *b* sequences: biogeographic and systematic implications. *Molecular Phylogenetics Evolution*, **14**(2):165–179.
- Tu T.H., Silvestre F., Meulder D.B., Thome J.P., Phuong N.T. & Kestemont P., 2012.** Combined effects of deltamethrin, temperature and salinity on oxidative stress biomarkers and acetylcholinesterase activity in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Chemosphere*, **86**: 83–91.
- Valavanidis A., Vlahogianni T., Dassenakis M. & Scoulios M., 2006.** Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology Environmental Safty*, **64**: 178-189.
- Van de Peer Y. & De Wachter R., 1997.** Evolutionary relationships among the eukaryotic crown taxa taking into account site-to-site rate variation in 18S rRNA, *Journal Molecular Evolution*, **45**:619–630.
- Van der Beek et al., 1998
- Van der Oost R., Beyer J. & Vermeulen N. P. E., 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment a review. *Environmental Toxicology Pharmacology*, **13** : 57-149.
- Varo I., Pastor A., Ramo J. & Torreblanca A., 2012.** Long-term effect of temperature on bioaccumulation of dietary metals and metallothionein induction in *Sparus aurata*. *Chemosphere*, **87**: 1215–1221.
- Viarengo A., Lafaurie M., Gabrielides G. P., Fabbri R., Marro A. & Roméo M., 2000.** Critical evaluation of an intercalibration exercise undertaken in the framework of the MED POL biomonitoring program. *Marine Environmental Research*, **49** :1-18.
- 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. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **146 C**: 281-300.
- Vieira L.R., Sousa A., Frasco M.F., Lima I., Morgado F., Guilhermino L., 2008.** Acute effects of benzo[a]pyrene, anthracene and fuel oil on biomarkers of the common goby *Pomatoschistus microps* (Teleostei, Gobiidae), *Science of the total environment*, **395**:87-100.
- Vincke J. F., 1982.** Projet regional de développement de l'aquaculture en Méditerranée.

- Volpi Ghirardini A., Cavallini L., Delaney E., Tagliapietra D., Gheti P.F., Bettiol C & Argese E., 1999.** *H. diversicolor*, *N.succinea* and *P.cultrifera* (Polychaeta:Nereididea) as bioaccumulators of cadmium and zinc from sediments : Preliminary results in the venetian lagoon (Italy). *Toxicological & Environmental Chemistry*, **71** :457-474.
- W.H.O, 1987.
- Wang Y. 2004.** Patterns in Biodiversity and Distribution of Benthic Polychaeta in the Mississippi Canyon, Northern Gulf of Mexico. In. Texas A&M, p. 162pp.
- Waring J. & Maher W., 2005.** Arsenic bioaccumulation and species in marine Polychaeta. *Applied Organometallic Chemistry*, **19** :917-929.
- Warwick R.M. & Clarke K.R., 1991.** A comparison of some methods for analyzing changes in benthic community structure. *Journal of the Marine Biological Association United Kingdom*, **71**: 225–244.
- Warwick R.M., Ashman C.M., Brown A.R., Clarke K.R., Dowell B., Hart B., Lewis R.E., Shillabeer N., Somerfield P.J., Tapp J.F., 2002.** Inter-annual changes in the biodiversity and community structure of the macrobenthos in Tees Bay and the Tees estuary, UK, associated with local and regional environmental events. *Marine Ecology Progress Series*, **234**, 1–13.
- Weinberg J.R., Starczak V.R., Mueller C., Pesch G.C. & Lindsay S.M., 1990 -** Divergence between populations of a monogamous polychaete with male parental care: premating isolation and chromosome variation. *Marine Biology*, **107**(64): 107-112.
- Weisshappel J. B. F. & Svavarsson J., 1998.** Benthic amphipods (Crustacea: Malacostraca) in Icelandic waters: diversity in relation to faunal patterns from shallow to intermediate deep Arctic and North Atlantic Oceans. *Marine Biology*, **131**: 133-143.
- Wells P.G & Pocklington P., 1992.** Polychaetes. Key taxa for marine environmental quality monitoring. *Marine Pollution Bulletin*, **24**: 593-598.
- Wilson R.S., 2000.** Family Nereididae. In Beesley P.L., Ross G. J. B. & Glasby C. J. (Eds.), *Polychaeta and Allies: the Southern Synthesis* Melbourne: CSIRO Publishing, p. 138-141.
- Winnepenninckx B., Backeljau T. & De Wachter R., 1993.** Extraction of high molecular weight DNA from molluscs. *Trends Genetics*, **9** : 407.
- Woese C.R., 1987.** Macroevolution in the microscopic world. In Patterson C (eds) *Molecules and morphology in evolution: Conflict or compromise?*. Cambridge, England, Cambridge Univ. Press. pp 176-202.
- Won E. J., Kim R. O., Rhee J. S., Park G. S., Lee J., Shin K. H., Lee Y. M. & Lee J. S., 2011.** Response of glutathione S-transferase (GST) genes to cadmium

- exposure in the marine pollution indicator worm, *Perinereis nuntia*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, **154**: 82–92.
- Wood A.R, Apte S, MacAvoy E.S, Gardner J.P.A., 2007.** A molecular phylogeny of the marine mussel genus *Perna* (Bivalvia: Mytilidae) based on nuclear (ITS1 &2) and mitochondrial (COI) DNA sequences, *Molecular Phylogenetics Evolution*, **44**: 685-698.
- Xoplaki E., 2002.** *Climate variability over the Mediterranean. Thèse de Doctorat de l'Université de Berne (Suisse)*, 193 p.
- Yang C.F., Shen H. M., Shen Y., Zhuang Z. X. & Ong C. N., 1997.** Cadmium-induced oxidative cellular damage in human fetal lung fibroblasts (MRC-5 cells). *Environmental Health Perspectives*, **105**: 712-716.
- Younsi M., 2006.** Contribution à l'étude de la position taxonomique de *Perinereis cultrifera* au niveau du bassin méditerranéen -Littoral Nord Est Algérien-. *Mémoire en vue de l'obtention du diplôme: Magistère en Biologie Moléculaire et Cellulaire Université Mentouri Constantine*. p139.
- Younsi M., 2014.** Etude biologique de deux espèces de Polychètes Nereididae du littoral Est Algérien et analyse comparative: biogéographique, morphométrique et biochimique. *Thèse présentée pour l'obtention du grade de doctorat en biologie, Université Badji Mokhtar-Annaba-*, 171p. +annexes.
- Zaabi-Sendi S., 2013.** Etude faunistique et écologique des Annélides Polychètes de la côte nord-est de la Tunisie (Peninsule du Cap Bon, Méditerranée Ouest). *Thèse de doctorat, Université de Carthage, Faculté des Sciences de Bizerte*, 493p.
- Zaabi-Sendi S., 2013.** Etude faunistique et écologique des Annélides Polychètes de la côte nord-est de la Tunisie (Peninsule du Cap Bon, Méditerranée Ouest). *Thèse de doctorat, Université de Carthage, Faculté des Sciences de Bizerte*, 493p.
- Zaidi N. & Soltani N., 2011.** Environmental risks of two chitin synthesis inhibitors on *Gambusia affinis*: Chronic effects on growth and recovery of biological responses. *Biological Control.*, **59**: 106-113.
- Zanol J., Fauchald K. & PAULO. Paiva P.C., 2007.** A phylogenetic analysis of the genus *Eunice* (Eunicidae, polychaete, Annelida). *Zoological Journal of the Linnean Society*, **150**, 413–434.
- Zardoya & Meyer, 1996.** Evolutionary relationships of the coelacanth, lungfishes, and tetrapods based on the 28S ribosomal RNA gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **93**:5449–5454.
- Zardoya R, Cao Y, Hasegawa M, Meyer A., 1998.** Searching for the closest living relative(s) of tetrapods through evolutionary analyses of mitochondrial and nuclear data, *Molecular Biology and Evolution*, **15**(5):506–517.

- Zeghdoudi E., 2006.** Modélisation bioéconomique des pêcheries méditerranéennes. Application aux petits pélagiques de la baie de BouIsmaïl.
- Zenetos A. & Bogdanos C., 1987.** Benthic, community structure as a tool in a evaluating effects of pollution in elefsis bay, *Thalassographica*, **10** (1) : 21 pp.
- Zenetos A., Todorova V. & Alexandrov A., 2003.** «Marine biodiversity changes in zoobenthos in the Mediterranean Sea». Conférencier invité à la: *Conference on Sustainable Development of the Mediterranean and Black Sea Environment* (Conférence).
- ZeZina O.N., 1987.** Brachiopods collected by benthedi- cruise in the Mosambique Channel. *Bulletin du Muséum National de l'Histoire Naturelle de Paris*, **9**(3) : 551–563.
- Zghal F. & Ben Amor Z., 1986.** Polymorphism in *Perinereis cultrifera* (Annelida Polychaeta). *Adv. Invert. Reprod.*, **4** : 554.
- Zghal F. & Ben Amor Z., 1989.** Sur la présence en Méditerranée de la race épitoque de *Perinereis cultrifera* (Polychète). *Archives de l'Institut de Pasteur Tunis*, **66** : 293-301.
- Zhang, L.-B. et M. P. Simmons., 2006.** Phylogeny and Delimitation of the Celastrales Inferred from Nuclear and Plastid Genes. *Systematic Botany*, **31**: 122-137.
- Zinkl J. G., Lockhart W. L., Kenny S. A., & Ward F. J., 1991.** The effects of chlinesterase inhibiting insecticides on fish. In " Chemicals in Agriculture " (P. Mineau, Ed), **2** : 233-253.

Annexe

Annexe

SPPC: Saint-Pabu *Perinereis cultrifera*

SAPC: Saint-Aubin *Perinereis cultrifera*

RoPC: Roscoff *Perinereis cultrifera*

EKPC: El-Kala *Perinereis cultrifera*

AnPC: Annaba *Perinereis cultrifera*

SkPC: Skikda *Perinereis cultrifera*

CoPC: Collo *Perinereis cultrifera*

AIPC: Alger Pointe Pescade *Perinereis cultrifera*

BoPC: Bomerdes *Perinereis cultrifera*