

## SOMMAIRE

### INTRODUCTION GENERALE

### MATERIEL ET METHODES

<b>1. Matériel biologique</b> .....	8
1.1. <i>Ruditapes decussatus</i> .....	8
1.1.1. Position systématique.....	8
1.1.2. Morphologie.....	8
1.1.3. Biotope, mode alimentaire et reproduction.....	9
1.1.4. Répartition géographique.....	10
1.2. <i>Perna perna</i> .....	10
1.2.1. Morphologie.....	10
1.2.2. Position systématique.....	11
1.3. Anatomie générale d'un bivalve.....	12
1.4. Cycle de développement d'un bivalve.....	12
<b>2. Présentation des zones d'études</b> .....	13
2. 1. Caractéristiques du littoral Algérien.....	13
2.2. Situation géographique du golfe d'Annaba et des sites d'études.....	14
2.2.1. L'oued Seybouse.....	15
2.2.2. La plage El Hnaya.....	15
2.3. Situation géographique du lac El Mellah.....	16
<b>3. Stratégie d'échantillonnage de <i>R. decussatus</i> et <i>P. perna</i></b> .....	18
<b>4. Mesure des paramètres physico-chimiques de l'eau</b> .....	18
<b>5. Mesure de l'indice de condition</b> .....	18
<b>6. Dissection et prélèvement du manteau</b> .....	19
<b>7. Extraction des métabolites</b> .....	19
7.1. Dosage des protéines.....	21
7.2. Dosage des glucides.....	22
7.3. Dosage des lipides.....	23
7.4. Analyse de la composition en acides gras des lipides.....	24
<b>8. Expérience de laboratoire</b> .....	25

8.1. Présentation du cadmium .....	25
8.2. Présentation du malathion .....	26
8.3. Application des deux xénobiotiques.....	26
8.4. Extraction et dosage des métabolites et des biomarqueurs.....	26
8.4.1. Dosage du malondialdéhyde.....	27
8.4.2. Dosage du glutathion.....	28
8.4.3. Dosage de l'acétylcholinestérase.....	29
8.4.4. Dosage de l'activité catalase.....	30
<b>9. Traitement statistiques des données.....</b>	<b>30</b>

## RESULTATS

<b>1. Paramètres physico-chimiques de l'eau des sites de prélèvement.....</b>	<b>32</b>
<b>2. Composition biochimique du manteau.....</b>	<b>36</b>
2.1. Variation des taux de glucides.....	36
2.2. Variation des taux de protéines.....	40
2.3. Variation des taux de lipides.....	44
2.4. Composition en acides gras des lipides totaux du manteau.....	48
<b>3. Etude de l'indice de condition.....</b>	<b>54</b>
<b>4. Expérience de laboratoire.....</b>	<b>58</b>
4.1. Influence du cadmium sur les métabolites chez <i>R. decussatus</i> .....	58
4.1.1. Taux des glucides .....	58
4.1.2. Taux des protéines .....	59
4.1.3. Taux des lipides .....	60
4.2. Influence du cadmium sur les biomarqueurs chez <i>R. decussatus</i> .....	61
4.2.1. Taux du Glutathion (GSH).....	61
4.2.2. Taux du Malondialdéhyde (MDA).....	62
4.3. Influence du cadmium sur les métabolites chez <i>P. perna</i> .....	63
4.3.1. Taux des glucides .....	63
4.3.2. Taux des protéines .....	64
4.3.3. Taux des lipides .....	65
4.4. Influence du cadmium sur les biomarqueurs chez <i>P. perna</i> .....	66
4.4.1. Taux du Glutathion (GSH).....	66
4.4.2. Taux du Malondialdéhyde (MDA).....	67
4.5. Influence du malathion sur les métabolites chez <i>R. decussatus</i> .....	68

4.5.1. Taux des glucides .....	68
4.5.2. Taux des protéines .....	69
4.5.3. Taux des lipides .....	70
4.6. Influence du Malathion sur les biomarqueurs chez <i>R. decussatus</i> .....	71
4.6.1. L'Activité de l'Acétylcholinestérase.....	71
4.6.2. L'Activité de la catalase.....	72

## DISCUSSION

<b>1. Variations des paramètres physico-chimiques des milieux d'étude.....</b>	<b>73</b>
<b>2. Etude de la composition biochimique du manteau.....</b>	<b>75</b>
<b>3. Composition en acides gras du manteau.....</b>	<b>79</b>
<b>4. Etudes de l'indice de condition.....</b>	<b>81</b>
<b>5. Expérience de laboratoire.....</b>	<b>82</b>
5.1. Effet du traitement par le cadmium sur les biomarqueurs de <i>R. decussatus</i> et <i>P. perna</i> .....	84
5.1.1. Effet du traitement par le cadmium sur le glutathion .....	84
5.1.2. Effet du traitement par le cadmium sur le malondialdéhyde.....	85
5.2. Effet du traitement par le cadmium sur les paramètres biochimiques de <i>R. decussatus</i> et <i>P. perna</i> .....	86
5.3. Effet du traitement par le malathion sur les biomarqueurs de <i>R. decussatus</i> .....	86
5.3.1. Effet du traitement par le malathion sur l'acétylcholinestérase.....	86
5.3.2. Effet du traitement par le malathion sur l'activité catalase.....	88
5.4. Effet du traitement par le malathion sur les paramètres biochimiques.....	89
5.4.1. Effet du traitement sur le taux des glucides.....	89
5.4.2. Effet du traitement sur le taux des protéines.....	89
5.4.3. Effet du traitement sur le taux des lipides.....	90

<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>91</b>
--	-----------

## RESUMES

Français.....	94
Anglais.....	95
Arabe.....	96

<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	97
<b>ANNEXES</b> .....	120

## *LISTE DES FIGURES*

## Liste des figures

N°	Titre	Pages
<b>01</b>	Morphologie externe de la palourde.	<b>09</b>
<b>02</b>	Morphologie et Anatomie de la moule.	<b>11</b>
<b>03</b>	Anatomie générale d'un bivalve.	<b>12</b>
<b>04</b>	Cycle de développement d'un bivalve.	<b>13</b>
<b>05</b>	Présentation des sites d'échantillonnage au niveau du golfe d'Annaba.	<b>16</b>
<b>06</b>	Situation géographique de la région d'el Kala.	<b>17</b>
<b>07</b>	Présentation des sites d'échantillonnage au niveau du lac El Mellah.	<b>17</b>
<b>08</b>	Extraction des glucides, protéines et lipides.	<b>20</b>
<b>09</b>	Dosage des protéines: droite de régression exprimant les absorbances en fonction de la quantité d'Albumine ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2$ : coefficient de détermination).	<b>21</b>
<b>10</b>	Dosage des glucides: droite de régression exprimant les absorbances en fonction de la quantité de glucose ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2$ : coefficient de détermination).	<b>22</b>
<b>11</b>	Dosage des lipides: droite de régression exprimant les absorbances en fonction de la quantité de lipide ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2$ : coefficient de détermination).	<b>23</b>
<b>12</b>	Variation mensuelle de la température ( $^{\circ}\text{C}$ ) de l'eau des deux sites du lac El Mellah: le nord et le sud durant une année.	<b>34</b>
<b>13</b>	Variation mensuelle de la salinité (psu) de l'eau des deux sites du lac el Mellah: le nord et le sud durant une année.	<b>34</b>
<b>14</b>	Variation mensuelle de la température ( $^{\circ}\text{C}$ ) de l'eau de mer des deux sites du golfe d'Annaba: El Hnaya et Seybouse durant une année.	<b>35</b>
<b>15</b>	Variation mensuelle de la salinité (psu) de l'eau de mer des deux sites du golfe d'Annaba, El Hnaya et Seybouse durant une année.	<b>35</b>
<b>16</b>	Variation mensuelle du taux de glucides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du manteau de <i>Ruditapes decussatus</i> pêché dans la lagune el Mellah: nord et sud durant une année ( $m \pm s$ ; $n=5$ ) (**différence très significative *** différence très hautement significative).	<b>37</b>
<b>17</b>	Variation mensuelle du taux de glucides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du manteau de <i>Perna perna</i> pêché dans le golfe d'Annaba: el Hnaya et Seybouse durant une année ( $m \pm s$ ; $n=5$ ) (**différence très significative *** différence très hautement significative).	<b>39</b>

<b>18</b>	Variation mensuelle du taux de protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du manteau de <i>Ruditapes decussatus</i> pêché dans la lagune el Mellah: Nord et Sud durant une année ( $m \pm s$ ; $n=5$ ) (**différence très significative *** différence très hautement significative).	<b>41</b>
<b>19</b>	Variation mensuelle du taux de protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du manteau de <i>Perna perna</i> pêché dans le golfe d'Annaba: el Hnaya et Seybouse durant une année ( $m \pm s$ ; $n=5$ ) (**différence très significative *** différence très hautement significative).	<b>43</b>
<b>20</b>	Variation mensuelle du taux de lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du manteau de <i>Ruditapes decussatus</i> pêché dans la lagune el mellah: Nord et Sud, durant une année ( $m \pm s$ ; $n=5$ ).	<b>45</b>
<b>21</b>	Variation mensuelle du taux de lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du manteau de <i>Perna perna</i> pêché dans le golfe d'Annaba: el Hnaya et Seybous durant une année 2008 ( $m \pm s$ ; $n=5$ ) (**différence très significative *** différence très hautement significative).	<b>47</b>
<b>22</b>	Chromatographie de l'analyse qualitative des lipides chez <i>R. decussatus</i> provenant du lac el Mellah.	<b>49</b>
<b>23</b>	Variation saisonnières de la teneur en acides gras totaux chez <i>R. decussatus</i> durant l'année de l'étude.	<b>49</b>
<b>24</b>	Variation saisonnières des acides gras saturés (AGS), monoinsaturés (AGMI) et des acides gras polyinsaturés (AGPI) chez <i>R. decussatus</i> durant l'année de l'étude ( $m \pm s$ , $n=3$ ).	<b>51</b>
<b>25</b>	Chromatographie de l'analyse qualitative des lipides chez <i>P. perna</i> provenant du golfe d'Annaba.	<b>52</b>
<b>26</b>	Variation saisonnières de la teneur en acides gras totaux chez <i>P. perna</i> durant l'année de l'étude.	<b>52</b>
<b>27</b>	Variation saisonnières des acides gras saturés (AGS), monoinsaturés (AGMI) et des acides gras polyinsaturés (AGPI) chez <i>P. perna</i> durant l'année de l'étude ( $m \pm s$ , $n=3$ ).	<b>54</b>
<b>28</b>	Variation mensuelle de l'indice de condition chez <i>R. decussatus</i> pêché dans lac el Mellah: le nord et le sud, ( $m \pm s$ ; $n=15$ ).	<b>55</b>
<b>29</b>	Variation mensuelle de l'indice de condition chez <i>P. perna</i> pêché dans le golfe d'Annaba: el Hnaya et Seybouse durant une année ( $m \pm s$ ; $n=15$ )	<b>57</b>
<b>30</b>	Taux des glucides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de <i>R. decussatus</i> traité au cadmium, pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>58</b>

<b>31</b>	Taux des protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de <i>R. decussatus</i> traité au cadmium, pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>59</b>
<b>32</b>	Taux des lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de <i>R. decussatus</i> traité au cadmium, pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>60</b>
<b>33</b>	Taux du GSH ( $\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de <i>R. decussatus</i> traité au cadmium pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>61</b>
<b>34</b>	Taux de MDA ( $\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines tissulaire) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de <i>R. decussatus</i> traité au cadmium pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>62</b>
<b>35</b>	Taux des glucides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de <i>P. perna</i> traité au cadmium, pêché au niveau du golfe d'Annaba ( $m \pm s$ , $n=5$ ).	<b>63</b>
<b>36</b>	Taux des protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de <i>P. perna</i> traité au cadmium, pêché au niveau du golfe d'Annaba ( $m \pm s$ , $n=5$ ).	<b>64</b>
<b>37</b>	Taux des lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de <i>P. perna</i> traité au cadmium, pêché au niveau du golfe d'Annaba ( $m \pm s$ , $n=5$ ).	<b>65</b>
<b>38</b>	Taux du GSH ( $\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines tissulaire) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de <i>P. perna</i> traité au cadmium, pêché au niveau du golfe d'Annaba ( $m \pm s$ , $n=5$ ).	<b>66</b>
<b>39</b>	Taux de MDA ( $\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de <i>P. perna</i> traité au cadmium, pêché au niveau du golfe d'Annaba ( $m \pm s$ , $n=5$ ).	<b>67</b>
<b>40</b>	Taux des glucides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de <i>R. decussatus</i> traité au malathion, pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>68</b>
<b>41</b>	Taux des protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de <i>R. decussatus</i> traité au malathion, pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>69</b>
<b>42</b>	Taux des lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de <i>R. decussatus</i> traité au malathion, pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>70</b>

<b>43</b>	Activité spécifique de l'AChE ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de <i>R. decussatus</i> traité au malathion, pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>71</b>
<b>44</b>	Activité spécifique de la CAT ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de <i>R. decussatus</i> traité au malathion, pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ , $n=4$ ).	<b>72</b>

# *LISTE DES TABLEAUX*

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Pages</b>
<b>01</b>	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des protéines.	<b>21</b>
<b>02</b>	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des glucides.	<b>22</b>
<b>03</b>	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des lipides.	<b>23</b>
<b>04</b>	Dosage de la catalase.	<b>30</b>
<b>05</b>	Classement saisonnières du taux de glucides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu), au niveau du manteau de <i>R. decussatus</i> pêché dans deux sites de la lagune el Mellah, (Nord et Sud) durant une année; ( $m \pm s$ ; $n=5$ ) par le test HSD de Tukey.	<b>37</b>
<b>06</b>	Classement saisonnières du taux de glucides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu), test au niveau du manteau de <i>P. perna</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba, (El Hnaya et Seybouse) durant une Année; ( $m \pm s$ ; $n=5$ ) par le test HSD de Tukey.	<b>39</b>
<b>07</b>	Classement saisonnières du taux de protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu), au niveau du manteau de <i>R. decussatus</i> pêché dans deux sites de la lagune el Mellah, (nord et sud) durant une année; ( $m \pm s$ ; $n=5$ ) par le test HSD de Tukey.	<b>41</b>
<b>08</b>	Classement saisonnières du taux de protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu), au niveau du manteau de <i>P. perna</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba, (El Hnaya et Seybouse) durant une année; ( $m \pm s$ ; $n=5$ ) par le test HSD de Tukey.	<b>43</b>
<b>09</b>	Classement saisonnières du taux de lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu), au niveau du manteau de <i>R. decussatus</i> pêché dans deux sites de la lagune el Mellah, (Nord et Sud) durant une année; ( $m \pm s$ ; $n=5$ ) par le test HSD de Tukey.	<b>45</b>
<b>10</b>	Classement saisonnières du taux de lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu), au niveau du manteau de <i>P. perna</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba, (El Hnaya et Seybouse) durant une année; ( $m \pm s$ ; $n=5$ ) par le test HSD de Tukey.	<b>47</b>
<b>11</b>	Variation saisonnières de la composition en acides gras du manteau de <i>Ruditapes decussatus</i> dans la lagune el Mellah ( $m \pm s$ , $n=3$ ).	<b>50</b>
<b>12</b>	Variation saisonnières de la composition en acides gras du manteau de <i>Perna perna</i> pêché dans le golfe d'Annaba ( $m \pm s$ , $n=3$ ).	<b>53</b>
<b>13</b>	Classement saisonnières du taux de l'indice de condition, chez <i>R. decussatus</i> pêché dans deux sites de la lagune el Mellah, (nord et sud) durant une année; ( $m \pm s$ ; $n=5$ ) par le test HSD de Tukey.	<b>55</b>
<b>14</b>	Classement saisonnières de l'indice de condition chez <i>P. perna</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba, (El Hnaya et Seybouse) durant une année ( $m \pm s$ ; $n =5$ ) par le test HSD de Tukey.	<b>57</b>

# *INTRODUCTION*

## INTRODUCTION GENERALE

Parmi les multiples facteurs qui déterminent la santé humaine et le développement des pathologies, la qualité des milieux (air, eau, sol...), les contaminants (biologiques, chimiques, physiques) jouent un rôle fondamental. En effet, il apparaît que certaines pathologies sont aggravées, voire déterminées, par l'environnement et l'approfondissement des connaissances sur le rôle de l'environnement sur la santé constituent un enjeu scientifique majeur. Depuis le début du XX<sup>ème</sup> siècle, l'environnement (atmosphérique, terrestre et aquatique) a été soumis à la pression croissante des activités industrielles et humaines.

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). Le milieu marin et plus particulièrement les zones côtières sont soumis à toutes sortes de pollutions d'origine terrigène et marine. En effet les pollutions anthropiques dues aux apports de substances chimiques par le vecteur des voies fluviales, des vents, de l'air en basse altitude ou des rejets directs, sont les principales sources de dysfonctionnement des écosystèmes marins. Les contaminants majeurs, dont certains sont également d'origine naturelle, sont regroupés en plusieurs familles: les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), les chlorophénols, les polychlorobiphényles (PCBs), les hexachlorohexanes, les hexachlorobenzènes, les dioxines, les organoétains, les pesticides organophosphorés, les insecticides organophosphorés, les carbamates et les métaux lourds tels que le cadmium, le mercure, l'argent, le plomb le zinc, le cuivre ou le fer (Vidal, 2001). En plus des nouvelles molécules chimiques synthétisées. Ces substances étrangères aux organismes vivants (hormis certains métaux essentiels), ou xénobiotiques, contaminent tous les compartiments (sédiments, colonnes d'eau) et par la même de nombreuses espèces animales aquatiques.

Actuellement, les gestionnaires de l'environnement envisagent un contrôle strict des ressources naturelles telles que l'eau, permettant de respecter l'ensemble des communautés vivant dans les écosystèmes. Pour atteindre un tel objectif, il est important de disposer d'outils pertinents qui permettent de rendre compte de la qualité des écosystèmes et de la santé des communautés rattachées à ces écosystèmes. L'analyse chimique, qui mesure les concentrations en produits toxiques dans les milieux, permet de répondre partiellement à ces besoins.

Si cette approche reste indispensable pour identifier les causes, elle se restreint toutefois aux composés dont la présence est suspectée et pour lesquels une méthode de dosage, dans des matrices souvent complexes, est disponible. Aussi, la grande diversité des polluants potentiellement présents dans le milieu est à surveiller. Enfin, si les analyses chimiques renseignent sur la présence ou non d'un polluant dans les différents compartiments de l'écosystème (eau, sol, sédiments, organismes), cela reste insuffisant pour prédire l'impact des mélanges de substances toxiques sur les organismes.

Les nombreuses interactions entre polluants et entre polluants/organismes, qui existent dans le cas de pollutions multiples, ainsi que la biodisponibilité de ces polluants dans l'environnement ne sont pas prises en compte dans l'approche purement analytique. De plus, les analyses, lorsqu'elles sont possibles, posent rapidement un problème de coût et de personnel compétent. Si on considère que beaucoup de contaminants, comme les polluants organiques, peuvent causer des effets biologiques significatifs, avec des concentrations très faibles dans le milieu, la recherche peut se tourner vers le suivi de ces effets basés sur la biologie plutôt que le suivi chimique des contaminants eux-mêmes (Lam & Gray, 2003).

La recherche environnementale, initiée dans les années 60, a révélé que beaucoup d'organismes peuvent accumuler certains toxiques entraînant des concentrations corporelles beaucoup plus élevées que celle présente dans leur environnement (Portmann, 1975). Les concentrations corporelles en contaminants peuvent être ultérieurement utilisées pour en évaluer leur absorption par les organismes vivants et l'augmentation de la concentration d'un polluant depuis l'environnement vers l'organisme (bioaccumulation) où certains tissus vont avoir un rôle prépondérant, en séquestrant de façon préférentielle le polluant.

Ces contaminants peuvent être transférés dans la chaîne alimentaire. Ils vont montrer un accroissement de leur concentration au fur et à mesure qu'ils circulent vers les niveaux supérieurs du réseau trophique dans lequel l'homme est le consommateur final. Cette bioamplification peut alors augmenter les possibilités d'impacts. Les analyses biologiques qui intègrent les interactions entre tous les polluants présents et les organismes, permettent de fournir un diagnostic plus réaliste de l'impact de la pollution sur les organismes et les écosystèmes.

L'impact d'un stress d'origine anthropique sur les écosystèmes, comme la pollution chimique, peut être mesuré à différents niveaux qui se distinguent en termes de sensibilité et de pertinence écologique. Dans ce contexte, les organismes ou les communautés qui réagissent à un

effet environnemental, par des variations mesurables au niveau des effectifs des populations (abondance et diversité d'espèces), permettent de mettre en évidence un changement significatif dans l'environnement et peuvent être considérés comme des «bio-indicateurs». Plusieurs programmes de surveillances dans le monde utilisent «des espèces sentinelles» telle que les moules et les huîtres (programme américain- the Mussel Watch Project (Bayne, 1999) et dans le même esprit le Réseau National d'Observation de la qualité du milieu (RNO) créée en France par l'IFREMER et le ministère de l'environnement en tant qu'indicateurs de contaminants dans les environnements marins et estuariens. Les espèces bioaccumulatrices retenues comme bioindicateurs sont en général des espèces sessiles, abondantes, relativement résistantes aux toxiques et d'une durée de vie suffisante ce qui leur confère une capacité d'intégration des variations de la qualité du milieu (Amiard *et al.*, 1989).

En raison de leur importance écologique, leur mode de vie sédentaire, de leur répartition, de leur longévité, de leur abondance et leur facile à être collectés, les mollusques est plus particulièrement les bivalves, sont les indicateurs les plus fréquents utilisés dans les programmes d'évaluation de la qualité de l'environnement marin et estuariens dont les plus utilisées sont *Crassostrea gigas*, *Ruditapes decussatus*, *Perna perna*, *Mytilus galloprovincialis* (Djediat & Boukroufa, 1990; Paulet *et al.*, 1992; Gregory & George, 1996; Aït Aïssa *et al.*, 2003; Espinosa *et al.*, 2007).

Les mollusques bivalves, sont des ressources halieutiques d'une grande importance économique ils représentent d'excellentes espèces à haute valeur nutritionnelle en raison de la qualité de leur composition biochimique en protéines, glucides, lipides et leur richesse en

éléments minéraux, en vitamines et en acides gras insaturés (Cears *et al.*, 1998) . De plus, leur physiologie et leur biochimie sont relativement bien connues, ce qui permet d'interpréter raisonnablement les réponses de ces organismes aux perturbations environnementales (Parant, 1998). Dans le but de garantir l'augmentation quantitative et qualitative de leur production, il est important d'identifier les facteurs de stress, et leur impact sur ces espèces (Gagné *et al.*, 2000; Siah *et al.*, 2002).

L'exploitation de ces ressources reste tributaire de la qualité d'une part de leur composition biochimique et d'autre part de leur milieu environnemental (Smaoui- Damark *et al.*, 2006). Les organismes vivants dans un écosystème pollué, développent diverses stratégies physiologiques et biochimiques face à la toxicité des polluants chimiques (Jebali *et al.*, 2011). La mesure des effets biologiques face à ces produits chimiques est devenue très importante dans l'évaluation de la qualité de l'environnement côtier (El Jourmi *et al.*, 2012), et repose essentiellement sur l'utilisation de marqueurs biologiques, ou biomarqueurs. La pertinence écologique de ces réponses biochimiques réside dans leurs relations avec les effets nocifs observés à des niveaux plus élevés de l'organisme, des effets histologiques (Morales - Caselles *et al.*, 2007), physiologiques (Moreira *et al.*, 2006), comportementaux (Vieira *et al.*, 2009), des effets sur la population (Tlili *et al.*, 2010) et éventuellement, au niveau de l'écosystème (Moreira *et al.*, 2006; Vieira *et al.*, 2009).

Les biomarqueurs, outils fondamentaux de biosurveillance, sont définis comme étant des variations (biochimiques, cellulaires, physiologiques ou comportemental) qui, dans un tissu, un liquide corporel ou un organisme entier, permettent de mettre en évidence l'exposition et/ou les effets d'un ou plusieurs contaminants (Lagadic *et al.*, 1997; Galloway & Depledge, 2001; Vander Oost *et al.* , 2003). Ce sont des outils complémentaires dans le domaine de l'évaluation de la qualité des écosystèmes (MC Crthy & Shugar, 1990; Peakall, 1994).

Ils permettent donc de diagnostiquer de façon précoce des dysfonctionnements physiologiques de l'individu, c'est-à-dire avant que des dommages tissulaires ou sur les principales fonctions biologiques ne soient détectables (Van der Oost *et al.*, 2003), c'est pourquoi les biomarqueurs sont considérés comme des outils utiles et sont de plus en plus intégrées dans les programmes de biosurveillance (Lam & Gray, 2003; Viarengo *et al.*,1995). Les biomarqueurs sont classés en trois catégories (Lagadic *et al.*, 1997; Kammenga *et al.*, 2000) qui sont « les biomarqueurs d'exposition », proches d'événements moléculaires précoces, traduisant l'exposition des organismes à des composés toxiques.

et les « biomarqueurs d'effets », indicateurs d'atteintes de fonctions physiologiques des individus exposés et les « biomarqueurs de sensibilité », informent sur le rôle des variations génétiques dans les réponses observées.

De nombreux biomarqueurs biochimiques et cellulaires spécifiques mais aussi non spécifiques ont été étudiés chez les organismes aquatiques, et particulièrement chez les mollusques bivalves et les mécanismes moléculaires mis en cause ont été relativement bien décrits (Bodin *et al.*, 2004; Magni *et al.*, 2005). Parmi ces biomarqueurs, on peut citer les biomarqueurs spécifiques tels que, l'acétylcholinestérase (AChE) (Magni *et al.*, 2005; Venkateswara- Rao, 2006), la glutathion S-Transférase (GST) (Quiniou *et al.*, 2007; Botté *et al.*, 2011), les monooxygénase à cytochrome P450 (Yang *et al.*, 2004; Behrens & Segner, 2005), la métallothionéine (MT) (Geffard *et al.*, 2005; Dendero *et al.*, 2006). Et l'éthoxyrésorufine-O-deéthylase(EROD) (Gorbi *et al.*, 2008; Benelli *et al.* , 2006). Il existe également des biomarqueurs non spécifiques qui ont été largement étudiés et utilisés pour la détection des niveaux de pollution , comme le glutathion réduit (GSH) impliqué dans le système de défense antioxydant (Sureda *et al.*, 2006), la catalase (CAT) (Almeida *et al.*, 2007; Bergayou *et al.*, 2009), les vitamines (A, C, E) (Torres *et al.* , 2002) et le malondialdéhyde (MDA) qui est un produit issue de la peroxydation lipidiques des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires lors d'un stress oxydatif important, et qui est utilisé comme un bon biomarqueur des lésions cellulaires et tissulaires (Dewes *et al.*, 2006; Orus & Usta, 2007).

Plusieurs biomarqueurs sont des paramètres biologiques constitutionnels tel que les métabolites qui sont soumis à des variations naturelles causées par des facteurs intrinsèques et extrinsèques comme la production d'énergie, le développement ontogénique, la reproduction et la croissance, mais aussi par la variation des facteurs écologiques tel que la température, la salinité et la disponibilité de la nourriture, qui eux même varient selon les saisons (Sheehan & Power, 1999; Kagley *et al.*, 2003; Bodin *et al.* , 2004, Lau *et al.*, 2004; Petrouik *et al.*, 2004).

L'exposition des organismes aquatiques à une pollution par divers xénobiotiques et métaux lourds induits chez ces organismes un stress oxydatif important qui se définit comme un déséquilibre de la balance entre le système prooxydant et le système anti oxydant et faveur du système prooxydant (Halliwell & Gutteridge, 1999).

Ce déséquilibre résulte d'une réaction oxydative qui conduit à la formation d'espèces oxygénées réactives (EOR), qui sont des composés toxiques pour l'organisme, provoquant des

dommages cellulaires et tissulaires lorsque leur taux de synthèse dépasse leur taux de dégradation par les enzymes du système anti oxydant (Tatrais *et al.*, 2002; Abele & Pantarulo, 2004). Ces espèces oxygénées réactives ont essentiellement le radical anion super oxyde ( $O_2^-$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et les radicaux hydroxyles (OH).

Certaines espèces sont capables de survivre et de se reproduire dans des milieux considérablement dégradés. La capacité d'un organisme à s'adapter à un environnement altéré par la contamination anthropique, dépend principalement des mécanismes efficaces de la détoxification de divers composés endogène et exogènes (Jakanovic, 2001). Sachant que les organismes marins mettent en place différents moyens de lutte face à un polluant, il semblerait que tous ces moyens coûtent à l'organisme ses réserves métaboliques spécialement en énergie (Van, 2002; Sepulveda *et al.*, 2003; Widmeyer & Couper, 2003). Ces réserves énergétiques peuvent donc être de bon biomarqueurs de l'état de santé de l'organisme et de son environnement (Molven & Goksoyr, 1993). En effet, la répartition de l'énergie entre les fonctions fondamentales de l'organisme telle que la croissance et la reproduction, peut prédire l'impact de l'accumulation des polluants sur ces fonctions et sur la survie des organismes exposés à des contaminants (Kooijman, 2002). L'exposition fréquente des bivalves aux polluants de l'environnement dû à leur grande capacité de filtration et l'accumulation cause des lésions structurales et des perturbations fonctionnelles de plusieurs organes et tissus dont les plus étudiés sont la glande digestive, les gonades et le manteau (Seed & Suchnek, 1992).

Les côtes sont depuis toujours le lieu privilégié d'installation des ports, des villes et des activités industrielles. La moitié de la population mondiale actuelle est localisée à moins de 50 Km des rivages et il est de plus en plus question pour l'homme d'annexer cette partie du domaine marin en la domestiquant.

L'Algérie avec ses longues côtes d'environ 1200 Km, Regroupant 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, à cet égard il reste un élément clé de conservation de la biodiversité marine et côtière de l'ensemble du bassin méditerranéen.

L'exploitation des mollusques bivalves et leur intérêt dans les études écotoxicologiques fait actuellement l'objet d'un grand nombre de travaux de recherche, à l'Est de l'Algérie et plus précisément la région d'El Kala, Annaba et Skikda. C'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail

qui a pour objectif d'étudier les processus biologiques: les paramètres physico-chimiques de l'eau des sites de prélèvements et quelques aspects de la reproduction, comme la composition biochimique du manteau de deux espèces de bivalves, ainsi que les différents indices de condition en fonction de 4 saisons différents chez la palourde *Ruditapes decussatus* du lac el Mellah et la moule *Perna perna* du golfe d'Annaba. Cette étude a été complétée par le suivi saisonnier de la composition en acides gras du manteau des deux espèces.

Ensuite, l'étude de la réponse des systèmes anti oxydants en conditions de stress, a été effectuée en conditions contrôlées au laboratoire, ce travail s'articule en deux parties:

La première partie consiste à traiter les palourdes et les moules par un métal lourd le « cadmium » pendant 21 jours à (100 et 200 µg/l) puis à évaluer quantitativement d'une part les métabolites (protéines, lipides et glucides) dans plusieurs tissus et d'autre part les biomarqueurs de la pollution, le Malondialdéhyde (MDA) et le glutathion GSH).

La seconde partie est consacré à traiter les palourdes par un pesticide organophosphoré « le malathion » pendant 24 h à 100 et 300 µg/l et ensuite à effectuer les dosages des métabolites (lipides, protéines et glucides) ainsi que ceux de la catalase et de l'acétylcholinestérase.

*MATERIEL*  
*&*  
*METHODES*

## MATERIEL ET METHODES

### 1. Matériel biologique

#### 1.1. *Ruditapes decussatus*

Ce mollusque bivalve vit en zone côtière, dans les sédiments meubles de l'infralittoral en zone de balancement des marées. Il se rencontre aussi bien dans des endroits toujours submergés (Méditerranée) qu'en zone exondée (côte atlantique). L'habitat de ce lamellibranche est en partie contrôlé par l'hydrodynamisme. Cette espèce nécessite un bon compromis entre un mode relativement calme loin des courants violents et un mode abrité où l'envasement serait trop important.

##### 1.1.1. Position systématique

La palourde européenne, vraie palourde ou encore palourde franche est officiellement dénommée *Ruditapes decussatus* depuis 1971 (Fischer- Piette & Metivier, 1971): elle est cependant souvent désignée par des synonymes, *Veneripus decussatus*, *Amygdala decussatus*, *Paphia decussatus* et *Venus decussatus* et *Venus truncata*.

Les termes anglais qui la désignent sont «Butterfish clam» ou encore «Grooved carpet shell». Sa position systématique est la suivante:

**Embranchement:** Mollusca

**Classe:** Bivalvia (Linné, 1758)

**Sous- classe:** Hétérodonta

**Ordre:** Veneroida

**Famille:** Veneridae

**Sous famille:** Tapetinae

**Genre:** *Ruditapes*

**Espèce:** *decussatus* (Linné, 1758).

##### 1.1.2. Morphologie

*Ruditapes decussatus* possède une coquille équivalve, inéquilatérale (Fig 1). La région postérieure est plus développée, plus haute et plus au moins tranquée à son extrémité. La coquille est ornée d'un double régime de stries, des stries rayonnantes portant du sommet et de stries concentriques. Ces dernières sont particulièrement bien marquées dans la région antérieure et surtout dans la région postérieure formant les décussations caractéristiques. La charnière comprend trois dents cardinales dans chaque valve. La coloration de la coquille est blanchâtre à

brun clair extérieurement, avec ou sans des motifs bruns plus intenses, l'intérieur de la coquille est blanchâtre à jaunâtre.



**Figure 1.** Morphologie externe de la palourde ([www.google.fr/image](http://www.google.fr/image))

### **1.1.3. Biotope, mode alimentaire et reproduction**

Les gisements naturels sont situés en zones côtières semi-abritée: embouchures de fleuves (Ria de Faro au Portugal, Rio de Arosa en Espagne): baies, lagunes et étang littoraux en communication temporaire ou permanente avec la mer. La palourde se nourrit par filtration du matériel en suspension dans l'eau de mer dans la couche située à l'interface eau- sédiment ou déposée sur le sédiment depuis peu. Elle se nourrit à la fois d'algues planctoniques et benthiques (diatomées, cyanophycées: Vilela, 1950).

Les siphons servent de communication entre l'eau sus-jacente et l'animal enfoui. Un système de pompage amène l'eau sur le filtre constitué par les branchies, la part élevé de la biomasse algale dans son contenu stomacal fait de se bivalve un consommateur primaire dans la chaîne alimentaire.

Espèce gonochorique, la palourde présente cependant de l'hermaphrodisme juvénile (Lucas, 1978) mais qui ne se manifeste pratiquement jamais dans les glandes génitales fonctionnelles (un seul cas a été signalé jusqu'ici par Pattridge (1977).

Les gonades visibles dès que l'individu atteint une taille de 4 à 5 mm, parfois moins, régressent totalement en fin de cycle (l'hiver). Ainsi chaque année, le cycle sexuel débute par une réactivation des gonades et la formation des glandes génitales.

Les produits sexuels sont émis dans l'eau où a lieu la fécondation. Après une courte vie larvaire dans le plancton, les animaux tombent sur le fond et commencent leur phase de vie benthique. La maturation et la ponte ne s'effectuent que si la température de l'eau atteint une valeur minimale de 20°C (Gallois, 1977).

#### **1.1.4. Répartition géographique**

La palourde *Ruditapes decussatus* (L.), est présente en mer du Nord et dans le nord-est atlantique, depuis les côtes norvégiennes jusqu'aux Açores et aux côtes sénégalaise. Elle est commune dans les zones estuariennes et lagunaires de la majeure partie du bassin méditerranéen (Parache, 1982; Lubet, 1984). On la rencontre dans des sables, des graviers envasés ou des vases au-dessous du niveau de mi- marée (Tebble, 1966). Sur les côtes Algériennes, ce mollusque a été signalé pour la première fois dans lac El Mellah en Avril 1988 (Draredja, 1992), dans la baie d'Alger et dans le golfe d'arzew.

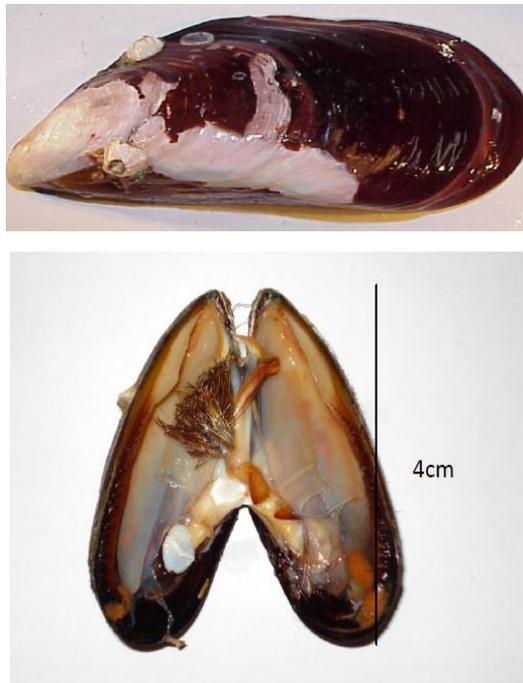
#### **1.2. *Perna perna***

La moule africaine *Perna perna* est un mollusque bivalve qui possède une charnière munie d'une ou deux dents; fréquemment une dans la valve gauche et deux dans la valve droite. Les muscles rétracteurs du pied et muscles rétracteur du byssus forment une empreinte médio-dorsale sur la coquille, le muscle rétracteur postérieur du byssus à une empreinte bien visible et adjacente à celle de l'adducteur postérieur, l'intérieur des valves est nacré, blanc rosé (Figure. 2). Elle peut atteindre une longueur maximale de 18 cm. On la rencontre dans les substrats durs de l'étage infralittoral et jusqu'à 100 m de profondeur. *P. parna* est une espèce largement répandue dans le monde puisqu'on la rencontre dans le monde sur les côtes Est et Ouest de l'atlantique tropical et subtropical, en Amérique du Sud et sur les bords de la Méditerranée (Afrique du Nord: Algérie, Tunisie, Maroc).

##### **1.2.1. Morphologie**

Comme la plupart des bivalves, les moules sont des animaux filtreurs qui se nourrissent en retenant les éléments en suspension dans l'eau de mer, l'eau est aspirée grâce au siphon inhalant qui filtrée par les filaments des branchies qui agglomèrent dans du mucus les particules nutritives (phytoplancton, zooplancton et autres matières organiques). La moule est un bivalve lamelibranche, sa coquille est constituée de 95% de carbonate de calcium. Sur la face ventrale (Figure. 2), les bords de deux lobes sont libres, délimites la cavité palléale. En avant du bouton exhalant, on trouve le vélum qui est un tissu conjonctif et musculaire capable de s'entendre et de

se rétracter. Le manteau à un rôle dans la circulation de l'eau, il participe à la respiration et accumule des réserves mais son rôle principal est d'assurer la formation de la coquille. Les muscles adducteurs s'opposent à l'action mécaniques du ligament, adducteur, et par leur contraction assurent la fermeture de valves. Le pied (organe de locomotion) est une saillie musculaire situé au-dessous de la masse viscérale et comprenant la glande byssogène qui occupe sa grande partie ou elle forme un sillon entouré, sur presque toute sa longueur. Le byssus (organe de fixation) est constitué de nombreux filaments terminés par un disque adhésif. Les branchies sont aux nombres de deux et sont des organes de la nutrition et de la respiration (la moule filtre jusqu'à 3 litres d'eau par heure).



**Photo personnelle**

**Figure 2.** Morphologie et Anatomie de *Perna perna*

**1.2.2. Position systématique:** sa position systématique est la suivante:

**Embranchement:** Mollusques

**Famille:** Mytilidés

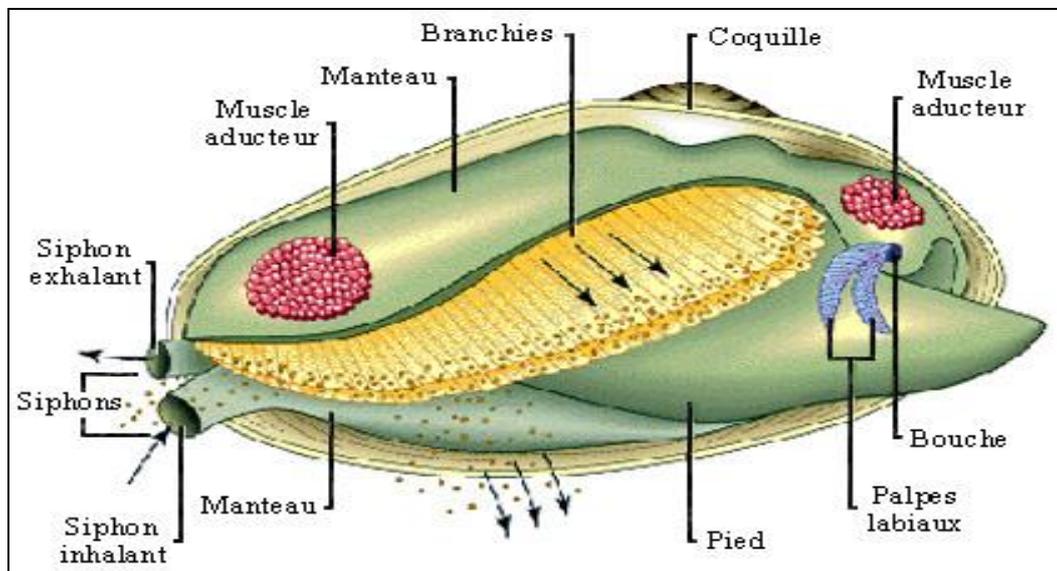
**Classe:** Bivalve

**Genre:** *Perna*

**Espèce:** *perna*

### 1.3. Anatomie générale d'un bivalve

La figure 3 représente l'anatomie interne d'un bivalve. Les valves de la coquille se referment grâce à deux muscles adducteurs. Le manteau est formé de deux lobes très élargis qui délimitent une cavité palléale abritant les branchies de l'animal. Les bords du manteau sont soudés ventralement et se différencient dans la région postérieure en deux siphons: un siphon branchial inhalant et un siphon anal exhalant, qui assurent la circulation d'eau en permanence dans l'organisme. La masse viscérale, en région médiane, englobe la glande digestive, les reins, les gonades et le cœur. Le pied volumineux, permet l'enfouissement rapide des bivalves dans le sédiment.

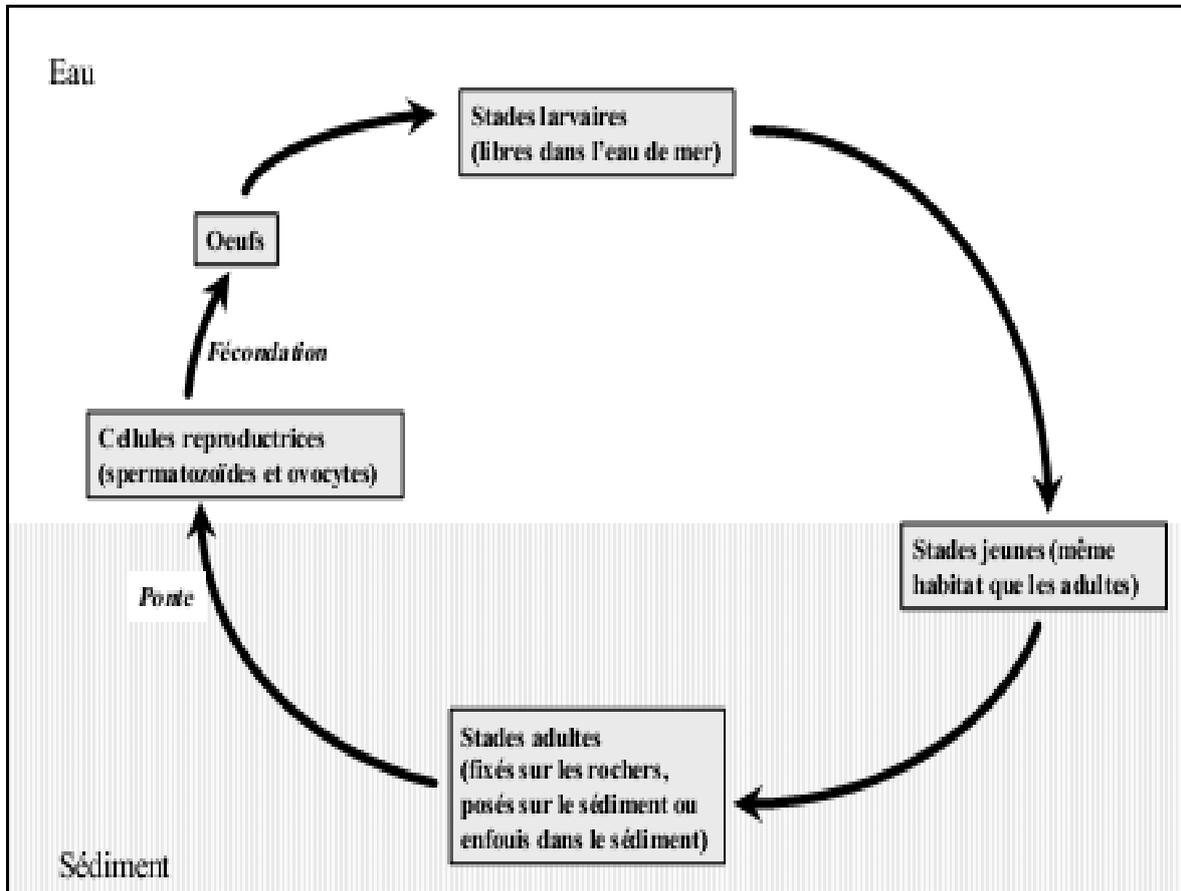


**Figure 3.** Anatomie générale d'un bivalve (Encarta, 2006).

### 1.4. Cycle de développement d'un bivalve

Les bivalves sont hermaphrodites successifs, ou plus rarement à sexe séparés. Les gonades peu différenciées, sont situées dans le manteau. Sous l'effet de stimuli environnementaux (réchauffement, dessalure...) ou l'horloge biologique interne (cas des veneridae, (Fegley, 2001)). Les gamètes mâles et femelles sont libérés dans le milieu ambiant ou se fait la fécondation. Les œufs donnent naissance à des larves viligères, organismes planctoniques de quelques dixièmes de millimètres, munie d'une couronne de cils vibratiles (le velum) et d'une coquille embryonnaire. La larve dérive pendant quelques semaines ou gré des courants. Lorsqu'elle est entraînée vers des font propices à son développement, elle se fixe sur le substrat et entame sa

métamorphose jusqu'au stade juvénile. Selon l'espèce, le type de font propice à la fixation est soit du sédiment meuble (sables vaseux) soit un substrat dur (rocher, coquille de bivalve). Le très faible taux de survie entre l'œuf et l'adulte est considéré comme parmi les plus bas du règne animal (Seed, 1992; Kennedy, 1996).



**Figure 4.** Cycle de développement d'un bivalve (WWW.glf.dfo.mpo.gc.ca)

## 2. Présentation des zones d'étude

### 2.1. Caractéristiques du littoral Algérien

L'Algérie dispose d'un littoral d'environ 1280 km, de la frontière Algéro- Marocaine à l'Ouest à la frontière Algéro- Tunisienne à l'Est. Ce littoral est caractérisé par un plateau continental réduit à l'exception dans la région de Ghazaouet (Wilaya de Tlemcen) à l'extrême Ouest et la région d'El Kala (Wilaya d'El Tarf) à l'extrême Est.

La côte Algérienne est caractérisée par ces deux couches d'eaux superposées, l'eau atlantique modifiée et l'eau méditerranéenne. En effet, l'eau atlantique pénètre dans la mer d'Alboran où ses caractéristiques initiales commencent à s'altérer, donnant ainsi naissance à l'eau atlantique

modifiée (Benzohra, 1993). Ce même auteur signale cette eau dans le bassin Algérien où elle se reconnaît dans une couche superficielle de 150 m d'épaisseur, avec une température de 15 à 23° C en surface et de 13,5 à 14 °C en profondeur et des salinités allant de 36,5 à 38 psu. Le long des côtes Algérienne, l'eau atlantique modifiée entraîne un écoulement plus ou moins stable avant de se diviser en deux branches. Dans le bassin Algérien, l'eau atlantique modifiée pénétrerait (Millot, 1987; Millot, 1993 et Benzohra, 1993) sous forme d'une veine de courant étroite qui donne naissance à des méandres et tourbillons côtiers associés à des upwellings. Ces derniers favoriseraient une forte productivité biologique et par conséquent, une augmentation des capacités trophiques du milieu.

## **2.2. Situation géographique du golfe d'Annaba et des sites d'études**

Le golfe d'Annaba est limité à l'Est par le cap Rosa (8°15' Est et 36°58' Nord) et à l'ouest par le cap de Garde (7°47'Est et 36°58'Nord); la distance séparant les deux caps est d'environ (40 Km), la profondeur maximale des eaux est de 65 mètres. Selon Vaissière & Fredj (1963), le plateau continental est généralement étroit, avec un fond hétérogène; ce dernier est accidenté, nettement restreint au nord du cap de Garde, puis s'élargit dans le golfe jusqu'à 27 Km puis se rétrécit légèrement dans le cap Rosa.

Du point de vue sédimentologie, le fond marin débute généralement par du sable fin dans le secteur Ouest puis ce sable se mélange avec de la vase fine dans le secteur Est. Une chaîne d'herbiers de posidonie, installée sur des substrats rocheux qui se continuent par des vases terrigènes molles à du sable ou à des débris coquilliers. La température joue un rôle important dans les variations de densité de l'eau. La salinité varie en fonction des zones, au Sud Est, les valeurs variant de 31,4 à 37,5 psu avec une amplitude de 0,7 psu les variations halines sont dues aux rythmes des débits des oueds Seybouse et Meboudja.

Les courants dans le golfe d'Annaba, présentent à son ouverture après le cap de Garde, une circulation orientée vers l'Est avec des vitesses fluctuantes selon les saisons pouvant atteindre 0,5 à 1m/s. Ce courant part de la face Sud Est du cap de Garde en direction de l'embouchure de l'oued Mafragh (Anonyme, 1976).

Dans le golfe d'Annaba se rejettent essentiellement trois oueds: Seybouse, Mafragh et Meboudja; ces derniers charrient vers le golfe les eaux de leur bassin versant. Ces eaux charriées se composent d'eau de pluie, de rejets directs de polluants industriels. Le golfe reçoit aussi les eaux usées urbaines qui ne subissent qu'un traitement sommaire au niveau de la station de traitement des eaux de Sidi Brahim, ainsi que de nombreuses autres émissaires provenant des différentes plages qui logent le golfe.

### **Les sites d'étude:**

Du fait de certains problèmes (difficultés d'accès, absence de moule, ect), le choix des deux sites étudiés est fondé sur leur emplacement par rapport aux différents rejets de la source de pollution ainsi que l'abondance de l'espèce.

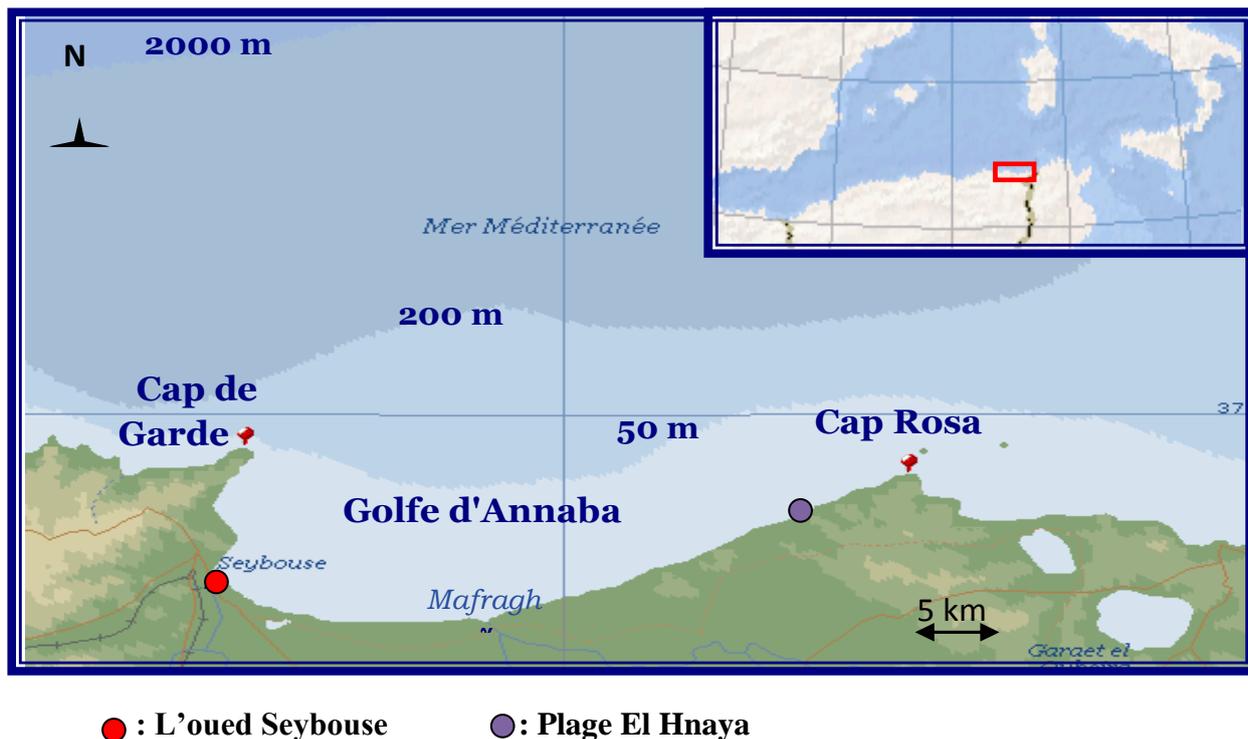
#### **2.2.1. L'oued Seybouse**

L'oued Seybouse draine un bassin versant de 6474 Km<sup>2</sup>. Il prend naissance dans les hautes plaines des Heractas avant de se jeter dans la mer Méditerranée. Il transporte des rejets de toutes sorte (urbain, industriels...) qui ont augmenté, particulièrement dans la partie aval (Guelma, Annaba), caractérisée par une industrialisation importante (cycles, céramique, carrelage, sucrerie, conserveries, lait, métallurgie...).

Du fait de l'exode rural massif des villes entières ont été construite au mépris des règles élémentaires de protection de l'environnement. En effet, les rejets des eaux usées se font à même l'oued. Seybouse, eau qui se jette dans la mer, recueille les eaux usées de près de 86 unité industrielles (Tawfiq, 2008) qui ne sont pas traitées. Selon les statistiques, rendues publiques lors d'une récente rencontre consacrée à la gestion durable des ressources hydriques et à la protection du périmètre agricole de la Seybouse, près de 4,5 millions de m<sup>3</sup> d'eau usées se déversent annuellement dans cet oued. Le plus grave est que près de 3 millions de m<sup>3</sup> de ce volume sont des huiles usagées provenant des unités industrielles, potentiellement polluantes. Les analyse effectuées au niveau de l'oued Seybouse (Djabri *et al.*, 2005), indiquent de fortes concentrations en chlorures (1600 mg/l), nitrates (80 mg/l), nitrite (20 mg/l), ammonium (70 mg/l), phosphore (15mg/l), mais une concentration en oxygène dissous presque nulle. Ces concentrations dépassent les normes admises elles sont à l'origine de l'eutrophisation constatée au niveau de l'oued. Tous ces éléments font que le site de Seybouse est un site pollué.

#### **2.2.2. La plage El Hnaya**

La plage El Hnaya se trouve à environ 30 Km à l'Est d'Annaba entre le village de Berrihane et de kantra El-Hamra et à 18 Km à l'Est de l'oued EL Mafragh (agriculture et urbanisation). C'est une station loin de toute pollution et que nous considérons comme site de référence.

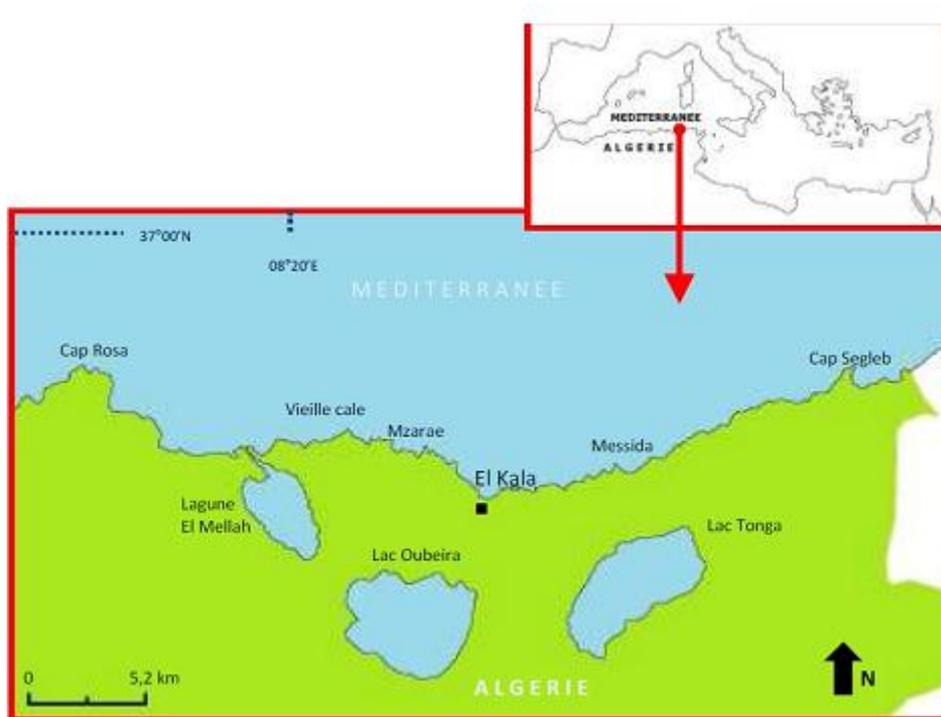


**Figure 5:** Présentation des sites d'échantillonnage au niveau du golfe d'Annaba (Encarta, 2004).

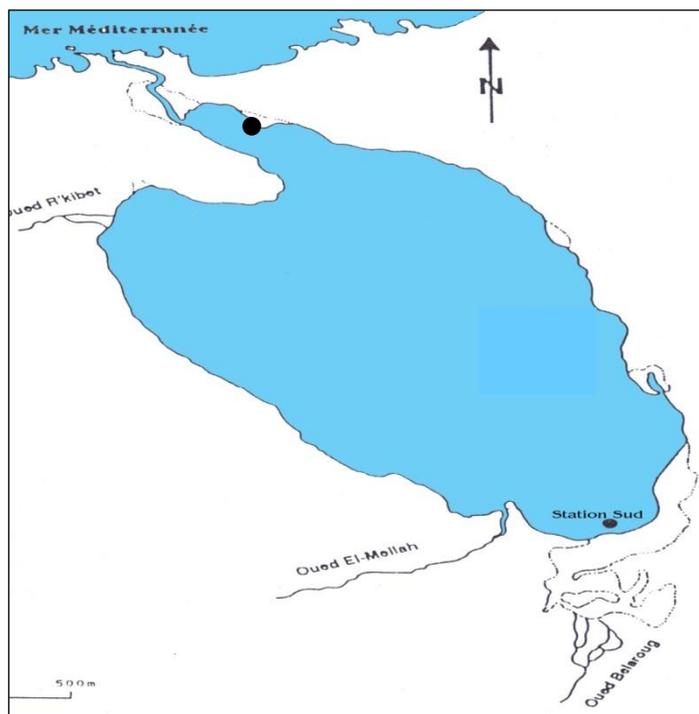
### 2.3. Situation géographique du lac el Mellah

L'étude de la lagune el Mellah est motivée par son importance comme réserve biologique et son intérêt économique fondé sur l'exploitation des ressources à haut valeur commercial (huîtres, palourdes, coques... etc)

Le lac el Mellah est un lac côtier située à l'extrême Est de l'Algérie près de la frontière Algéro-Tunisienne dans la région d'El Kala ( $36^{\circ} 53' 50'' \text{N}$  ;  $8^{\circ} 19' 30'' \text{E}$ ) (Fig7.). De forme ovoïde, il occupe une superficie d'environ 865 hectares et s'étend du nord au sud sur une longueur totale d'environ 4 Km et une largeur d'Est en Ouest d'environ 2 Km. Sa profondeur est généralement faible et atteint un maximum de 5,2 m dans sa partie centrale. Il est relié à la mer par un chenal long de 900 m et de 1 à 10 m de large (Benali & Saadi, 2001). Cependant, les échanges mer-lac influent sur le renouvellement des eaux de la lagune et sont en partie responsables de son caractère saumâtre. D'autre part, le lac subit également l'influence de trois oueds: R'Kibet au Nord-Ouest, El Mellah au Sud-Ouest et Belaoug au Sud, ce dernier est relié au lac par l'intermédiaire d'une zone de marécage (Fig. 7). Cette étendue d'eau saumâtre, se localise au sein d'une zone insérée dans des collines d'alluvions quaternaires où le mouvement tectonique a fortement joué (Morel, 1967). Dans cette étude, notre choix s'est porté sur le chenal où le matériel biologique utilisé (palourde) est fortement abondant. C'est le lieu où le lac est relié à la mer, ainsi que le Sud où le matériel biologique est existé.



**Figure 6.** Situation géographique de la région d'el Kala (Belbacha, 2008)



**Figure 7.** Présentation des sites d'échantillonnage au niveau du lac el Mellah

### **3. Stratégie d'échantillonnage de *R. decussatus* et *P. perna***

Les palourdes (*R. decussatus*) sont collectées mensuellement sur une période d'une année au niveau de deux stations Nord et Sud du lac El Mellah, La technique utilisée est la pêche à pied, et elles sont récoltées à la main à très faible profondeur, et récupérées à l'œil nu grâce aux petits trous à la surface du sédiment qui correspondent à l'apparition des siphons. La collecte des moules *Perna perna* se fait sur une période d'une année à la main et de manière aléatoire sans tenir compte de sexe, entre 20 et 50 cm de la surface de l'eau de mer.

Chaque récolte de bivalve est répartie dans des bacs en plastique contenant 30 individus baignant dans leur eau d'origine, en fonction de chaque site et pour chaque moi. Ces bivalves sont ensuite conduits au laboratoire afin de procéder à des analyses biologiques et biochimiques.

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

Parmi les facteurs abiotiques, les facteurs physico-chimiques (température, salinité, pH, etc) du milieu jouent un rôle essentiel puisqu'ils influent à la fois sur la forme physico-chimiques des métaux (état de valence, adsorption, désorption, etc) donc sur leur biodisponibilité, mais également sur le métabolisme des espèces (osmorégulation, respiration, reproduction, activité trophique, etc) dont dépendent en partie les cinétiques d'accumulations et d'excrétion des métaux (Karayücel & Karayücel, 2000).

Dans cette étude, deux paramètres ont été mesurés: La température et la salinité, les deux descripteurs de base des masses d'eau, dépend quasi exclusivement des processus physiques. Les mesures ont été effectuées «in situ» au moment du prélèvement, au moyen d'un multi paramètre (Corsort 535). L'étalonnage et le calibrage de l'appareil pour chaque paramètre mesuré ont lieu au laboratoire et sur terrain, on immerge la sonde spécifique au paramètre à mesurer pendant quelques secondes et le résultat s'affiche sur l'écran. Les sondes sont rincées à l'eau distillée puis essuyées avec du papier absorbant après chaque manipulation.

### **5. Mesure de l'indice de condition**

Les bivalves récoltés mensuellement ont été ramené au laboratoire, et des lots ont été constitués à raison de 15 individus par mois.

Les mesures ont été réalisé le jour même du prélèvement pour éviter l'effet du jeune et une émission éventuelle des gamètes dû aux stresse. En effet ces phénomènes biologiques diminuent le poids de la masse molle et par la suite l'indice de condition (Beninger & Lucas, 1984).

Dans une étude de suivi environnemental, les indices de condition (IC) ne sont pas des biomarqueurs au sens strict de la définition de Van Gastel & Van Brummelen (1996), mais ils

donnent une idée de l'état de santé des individus d'une population (Bodoy & Massie, 1979; Anssel *et al.*, 1980; Lucas & Beninger, 1985; Pellerin- Massicotte *et al.*, 1989). Les IC peuvent être affectés par de nombreux paramètres (Alimentation, température, polluants....) qui seraient dus à une diminution de l'alimentation chez les organismes et modifieraient ainsi ses réserves énergétiques (Amiard & Amiard, 1998).

Quinze individus, de taille comprise entre 34 et 40 mm pour les palourdes et entre 54 et 60 mm pour les moules sont prélevés mensuellement dans chaque site pour étudier l'indice de condition. Le poids sec de la chair et des valves sont déterminés après séchage à 60 – 65°C à l'étuve pendant 48 heures. L'indice de condition utilisé est celui de (Beninger, 1984), définit selon la formule suivante:

**Poids sec de la chair/ Poids sec de la coquille × 100**

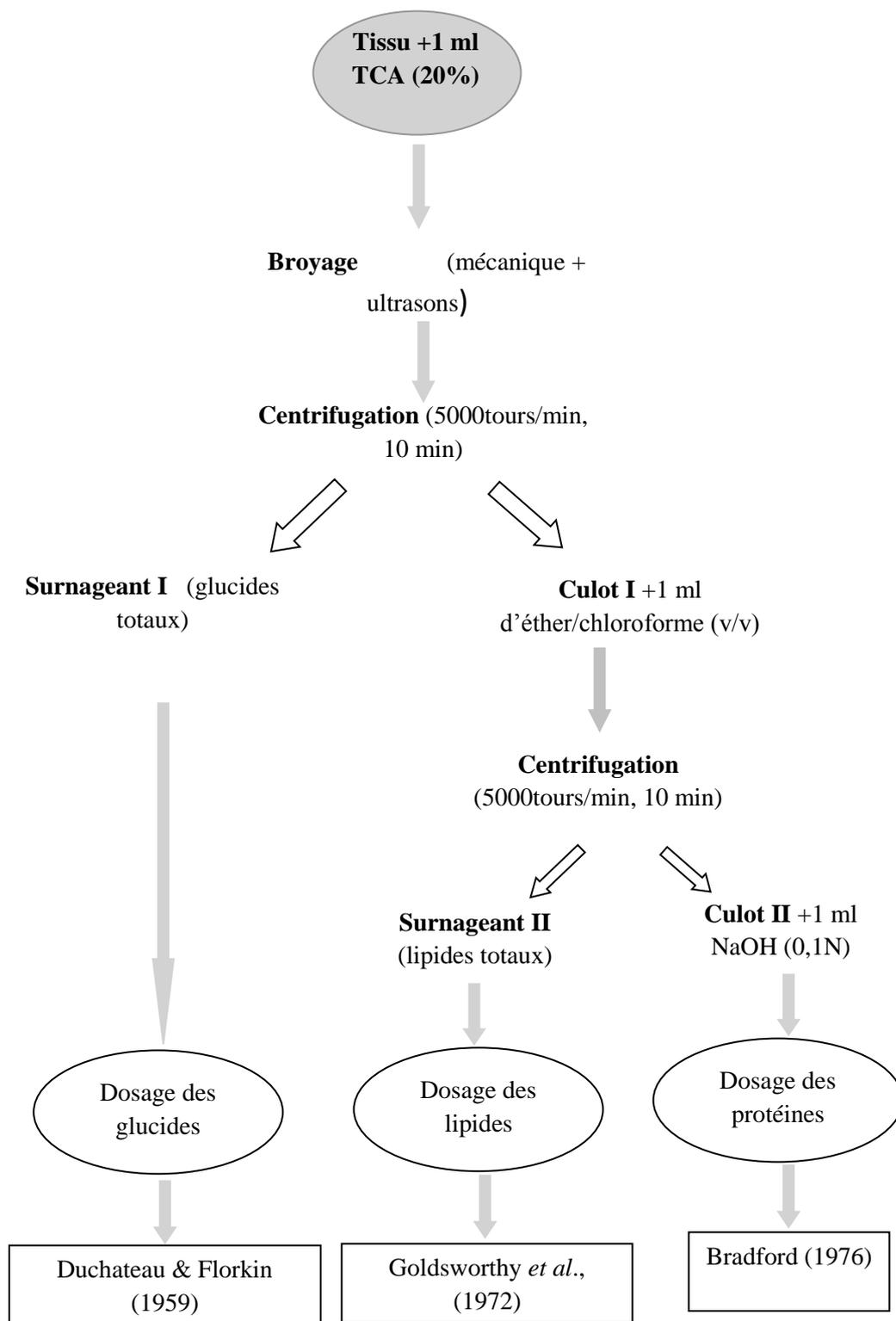
## **6. Dissection et prélèvement du manteau**

La dissection et le prélèvement du manteau a été effectués sur des individus vivants ayant une taille moyenne comprise entre 35 et 40 mm pour *R. decussatus* et entre 54 et 60 mm pour *P. perna* (correspond à la classe de taille la plus fréquente tout au long de l'Année). Les dosages des métabolites, glucides, protéines et lipides ont été effectués sur le manteau.

## **7. Extraction des métabolites**

L'extraction des métabolites du manteau de *R. decussatus* et *P. perna* a été réalisée selon le procédé de Shibko *et al.*(1966). Les fragments du manteau des deux espèces prélevés mensuellement sur des individus matures ont été conservés dans 1 ml de TCA (20 %).

Après un broyage mécanique et ultrasons (Sonifer B.30) des échantillons, les broyats subissent une première centrifugation (5000 trs /min, 10 min) et le surnageant **I** obtenu sert au dosage des glucides. Au culot **I**, on ajoute 1ml du mélange éther/chloroforme (1v/1v) et après une seconde centrifugation (5000 tours/min, 10 min) permet de récupérer le surnageant **II**, qui servira au dosage des lipides. Le culot **II** est ensuite repris dans 1ml de NaOH et après 1 nuit à 4°C, permettra la solubilisation et la quantification des protéines totales.



**Figure 8.** Extraction des glucides, des protéines et des lipides (Shibko *et al.*,1966).

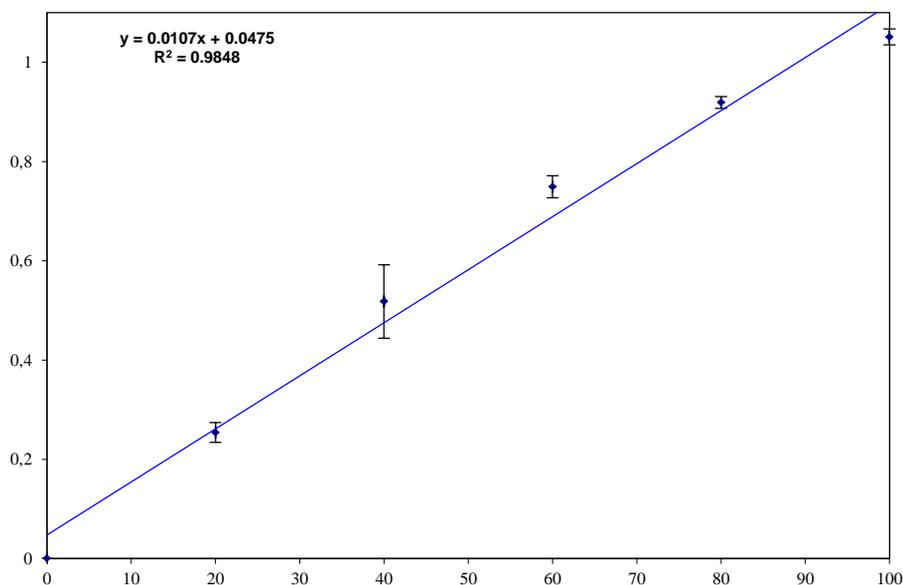
## 7.1. Dosage des protéines

Les protéines ont été quantifiées selon la méthode de Bradford (1976) en utilisant le bleu brillant de comassie (G250, Merck) comme réactif (100 mg BBC + 50 ml d'éthanol absolu + 100 ml d'acide Orthophosphorique complété à 1000 ml par de l'eau distillée) et l'albumine de sérum de bœuf (BSA, sigma) comme protéine standard. La gamme d'étalonnage a été réalisée à partir d'une solution mère de BSA (1mg/ml) (tableau 1).

**Tableau 1** : Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des protéines.

Tubes	1	2	3	4	5	6
BSA ( $\mu$ l)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée ( $\mu$ l)	100	80	60	40	20	0
BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

Les absorbances sont lues dans un spectrophotomètre (jenway 6300) à une longueur d'onde de 595 nm contre un blanc de gamme, après 1 minute et avant 1 heure.



**Figure 9.** Dosage des protéines: droite de régression exprimant les absorbances en fonction de la quantité d'Albumine ( $\mu$ g) ( $R^2$ : coefficient de détermination).

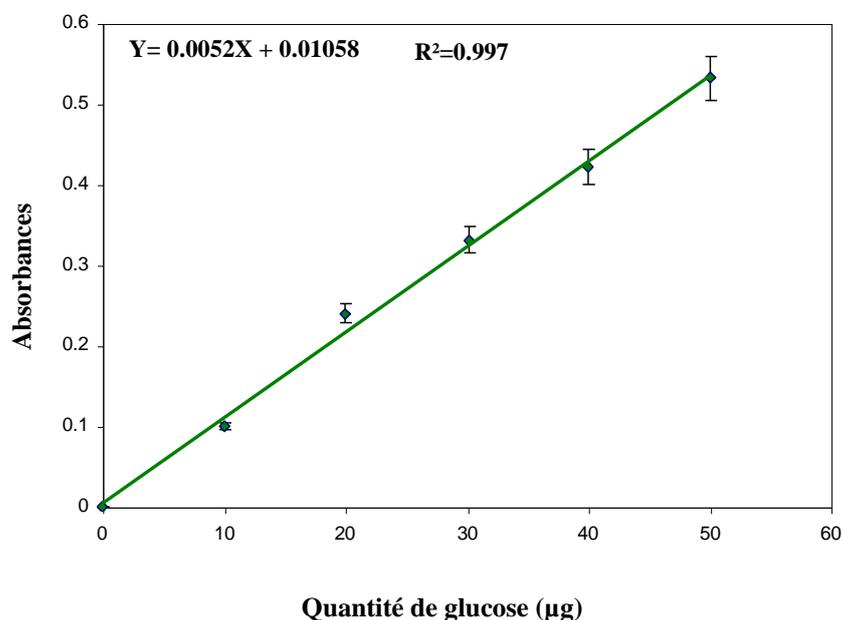
## 7.2. Dosage des glucides

Le dosage des glucides a été réalisé selon Duchateau & Florkin (1959). Cette méthode utilise l'anthrone comme réactif (150 mg d'anthrone, 75 ml d'acide sulfurique et 25 ml d'eau distillée) et une solution mère de glucose (0,1 mg/l) comme standard (tableau 2).

**Tableau 2:** Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des glucides.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Glucose (µl)	0	100	200	300	400	500
Eau distillée (µl)	500	400	300	200	100	0
Anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4

Le réactif (4ml) est additionné à une fraction aliquote du surnageant I (50µl). Après chauffage au bain marie (80 °C pendant 10 min), il se développe une coloration verte, dont l'intensité mesurée à une longueur d'onde de 620 nm est proportionnelle à la concentration des glucides.



**Figure 10.** Dosage des glucides: droite de régression exprimant les absorbances en fonction des quantités de glucose (µg) ( $R^2$ : coefficient de détermination).

### 7.3. Dosage des lipides

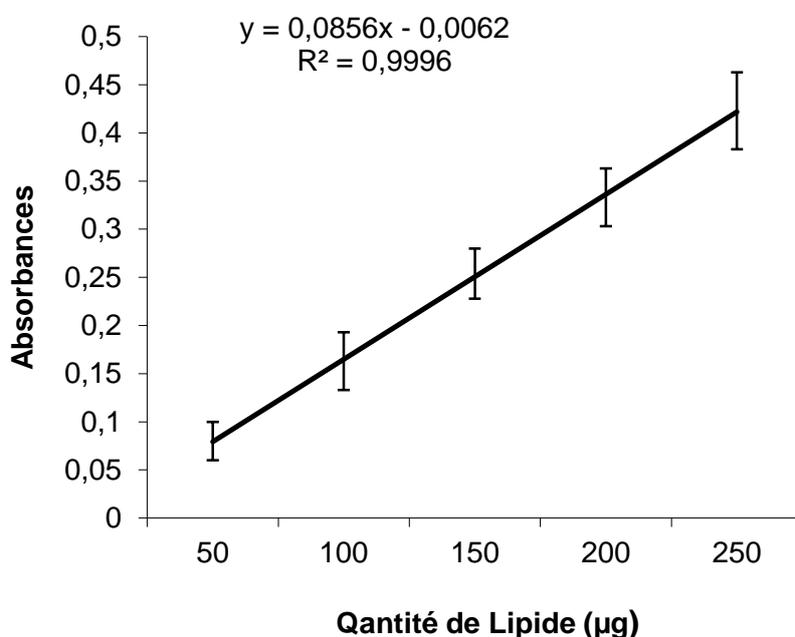
Les lipides ont été estimés selon la méthode de Goldsworthy et *al.*(1972), utilisant la vanilline comme réactif (0,38 g de vanilline, 55 ml d'eau distillée, 195 ml d'acide orthophosphorique à 85%) et une solution mère de lipides comme standard (tableau. 3). La solution mère des lipides est préparée en utilisant de l'huile de table de la façon suivante: 25 mg d'huile de table sont pesés dans un tube eppendorf, cette quantité est ensuite reprise dans 10 ml du mélange méthanol/chloroforme (1/1 v/v).

**Tableau 3:** Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des lipides.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant méthanol/chloroforme (1/1) (µl)	100	80	60	40	20	0

100 µl du surnageant II sont additionnée de 1 ml d'acide sulfurique concentré (96 %). Après agitation, les tubes sont chauffés au bain marie (100°C, 10 min), 200 µl sont ensuite prélevés de chaque tube, auquel sont ajoutés 2,5 ml de réactif sulfo-phospho-vanillique. Après 30 minutes à l'obscurité,

les absorbances sont lues à une longueur d'onde de 530 nm.



**Figure 11.** Dosage des lipides: droite de régression exprimant les absorbances en fonction de la quantité de lipide (µg) ( $R^2$ : coefficient de détermination).

#### 7. 4. Analyse de la composition en acide gras des lipides

La méthode la plus appropriée pour déterminer la composition en acides gras d'un mélange lipidique est la chromatographie en phase gazeuse. L'étude qualitative des lipides par chromatographie en phase gazeuse a été effectuée saisonnièrement sur des échantillons de palourdes et des moules, durant un cycle annuel complet.

Le chromatographe utilisé est un chromatopack CP437 A, équipé d'une colonne capillaire en silice fondue (CPWA X 58 CB, 30 m x 0,32 mm de diamètre interne, épaisseur du film 1µm), d'un injecteur de type Split-Split (fuite de 20 ml/ min pendant 30 sec) et d'un détecteur à ionisation de flamme, le gaz vecteur est l'hydrogène (vitesse 25ml/min à température ambiante). La programmation de la température est la suivante:

- 100°C pendant 2 minutes, puis 2°C/ min jusqu'à 240°C. Les températures de l'injecteur et du détecteur sont respectivement de 280°C et 290°C. Les temps de rétention des différents pics analysés sont comparés à ceux d'une solution d'acide gras standard (sigma).

Les lipides totaux du tissu des échantillons sont analysés après butylation (butanol sulfurique 5%, 100°C pendant 2 heures) et extraction au pentane selon Clément & Bézard (1961).

Des exemples de chromatogrammes relatifs à la séparation des acides gras des extraits lipidiques du manteau de *R. decussatus* et *P. perna* sont représentés dans les figures 22 et 25.

## **8. Expérience de laboratoire**

### **Présentation du métal lourd et du pesticide**

#### **8.1. Présentation du Cadmium**

Le cadmium est un métal blanc argenté, ductible et malléable, qui résiste particulièrement à la corrosion, est un élément relativement rare, il a une grande résistance à l'oxydation et une bonne conductivité électrique (Juste *et al.*, 1995). Il a été classifié dans la catégorie des éléments très toxique et relativement accessible au même titre que l'argent, le zinc, le mercure et le plomb (Wood, 1976).

Ses propriétés physiques et chimiques, proche de celle du calcium, lui permettent de traverser les barrières biologiques et de s'accumuler dans les tissus.

Le modèle de l'ion libre (Free Ion Activity Model, FLAM-Morel, 1983) permet de décrire la biodisponibilité du cadmium qui détermine l'efficacité du transfert à travers les membranes biologiques. Celle-ci dépend alors de la forme chimique du métal  $\text{Cd}^{+2}$ , le cadmium se comportant comme un analogue du calcium (rayon ionique ( $\text{Ca}^{+2} = 0,97\text{\AA}$  et  $\text{Cd}^{+2} = 0,99\text{\AA}$ ). Conséquence l'accumulation et les effets induits sont étroitement dépendant des conditions d'exposition déterminant la spéciation du cadmium. La dureté (taux de calcium) et le pH, facteurs abiotique de la colonne d'eau sont deux paramètres majeurs régissent l'entrée du Cd (Markich & jeffree, 1994; Jumarie *et al.*, 2001). Il peut remplacer le Zn dans des systèmes enzymatiques carencés en Zn chez le plancton (Price et Morel, 1990; Lane & Morel, 2000); ce qui signifie qu'il a peut-être un rôle biologique. Il existe, cependant, un ensemble de variable physicochimiques du milieu (salinité, pH, caractéristiques sédimentologiques, nature géochimique des particules, concentration en chlorure) qui gouvernent les transformations du cadmium dans l'environnement (Gonzalez *et al.*, 1999; Chiffoleau *et al.*, 2001).

Le cadmium atteint les milieux aquatiques par la voie atmosphérique ou par lessivage des sols et rejets directe anthropique (Miramand *et al.*, 2000). L'épandage d'engrais sur les terres agricoles apporte vraisemblablement un minimum de 70 tonnes de cadmium par an dont une partie mineure est lessivée par les pluies et rejoint ainsi les eaux littorales. En effet, une grande partie du cadmium est retenue par les sols et un autre est absorbée par la végétation (Cossat & lassus, 1989). Et milieu marin, c'est le chlorocomplexe  $\text{CdCl}_2$  qui prédomine.

## **8.2. Présentation du malathion**

Le malathion ( $C_{10}H_{19}O_6PS_2$ ) poudre mouillable, non systémique est un neurotoxique agissant sur le système nerveux central (inhibition de l'acétylcholinestérase). Cette substance étant hautement toxique pour l'homme, les insectes pollinisateurs, les abeilles et pour les organismes aquatiques notamment les poissons, des dispositions particulières doivent être prises au niveau de sa manipulation. C'est un insecticide et acaricide organophosphoré utilisé pour lutter contre divers insectes et acariens sur une vaste gamme de plantes agricole et horticoles, ainsi que pour lutter contre les moustiques, les mouches, les insectes de maison, les ectoparasites et chez l'homme, contre les poux de la tête et du corps (Kynoch & Smith, 1986) .

## **8.3. Application des deux xénobiotiques**

Les bivalves (palourdes et moules) ont été collectés sur les sites Nord du lac el Mellah pour *R. decussatus* et Hnaya pour *P. perna* à raison de 30 individus par espèce, ces bivalves sont transférés dans des bacs propres remplis d'eau de lac et sédiment pour les individus de *R. decussatus* et uniquement l'eau de mer naturelle pour les individus de *P. perna*, à raison de 3 animaux par litre d'eau, ils ont été acclimatés environ 24 h aux conditions de laboratoire à une température de 16-18 °C, l'oxygénation de l'eau est assurée par des pompes à oxygène.

Après acclimatation les individus de chaque espèce ont été divisés en 3 lots: un lot témoin, un lot traité à 100 µg/l et un lot traité à 200 µg/l de  $CdCl_2$  pendant 21 jours. Le renouvellement tous les trois jours de l'eau d'élevage des témoins et des exposés constitue leurs uniques sources de nourriture.

Le traitement par le malathion est effectué par addition dans l'eau d'élevage de (100 et 300 µg/l) pendant 24 h, appliquée à la palourde *Ruditapes decussatus* selon (Damiens *et al.*, 2004) dans les mêmes conditions. Pour des raisons techniques l'expérience sur les moules n'a pu être effectuée.

## **8.4. Extraction et dosage des métabolites et des biomarqueurs**

Après dissection, les organes (manteau, branchie, glande digestive et muscle adducteur), vont servir aux dosages des métabolites (glucides, lipides et protéines), du glutathion (GSH) et du malondialdéhyde (MDA) pour le traitement par le cadmium, catalase (CAT) et acétylcholinestérase (AChE) pour le traitement par le malathion.

L'analyse des trois métabolites (glucides, protéines et lipides) a été décrite ci-dessus.

#### 8.4.1. Dosage du malondialdéhyde

Le dosage du malondialdéhyde (MDA) a été réalisé suivant la méthode de Draper & Hadley (1990). La méthode est basée sur la mesure colorimétrique de la réaction entre l'acide thiobarbiturique (TBA) avec la malondialdéhyde, composé issu de la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires donnant un produit rouge brun mesuré à une longueur d'onde de 532 nm.

Les organes de *R. decussatus* et *P. perna* sont homogénéisés aux ultrasons dans 1 ml de tampon Tris/Hcl (50 mM ; pH 7,5) [Tris 50 mM (1,5137 mg), acide éthylène tétracétique (EDTA) ,1mM (0,0730 g), saccharose 0,5M (42,78 g) dans 250 ml d'eau distillé].

Après homogénéisation, une centrifugation de l'homogénat est effectuée pendant 10 min à 10000 trs/min à 4°C et le surnageant récupéré servira au dosage du MDA.

Le dosage est réalisé comme suit:

- 500 µl de surnageant sont additionnés à 2,5 ml TCA (100 g/l).
- Chauffer au bain marie 100 °C/15 min.
- Refroidissement dans la glace.
- Centrifugation (10000 trs/ min pendant 10 min).
- 2 ml de surnageant sont additionnés à 1ml TBA (6,7 g/l).
- Chauffage au bain marie à 100 °C/15min.
- Refroidissement dans la glace.
- Après un dernier refroidissement, 1,5 ml de butanol sont ajoutés.
- Après avoir agité au vortex le mélange, une dernière centrifugation (10000 trs/min pendant 10 min) est effectuée.
- Récupérer le surnageant constitué de butanol renfermant les complexes TBA-MDA.
- Lecture des absorbances à une longueur d'onde de 532 nm.

Le taux du malondialdéhyde est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de MDA}(\mu\text{mol}/\text{mg de protéines}) = \frac{D_0}{156} \times \frac{\text{volume total de la cuve}}{\text{volume de la prise d'essai}} \times 10^3$$

Mg de protéines

**DO:** la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat à 532 nm.

**156 mM<sup>-1</sup>:** Coefficient d'extinction molaire du TBA.

**Volume total de la cuve:** 1 ml.

**Volume de la prise d'essai (volume de l'homogénat):** 0,5 ml.

**10<sup>3</sup>**: Unité de conversion en µm

**Mg de protéines**: taux de protéines en mg

#### 8.4.2. Dosage du glutathion

Le glutathion est dosé selon la méthode de Weckberker & Cory (1989), dont le principe repose sur la mesure colorimétrique de l'acide 2-nitro 5-mercapturique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements thiol (-SH) du Glutathion mesuré à une longueur d'onde de 412 nm. Les organes de *R. decussatus* et *P. perna* sont homogénéisés aux ultrasons dans 1ml d'une solution EDTA (Acide Ethylène Diamine Tetra Acétique) à 0,02M (7,4448 g EDTA et 1000 ml d'eau distillée).

Afin de protéger les groupements thiol du glutathion l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique 0,25 % (0,25 g SSA, 100 ml d'eau distillée) ;

0,8 ml de l'homogénat sont additionnés à 0,2 ml d'acide sulfosalicylique. Le mélange est agité et laissé pendant 15 min dans un bain de glace, puis centrifugé (1000 trs/min pendant 5 min) à 4°C. Le surnageant est utilisé pour la mesure de la concentration du glutathion selon les étapes suivantes :

- Prélever 0,5 ml du surnageant.
- Ajouter 1ml du tampon Tris-EDTA (0,02M ; pH 9,6) [63,04 g Tris ; 7,4448 g EDTA et 1000 ml d'eau distillé].
- Ajouter 0,025 ml de DTNB (0,01M) [3,96 g DTNB, 1000 ml méthanol absolu].
- Laisser le mélange pendant 5 min à température ambiante.
- Mesurer la densité optique au spectrophotomètre à 412 nm.

Le taux de du glutathion est estimé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de GSH } (\mu\text{mol/mg de proteines}) = \frac{\Delta D_0 \times V_d \times V_t}{13,1 \times V_h \times V_s} / \text{mg de protéines}$$

**Δ Do**: différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps

**Do**: densité optique

**Vd**: le volume total des solutions utilisés dans la déprotéinisation (0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat).

**Vt**: le volume total dans la cuve: 1,525 ml (0,025 ml BTNB + 0,5 ml surnageant + 1ml Tris-EDTA).

**13,1**: Coefficient d'extinction molaire (concernant le groupement -SH à 412 nm).

**Vh**: le volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisation: 0,8 ml.

**Vs**: le volume du surnageant dans la cuve : 0,5

### 8.4.3. Dosage de l'acétylcholinestérase

La méthode de dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) la plus courante (Ellmen *et al.*, 1961), consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ASCh), dont l'hydrolyse catalysée libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. La quantité de thiocholine obtenue est proportionnelle à l'activité enzymatique, on la révèle grâce à une méthode colorimétrique faisant intervenir un ion (le dithiobisnitrobenzoate ou DTNB) qui se lie avec la thiocholine pour former un complexe de couleur jaune que l'on dose à 412 nm. Les échantillons sont homogénéisés pendant quelques secondes dans 1 ml de solution détergente (38,03 g éthylène glycol tris-beta aminoéthyl-éther N N N' N' ou EGTA; 1 ml triton X 100 %; 5,845 g NaCl ; 80 ml tampon tris 10 mM, pH 7) à l'aide d'un homogénéiseur à Ultrasons (sonifer B-30) puis centrifugés à 9000 tours/min pendant 5 min à 4°C. Le surnageant est utilisé immédiatement pour la mesure de l'activité AChE.

L'activité spécifique de l'AChE est déterminée comme suit: 100 µl du surnageant sont additionnés à 100 µl de DTNB (0,1M ; pH 8) (39,6 mg de DTNB, 15 mg Co<sub>3</sub> Na, dans 10 ml de tampon Tris 0,1M, pH 7) et 1ml du tampon Tris (0,1 M ; pH 7). Après 3 à 5 min de repos nécessaire pour épuiser la réaction spontanée, 100 µl du substrat acétylthiocholine iodure (Sigma R) (118 mg ASCh dans 5 ml d'eau distillée) sont ajoutés.

La lecture des densités optiques s'effectue toutes les 4 mn pendant 20 mn à une longueur d'onde de 412 nm contre un blanc ou le surnageant a été remplacé par un volume équivalent de solution détergente (50µl). L'activité spécifique est calculée selon la formule suivante.

$$\text{AChE}(\mu\text{M}\backslash\text{min}\backslash\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta D_0 / \text{min} \times V_t}{1,36 \times 10^4 \times V_s} / \text{mg de protéines}$$

**X:** activité spécifique de l'AChE en µM/mn/mg de protéines.

**ΔD<sub>0</sub>:** pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

**V<sub>t</sub>:** volume total dans la cuve (0,1 ml du surnageant + 0,1 ml du DTNB + 1ml de tris + 0,1ml de substrat ASCh).

**V<sub>s</sub>:** volume du surnageant dans la cuve (0,1 ml).

**1,36:** coefficient d'extinction molaire du DTNB

#### 8.4.4. Dosage de l'activité catalase

L'activité de la catalase (CAT) est déterminée selon la méthode de Claiborne (1985).

Elle basée sur la mesure des absorbances après la réduction de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à une longueur d'onde de 240 nm dans un spectrophotomètre UV.

Les organes sont homogénéisés dans 1ml de tampon phosphate (50 mM, pH 7).

L'homogénat est centrifugé à 1500 trs/min pendant 15 mn et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme. Le dosage est réalisé selon le tableau suivant:

**Tableau 4:** Dosage de la catalase

	Volume du surnageant (µl)	Volume du tampon phosphate (µl)	Solution H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (µl)
Blanc	0	800	200
Echantillon	50	750	200

La lecture des absorbances est effectuée toutes les 5 secondes pendant 30 secondes à une longueur d'onde de 240 nm. L'activité spécifique est déterminée par la formule suivante:

$$\text{CAT}(\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta D_0/\text{min}}{0,04} / \text{mg de protéines}$$

$\Delta D_0 = \Delta D_0/\text{mn}(\text{blanc}) - \Delta D_0/\text{mn}(\text{Echantillon})$

**0,04:** coefficient d'extinction: molaire du peroxyde d'hydrogène.

#### 9. Traitement statistiques des données

Pour étudier les différents variables, indice de condition et la composition biochimique (protéines, glucides et lipides), nous avons faire une comparaison intrasites et une comparaison intersites.

La comparaison intrasite consiste à comparer entre les mois et les saisons d'un même site.

Toutes ces comparaisons ont été effectuées par l'analyse de la variance à un critère ou à un facteur de classification modèle fixe additionné par le test HDS (honest significative différence) de Tukey, permet de classer les différentes mois et saisons selon leur réponse aux différents paramètres étudiés. Ce test consiste à comparer les moyennes de plusieurs populations à partir de données d'échantillons aléatoires, simples et indépendants (Dagnélie, 2009).

La comparaison intersites consiste à comparer entre les mois et les saisons des deux sites d'études, deux à deux à l'aide de test T de student.

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne plus ou moins l'écart type ( $m \pm SD$ ) et différents tests statistiques ont été réalisés grâce au logiciel **MINITAB** version 16 (P A state college Windows (X, 2005).

Les moyennes obtenues pour chaque dosage et pour les deux doses ont été comparées deux à deux avec les témoins en utilisant le test «T» de Student.

- La quantification des différents métabolites (glucides, lipides et des protéines) a été déterminée à partir de l'équation de la droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de la solution mère de métabolite exprimée en  $\mu\text{g}$ .

- La mesure des biomarqueurs (MDA, GSH, AChE et CAT) a été déterminée à partir des équations de régression linéaire exprimant la densité optique en fonction de temps.

# *RESULTATS*

## **RESULTATS**

### **1. Paramètres physico-chimiques des sites de prélèvement**

#### **Etude des paramètres physico-chimiques de l'eau de lac**

Les paramètres sont relevés durant une année au niveau de deux stations du lac El Mellah: la station Sud et la station Nord.

Les variations de la température de l'eau dans la zone d'étude montre une certaine similitude entre les deux stations avec des écarts inter mensuels à signaler. Les valeurs maximales sont enregistrées durant la période estivale s'étalant de juin à septembre avec un pic pendant le mois de juillet au niveau des deux stations, pour décroître ensuite à partir du mois septembre; cette diminution correspond à la période automnale et hivernale pendant laquelle les valeurs minimales de 11°C pour la station Sud et 10,5 °C pour la station nord sont observées au mois de janvier. A partir du mois de mars une augmentation progressive de la température correspondant à la période printanière est enregistrée au niveau des deux stations.

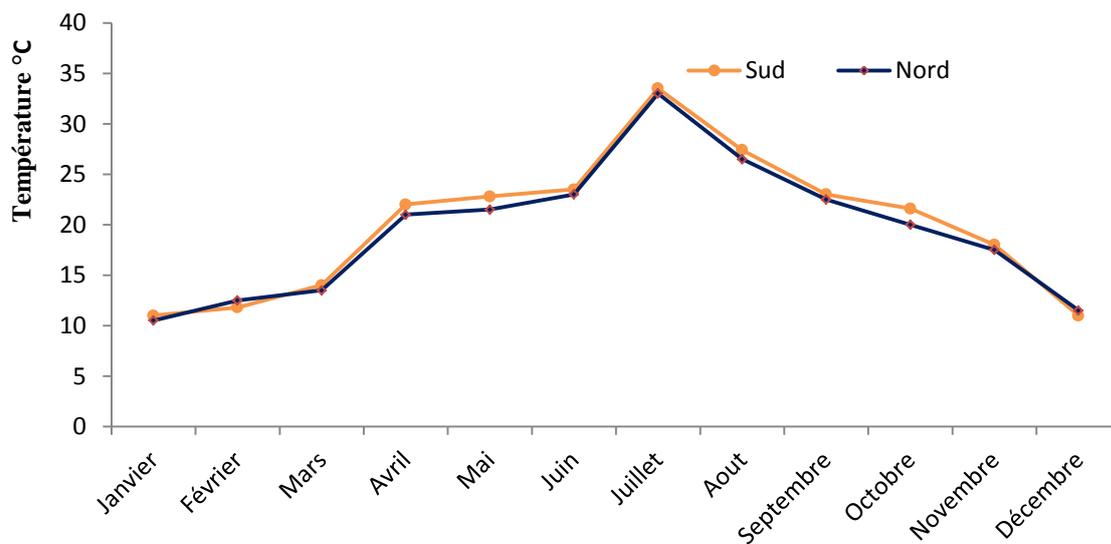
Les variations temporelles de la salinité montrent qu'au niveau de la station Sud une phase croissante s'étale du mois de mai jusqu'au mois d'août avec une valeur maximale de 33,5 psu pendant le mois d'août puis une phase décroissante correspondant à la période automnale qui s'étale de septembre jusqu' à décembre avec une valeur minimale de 16,4 psu pendant le mois de janvier. Pour la station du nord on note une valeur maximale de 34 psu pendant le mois d'août suivie d'une diminution progressive correspondant à la période automnale pour atteindre une valeur de 17 psu pendant le mois de janvier. Cette chute pourrait être expliquée par une dilution consécutive à une forte pluviométrie au cours de la période hivernale.

## **Etude des paramètres physico-chimiques de l'eau de mer**

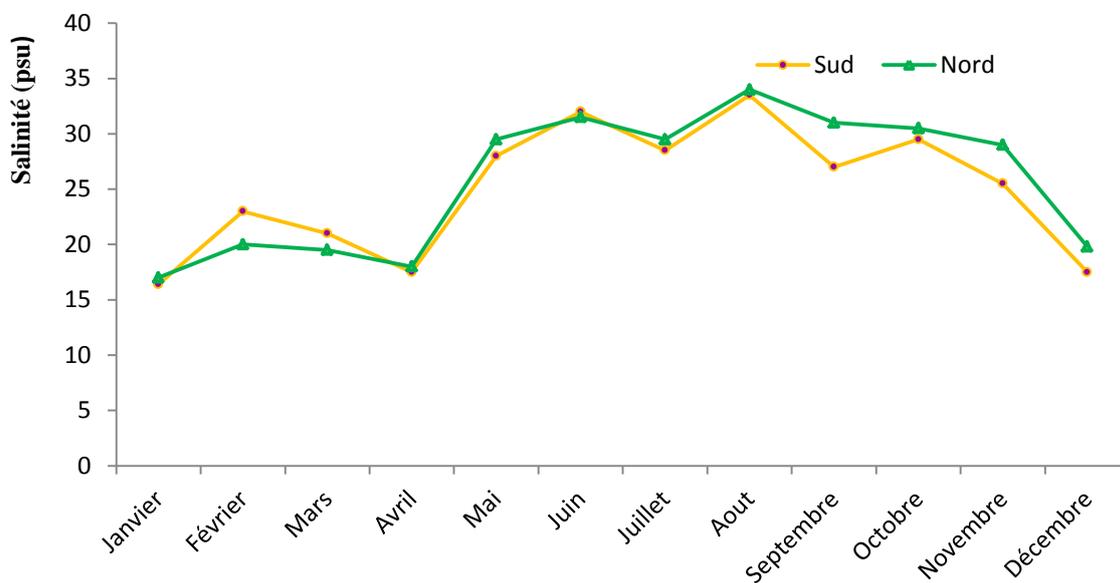
Les figures 14 et 15 représentent les variations mensuelles des paramètres physico-chimiques au niveau des deux sites du golfe d'Annaba; El Hnaya et Seybouse durant une année.

Les relevés mensuels de la température sont représentés dans la figure 14. Après examen des résultats obtenus on constate que la température présente des variations similaires dans les deux sites. Les valeurs les plus élevées sont enregistrées pendant la période estivale avec un maximum observé au mois d'août à El Hnaya (28 °C) et mois de juillet à Seybouse (28,2 °C). Dès le mois de septembre, la température de l'eau entame une baisse progressive qui se prolonge jusqu'à la période hivernale ou elle atteint des valeurs minimales en décembre et janvier à El Hnaya, 11,5 et 11 °C respectivement. Une valeur minimale de 12 °C à été enregistrés au mois de janvier à Seybouse. La température moyenne révélée dans les eaux des deux sites d'études montre que les eaux de Seybouse sont légèrement plus chaudes que les eaux d'El Hnaya.

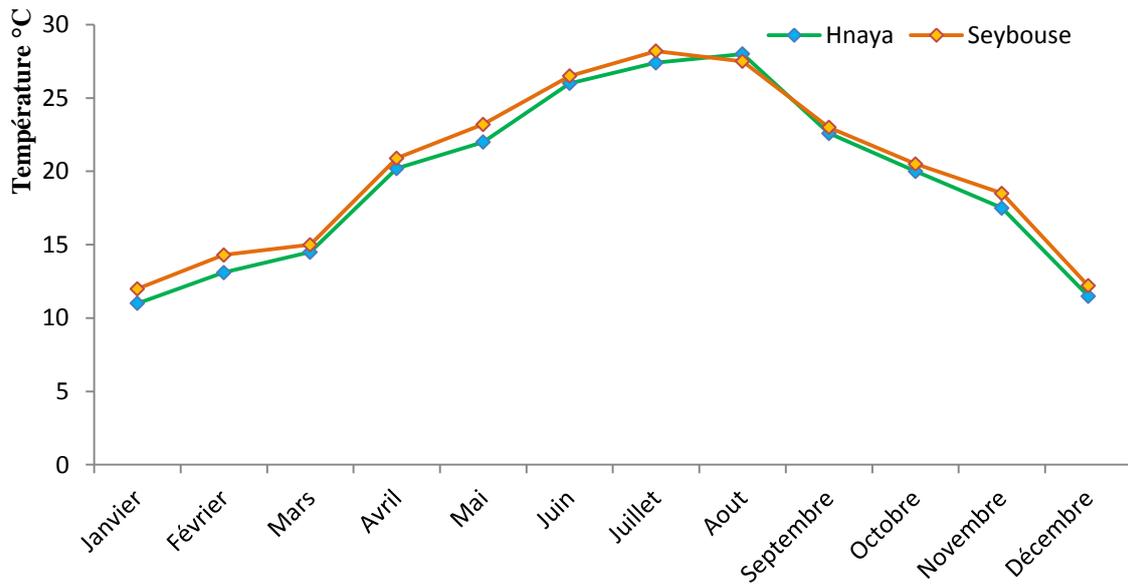
L'évolution de la salinité (psu) durant la période d'étude révèle des valeurs minimales en période hivernale et au début de la période printanière, avec un minimum en décembre pour El Hnaya (36,2 psu) et en janvier à Seybouse (35,7 psu). Les valeurs les plus élevés sont enregistrés en période estivale, avec un maximum de 37, 2 en juillet pour le site d'El Hnaya et 36,7 psu en juillet pour le site de Seybouse. Les moyennes annuelles de ce paramètre montrent une salinité plus élevés au niveau d'El Hnaya comparativement au Seybouse.



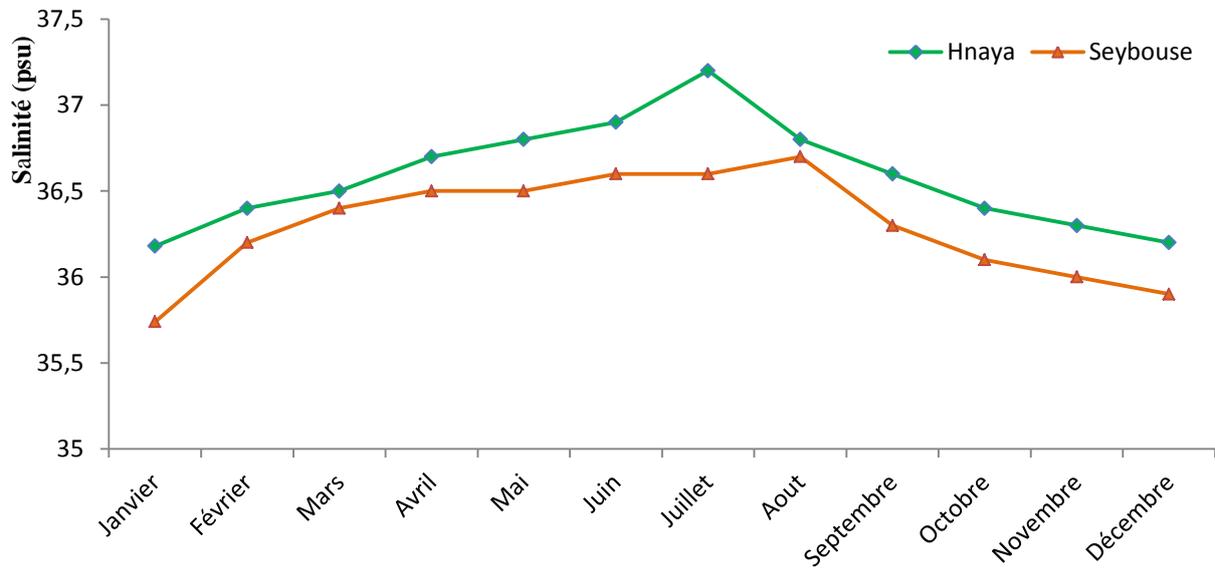
**Figure 12.** Variation mensuelle de la température (°C) de l'eau des deux sites du lac el Mellah: le nord et le sud durant une année.



**Figure 13.** Variation mensuelle de la salinité (psu) de l'eau des deux sites du lac el Mellah: le nord et le sud durant une année.



**Figure 14.** Variation mensuelle de la température (°C) de l'eau de mer des deux sites du golfe d'Annaba: El Hnaya et Seybouse durant une année.



**Figure 15.** Variation mensuelle de la salinité (psu) de l'eau de mer des deux sites du golfe d'Annaba, El Hnaya et Seybouse durant une année.

## **2. Composition biochimique du manteau**

Les teneurs en glucides, lipides et protéines ont été déterminées mensuellement durant un cycle annuel complet dans le manteau de *perna perna* et *Ruditapes decussatus* pêchés dans deux sites du golfe d'Annaba (Hnaya et Seybouse) et lac el Mellah, (Le Nord et le sud) respectivement.

La quantification de ces métabolites a été effectuée à partir d'une courbe de référence correspondant à chaque métabolite.

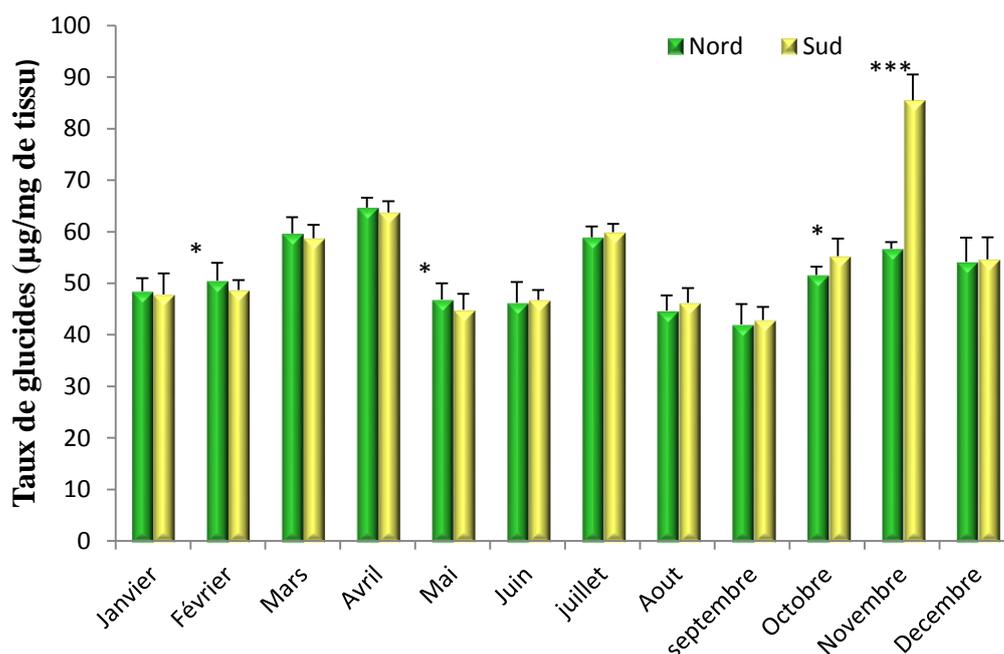
L'étude des variations de ces taux au niveau des deux sites du golfe d'Annaba: El Hnaya et Seybouse, ainsi qu'au niveau des deux sites de la lagune el Mellah, le nord et le sud est déterminer par l'analyse de la variance à un seul critère de classification mois après saison par site suivi du test de Tukey afin de classer ces facteurs en cas de rejet de l'hypothèse, le test T de student afin de comparer les différents moyennes mensuelles et saisonnières entre les deux sites.

### **2. 1. Variation des taux de glucides**

#### **a. Chez *R. decussatus***

Le suivi mensuel des taux de glucides chez *R. decussatus* dans les deux sites d'études, montre des valeurs élevées durant les mois d'avril et novembre, une légère diminution est notée pendant l'hiver, une brusque remontée est enregistrée au mois de mars dans les deux sites d'études. Ce taux diminue ensuite progressivement de mai à septembre au niveau des deux stations.

L'analyse de la variance à un seul critère de classification, mois après saison révèle un effet mois et effet saison hautement significatifs ( $p < 0,001$ ) dans les deux sites d'études. Le test de Tukey classant les saisons par site montre l'existence de trois groupes dans le nord, le premier renferme le printemps et l'automne, le second, automne et été et le troisième été et hiver. Le sud renferme également trois groupes, le premier: printemps, le second l'automne et le troisième renferme l'hiver et l'été. En effet les moyennes mensuelles enregistrées dans les deux stations indiquent des différences hautement significatives ( $p < 0,001$ ) au mois de novembre et des différences significatives ( $p < 0,05$ ) en février, mai et octobre.



**Figure 16.** Variation mensuelle du taux de glucides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) au niveau du manteau de *Ruditapes decussatus* pêché dans la lagune el Mellah: Nord et Sud durant une année ( $m \pm s$ ;  $n=5$ ) (\*\*différence très significative \*\*\* différence hautement significative).

**Tableau 5:** Classement saisonnières du taux de glucides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu), au niveau du manteau de *R. decussatus* pêché dans deux sites de la lagune el Mellah, (Nord et Sud) au cours d'une année; ( $m \pm s$ ;  $n=5$ ) par le test HSD de Tukey.

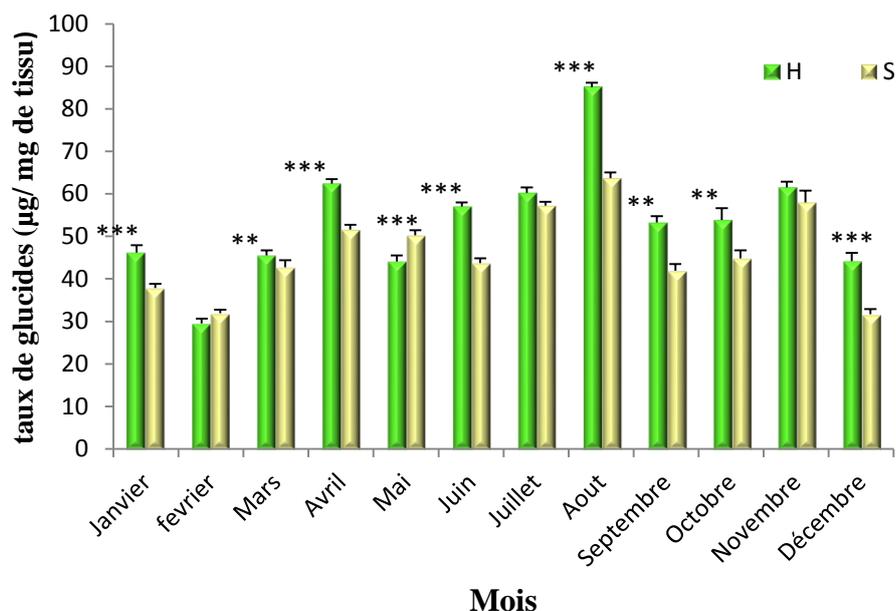
Site	Saison	Groupe
Le nord	Printemps	A
	Automne	AB
	Eté	BC
	Hiver	C
Le sud	Printemps	A
	Automne	B
	Eté	BC
	Hiver	C

### **b. Chez *P. perna***

Un dosage mensuel des glucides est réalisé selon la méthode de Duchtaeau & Florkin (1959), au niveau du manteau de *P. perna* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba (El Hnaya et Seybouse) au cours d'une année. Les valeurs mensuelles enregistrées montrent des fluctuations qui varient selon les sites et le temps. D'après les résultats obtenus le site d'El Hnaya présente des valeurs maximales au mois d'Avril, Juillet, Août et Novembre, les valeurs minimales sont enregistrées au mois de Février, Mai et Décembre; alors que le site de Seybouse présente des valeurs maximales au mois d'Avril, Août et Novembre. Les valeurs minimales sont enregistrées au mois de Février et Décembre.

La quantité des glucides présente après comparaison des moyennes deux à deux par le test t de student révèle des valeurs plus élevés chez les individus d'El Hnaya comparativement à ceux de Seybouse, une augmentation très significative ( $p < 0,01$ ) aux mois de mars (0,002) et octobre (0,003), et hautement significative aux mois de janvier (0,000), avril (0,000), mai (0,000), juin (0,000), septembre (0,000) et décembre (0,000). Cependant aucune différence significative n'est observée aux mois de février.

A partir de l'analyse de la variance à un seul critère de classification (mois et saison), on distingue un effet mois et saison hautement significatif ( $p < 0,001$ ), au sein de chaque site, concernant le classement décroissant des saisons par le test de Tukey (tableau.06), à el Hnaya, trois groupes sont mise en évidence, le premier l'été, le second renferme le printemps et l'automne et le troisième représente l'hiver. Le site de Seybouse renferme également trois groupes, le premier: l'été et le printemps, le second renferme le printemps et l'automne et le troisième représente l'hiver.



**Figure 17.** Variation mensuelle du taux de glucides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) au niveau du manteau de *Perna perna* pêché dans le golfe d'Annaba: El Hnaya et Seybouse durant une année ( $m \pm s$ ;  $n=5$ ) (\*\*différence très significative \*\*\* différence hautement significative).

**Tableau 6:** Classement saisonnières du taux de glucides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu), au niveau du manteau de *P. perna* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba, (El Hnaya et Seybouse) durant une année; ( $m \pm s$ ;  $n=5$ ) par le test HSD de Tukey.

Site	Saison	Groupe
El Hnaya	Eté	A
	Printemps	B
	Automne	B
	Hiver	C
Seybouse	Eté	A
	Printemps	AB
	Automne	BC
	Hiver	C

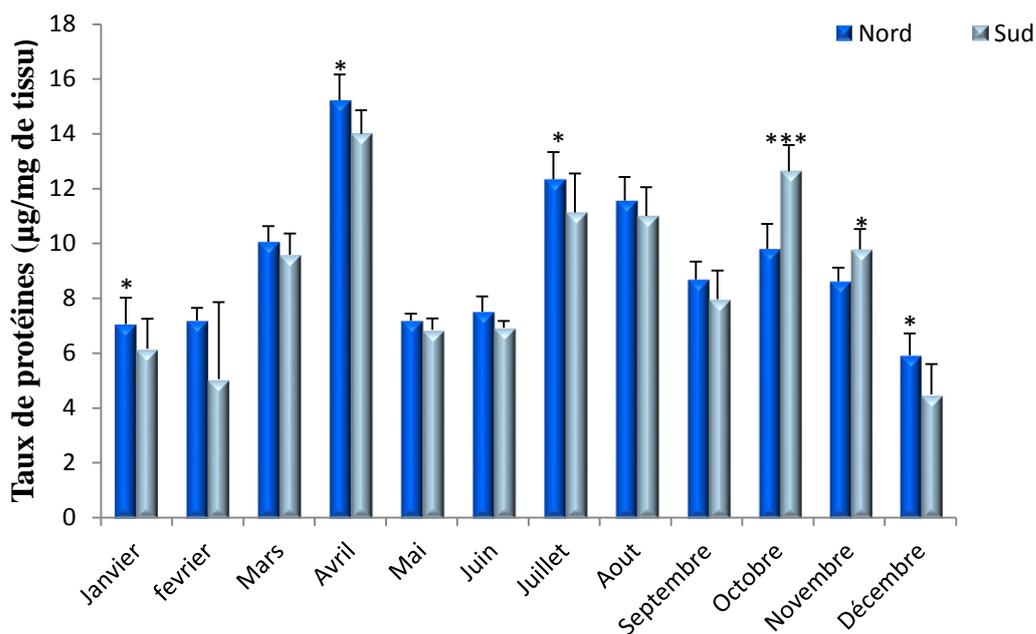
## 2.2. Variation des taux de protéines

### a. Chez *R. decussatus*

L'évolution des taux de protéine au niveau du manteau de *R. decussatus* récoltés dans deux sites du lac el Mellah (le nord et le sud), montre des variations durant la période d'étude, avec une valeur maximale au mois d'Avril chez les individus des deux sites variés entre ( $15,22 \pm 0,94$  et  $14,00 \pm 0,86$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu), dans le nord et le sud respectivement. Par contre les valeurs minimales sont enregistrées au mois de décembre dans les deux sites. L'analyse de la variance à un seul critère de classification (mois après saison au sein de chaque site montre un effet mois hautement significatif ( $p < 0,001$ ) dans les deux sites d'études et un effet saison très significatif ( $p < 0,01$ ) dans le nord.

La comparaison des moyennes entre les deux sites par le test t de student indique une différence hautement significative ( $p < 0,001$ ) au mois d'octobre, et des différences significatives ( $p < 0,05$ ) au mois de janvier, avril, juillet, novembre et décembre.

Le test de Tukey classant les saisons par site montre l'existence de deux groupes dans le nord, le premier renferme, l'été et le printemps, le second englobe le printemps, l'automne et l'hiver contre un seul groupe au sud renferme les quatre saisons.



**Figure 18.** Variation mensuelle du taux de protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) au niveau du manteau de *Ruditapes decussatus* pêché dans la lagune el Mellah: Nord et Sud durant une année ( $m \pm s$ ;  $n=5$ ) (\*\*différence très significative \*\*\* différence hautement significative).

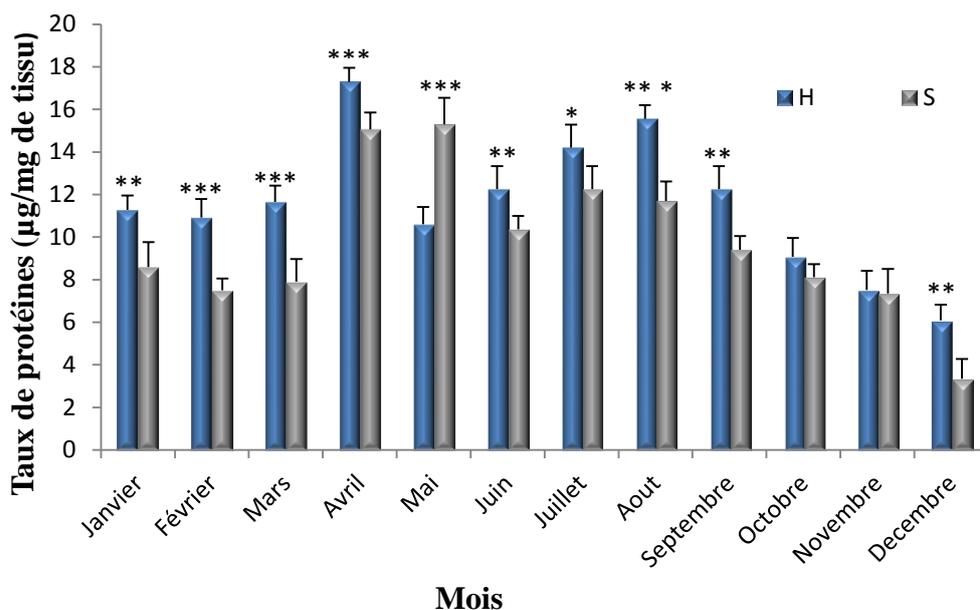
**Tableau 7:** Classement saisonnières du taux de protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu), au niveau du manteau de *R. decussatus* pêché dans deux sites de la lagune el Mellah, (nord et sud) durant une année; ( $m \pm s$ ;  $n=5$ ) par le test HSD de Tukey.

Site	Saison	Groupe
Le nord	Eté	A
	Printemps	AB
	Automne	B
	Hiver	B
Le sud	Eté	A
	Printemps	A
	Automne	A
	Hiver	A

### **b. Chez *P. perna***

La figure 19 représente les variations mensuelles des taux de protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) au niveau du manteau de *Perna perna* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El Hnaya et Seybouse durant une année. On enregistre des valeurs maximales au mois d'avril et août à El Hnaya ( $17,3 \pm 0,66$ ;  $15,56 \pm 0,64 \mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu). Les valeurs minimales ont été notées au mois de novembre et décembre ( $7,51 \pm 0,91$ ;  $6,09 \pm 0,74 \mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) à El Hnaya et au mois de février et décembre à Seybouse. La comparaison des moyennes entre les deux sites par le test t de student indique des différences très significatives ( $p < 0,01$ ) aux mois de janvier, juin, septembre et décembre, des différences hautement significatives ( $p < 0,001$ ) aux mois de février, mars, avril, mai et août. Par contre, aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) n'est observée aux mois d'octobre et novembre.

L'analyse de la variance à un seul critère de classification (mois après saison) par site montre un effet mois et saison hautement significatifs ( $p < 0,001$ ), dans les deux sites d'étude. Le classement des saisons révèle l'existence de trois groupes à el Hnaya, le premier renferme l'été et le printemps, le second: l'hiver et le troisième renferme l'automne. Le site Seybouse renferme également trois groupes, le premier: le printemps, le second, l'été et le troisième englobe l'automne et l'hiver (Tableau 8).



**Figure**

**19.** Variation mensuelle du taux de protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) au niveau du manteau de *Perna perna* pêché dans le golfe d'Annaba: El Hnaya et Seybouse durant une année ( $m \pm s$ ;  $n=5$ ) (\*\*différence très significative \*\*\* différence hautement significative).

**Tableau 8:** Classement saisonnières du taux de protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu), au niveau du manteau de *P. perna* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba, (El Hnaya et Seybouse) durant une année; ( $m \pm s$ ;  $n=5$ ) par le test HSD de Tukey.

Site	Saison	Groupe
El Hnaya	Eté	A
	Printemps	A
	Hiver	B
	Automne	C
Seybouse	Printemps	A
	Eté	B
	Hiver	C
	Automne	C

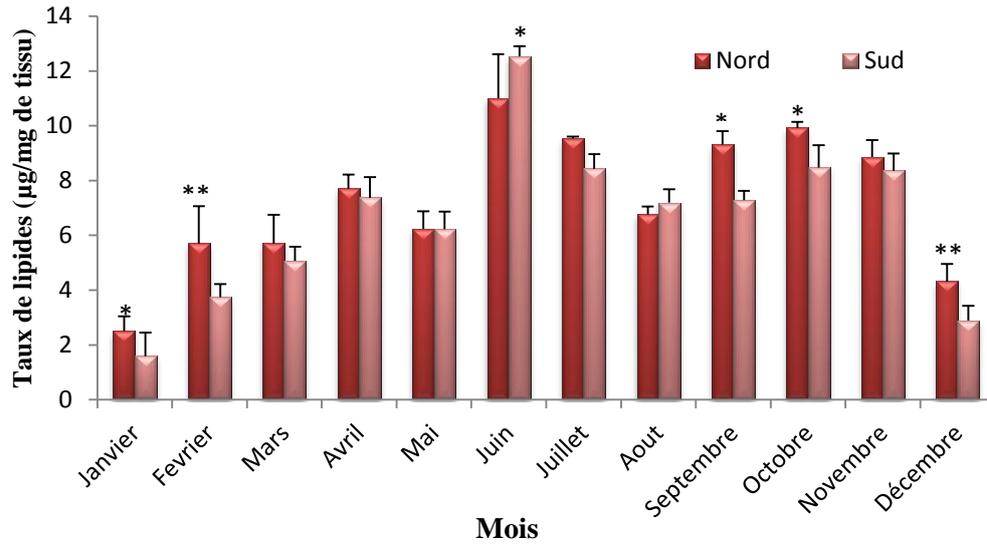
## 2.3. Variation des taux de lipides

### a. Chez *R. decussatus*

Le suivi mensuel des teneurs en lipides chez les individus de *R. decussatus* au cours d'une année montre des valeurs maximales au mois Juin ( $11 \pm 1,61$  et  $12,53 \pm 0,37$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) dans le nord et le sud respectivement, tandis que les valeurs minimales sont enregistrées au mois de décembre avec  $2,51 \pm 0,053$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu au nord et  $1,59 \pm 0,86$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu au sud du lac.

L'analyse de la variance à un seul critère de classification (mois après saison) par site montre un effet mois hautement significatif ( $p < 0,001$ ), et un effet saison très significatif ( $p < 0,01$ ) dans les deux sites d'étude. Le test de Tukey classant les saisons par site montre l'existence de deux classes pour les deux sites, le nord et le sud du lac.

La comparaison des moyennes par le test t de student révèle des différences très significatives ( $p < 0,01$ ) au mois de février et décembre, et des différences significatives ( $p < 0,05$ ), au mois de janvier, juin, septembre et octobre, cependant aucune différence significative n'est observé au mois de mars, avril, mai, juillet, août et novembre.



**Figure 20.** Variation mensuelle du taux de lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) au niveau du manteau de *Ruditapes decussatus* pêché dans la lagune el Mellah: Nord et Sud, durant une année ( $m \pm .s$ ;  $n=5$ ) (\*\*différence très significative \*\*\* différence hautement significative).

**Tableau 09:** Classement saisonnières du taux de lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu), au niveau du manteau de *R. decussatus* pêché dans deux sites de la lagune el Mellah, (Nord et Sud) durant une année; ( $m \pm s$ ;  $n=5$ ) par le test HSD de Tukey.

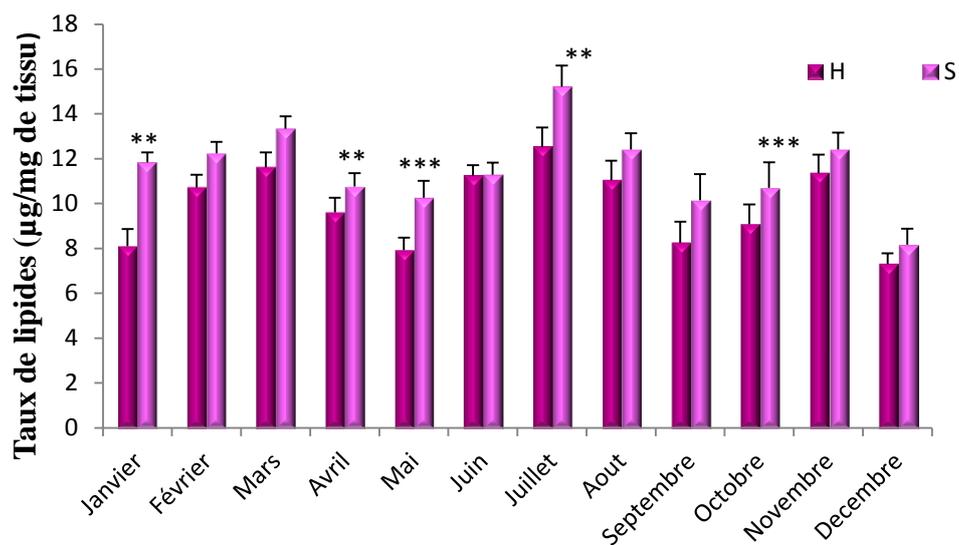
Site	Saison	Groupe
Le nord	Automne	A
	Eté	AB
	Printemps	B
	Hiver	B
Le sud	Automne	A
	Eté	AB
	Printemps	AB
	Hiver	B

### **b. Chez *P. perna***

Les variations saisonnières du contenu lipidique sont déterminées mensuellement au niveau du manteau de *Perna perna* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El Hnaya et Seybouse au cours d'une année. Les résultats obtenus montrent des valeurs maximales au mois de mars, juin et juillet chez les individus provient d'El Hnaya et les valeurs minimales sont enregistrées au mois de mai, septembre et décembre. Tan disque chez les individus de Seybouse, les valeurs maximales sont enregistrées au mois de mars et juillet et les valeurs minimales sont enregistrés au mois de septembre et décembre ( $10,15 \pm 1,17$ ;  $8,17 \pm 0,71$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) respectivement.

La comparaison des moyennes par le test t de student révèle des valeurs plus élevées en lipides chez les individus de Seybouse comparativement à ceux d'El Hnaya, aux mois de janvier ( $p=0,001$ ), avril ( $p=0,003$ ), mai ( $p=0,000$ ), juillet ( $p=0,006$ ) et octobre ( $p=0,000$ ).

L'analyse de la variance à un seul critère de classification (mois et saison) montre pour le site d'El Hnaya un effet mois et saison hautement significatifs ( $p<0,001$ ), on ce qui concerne le site de Seybouse on enregistre un effet mois hautement significatif ( $p<0,001$ ) et un effet saison significative ( $p<0,05$ ). Le classement des saisons par le test de Tukey révèle l'existence de deux groupes à Seybouse le premier renferme le printemps et l'hiver, le second renferme l'hiver, l'été et l'automne. Le site El Hnaya renferme aussi deux groupes, le premier: le printemps, le second renferme l'hiver, l'été et l'automne.



**Figure 21.** Variation mensuelle du taux de lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) au niveau du manteau de *Perna perna* pêché dans le golfe d'Annaba: El Hnaya et Seybous durant une année ( $m \pm s$ ;  $n=5$ ) (\*\*différence très significative \*\*\* différence hautement significative).

**Tableau 10:** Classement saisonnières du taux de lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu), au niveau du manteau de *P. perna* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba, (El Hnaya et Seybouse) durant une année; ( $m \pm s$ ;  $n=5$ ) par le test HSD de Tukey.

Site	Saison	Groupe
El Hnaya	Printemps	A
	Hiver	B
	Eté	B
	Automne	B
Seybouse	Printemps	A
	Hiver	AB
	Eté	B
	Automne	B

## 2.4. Composition en acides gras des lipides totaux du manteau

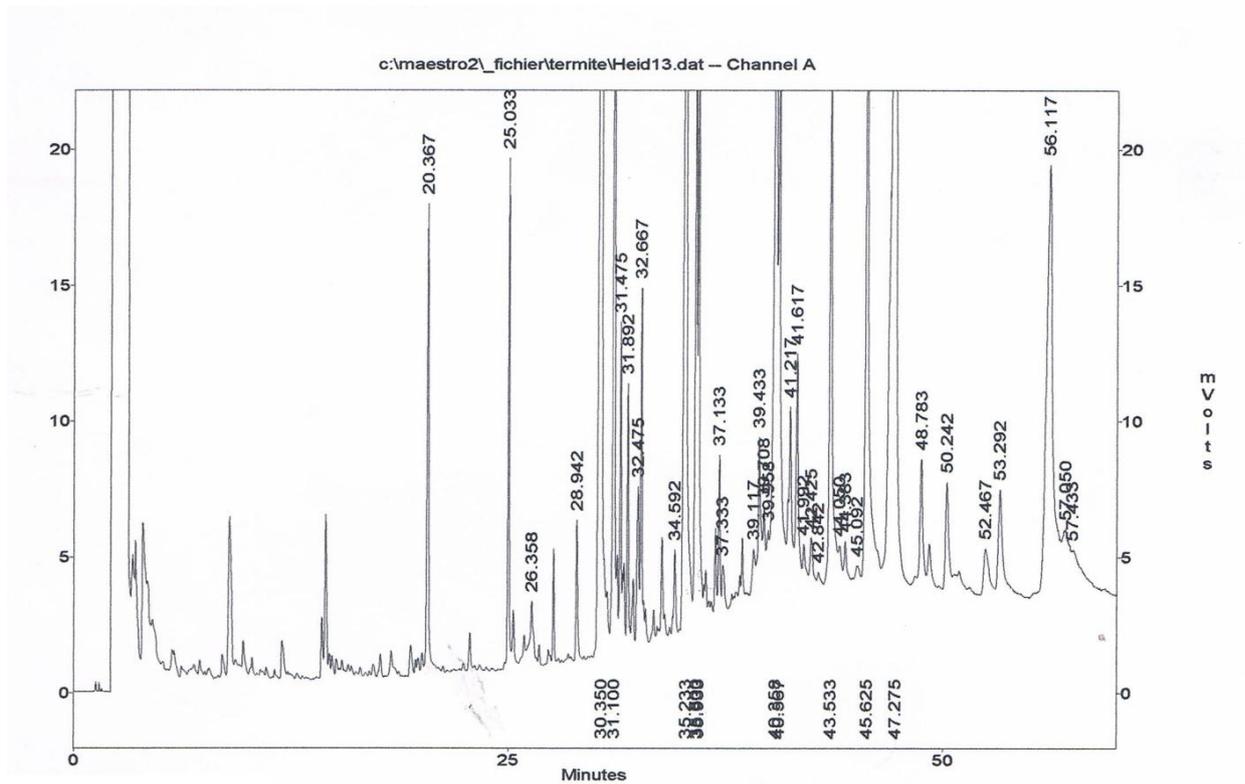
### a. Chez *R. decussatus*

L'évolution saisonnière des acides gras totaux a montré des valeurs maximales enregistrées en automne  $10,97 \pm 0,06\%$ . Le printemps est caractérisé par l'élévation du pourcentage des acides gras totaux dans le tissu mou de *R. decussatus* ( $9,36 \pm 2,9\%$ ) qui a diminué significativement ( $p < 0,05$ ) en été ( $7,89 \pm 0,54\%$ ) (Figure. 23).

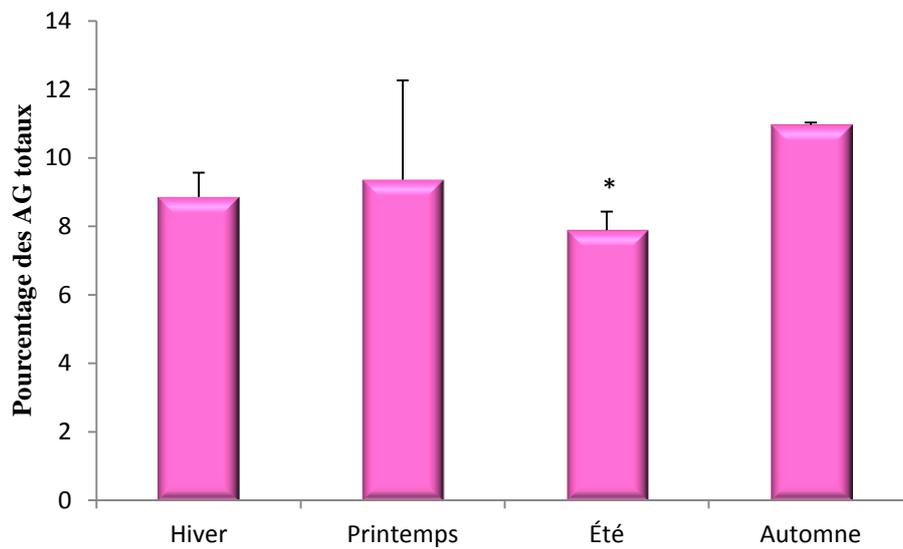
La dominance des acides gras polyinsaturés (AGPI:  $49,53 \pm 6,82 - 64,73 \pm 7,17\%$ ) sur les acides gras saturés (AGS:  $13,78 \pm 3,61 - 23,87 \pm 0,67\%$ ) et monoinsaturés (AGMI:  $21,24 \pm 3,4 - 25,45 \pm 6,7\%$ ) a été mise en évidence durant l'année de l'étude (Figure. 24) chez *R. decussatus*. Les variations des acides gras monoinsaturés ne sont pas révélées significativement durant la période d'étude. Les acides gras saturés ont varié significativement ( $p < 0,05$ ) de l'été à l'automne et les acides gras polyinsaturés du printemps à l'été ( $p < 0,05$ ) chez *R. decussatus*.

Les acides gras polyinsaturés de type (n-3) constituent le groupe le plus important parmi les polyinsaturés dominés par l'acide eicosapentaénoïque (C20:5(n-3):  $12,87 \pm 0,8 - 18,92 \pm 2,07\%$  des acides gras totaux). Les acides gras saturés, essentiellement représentés par l'acide palmitique (16:0:  $5,51 \pm 1,56 - 16,55 \pm 0,12\%$  des acides gras totaux), constituent le troisième groupe d'acide gras alors que l'ensemble des acides gras monoinsaturés majoritairement représentés par l'acide oléique (C18:1;  $6,4 \pm 0,53 - 12,4 \pm 1,78\%$ ).

Les valeurs maximales de l'acide palmitique (C16:0) sont enregistrées en hiver et en été. Les valeurs maximales de C20:5(n-3) est enregistrée au printemps. Les valeurs maximales de l'acide oléique C18:1 sont enregistrées en été.



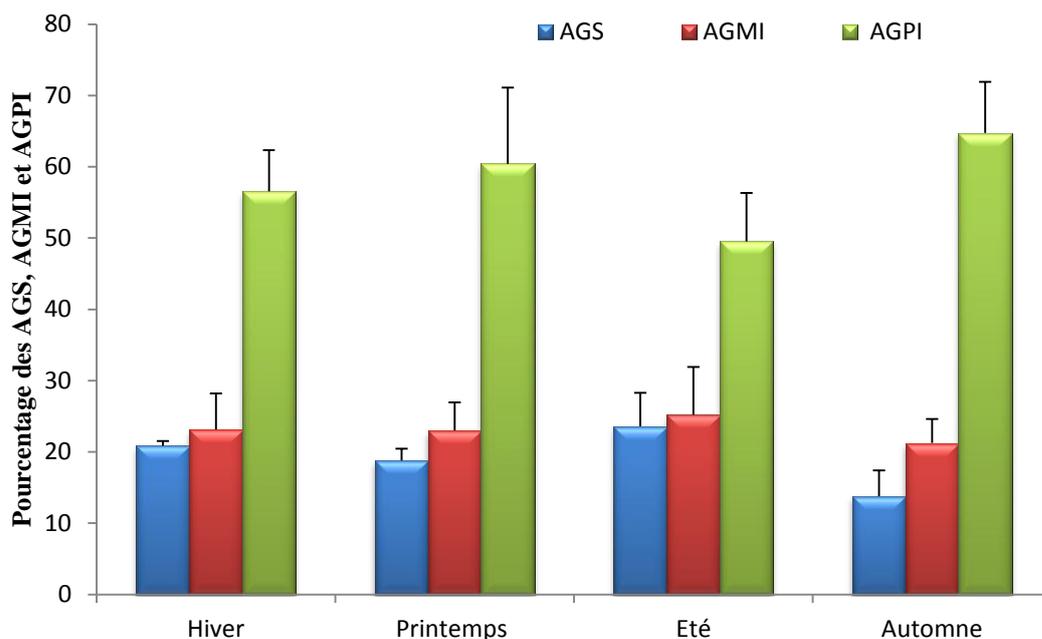
**Figure 22.** Chromatographie de l'analyse qualitative des lipides chez *R. decussatus* provenant du lac el Mellah.



**Figure 23.** Variation saisonnières de la teneur en acides gras totaux chez *R. decussatus* durant l'année de l'étude.

**Tableau 11.** Variation saisonnières de la composition en acides gras du manteau de *Ruditapes decussatus* pêché dans la lagune el Mellah (m± s, n=3).

Acides gras	Hiver m ±s	Printemps m ±s	Été m ±s	Automne m ±s
14:0	0,94 ± 0,035	1,32 ± 0,06	2,02 ± 0,34	0
16:0	16,55 ± 0,12	13,74 ± 1,49	15,56 ± 2,7	5,51 ± 1,56
17:0	1,75 ± 0,21	2,42 ± 0,08	4,35 ± 1,22	4,7 ± 1,09
18:0	1,63 ± 0,31	1,33 ± 0,025	1,67 ± 0,43	3,57 ± 0,96
<b>ΣAGS</b>	<b>20,87 ± 0,67%</b>	<b>18,81 ± 1,65%</b>	<b>23,6 ± 4,69%</b>	<b>13,78 ± 3,61%</b>
16:1	3,17 ± 0,46	2,19 ± 0,42	4,21 ± 2,04	4,09 ± 0,75
18:1	10,41 ± 1,23	10,88 ± 2	12,4 ± 1,78	6,4 ± 0,53
20:1	8,41 ± 3	8,86 ± 1,11	7,22 ± 2,51	6 ± 1,22
22:1	1,16 ± 0,35	1,08 ± 0,4	1,37 ± 0,37	4,75 ± 0,9
<b>ΣAGMI</b>	<b>23,15 ± 5,04%</b>	<b>23,01 ± 3,93%</b>	<b>25,2 ± 6,7%</b>	<b>21,24 ± 3,4%</b>
18:2(n -6)	1,54 ± 0,53	4,13 ± 1,07	1,83 ± 0,04	5,83 ± 0,44
18:3(n -6)	3,41 ± 0,6	3,41 ± 1,04	3,83 ± 0,2	3,08 ± 0,9
20:2(n -6)	1,41 ± 0,25	1,44 ± 0,43	1,74 ± 0,37	2,13 ± 0,64
20:3(n -6)	2,53 ± 0,55	2,26 ± 0,03	2,6 ± 0,96	2,19 ± 0,51
20:4(n -6)	4,73 ± 0,73	2,49 ± 0,43	3,6 ± 1,01	3,14 ± 0,45
22:4(n -6)	2,45 ± 0,36	2,19 ± 0,20	2,71 ± 0,51	2,25 ± 0,83
22:5(n -6)	2,5 ± 0,41	1,75 ± 0,51	2,1 ± 0,59	2,54 ± 0,35
<b>ΣAGPI</b>	<b>18,57 ± 3,43%</b>	<b>17,67 ± 3,71%</b>	<b>18,41 ± 3,68%</b>	<b>21,16 ± 4,13%</b>
18:3 (n -3)	4,32 ± 0,11	4,09 ± 0,78	2,71 ± 0,7	5,94 ± 0,48
18:4(n -3)	4,53 ± 1,52	3,03 ± 0,8	3,33 ± 0,41	4,91 ± 0,42
20:4(n-3)	1,13 ± 0,22	2,02 ± 0,2	1,79 ± 0,35	1,95 ± 0,13
20:5(n-3)	14,06 ± 0,88	18,92 ± 2,07	12,87 ± 0,8	16,64 ± 0,9
22:3(n-3)	1,04 ± 0,03	1,98 ± 0,73	1,11 ± 0,18	2,24 ± 0,11
22:5(n-3)	8,96 ± 0,58	3,93 ± 1	4,23 ± 0,05	8,95 ± 0,62
22:6(n-3)	3,93 ± 0,02	8,79 ± 1,4	5,08 ± 0,65	2,94 ± 0,38
<b>ΣAGPI</b>	<b>37,97 ± 3,36%</b>	<b>42,76 ± 6,98%</b>	<b>31,12 ± 3,14%</b>	<b>43,57 ± 3,04%</b>
<b>ΣAGPI (n -3) (n -6)</b>	<b>56,54 ± 6,79%</b>	<b>60,43 ± 10,69%</b>	<b>49,53 ± 6,82%</b>	<b>64,73 ± 7,17%</b>

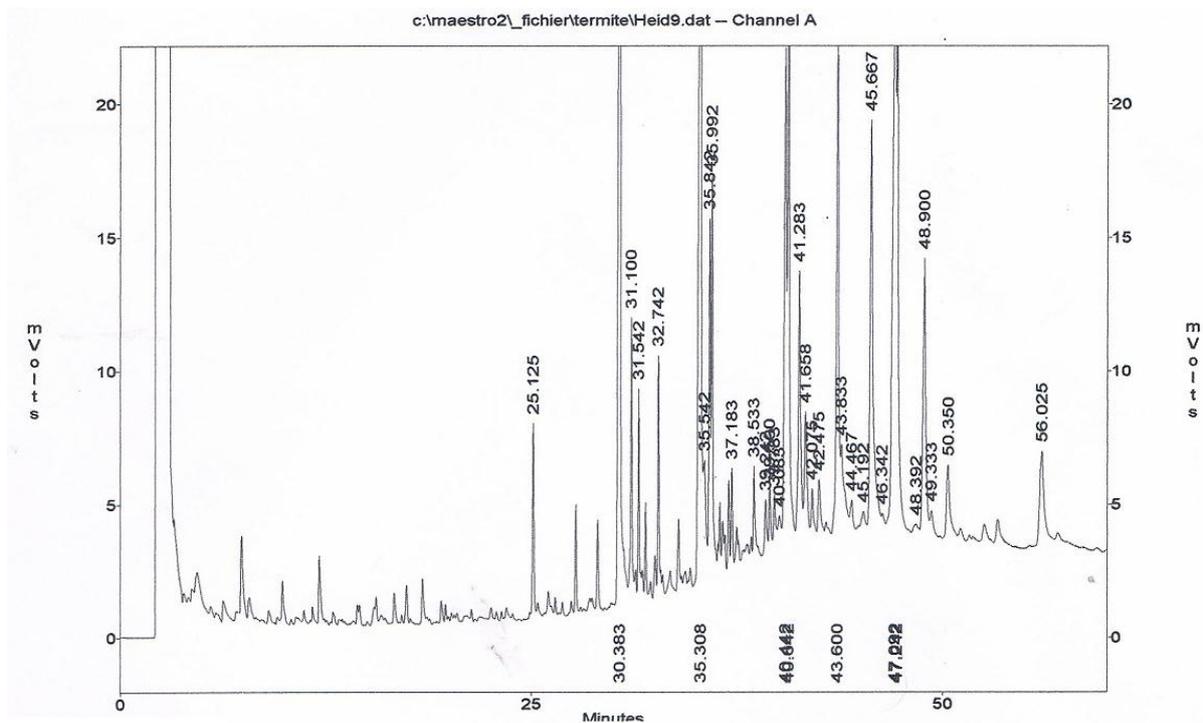


**Figure 24.** Variation saisonnières des acides gras saturés (AGS), monoinsaturés (AGMI) et des acides gras polyinsaturés (AGPI) chez *R. decussatus* durant l'année de l'étude ( $m \pm s$ ,  $n=3$ ).

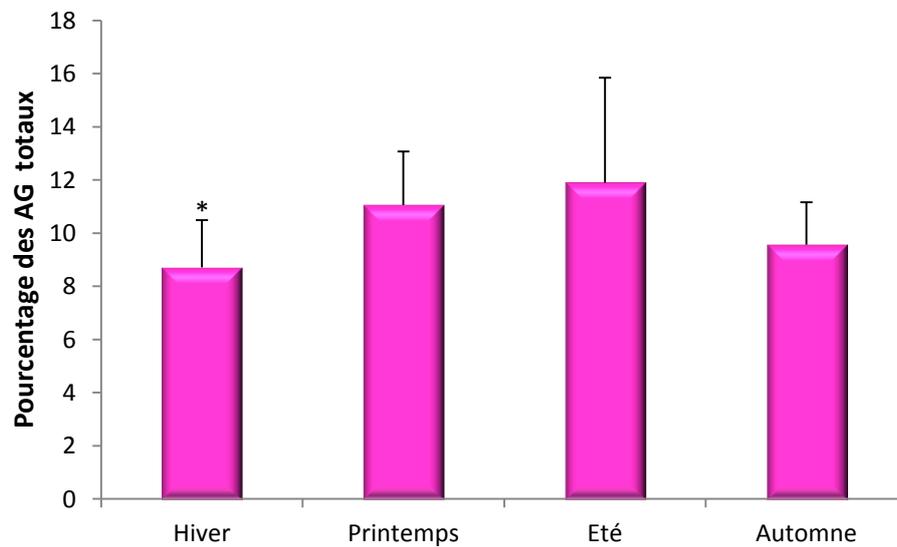
#### b. Chez *P. perna*

L'évolution saisonnière des acides gras totaux chez la moule *Perna perna* du golfe d'Annaba à enregistrées des valeurs maximales en été  $11,89 \pm 3,96\%$ . Le printemps est caractérisé par l'élévation du pourcentage des acides gras totaux dans le tissu mou de *P. perna* ( $11,05 \pm 2,02\%$ ) qui a diminué significativement ( $p < 0,05$ ) en hiver ( $8,71 \pm 1,78\%$ ) (Figure. 26). Cette étude nous a permis d'identifier les acides gras saturés suivant: C14:0, C16:0, C17:0, C18:0; les acides gras monoinsaturés, C16:1, C18:1 et le C20:1 et les acides gras polyinsaturés C18:2; C18:3; C20:3; C20: (5n-3) et le C22: 6 (n-3). Les valeurs de ces acides gras présentées dans le tableau 12, montrent des teneurs élevées en C16:0 ( $14,89 \pm 1,41 - 19,91 \pm 2,05\%$ ), C18:0 ( $1,06 \pm 0,69 - 2,31 \pm 1,31\%$ ), C18:1 ( $10,26 \pm 1,87 - 11,6 \pm 1,61\%$ ), C20: (5n-3) ( $9,87 \pm 0,87 - 11,98 \pm 1,41\%$ ), C22: 6(n-3) ( $16,9 \pm 2,05 - 20,98 \pm 1,01\%$ )

La comparaison des différents classes d'acide gras (saturés, monoinsaturés et polyinsaturés) montre, que les acides gras polyinsaturés sont majoritaires tout au long de l'année de l'étude. L'analyse des AGPI révèle que la série (n-3) présente les pourcentages les plus élevés, ces derniers dépassent (42 %). Alors que les AGPI de la série (n-6) montrent des teneurs inférieures à 16 % tout au long de l'année.



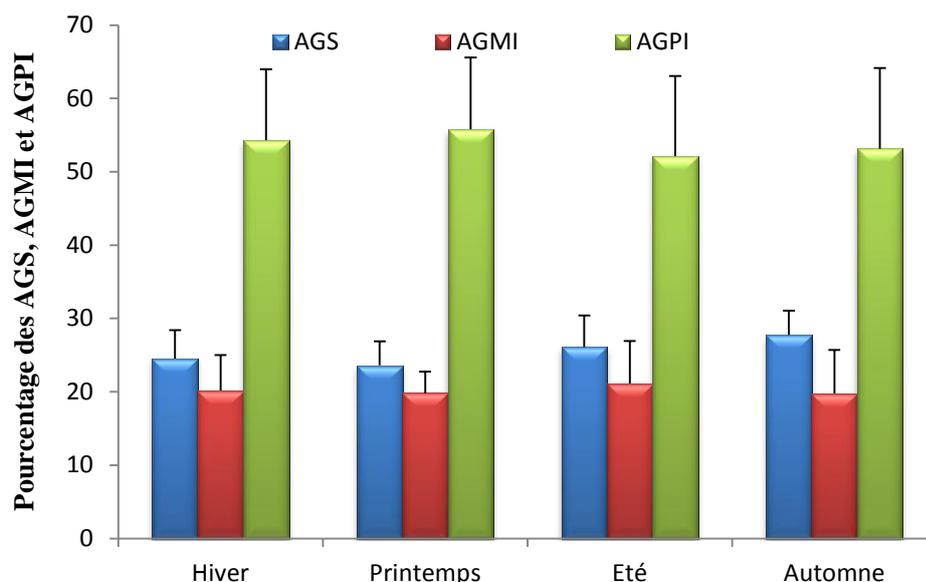
**Figure 25.** Chromatographie de l'analyse qualitative des lipides chez *P. perna* provenant du golfe d'Annaba.



**Figure 26.** Variation saisonnière de la teneur en acides gras totaux chez *P. perna* durant l'année de l'étude.

**Tableau 12.** Variation saisonnières de la composition en acides gras du manteau de *Perna perna* pêché dans le golfe d'Annaba (m± s, n=3).

Acides gras	Hiver m ± s	Printemps m ± s	Eté m ± s	Automne m ± s
14:0	3,97 ± 0,34	2,87 ± 0,34	3,09 ± 0,56	2,17 ± 0,27
16:0	14,98 ± 1,43	14,89 ± 1,41	19,91 ± 2,05	18,88 ± 1,17
17:0	3,73 ± 1,21	3,89 ± 1,01	2,05 ± 0,98	4,39 ± 0,56
18:0	1,84 ± 0,91	1,95 ± 0,51	1,06 ± 0,69	2,31 ± 1,31
<b>ΣAGS</b>	<b>24,52 ± 3,89%</b>	<b>23,6 ± 3,27%</b>	<b>26,11 ± 4,28%</b>	<b>27,75 ± 3,31%</b>
16:1	2,8 ± 0,98	2,03 ± 0,39	1,56 ± 0,84	1,93 ± 0,84
18:1	10,82 ± 1,43	11,48 ± 1,23	10,26 ± 1,87	11,6 ± 1,61
20:1	4,64 ± 1,65	5,44 ± 1,25	7,86 ± 2,38	5,06 ± 2,95
22:1	1,94 ± 0,76	0,85 ± 0,06	1,46 ± 0,7	1,19 ± 0,54
<b>ΣAGMI</b>	<b>20,2 ± 4,82%</b>	<b>19,8 ± 2,93%</b>	<b>21,14 ± 5,79%</b>	<b>19,78 ± 5,94%</b>
18:2(n-6)	6,04 ± 0,8	5,71 ± 0,8	6,67 ± 0,97	4,34 ± 0,89
18:3(n-6)	1,32 ± 0,43	1,22 ± 0,56	1,54 ± 0,56	1,08 ± 0,92
20:2(n-6)	1,02 ± 0,87	1,32 ± 0,76	1,92 ± 0,76	1,53 ± 1,01
20:3(n-6)	01,41 ± 0,98	1,78 ± 0,97	1,39 ± 0,71	1,18 ± 0,43
20:4(n-6)	1,01 ± 0,65	1,33 ± 1,05	1,85 ± 1,02	1,35 ± 0,57
22:4(n-6)	0,66 ± 0,56	0,89 ± 0,67	0,59 ± 0,86	1,19 ± 0,98
22:5(n-6)	1,55 ± 0,57	1,08 ± 0,87	1,84 ± 0,67	1,98 ± 0,56
<b>ΣAGPI (n-6)</b>	<b>13,01 ± 4,86%</b>	<b>13,33 ± 5,68%</b>	<b>15,8 ± 5,55%</b>	<b>12,65 ± 5,36%</b>
18:3 (n-3)	3,09 ± 1,18	4,23 ± 1,09	3,32 ± 1,24	3,4 ± 1,03
18:4(n-3)	3,31 ± 0,45	5,22 ± 1,11	4,57 ± 1,06	3,54 ± 1,23
20:4(n-3)	0,81 ± 0,56	0,91 ± 0,06	0,65 ± 0,03	0,76 ± 0,08
20:5(n-3)	11,98 ± 1,49	11,87 ± 0,98	9,87 ± 0,87	11,74 ± 1,29
22:3(n-3)	0,69 ± 0,21	0,78 ± 0,13	0,82 ± 0,1	0,68 ± 0,04
22:5(n-3)	0,46 ± 0,05	0,43 ± 0,03	0,21 ± 0,02	0,38 ± 0,01
22:6(n-3)	20,98 ± 1,01	19,01 ± 1,38	16,9 ± 2,05	19,98 ± 2,24
<b>ΣAGPI (n-3)</b>	<b>41,32 ± 4,95%</b>	<b>42,45 ± 4,78%</b>	<b>36,34 ± 5,37%</b>	<b>40,48 ± 5,65%</b>
<b>ΣAGPI</b>	<b>54,33 ± 9,64%</b>	<b>55,78 ± 10,46%</b>	<b>52,14 ± 10,92%</b>	<b>53,13 ± 11,01%</b>



**Figure 27.** Variation saisonnières des acides gras saturés (AGS), monoinsaturés (AGMI) et des acides gras polyinsaturés (AGPI) chez *P. perna* durant l'année de l'étude ( $m \pm s$ ,  $n=3$ ).

### 3. Etude de l'indice de condition

#### a. Chez *R. decussatus*

Les valeurs de l'indice de condition (Figure.28), calculées à partir des palourdes issues de deux sites (nord et sud) de la lagune el Mellah (Nord Est Algérien), et fluctuent entre  $9,38 \pm 1,61$  et  $14,5 \pm 0,9$  dans le nord et entre  $8,48 \pm 1,3$  et  $13,92 \pm 1,31$  dans le sud. Un accroissement extrêmement rapide est noté à partir de février pour atteindre en avril la valeur maximal de ( $14,5 \pm 0,9$ ) dans le nord et ( $13,92 \pm 1,31$ ) dans le sud. L'indice chute en mai et juin puis augmente en juillet. Une nouvelle diminution est notée en août et septembre avec des valeurs allant de  $10,54 \pm 1,44$  et  $9,38 \pm 0,84$  respectivement au nord et  $10,22 \pm 1,3$  et  $8,48 \pm 0,8$  au sud.

L'analyse de la variance à un seul critère de classification mois après saison révèle des effets mois et saison hautement significatifs ( $p < 0,001$ ) dans les deux sites d'étude. Le test de Tukey classant les saisons par site montre l'existence de deux classes de saisons au nord et également deux classes au sud du lac. Les valeurs les plus élevées sont enregistrées en période printanières et estivale dans les deux sites d'étude, tandis que les valeurs les plus basses sont enregistrées en période automnale dans les deux sites d'étude.

La comparaison mensuelle des indices de conditions entre les deux sites d'étude montre généralement une diminution non significative ( $p > 0,05$ ) de cet indice chez les individus du sud,

sauf au mois de novembre où enregistre une augmentation très significative ( $p < 0,01$ ) de celui-ci chez les individus du sud du lac.



**Figure 28.** Variation mensuelle de l'indice de condition chez *R. decussatus* pêché au niveau de deux sites de la lagune el Mellah, (nord et sud) durant une année.

**Tableau 13:** Classement saisonnières de l'indice de condition chez *R. decussatus* pêché au niveau de deux sites de la lagune el Mellah, (nord et sud) durant une année; par le test HSD de Tukey.

Site	Saison	Groupe
Le nord	Printemps	A
	Hiver	A
	Eté	A
	Automne	B
Le sud	Printemps	A
	Hiver	A
	Eté	AB
	Automne	B

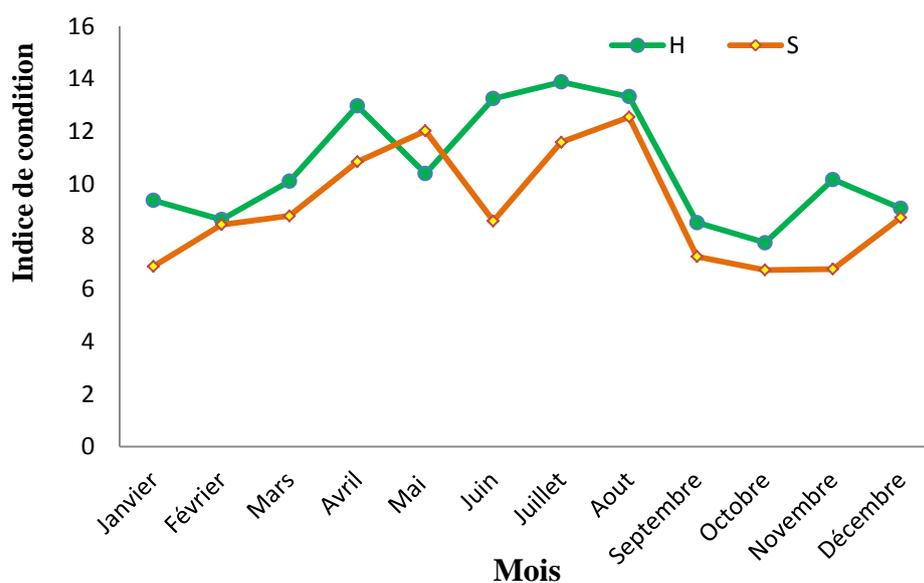
### **b. Chez *P. perna***

La figure (29), représente la variation mensuelle de l'indice de condition (IC) chez *P. perna* dans deux sites du golfe d'Annaba: El Hnaya et Seybouse durant une année, pour les individus récoltés à El Hnaya, l'indice de condition montre des valeurs maximales en avril, juin et juillet et des valeurs minimales en septembre et octobre ( $8,53 \pm 0,96$ ;  $7,76 \pm 1,17$ ). Concernant la station de Seybouse, les valeurs maximales a été enregistrées au mois de mai et août alors que les valeurs minimales a été observées en janvier, octobre et novembre ( $6,86 \pm 0,55$ ;  $6,72 \pm 1,1$ ;  $6,76 \pm 0,97$ ).

La comparaison mensuelle des indices de conditions entre les deux sites d'étude montre généralement une diminution hautement significative de cet indice à Seybouse sauf aux mois de mai, juillet et décembre où enregistre une augmentation de celui-ci. Au mois de février, avril et septembre aucune différence n'a été enregistrée entre les deux sites.

L'analyse de la variance à un seul critère de classification mois après saison révèle des effets mois et saison hautement significatifs ( $p < 0,001$ ) dans les deux sites d'étude.

Le test de Tukey classant les saisons par site montre l'existence de deux classes de saisons à el Hnaya, le premier englobe le printemps et l'été, le second renferme l'hiver et l'automne, et deux groupes également pour le site de Seybouse, le premier renferme le printemps et l'été, le deuxième l'hiver et l'automne.



**Figure 29.** Variation mensuelle de l'indice de condition chez *P. perna* pêché dans le golfe d'Annaba: El Hnaya et Seybouse durant une année ( $m \pm s$ ;  $n=15$ ).

**Tableau 14:** Classement saisonnières de l'indice de condition chez *P. perna* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba, (El Hnaya et Seybouse); durant une année par le test HSD de Tukey.

Site	Saison	Groupe
El Hnaya	Printemps	A
	Eté	A
	Hiver	B
	Automne	B
Seybouse	Printemps	A
	Eté	A
	Automne	B
	Hiver	B

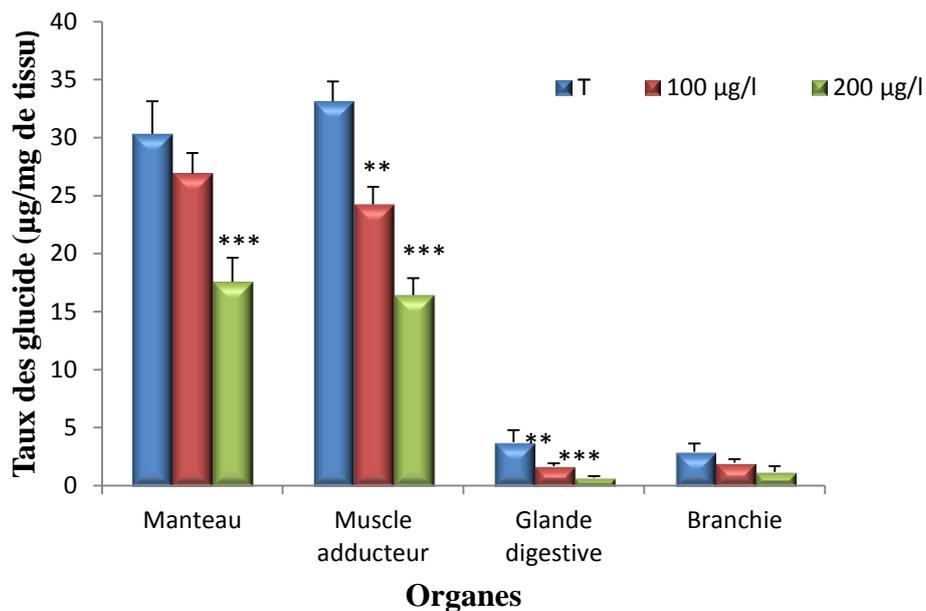
## 4. Expériences de laboratoire

### 4.1. Influence du cadmium sur les métabolites Chez *R. decussatus*

La teneur en protéines, glucides et lipides a été déterminée au niveau du manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive de *R. decussatus* (collecté au niveau du lac el Mellah) et *P. perna* du golfe d'Annaba, témoins et traités à 100 et 200  $\mu\text{g/l}$  de  $\text{CdCl}_2$ , pendant 21 jours.

#### 4.1.1. Taux des glucides

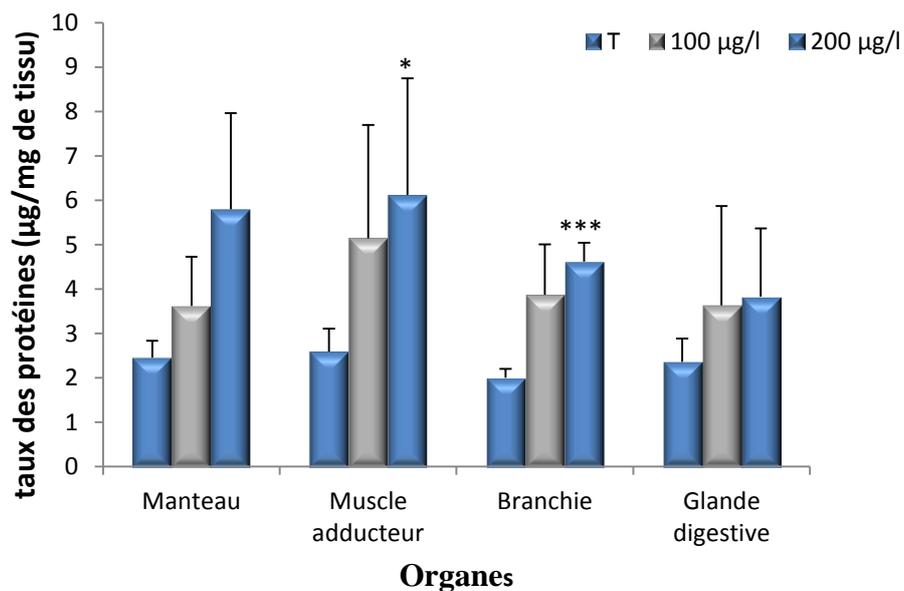
Les taux des glucides enregistrés chez les individus de *R. decussatus* témoins et traités à 100  $\mu\text{g/l}$  de  $\text{CdCl}_2$ , durant 21 jours sont mentionnés dans la figure (30). La comparaison deux à deux avec le test t de student des différentes moyennes révèle des effets très significatives entre les témoins et les traités avec la dose I au niveau du muscle adducteur et glandes digestive. Des différences hautement significatives ( $p < 0,001$ ), ont été notées après 21 jours de traitement à 200  $\mu\text{g/l}$  de  $\text{CdCl}_2$ , au niveau du muscle adducteur, glande digestive et manteau.



**Figure 30.** Taux des glucides ( $\mu\text{g/mg}$  de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de *R. decussatus* traité au cadmium, pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ ,  $n=4$ ).

#### 4.1.2. Taux des protéines

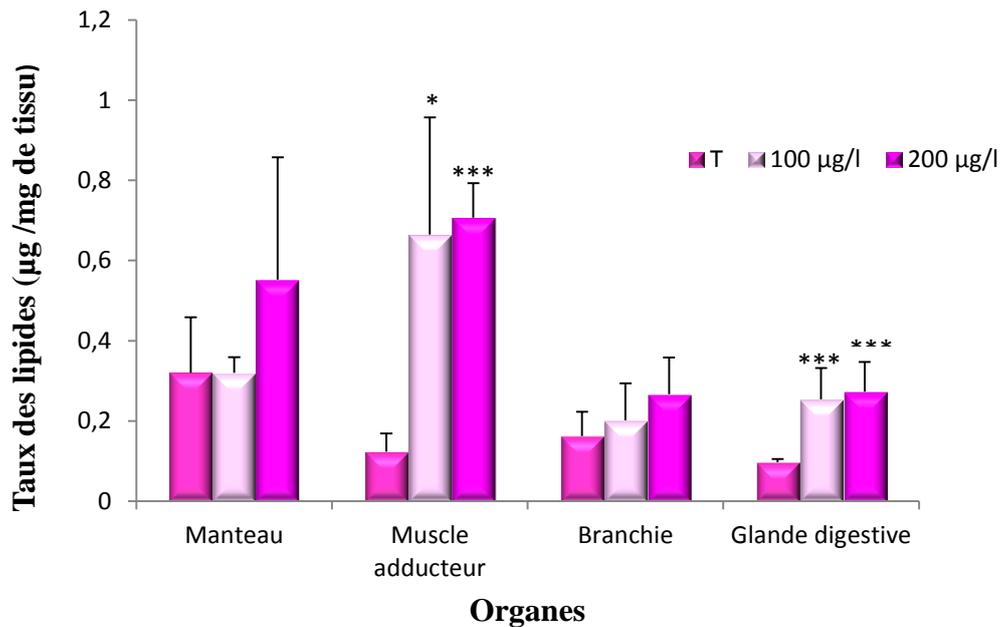
Le traitement au cadmium entraîne une accumulation des protéines au niveau des quatre tissus étudiés avec un effet dose - dépendante. Cette augmentation est significative au niveau du muscle adducteur à 100  $\mu\text{g/l}$  et hautement significative au niveau de la branchie pour la dose 200  $\mu\text{g/l}$ .



**Figure 31.** Taux des protéines ( $\mu\text{g/mg}$  de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de *R. decussatus* traité au cadmium, pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ ,  $n=4$ ).

### 4.1.3. Taux des lipides

Le traitement au Cadmium entraîne une accumulation des lipides au niveau des 4 tissus étudiés avec un effet dose- réponse. Cette augmentation est hautement significative au niveau du muscle adducteur et glande digestive pour la concentration II.



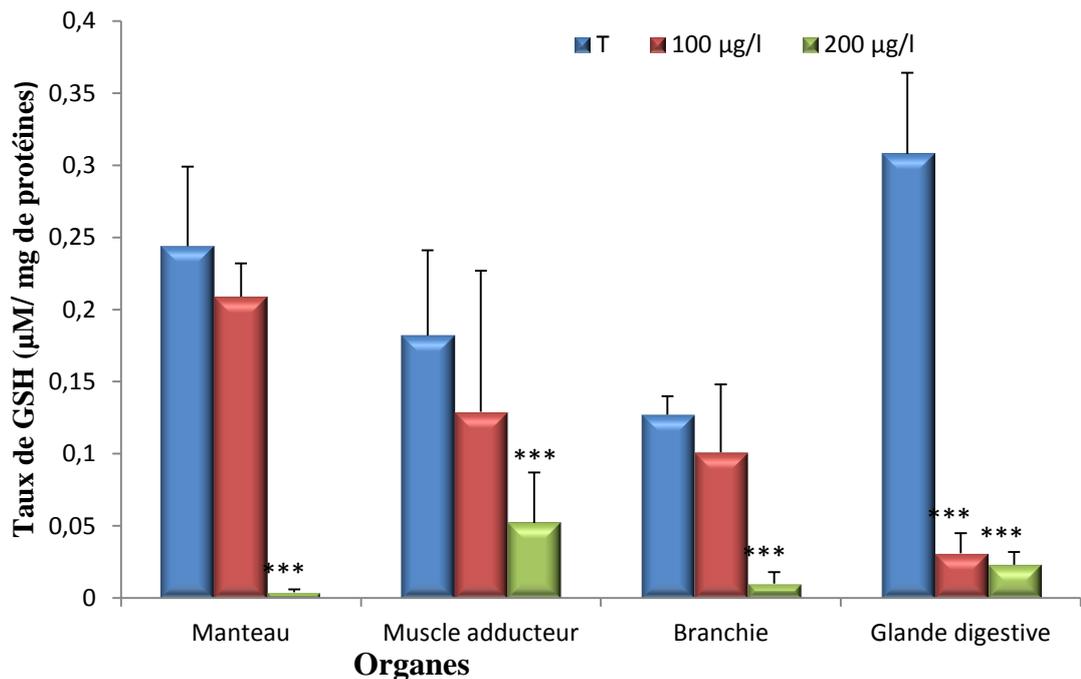
**Figure 32.** Taux des lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de *R. decussatus* traité au cadmium, pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ ,  $n=4$ ).

## 4.2. Influence du cadmium sur les biomarqueurs chez *R. decussatus*

Les taux de MDA et GSH ont été évalués au niveau des quatre organes étudiés manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive de *R. decussatus* et *P. perna*, témoins et traités au Cadmium pendant 21 jours. Ce taux témoigne d'une activité enzymatique de détoxification.

### 4.2.1. Taux de Glutathion (GSH)

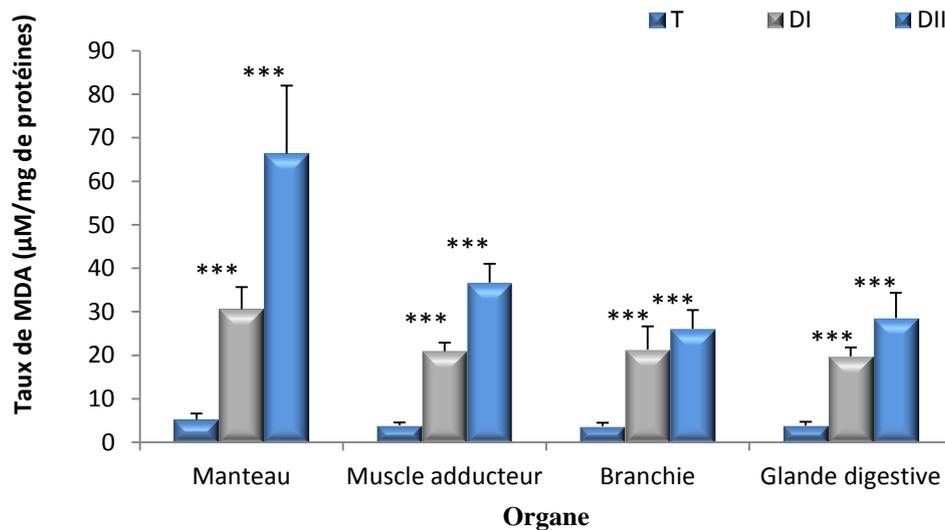
L'effet du Cadmium sur le taux de Glutathion (GSH) entraîne une diminution au niveau des 4 tissus avec un effet dose -réponse. Cette diminution est hautement significative ( $p < 0,001$ ) au niveau du manteau, muscle adducteur et branchie à 200  $\mu\text{g/l}$  et pour les deux concentrations 100 et 200  $\mu\text{g/l}$  au niveau de la glande digestive.



**Figure 33.** Taux de GSH ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines tissulaire) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de *R. decussatus* traité au cadmium pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ ,  $n=4$ ).

#### 4.2.2. Taux du Malondialdéhyde (MDA)

Le traitement au Cadmium entraîne une augmentation considérable de l'activité du Malondialdéhyde (MDA), avec un effet dose dépendante. Cette augmentation est hautement significative au niveau de tous les organes étudiés (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) et pour les deux concentrations.

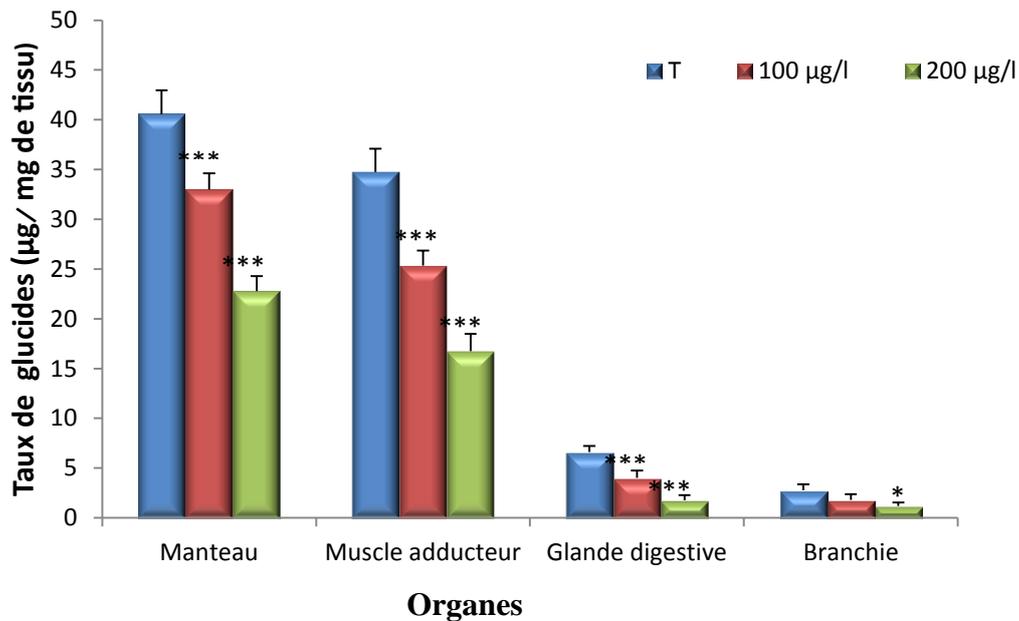


**Figure 34.** Taux du MDA ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de *R. decussatus* traité au cadmium pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ ,  $n=4$ )

### 4.3. Influence du cadmium sur les métabolites chez *P. perna*

#### 4.3.1. Taux des glucides

Les résultats de l'estimation des glucides chez les individus de *P. perna* témoins et traités avec le cadmium à 100 et 200 µg/l, durant 21 jours est représentés dans la figure 35. La comparaison des valeurs moyennes des glucides chez les témoins et les traités avec les deux doses indique que le cadmium additionné dans l'eau d'élevage provoque une diminution hautement significative ( $P < 0,001$ ) au niveau du manteau, muscle adducteur et glande digestive, une diminution significative ( $p < 0,05$ ) est uniquement marquée au niveau de la branchie à 200 µg/l.

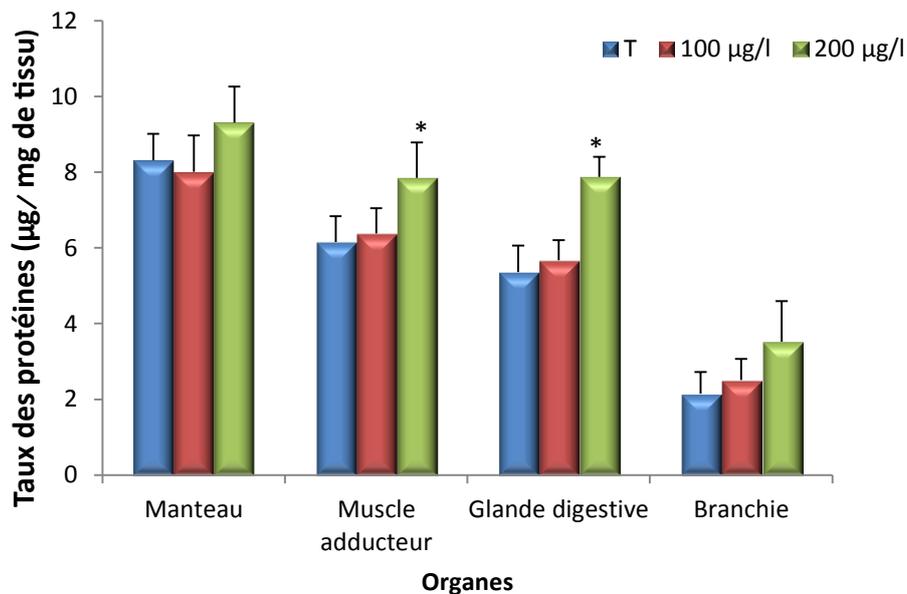


**Figure 35.** Taux de glucides (µg/mg de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de *P. perna* traité au cadmium, pêché au niveau du golfe d'Annaba ( $m \pm s$ ,  $n=5$ ).

### 4.3.2. Taux des protéines

La quantification des protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) est réalisée selon la méthode de Bradford (1976) au niveau des 4 tissus (manteau, muscle adducteur, glande digestive et branchie), après traitement par le cadmium à 100 et 200  $\mu\text{g}/\text{l}$ . Les résultats obtenus après comparaison des moyennes par le test t de student chez les traités à 100  $\mu\text{g}/\text{l}$  comparativement aux témoins montrent une augmentation non significative ( $P>0,05$ ) des protéines dans tous les organes étudiés.

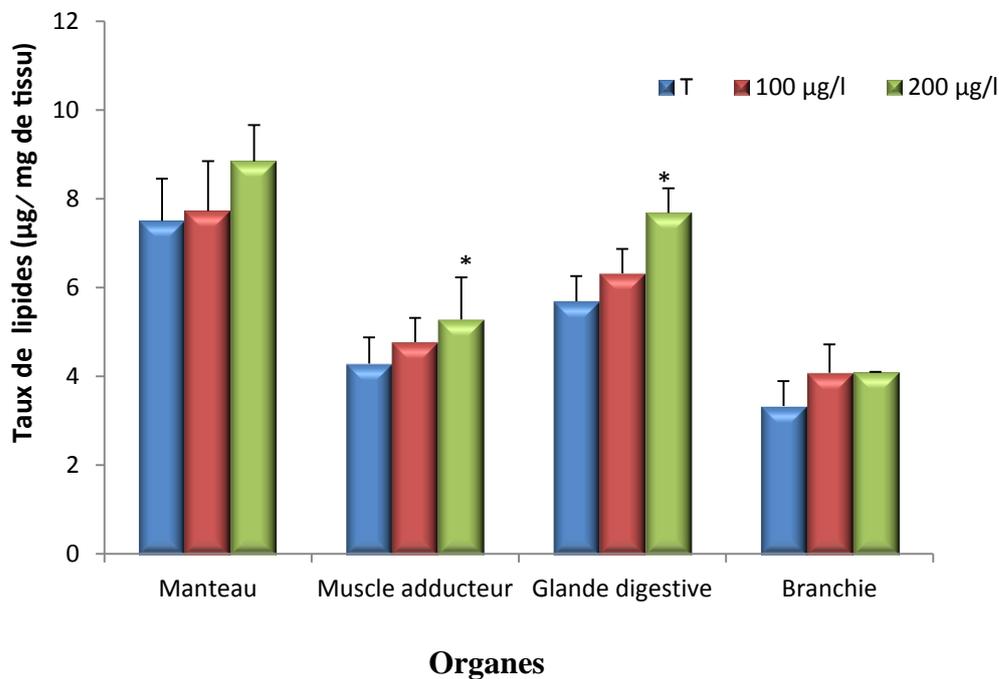
La comparaison des séries traitées par 200  $\mu\text{g}/\text{l}$  de  $\text{CdCl}_2$  avec les séries témoins par le test t de student révèle une augmentation significative ( $p<0,05$ ) des protéines au niveau de la glande digestive et du muscle adducteur.



**Figure 36.** Taux des protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de *P. perna* traité au cadmium, pêché au niveau du golfe d'Annaba ( $m \pm s$ ,  $n=5$ ).

### 4.3.3. Taux des lipides

Les concentrations des lipides dans les différents organes (manteau, muscle adducteur, glande digestive et branchie) témoins et traités au cadmium à 100 et 200  $\mu\text{g/l}$ , durant 21 jours est représenté dans la figure 37. Les teneurs des lipides montrent une augmentation non significative au niveau de tous les organes étudiés pour la dose I, alors qu'avec la dose II elle est significative ( $p < 0,05$ ) pour le muscle adducteur et la glande digestive.

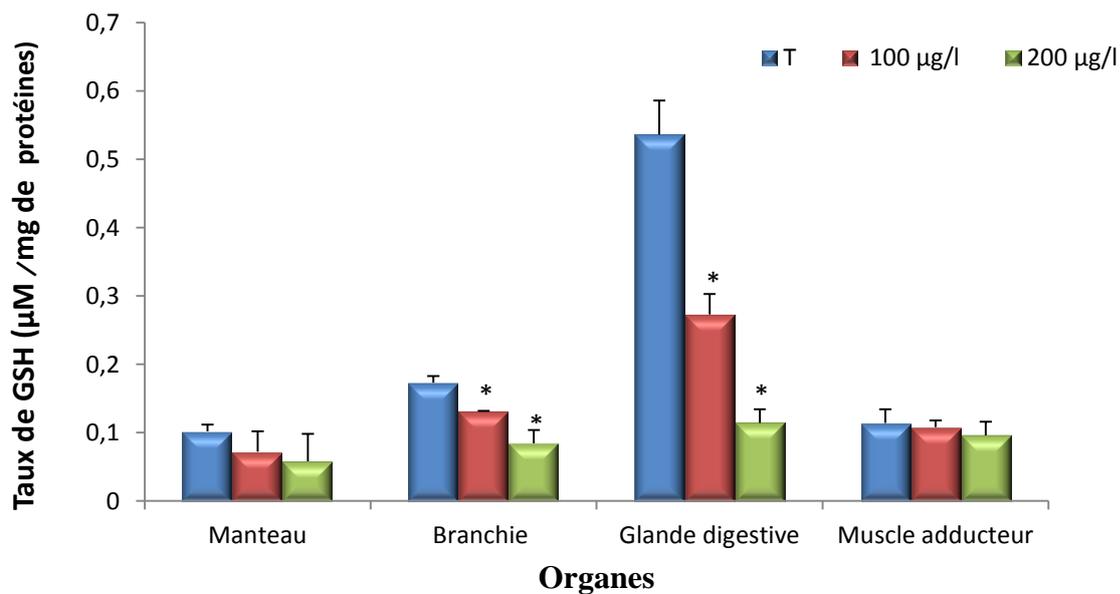


**Figure 37.** Taux des lipides ( $\mu\text{g/mg}$  de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de *P. perna* traité au cadmium, pêché au niveau du golfe d'Annaba ( $m \pm s$ ,  $n=5$ ).

#### 4.4. Influence du cadmium sur les biomarqueurs chez *P. perna*

##### 4.4.1. Taux du Glutathion (GSH)

Le taux de GSH ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines) chez les individus de *P. perna* témoins et traités avec le Cadmium (à 100 et 200  $\mu\text{g}/\text{l}$ ) pendant 21 jours est représenté dans la figure (38). Les résultats montrent une diminution significative ( $P < 0,05$ ) du taux de GSH dans la branchie et la glande digestive par rapport aux témoins. De plus nos résultats montrent que la diminution du taux de GSH est en fonction de la concentration du métal dans le milieu, la concentration la plus élevée provoque des diminutions plus marquées.

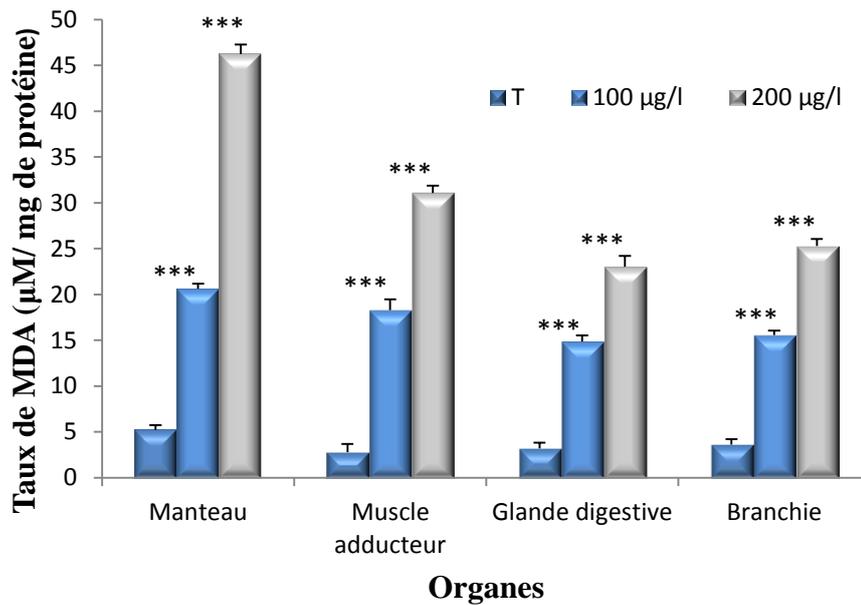


**Figure 38.** Taux de GSH ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines tissulaire) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de *P. perna* traité au cadmium, pêché au niveau du golfe d'Annaba ( $m \pm s$ ,  $n=5$ ).

##### 4.4.2. Taux du Malondialdéhyde (MDA)

La détermination de l'activité spécifique du MDA est estimée par application de la formule de (Draper & Hadley, 1990), au niveau des 4 organes (manteau, muscle adducteur, glande digestive

et branchie) de *P. perna*. Le traitement des individus de *P. perna* avec le cadmium a deux concentrations (100 et 200 µg/l), provoque une augmentation marquée de l'activité spécifique de MDA après 21 jours de traitement. Les résultats relatifs à l'impact du Cd sur l'activité du MDA sont représentés dans la figure (39). La comparaison des séries traitées avec les séries témoins par le test t de student révèle une augmentation hautement significative ( $P < 0,001$ ) de l'activité MDA et ceux avec les deux doses et pour tous les organes.



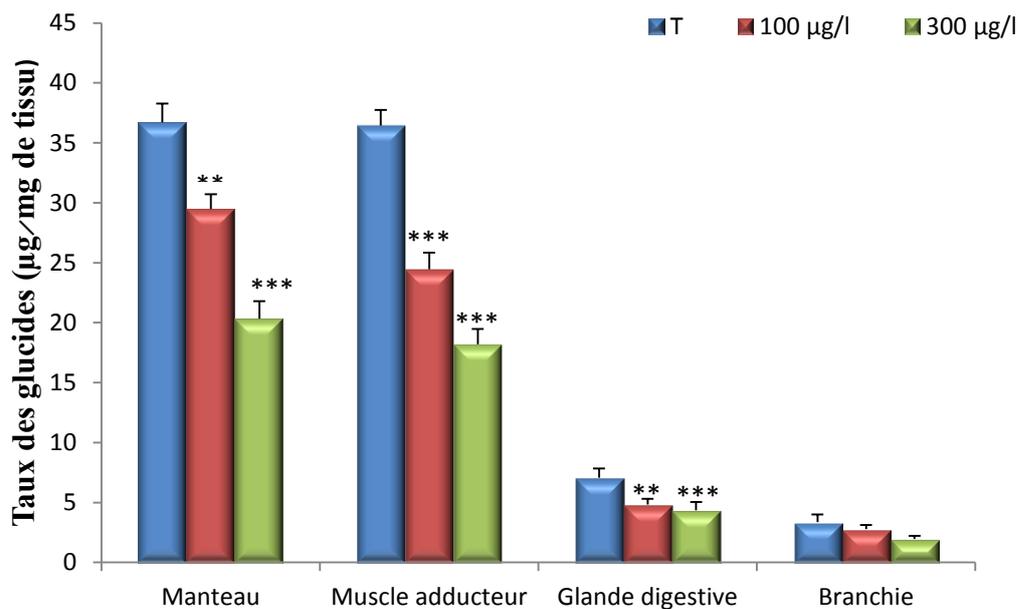
**Figure 39.** Taux du MDA (µM/mg de protéines) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de *P. perna* traité au cadmium, pêché au niveau du golfe d'Annaba ( $m \pm s$ ,  $n=5$ ).

#### 4.5. Influence du Malathion sur les métabolites chez *R. decussatus*

La teneur en protéines, glucides et lipides a été déterminée au niveau du manteau, muscle adducteur, branchie et la glande digestive de *Ruditapes decussatus* (collecté au niveau du lac el Mellah) et traitée à 100 µg/l et 300 µg/l contre les témoins et pendant 24 h.

##### 4.5.1. Taux des glucides

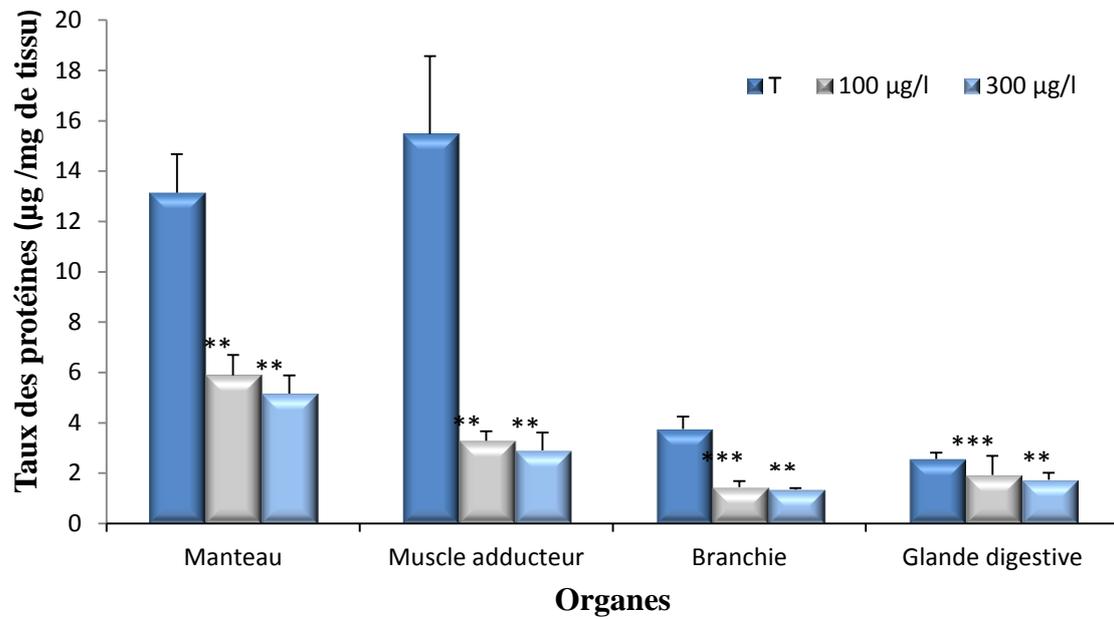
Le malathion additionnée dans l'eau d'élevage des individus de *R. decussatus* à 100 µg/l et 300 µg/l pendant 24 h réduit significativement le taux des glucides dans tous les organes étudiés avec un effet dose-réponse. En effet la diminution maximale du taux des glucides est enregistrée au niveau du muscle adducteur, glande digestive et manteau.



**Figure 40.** Taux des glucides (µg/mg de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de *R. decussatus* traité au malathion, pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ ,  $n=4$ ).

#### 4.5.2. Taux des protéines

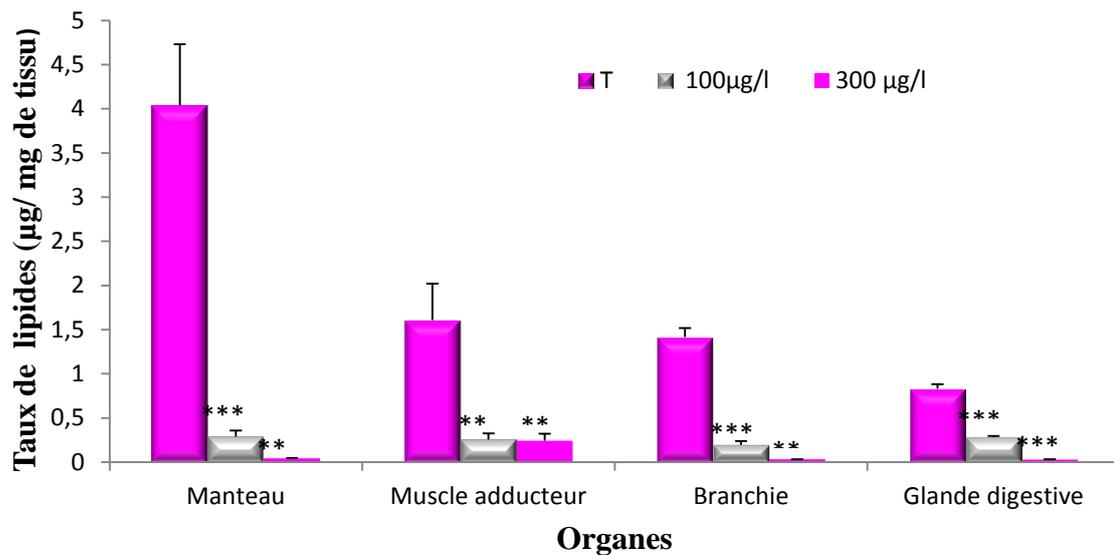
Le traitement par le malathion entraîne une diminution du taux des protéines au niveau des quatre tissus étudiés avec un effet dose-dépendante.



**Figure 41.** Taux des protéines (µg/mg de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de *R. decussatus* traité au malathion, pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ ,  $n=4$ ).

### 4.5.3. Taux des lipides

Le traitement au malathion entraîne une diminution du taux des lipides au niveau des quatre tissus étudiés avec un effet dose-dépendante. Cette diminution est hautement significative au niveau de tous les organes étudiés et pour les deux concentrations (100 et 300  $\mu\text{g/l}$ ).



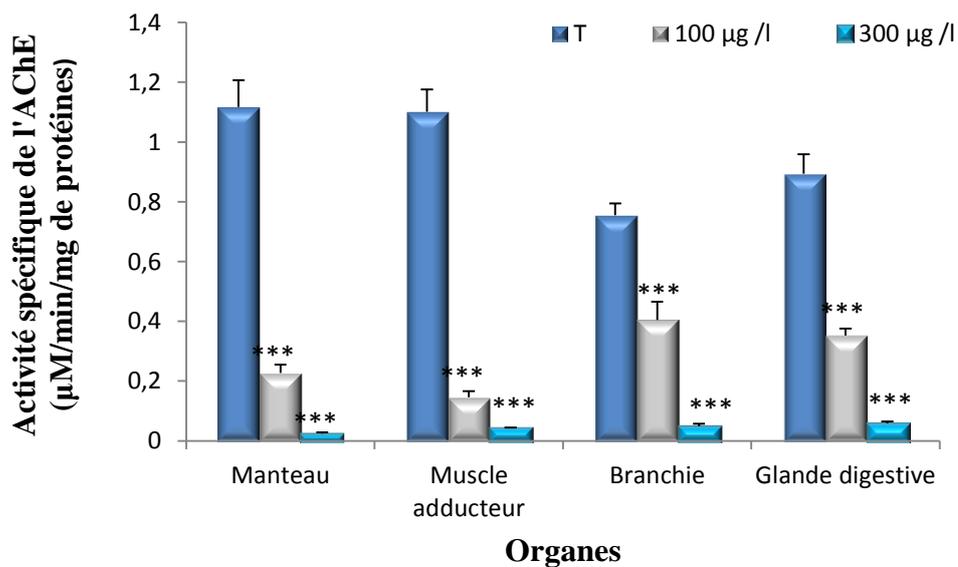
**Figure 42.** Taux des lipides ( $\mu\text{g/mg}$  de tissu) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de *R. decussatus* traité au malathion, pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ ,  $n=4$ ).

#### 4.6. Influence du malathion sur les biomarqueurs chez *R. decussatus*

Les activités enzymatiques (AChE et CAT) ont été dosées au niveau des quatre organes étudiés (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de *R. decussatus* pêché au niveau du lac el Mellah et traité à (100 et 300 µg/l) contre des témoins et pendant 24h.

##### 4.6.1. L'activité de l'Acétylcholinestérase

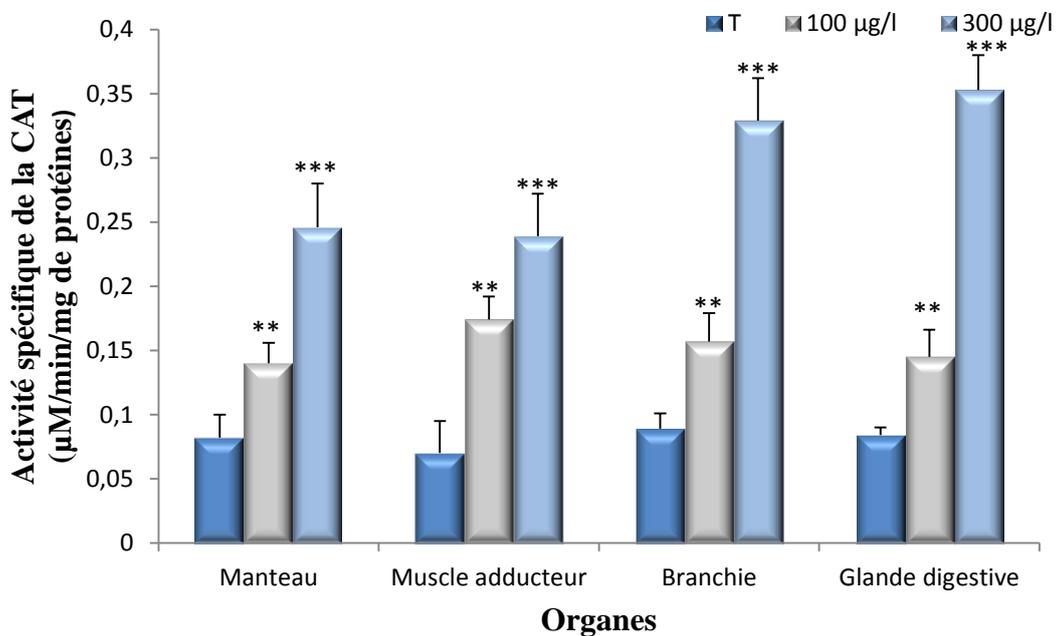
Concernant l'effet du malathion sur l'Acétylcholinestérase (AChE), les résultats obtenus montrent que l'activité de l'Acétylcholinestérase décroissent significativement ( $p < 0,001$ ), au niveau des quatre tissus étudiés (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive), en fonction de la concentration en cadmium dans le milieu. La diminution est plus marquée au niveau du manteau et du muscle adducteur.



**Figure 43.** Activité spécifique de l'AChE (µM/min/mg de protéines) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de *R. decussatus* traité au malathion, pêché au niveau du lac el Mellah ( $m \pm s$ ,  $n=4$ ).

#### 4.6.2. L'activité de la catalase

Le traitement par le malathion entraîne une augmentation de l'activité de la catalase au niveau des quatre tissus étudiés avec un effet dose-réponse. Cette augmentation est très significative pour la dose 100  $\mu\text{g/l}$  et hautement significative pour la dose 300  $\mu\text{g/l}$  au niveau de tous les organes étudiés (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive). L'induction de l'activité de la catalase est plus marquée au niveau de la branchie et la glande digestive qui sont au contact direct avec le malathion.



**Figure 44.** Activité spécifique de la CAT ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines) au niveau des quatre organes (manteau, muscle adducteur, branchie et glande digestive) de *R. decussatus* traité au malathion, pêché au niveau du lac El Mellah ( $m \pm s$ ,  $n=4$ ).

# *DISCUSSION*

## **Discussion**

### **1. Variations des paramètres physico-chimiques des milieux d'étude**

Les mollusques bivalves mènent une vie benthique et souvent sédentaire. Ce sont des animaux poïkilothermes et donc sujet aux variations physico-chimiques du milieu (salinité en milieu marin, dureté en milieu dulçaquicole, température...).

La température est l'un des premiers facteurs qui contrôle l'essentiel des activités biologiques et écologiques des êtres vivants (Thiery, 1987). Elle agit sur le pH, la densité, la solubilité des gaz dans l'eau (en particulier celles de l'oxygène et du CO<sub>2</sub>) et sur les réactions chimiques et biochimiques (Bremond & Perrodon, 1979). Dans la région méditerranéenne, l'effet de la température prédomine largement le déterminisme de la composition des zoocénoses (Dakki, 1987), in Fadli, 2003, qui ont signalé que la température peut agir sur l'éclosion des œufs de mollusques. Leur vitesse de croissance corporelle, leur vitesse de la maturité sexuelle et l'abondance. De même, elle intervient dans certain réaction d'échanges entre l'eau et les sédiments. Une élévation de la température de l'eau peut favoriser la sédimentation des éléments en suspension (Ottman, 1965).

Généralement, les variations de la température de l'eau sont tributaires des variations de la température atmosphérique ambiante et qui dépend elle aussi des variations saisonnières. Les relevés de la température effectuée au niveau de deux sites de la lagune el Mellah durant une année révèlent une certaine similitude entre les deux sites avec des fluctuations saisonnières. Nos résultats font apparaître l'existence de deux grandes périodes thermiques dans les deux sites, une période froide englobe l'automne et l'hiver et une période chaude qui représente le printemps et l'été. Les valeurs thermiques des eaux du golfe d'Annaba affichent des variations similaires dans les deux sites de suivi et fait ressortir l'existence de deux périodes bien distinctes. Une période chaude allant de mois de Mars au mois d'août avec un maximum de 28,2°C relevé à Seybouse le mois juillet, l'autre froide qui s'étale de septembre au mois de février avec un minimum de 11°C enregistré le mois de Janvier à Hnaya.

La température joue un rôle primordial dans la reproduction des mollusques bivalves, elle est considérée comme le facteur principal affectant le développement gonadique chez les bivalves marins. Plusieurs études, chez *Crassostrea gigas*, ont été réalisées afin de mettre en relation la gamétogénèse et la température du milieu ambiant (Mann, 1979; Deslous-Paoli *et al.*, 1982; Muranaka & Lann, 1984; Chavez-Villalba *et al.*, 2003). Il est désormais admis que les périodes de la gamétogénèse et d'émission gamétiques sont directement sous la dépendance de la température de l'eau. L'action de ce paramètre sur l'organisme induit différentes réponses selon la période de reproduction. (Lubet, 1976; Chavez-Villalba *et al.*, 2003), ont observé l'initiation de la gamétogénèse chez *C. gigas* à partir d'une température minimale de 8-9°C dans la Manche et en particulier de 10°C dans la baie de veys. Par ailleurs, l'émission des gamètes est induite par une valeur seuil de température ( $\geq 19-20$  °C). De nombreuses travaux montrent que l'initiation de la gamétogénèse et l'émission gamétique varient en fonction de la localisation géographique notamment l'altitude (Deslo-Paoli *et al.*, 1982; Perdue & Erikson, 1984; Dinamani, 1987; Ruiz *et al.*, 1992; Li *et al.*, 2000; Fleury., 2009).

La salinité est un facteur écologique important, qui lui-même est influencé par la variation saisonnière de la température. En effet l'élévation de la température provoque une forte évaporation et la baisse des précipitations. Alors que, les basses températures provoquent une faible évaporation de l'eau et une forte précipitation (Soucek, 2007). Nos résultats sont en accord avec l'action conjuguée de la température et des précipitations. En effet, les faibles taux de salinité sont enregistrés en période hivernale et au début de la période printanière dans l'ensemble des sites de prélèvement.

En revanche, les forts taux de salinité sont observés en période estivale jusqu'au début de la période automnale chez *R. decussatus* de la lagune el Mellah, et *P. perna* du golfe d'Annaba. De plus, les faible taux de salinité provoquent un fort taux d'assimilation de la nourriture, alors que de fort taux diminuent de 59 % le taux d'assimilation chez *Mytilus trossulus* (Widmeyer & Bendell-yong, 2007). Des études ont indiqué que les espèces exposées à une faible salinité, augmente leur consommation d'oxygène et altèrent l'utilisation du métabolisme énergétique (Aarset & aunaas, 1990; Guerin & Stick, 1992; Einarson, 1993). Soucek (2007) a révélé qu'une forte salinité réduit le métabolisme énergétique chez *Corbicula fluminea*. Cependant, la salinité ne semble pas affecter l'abondance larvaire chez la palourde *Ruditapes decussatus* (Chicharo & Chicharo, 2001). Des taux faibles de salinité (4%) diminuent la phagocytose chez *Ostrea edulis* (Fisher, 1988) et induisent une baisse de la synthèse de protéines chez *Crassostrea virginica* (Tirard *et al.*, 1997).

La salinité apparaît être aussi un facteur naturel influençant les taux de métaux (Phelps *et al.*, 1985; Amiard-triquet *et al.*, 1991; Roesijadi, 1994). En effet, Vicente *et al.* (1988) ont montré qu'une baisse de salinité augmentait la prise du cadmium par les bivalves. Ils ont aussi observés qu'une augmentation de la température entraînait une augmentation des taux de cadmium chez ces organismes. Cette hypothèse pourrait confirmer le degré de contamination chez ces organismes.

## **2. Etude de la composition biochimique du manteau**

Les investigations sur les cycles sexuels des mollusques sont d'une importance capitale, non seulement pour étudier la dynamique des populations, mais aussi pour mieux comprendre leurs biogéographies et leurs spécificités. Dans le cas des bivalves utilisés à des fins commerciales comme *Ruditapes* et *Perna* et connus pour une perte significative de leurs poids à la suite de la ponte, l'étude des cycles sexuels peut indiquer la période au cours de laquelle la population peut faire l'objet de récolte d'une manière plus rentable. Un suivi du cycle de reproduction chez *Mytilus edulis* pendant plusieurs années montre que la gamétogenèse et la spermiation présentent de grandes variations dans le temps et dans l'espace (Goshing, 1992).

Les facteurs environnementaux jouent un rôle important dans la régulation de la gamétogenèse des invertébrés marin (Pears, 1999), et principalement des mollusques bivalves (Enriquez-Diaz, 2004; Fabiaux *et al.*, 2005; Samain *et al.*, 2007). Plusieurs questions se posent concernant les facteurs qui interviennent sur le démarrage de la gamétogenèse chez les mollusques bivalves. Lubet (1976) émet l'hypothèse que la reprise de l'activité génitale serait sous la dépendance d'une horloge interne neuroendocrinienne qui déterminerait la réinitiation et l'amplitude du cycle sexuel et que ce rythme interne pourrait être modifié par des synchronisateurs ou facteurs externe parmi lesquels la température jouerait le rôle essentiel. En effet selon Lubet (1970), la durée de la gamétogenèse des espèces à ponte printanière ou estivale est conditionnée par les températures moyennes qui affectant les animaux pendant l'hiver. La lagune el Mellah, où la température hivernale est voisine de 10,5°C la gamétogenèse peut se déclencher durant cette période. Selon Barber (1980), la gamétogenèse se déclenche chez *R. decussatus* à partir de 10°C. La reproduction est une fonction nécessitant un apport énergétique important (Zera & Harshman, 2001). Cette demande est satisfaite par une augmentation du métabolisme énergétique (Angilletta & Sears, 2000).

La connaissance de certains aspects de la reproduction chez les bivalves en rapport avec la composition biochimique dans divers compartiments, permet de préciser la nature et l'utilisation

des réserves en relation avec le déroulement du cycle sexuel (Chalabi, 2002; Benamor *et al.*, 2006). Plusieurs études révèlent que le cycle sexuel des mollusques bivalves comprend deux périodes: une période de repos sexuel caractérisé par l'accumulation des réserves métaboliques essentiellement le glycogène, une période d'activité sexuelle caractérisé par l'utilisation de ces réserves pour le développement gonadique (spermatogénèse et ovogénèse) (Gabbot, 1975; Deslou-Paoli & Heral, 1988; Berthelin, 2000).

La composition biochimique des mollusques bivalves fournit une indication certaine sur les conditions nutritionnelles de la population et sert également à évaluer la réponse de ces organismes aux conditions environnementales. Il existe des variations notables dans les proportions des différents constituants biochimiques pour une même espèce provenant de localité différentes. Ces fluctuations sont dues aux capacités nutritives des eaux. En effet, des moules issues d'un site propre des embouchures des oueds qui permet un enrichissement continu du milieu en élément nutritifs, permet à ces espèces de répondre à la grande demande d'énergie lors de la croissance et de la reproduction (Bayed, 1991). Le facteur nutritionnel est essentiel pour assurer un bon équilibre entre les réserves et les besoins énergétiques de la gamétogénèse (Lubet *et al.*, 1986; Jaramillo *et al.*, 1993), d'autant plus que l'effort de reproduction chez les populations mexicaines de *P. perna* a été évalué à 75% de la production totale, par contre cet effort peut être fortement réduit si les conditions permettant la croissance des individus sont pauvres (Urritia *et al.*, 1999).

La composition biochimique globale des tissus de bivalve suit un cycle annuel marqué (Bourcart & Lubet, 1965). L'évolution des teneurs de la composition biochimiques de la chair de *R. decussatus* est similaire dans les deux stations de la lagune avec cependant des valeurs légèrement plus élevées à la station Nord que Sud.

Les protéines forment le majeur parti des constituants des tissus de la palourde. Elles interviennent dans la formation des gamètes (Le pennec *et al.*, 1990; Ansell *et al.*, 1980) et servent comme source d'énergie de réserve (Beninger & Lucas, 1984) pendant la gamétogénèse (Barber, 1981). D'une manière générale ce sont les protéines et les glucides qui sont les plus utilisés, cependant chez les bivalves marins, la formation des gamètes nécessite des quantités de lipides et de glucides (Rharbi, 1990). Au niveau de la lagune El Mellah, la teneur maximale des protéines est atteinte en Avril dans les deux sites, avec des valeurs de  $13,02 \pm 0,87 \mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu et  $12,57 \pm 0,82 \mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu dans le nord et le sud respectivement correspondant au début de ponte printanière ou les gonades sont chargées en produits génitaux. Ces teneurs tendances à diminuer considérablement en mai et juin. Cette diminution peut être attribuée à une ponte printanière principale. A la fin de la période de reproduction, le taux de protéines diminue

rapidement pour augmenter ensuite en phase de restauration de la gonade en coïncident avec une accumulation de nombreuses réserves. Cette période est d'ailleurs une période de l'année où les eaux sont les plus chaudes. Ensuite survient la ponte partielle en août et septembre expliquant la chute des taux de protéines.

Les émissions gamétiques observées durant les périodes printanière et automnale sont accompagnées d'une consommation d'énergie fournie en partie par les glucides qui voient leur teneur baisser de mai à septembre. Une augmentation des teneurs en glucides est observée de février à avril grâce à l'enrichissement du milieu en phytoplancton. Durant le repos sexuel hivernal, les teneurs en glucides diminuent légèrement dans les deux sites, ceci peut être dû soit à la rareté de la nourriture disponible soit à la transformation des glucides en lipides (Gabbott, 1975).

Contrairement à celle des protéines et des glucides, celle des lipides augmente durant la période automnale. Cette augmentation pourrait s'expliquer par la conversion des glucides en lipides (Cycle de Krebs). Une chute survient d'août à septembre à cause des émissions gamétiques. En effet, les lipides en été sont mobilisés pour servir d'énergie nécessaire pour cette libération.

Il ressort que l'évolution des teneurs des composantes biochimiques chez la palourde suit une certaine régularité en fonction des périodes de reproduction. Les teneurs maximales en lipides sont observées durant les périodes de pré-ponte dans les sites étudiés. Ces résultats confirment l'importance des lipides contenus dans les gamètes en tant que source d'énergie nécessaire à la survie des naissains pendant leurs premiers stades (Deslous-Paoli *et al.*, 1982). Dans le cas de la palourde *R. decussatus* de la lagune el Mellah, on ne trouve aucune différence dans le nombre et les périodes de ponte entre les populations des deux sites.

Trigui-El Menif *et al.* (1995) considèrent qu'en dépit de l'extension de son aire de répartition et de ces divers habitats, le cycle sexuel de *R. decussatus* ne présente pas de grandes différences d'une région à l'autre. D'après Lubet (1984), la durée du cycle semble être plus longue dans les régions méridionales comme l'Algérie, la Tunisie (Zamouri-Langar, 1991) ou le Maroc (Shafee & Daoudi, 1991), ou elle couvrirait pratiquement toute l'année. La température semble être le facteur clé qui contrôle le déroulement de la gamétogénèse de la palourde. Ceci a été montré par plusieurs auteurs pour diverses espèces de bivalves (Mann, 1979). En effet, les températures moyennes enregistrées au cours de l'échantillonnage dans la zone d'étude s'échelonnent entre 11°C en Janvier et 28°C en Juillet, ce qui permet un déroulement de la gamétogénèse pendant une grande partie de l'année.

Chez la moule *P. perna* l'étude du cycle saisonnière montre que les teneurs en lipides augmentent en mars et avril pour atteindre des valeurs maximales pendant l'été. La teneur en lipides décroît pendant les mois de septembre et octobre pour les deux sites d'étude du golfe d'Annaba. Pendant les mois d'hiver, même s'il n'y a pas d'émission, le poids des lipides diminue légèrement. Après chaque émission, la quantité de lipides diminue considérablement. La teneur en lipides est plus forte chez les animaux de l'oued Seybouse que chez ceux d'El Hnaya.

Les variations de la teneur en glucides mettent en évidence deux maxima, l'un en avril, l'autre en août. Il est intéressant de signaler que ces maxima, coïncident avec les deux périodes de l'année où le Phytoplancton est le plus abondant. Deux minimas sont à noter dans la teneur en glucides chez les moules, le premier peut important se situe entre les mois de septembre et octobre, suivi d'une phase de synthèse (maximum en novembre). La teneur en glucides baisse considérablement pendant la phase intense des phénomènes de la gamétogénèse et l'on aboutit à un nouveau minimum. Il est vraisemblable que la baisse de la température des eaux en décembre, janvier et février, contribue également à cette diminution des glucides. Par ailleurs la teneur des eaux en phytoplancton diminue considérablement pendant les mois d'hiver. Ceci explique les faibles pourcentages enregistrés pendant les mois d'hiver même si les individus n'émettent pas des gamètes.

La teneur en protéines augmente au cours des différentes étapes de la gamétogénèse, on assiste après chaque émission des gamètes à une chute brutale de la teneur en protéines. Celle-ci sera réduite pendant les mois d'hiver. Chez les moules des deux sites du golfe d'Annaba on note deux périodes d'émissions, l'une au printemps et l'autre en automne.

Le suivi mensuel des taux de métabolites entre les deux sites d'étude montre que les individus de Hnaya sont plus riches en glucides et en protéines, alors que les individus recueillis à Seybouse sont plus riche en lipides, des résultats similaires ont été rapportés par Hamdani (2013) chez *Donax trunculus* du golfe d'Annaba. La diminution des taux de glucides et de protéines à Seybouse traduit l'effet de la pollution. En effet selon (Drif *et al.*, 2010), des dosages des métaux lourds (Cd, Zn, Pb, Cu) ont été réalisés au niveau de la chair de *P. perna* récolté dans ces deux sites du golfe, ont montré des différences significatives de ces teneurs selon les facteurs site et saison avec des teneurs plus élevés à Seybouse comparativement à el Hnaya. Comme le site de Seybouse est soumis à l'action des eaux usées et des rejets industriels, et que l'eau de mer le baigne à une température plus élevée (Figure. 14), et il est certain que l'activité gonadique et probablement d'autres fonctions sont perturbées. En effet une exposition à des contaminants ralentit le développement des gamètes (Lowe *et al.*, 1982; Pipe, 1985), ce qui explique la maturation plus longue des gamètes chez les moules de Seybouse, elle est sans doute le résultat

des conditions environnementales que connaît le site précité, notamment en raison de la pollution et de la température.

### **3. Composition en acides gras du manteau de *R. decussatus* et *P. perna***

La détermination de la composition en acides gras (AG) des lipides chez les mollusques bivalves peut être un bon indicateur de l'état sanitaire de la population, permet de caractériser la qualité nutritionnelle d'un produit destiné à la consommation humaine, et peut également traduire le type de nourriture chez les bivalves (Freites *et al.*, 2002 a, b, c).

Les bivalves animaux filtreurs, acquièrent les acides gras polyinsaturés à longues chaînes à partir de leur alimentation à base de phytoplancton (De Moreno *et al.*, 1976 a, b, 1977; 1998; Langdon & Waldock, 1981; Soudant *et al.*, 1999). Cette acquisition en acide gras polyinsaturés sera importante au printemps et en été, saisons de haute productivité primaire chez le phytoplancton (De Moreno *et al.*, 1976). Cependant, la consommation de ces acides gras joue un rôle important dans la constitution des membranes cellulaires, le fonctionnement du système cardiovasculaire, du système nerveux et du système hormonal.

L'évolution saisonnières des acides gras chez *R. decussatus* du lac el Mellah montre des valeurs maximales en automne qui correspondent d'une part au repos sexuel du bivalve (Refes, 1994; Dridi *et al.*, 2006), et d'autre part à l'élévation photosynthétique primaire du mois de novembre dans la lagune el Mellah. Chez *P. perna* du golfe d'Annaba les acides gras totaux montrent des valeurs élevés au printemps et en été.

Selon Jarzebski *et al.* (1986), il existe une corrélation positive entre la disponibilité des aliments dans le milieu et la composition en acides gras chez les mollusques bivalves. En hiver, la moyenne des teneurs en acides gras totaux montrent une diminution non significative qui peut être due au déclenchement de la gamétogénèse (Dridi *et al.*, 2006), et la diminution de la concentration en phytoplanctons dans le milieu. Le printemps est caractérisé par l'élévation des acides gras totaux de tissu mou des deux bivalves. Qui diminuer significativement en été chez *R. decussates* et en automne chez *P. perna*. En effet, le printemps correspond à la maturité sexuelle des deux espèces et aussi à l'élévation de la concentration du milieu en phytoplancton. L'été est marquée par l'émission des gamètes chez *R. decussatus*, cette émission des gamètes représente une perte de matière organique qui induit la diminution de la concentration des acides gras totaux dans le tissu mou des bivalves *R. decussatus*, la richesse du milieu en phytoplancton est agité également. La dominance des acides gras polyinsaturés sur les acides gras saturés et

monoinsaturés a été mise en évidence durant l'année de l'étude chez les deux espèces. La prédominance des AGPI a également été observée chez des moules, des palourdes, des huîtres et des seiches de différents sites de la Méditerranée (Orban *et al.*, 2002; Ozyurt *et al.*, 2006). Nous n'avons pas observé de variations significatives des AGMI durant la période d'étude chez les deux espèces, quant aux AGS ils varient significativement de l'été à l'automne et les AGPI variant significativement du printemps à l'été chez *R. decussatus*.

Les acides gras polyinsaturés du type (n - 3) constituent le groupe le plus important parmi les polyinsaturés chez les deux espèces (dominé par l'acide eicosapentaénoïque et l'acide docosapentaénoïque), suivi chez *R. decussatus* par les acides gras monoinsaturés, les acides gras saturés et en dernier lieu. Chez *P. perna* du golfe d'Annaba les acides gras polyinsaturés suivi par les acides gras saturés et enfin par les acides gras monoinsaturés. Chez les deux espèces les acides gras monoinsaturés (essentiellement représenté par l'acide oléique), les acides gras saturés (essentiellement représenté par l'acide palmitique C16:0). Selon Thomson *et al.*(1996), la présence de C16:0 dans les aliments ingérés par les palourdes leur assure une croissance plus rapide et diminue le taux de mortalité, essentiellement chez les juvéniles.

D'après Webb & Chu. (1983); Whyte *et al.*, 1990; Careas *et al.*, 2002), les acides gras à 20 et 22 atomes de carbones sont essentiels pour la reproduction et la survie des mollusques.

Selon Bell *et al.* (1986), la diminution de la température induit généralement à l'augmentation des teneurs en AGPI dans les tissus des bivalves permettant de maintenir la souplesse des membranes, ce qui expliquerait dans notre cas les valeurs élevées des acides gras polyinsaturés en hiver et leur diminution en été chez les deux espèces. La qualité et la quantité des aliments ingérés par les bivalves contribuent considérablement au changement du profil des acides gras dans la chair (Beninger & Stephan, 1985; Napolitano & Akman, 1993). La température et la nourriture pourraient agir en synergie sur la composition en acides gras dans la mesure où l'élévation de la concentration du milieu en chlorophylle a coïncide avec l'élévation de la température de l'eau. La dominance des acides gras polyinsaturés chez *R. decussatus* et *P. perna* confirme d'avantage le rôle important de ces acides gras, qui pourrait réduire jusqu'à 50 % les risques cardiovasculaires chez les consommateurs des produits marins (Angerer & Von Sclarky, 2000; Leaf & Weber, 1988).

#### **4. Etude de l'indice de condition**

L'indice de condition est un indicateur de l'état physiologique des mollusques bivalves par sa corrélation avec la concentration en contaminants. Il permet de déterminer un modèle de correction du signal de la pollution obtenue (Margus, 1985; Hariati, 1986; Okumus & Stirling, 1998; Orban *et al.*, 2002; Cossa & Sanjuan, 2002). Chez les bivalves côtiers, l'indice de condition est essentiellement lié à la maturation sexuelle, les valeurs croissantes de l'indice de condition (IC) sont interprétées comme étant un début de développement de la gonade et leur chute comme une expulsion des produits génitaux (Paulet *et al.*, 1992).

Les variations mensuelles et saisonnières des valeurs de l'indice de condition chez *R. decussatus* chutent entre mai et septembre, ce qui pourrait s'expliquer par l'émission des gamètes. L'augmentation de l'IC entre février et avril, s'explique par les conditions favorables du milieu (température en augmentation et apports trophiques abondants), durant cette période qui entraîne un développement des tissus somatiques. Selon Romeo *et al.* (2001) les variations de cet indice seraient associées à la température de l'eau. En effet pendant les mois d'hiver, l'animal a un métabolisme ralenti. En été toutes les activités ont repris pour assurer la reproduction. Pendant cette période l'animal va se nourrir en plus grande quantité pour permettre le développement des gonades qui vont alors prendre de plus en plus de place dans la masse viscérale (Baudrimont *et al.*, 1997).

Les valeurs de l'indice de condition calculées à partir des moules issues de deux sites du golfe d'Annaba, pendant un cycle annuel complet, montrent des fluctuations bien marquées. La période comprise entre novembre et mars se distingue par une légère augmentation de l'indice de condition. Cette augmentation se poursuit au mois de mai pour le site de Seybouse et diminue considérablement dans le site d'El Hnaya, pour diminuer dans le site de Seybouse au mois de Juin. Au mois de juin, juillet et août, on révèle généralement une augmentation de ces valeurs pour le site d'El Hnaya. Au mois de septembre et octobre, une diminution de ces valeurs a été enregistrée dans les deux sites d'étude, une nouvelle diminution est notée au mois décembre pour la population d'El Hnaya. La diminution des valeurs de l'indice de condition pendant la période printanière et automnale pour les deux sites, pourrait être due à des pontes. Par contre l'augmentation de celui-ci avant ces périodes pourrait être due à une maturation ou un redéveloppement.

L'évolution mensuelle et saisonnière des valeurs de l'indice de condition entre les deux sites d'étude montre généralement une augmentation de celui-ci pour le nord par rapport au sud dans la lagune el Mellah, et les individus de la plage el Hnaya présentent des valeurs plus élevées par rapport aux individus du Seybouse, ceci pourrait être dû aux conditions trophiques qui sont sous l'influence des conditions environnementales y compris la pollution. Des résultats

similaires ont été observés chez *Mytilus galloprovincialis* (Merzouki *et al.*, 2009) chez *Perna viridis* (Nicholson *et al.*, 1999), chez *Mytilus edulis* (De zwaan *et al.*, 1995, Damiens *et al.*, 2007; Erica *et al.*, 2010), suite à des transmission a un site contaminé (caging). D'une manière générale, les indices élevés correspondent aux périodes de maturation de la gonade précédant l'émission des gamètes et à la période d'accumulation des réserves.

## 5. Expérience de laboratoire

La pollution de l'écosystème marin est l'un des problèmes majeurs posés à l'environnement. Les facteurs qui ont sont responsables ne cessent de s'accroître est de se déséquilibrés, surtout par l'action anthropique. Les plus importantes perturbations anthropiques affectant les zones côtières sont la surexploitation des ressources naturelle la pêche et l'aquaculture intensives (Heral, 1993), la dégradation de l'habitat et la fragmentation écologique par l'urbanisation et l'aménagement (Komatsu, 1997), ainsi que le rejet de nombreux contaminants (activités agricoles et industrielles) (Tell *et al.*, 2003). Ce dernier point requiert une attention particulières puisque l'ensemble des contaminants rejetés dans l'environnement, quelques soit le compartiment (air, eau, sol), finissent par se retrouver dans les milieux aquatiques, en particulier estuariens ou côtiers, par le biais des eaux de ruissellement et de percolation.

De ce fait, ces zones comptent parmi les plus exposées aux différents types de pollution récurrente, comme les matières organiques en excès qui induisent des problèmes d'eutrophisation, Les polychlorobisphényles (PCB), les radionucléides, les pesticides, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), les éléments de traces métalliques (ETM), mais également les organismes pathogènes (bactéries, virus, microorganismes...), qui peuvent avoir des conséquences écologiques majeures (Galloway et Depledge, 2001). Les organismes aquatiques présents dans ces milieux ont donc à faire face à de très nombreuses sources de perturbation qui agissent le plus souvent de manière simultanée engendrant ainsi des interactions plus ou moins néfastes (Dellali *et al.*, 2010; Kankal & Gaikwad, 2011). Parmi tous les xénobiotiques présent dans l'environnement, nous nous intéressons plus particulièrement par deux catégories de contaminants majoritairement présents dans le milieu aquatique: insecticides et métaux lourds.

**Les insecticides:** L'utilisation extensive des insecticides organophosphorés dont le malathion, se traduit par une pollution environnementale et les organismes non cibles en sont devenus victime en raison d'une pénétration dans l'organisme, par inhalation, absorption cutanée via le contact avec l'eau et par empoisonnement secondaires (alimentation). Chez les mammifères, ces insecticides inhibent non seulement l'Acétylcholinestérase mais affectent également le système immunitaire.

**Les métaux:** dans l'environnement, les contaminations par certains métaux comme le cadmium (Cd), le plomb (Pb), ou le mercure (Hg) sont très importantes. Ces composés facilement intégrables par l'organisme peuvent développer une toxicité ayant plusieurs cibles dans les cellules (Viarengo *et al.*, 1995). Nous nous intéressons ici particulièrement au cadmium, choisi comme contaminant type pour deux espèces de bivalves, la palourde (*R. decussatus*) du lac el Mellah et la moule (*P. perna*) du golfe d'Annaba. Le cadmium est un élément toxique, selon les doses d'exposition, les modes de contamination et les organismes considérés. Ses effets peuvent être plus ou moins importants. Le cadmium est aussi un puissant inhibiteur de plusieurs systèmes enzymatiques.

Les expériences in vivo permettent d'obtenir des effets précis en conditions contrôlées, nous avons donc traité des palourdes (*R. decussatus*) et des moules (*P. perna*) en laboratoire. Dans ce travail, les concentrations en polluants choisis et ajoutées au milieu sont bien supérieures à celles mesurées dans le milieu naturel, ce qui nous permet d'avoir des effets plus marquants (Chapies & Burton, 1997; Sasson-Brickson & Burton, 1991; Pereira *et al.*, 2001).

Dans l'environnement, les animaux sont confrontés à des mélanges complexes de polluants (Moore & Allen, 2002). Les expériences réalisés dans le cadre de ce travail ne se rapprochent pas à des conditions rencontrées par les bivalves (Palourdes et Moules) dans le milieu, mais peuvent donner des indications sur la contamination par les métaux et les pesticides et leurs accumulation dans les tissus.

Les biomarqueurs ont été mesurés d'une part au niveau de la branchie, structure comparable à un tamis, qui constitue la plus grande partie de la surface de contact des bivalves avec le milieu extérieur, c'est ainsi le lieu principal d'échange d'eau et d'ion, entre l'hémolymphe et l'environnement (Randall *et al.*, 2000), au niveau de la glande digestive, organe accumulateur des métaux, c'est aussi un organe majeur dans la détoxification de ces derniers (Marigomez *et al.*, 2002; Moore & Allen, 2002).

Le manteau, organe principal de stockage des nutriments organiques en forme de protéines, glucides et lipides, qui sont fortement mobilisés durant les processus physiologique interne mais aussi durant un stress dû à des facteurs externe (San Juan Serrano *et al.*, 1998; Palanivelu *et al.*, 2002). Ainsi que les muscles adducteurs, (Ils sont au nombre de quatre) qui relient le corps de l'animal à sa coquille et assurent, par leur contraction, la fermeture des valves (Ifermer, 2009).

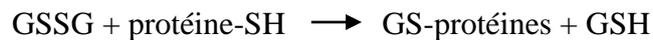
### **5.1. Effet du traitement par le cadmium sur les biomarqueurs de *R. decussatus* et *P. perna***

### 5. 1.1. Effet du traitement par le cadmium sur le glutathion(GSH)

Le glutathion(GSH) est un tripeptide qui joue un rôle central dans les processus de défense antioxydant intracellulaire (Arrigo, 1999; Sies, 1999). C'est un antioxydant non enzymatique qui va, en piégeant les radicaux libres, intervenir à divers degrés en complément des enzymes antioxydantes. Ce thiol non protéique abondant chez les organismes vivants dans sa forme réduite (GSH) va agir dans la cellule comme un donneur d'électron. La présence de glutathion sous sa forme oxydée traduit un stress oxydant. La réaction du glutathion avec les radicaux libres génère le radical thiyl (GS). Qui peut génère l'anion superoxyde, d'où la nécessité de maintenir un rapport GSSG/ GSH le plus faible possible.

L'anion superoxyde sera pris en charge par le superoxyde dismutase. Le GSH intervient également comme substrat des glutathion peroxydase en tant que donneur d'hydrogène.

Le GSH est impliqué dans le métabolisme des xénobiotiques. En effet, ce tripeptide intervient dans la réaction catalysée par la glutathion-S- transférase ou il est couplé au xénobiotique. Il peut réagir, sous sa forme oxydée (GSSG), avec les molécules présentant un groupement -SH et les protéines sont les cibles de cette réaction.



Cette réaction est à l'origine de l'inactivation des enzymes ou de leur perte de stabilité. Ceci pourrait expliquer le fait que la cellule tende à conserver un faible taux de GSSG dans les conditions physiologiques et que certains organes tel que le foie éliminent le GSSG en cas de stress oxydant (Cossu *et al.*, 1997b). La réduction maximale du taux de GSH est observé après 21 jours de traitement à 200 µg/l au niveau de la glande digestive et la branchie des deux espèces par rapport aux témoins, De plus nos résultats montrent que la diminution du taux de GSH et en fonction de la dose utilisée, la dose la plus élevés provoque des diminutions plus marquées. Nos résultats concordent avec ceux de Strain & Rudolph. (2010), chez la palourde *Semele solida* dans le golfe de Chili suite à une pollution anthropologique, Trevisan *et al.* (2012), trouvent une diminution de GSH et autres enzymes anti oxydant dans la branchie de l'huître (*Crassostrea gigas*) exposée au chlorodinitrobenzen, ainsi chez la moule *perna viridis* exposée au mercure, une telle diminution du glutathion en présence des métaux a été constatée chez la moule *Mytilus galloprovincialis*, exposée au cuivre et au mercure par Canesi *et al.*, 1999. Le cadmium peut entraîner une diminution de la quantité d'anti oxydant (glutathion) ou l'activité d'enzyme permettant de lutter contre le stress oxydant (Leonard *et al.*, 2004). Le glutathion réduit (GSH) peut lier le cadmium et empêcher son interaction néfaste avec des cibles cellulaires (Singhal *et al.*, 1987). De plus, le cycle redox du glutathion (GSH), qui fait intervenir la glutathion-

peroxydase et la glutathion réductase, joue un rôle important dans la détoxification des ROS générés par le cadmium.

### **5. 1.2. Effet du traitement par le cadmium sur le Malondialdéhyde (MDA)**

La chaîne de peroxydation lipidique initiée principalement par HO affecte l'intégrité de la membrane, sa fluidité et peut entraîner sa rupture. Les produits de dégradation des lipides sont des aldéhydes tels que le Malondialdéhyde (MDA) et l'hydrocarbure tel que l'éthane et l'éthylène (Guetteridge & Halliwell, 1993). Le MDA est souvent dosé pour déterminer des dommages causés par les ROS lors d'un stress oxydant (Ohkawa *et al.*, 1997). La peroxydation lipidique dans les mitochondries entraîne des dysfonctionnements de la production d'ATP mais peut également induire l'apoptose (Green & Reed, 1998). Les contaminants anthropogéniques, par les métaux lourds, les PAH, et les résidus des pesticides induit la peroxydation lipidique (Strain & Rudolph, 2010).

Nos résultats montrent une augmentation significative du MDA dans les différents organes étudiés après l'exposition au cadmium, de plus, le manteau et le muscle adducteurs sont plus sensibles au cadmium par rapport à la branchie et la glande digestive qui sont au contact direct avec le polluant, cela peut être dû au différents rôles physiologiques de ces organes, les branchies et la glande digestive sont des organes de stockage pendant court terme, par contre l'accumulation à long terme des métaux se fait dans le manteau et à moindre degré dans le muscle adducteur (Banni, 2004).

Une augmentation du MDA a été également rapportée par Bergayoo *et al.* (2009), chez *Scorbicularia plana* et *Cerestoderma edule* dans les estuaires marocains. Une telle augmentation a été signalée chez l'huître (*C. gigas*), exposé à l'huile de diesel (Zhang *et al.*, 2010). Quand les huîtres sont exposées à 80µg/l de cuivre pendant 4 jours, les taux de MDA sont alors plus élevés que chez les témoins. L'exposition au cuivre entraîne également une augmentation du taux de MDA dans les tissus mous de *Ruditapes decussatus*.

Dans notre travail, le cadmium induit une augmentation du taux de MDA. De plus en plus d'études montrent que le cadmium exerce sa toxicité au niveau cellulaire en partie en induisant la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et favorise le stress oxydant, la peroxydation lipidique, des dommages à l'ADN ou encore une oxydation des protéines (Stoys, 2000; Moustaid *et al.*, 2005).

## **5.2. Effet du traitement par le cadmium sur les paramètres biochimiques de *R. decussatus* et *P. perna***

La contamination des palourdes et des moules par le cadmium à raison de deux concentrations (100 et 200 µg/l) pendant 21 jours montre une augmentation des lipides et des protéines et une déplétion des glucides.

Les résultats obtenus concernant l'estimation du taux des lipides suite au traitement par le cadmium ont révélé une accumulation au niveau de quatre tissus étudiés, pour les deux concentrations (100 et 200 µg/l) chez les deux espèces comparativement aux témoins. Cette augmentation peut être expliquée par l'impact du cadmium sur la physiologie des deux bivalves. Une étude faite sur un mollusque bivalve *Donax trunculus* récolté au niveau d'un site pollué (Sidi Salem) semble afficher des quantités plus élevées en lipides par rapport à ceux récoltés dans la station de référence (El Battah). Ces différences renseignent sur une exposition de cette espèce à certains polluants, tel que les métaux lourds (Abdenour *et al.*, 2006; Beldi *et al.*, 2006), auquel est soumis le site de Sidi Salam. D'une façon générale, les mollusques présentent une corrélation entre leur contenu lipidique et le niveau des contaminants (Mehdaoui *et al.*, 2000).

Nos résultats montrent que le taux des protéines augmente avec un effet dose-dépendant en présence du cadmium. Ces résultats vont dans le même sens que ceux de (Géret *et al.*, 2002), qui montre que la quantité des protéines totales augmente significativement après 7 jours de traitement par le cadmium à la dose de 40µg/l. (Paccini *et al.*, 1994; Mayasa *et al.*, 2002; Tadjine, 2007), ont également montré une augmentation significative du taux de protéines totales sous l'effet d'un stress chimique chez des modèles biologiques différents (têtards, protistes ciliés, lapins). Des résultats similaires ont été observés au niveau du manteau et de la glande digestive de *Crassostrea rhizophorae* suite à une exposition à des xénobiotiques tel que le cadmium (Jocelyne, 1990). Une étude menée sur la moule *Mytilus edulis* propose l'induction de la protéine de HSP60 comme un biomarqueurs potentiel de la contamination par les métaux dont le cadmium (Radlowski & Pempokowiak, 2002).

## **5.3. Effet du traitement par le malathion sur les biomarqueurs de *R. decussatus***

### **5.3.1. Effet du traitement par le malathion sur l'acétylcholinestérase**

L'acétylcholinestérase est la principale cible des insecticides neurotoxiques, organochlorés et carbamates, qu'ils inhibent de manière non réversible (Payne *et al.*, 1996; Flammarion *et al.*, 1998; Sturm *et al.*, 1999; Barra *et al.*, 2001). Cependant, l'inhibition de L'AChE peut être réversible (Particulièrement pour les AChE cérébrales affectées par les carbamates) et dans ces conditions seules les diminutions importantes d'activités

acétylcholinestérasiques peuvent être décelées (Boquené *et al.*, 1997). L'inhibition de l'acétylcholinestérase peut avoir des effets sur le comportement des êtres vivants (Saglio *et al.*, 1996; Khessiba *et al.*, 2001). L'analyse de l'activité de l'acétylcholinestérase dans les différents tissus des organismes aquatiques est considérée comme biomarqueurs de la contamination de ces milieux (Fernandez- Vega *et al.*, 1999).

L'acétylcholinestérase est une enzyme impliquée dans les mécanismes de transmission de l'influx nerveux à travers l'organisme. Son inhibition par de nombreux neurotoxiques entraîne l'accumulation d'un médiateur chimique dans l'espace synaptique, l'acétylcholine, qui maintient de ce fait une transmission permanente de l'influx nerveux, laquelle conduit généralement à la tétanie musculaire et à la mort de l'organisme (Bocquené, 1996; Bainy, 2000). La mesure de son inhibition constitue un marqueur dont l'expression traduit spécifiquement l'exposition des organismes à différents contaminants et notamment certains produits phytosanitaires.

L'AChE constitue en effet la cible privilégiée de certains insecticides (organophosphorés, carbamates), herbicides (triasines, paraquat) et autres molécules neurotoxiques (Herbet *et al.*, 1995; Bocquené *et al.*, 1997; Forget *et al.*, 1999; Dellali *et al.*, 2001). Surtout utilisée en milieu marin (Galgani & 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; Sturm *et al.*, 1999; Barra *et al.*, 2001). Les baisses d'activité ont été confirmées en condition de laboratoire à des concentrations de méthidathion (insecticide organophosphoré) mesurées *in situ* (Flammarion *et al.*, 1996; Flammarion *et al.*, 2002). L'acétylcholinestérase est largement employée en toxicologie en tant que biomarqueur de neurotoxicité.

Le malathion additionnées dans l'eau d'élevage des individus de *R. decussatus* à raison de deux concentrations 100 et 300 µg/l pendant 24 h traduisent une inhibition significative de L'AChE dans les quatre tissus étudiés. Cette inhibition est plus marquée dans le manteau et le muscle adducteur, due à la présence des neurotransmetteurs synaptiques. Des résultats similaires ont été rapportés par Venkateswara Rao *et al.*, 2005 après traitement par deux pesticides: le carbofuran (carbamate) et le chlorpyrifos (organophosphate) après 24 h d'exposition provoque une inhibition de *Gambusia yucanta*. De plus la réduction de l'AChE a été observée aussi chez *L. macrochirus* exposé au diazinon (Dutta *et al.*, 1992), et à l'endosulfan (Dutta & Arends, 2003), chez *Ghanna punctatus* exposée au metacid-50 et au carbaryl (Ghosh & Bhattacharya, 1992). Les mêmes résultats ont été décelés au niveau du golfe d'Annaba chez le bivalve *Donax trunculus* (Sifi *et al.*, 2007 ; Amira *et al.*, 2011 ; Soltani *et al.*, 2012). Cette inhibition pourrait expliquer par la présence des substances neurotoxiques dans les sites pollués. Des résultats

similaires ont été trouvés chez le poisson *Zoarces viviparous* prélevé dans les sites pollués au sud-ouest de la mer Baltique (Schiedek *et al.*, 2006).

### 5. 3. 2. Effet du traitement par le malathion sur l'activité catalase

La catalase (CAT), est une enzyme cytosolique inductible dont la fonction est protéger les systèmes biologiques contre les ROS (Roméo *et al.*, 2000). Il s'agit d'une hémoprotéine tétramérique qui, avec un atome de fer par sous unité, a une masse d'environ 240 KDa.

Cette enzyme catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Digiulio *et al.*, 1989; Orbea *et al.*, 2002). La catalase une enzyme anti oxydante complémentaire de la Gpx contre la peroxydation induite par le peroxyde d'hydrogène (Cossu *et al.*, 1997b). La catalase est très utilisée comme biomarqueur de stress oxydatif (Van der- Oost *et al.*, 2003; Napierska & Barsiene, 2009), et est présente dans la plupart des organismes eucaryotes et procaryotes. L'activité catalase n'est pas spécifique à un groupe de contaminants, mais au stress oxydatif et peut être induit par une large gamme de contaminants organiques dont les xénobiotiques et métaux lourds (Livingstone, 2010; Akcha *et al.*, 2008; Romeo *et al.*, 2003).

L'exposition des palourdes au malathion à 100 et 300 µg/l, produit une augmentation significative de l'activité spécifique de la CAT après 24 heures d'exposition, dans les différents tissus étudiés. L'augmentation de l'activité catalytique chez *R. decussatus* par rapport aux témoins suggère l'élimination des H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, résultant à l'exposition au malathion. L'induction de l'activité de la catalase constitue la première étape de défense contre les ROS (Pandey *et al.*, 2001) et un biomarqueur d'intoxication par les pesticides (Van der- Oost *et al.*, 2003; Regoli *et al.*, 2004). L'augmentation de l'activité de la catalase hépatique a été observé chez *Anguilla anguilla* après l'exposition au beta-nephtflavone (Ahmad *et al.*, 2005), et chez *Jenysia multidentata* exposée à 1,2- et 1,4- dichlorobenzene (Monferran *et al.*, 2007), ainsi que dans l'hépatopancréas de *Gambusia affinis* traité avec diflubenzuron et flucycloxuron (Zaidi & Soltani, 2013). L'augmentation de la CAT a été aussi observée chez les poissons des eaux polluées (Livingstone *et al.*, 1993; Vega –Lopez *et al.*, 2008). Une augmentation de l'activité catalase est enregistrée dans le manteau de *Donax trunculus* après 96 h de traitement par le cadmium (Belabed, 2014).

## **5. 4. Effet du traitement sur les paramètres biochimiques**

Le traitement par le malathion et provoque une réduction significative des glucides, des lipides et des protéines. Les paramètres biochimiques peuvent constituer des diagnostics importants dans la toxicologie.

### **5.4.1. Effet du traitement sur le taux des glucides**

Dans notre étude, une réduction significative des glucides a été observée dans les différents tissus étudiés suite au traitement par les deux polluants à deux doses, cadmium pour (les palourdes et les moules) et malathion (palourdes) en les comparant aux témoins.

En fait, le traitement de la crevette *P. kerathurus* par le halofénozide (agoniste de l'hormone de mue) entraîne une augmentation significative des taux de glucides de la chair, et une diminution au niveau de l'hémolymphe et des gonades (Gheid, 2011). Les glucides ovariens sont également réduits par le halofénozide et le DFB (diflubenzuron) chez *G. affinis* (Bouzioukh, 2000), chez *B. germanica* (Rouibi, 2002) et *P. kerathurus* (Morsli, 1994).

Les modifications des taux de métabolites observées suite au traitement par les deux polluants, ont été interprétées de façon très intéressante. En effet Hemelraad *et al.* (1990) décrivent qu'une forte exposition au cadmium provoque une réduction des réserves glucidiques, des niveaux d'ATP intracellulaires et perturbe les fonctions mitochondriales chez d'autres espèces de bivalves tels que *Ellipticom planata* et *A. cygnea*. Smolders *et al.* (2004) disent que cette réponse au stress environnemental varie également selon le niveau de pollution et de dégradation du milieu.

### **5.4.2. Effet du traitement sur le taux des protéines**

La diminution des taux des glucides affecte indirectement les taux des protéines et des lipides. Les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme de toutes les espèces biologiques vivantes. Constituants principaux des tissus, elles interviennent dans la formation des gamètes comme source énergétique (Borsa & Millet, 1992). Elles constituent également un bon apport en acides aminés essentiels en alimentation humaine.

Pour le taux des protéines, nous constatons qu'il y a une diminution au niveau des 4 tissus étudiés et pour les deux doses (100 et 300 µg/l). Les mêmes résultats ont été signalés par (Gheid, 2011), qui a étudié les effets du halofénozide sur l'hémolymphe et l'ovaire de la crevette *P. kerathurus*. Une diminution du taux de protéines est également signalée chez *P. kerathurus* traitée au Dimilin (inhibiteur de la synthèse de la chitine) (Morsli, 1994). Sous les conditions de stress snails à besoin plus d'énergie pour détoxifier les toxines, quand les snails ont des quantités limitées de carbohydrates, la deuxième source d'énergie utilisée par les animaux c'est les protéines.

Vijayavel *et al.* (2006) interprètent que la réduction des taux de protéines a été attribuée à une utilisation des acides aminés dans la synthèse du glucose par néoglucogénèse pour fournir de l'énergie requise pour la défense de l'organisme durant une exposition aux polluants. Ainsi Vijayavel & Balasubramanian (2008) et Auffret *et al.* (2006) révèlent que cette réduction est due probablement à une utilisation rapide des protéines par les cellules sous des conditions de stress ou un blocage de la synthèse protéique et la dénaturation des protéines.

#### **5.4.3. Effet du traitement sur le taux des lipides**

Les lipides représentent la principale source d'énergie tout en jouant également un rôle très important lors de la vitellogénèse ainsi que dans la synthèse des prostaglandines (Stanley-Samuelson & Loher, 1986; Yuan *et al.*, 2000). Ces prostaglandines sont d'ailleurs impliquées dans plusieurs mécanismes (reproduction, immunité). L'évaluation des taux des lipides au niveau des 4 tissus a montré une diminution significative au niveau de tous les tissus étudiés, comparativement à celle observée chez des témoins. Le contenu lipidique peut subir des variations importantes selon l'état physiologique et les conditions du milieu (Mehdaoui *et al.*, 2000).

Des études antérieures montrent que chez les organismes aquatiques, les lipides servent de réservoir protecteur contre l'effet toxique du lindane et d'autres pesticides lipophiles car ils sont massivement bioconcentrés dans le corps gras (Geyer *et al.*, 1994). Nos résultats sont en accord avec ceux de (Sujatha *et al.*, 1995) qui ont évalué les taux de lipides des tissus d'un bivalve (*Villorita cyprenoids*), à la suite de l'exposition à des pesticides organophosphorés (endosulfan, malathion et methylparathion), ils ont remarqué une chute du taux des lipides après 24 h de traitement et cela pour les trois pesticides utilisés. Cette diminution de la teneur en lipides dépend de la valeur de l'ordre de la toxicité des pesticides et la sensibilité de l'organisme d'essai (Sujatha *et al.*, 1995). Les pesticides, organophosphorés sont très toxiques pour les organismes marins (Eisler, 1970), l'accumulation des pesticides chez les bivalves dépend de la quantité de lipides dans les tissus car il y a une relation directe entre la teneur en matières grasses et les résidus de pesticides ce qui a été rapporté pour plusieurs espèces (Anderson *et al.*, 1999; Buhler *et al.*, 1969).

*CONCLUSION*  
*&*  
*PERSPECTIVES*

## Conclusion et perspectives

Cette étude est menée sur une période d'une année, sur deux espèces de bivalves, *Ruditapes decussatus* de la lagune el Mellah et *Perna perna* du golfe d'Annaba, par la mesure des paramètres physico-chimiques de l'eau (température et salinité), qui peuvent conditionnés la répartition des bivalves dans leurs biotope et par un suivi mensuel de quelques paramètres biochimiques (protéines, glucides, lipides et profil en acides gras), ainsi que les valeurs de l'indice de condition en fonction de quatre saisons différents. L'impact d'une éventuelle pollution sur la composition biochimique et la réponse de quelques biomarqueurs de stress environnemental dans des condition contrôlées est également mise en évidence, à travers la contamination des deux bivalves par un métal lourd (le cadmium) à 100 et 200 µg/l pendant 21 jours, et un pesticide (le malathion), appliqué sur les individus de *R. decussatus* à (100 et 300 µg/l) pendant 24 h.

Les variations de la température des eaux des différents sites de prélèvements font ressortir deux grands périodes thermiques sur l'ensemble des sites, une période froide englobe l'hiver et le printemps et une période chaude englobe l'été et l'automne.

La salinité présente des différences entre les deux sites du golfe d'Annaba avec une salinité plus élevée à Hnaya par rapport à Seybouse, La salinité ne révéle aucune différence entre les deux sites de la lagune el Mellah.

Le contenu biochimique en protéines, glucides et lipides, montre un effet saison ou les taux les plus élevés sont observés au printemps pour les deux espèces des différents sites, ce qui correspond à l'accumulation des réserves au début de la période de reproduction. Alors qu'une diminution des réserves métaboliques est enregistrée en période d'émission des gamètes, avec réduction des taux de ces trois constituants est également observés en hiver chez les deux espèces. L'évolution de l'indice de condition en relation avec le cycle sexuel a permis de repérer les périodes de perte de poids dues aux émissions des gamètes. Ces données permettent de distinguer deux périodes de ponte, se situant l'une au printemps pour les deux espèces et l'autre à la fin de l'été et début automne chez *R. decussatus* et en automne chez *P. perna*

Le manteau qui constitue la majeure partie comestible des bivalves contient les trois types d'acides gras (saturés, monoinsaturés et polyinsaturés), bien que les acides gras polyinsaturés sont majoritaire tout au long de l'année (dominés par C20: 5(n-3) et C22: 6(n-3)), les acides gras

monoinsaturés (sont représentés majoritairement par le C18:1 et le C20:1), et les acides gras saturés (représentés majoritairement par le C16:0).

La dernière partie concerne les expérimentations au laboratoire. Le cadmium a été choisi comme modèle de métal possédant la capacité de traverser les barrières biologiques, sa toxicité est attribuée principalement à la perturbation qu'il engendre en se substituant aux métaux essentiels tels que le zinc, le cuivre, et le calcium. Aux doses étudiées, nous avons mis en évidence une toxicité du cadmium, qui selon l'espèce se manifestent dans des organes différents.

Au cours de l'intoxication au Cd les deux espèces mettent en place un système de détoxification relativement efficace. Le traitement des individus de *R. decussatus* et *P. perna* avec le Cd indique une réduction significative de taux de GSH au niveau de la branchie et la glande digestive des deux espèces avec une relation dose- réponse, et une augmentation hautement significative des taux de MDA dans tous les organes étudiés (manteau, muscle adducteur, glande digestive et branchie), de plus le Cd provoque des fluctuations de la composition biochimique avec une diminution significative du taux de glucides dans tous les organes étudiés de *R. decussatus*, cette diminution est plus marquée au niveau du muscle adducteur et glande digestive de la moule, par contre il provoque une accumulation des lipides et des protéines dans tous les organes de la palourde, l'augmentation est à moindre degré dans le muscle adducteur, manteau et glande digestive de la moule. Le traitement au malathion indique une induction de l'activité catalase au niveau de tous les organes de la palourde (manteau, muscle adducteur, glande digestive et branchie), et il exerce aussi une action neurotoxique mise en évidence par l'inhibition de l'AChE au niveau de tous les organes de la palourde, cette inhibition est plus marquée au niveau du manteau et du muscle adducteur. Le malathion provoque des perturbations physiologiques qui se traduisent par une chute des teneurs en glucides, protéines et lipides au niveau du muscle adducteur, manteau et glande digestive.

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

- D'approfondir l'étude des différents métabolites afin de mieux cerner les effets des polluants sur les organes, particulièrement les gonades pendant la période de reproduction.
- Etudier l'effet de la toxicité de certains métaux essentiels sur la reproduction des bivalves.
- De compléter l'étude expérimentale de la toxicité par la voie trophique chez les bivalves filtreurs, afin de mieux appréhender les conséquences pour l'écosystème, de

même, les durées d'exposition devraient être plus longues afin de percevoir la réversibilité ou non des effets dans les organismes exposés.

- D'utiliser un mélange de polluants lors d'expérimentation au laboratoire pour se rapprocher du milieu naturel.

# *RESUMES*

## Résumé:

L'objectif principal de cette recherche, était de contribuer à compléter les données sur la pollution marine des zones côtières, de la baie d'Annaba et la lagune el Mellah, par l'utilisation de deux espèces bioindicatrices de la pollution, les mollusques bivalves, *Ruditapes decussatus* et *Perna perna*. Les paramètres physico-chimiques des sites de l'étude, l'évolution de l'indice de condition et la composition biochimique du manteau ont été suivis mensuellement durant une année chez les deux espèces. L'impact d'une éventuelle pollution sur la composition biochimique et la réponse de quelques biomarqueurs du stress environnemental chez *R. decussatus* et *P. perna* dans des conditions contrôlés est également abordés.

L'analyse des paramètres physico-chimiques de l'eau des différents sites a permis d'enregistrés des faibles variations de la température entre les différents sites de l'étude. Cependant la salinité est légèrement supérieure à Hnaya par rapport à Seybouse dans le golfe d'Annaba.

Le contenu biochimique en protéines, glucides et lipides au niveau du manteau, montre un effet saison, ou les taux les plus élevés sont observés au printemps pour les deux espèces des différents sites, ce qui correspond à l'accumulation des réserves au début de la période de reproduction. Alors qu'une diminution des réserves métaboliques est enregistrée en période d'émission des gamètes, une réduction des taux de ces trois constituants est également observés en hiver chez les deux espèces. L'évolution de l'indice de condition en relation avec le cycle sexuel a permis de repérer les périodes de perte de poids dues aux émissions des gamètes. Ces données permettent de distinguer deux périodes de ponte, se situant l'une au printemps pour les deux espèces et l'autre en fin été début automne pour les individus de *R. decussatus* et en automne pour ceux de *P. perna*.

L'analyse qualitative des lipides du manteau chez les deux espèces montre l'existence de trois catégories d'acides gras. La dominance des acides gras polyinsaturés sur les acides gras saturés et monoinsaturés a été mise en évidence durant l'année de l'étude ce qui confère à ces deux bivalves leur bonne valeur nutritionnelle.

Au cours de l'intoxication au cadmium, les systèmes antioxydant ont répandu significativement surtout à la plus forte dose testée, il provoque aussi des fluctuations de la composition biochimique, avec une diminution significative du taux de glucides au niveau de la glande digestive et du muscle adducteur, et une accumulation des lipides et des protéines dans tous les organes de la palourde, l'augmentation est à moindre degré dans les différent organes de la moule.

Le traitement par le malathion a également mis en évidence chez *R. decussatus* la perturbation de la composition biochimique et une induction de l'activité catalase et une inhibition de l'acétylcholinestérase, cette inhibition est plus marquée au niveau du manteau et du muscle adducteur.

**Mots clés:** bivalves, métabolites, acides gras, indice de condition, pollution, baie d'Annaba, lagune el Mellah, stress oxydant.

## Abstract

The main objective of this research is to help supplement data on marine pollution in coastal areas of the Bay of Annaba and lagoon El Mellah, *R. decussatus* and *P. perna* were taken as a mode with potential use in biomonitoring of the environment

The physico-chemical characteristics (temperature and salinity) waters of the studied fringe show some spetial homogeneity between the three monitoring stations in the lagoon Mellah,

Biochemical composition of proteins, carbohydrates and lipids determined monthly in the mantle of *R. decussatus* and *P. perna*, in different sites, showed a season effect, where the highest rates are observed in spring for both sites with corresponds to accumulation of reserves at begining of reproductio n period. Indeed, during the sexual activity period, with fluctuations as fonction the time. The highest rates were recorded at the bigining of reproduction period and lowest at the end of reproduction period in two species.

The evaluation of the index condition, al through the seasonal fluctuations observe that *R. decussatus* and *P. perna* has a good physiological state, Furthermore, these data can distinguish between two periods of spawning one in the spring and the other in automne.

The qualitative analysis of the mantle lipids composition of two species, shows the richness of this food of polyinsaturated fatty acid (PUFA) compared of monoinsaturated and saturated fatty acids, confer a great alimentary worth to these bivalvs.

After cadmium treatment the antioxidant system mainly respond significantly to the highest does tested, The cadmium highlighted fluctuations of the biochemical composition and an activation of the mechanism of detoxification at *Ruditapes decussatus* and *Perna perna* and this at the level of 4 studied tissues: A significant reduction in the glucid rate and a massive accumulation of the lipids and proteins.

The rate of the MDA of studied tissues increases significantly following the treatment with, a dose-response effect, whereas the rates of GSH decrease at the treated with the two amounts, thus showing the reaction of tissues with respect to the pollutants.

The treatment of *R. decussatus* by the malathion also highlighted the disturbance of the biochemical composition and the modification of the rate of the two enzymes.

**Key words:** bivalvs, metabolism, Fatty acids, index condition, pollution, antioxidant system.

## الملخص

الهدف الرئيسي من هذا البحث يدخل في إطار تقدير الحالة الصحية لخليج عنابة و بحيرة الملاح من خلال نوعين من ثنائيات القوقعة و هما البالورد *Ruditapes decussatus* و المول *Perna perna* المؤشرات الفيزيائية و الكيميائية للماء في مختلف المحطات و أيضا تقييم المؤشر الشرطي و كذلك المؤشرات البيوكيميائية على مستوى المعطف قد تم تتبعها شهريا لمدة سنة كاملة عند النوعين. تأثير التلوث على المكونات البيوكيميائية و كذلك بعض العلامات البيولوجية عند النوعين عن طريق تجارب مخبرية قد تم التطرق إليها أيضا.

تحليل المؤشرات الفيزيائية والكيميائية للماء (الحرارة و درجة الملوحة) أظهرت اختلافات طفيفة بين مختلف المحطات. لكن مؤشر الملوحة بدأ أكثر تركيزا في موقع حناية منه في موقع سيديوس بخليج عنابة. المكونات البيوكيميائية من بروتينات، غلوسيدات وليبيدات أظهرت تأثير واضح لعامل الفصل، أين تم تسجيل كميات أكبر في فصل الربيع عند النوعين و في مختلف المحطات متزامنة مع تجمع للمكونات في بداية مرحلة التكاثر لكن لوحظ انخفاض في هذه المكونات أثناء مرحلة التبويض، الانخفاض لوحظ أيضا في فصل الشتاء عند النوعين. المؤشر الشرطي وعلاقته بالتبويض سمح بتحديد زمانان للبيض الأول في فصل الربيع عند النوعين والثاني مع نهاية فصل الصيف و بداية فصل الخريف عند أفراد *R. decussatus* و في فصل الخريف عند أفراد *P. perna*.

دراسة الأحماض الدهنية على مستوى المعطف عند النوعين أظهر وجود الأحماض الدهنية الأساسية الثلاث، مع وجود نسبة مرتفعة من الأحماض الدهنية عديدة التشعب مقارنة بالأحماض الدهنية المشبعة والأحادية التشعب وهذا ما يعطي لهذين النوعين قيمة غذائية عالية.

التجارب المخبرية على النوعين بمعدن الكادميوم أظهرت إضطرابات في الكيمياء الحيوية ونشاط القدرة على إزالة السموم مع انخفاض نوعي للغلوسيدات على مستوى الغدة الهضمية و العضلية المقربة مقارنة بالأنسجة الأخرى و تخزين للبروتينات و الدسم، هذا التخزين يكون أقل منه عند المول *P. perna*.

تبين المعالجة بالمالتيون على أفراد *R. decussatus* اضطراب في الكيمياء الحيوية و تحفيز نشاط إنزيم الكاتالاز و تثبيط إنزيم الاستيل كولينستيراز خاصة على مستوى المعطف و العضلة المقربة.

**الكلمات المفتاحية:** ثنائيات القوقعة ، خليج عنابة، بحيرة الملاح ، التلوث ، المكونات البيوكيميائية ، أحماض دهنية ، المؤشر الشرطي ، الضغط المؤكسد.

*REFERENCES*  
*BIBLIOGRAPHIQUES*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aarset A.V., aunaas T., 1990.** Influence of environmental salinity on oxygen consumption and ammonia excretion of the arctic under-ice amphipod *Onisimus glacialis*. *Mar. Biol.*, **107**: 9-15.
- Abdennour C, Khelili K, Boulakoud MS., Rainbow P.S., 2006.** Trace metals in shrimps and sediment from Algerian water. *J. Catal. Mat. Env.*, **3**: 9-12p.
- Abele D., Pantarulo S., 2004.** Formation of reactive species and induction of antioxidant defence systems in polar and temperate marine invertebrates and fish. *Comp, Biochem. Physiol.*, **138A**: 405- 415.
- Ahmad I, Olivia M, Pachico M., Santos M. A., 2005.** *Anguilla Anguilla L.* Oxidative stress as biomarker responses to copper exposure with or without beta-naphthaloflavonepre-exposure. *Chemos.*, **61(2)**: 265-275.
- Aït-Aïssa S., Palluel O., Porche J.M., 2003.** Biomarqueurs précoces d'écotoxicité INERIS, rapport final DRC. 49p.
- Akcha F., Arzul G., Rousseau S., Bardouil M., 2008.** Comet assay in phytoplankton as biomarker of genotoxic effects of environmental pollution. *Marine Environmental Research*, **66**: 59-61.
- Almeida E.A., Bainy A.C.D., Loureiro A.P.M., Martinez G.R, Myamoto S., Onuki J., 2007.** Oxidative stress in *Perna perna* and other bivalves as indicators of environment stress in the brasilian marine environment: antioxydants, lipid peroxidation and DNA damage, *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr.physiol.*, **46**: 588- 600.
- Amiard-Triquet C., Altamann S., Amiard J.C., Ballan-Dufrancais C., Baumard P., Budzinski H., Crouzet C., Guarrigue J.P., His E, Jeantet A.Y., Menarsia R., Mora P., Mouneyrac C., Narbonne J.F., Pavillon J.F., 1989.** Fate and effects of micropolluants in the Girond estuary, France: *a multi disciplinary approach*. *Hydrobiologia*, 373/374: 259 - 279.
- Amiard- Triquet C., Berthet B., Martoja R., 1991.** Influence of salinity in trace metal (Cu, Zn, Arg) accumulation at the molecular, cellular and organism level in the oyster *Crassostrea gigas Thunberg*. *Biol. Metals.*,**4**: 144- 150.
- Amiard- Triquet C., Amiard J., 1998.** Influence of ecological factors on accumulation of metal mixture. In: Langston, J. W., Bebianno, M.J. (eds). Metal metabolism in Aquatic Environments. *Chapman and Hall*, London, UK, 351- 386.
- Amira A., Sifi K., Soltani N., 2011.** Seasonal variation of oxidative biomarkers in *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba (Algeria), *Eur. J. Exp. Bio.*, **1(2)**: 7-16.

- Anderson R.S., Patel K.M., Roesijadi G., 1999.** Oyster metallothionein as an oxyradical scavenger: implications for hemocyte defense responses. *Dev Comp Immunol.*, **23**: 443-449.
- Angerer P., Von Sclarky., 2000.** N- 3 polyunsaturated fatty acids and the cardiovascular system. *Curr. Opin. Lipido*, **11 C(I)**: 57- 63.
- Angilletta M.J., Sears M.W., 2000.** The metabolic cost of reproduction in an oviparous lizard. *Funct Ecol*, **14**: 39-45.
- Anonyme., 1976.** Les micropolluants minéraux dans les eaux superficielles et continentales. Association Française pour l'étude des eaux, Rapport n°6: 3p.
- Ansell A.D., Lagardère F., 1980.** Observation on the biology of *Donax trucus* and *Donax vittaus* at Ile d'Oleron (fresh Atlantic Coast). *Mar.Biol.* **57(4)**: 287- 300.
- Arrigo A.P., 1999.** Gene expression and the thiol edox state. *Free.Rad. Biol.Med.*, **27**:936-944.
- Auffret M., Rousseau S., Boulet I., Tanguy A., Baron J., Moraga D., Duchemin M., 2006.** A multiparametric approach for monitoring immunotoxic responses in mussels from contaminated sites in Western Mediterranean. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **63**: 393-405.
- Bainy A. C. D., 2000.** Biochemical responses in Peneids caused by contaminants. *Aquacul.*, **191**: 163-168.
- Banni M., Jebali J., Daubeze M., Clerandau C., Guerbej H., Narbonne J.F., Boussetta H., 2004.** Monitoring pollution in Tunisian coasts: application of a classification scale based on biochemical markers. *Biomarkers.*, **10(2-3)**: 105-16.
- Barber., blarke, N. j., 1980.** Energie storage and utilisation in relation to gametogenesis in *Argopecten irradians concentricus* (Say). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **52**: 221- 143.
- Barra R., Notariani V., Gentili G., 2001.** Biochemical biomarker responses and chlorinated compound in the fish *leuciscus* along a contaminant gradient in a polluted river. *Bull. Environ. Cont. Toxicol.*, **66**: 582 – 590.
- Baudrimont M., Metivaud j., Maury- Brachet R., Ribeyre F., Boudou A., 1997.** Biocaccumulation and metallothionein response in the Asiatic clam, *Corbicula fluminea* after experimental exposure to cadmium and inorganic mercury ; *Environ. Toxicol. Chem.*, **16**: 2096- 2105.
- Bayed A., 1991.** Etude écologique des écosystèmes de plages de sable fin de la côte atlantique marocaine : Modèles de zonation, Biotypologie, Dynamique de populations. *Thèse Doct. d'Etat Univ. Mohammed V, Rabat* : 229p.
- Bayne B.L., Svensson S., Nellja., 1999.** The physiological basis for faster growth in the Sydney rock oyster, *Saccostrea commercialis.*, *Biol. Bull.* **197(3)**: 377-387.
- Behrens A., segner H., 2005.** Cytochrome P450 A induction in brown trout exposed to small streams of an urbanized area: results of a five- year-study. *Environ. Poll.*, **136(2)**: 231- 242.

- Belabed S., 2014.** Toxicité aigue du cadmium à l'égard de *Donax trunculus* en condition de laboratoire: parametres de létalité, pharmacocinétique et mesure de biomarqueurs durant l'exposition et la restauration. Thèse de doctorat, Université d'Annaba.
- Belbacha S., 2008.** Contribution à la connaissance de la biodiversité marine de la région d'El Kala (Est Algérien) Memoire de magister, Univ. Badji Mokhtar, Annaba: 90pp.
- Beldi H., Gimbert F., Maas S., Scheiffler R., Soltani N., 2006.** Seasonal variations of Cd, Cu, Pb, and Zn in the edible mollusc *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from gulf of Annaba, Algeria. *Afric. J. Agricul. Res.*, **1(4)**: 85-90.
- Bell M.V., Henderson R.J., Sargent J.R., 1986.** The role of polyunsaturated fatty acids in fishes. *Comparative, Biochemistry and Physiology*, **83B**: 711- 719.
- Benali, A., Saadi, K., 2001.** Contribution à l'étude écologique de la palourde *Venerupus decussatus* L, dans le lac Mellah (El Kala, Algérie). *Mémoire d'ingénieur. Université d'Annaba.* 82p.
- Benelli C., Fabbri A., Grassi S, Lambardi M., Rugini E., 2001.** Histology of somatic embryogenesis in mature tissues of olive (*Olea europaea* L.), *J. Hort. Sci. Biotechnol.*, **76(1)**: 112-119.
- Beninger P.A., Lucas A., 1984.** Seasonal variation in condition reproductive activity and gross biochemical composition of two species of adult clam reared in a common habitat: *Tapes decussates* L. (Jeffreys) and *Tapes philippinarum* (Adams and Reeve). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **79**: 19-37.
- Beninger P.G., Stephan G., 1985.** Seasonal variations in the fatty acids of the triacylglycerols and phospholipids of two populations of adult clam (*Tapes decussatus* L. and *T. philipinarium*) reared in a common habitat. *Comparative Biochemistry and Physiology.*, **81B**: 591-601.
- Benomar S., Bouhaimi A., El Hamidi F., Mathieu M., Ouichou A., Moukrim A., 2006.** Cycle de reproduction de la moule *Perna perna* (Mollusca, Bivalvia) dans la baie d'Agadir. Impact des rejets d'eau usés domestiques et industrielles. *Biol. Sante.*, **6**: 25- 36.
- Benzohra M. 1993.** Les structures hydrodynamiques le long des côtes Algériennes. Workshop sur la circulation des eaux et pollution des côtes méditerranéennes du Maghreb, INOC: 33-44.
- Bergayou H., Mouneyrac C., Pellerin J., Moukrim A., 2009.** Oxidative stress responses in bivalves (*Scrobicularia plana*, *Cerestoderma edule*) from the oued Souss estuary (Marocoo). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **72**: 765- 769 pp.
- Berthelin C., Kellner K., Mathieu M., 2000.** Storage metabolism in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in relation to summer mortalities and reproductive cycle (West Coast of France). *Comp. Biochem. Physiol.* **125**: 359-369.

- Bocquené G., 1996.** L'acétylcholinestérase, marqueur de neurotoxicité. Application à la surveillance des effets biologiques des polluants chez les organismes marins. Thèse Doc., Ecole pratique des Hautes Etudes: 250p.
- Bocquené G., Galgani F., Walker H., 1997.** Les cholinestérases, biomarqueurs de neurotoxicité. In : Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C. et Ramade F., (eds) Biomarqueurs en écotoxicologie- Aspects fondamentaux. Masson, Papis: 204 - 209.
- Bodin N., Burgeot T., Stanisiere J. Y., Bocquené G., Menard D., Minier C., Boutet I., Amat A., Cherel Y., Budzinski H., 2004.** Seasonal variation of a battery of biomarkers and physiological indice for mussel *galloprovincialis Mytilus* transplanted into the northwest Mediterranean Sea. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacom.*, **138**: 411- 427.
- Bodoy A., Massie, H., 1979.** Quelques paramètres permettant de suivre la production organique d'un mollusque bivalve au cours d'un cycle saisonnier. *Publ. Sci. Tech. CNEXO, Actes colloque.7*: 753- 766.
- Botté E. S., Jerry D. R., Codi King S., Smith-Keune C., Negri A. P., 2011.** Effects of chlorpyrifoson cholinesterase activity and stress markers in the tropical reef fish *Acanthchromis polyacanthus*. *Mar. Pollut. Bull.* **65(4)**: 384-393.
- Borsa P., Millet B., 1992.** Recruitment of the clam *Ruditapes decussatus* in the lagoon of than Mediterranean. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **35**: 1-12.
- Bourcart C., Lubet P., 1965.** Cycle sexuel et evolution des reserves chez *Mytilus galloprovincialis* (Lmk)., Rapp. P.V. Cmmis. *International. Mer Méd.*, Monaco., **18(2)**: 155-158.
- Bouzioukh A., 2000.** Effet secondaires de quelques insecticides nouveaux sur la croissance, le métabolisme et la reproduction chez un poisson larvivoire *Gambusia affinis*: Aspect morphologique, histologique et biochimique. Mémoire de magister. Université d'Annaba.82p.
- Bradford M. M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principe of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **72**: 248-254.
- Breber P., 1980.** Annual gonadal cycle in the carpet shell clam *Venerupus decussatus* in Venice Lagoon. *Proc. Natl. Shellfish. Ass.*, **70**: 31- 35.
- Bremond R., Perrodon., 1979.** Paramètres de la qualité des eaux. Ministère de l'environnement. Direction prévention des pollutions, France, 2<sup>ème</sup>. éd, 259p.
- Buhler D.R., Rasmusson E.M., Shanks E.W., 1969.** Chronic oral DDT toxicity in juvenile coho and chinook salmon. *Toxicol. Appl. Pharamacol.*, **14(3)**: 535-555.
- Burton G. A., 1992.** Sediment toxicity assessment. *Lewis Publisher*, London, 211p.
- Canesi L., Viarengo A., Leonzio C., Filippelli M., Gallo, G., 1999.** Heavy metals and glutathione metabolism in mussel tissues. *Aquat Toxicol.*, **46**: 67-76.P.

- Cears M., Cutteau P., Cure K., Morales V., Gajardo G., Sorgeloos P., 1998.** The Chilean Scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819): II Manipulation of the fatty acid composition and lipid content of the eggs via lipid supplementation of the brood- stock diet. *Comp. Biochem. Physiol.*, **123B**: 97- 103.
- Careas M, Utting SD, Coutteau P, Mollican P.F., Sorge-Loos P., 2002.** Impact of the supplementation of a docosa-hexanoic acid- riche mulson on the reproductive output of oyster broodstock, *Crassostrea gigas*. *Marine Biology*, **140**: 1157- 1166.
- Chalabi L., 2001.** Cycle de reproduction et composition biochimique de la palourde *Ruditapes decussatus* dans la baie d'Alger, *Rapp. Com. Int. Mer. Medit.*, **36**: 370 p.
- Chappie D.J., Burton., 1997.** Optimization of in situ bioassays with *Hyalella azteca* and *Chironomus tentans*. *Environ. Toxicol. Chem.*, **16(3)**: 559-564.
- Chavez-Villalba J., Cochard JC., Le Pennec M., Barret J., Enriquez-Diaz M., Caceres-Martinez C., 2003.** Effects of temperature and feeding regimes on gametogenesis and larval production in the oyster *Crassostrea gigas*. *J. Shellfish. Res.*, **22(3)**: 721-731.
- Chicharo L., Chicharo M.A., 2001.** Effects of environmental conditions on planktonic abundances, benthic recruitment and growth rates of the bivalve mollusc, *Ruditapes decussatus* in a Portuguese coastal lagoon. *Fish. Res.*, **53**: 235-250.
- Chiffoleau J.F., Auger D., Chartier E., Michel P., Truquet I., Ficht A, Gonzalez J.L., Romana L.A., 2001.** Spatiotemporal changes in Cadmium contamination in the Seine estuary (France). *Estuaries* **24(6B)**: 1029-1040.
- Claiborne A., 1985.** In; RA, Greenwald (Ed.). Handbook of Methods for Oxygen Radical Research CRC, Press, Boca Raton, FL, **283**.
- Clément G., Bézard, J., 1961.** Technique de dosage par chromatographie gaz-liquide d'un mélange d'acides gras, du butanoïque ou du décosanoïque, *C. R. Acad. Sci.*, Vol. 253, p. 564-566.
- Cossa D., Lassus P., 1989.** Le cadmium en milieu marin. Biogéochimie et écotoxicologie, Editions Ifremer, Plouzané, France. **16**: 111.
- Cossa D., Sanjuan J., 2002.** Bioaccumulation du Hg chez *Mytilus galloprovincialis*. Analyse de la covariance entre le facteur de concentration et l'indice de condition selon les caractéristiques physicochimiques et trophiques des milieux, Ifremer, DEL/PC, Nantes.
- Cossu C., Doyotte A., Jaquin M.C. Babut M., Exinger A., Vasseur P., 1997b.** Glutathione réductase, selenium- dependent glutathione peroxidase, glutathione levels, and lipid peroxidation in fresh water bivalves, *Unio timidus*, as biomarkers of aquatic contamination in field studies . *Ecotox. Environ.Saf.*, **38**: 122-31.
- Dakki M., 1987.** Ecosystèmes d'eau courante du haut (Moyen Atlas): études typologiques et analyses écologiques et biogéographiques des principaux peuplements entomologiques. *Trav. Inst. Sci. Sér. Zool.*, **42**: 1-99.

- Damiens G., Mouneyrac C., Quiniou F., His E., Gnassia-Barelli M., Roméo M., 2006.** Metal bioaccumulation and metallothionein concentrations in larvae of *Crassostrea gigas*. *Environ. Poll.* **140**(3): 492-499.
- Dellali M., Gnassia- Barelli M., Romeo M., Aissa P., 2001.** The use of acetylcholinestérases activity in *Ruditapes decussatus* and *Mytilus galloprovincialis* in biomonitoring of Bizerta lagoon. *Comp.Biochem.Physiol. C.*, **130**: 227-237.
- Dellali M., El Bour N., Mahmoud M., Patricia A., Mahmoudi E., 2010.** The use of *Fulvia fragilis* (Mollusca: Cardiidae) in the biomonitoring of Bizert lagoon: A mutimarkers approach. *Ecol. Indicators.*, **10** (3): 696-702.
- De Moreo J.E.A., Moreno V. J., Brenner R. R., 1976a.** Lipid metabolism of the yellow clam, *Mesodesma mactoroides*.II. Pollyinsaturated fatty acid metabolism. *Lipids*, **11**: 334-340.
- De Moreo J.E.A., Moreno V. J., Brenner R. R., 1976b.** Lipid and fatty acids of the mussel (*Mytilus platenses*, d'Orbigny) from South Atlantic waters. Elsevier/ North-Holland *Biomedical Press. Contribution INIDEP*, **377**: 263- 277.
- De Moreo J.E.A., Moreno V. J., Brenner R. R., 1977.** Lipid metabolism of the yellow clam, *Mesodesma mactoroides*.II. Pollyinsaturated fatty acid metabolism. *Lipids*, **11**: 561- 566.
- De Moreo J.E.A., Moreno V. J., Brenner R. R., 1998.** Lipid metabolism of the yellow clam, *Mesodesma mactoroides*.II. Pollyunsaturated fatty acid metabolism. *Lipids*, **12**: 804- 808.
- Dendero F., Dagnino A., Jonsson H., Capri F., Gastaldi L., Viarengo A., 2006.** Assessing the occurrence of a stress syndrome in mussels (*Mytilus edulis*) using a combined biomarker/ gene expression approach. *Aqua. Toxicol.*, **78 S**: 13- 24.
- Deslous-Paoli J., Heral M., Berthome J., Razet D., Garnier J., 1982.** Reproduction naturelle de *Crassostrea gigas* Thunberg dans le bassin de Marennes-Oleron en 1979 et 1981: aspects biochimiques et énergétiques. *Rev. Trav. Inst. Pêches Marit.*, **45**: 319-327.
- Deslous-Paoli J., Heral M., 1988.** Biochemical composition and energy value of *Crassostrea gigas* (Thunberg) cultured in the bry of Marennes- Oléron. *Aquat. Living Resour.*, **1**: 239-249.
- Dewes L.J., Sandrine, J.Z., Monserrat J.M., Yunes J.S., 2006.** Biochimical and Physiological responses after exposure to microcytins in the crab *Chasmagnathus granulatus* (decapods, Brachyra). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **65**: 201-208.
- De Zwaan A., Cortesi P., Cattani O., 1995.** Resistance of bivalves to anoxia as a response to pollution-induced environmental stress. *Sci. Total Environ.*, **171**:121–125.
- Djabri L., Hani A., Guasmi I., 2005.** Dégradation de la qualité des eaux des oueds: Cas de l'oued seybouze (N.E. Algérien). 3<sup>ème</sup> Journée Internationale des Géosciences de l'environnement. El Jadida.
- Djediat C., Boukroufa F., 1990.** Reproduction comparée de *Perna perna* (L) et *Mytillus galloprovincialis* (LMK) sur la côte Algéroise., **10**: 115- 127.

- Digiulio R.T., Washburn P.C., Wenning R.J., Winston G.W., Jewell C. S., 1989.** Biochemical responses in aquatic animals—a review of determinant of oxidative stress. *Environ. Toxicol. Chem.*, **8**: 1103- 1123.
- Dinamani P., 1987.** Gametogenic patterns in populations of pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Northland, New Zealand. *Aquaculture.*, **64**: 65-76.
- Draper H. H., Hadley M., 1990.** Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Meth. Enzymol.* **186**: 241-431.
- Draredja B., 1992.** Condition hydro sédimentaire et structure de la macrofaune benthique en période printanière d'un écosystème lagunaire: lac Mellah (Algérie).Thèse de Magistère en océanographie biologique, ISMAL (Alger).
- Dridi S., Romdhane M.S., EL Gafsi M., 2006.** Evidence of *Crassostrea gigas* reproduction in the Bizert lagoon, Tunisia, *Journal of Biological Research*, **5**: 35- 45.
- Drif F., Abdennour C., 2010.** Trace metals in the mussel *Donax trucus* (Linnaeus, 1758) from Urban and Industrial Contaminated Location. *Journal of Applied Sciences Research*, **6**(12): 2063- 2067.
- Duchateau G., Florkin M., 1959.** Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification .*Arch. Insect. Physiol.* **100**: 247-252.
- Dutta H.M, Mercelino J., Richmonds C., 1992.** Brain acetylcholinestérase activity and optomotor behavior in blue gill, *macrochirus*, exposed to five different concentration of diazinon. *Arch. Intern.physiol. Biochem. Biophys.*, **100**: 331-334.
- Dutta H.M., Arends D. A., 2003.** Effet of endosulfan on brain acetylcholinesterase activity in juvunile bluegills, *Lepomis macrochirus*, exposed to five different cocentrations of diasinan., *Arch. Intern. Physiol. Biochem. Biophys.*, **38**: 84-90.
- Einarson S., 1993.** Effects of temperature, sea water osmolarity and season on oxygen consumption and osmoregulation of the amphipod *Gammarus oceanicus*. *Mar. Biol.*, **117**: 599-606.
- Eisler R., 1970.** Acute toxicities of organochlorine and organophosphorus insecticides to estuarine fishes. Washington DC, US Dept. of the Interior. *Fish and Wildlife Service*. Technical paper., N°46.
- El jourmi L., Amine A, Mrani Alaoui M., Lazar S., Hmyene A., El Antri S., 2012.** Assessment of Water quality in Coastal Environnement of Mohammadia Applying Response of biochemical Biomarkers in the Brown Mussel *Perna perna*. *Inter. J. comp. Sci.* **9**(1): 1694- 0814.
- Ellman GL., Courtney KD., Andres Jr V., Featherstone RM., 1961.** A new and rapid calorimetric determination of acetylcholinesterase activity., *Biochem. Pharmacol.* **7**: 88-95.
- Enriquez-Diaz M., 2004.** Variabilité et bioénergétique de la reproduction de l'huître creuse *Crassostrea gigas.*, IFREMER. Université de Bretagne Occidentale, Plouzané, 223 p.

- Erica G., Claudia A.D., Oscar A.A., 2010.** Biomarkers and heavy metal bioaccumulation in mussels transplanted to coastal waters of the Beagle Channel. *Ecotoxicology and Environmental Safety.*, **73**:270–279.
- Espinosa F., Guerra-Garcia J. M., Garcia- Gomez J.C., 2007.** Sewage pollution and extinction risk: an endangered limpet as bioindicator? *Biodiversity and conservation.*, **16**: 377- 397.
- Fabioux C., Huvet A., Le Souchu P., Le Pennec M., Pouvreau S., 2005.** Temperature and photoperiod drive *Crassostrea gigas* reproductive internal clock. *Aquaculture.*, **250**: 458-470.
- Fadli M., 2003.** Étude malacologique, vecteurs intermédiaires de Bilharziose urinaire dans le bassin du Loukkos, la plaine du Gharb et la plaine de Tadla (Maroc). Doctorat d'État, Univ. Ibnou-Tofail Kenitra, 148 pp.
- Fegley 2001 S.R., 2001.** Demography and dynamic of hard clam populations. I Kracuter J. N. and Castagna M. eds. *Biology of the hard clam. Amsterdam: Elsevier*, PP, 383- 422 [Development in Aquaculture and Fisheries Science, no, 31 ]
- Fernandez- Vega C., Sancho E., Ferando M.D \$., Andreu- Moliner E., 1999.** Thiobencarb toxicity and plasma AChE inhibition in the *European* .j. *Environ. Sci. Heal.*, **34**: 64
- Flammarion P., Migeon B., Garric J., 1996.** Joint effects of copper sulfate and methidation on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) EROD and AChE activities. *Environ. Cont. Toxicol.*, **56**: 440 – 445.
- Flammarion P., Migeon B., Urios S., Morfin P., Garric J., 1998.** Effects of Methidathion on the cytochrome P450 I A in the cyprinid fish gudgeon (*Gobio gobio*). *Aquat. Toxicol.*, **42**: 93- 102.
- Flammarion P., Noury P., Garric J., 2002.** The measurement of cholinesterase activities as a biomarker in chub (*leuciscus cephalus*): the fish length should not be ignored. *Environ. Poll.*, **120**: 300- 325.
- Fleury E., 2009.** Exploration fonctionnelle de gènes différentiellement exprimés entre les souches d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* résistantes et sensibles à la mortalité estivale. Thèse de doctorat, Université de Rennes 1., 266p.
- Fisher S.W., 1988.** Environmental influence on host response: environmental influence on bivalve hemocyte function. *American Fisheries Society Special Publication.*, **18**: 225-237
- Fisher-piette E., Metivier B., 1971.** Révision des *Tapetinae* (Mollusques Bivalves). *Mem. Mus. Nat. Hist. Nat.*, **71**: 1-106.
- Fooget J., Pavillon J.F., Bellaeff B., Boqueen G., 1999.** Joint action of pollutants combinations (pesticides and metals) on survival (LC<sub>50</sub> value) and acetylcholinestérase activity of *Tigipopus brevicornis* (*Copepoda, Harpacticoida*). *Environ. Toxicol.Chem.*, **18**(5): 912- 918.

- Freites L., Fernandez- Reiriz M. J., labarta U., 2002a.** Fatty acids profiles of *Mytilus galloprovincialis* (LMK) mussel of sub tidal and rocky shore origin. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B.*, **132** : 435- 461.
- Freites L., Fernandez- Reiriz M. J., labarta U., 2002b.** Lipid classes of mussel seeds *Mytilus galloprovincialis* of subtidal and rocky shore origin., **207**: 97- 111.
- Freites L., Fernandez- Reiriz M. J., labarta U., 2002c.** Evolution of fatty acid profiles of subtidal and rocky shore mussel seed (*Mytilus galloprovincialis*, LMK ). Influence of environmental parameters. *Journal of experimental Marine biology and ecology.*, **268**: 185- 204.
- Gabbott P.A., 1975.** Storage cycle in marine Bivalve molluscs: a hypothesis concerning the relationship between glycogen metabolism and gametogenesis. In: Proceedings 9 th Europ. Mar. Biol. Symp, by Barnes, H., ed. *Aberdeen University Press.*, 191-211.
- Gagné F., Blaise C., 2000.** Organic alkali-labile phosphates in biological materials: a generic assay to detect vitellogenin in biological tissues. *Environmental Toxicology*, **15**(3): 243-247.
- Galani F., Bocquené G., 1998.** Biomarqueurs moléculaires d'exposition des organismes marins aux pesticides organophosphorés et carbamates. In: Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement (eds. Lagadic L., Caquet T., Ramade F.) pp. 111- 134. Tech & Doc Loivoisier, Paris.
- Galloi D., 1977.** La reproduction de la palourde, *Venerupus decussata* (Linné) et des clovisses, *Venerupus aurea* (Gmelin) de l'étang de thau (Hérault). *Vie Marine.*, **27**(2): 233- 254.
- Galloway., TS., Depledge, M.H., 2001.** Immunotoxicity in invertebrates: measurement and ecotoxicological relevance. *Ecotoxicology*. **10**: 5-23.
- Geffard A., Amiard- Triquet CJ. C., 2005.** Do seasonal changes affect metallothionein induction by metals in mussels, *Mytilus edulis* ? *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **61**: 209- 220.
- Geret F., Serafim A., Barreira L., Bebianno MJ., 2002.** Effect of cadmium on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the clam *Ruditapes decussatus*.
- Geyer H. J., Scheuner I., Bruggmannr Mathies M., Seinberg C.E., Zitz V., Kettrup A., Garisson, W., 1994.** Relevance of aquatic lipid content to the toxicity of lipophilic chemicals toxicity of lidane to different fish species. *Ecotoxcol. Environ. Safety.*, **28**(1): 53–70.
- Gheid S., Nadji S., Khebbeb M. E. H., 2011.** Taux des lipides et des protéines et composition en acides gras du tissu comestible des crustacés et des mollusques pêchés en Algérie: Effet du halofénozide (RH -0450) sur la composition en acides gras de *Penaeus Kerathurus* (crustacé, Décapode).
- Ghosh P., Bhattacharya S., 1992.** In vivo and in vitro acetylcholinesterase inhibition by metacide-50 and carbaryl in *Ghanna punctatus* under naturel field condition. *Biochem. Biomed. Environ. Sci.*, **5**: 18-24.

- Goldsworthy G.J., Mordue, W., Guthkelch J., 1972.** Studies on insect adipokine hormon. *Gen. Comp. En doocrinol.* **18(3):** 545.
- Gonzalez J. L., Chiffolleau J.F., Miramand P., Thouvenin B., 1999.** Le cadmium: comportement d'un contaminant métallique en estuaire, Programme scientifique Seine Aval, Editions Ifremer, Plouzané, France: 31.
- Gorbi S., Lamberti C.V., Notti A., Fattorini D., Molted., Regoli, F., 2008.** An ecotoxicological protocol with caged missels, *Mytilus galloprovincialis*, for monitoring the impact of an offshore platform in the Adriatic sea. *Mar. Environ. Res.*, **65:** 34- 49.
- Gosling E., 1992.** Bivalves molluscs: biology, ecology, culture. Fishing. New books, Oxford. 443pp.
- Green D.R., Reed J.C., 1998.** Mitochondria and apoptosis. *Science* 281, 1309-1312. *Biomarkers* **7:** 242-256.
- Gregory M.A., George R. C., 1996.** The architecture and fine structure of gill filament in the brown mussel *Perna perna*. *Afric. J. Zool.*, **31(4):** 193-207.
- 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 ». *Univ. Es Sénia, Oran* : 361p.
- Guerin J.L., Stickle W.B., 1992.** Effects of salinity gradients on the tolerance and bioenergetics of juvenile blue crabs (*Callinectes sapidus*) from waters of different environmental salinities. *Mar. Biol.*, **114:** 391-396.
- Gutteridge J.M., Halliwell B., 1993.** Transition metal ions and antioxidant proteins in extracellular fluids. In: Atmospheric Oxidation and Antioxidants, *Scott G. (eds), 3, Elsevier Publisher, UK.*
- Halliwell D. B., Gutteridg J. M., 1999.** Free Radicals in Biology and medicine . Oxford University. Press., 936 p.
- Hamdani A., 2013.** La reproduction chez un mollusque bivalve *Donax trunculus* L. dans le golfe d'Annaba. Rapport entre les aspects cytologique et biochimique et la pollution. Thèse de Doctorat, Univ. Annaba, 200p.
- Hariati T., 1986.** Some notes on condition index analysis of two populations of Bob Creek Mussel (*Mytilus edulis*) grown at Olympia (Washington State) and the other at Winchester (Oregon State), USA. *J. Mar. Fish. Res.*, **36:** 85-93.
- Hemelraad J., Herig H.J., Van Donselaar E.G., Holwerda D.A., Zandee D.I., 1990.** Effects of cadmium in fresh water clams. III. Interaction with energy metabolism in *Anodonta cygnea*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **19:**221-310.

- Heral M., 1993.** Why carrying capacity models are useful tools for management of bivalve molluscs culture, in: Dame, R.F. (Ed.), Bivalve filter feeders. Springer -Verlag, Berlin, pp. 455-477.
- Herbet A., Guilhermino L., Assis A.H.S., Hansen P.D., 1995.** Acétylcholinestéras activity in aquatic organisms as pollution biomarker. *Zeitschrift Angewandte Zool.*, **3**: 1- 5.
- Jakanovic M., 2001.** Biotransformation of organophosphorus compounds. *Toxicol.*, **166**: 139-160.
- Jaramillo R., Winter J., Valencia J., Rivera A., 1993.** Gametogenic cycle of the Chiloe scallop (*Chlamys amandi*). *J. Shellfish. Res.*, **12**: 59-64.
- Jarzebski A, Polack L, Wenn R., Falkowski L., 1986.** Microgeographic differentiation in the lipid composition of the bivalve *Macoma baltica* from the gulf of Gdansk (Southern Baltic). *Marine Biology.*, **91**: 27- 31.
- Jebali J., Ben-Khedher S., Ghedira J., Kamel N., Boussetta H., 2011.** Integrated assesment of biochemical responses in Mediterranean crab (*Carcinus meanas*) collected from Mounastir Bay, Tunisia. *J. Environ. Sci.*, **23(10)**: 1714- 1720.
- Jocelyne P., 1990.** L'évolution des conditions physiologiques de *Crassostrea rhizophorae* en fonction des niveaux de bioaccumulation et du gradient de pollution. Université du Québec, Centre océanographique de Rimouski 310 allée des Ursulines, Rimouski, QC, Canada G5L 3A1.
- Jumarie C., Fortin C., Houde M., Campbell PGC., Denizeau F., 2001.** Cadmium uptake by Caco-2 cells: effects of complexation by chloride, glutathione and phytochelatins. *7R [LFRO\_ \$SSO\_3KDUPDFRO.]*, **170**: 29-38.
- Just C., Chassin P., Gomez A., Linères M., Mocquot B., 1995.** Les micro-polluants métalliques dans les boues résiduares des stations d'épurations urbaines. Convention Adem/ I.N.R.A. (contrat INRA n° 22/ 92. 039- contrat Adem n° 2750007).
- IFREMER., 2006.** Institut Français pour la Recherche et l'Exploitation durable de la MER. Rapport d'activités 2005 du département «biogéochimie et écotoxicologie. rint. dcn-be/2006.05/Nantes.
- IFREMER., 2009.** Programme inter-reg III Sardaigne/Corse/Toscane Moniqua rapport d'activité 2008 –Région Corse. [Enligne] Adresse URL. <http://www.ifremer.fr/envilt/documentation>. Consulté le : 02.01.09.
- Kagley A.N., Snider R.G., Krishnakumar P. K., Casillas E., 2003.** Assesment of seasonal variability of cytochemical responses to contaminant exposure in the blue mussel *Mytilus edulis* (Complex). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **44**: 43- 52.
- Kammenga J.E., Dallinger R., Donker M.H., Kohler H.R., Simonsen V., Triebkorn R., Weeks J.M., 2000.** Biomarkers in terrestrial invertebrates for ecotoxicological soil risk assessment. in "Reviews of Environmental Contamination and Toxicology". Ware, G.W. (Eds.). 175 Fifth Ave/New York/NY 10010/USA, *Springer-Verlag.*, **164**: 93-147.

- Kankal S.B., Gaikwad R.W., 2011.** Studies on noise and air quality monitoring at Shirdi Maharashtra, India. *Advances in Applied Science Research.*, **2** (1): 63.
- Karayücel S., Karayücel I., 2000.** The effect of environmental factors, depth and position on the growth and mortality of raft-cultured blue mussels (*Mytilus edulis L.*). *Aquaculture research.*, **31**: 893- 899.
- Kennedy V.S., 1996.** The Eastern oyster *Crassostrea virginica* Maryland Sea Grant College, Maryland., 733 pp.
- Khessiba U.N., Hoarau P., Magnassia B., Aissa P., Roméo M., 2001.** Réponse biochimique de la moule *Mytilus galloprovincialis* du lac de Bizerte (Tunisie) à une exposition du polluant chimique. *Environ. toxicol;chem.*, **40**: 222-229.
- Komatsu T., 1997.** Long-term changes in the *Zostera* bed area in the Seto Inland Sea (Japan), especially along the coast of the Okayama Prefecture. *Oceanologica Acta.*, **20**: 209-216.
- Kooijman S. A.L.M., 2000.** Dynamic energy and mass budget in biological systems. Seasonal Editions. Cambridge University Press, Combridge, Royaume Uni. 424p.
- Kynoch, S., Smith P., 1986.** Delayed contact hypersensitivity in the guinea-pig with malathion (Fyfanon) technical: 8666D/CHV 37/SS. Unpublished study prepared by *Huntingdon Research Centre Ltd.*
- Lagadic L., Caquet T., Amiard J-C., 1997.** Biomarqueurs en écotoxicologie : principes et définitions. In : Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux. Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.-C. et Ramade, F. (eds) Masson, Paris.
- Lam K.S., Gray J. S., 2003.** The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. *Mar. Pollut. Bull.*, **46**: 182- 186.
- Lane T.W., Morel F.M.M., 2000.** A biological function for cadmium in marine diatoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97(9)**: 4627-4631.
- Langdon C. J., Waldock M. J., 1981.** The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas*, spat. *J. Mar. Biol. Ass. U*, 441- 448.
- Lau P. S., Wong H. L., Garrigues P., 2004.** Seasonal variation in antioxidative responses and acetylcholinesterase activity in *Perna viridis* in eastern oceanic and western estuarine waters of Hong Kong. *Continental. Shelf. Res.*, **24**: 1969- 1987.
- Leaf A., Weber P., 1988.** Cardiovascular effects of n-3 fatty acids. *N. Eng. J. Med*, **318**: 549-557.
- Leonard SS., Harris GK., Shi X., 2004.** Metal-induced oxidative stress and signal transduction. *Free Rad. Biol. Med.* **37**: 1921-1942.
- Le pennec M., Gueguen J. C., Cochard Y. M., Paulet G., 1990.** Relation entre le contenu lipidique des ovocytes de *Pecten maximus* (Mollusques Bivalves) et les performances des larves en élevage. *Halioti.*, 101-113.

- Li K., Osada M., Mori K., 2000.** Seasonal biochemical variations in Pacific oyster gonadal tissue during sexual maturation. *Fisheries. Sci.*, **66**: 502-508.
- Livingstone D.R., Lemaire P., Mathews A., Peters L., Bucke D., Law R., 1993.** Pro-oxidant, antioxidant and EROD activity responses in liver of dab (*Limand Limand*) exposed to sediments contaminated with hydrocarbons and others chemicals. *Mar. Pollut.Bull.*, **26 (11)**: 602-606.
- Livingstone D.R., 2010.** Organic xenobiotic metabolism oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Mar.Pollut. Bull.*, **42**: 656-666.
- Lowe D.M., Moore M.N., Bayne B.L., 1982.** Aspects of gametogenesis in the marine mussel *Mytilus edulis* L. *J. Mar .Biol.Ass.Uk.*, **62**(1): 133-145.
- Lubet P., 1970.** Cycle et rythme sexuels chez les mollusques pélécytopodes. Influence du milieu et étude expérimentale. *Ann.Ins. Michel Pacha*, **3**: 24- 50.
- Lubet P., 1976.** Ecophysiologie de la reproduction chez les mollusques lamellibranches. *Haliotis.*, **7**: 49-55.
- Lubet P. E., 1984.** Biologie de la reproduction des mollusques bivalves d'importance commerciale en Méditerranée. *Haliotis*, **14**: 49-68.
- Lubet P., Albertini L., Robbins I., 1986.** Endocrinologie. - Recherches expérimentales au cours de cycles annuels sur l'action gonadotrope exercée par les ganglions cérébroïdes sur la gamétogénèse femelle chez la moule *Mytilus edulis* L. (Mollusque bivalve). *Compte-Rendus de l'Académie des Sciences de Paris.*, **303**(Série III, **13**): 575-580.
- Lucas A., 1978.** Croissance de jeune palourde (*Venerupis semi- decussates*) en nursery et en mer en fonction des conditions d'élevage. *Actes. Coll. CNEXO*, **7**: 85- 60.
- Lucas A., Beninger P. A., 1985.** Seasonal variation in condition reproductive activity and gross biochemical composition of two species of adult clam reared in a common habitat: *Tapes decussatus* L. and *Tapes philippinarium* (Adams et Reeve). *Exp. Mar Biol. Ecol.*, **79**: 19- 37.
- Magni P., De Falco G ., Falugi C., Franzoni M., Monteverde M., Perrone E., Sgro M., Bolognesi C., 2005.** Genotoxicity biomarkers and acetylcholinesterase activity in natural populations of *Mytilus galloprovincialis* a long a pollution gradient in the gulf of Oristano (Sardinia, western Mediterranean). *Environ. Pollut. Elsevier.*, Amsterdam.
- Mann R., 1979.** Some biochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in *C. gigas* and *O. edulis* grown at sustained elevated temperatures. *J. Mar. Biol. Ass. UK.*, **59**: 95-110.
- Margus D., 1985.** Comparative methods for calculation of index of condition in mussels (*Mytilus galloprovincialis*, Lmk.). *Acta. Biologica. Jugosl.*, **17** (1): 59-67.

- Marigomez I., Soto M., Cajaraville M. P., Angulo E., Giamberini L., 2002.** Cellular and subcellular. Distribution of metals in molluscs. *Microscopy Research and technique.*, **56**: 358- 393.
- Markich S.J., Jeffree A.R., 1994.** Absorption of divalent trace metals as analogues of calcium by Australian freshwater bivalves: an explanation of how water hardness reduces metal toxicity. **29**: 257-290.
- Mayasa M., Yoshinobu H., Ai Y., Maki K., Yasuo O., 2002.** Determination of cellular levels of nonprotein thiols in phytoplankton and their correlation with susceptibility to mercury. *Journal of Phycology.*, **38**(5): 983.
- MC Carthy J. F., Shugar L.R., 1990.** Biomarkers of environmental contamination. Boca Raton Floride, Lewis (Eds).
- Mehdaoui O., Fekhaoui M., Descoins C., 2000.** Accumulation and biomagnification of organochlorine insecticides in molluscs and fish of the Moulay Bouselham lagoon, Morocco. *Sante*. **10**(6): 373-9.
- Merzouki M., Talib N., Sif J., 2009.** Indice de condition et teneurs de quelques métaux (Cu, Cd, Zn et Hg) dans les organes de la moule *Mytilus galloprovincialis* de la côte d'El Jadida (Maroc) en mai et juin 2004. *Bulletin de l'Institut Scientifique*, Rabat, section Sciences de la Vie., **31** (1): 21-26.
- Millot C., 1987.** The circulation of the Levantine intermediate water in the Algerian basin. *Journal of geophysical research*, **92** (C8): 8265- 8276.
- Millot C., 1993.** La circulation générale en méditerranée occidentale. Workshop sur la circulation des eaux et pollution des côtes méditerranéennes du Maghreb. INOC. 29-30.
- Minitab Inc., 2011.** MINITAB Statistical Software, Release 16 for Windows, State College, Pennsylvania.
- Miramand P., Guyot T., Pigeot J., Bustamante P., Caurant F., Ferchaud R., 2000.** Le cadmium dans les réseaux trophiques marins: de la source aux consommateurs. *Journal Européen d'Hydrologie* **31** (2): 127-143.
- Molven A., Goksoyr A., 1993.** Biological effects and biomonitoring of organochlorines and polycyclic aromatic hydrocarbons in the marina environment. Ecotoxicologie Monitoring. Richardson, M., *Weinheim, Germany*, VCH : 137- 162pp.
- Monferran M.V., Pesce S.F., Cazenave J., Wunderlin D. A., 2007.** Detoxification and antioxidant response in divers organs of *Mytilus multidentata* experimentally exposed to 1,4 -and 1,4 dichlorobenzene. *Environ. Toxicol.*, **23**(2): 184- 192.
- Moore M. N., Allen J.I., 2002.** A computational model of the digestive gland epithelial cell of marine mussels and its simulated responses to oil-derived aromatic hydrocarbons. *Mar. Environ. Res.* **54**: 579-584.

- Morales-Caselles C, Mart'in-D'ias M L, Riba I, Sarasquete C, Delvallst A., 2007.** Sublethal responses in caged organisms exposed to sediments affected by oil spills. *Chemosphere.*, **72**: 819- 825.
- Morel F., 1983.** Principles of Aquatic Chemistry. New York, Wiley - Interscience. 301pp.
- Moreira S M., Lima I., Ribeiro R., Guilhermino L., 2006.** Effects of estuarine sediment contamination on feeding and on Key physiological functions of the polychaete *Hediste diversicolor*. Laboratory and in situ assays. *Aquat. Toxicol.*, **78**: 186-201.
- Morsli S., 1994.** Effet d'un dérivé de la benzoylphenylurée, le dimilin sur la physiologie de *Penaeus kerathurus* (Crustacea, Decapoda): Etude structurale et biologique. Mémoire de Magister en Eco-toxicologie animale. Université d'Annaba. 90 p.
- Moustaid K., Nasser B., Baudrimont I., Anane R.; Idrissi M.; Bouzidi A., Creppy E.E., 2005.** Évaluation comparée de la toxicité des moules *Mytilus galloprovincialis* de deux sites du littoral atlantique marocain sur des souris. *C.R. Biologie.* **328**: 281-289.
- Muranaka M.S., Lannan J.E., 1984.** Broodstock management of *Crassostrea gigas*: environmental influences on broodstock conditioning. *Aquaculture.*, **39**: 217-228.
- Napierska D., Barsiene J., 2009.** Biomarkers responses in flounder *Platichthys flesus* from the polish coestel area of the Baltic sea and application in biomonitoring. *Ecotox.*, **18(17)**: 846-859.
- Napolitano GE., Akman R.G., 1993.** Fatty acid dynamics in sea scalopp *Plactopecten magellanicus* (Gmelin, 1991) from George Bank, Nova Scotia, *Journal of Shell fish Research*, **121**: 267- 277.
- Nicholson S., 1999.** Cytological and physiological biomarker responses from green mussels, *Perna viridis* (L.) transplanted to contaminated sites in Hong Kong coastal waters. *Marine Pollution Bulletin.*, **39**: 261–8.
- Ohkawa H., Miyagawa H., Lee P. WW., 1997.** Pesticide chemistry. Crop protection, public health, *environnemental safety*. 500 pp Wiley J. Editeur, Paris, New York.
- Okumus I., Stirling H.P., 1998.** Seasonal variations in the meat weight, condition index and biochemical composition of mussels (*Mytilus edulis* L.) in suspended culture in two Scottish area lochs. *Aquaculture.*, **159** (3-4): 249-261.
- Orban E., Di Lena G., NavigatoT., Casini I., Marzetti A., Caproni R., 2002.** Seasonal changes in meat content, condition index and chemical composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) cultured in two different Italian sites. *Food Chemistry.*, **77**: 57-65.
- Orbea A., Ortiz –ZarragoitiaM., Cajaraville M., 2002.** Antioxidant enzymes and peroxisome proliferation in relation to contaminant body burdens of PAHs and PCB, in bivalve molluscs , crabs and fish from the Urdaibai and Plentzia estuaries (Bay of Biscay). *Aquat. Toxicol.*, **58**:75-98.

- Orus E. O., Usta D., 2007.** Evaluation of oxidative stress response and neurotoxicity potential of diazinan in different tissues of *Cyprinus caprio*. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **95**: 48-55.
- Ottman F., 1965.** Introduction à la géologie marine et littorale. Masson éd., 259p,
- Ozyurt G, Duysak O, Akamca E., Tureli C., 2006.** Seasonal changes in fatty acids of cuttle fish *Sepia officianalis* L. (Mollusca: Cephalopoda) in the north eastern Mediterranean sea. *Food Chemistry*, **95**: 382-385
- Paccini E., Staudenmann W., Albergoni V., Gabrieli R.D., James P., 1994.** Purification and primary structure of métallothionéine induced by cadmium in the protests *Tetrahymena pigmentosa* pyriformis. *European Journal of Biochemistry*. **226**: 853-859.
- Palanivelu V., Vijayavel K., Balasubramanian S. E., Balasubramanian, M. P., 2002.** Influence of pesticide- fertilizer combinaison on food intake, growth, and conversion efficiencies of *Oreochromis mossambicus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **69**: 908- 913.
- Pandey S., Ahmed S., Parvez., Bin- Hafeez B., Haque R., Raisud S., 2001.** Effet of endosulfan on antioxidants system of fresh water fish *channa punctatus* bloch: protection agaist lipid peroxidation in liver by copper pre-exposure. *Arch. Environ. Comtam. Toxicol.*, **41**: 345- 352.
- Parache A. 1982.** La palourde. La Pêche Maritime, **1254**: 496-507.
- Parant M., 1998.** Le métabolism des xenobiotiques chez les bivalves. *Sci. Life.*, **321**: 485-494.
- Patridge J. K., 1977.** Annotated bibliographies of the genus *Tapes* (Bivalvia, *Viniridea*) part. I. *Tapes decussatus*, Part II. *Tapes semi decussatus*. *Proc. Roy. Irish. Acad.*, **77B** (1): 1001-1016.
- Paulet Y.M., Dorange G, Cochard J.C., Le Pennec M., 1992.** Reproduction et recrutement chez *Pecten maximus* L. *Ann. Inst. Océanogr. Paris* **68(1-2)**: 45-64.
- Payne JF., Mathieu A., Melvin W., Fancey L. L., 1996.** Acetylcholinestérasés, an old biomarker with a new future? Field trials in association with two urban rivers and a paper mill in New foundland. *Mar. Poll. Bull.*, **32**: 225-231.
- Peakall D., 1994.** Biomarkers: the way forward in environmental assessment. *Toxicol. Ecotoxicol. News.*, **1**: 55-60.
- Pearse J.S., 1999.** Seasonal reproduction, marine invertebrates. In: Encyclopedia of reproduction (Ed. Knobil, E., Neill, J.D.), *Academic press*, San Diego, pp. 352-360.
- Pellerin M., Vincent Y., Pelletier E., 1989.** Evaluation de la qualité de l'estuaire du saint-Laurent. Rapport remis au ministère de l'environnement du Québec, 130P.
- Perdue J.A., Erickson G., 1984.** A comparison of the gametic cycle between the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and the Suminoe oyster *Crassostrea rivularis* in Washington State. *Aquaculture.*, **37**: 231-237.

- Pereira AMM., Soares AMVM., Gonçalves F., Ribeiro R., 2001.** Water- column, sediment, and in situ chronic bioassays with cladocerans. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **47**(1):27-39.
- Petrouik S., Semencic L., Ozretic B., Ozretic M., 2004.** Seasonal variations of physiological and cellular biomarkers and their use in the biomonitoring of North Adriatic coastal waters (Croatia). *Mar. Pollut. Bull.*, **49** : 713- 720.
- Phelps H.L., Wright D.A., Mihursky J.A., 1985.** Factors affecting trace metal accumulation. *J. Shellfish Res.*, **6** (2): 67-70.
- Pipe R.K., 1985.** Seasonal cycles and effects of starvation on egg development in *Mytilus edulis*. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **24**: 121-128.
- Portmann T.E., 1975.** The bioaccumulation and effects of organochlorine pesticides in marine animals. *Proc, Roy. Soc. Lond, B.*,189: 291- 304.
- Price N.M., Morel F. M. M., 1990.** Cadmium and cobalt substitution for zinc in a marine diatom *Nature.*, **344**(6267): 658-660.
- Quiniou F., Damiens G., Gnassia-Barelli M., Geffard A., Mouneyrac C., Budzinski H., Roméo M., 2007.** Marine water quality assessment using transplanted oyster larvae *Environ. International.*, **33**: 27–33.
- Radlowski M., Pempkowiak J., 2002.** Stress-70 as indicator of heavy metals accumulation in blue mussel *Mytilus edulis*. *Environ. Int.* **27**: 605-608.
- Refes W., 1994.** Contribution à la connaissance de la population de *Ruditapes decussatus* (Linaeus, 1758) du lac Mellah (El Kala, Algérie). Ecologie, reproduction, dynamique de la population et exploitation. Mémoire de magister, Institut des sciences de la mer et de l'aménagement du littoral. ISMAL (Alger).
- Regoli F., Frenzilli G., Bocchetti R., Annarumma F., Scarcelli V., Fattorini D., 2004.** Time-course variation in oxyradical metabolism, DNA integrity and lysosomal stability in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, during a field translocation experiment. *Aquat Toxicol.* **68**: 167-178.
- Rharbi N., 1990.** Importance des paramètres hydrologiques et phytoplanctoniques sur la croissance de l'huître *Crassostrea gigas* en élevage dans la lagune de Oualidia. Thèse d'État, *Fac. Sci Ben Msik*, élevage.
- RNO., 1974.** Réseau National d'Observation.
- Roesijadi G., 1994.** Behavior of metallothionein-bound metals in a natural population of an estuarine mollusc. *Mar. Environ. Res.* **38**: 147-168.
- Romeo M., Bennani N., Gnassia-Barelli M., Lafaurie M., Girard J.P., 2000.** Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass labrax. *Aqua. Toxicol.* **48**: 185-194.

- Romeo M., Bennani N., Gnassia-Barelli M., Lafaurie M., Girard JP., 2001.** Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquat Toxicol.* 1; **48(2-3)**:185-194.
- Romeo M., Hoarau P., Garello G., Gnassia-Barelli M., Girard J.P., 2003.** *Environ. Pollut.*, (122), 369, 378.
- Rouibi A., 2002.** Evaluation d'un mimétique des ecdystéroïdes (RH-0345) sur *Blattella germanica* (Dictyoptera Blattellidae): Aspects morphométriques et Biochimiques. Mémoire de Magistère en Physiologie Animale, option : Ecotoxicologie. Université d'Annaba.85p.
- Ruiz C., Abad M., Sedano F., García-Martín F.O., Sánchez-López J. L., 1992.** Influence of seasonal environmental changes on the gamete production and biochemical composition of *Crassostrea gigas* (Thunberg) in suspended culture in El Grove, Galicia, Spain. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **155**: 249-262.
- Saglio P., Trijass S., Azam D., 1996.** Behavioural effects of water-born carbofuran in gold fish. *Arch. Environ. Contam Toxicol.*, **31**: 232-238.
- Samain JF., Dégremon L., Soletchnik P., Haure J., Bédier E., Ropert M., Moal J., Huvet A., Bacca H., Van Wormhoudt A., Delaporte M., Costil K., Pouvreau S., Lambert C., Boulo V., Soudant P., Nicolas JL., Le Roux F., Renault T., Gagnaire B., Gélet F., Boutet I., Burgeot T., Boudry P., 2007.** Genetically based resistance to summer mortality in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) and its relationship with physiological, immunological characteristics and infection process. *Aquaculture.*, **268**: 227-243.
- San Jun Serano F., Aloaso A. S., Lopes S. L.B., Martin O. G., 1998.** Regulation of *Mytilus galoprovincialis* glycogen phosphorylase by glucose and glucose-6-phosphate., *J. shellfish, Res.*, **17**: 159-163.
- Sasson-Brickson G., Burton GA Jr., 1991.** In situ and laboratory sediment toxicity testing with *Ceriodaphnia dubia*. *Environ. Toxicol. Chem.*, **10**: 201-207.
- Seed R., Suchanek T. H., 1992.** Population and community ecology of *Mytilus*. In: Gosling, E., (eds). The mussel *Mytilus*: ecology, physiology, genetic and culture, developments in Aquaculture and Fisheries science, Amsterdam, *Elsevier.*, **25**: 87-169.
- Sepulveda M., Quinoun B., Denslow N., Holm S., Gross T., 2003.** Effects of pulp and paper mill effluents reproductive success of large mouth bass. *Environ. Toxicol. Chem.*, **1**: 205-213.
- Schiedek D., Broeg K., Barsiene J., Lehtonen K.K., Gercken J., Pfeifer S., Vuontisjärvi, H., Vuorinen P.J., Dedonyte V., Koehler A., Balk L., Schneider R., 2006.** Biomarker responses as indication of contaminant effects in blue mussel (*Mytilus edulis*) and female out pout (*Zoarces viviparus*) from the south western Baltic Sea. *Mar. Pollut. Bull.* **53**: 387-405.
- Shafee M.S., Daouadi M., 1991.** Gametogenesis and spawning in the carpet-shell clam, *Ruditapes decussatus* (L.) (Mollusc:bivalve), from the Atlantic coast of Morocco. *Aquaculture and Fisheries Management.*, **22**: 203-216.

- Sheehan D., Power A., 1999.** Effects of seasonality on xenobiotic and antioxidants defense mechanisms of bivalve molluscs. *Comp. Biochem. Physiol.*, **123C**: 193- 199.
- Shibko S., Koivistoinen P., Tratyneek C., New hall A., Freidman L., 1966.** A method for the sequential quantitative separation a glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analyt. Biochem.* **19**: 415-429.
- Siah A., Benosman A., Pellerin J., Gagné J.-P Amiard J.-C., 2002.** Seasonal gonad progesterone pattern in the soft-shell clam *Mya are-naria*. *Comparative Biochemistry and Physiology- Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **132** (2): 499-511.
- Sies H., 1999.** Glutathione and is role in cellular functions. *Free Radic. Biol.Med.* **27**: 916-921.
- 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.
- Singhal R.K., Anderson ME., Meister A., 1987.** Glutathione, a first line of defense against cadmium toxicity. *FASEB .J.* **1**: 220-223.
- Smaoui-Damak W., Rebai T., Berthet B., Hamza-Chaffai A., 2006.** Does cadmium pollution affect reproduction in the clam *Ruditapes decussatus*? A one-year case study. *Comp Biochem. Physiol.*, **143**: 252–261.
- Smolders R., Bervoets L., De Coen W.M., Blust R., 2004.** Cellular energy allocation in zebra mussels exposed along a pollution gradient: linking cellular effects to higher levels of biological organization. *Environ. Pollut.*, **129**: 99–112.
- Soltani N., Amira A., Sifi K., Beldi H., 2012.** Environmental monitoring of the Annaba gulf (Algeria): measurement of biomarkers in *Donax trunculus* and metallic pollution. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **137(1-4)**: 47-56.
- Soucek D.J., 2007.** Sodium sulfate impacts feeding, specific dynamic action, and growth rate in the fresh water bivalve *Corbicula fluminea*. *Aqua. Txicol.*, **83**: 315-322.
- Soudant P., Ryckeghem K. V., Marty Y., Moal J., Samain J. F., Sorgeloos P., 1999.** Comparison of the lipid class and fatty acid composition between a reproductive cycle in inature and a standard hatchery conditioning of the pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *Comp. Biochem. Physiol*, **123 (B)**: 209- 222.
- Stanley-Samuelson DW., Loher W., 1986.** Prostaglandins in insect reproduction. *Ann. Entona. Soc. Am:***79**:841-853.
- Stohs S.J., Bagchi D., Hassoun E., Bagchi M., 2000.** Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* **19**: 201-213.
- Strain B., Rudolph A., 2010.** Acetylcholinesterase activity, antioxidant defence, and lipid peroxidationin the clam *Semele solida*: Can this species be used as a bioindicator?. *Revista the biologia Marine y Oceanografia*, **45(N°2)**: 227- 233.

- Sturm A., Wogram J., Hansen P.D., Liess M., 1999.** Potential use of cholinesterase in monitoring low level in organophosphate in small streams: natural variability in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) and relation to pollution. *Environ. Toxicol. Chem.*, **12**: 2333-2343.
- Sujatha C.H., Nair, S.M., Chacko, J., 1995.** Tissue lipid levels of the clam, *Villorita cyrenoides* var. *cochinensis*, following exposure to endosulfan, malathion, and methyl parathion. *Environ. Toxicol and Water Quality*. **10(4)**: 231–235.
- Sureda A., Box A., Ensenat M., Alou E., Tauler P., Deudero S., Pons A., 2006.** Enzymatic antioxidant response of a labrid fish (*Coris julis*) liver to environmental caulerpennine. *Comp. Biochem. Physiol.*, **144C**: 191- 196.
- Tadjine A.B., 2007.** Impact de la pollution atmosphérique d'origine particulaire sur deux modèles (Lapin et Rat). Approche histologique, biochimique et toxicologique. Thèse de Doctorat d'état. Université d'Annaba. 104p.
- Tawfiq G., 2008.** Annaba terre agricoles. La pollution menace. *Journal el watan*.
- Tebble N., 1966.** British bivalve sea shells. London; british Museum (natural history). 212p
- Tett P., Gilpin L., Svendsen H., Erlandsson C.P., Larsson U., Kratzer S., Fouilland E., Janzen C., Lee J.Y., Grenz C., Newton A., Ferreira J.G., Fernandes T., Scory S., 2003.** Eutrophication and some European waters of restricted exchange. *Continental Shelf Research.*, **23**: 1635-1671.
- Thierry A., 1987.** Les Crustacés Branchiopodes *Anostraca*, *Notostraca* et *Conchostraca* des milieux limniques temporaires (Dayas) au Maroc. Taxonomie, biogéographie, écologie. Ph. D. Thesis, Université Aix-Marseille III., 405
- Thompson P.A., Guo M.X., Harrison P.J., 1996.** Nutritional value of diets that vary in fatty acid composition for larval Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture.*, **143**: 379- 391.
- Tirard C.T., Grossfeld R.M., Levine J.F., Kennedy-Stoskopf S., 1997.** Effect of osmotic shock on protein synthesis of oyster hemocytes in vitro. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology.*, **116**: 43-49.
- Titrais E., Kovasikova Z., Admis Z., Ungvary G., 2002.** Comparative *in vitro* toxicity of cadmium and lead on redox cycling in type II pneumocytes. *J. Appl. Toxicol.*, **21**: 479- 483.
- Tlili S., Metals I., Boussetta H., Mouneyrac C., 2010.** Linking changes at sub-individual and population levels in *Donax trunculus*: assessment of marine stress. *Chemosphere.*, **81**: 692–700.
- Torres M.A., Testa CP., Gaspari C., Masutti, M. B., Panits, C. M. N., Curi-Pedrosa, R., Almeida, E.A., Di Mascio, P., Filho, D. W., 2002.** Oxidative stress in the mussel *Mytella guyanensis* from polluted mangroves on Santa Catarina Island, Brazil. *Mar. Bull.*, **44**: 923-932.

- Trevisan R., Arl M., Sacchet C.L., Engel C.S., Danielli N.M., Mello D.F., Brocardo C., Maris, A.F., Dafre A.L., 2012.** Antioxidant deficit in gills of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) exposed to chlorodinitrobenzene increases menadione toxicity. *Aquat Toxicol* **108**: 85-93.
- Trigui-El Menif N., Le Pennec M., Maamouri F., 1995.** La reproduction de la palourde *Ruditapes decussates* (mollusque, bivalve) sur les côtes tunisiennes. *Vie Marine.*, **5**: 35-42.
- Urrutia MB., Ibarrola I., Eglisias JIP., Navarro E., 1999.** Energetics of growth and reproduction in a high-tidal population of the clam *Ruditapes decussatus* from Urdabai Estuary (Basque Country, N. Spain). *Journal of Sea Research.*, **42**: 35-48.
- Vaissière R., Fredj, G., 1963.** Contribution a l'étude de la faune benthique du plateau continental de l'Algérie. *Bull. Inst. Oceanog. Monaco.* **60**(1272): 83.
- Van E., 2002.** Timing of exposure to a pulp and paper effluent influences the manifestation of reproductive effects in rainbow trout. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **13**: 2338- 2347.
- Van der Oost R., Beyer J., Vermeulent N.P.E., 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment. *Review. Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **13**: 57-149.
- Van Gestel C.A.M. Van Brummelen, T. C., 1996.** Incorporation of the biomarker concept in ecotoxicology calls for a redefinition of terms. *Ecotoxicology*, **5**: 217- 225.
- Vega-Lopez A, Jimenez- Orozco FA. 2008.** Oxidatives stress in an endangered goodeid fish (*Girardinichthy viviparus*) by exposure to water fromn its extant localities. *Ecotox. Environm. Saf.*, **71**: 94- 103.
- Venkateswara-Rao J., Regum G., Pallela R, Usman PK., Nagaswara Rao R., 2005.** Changes in behavior and brain acetylcholinesterase activity in mosquito fish, *Gambusia affinis* in reponse it the sub- lethal exposure to chloropyrifos, *Int. J. Environ. Res. Publ. Health*, **2**(3): 478- 483.
- Venkateswara-Rao J., Shilpanjali D Kavitha P Madhavendra SS., 2006.** Toxic effects of profenofos on tissue acetylcholinestèrase and gill morphology in a euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. *Arch. Toxicol.*, **77**(4): 227- 232.
- Viarengo A., Canesie L., Pertica M., Mancinelli G., Accomando R., Smaal A. C., Orunesu M., 1995.** Stress on Stress response: a simple monitoring tool in the assessment of a general stress syndrome in mussels. *Mar. Environ. Res.* **39**: 245-248.
- Vicente N., Henry M., Chabert D., Riva A., 1988.** Contrôle de métaux lourds dans les écosystèmes littoraux et dans les chaînes alimentaires marines: expériences de contamination par un élément métallique, le cadmium. *Océanis.*, **14** (1): 201-223.
- Vidal M.L., Bassères A., Narbonne J.F., 2001.** Interest of a multibiomarker approach in the assessment of freshwater ecosystem quality: laboratory and field studies. *Water Science and Technology*, **44**(2-3): 305-312.

- Vieira L. R., Gravato C., Soares A.M. V.M., Morgado F., Guilhermino L., 2009.** Acute effects of copper and mercury on the estuarine fish *Pomatoschistus microps*: linking biomarkers to behaviour. *Chemospher.*, **76**: 1416- 1427.
- Vijayavel K., Anbuselvam C., Balasubramanian M.P., Deepak-Samuel V., Gopalakrishnan S., 2006.** Assessment of biochemical components and enzyme activities in the estuarine crab *Scylla tranquebarica* from naphthalene contaminated habitats. *Ecotoxicol.*, **15**(5): 469-476.
- Vijayavel K., Balasubramanian M.P., 2008.** Reproductive dysfunction induced by naphthalene in an estuarine crab *Scylla serrata* with reference to vitellogenesis. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **69**:89-94.
- Vilela H., 1950.** Vida bentonica de *Tapes decussatus* (L). *Arquivos de museu Bocage.*, **121**: 1-120.
- Webb KL 1., Chu FL., 1983.** Phytoplankton as a food source for bivalve larvea. In: Pruder G D, Longdon C & Conklin D (eds), *Proceedings of second International Conference on Aquaculture Nutrition Biochemical and Physiological Approaches to Shellfish Nutrition.* Louisiana State University Press, *Baton Rouge.*, **LA**: 272- 291.
- Weckbecker G., Cory J. G., 1988.** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione Zera, A.J., Harshman, L.G., 2001. *The Physiology of Life History Trade-Offs in Animals.*
- Whyte J.N.C., Bourne N ., Hodgson C.A., 1990.** Nutritional condition of d the rock scallop, *Crassadoma gigantean* (Gray), Larveafed algal diets. *Aquaculture*, **86**: 25-40.
- Widmeyer J.R., Couper K., 2003.** Dioxin/ furan and PCB concentrations in eastern oyster (*Crassostrea virginica*) tissues and the effects of egg fertilization and developpement. *J. Shel fish. Res.*, **22**:737-746.
- Widmeyer J.R., Bendell-Young L. I., 2007.** Influence of food quality and salinity on dietary cadmium availability in *Mytilus trossulus*. *Aqua. Toxicol.*, **81**:144-151.
- Wood J. M., 1976.** Les métaux toxiques dans l'environnement. *La recherché*, **70**:711- 719.
- Yan, T., Teo L.H., Sin Y.M., 2000.** Effects of mercury and lead on tissue glutathione of the green mussel, *Perna viridis* L. *Bull. Environ. Contam.Toxicol.*, **58**: 845-850.
- Yang U. Y., Chen S., Devine G. J., Denholin I., Jewees P., Moores G. J., Denholin I., 2004.** The involvement of microsomal oxidative in pyrethroid resistance in *Helicoverpa armigera* from Asia. *Insect. Biochem. Mol. Biol.*, **34**: 763- 733.
- Zaidi N., Soltani N., 2013.** Laboratory evaluation of environnemental risk assessment of pesticide for mosquito control: Toxicity of dimilin on larvivorous fish, *Gambusia affinis*, *advances in environnemental Biology.*, **7**(4): 605- 613.
- Zamouri-Langar N., 1991.** Le cycle sexuel de *Tapes decussatus*, Linnaeus 1758 (Bivalve/Veneridae) dans le canal de Tunis. *Bulletin de l'Institut National des Sciences et Technologie de la mer*, Salammbô, Tunis. **18**: 5-22.

**Zera A. J., Harshman L.G., 2001.** The Physiology of Life History Trade-Offs in Animals. *Annu Rev Ecol Syst.*, **32**: 95-126.

**Zhang L., Gibble R., Baer K.N., 2010.** The effects of 4- nonylphenol and ethanol on acute toxicity, embryo development and reproduction in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety.*, **55**: 330-337.

WWW. Glf-mpo.gc.ca

WWW.google. Fr/image