



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة باجي مختار-عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE DE BIOLOGIE ANIMALE APPLIQUEE

Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat

Spécialité : Biologie Animale et Environnementale
Option : Reproduction & Développement

Intitulé

Etude comparative de la reproduction d'un bioindicateur de pollution, *Perinereis cultrifera* (Annelide, Polychète) du littoral nord-est algérien et des côtes de la manche française « aspects morpho-anatomiques, génétiques, immunologiques et activités enzymatiques. »

Présentée par

M^{elle} SNANI Meriem

Devant un jury composé de :

Pr. D. HABES	Président	Université Badji Mokhtar -Annaba
Pr. O. DAAS-MAAMCHA	Directeur de thèse	Université Badji Mokhtar - Annaba
Dr. C. BOUALLEG (MCA)	Examineur	Université MCM - Souk Ahras
Dr. N. ZAIDI (MCA)	Examineur	Université 20 Août 1955 -Skikda

Année universitaire : 2015/2016



Dédicaces

Je dédie cette thèse : A la mémoire de **mon père** que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments.

Je remercie du fond de mon cœur la lumière de ma vie, **ma mère** pour son soutien, sa patience et son courage surtout durant les moments difficiles.

A **mes frères** et **mes sœurs** en particulier, **mes belles sœurs**, **ma famille** pour leur patience illimitée, leur soutien continu, en témoignage de mon profond amour et respect, qu'ils trouvent ici l'expression de ma haute gratitude.

A **mes collègues** et tous **mes amis** pour leur soutien. Qu'ils veuillent trouver ici l'expression de mon amitié sincère.

Remerciements

Avant tout, je remercie le bon dieu de m'avoir donné le courage et la force de mener à bien ce travail

Avant de présenter les résultats de mes recherches, je tiens à exprimer à tous ceux qui m'ont permis de mener à bien ce travail, mes sentiments de reconnaissance. Mes remerciements vont en premier lieu aux membres de jury :

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Biologie Animale Appliquée de l'université **Badji-Mokhtar Annaba**, sous la direction du Professeur **Noureddine Soltani**. Je tiens à le remercier vivement pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire.

Mes remerciements vont en premier lieu à Madame **Dehbia Habes**, professeur à l'Université **Badji-Mokhtar d'Annaba**, qui me fait l'honneur de présider ce jury.

Ma profonde gratitude et mes sincères remerciements vont particulièrement à l'inspiratrice de ce travail Madame **Ouided DAAS MAAMCHA**, Professeur à l'université **Badji-Mokhtar Annaba**. Au cours de ces années, elle a toujours bien veillé à ce que ce travail aboutisse et elle m'a toujours encouragée pour aller plus loin dans mon travail de recherche. Je la remercie pour la confiance et la compréhension qu'elle a toujours manifestées à mon égard, ce fut très enrichissant de travailler dans son équipe et sous sa direction scientifique.

Je remercie Madame **Chahinez BOUALLEG, Maître de conférences** à l'université **Mohamed Cherif Messaadia Souk-Ahras** pour avoir accepté d'être rapporteur de cette thèse et me faire l'honneur de juger ce travail.

Merci également à M^{elle} **Nedjoua ZAIDI, Maître de conférences** à l'Université **20 Août 1955 – Skikda** d'avoir accepté de faire partie de ce jury et d'évaluer ce travail de recherche.

Je dois une reconnaissance particulière à Monsieur **Tarek Daas**, toujours très disponible et ouvert à la discussion, ce qui m'a permis de bénéficier de son grand savoir. Je le remercie particulièrement pour sa confiance, sa générosité.

Toute ma gratitude et ma sympathie vont à **Mr. Patrick SCAPS**, Maître de conférences et enseignant chercheur au sein du laboratoire GEPV CNRS UMR 8198 à l'Université des **Sciences et Technologies de Lille (France)** pour son investissement et ses conseils avisés

J'ai le plaisir aussi de remercier chaleureusement, tous **mes collègues** du **Laboratoire de biologie Animale appliquée de l'université badji mokhtar annaba** pour l'aide, la gentillesse et pour les moments agréables que nous avons partagés sur le terrain et au Laboratoire.

Liste des figures

Figure N°	Titre	Page N°
1	Localisation géographique des sites d'étude dans le littoral Est algérien (El Kala, Annaba, Skikda et de la Manche Française (Saint aubin, Roscoff, Saint pabu) (Google Earth).	12
2	Station d'étude « plage El-Mordjène » (El-Kala).	13
3	Station d'étude « plage Saint Cloud » (Annaba).	13
4	Station d'étude « plage Stora » (Skikda).	14
5	Localisation géographique de la Manche Française (Google Earth).	14
6	Site de « Saint-Aubin sur mer.	15
7	Site de « Roscoff ».	16
8	Site de « Saint-Pabu »	16
9	Eau de l'Atlantique entrant dans la Méditerranée se dirigeant vers l'Est en passant par les côtes Algériennes (Millot, 1987).	17
10	Méthode de récolte par l'utilisation de l'eau de javel diluée (a), à l'aide d'un grattoir (b).	18
11	Méthode de récolte dans la manche française.	18
12	Les différentes parties taxonomiques	19
13	<i>Perinereis cultrifera</i> prélevée du littoral Est-Algérien.	22
14	<i>Perinereis cultrifera</i> prélevée de Manche française.	22
15	Morphologie externe de <i>Perinereis cultrifera</i> (x10).	23
16	Région médiane de <i>P. cultrifera</i> montrant la métamérisation du corps (x 2,5).	24
17	Les parapodes de <i>P. cultrifera</i> (x 16).	24
18	Partie postérieure de <i>P. cultrifera</i> , vue dorsale montrant le pygidium (x 8,5).	25
19	Traits taxonomiques d'identification de <i>P. cultrifera</i> (Fauvel, 1923)	26
20	Traits taxonomiques d'identification de <i>P. cultrifera</i> (Fauvel, 1923).A: Soies en épines (spinigères) B: Soies en serpes (falcigères)	26
21	Différentiation des sexes chez <i>Perinereis cultrifera</i> par visualisation des cellules germinales, ovocytes (A) (Gx16), amas spermatiques (B) (Gx8).	28
22	Aspect naturel d'une ponction cœlomique chez <i>Perinereis cultrifera</i> montrant des ovocytes.	29
23	Cycle de vie du modèle biologique <i>Perinereis cultrifera</i> (Rouabah, 2003).	30

24	Représentation schématique de stades cytologiques de l'ovogénèse de <i>Perinereis cultrifera</i> (Porchet, 1974).	32
25	Mode de reproduction chez les Nereidiens (Durchon, 1967).	33
26	Extraction et Dosage des métabolites selon Schibko <i>et al.</i> (1966)	37
27	Extraction des vitellogénines et vitellinesselon Fabre <i>et al.</i> (1990)	40
28	Principales étapes d'extraction des acides nucléiques : ARN, ADN selon Shibko <i>et al.</i> (1966).	43
29	Relations entre les principaux contaminants et les marqueurs biologiques (Narbonne et Michel, 1993).	46
30	Action des cholinestérases dans la transmission de l'influx nerveux et inhibition par un contaminant (Burgeot <i>et al.</i> , 1994). Le contaminant inhibiteur (rouge) rentre en compétition avec le substrat naturel de l'enzyme, l'acétylcholine (vert). L'enzyme inhibée par le contaminant maintient en permanence la transmission de l'influx ce qui aboutit à la paralysie et à la mort.	47
31	PCR ou thermocycleur utilisé pour la réaction d'amplification de l'ADN.	54
32	Petite cuve à électrophorèse	55
33	Progrégion des échantillons d'ADN déposés dans les puits de gels (de l'anode vers la cathode).	55
34	séquenceur automatique et séquences obtenues après séquençage.	56
35	Variations mensuelles de la température (C°) de l'eau de mer prélevée dans les trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud), et Skikda (Stora), de Janvier à Décembre 2012.	60
36	Variations mensuelles de la salinité (mg/l) de l'eau de mer prélevée dans les trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) de Janvier à Décembre 2012.	61
37	Variations mensuelles de la concentration en oxygène dissous (g/l) de l'eau de mer prélevée dans les trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) de Janvier à Décembre 2012.	62
38	Variations mensuelles du pH de l'eau de mer prélevées dans les trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) de Janvier à Décembre 2012.	63
39	Espèces identifiées de la faune associée au niveau des trois sites d'étude : El Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud), et Skikda (Stora).	65
40	Espèces identifiées de la flore au niveau des trois sites d'étude : El Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud), et Skikda (Stora).	66
41	Pourcentage des différents embranchements recensés à El-Kala (El-Mordjène) de janvier à décembre 2012.	69
42	Pourcentage des différents embranchements recensés à Annaba (Saint-Cloud) de janvier à Décembre 2012.	70
43	Pourcentage des différents embranchements recensés à Skikda (Stora) de janvier à Décembre 2012.	71
44	Pourcentage des différents embranchements recensés à El-Kala (El-Mordjène) de janvier à décembre 2013.	73
45	Pourcentage des différents embranchements recensés à Annaba (Saint-Cloud) de janvier à Décembre 2013	74
46	Pourcentage des différents embranchements recensés à Skikda (Stora) de janvier à Décembre 2013.	75

47	Variations mensuelles de la taille (mm) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau des sites d'étude durant l'année 2012.	79
48	Variations mensuelles de la taille (mm) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau des trois sites d'étude durant l'année 2012 (classification de Tukey).	80
49	Variations de la taille chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites de la manche française	81
50	Variations mensuelles du nombre de sétigères chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau des trois sites d'étude durant l'année 2012.	83
51	Variations mensuelles du nombre de sétigères chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau des trois sites d'étude durant l'année 2012. (classification de Tukey).	84
52	Variations du Nombre de sétigères des femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites au niveau de la manche française	85
53	Evolution de l'état sexuel de <i>P. cultrifera</i> en fonction du temps : El-Kala (El-Mordjène) (A), Annaba (Saint-Cloud) (B) et Skikda (Stora) (C).	89
54	Evolution annuelle du poids frais essuyé (Pfe) moyen chez les populations échantillonnées à El-Kala (El-Mordjène) ($m \pm s$; $n= 50$) : Population Totale (A), Sexués et Indifférenciés (B).	93
55	Evolution annuelle du poids frais essuyé (Pfe) moyen chez les populations échantillonnées à Annaba (Saint-Cloud) ($m \pm s$; $n= 50$) : Population Totale (A), Sexués et Indifférenciés (B).	94
56	Evolution annuelle du poids frais essuyé (Pfe) moyen (g) chez les populations échantillonnées à Skikda (Stora) ($m \pm s$; $n= 50$) : Population Totale (A), Sexués et Indifférenciés (B).	95
57	Variations mensuelles du poids corporel (g) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau des trois sites d'étude durant l'année 2012. (classification de Tukey).	96
58	Variations du poids frais essuyé des femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites au niveau de la manche française	98
59	Aspect microscopique d'une ponction coelomique chez <i>P.cultrifera</i> , montrant des ovocytes à des phases de développement variées, immatures (Ovi), en cours de maturation et matures (Ovm).	99
60	Evolution annuelle du diamètre ovocytaire Moyen de la population de <i>P. cultrifera</i> en fonction du temps El-Kala (El-Mordjène) (A), Annaba Saint-Cloud) (B), Skikda (Stora) (C).	102
61	Variations du diamètre ovocytaires (μm) des femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites au niveau de la manche française.	105
62	Variations mensuelles du Taux de protéines ($\mu g/mg$ d'ovocytes) chez les femelles de <i>P.cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud), et Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.	106
63	Variations mensuelles du taux de protéines chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène), durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n = 5$).	107
64	Variations mensuelles du taux de protéines chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n =$	108

	5).	
65	Variations mensuelles du taux de protéines chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (Classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n = 5$).	109
66	Variations mensuelles du Taux de glucides ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.	111
67	Variations mensuelles du taux de glucides chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site El-Kala (El-Mordjène), durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (Classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n = 5$).	112
68	Variations mensuelles du taux de glucides chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n = 5$).	113
69	Variations mensuelles du taux de glucides chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013 (Classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n = 5$).	114
70	Variations mensuelles du taux de lipides ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.	116
71	Variations mensuelles du taux de lipides chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène), durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (Classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n = 5$).	117
72	Variations mensuelles du taux de lipides chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (Classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n = 5$).	118
73	Variations mensuelles du taux de lipides chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (Classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n = 5$).	119
74	Variations du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide cœlomique) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> ($m \pm s$; $n = 5$), échantillonnées au niveau des trois sites d'étude durant la période de reproduction de l'année 2013.	121
75	Variations du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide cœlomique) chez les femelles récoltées au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période de reproduction de l'année 2013, (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).	122
76	Variations du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide cœlomique) chez les femelles récoltées au niveau du site Annaba (Saint-Cloud) durant la période de reproduction de l'année 2013, (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).	123
77	Variations du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide cœlomique) chez les femelles récoltées au niveau du site Skikda (Stora) durant la période de reproduction de l'année 2013, (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).	124
78	Variations du taux de vitellines $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> échantillonnées au niveau des trois sites d'étude durant la période de reproduction de l'année 2013 ($m \pm s$; $n = 5$).	126
79	Variations du taux de vitellines $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la	126

	période de reproduction de l'année 2013, (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).	
80	Variations du taux de vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles les femelles récoltées au niveau du site Annaba (Saint-Cloud) durant la période de reproduction de l'année 2013, (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).	127
81	Variations du taux de vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site Skikda (Stora) durant la période de reproduction de l'année 2013, (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).	128
82	Évaluation du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez trois populations des femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites d'El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013. ($m \pm s$; $n = 5$).	131
83	Évaluation du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les populations de femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013. (classification de Tukey); ($m \pm$, $n = 5$).	132
84	Évaluation du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez la population de femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site d'Annaba durant la période allant de Janvier à Décembre 2013. (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).	133
85	Évaluation du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les populations des femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.(classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).	134
86	Évaluation du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez trois populations des femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau d'El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud), et Skikda (Stora) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013. ($m \pm s$; $n = 5$).	136
87	Évaluation du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez la population de femelle de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013. (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).	136
88	Évaluation du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez la population de femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site d'Annaba durant la période allant de Janvier à Décembre 2013. (Saint-Cloud) (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).	138
89	Évaluation du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez la population de femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site de Skikda (Stora) (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).	139
90	Variations mensuelles de l'activité enzymatique de l'AChE (nM/mn/mg de protéines) dans les trois sites d'étude chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> de Janvier à Décembre de l'année 2012; ($m \pm s$, $n = 5$).	143
91	Variations mensuelles de l'activité enzymatique de l'AChE (nM/mn/mg de protéines) chez les femelles du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012. (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).	143
92	Variations mensuelles de l'activité enzymatique de l'AChE (nM/mn/mg de protéines) chez les femelles du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012. (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).	144
93	Variations mensuelles de l'activité enzymatique de l'AChE (nM/mn/mg de protéines) chez les femelles du site de Skikda (Stora) durant la période allant	145

	de Janvier à Décembre 2012. (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).	
94	Variations mensuelles de l'activité enzymatique de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau des trois sites d'étude durant la période allant de Janvier à Décembre 2012. . chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> ($m \pm s$, $n = 5$).	148
95	Variations mensuelles de l'activité enzymatique de la GST ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les femelles du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012 , avec la classification de Tukey ($m \pm s$, $n = 5$).	148
96	Variations mensuelles de l'activité enzymatique de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) chez les femelles du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012. . , avec la classification de Tukey ($m \pm s$, $n = 5$).	149
97	Variations mensuelles de l'activité enzymatique de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) chez les femelles du site de Skikda (Stora) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012. . et classification de Tukey ($m \pm s$, $n = 5$).	150
98	Coupe histologique d'une Ponction cœlomique chez <i>P. cultrifera</i> provenant d'El- Kala (El-Mordjène) montrant : Ovocytes en maturation (mode de développement asynchrone) (A), GR \times 150 ; des ovocytes matures (B), GR \times 600 ; la périphérie de l'ovocyte mature montrant la membrane vitelline (C), GR \times 1500.	153
99	Coupe histologique d'une Ponction cœlomique chez <i>P. cultrifera</i> provenant d'Annaba (Saint-Cloud) montrant : Ovocytes en maturation (A), GR \times 150 ; un ovocyte mature (B), GR \times 600 ; la périphérie de l'ovocyte mature montrant la membrane vitelline (C) , GR \times 600	154
100	Coupe histologique d'une Ponction cœlomique chez <i>P. cultrifera</i> provenant de Skikda (Stora) montrant : Ovocytes en maturation (A), GR \times 150 ; un ovocyte mature (B), GR \times 600 ; la périphérie de l'ovocyte mature montrant la membrane vitelline (C), GR \times 600.	155
101	Variations du diamètre ovocyttaire (μm) des ovocytes matures des femelles <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites d'étude : El Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) ou cours de la période de reproduction après une étude histologique.	157
102	Variations de l'épaisseur de la membrane vitelline (μm) des ovocytes matures des femelles <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites d'étude : El-Kala, Annaba, et Skikda ou cours de la période de reproduction après une étude histologique.	158
103	Variations du diamètre du noyau (μm) des ovocytes matures des femelles <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites : d'El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) ou cours de la période de reproduction après une étude histologique.	159
104	Alignement des séquences <i>cyt-b</i>	160
105	Arbre phylogénétique basé sur les séquences de <i>Cyt-b</i> isolées chez <i>P. cultrifera</i> des 9 populations avec l'ajout des autres groupes.	161
106	Coloration au rouge neutre des cœlomocytes de <i>P. cultrifera</i> au niveau des sites d'étude, El-Kala (El-Mordjène) , A, Annaba (Saint-Cloud) , B.. (C I: Cœlomocyte type I, C II : Cœlomocyte type II, C III : Cœlomocyte type III, LC : Liquide Cœlomique, O: Ovocyte) (\times 600).	161

107	Coloration au rouge neutre des cœlomocytes de <i>P. cultrifera</i> au niveau des sites d'étude, El-Kala (El-Mordjène), A, Annaba (Saint-Cloud) , B.. (C I: Cœlomocyte type I, C II : Cœlomocyte type II, C III : Cœlomocyte type III, LC : Liquide Cœlomique, O: Ovocyte) (×600).	162
108	Coloration au rouge neutre chez <i>Nereis. diversicolor</i> (C I: Cœlomocyte type I, C II: Cœlomocyte type II, C III: Cœlomocyte type III, LC: Liquide Cœlomique,) (×600).	163
109	Coloration par frottis sanguin chez <i>P. cultrifera</i> au niveau des sites d'étude, El-Kala (El-Mordjène), A, Annaba (Saint-Cloud), B. (C I: Coelomocyte type I, C II: Cœlomocyte type II, C III: Cœlomocyte type III, LC: Liquide Cœlomique) (×600).	
110	Observation d'un agrégat d'éléocytes chez <i>N. diversicolor</i> dont les lobules lipidiques sont visibles à travers la membrane. (x1200) (Beri, 1988).	

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page N°
1	Dosage des protéines dans les ovocytes: réalisation de la gamme d'étalonnage.	38
2	Dosage des glucides dans les ovocytes de <i>P. cultrifera</i> : réalisation de la gamme d'échantillonnage	38
3	Dosage des lipides dans les ovocytes : réalisation de la gamme d'étalonnage.	39
4	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification du taux d'ARN.	44
5	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification du taux d'ADN.	44
6	Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.	49
7	Liste des oligonucléotides et les températures d'hybridation utilisées lors de la réaction de PCR.	54
8	Variations mensuelles des paramètres physico-chimiques (température, salinité, oxygène dissous et pH) de l'eau de mer prélevés dans les trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène) (a), Annaba (Saint-Cloud) (b), et Skikda (Stora) (c), de Janvier à Décembre 2012	59
9	Traitement statistique des paramètres physico-chimiques (température, salinité, oxygène dissous, et pH) de l'eau de mer prélevés dans les trois sites d'étude,	63
10	Nombre d'individus (ni) des différentes espèces récoltées de janvier 2012 à décembre 2013 au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora).	67
11	Nombre d'individus (ni) des différentes espèces récoltées de janvier 2012 à décembre 2013 au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora).	67
12	Espèces floristiques identifiées au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora).	68
13	Caractéristiques du peuplement des trois sites d'étude par la richesse spécifique, la richesse totale et l'abondance,	76
14	Fréquence centésimale (%) des espèces inventoriées dans les sites d'étude. (Néreiens, et Annélides polychètes).	76
15	Fréquence centésimale (%) des espèces inventoriées dans les sites d'études, (Faune associées).	77
16	La diversité (H') et l'équipartition (E) du peuplement de macroinvertébrés dans les différents sites d'étude.	77
17	Mesures de la taille (mm) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau des trois sites d'étude durant l'année 2012. (m s, n = 50).	78
18	NOVA à deux facteurs contrôlés de la taille chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau des trois sites d'étude.	80
19	Mesures de la taille (mm) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites de la manche française. (m ± s, n = 50).	81
20	Analyse de la variance à un seul facteur contrôlé de la taille des femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites au niveau de la manche	82

	82 française.	
21	Variations mensuelles du nombre de sétigères chez les femelles de <i>P.cultrifera</i> ($m \pm s$; $n=60$), échantillonnées dans les trois sites : El Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) de Janvier à Décembre 2012.	82
22	ANOVA à deux facteurs contrôlés du nombre de sétigères chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau des trois sites d'étude.	84
23	Mesures du Nombre de sétigères chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites de la manche française. ($m \pm s$, $n = 50$).	85
24	Analyse de la variance à un seul facteur contrôlé du Nombre de sétigères chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites au niveau de la manche française.	86
25	Proportions des individus sexués par rapport à la population totale, et celles des mâles et des femelles par rapport à la population sexuée au cours du cycle annuel (Janvier à Décembre 2012) dans le site d'El-Kala (El-Mordjène).	87
26	Proportions des individus sexués par rapport à la population totale, et celle des mâles et femelles par rapport à la population sexuée au cours du cycle annuel (Janvier à Décembre 2012) dans le site d'Annaba (Saint-Cloud).	87
27	Proportions des individus sexués par rapport à la population totale, et celle des mâles et des femelles par rapport à la population sexuée au cours du cycle annuel (Janvier à Décembre 2012) dans le site de Skikda (Stora).	88
28	Variations annuelles du poids frais essuyé moyen (g) de la population totale, des individus sexués et indifférenciés dans le site d'EL-Kala (El-Mordjène) ($m \pm s$; $n= 50$).	91
29	Variations annuelles du poids frais essuyé moyen (g) de la population totale, des individus sexués et indifférenciés dans le site d'Annaba (Saint-Cloud) ($m \pm s$; $n= 50$).	92
30	Variations annuelles du poids frais essuyé moyen (g) de la population totale, des individus sexués et indifférenciés dans le site de Skikda (Stora) ($m \pm s$; $n=50$).	92
31	ANOVA à deux facteurs contrôlés du poids corporel chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau des trois sites d'étude.	97
32	Comparaison entre les poids des différents sites dans la manche française	97
33	Analyse de la variance à un seul facteur contrôlé des poids des femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites au niveau de la manche française.	98
34	Evolution du diamètre ovocytaire moyen chez les femelles échantillonnées à El Kala (El-Mordjène) au cours du cycle annuel chez <i>p. cultrifera</i> (Janvier 2012 à Janvier 2013).	99
35	Evolution du diamètre ovocytaire moyen chez les femelles échantillonnées à Annaba (Saint-Cloud) au cours du cycle annuel (Janvier 2012 à Janvier 2013).	100
36	Evolution du diamètre ovocytaire moyen chez les femelles échantillonnées à Skikda (Stora) au cours du cycle annuel (Janvier 2012 à Janvier 2013).	100
37	ANOVA à un facteur contrôlé du diamètre ovocytaires chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau des trois sites d'étude.	103
38	ANOVA à deux facteurs contrôlés du diamètre ovocytaire chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> de la cohort 1 dans les stations d'étude.	103

39	ANOVA à deux facteurs contrôlés du diamètre ovocytaire chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> de la cohorte 2 dans les stations d'étude.	104
40	Comparaison du diamètre ovocytaires (μm) des différents sites dans la manche française.	104
41	Analyse de la variance à un seul facteur contrôlé du diamètre ovocytaires des femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites au niveau de la manche française.	105
42	Taux des protéines $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes chez les femelles de <i>P.cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (ANOVA à un seul facteur contrôlé, appuyée par la classification de Tukey des sites pour chaque mois); ($m \pm s$, $n = 5$).	105
43	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de protéines chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.	107
44	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de protéines chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.	10
45	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de protéines chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.	109
46	ANOVA à deux facteurs contrôlés du taux de protéines chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.	110
47	Taux de glucides $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes chez les femelles de <i>P.cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (ANOVA à un seul facteur contrôlé, et la classification de Tukey des sites pour chaque mois); ($m \pm s$, $n = 5$).	111
48	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de glucides chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.	113
49	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de glucides chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.	114
50	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de glucides chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site de Skikda (Stora) dans une période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.	115
51	ANOVA à deux facteurs contrôlés du taux de glucides chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.	115
52	Taux de lipides $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes chez les femelles de <i>P.cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (ANOVA à un seul facteur contrôlé et la classification de Tukey des sites pour chaque mois) ($m \pm s$, $n = 5$).	116
53	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de lipides chez les femelles de	117

	<i>P. cultrifera</i> au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.	
54	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de lipides chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.	118
55	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de lipides chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.	119
56	ANOVA à deux facteurs contrôlés du taux de lipides chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.	120
57	Variation du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide cœlomique) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> ($m \pm s$; $n = 5$) échantillonnées au niveau des trois sites d'étude durant la période de reproduction de l'année 2013.	120
58	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide cœlomique) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site d' El-Kala (El-Mordjène) durant la période de reproduction de l'année 2013.	122
59	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide cœlomique) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période de reproduction de l'année 2013.	123
60	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide cœlomique) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période de reproduction de l'année 2013.	124
61	ANOVA à deux facteurs contrôlés du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide cœlomique) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites d'étude durant la période de reproduction de l'année 2013 .	125
62	Variation du taux de vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) de <i>P. cultrifera</i> ($m \pm s$; $n = 5$) échantillonnées au niveau des trois sites d'étude durant la période de reproduction de l'année 2013.	125
63	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site d' El-Kala (El-Mordjène) durant la période de reproduction de l'année 2013.	127
64	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site d'Annaba (Saint Cloud) durant la période de reproduction de l'année 2013.	128
65	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période de reproduction de l'année 2013.	129
66	ANOVA à deux facteurs contrôlés du taux de vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites d'étude durant la période de reproduction de l'année 2013.	129
67	Évaluation du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocyte) chez trois populations femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau d'El-Kala (El-Mordjène, Annaba, et Skikda. durant la période allant de Janvier à Décembre 2013. (ANOVA à un seul facteur contrôlé, et classification de Tukey des sites	131

	pour chaque mois); ($m \pm s$, $n = 5$).	
68	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site d'El Kala (El-Mordjène) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.	132
69	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocyte) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> dans le site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.	133
70	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> dans le site de Skikda (Stora) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.	134
71	ANOVA à deux facteurs contrôlés du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltée au niveau des trois sites d'étude . durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.	135
72	Évaluation du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez trois populations de femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau d'El-Kala, Annaba, et Skikda durant la période allant de Janvier à Décembre 2013. (ANOVA à un seul facteur contrôlé et classification de Tukey des sites pour chaque mois); ($m \pm s$, $n = 5$).	136
73	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site d'El Kala (El-Mordjène) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.	138
74	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.	139
75	ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.	140
76	ANOVA à deux facteurs contrôlés du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau des trois sites d'étude durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.	140
77	Activité enzymatique de l'ACHé (nM/mn/mg de protéines) chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des sites d'étude durant la période allant de Janvier à Décembre 2012. (ANOVA à un seul facteur contrôlé, et classification de Tukey des sites pour chaque mois); ($m \pm s$, $n = 5$).	142
78	ANOVA à un seul facteur contrôlé de l'activité enzymatique de l'ACHé chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012.	144
79	ANOVA à un seul facteur contrôlé de l'activité enzymatique de l'ACHé chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012.	145
80	ANOVA à un seul facteur contrôlé de l'activité enzymatique de l'ACHé chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012.	146
81	ANOVA à deux facteurs contrôlés de l'activité enzymatique de l'ACHé chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau des trois sites d'étude durant la période allant de Janvier à Décembre 2012.	146
82	Activité enzymatique de la GST chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées à partir des sites d'étude durant la période allant de Janvier à Décembre 2012. avec l'ANOVA à un seul facteur contrôlé, et	147

	classification de Tukey des sites pour chaque mois; ($m \pm s$, $n = 5$).	
83	ANOVA à un seul facteur contrôlé de l'activité enzymatique de la GST chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012.	149
84	ANOVA à un seul facteur contrôlé de l'activité enzymatique de la GST chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) . durant la période allant de Janvier à Décembre 2012.	150
85	ANOVA à un seul facteur contrôlé de l'activité enzymatique de la GST chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012.	151
86	ANOVA à deux facteurs contrôlés de l'activité enzymatique de la GST chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> au niveau des trois sites d'étude durant la période allant de Janvier à Décembre 2012.	151
87	Variations des paramètres morphométriques (diamètre ovocytaires, Epaisseur de la membrane vitelline et diamètre du noyau) des ovocytes matures des femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites d'étude : El Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) ou cours de la période de Reproduction après une étude histologique.	156
88	Ajout des autres groupes du genre <i>Perinereis</i> .	161

SOMMAIRE

1. INTRODUCTION.....	1
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	12
2.1. Analyse écologique.....	12
2.1.1. Localisation et présentation des sites d'étude.....	12
2.1.2. Paramètres physico-chimiques de l'eau de mer.....	12
2.1.3. Méthode d'échantillonnage et de récolte.....	17
2.1.4. Inventaire et biodiversité.....	19
2.1.5. Aperçu sur la systématique des Annélides.....	20
2.1.6. Évaluation des indices écologiques.....	20
2.2. Analyse biologique.....	22
2.2.1. Présentation et identification du matériel biologique.....	22
2.2.2. Différenciation des sexes.....	27
2.2.3. Paramètres morphométriques.....	28
2.2.4. Reproduction et Développement.....	29
2.3. Analyse biochimique.....	35
2.3.1. Liquide cœlomique et constituants.....	35
2.3.2. Séparation des constituants cœlomiques.....	36
2.3.3. Prélèvement des tissus.....	36
2.3.4. Extraction des métabolites.....	36
2.3.5. Dosage quantitatif des métabolites.....	38
2.3.5.1. Dosage des protéines.....	38
2.3.5.2. Dosage des glucides.....	38
2.3.5.3. Dosage des lipides.....	39
2.3.6. Analyse quantitative des vitellogénines et des vitellines.....	39

2.3.7. Extraction des vitellogénines et des vitelline.....	40
2.3.7.1. Dosage quantitative des vitellogénines	40
2.3.7.1. Dosage quantitative des vitellines.....	41
2.3.8. Analyse quantitatif des acides nucléique.....	41
2.3.9. Technique d'extraction des acides nucléique.....	41
2.3.9.1. Dosage quantitatif de l'ARN.....	44
2.3.9.2. Dosage quantitatif de l'ADN.....	44
2.4. Analyse écotoxicologique.....	44
2.4.1. Dosage de l'Acétylcholinestérase (AChE).....	48
2.4.2. Dosage de la glutathion S-transférase (GST).....	50
2.5. Analyse histologique.....	51
2.5.1. Technique histologique classique.....	51
2.6. Analyse immunogénétique.....	52
2.6.1. Les marqueurs génétiques.....	52
2.6.1.1. Extraction de l'ADN génomique.....	52
2.6.1.2. Extraction de l'ADN génomique.....	53
2.6.1.3. PCR (Polymerase chain reaction).....	53
2.6.1.4. Séquençage automatique2.6.1. Les cœlomocytes.....	55
2.6.2. Les cœlomocytes.....	57
2.6.2.1. Observation de cœlomocytes.....	57
2.6.2.1.1. Coloration vitale au rouge neutre à 2%.....	58
2.6.2.1.2. Coloration par frottis sanguin.....	58
2.7. Analyse statistique.....	58
3. RÉSULTATS.....	59
3.1. Les paramètres physico-chimiques.....	59
3.2. Inventaire et biodiversité.....	63
3.3. Indices écologiques.....	66

3.3.1. L'abondance.....	66
3.3.2. Richesse et abondance du peuplement.....	76
3.3.3. Fréquence centésimale.....	76
3.3.4. Diversité et équitabilité.....	77
3.4. Paramètres morphométriques.....	78
3.4.1. Taille.....	78
3.4.1.1. Au niveau du littoral Est-algérien.....	78
3.4.1.2. Au niveau de la Manche française.....	80
3.4.2. Nombre de sétigères.....	82
3.4.2.1. Au niveau du littoral Est-algérien.....	82
3.4.2.2. Au niveau de la Manche française.....	84
3.4.3. Evolution annuelle de l'état sexuel.....	86
3.4.4. Evolution annuelle du poids frais essuyé.....	90
3.4.4.1. Au niveau du littoral Est algérien.....	90
3.4.4.2. Au niveau de la Manche française.....	97
3.4.5. Evolution annuelle du diamètre ovocytaire.....	98
3.4.5.1. Au niveau du littoral Est-algérien.....	98
3.4.5.2. Au niveau de la Manche française.....	104
3.5. Analyse biochimique.....	105
3.5.1. Effets du stress environnemental sur le contenu biochimique des ovocytes	105
3.5.1.1. Taux de protéines.....	105
3.5.1.2. Taux de glucides.....	105
3.5.1.3. Taux des lipides.....	115
3.5.2. Analyse quantitative des vitellogénines et des vitellines.....	115
3.5.2.1. Évaluation du taux de vitellogénines.....	120

3.5.2.2. Évaluation du taux de vitellines.....	125
3.5.3. Analyse quantitative des acides nucléiques.....	129
3.5.3.1. Évaluation du taux d'ADN ovocytaire chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites d'étude.....	130
3.5.3.2. Évaluation du taux d'ARN ovocytaire chez les femelles de <i>P. cultrifera</i> récoltées au niveau des trois sites d'étude.....	135
3.5.4. Dosage des biomarqueurs.....	140
3.5.4.1. Dosage de l'Acétylcholinestérase (AChE).....	140
3.5.4.2. Dosage de la glutathion S-transférase (GST).....	146
3.5.5. Analyse histologique.....	151
3.5.5.1. Interprétation de la structure ovocytaire chez les femelles récoltées à partir des trois sites d'étude.....	151
3.5.5.2. Étude des paramètres morphométriques de l'ovocyte mature.....	156
3.5.5.2.1. Evaluation du diamètre ovocytaires (μm) chez <i>P. cultrifera</i>	156
3.5.5.2.2. Evaluation de l'épaisseur de la membrane vitelline (μm) de l'ovocyte mature chez les femelles de <i>P. cultrifera</i>	157
3.5.5.2.3. Evaluation du diamètre du noyau (μm) chez <i>P. cultrifera</i>	158
3.5.6. Analyse Immunogénétique du complexe d'espèces jumelles de <i>P. cultrifera</i>	159
3.5.6.1. Alignement des séquences <i>cyt-b</i>	159
3.5.6.2. Comparaison des caractéristiques immunologiques chez <i>Perinereis cultrifera</i> et <i>Nereis diversicolor</i> (Annélide polychètes) du littoral Est-algérien et des côtes de la manche française.....	162
3.5.6.2.1. Observation des cellules immunitaires.....	162
1) Au niveau du littoral Est-Algérien	162
a) Coloration au rouge neutre.....	163
b) Coloration par frottis sanguin.....	164
2) Au niveau de la manche française.....	165

a) Les éléocytes.....	165
b) Les granulocytes.....	165
4. DISCUSSION.....	168
4.1. Paramètres physico-chimiques de l'eau de mer.....	168
4.2. Effets du stress environnemental sur la diversité biologique.....	171
4.3. Effets du stress environnemental sur les paramètres morphométriques.....	173
4.4. Effets du stress envirennomental sur la croissance ovocytaire.....	175
4.5. Effet de la pollution sur les paramètres biochimiques des ovocytes.....	177
4.6. Evaluation des taux de vitellogénines et de vitellines.....	179
4.7. Évaluation du taux d'ADN et d'ARN ovocytaires.....	180
4.8. Effets du stress environnemental sur l'activité des biomarqueurs.....	181
4.9. Effets du stress environnemental sur la structure ovocytaire.....	183
4.10. Analyse phylogénétique du complexe d'espèces jumelles de <i>P. cultrifera</i>	184
4.11. Étude de l'aspect des cellules immunitaire chez <i>P. cultrifera</i>	185
5. CONCLUSION.....	188
6. RÉSUMÉS.....	191
7. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	197



وَ هُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لَتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَ تَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ
حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَ تَرَى الْفَلَكَ مَوَآخِرَ فِيهِ وَ لَتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَ
لَعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ (14) مِنْ سُورَةِ النَّحْلِ.

INTRODUCTION

1. INTRODUCTION

L'écosystème peut être défini comme une unité écologique formée d'un biotope correspondant à l'ensemble des paramètres abiotiques (ou physico-chimiques) et d'une biocénose correspondant à l'ensemble des organismes y vivant (Frontier, 2004). Autrement dit, c'est un système biologique complexe formé d'une communauté d'organismes animaux et végétaux et leur environnement physique et chimique avec lequel ils sont en interaction. Les divers écosystèmes présents dans la biosphère peuvent se répartir en deux groupes fondamentalement distincts ; les écosystèmes terrestres, les écosystèmes aquatiques.

La structure des écosystèmes, qui inclut la biodiversité, aussi les interactions interspécifiques et les facteurs abiotiques, influence le fonctionnement des écosystèmes, notamment la biomasse, la production, la stabilité et la résistance des écosystèmes aux invasions biologiques (Goudard, 2007).

L'importance de la biodiversité est reconnue à l'échelle planétaire (Rio, 1992). La société civile s'est engagée à œuvrer pour une diminution significative du taux d'extinction des espèces menacées (Johannesburg, 2002). Cependant, la biodiversité a été longtemps considérée comme un simple attribut structurel des communautés (Samuels et Drake, 1997) qu'il était possible d'appréhender par le biais d'estimation du nombre d'espèces ou toute autre mesure basée sur la présence-absence des taxons (Duelli, 1997 ; Kolasa et Rollo, 1991).

Aujourd'hui ; les recherches ont permis de reconnaître différentes dimensions à la biodiversité (Huston, 1994 ; Noss, 1990) et de prendre en compte, à côté de la dimension structurelle basée sur la présence-abondance des espèces, une dimension fonctionnelle, basée sur leurs attributs vitaux (morphologie, physiologie) (Lavorel *et al.*, 1997) et une dimension compositionnelle basée sur leur comportement ou les attributs écologiques (Scheiner, 1992). Ces deux dernières dimensions, considérant les espèces sous l'angle de leurs fonctions et de leurs réponses écologiques, sont maintenant privilégiées dans les recherches visant à évaluer la signification fonctionnelle de la biodiversité (Gaston, 1996 ; Lamont, 1995).

L'étude de la biodiversité permet la connaissance des rôles et des fonctions des gènes, des espèces et des écosystèmes. De même, elle entraîne la compréhension des liens complexes entre les systèmes modifiés et naturels et l'application de ce savoir pour favoriser le développement durable (Pnue, 1994). Le terme biodiversité, introduit dans le milieu des années 80, englobe la diversité à tous les niveaux de l'organisation biologique : la diversité génétique, la diversité spécifique ou taxonomique et la diversité d'écosystèmes (Eldredge 1998). La diversité est, dans un contexte global, essentielle à la survie des espèces et à leurs adaptations spécifiques aux environnements. Elle joue un rôle fondamental dans les interactions biologiques, dans le fonctionnement des écosystèmes, et les grands équilibres de la planète.

Les phénomènes de reproduction constituent la propriété fondamentale de toute vie en assurant la continuité de l'espèce. En 1748, Buffon en donnait déjà cette définition : « cette propriété commune à l'animal et au végétal, cette puissance de produire son semblable, cette chaîne d'existences successives d'individus qui constitue l'existence réelle de l'espèce ».

Au niveau de l'individu la reproduction peut être réalisée selon deux modalités différentes : Un être donne un autre être exactement semblable à lui-même par scissiparité ou bien par bourgeonnement. Cette reproduction dite asexuée, très répandue chez les végétaux, se rencontre également dans le règne animal et principalement dans les groupes ayant une organisation simple. La reproduction asexuée ne permet aucun renouvellement du génome, elle permet à certains organismes de se multiplier sans l'intervention de phénomènes liés à la sexualité ; ils se perpétuent en donnant des organismes génétiquement identiques à eux-mêmes et édifient des clones. Deux individus de la même espèce élaborent des cellules particulières : les gamètes, qui fusionnent cytoplasme à cytoplasme et noyau à noyau pour constituer une cellule œuf qui sera à l'origine d'un nouvel individu. Cette reproduction est dite sexuée car elle implique la réunion de gamètes de types différents résultant de la différenciation sexuelle soit mâle soit femelle, c'est l'une des fonctions fondamentales de la vie car elle assure la perpétuation de l'espèce et constitue le "moteur" de l'évolution, par le brassage des allèles et l'émergence d'individus adaptables aux nouvelles conditions de leur environnement.

La reproduction sexuée implique la juxtaposition de deux génomes haploïdes d'une même espèce ; les avantages de ce système sont considérables sur un plan évolutif. En revanche la réalisation de la reproduction sexuée entraîne un certain nombre de complications par rapport à la multiplication asexuée :

Les cellules qui s'engagent dans la reproduction sexuée doivent rester capables d'exprimer toutes les potentialités génétiques de l'espèce : elles sont totipotentes mais leur totipotence ne s'exprimera qu'au cours du développement de l'œuf. Les cellules qui donneront les gamètes appartiennent à une lignée cellulaire ségréguée plus ou moins tôt au cours de l'ontogenèse : ce sont les cellules de la lignée germinale. Ces cellules ont une origine exogène par rapport aux gonades et elles devront migrer jusqu'à ces organes. Les chances de rencontre des gamètes et l'accomplissement de la fécondation ont un aspect aléatoire qui est compensé par une abondance des gamètes d'où une importante multiplication des cellules germinales primordiales (C.G.P.) issues de la lignée germinale. Les C.G.P. qui s'engagent dans la gamétogenèse se différencient en fonction de leur sexe génétique et conformément à leurs fonctions ultérieures : fécondation et ontogenèse. Le gamète femelle est généralement une cellule de grande taille, riche en réserves et immobile alors que le gamète mâle est une petite cellule mobile.

Au niveau moléculaire, la reproduction implique une mémoire qui est inscrite dans l'ADN génomique, l'étude des séquences d'ADN est devenue un outil important pour la classification des espèces. La séquence d'ADN contient l'information nécessaire aux êtres vivants pour survivre et se reproduire. L'ADN a un double rôle : d'une part il contrôle l'information génétique et assure sa permanence au cours de la division cellulaire, d'autre part la biosynthèse protéique. Les ARN traduisent l'information génétique en protéines : ce sont donc les agents de l'expression génétique chez la plupart des êtres vivants, On a deux étapes du transfert d'information ; la réplication (la synthèse d'ADN), et la transcription (la synthèse

d'une copie d'ARN correspondant à une partie de l'ADN), l'étape finale de ce transfert d'information et la traduction (la synthèse d'un polypeptide à partir des instructions contenues dans la séquence d'ADN), ([https://www.google.com/search:la reproduction](https://www.google.com/search:la%20reproduction)).

Les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme de toutes les espèces biologiques vivantes connues. Ces derniers entrent dans divers réactions et peuvent assurer la catalyse biochimique, la régulation hormonale et s'intègrent dans la cellule comme éléments structuraux en même temps que les glucides et les lipides (Jacob *et al.*, 1961). L'étroite relation entre les taux de protéines et le cycle reproductif est due au fait que ces derniers interviennent dans la formation des gamètes, et sont également utilisées comme source d'énergie en particulier pendant la gamétogénèse. Tous ces mécanismes existent chez les êtres vivants dans les écosystèmes terrestres et aquatiques.

Les écosystèmes aquatiques ont donné naissance à la vie il y a près de 4 milliards d'années. Ils sont caractérisés par la présence d'un fluide beaucoup plus dense et visqueux que l'air. La sortie de l'eau est récente (400 millions d'années pour la vie métazoaire organisée) et fut un événement majeur dans l'histoire du vivant. Ce milieu aquatique est continu et les contraintes physiques y sont spécifiques. Ses habitats dépendent de facteurs environnementaux comme la température, la salinité, l'oxygène dissous, le pH, la pression hydrostatique, la présence de polluants (Gilles, 2007).

On a l'habitude de séparer les écosystèmes aquatiques en continentaux (eaux douces, rivières, fleuves, lacs, réservoirs...), lagunaires et côtiers, incluant les estuaires, les lagunes, les marrés littoraux..., et en marins, rassemblant tous les milieux salés, de la côte au grand large. Le milieu marin regroupe aujourd'hui plus de 270 000 espèces vivantes soit quelques 15% de toutes les espèces connues, mais avec parfois d'énormes biomasses : les seules bactéries de la couche de sub-surface de l'océan représentant à elles seules 10% de toute la biomasse carbonée de la planète (Gilles, 2007).

Le milieu marin constitue un capital précieux. Les mers et les océans représentent 99 % de l'espace vital disponible sur notre planète, couvrent 71 % de la surface de la terre et contiennent 90 % de la biosphère ; ils renferment par conséquent plus de diversité biologique que les écosystèmes terrestre et d'eau douce (Neveu *et al.*, 2001) Le milieu marin est un élément indispensable à la vie sur terre (notamment en tant que source principale de l'oxygène) et joue un rôle déterminant sur le climat. Il est également un important facteur de prospérité économique, de bien-être social et de qualité de vie.

La zone méditerranéenne a été classée par le PNUE comme l'une des cinq régions du monde où les problèmes environnementaux sont les plus graves (Ramade, 1993), alors que la mer Méditerranée est classée parmi les sept mers les plus menacées (Boudouresque, 1996). Avec une surface excédant trois millions de km², la Méditerranée représente la plus vaste mer fermée du monde. De contours très sinueux, ses côtes s'étendent sur plus de 40000 km (Ramade, 2002). Même si la Méditerranée, ne représente que 0,7 % des mers du globe, elle compte plus de trois cent ports et supporte 30 % du commerce maritime mondial et 20 à 25 % du transport international de pétrole: la ligne pétrolière la plus importante, avec environ 90 % du trafic pétrolier total de la région, relie le Canal de Suez en Egypte avec Gibraltar; en

passant par la Sicile et Malte, puis elle suit les côtes Tunisiennes, Algériennes et Marocaines (Abou samra, 2005).

Le littoral algérien s'étend sur 14 wilayas, de Oued Kiss, dans la commune de Marsa Ben M'hidi (wilaya de Tlemcen) à l'ouest, à Oued Souani Es Sebaâ dans la commune de Souarekh (wilaya d'El tarf), à l'est. La superficie totale du domaine littoral algérien est de 31 927,41 km², dont 27 998 km² marine et 3929,41 km² terrestre avec un linéaire côtier de 1622,48 km et un linéaire terrestre de 2 198,44 km. La population du domaine littoral algérien est de 3 265 392 habitants, soit une densité moyenne de 831,01 habitant/km².

L'Algérie avec ses longues côtes d'environ 1200 Km, regroupent un éventail d'habitats, et la biodiversité marine algérienne est considérée parmi les plus élevées du bassin méditerranéen (Grimes *et al.*, 2004), grâce à la diversité biologique des espèces d'intérêt écologique et économique. Par ailleurs, le littoral algérien abrite de nombreuses espèces vulnérables ou menacées, à cet égard il reste un élément clé de la conservation de la Biodiversité marine et côtière de l'ensemble du bassin méditerranéen.

La pollution de l'environnement (organique/minérale) est un problème d'actualité ; elle affecte pratiquement tous les écosystèmes y compris l'environnement marin, et résulte du cumul des apports anthropiques (molécules/énergie) (Livingstone, 1993; 1998) ; qui peuvent être de sources différentes : les activités liées aux pratiques agricoles, les activités industrielles ou encore les activités urbaines liées au développement des villes et des réseaux routiers, et qui engendrent des composés tels que les hydrocarbures, les polychlorobiphényles (PCB), les insecticides et les métaux lourds.

Le milieu marin côtier, largement exploité pour ses richesses économiques (pêche, mariculture) et touristiques, subit de nombreuses pollutions provenant de rejets directs (effluents urbains et industriels, déversements de pétrole) et indirects (apports fluviaux et atmosphériques) (Rudolph et Rudolph., 1999 ; Fossi, 2000).

La notion de pollution appelle donc celle de contamination d'un ou plusieurs compartiments des écosystèmes (air, eau, sol), d'un organisme (qui peut être l'Homme) ou d'un groupe d'organismes, en ayant une incidence sur l'écosystème au-delà d'un seuil ou norme. La contamination peut notamment s'étendre ou se modifier via le réseau trophique (chaîne alimentaire).

Le constat établi en Algérie, a documenté qu'au cours des dernières décennies les zones côtières ont été le théâtre d'un développement accéléré et une pression démographique très importante. Environ 45 % de la population est concentrée sur une bande très étroite du littoral, en particulier dans les zones industrielles et portuaires, comme Alger, Oran, Annaba, Arzew, et de Skikda (Grimes, 2003). Selon le même auteur, la densité de la population au niveau des villes côtières est de 281 habitants au km² par rapport à la densité de la population nationale, qui est de 12,2 habitants au km².

Cette pression démographique qui augmente d'une année à l'autre s'accompagne inévitablement de répercussions sur l'environnement, en général, et sur le milieu marin, en

particulier, entraînant ainsi des problèmes de contamination des écosystèmes aquatiques impliquant de nombreux produits chimiques dont des éléments métalliques rejetés par les industries, l'agriculture et les communautés urbaines (Grimes, 2005; Grimes *et al.*, 2010).

Compte tenu des limites présentées par les analyses physicochimiques, il est nécessaire de faire appel à des moyens biologiques pour surveiller les effets de ces polluants. Le recours aux microorganismes présente l'intérêt d'observer la vie sous ses différentes formes et permet de servir, dans les conditions de perturbation, de signal d'alarme. Le développement de la bio-indication ouvre ainsi la voie à une surveillance écologique plus large intégrant les effets sur l'environnement grâce à des organismes sentinelles (Garrec et Van Haluwyn, 2002).

La bioindication donc désigne l'évaluation de la qualité des milieux à l'aide de bioindicateur c'est à dire d'organismes vivants connus pour leurs capacités à refléter l'état des écosystèmes et à identifier les problèmes et les risques encourus par ceux-ci. Un bioindicateur peut être un individu, une partie d'individu ou même une communauté d'individus renfermant de l'information sur la qualité du milieu. Étant donné la non-spécificité des réactions de la plupart des organismes en présence d'un stress environnemental,

Les organismes aquatiques utilisés comme bioindicateurs (les algues, les invertébrés, et les vertébrés), sont considérés comme des indicateurs biologiques de la pollution et doivent répondre aux critères suivant la pertinence, la fiabilité, la sensibilité, et la reproductibilité (Philips et Rainbow, 1994 ; Lagadic *et al.*, 1997).

Parmi les communautés biologiques, les communautés de macroinvertébrés benthiques sont les plus utilisées pour évaluer l'état de santé global des écosystèmes aquatiques (Hellowell, 1986 ; Barbour *et al.*, 1999). Ce sont des organismes visibles à l'œil nu, tels que les insectes, les mollusques, les crustacés et les vers, qui habitent le fond des cours d'eau et des lacs.

Ces organismes constituent un important maillon de la chaîne alimentaire des milieux aquatiques, puisqu'ils sont une source de nourriture primaire pour plusieurs espèces de poissons, d'amphibiens et d'oiseaux. Ils sont reconnus pour être de bons indicateurs de la santé des écosystèmes aquatiques en raison de leur sédentarité, de leur cycle de vie varié, de leur grande diversité et de leur tolérance variable à la pollution et à la dégradation de l'habitat. Ils intègrent les effets cumulatifs et synergiques à court terme (allant jusqu'à quelques années) des multiples perturbations physiques (modifications de l'habitat), biologiques et chimiques dans les cours d'eau. Ils sont abondants dans la plupart des rivières et faciles à récolter. De plus, leur prélèvement a peu d'effets nuisibles sur le biotope résident (Barbour *et al.*, 1999).

Le suivi des macroinvertébrés benthiques est utile pour : évaluer l'état de santé global des écosystèmes aquatiques, suivre l'évolution de l'état de santé d'un cours d'eau au fil du temps. Évaluer et vérifier l'effet d'une source de pollution connue sur l'intégrité de l'écosystème, évaluer les impacts des efforts de restauration (habitat et qualité de l'eau), apporter un complément biologique au programme de surveillance de la qualité

bactériologique et physicochimique des cours d'eau, documenter la biodiversité des macroinvertébrés benthiques dans les cours d'eau.

La forte biomasse des vers marins de l'ordre de plusieurs kilos par mètre carré de sédiment, leur faible capacité à se défendre et surtout leur grande valeur nutritive expliquent leur place dans les chaînes alimentaires. Ils servent de proie à de nombreux invertébrés ou vertébrés - oiseaux qui cherchent leur nourriture sur les vasières découvertes à marée basse, et poissons plats. Ils sont un bon outil biologique pour étudier les effets écologiques de divers contaminants et pour évaluer les flux de ceux-ci dans les chaînes alimentaires (Scaps, 1992).

Les annélides polychètes sont bien représentés dans les milieux marins et constituent un pourcentage significatif de la diversité et de l'abondance totale de la macrofaune benthique. Ainsi, d'après Knox (1977), elles représentent de 35 à 50 % des espèces macrobenthiques selon la nature du biotope occupé. Les espèces rencontrées dans les écosystèmes littoraux et côtiers vivent souvent dans des milieux enrichis en matière organique, et elles sont fréquemment en contact avec des substances possédant des propriétés toxiques (effluents, déchets industriels et domestiques, lessives et détergents, produits phytosanitaires, pesticides, herbicides), constituant ainsi un matériel biologique de choix afin de suivre les effets écologiques de contaminants et pour évaluer les flux des xénobiotiques dans les chaînes alimentaires ; par conséquent, elles représentent l'un des groupes de macroinvertébrés les plus utilisés dans les études à caractère écotoxicologique (Scaps, 2000).

De par la diversité des milieux marins qu'ils ont colonisé, la variété de leur régime alimentaire, les polychètes jouent un rôle majeur dans le fonctionnement des communautés benthiques (Fauchald et Jumars, 1979). Ainsi, certaines espèces, de par leur intense activité galéricole, tubicole et/ou d'alimentation jouent un rôle déterminant dans le recyclage, le remodelage et la bioturbation des sédiments ainsi que dans l'enfouissement de la matière organique (Stephens, 1975 ; Davis, 1993 ; Hutchings, 1998).

Les potentialités d'utilisation des annélides polychètes sont multiples tant dans le secteur industriel (production d'appâts de pêche, production d'aliments pour les animaux d'élevage, traitement des eaux usées) que dans le domaine environnemental (tests d'écotoxicité, bio surveillance du milieu marin). Parmi les quelques 10 000 espèces de polychètes décrites actuellement (Minelli, 1993), seul l'exploitation et l'élevage d'un faible nombre d'entre elles peut être envisagé. Olive (1999) signale l'exploitation régulière de plusieurs dizaines d'espèces parmi lesquelles quelques membres de la famille des Nereididae.

L'annélide polychète *Perinereis cultrifera* fait partie de la famille des Nereididae. C'est un ver de couleur bronze vert avec un rouge clair dorsal (Grübe, 1840), on le trouve parmi les Rhodophycées, algues rouges meublant les trottoirs et banquettes. *Perinereis cultrifera* est largement exploité sur le littoral Est- Algérien et il est employé pour la pêche à la daurade (*Dicentrarchus labrax*), la sole (*Solea solea*) et d'autres variétés de poissons tels que le pageot, le petit loup et le marbré (Rouabah, 2003).

La biologie de la reproduction des Nereididae a été récemment étudiée en raison de leur valeur commerciale (Zribi, 2007 ; Rettob *et al.*, 2013), ce sont des vers gonochoriques qui ne

présentent pas d'organes génitaux bien différenciés, ils possèdent cependant des masses de cellules gamétiques libres dans le coelome et seront évacuées par simple rupture du tégument correspondant à l'épitoque (Golding et Yuwono, 1994) ; selon Andries (2001), contrairement aux espèces itéropares ces vers polychètes sont strictement semelpares, présentant une stratégie monothélique où la reproduction a lieu une seule fois durant leur cycle de vie, qui dure de un à trois ans selon les espèces ; cette stratégie implique des phases bien identifiées que sont le stockage de réserves énergétiques pour ensuite soutenir la reproduction.

Le processus de reproduction chez les vers marins est très divers. Chaque espèce a presque son propre mode de reproduction. Pour atteindre la reproduction, le phénomène de la maturation sexuelle consomme jusqu'à 75 % de l'énergie et du cycle de vie du ver. Ainsi, pendant cette maturation les gamètes sont issus de la prolifération des cellules péritoniennes. Ces cellules sont déchargées dans la cavité cœlomique en tant que gamétocytes primaires. La formation de gamète peut se produire le long de la cavité du corps ou seulement dans certains secteurs appelés le segment reproducteur.

Chez les Néréides, l'âge auquel les individus immatures entrent en gamétogenèse passent à la maturité et enfin à la reproduction qui est sous le contrôle des facteurs environnementaux tels que la température, la photopériode et le cycle lunaire (Hardege *et al.*, 1994), ainsi que le contrôle endocrinien, qui n'est pas bien élucidé. Généralement la reproduction sexuée du ver marin est liée à l'âge (mois) et à la période de marée.

Selon Desrosiers (1994), le déclenchement de la reproduction est intimement lié à l'effet combiné de plusieurs facteurs abiotiques tels que la phase lunaire et l'augmentation de la température de l'eau (Goerke, 1984) et que l'essaimage nuptial peut être relié aux conditions hydrodynamiques puisqu'il est maximal lors de la marée montante quand la surface de l'eau est calme. Ces conditions permettent aux individus de nager vers le haut de la plage. De cette façon les vers peuvent se reproduire dans la masse et l'abondance dans l'eau.

Chez quelque Néréidiens, la reproduction est semelpare et la fécondation est externe. Les géniteurs meurent dans les jours qui suivent l'essaimage et la libération des gamètes se fait par lyse de la paroi du corps (Prevedelli et Simonini., 2003). Sperme et oeufs sont alors déchargés dans l'eau simultanément. Lors de cette fécondation, des larves planctoniques seront formées (Rettob *et al.*, 2013).

Ainsi le cycle de développement et de reproduction de quelques annélides polychètes sont marqués par la dissémination de l'espèce. Ce cycle de reproduction sera ou non accompagné de modifications morphologiques selon la répartition géographique de ces espèces. Le suivi de ce cycle nous permet de préciser la période de reproduction et de mieux comprendre les mécanismes de la différenciation sexuelle.

Les organismes vivants ont la capacité unique d'extraire de l'énergie à partir de leur environnement, et de la transformer pour construire leurs propres matières. Chez les animaux, au moment où la nourriture prise excède la demande en énergie pour les processus

physiologique de l'animal, l'excès de cette énergie sera stockée, sous forme de glycogène et lipides (Ware, 2000 ; Durou et Mouneyrac, 2007), pour être utilisé plus tard pour survivre à la carence alimentaire, répondre aux exigences de maintenance, croissance, et reproduction, et dans les mécanismes de défense contre les facteurs de stress (Durou *et al.*, 2007). L'accumulation et l'utilisation des ressources organiques notamment les protéines, glucides, et lipides, revêtent une importance particulière (Rossi, 2002) ; surtout chez les polychètes semelpares intervenant dans l'influence de la physiologie énergétique sur le succès de la reproduction (Levin et Creed, 1986 ; Pellerin-Massicotte *et al.*, 1994 ; Luis et Passos, 1995 ; Cassai et Prevedelli, 1998 ; Durou *et al.*, 2005 ; Fidalgoe et Costa, 2003 ; Zera et Harshman, 2001,) ; la somme des efforts d'un individu au cours de son cycle de vie aboutit à un seul épisode de reproduction, après il meure ; ainsi le cycle de vie est un modèle d'allocation des ressources entre les fonctions somatiques, et celles de la reproduction étant transférées préalablement du tissu somatique vers le tissu germinale pour la reproduction afin d'alimenter la gamétogenèse (Barnes *et al.*, 1988; Olive *et al.*, 2000).

Faire face à un stress environnemental peut induire un ajustement physiologique compensatoire en terme de changement dans le métabolisme énergétique, qui lui même demande la majorité de la dépense de l'énergie de l'organisme (Durou *et al.*, 2008), une telle altération se traduit par l'ensemble des réponses de l'individu, au niveau de la croissance ; taux de mortalité ; période et succès de la reproduction (Postma *et al.*, 1995 ; Marchand *et al.*, 2004 ; Xie et Klerks, 2004). Mayer *et al* (2002) ont suggéré l'utilisation des niveaux des réserves métaboliques afin d'examiner les perturbations du métabolisme énergétique ; ainsi la teneur en protéines, glucides, et lipides a été largement utilisée comme biomarqueur indicatif de l'état de santé d'une variété d'organismes (De Coen et Janssen., 1997 ; Labarta *et al.*, 1999 ; Garcia-Esquivel *et al.*, 2001 ; Camacho *et al.*, 2003 ; Smolders *et al.*, 2004 ; Verslycke *et al.*, 2004)

Le vitellus désigne l'ensemble des réserves nutritives accumulées dans l'ovocyte au cours de sa croissance et utilisées par l'embryon pour assurer son développement. En fait, ce terme est plus généralement employé pour définir les réserves protéiques de l'œuf dont l'élément majeur a reçu le nom de vitelline. La vitellogenèse, mécanisme par lequel l'ovocyte se charge en réserves vitellines est un métabolisme essentiel dans le cadre de l'ovogenèse : la vitelline peut représenter de 60 à 90 % des protéines dans un ovocyte mature et son dépôt conditionne la croissance ovocytaire et la viabilité de la cellule. Sur le plan de l'origine, Le composant majeur du vitellus peut résulter d'une élaboration endogène (vitellogenèse autosynthétique) ou d'un apport de matériel extra ovocytaire (vitellogenèse hétérosynthétique). L'existence d'un processus mixte faisant intervenir les deux origines distinctes a également été postulée. Cependant la stratégie hétérosynthétique est la mieux déterminée et caractérise différents types d'organismes (Baert, 1986).

La vitellogénine est une glycoprotéine spécifique aux femelles, elle est le précurseur du vitellus (Harnish et White, 1982). Les cellules somatiques synthétisent et sécrètent dans le sang une protéine spécifique femelle sous l'influence d'une stimulation hormonale. Cette protéine, dénommée vitellogénine, est ensuite captée par l'ovocyte et s'incorpore dans les globules vitellins. Suite à son entrée dans l'ovocyte, la vitellogénine, susceptible d'être

modifiée, est alors appelée vitelline. Chacune de ces étapes a fait l'objet de nombreuses investigations, particulièrement chez les Arthropodes et chez les Vertébrés qui obéissent à cette organisation générale (Baert, 1986).

Actuellement les scientifiques et les gestionnaires de l'environnement envisagent des concepts plus spécifiques de biosurveillance de l'environnement marin reposant sur l'étude de la réponse biologique par la mesure de biomarqueurs chez des espèces bioindicatrice de pollution (Bouzeraa *et al.*, 2004).

La notion de biomarqueur est apparue et désigne les changements biochimiques, physiologiques et histologiques chez les organismes susceptibles d'être utilisés comme organisme sentinelle pour estimer soit l'exposition à des contaminants, soit les effets induits par la pollution (Lagadic *et al.*, 1997). Cependant, un biomarqueur se définit comme changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant (Lagadic *et al.*, 1997; Galloway et Depledge, 2001; Van der Oost *et al.*, 2003).

Parmi ces biomarqueurs, on peut citer, les enzymes de biotransformation comme la glutathion S-transférase (GST) (Stien *et al.*, 1998), les paramètres du stress oxydatif tels que le glutathion (GSH) (Souissi *et al.*, 2008), la superoxide dismutase (SOD) (Orbea *et al.*, 2000), la catalase (Stegeman *et al.*, 1992), la glutathion peroxydase (GPX) (Halliwell et Guetteridge, 1999), la peroxydation lipidique (Dotan *et al.*, 2004), la Métallothionéine (Viarengo *et al.*, 2000), les protéines de choc thermique (HSP) (Tiebskorn *et al.*, 1997; Minier *et al.*, 1999), les paramètres hématologiques (Van der Oost *et al.*, 2003), les paramètres immunologiques (Harford *et al.*, 2006), les paramètres endocriniens comme la vitellogénine (Hink *et al.*, 2007), les paramètres neuromusculaires tels que l'AChE (Kavitha et Venkateswara, 2007) et les paramètres génotoxiques (Winzinger *et al.*, 2007).

L'Acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme vitale pour le bon fonctionnement des systèmes sensorielles, et neuromusculaires, son inhibition a été largement utilisé pour témoigner l'exposition aux composés neurotoxiques spécifiquement les pesticides organophosphorés et carbamates qui l'inhibent de façon irréversible (Fossi *et al.*, 2001; Futon et Key, 2001) ; cependant plusieurs études effectuées confirment qu'elle est également sensible aux métaux (Bocquené *et al.*, 1997; Dellali *et al.*, 2001), ainsi qu'aux mélanges d'hydrocarbures (Payne *et al.*, 1996).

D'après Cajaraville *et al* (2000), la glutathion -S-transférase est l'enzyme dont l'activité est la plus utilisée comme biomarqueur de substances organiques, surtout chez les mollusques où l'activité EROD n'est pas mesurée. Des auteurs montrent que les glutathions S-transférases sont impliquées dans la détoxification de nombreux polluants chimiques: Hydrocarbures, insecticides organochlorés et PCB (Monod *et al.*, 1988 ; George, 1994).

Les outils de mesure de la biodiversité intra spécifique, sont généralement basés sur les caractères phénotypiques ou visibles des populations. Cependant, les mesures génétiques

s'avèrent souvent très utiles lorsqu'on cherche à distinguer des populations entre elles. L'étude comparative de deux formes épitoques de l'annélide polychète *Perinereis cultrifera*, présentes en Manche-Atlantique et en Méditerranée, met en évidence d'importantes différences morphologiques et biochimiques qui permettent de les différencier.

Selon Scaps et Rouabah (2001), *Perinereis cultrifera* est un annélide polychète à large répartition géographique. Selon la localisation géographique des populations, le mode de reproduction, l'âge de maturité et les caractéristiques biométriques varient fortement. A l'échelle géographique plus restreinte de la Manche-Atlantique et de la Méditerranée, la congruence des données d'ordre écologique, morphologique et biochimique indique que sous l'appellation de *Perinereis cultrifera* se dissimule un complexe d'espèce.

Les mêmes auteurs rapportent qu'à une échelle géographique plus restreinte de la Manche-Atlantique et de la Méditerranée et dans l'état actuel de nos connaissances, on peut donc émettre l'hypothèse que l'existence de deux stratégies de reproduction et de morphes distincts est l'aboutissement d'un mécanisme de spéciation reflétant l'histoire évolutive de populations. Cette hypothèse semble particulièrement bien étayée par les résultats d'ordre morphologique et biochimique que les auteurs ont obtenus lors de la comparaison des deux formes épitoques présentes en Manche et en Méditerranée. En effet, ils ont constaté d'importantes différences dans la morphologie et dans le nombre de paragnathes à la surface du proboscis

La congruence des données d'ordre écologique, morphologique et biochimique indique donc clairement que jusqu'à une révision plus poussée du complexe d'espèces *Perinereis cultrifera*, ce nom spécifique devrait être utilisé avec précautions de façon à éviter des comparaisons non justifiées d'études à caractère écologique ou biochimique conduites à partir d'individus issus de différentes régions géographiques, notamment si l'on cherche à développer l'élevage de ces individus.

Les coelomocytes sont considérés comme les seules cellules immunitaires chez les coelomates primitifs (Annélides, Mollusques). Ces cellules sont les leucocytes qui ont longtemps été considérées comme les cellules principales (non spécifique) du système de défense immunitaire innée de ces animaux (Hostetter et Cooper, 1972 ; Engelmann *et al.*, 2005). Divers termes ont été utilisés par les auteurs pour désigner ces cellules : Amœbocyte, lymphocytes-like (Dales et Dixon, 1981), les termes «Granulocyte» et «leocyte» (Romieu, 1923). Chez la famille des *Nereidae*, Baskin (1974) a introduit le terme de « granulocytes » pour les cellules ayant des granules denses.

La synthèse des données portant sur *Perinereis cultrifera*, révèle que la période et le mode de reproduction (atoquie ou épitoquie), l'âge à maturité et les paramètres biométriques varient fortement selon la localisation géographique des populations (Rouabah, 2003).

Ce travail s'intéresse à une des communautés appartenant à l'écosystème marin : les Annélides polychètes (modèle marin à intérêt environnemental et surtout commercial).

L'objectif de ce travail est de comparer les modes et périodes de reproduction, les caractéristiques biologiques, génétiques et immunologiques chez *Perinereis cultrifera* du littoral algérien et des côtes de la manche française afin d'évaluer la qualité des écosystèmes marins (niveau de pollution marine) et d'étudier la phylogénie et l'immunité de ces espèces jumelles.

Dans cette étude comparative de populations de *Perinereis cultrifera* présentes respectivement sur le littoral Est Algérien en Méditerranée et en Manche Atlantique, nous avons choisis six stations : trois stations localisées dans le littoral est algérien en Méditerranée : El Mordjène (El-Kala), Saint-Cloud (Annaba), Stora (Skikda) et trois stations au niveau des côtes de la manche française : Saint pabu, saint aubin, et Roscoff et cela, pendant la période qui s'étend de Janvier 2012 à Décembre 2013.

Ce présent travail effectué sur une espèce clé de la communauté benthique *Perinereis cultrifera* (Annélides, Polychètes) pendant la période citée ci-dessus a pour objectifs :

Dans un premier volet, une étude sur la reproduction grâce à trois approches : une approche écologique en évaluant les paramètres physico-chimiques (La température, l'oxygène dissout, la salinité, le pH), Les indices écologiques (l'abondance, la diversité), la biodiversité ainsi que la faune et la flore associées. Une approche morphométrique et biologique en évaluant plusieurs paramètres morphométriques (le poids, la taille, le nombre de sétigères, la différenciation sexuelle et le cycle reproducteur femelle). Une approche biochimique en évaluant l'activité vitellogénique (taux de vitellines et vitellogénines), l'activité nucléaire par l'analyse quantitative du contenu ovocytaire en acides nucléiques, l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase et la Glutathion S-transférase ainsi qu'une étude histologique du contenu coelomique.

Dans un deuxième volet, nous avons comparé entre deux populations de *Perinereis cultrifera* de la manche française et du littoral Est algérien sur le plan phénotypique (poids, taille et diamètre ovocytaire), sur le plan génétique en étudiant le gène mitochondrial *cyt-b* et sur le plan immunitaire en caractérisant les coelomocytes en souffrance.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Analyse écologique

2.1.1. Localisation et présentation des sites d'étude

2.1.1.1. Sites du Littoral Est algérien

Dans le cadre d'étude comparative des populations de *Perinereis cultrifera* Présentes respectivement sur le littoral Est Algérien en Méditerranée et en Manche Atlantique, nous avons choisi six sites : trois sites localisés dans le littoral algérien en Méditerranée : El Kala (Plage El-Mordjène), Annaba (Plage Saint-Cloud), Skikda (Plage Stora) et trois sites au niveau des côtes de la manche française : Saint Aubin sur mer, Roscoff, Saint Pabu. Cela pendant la période qui s'étend de Janvier à Décembre de l'année 2012.

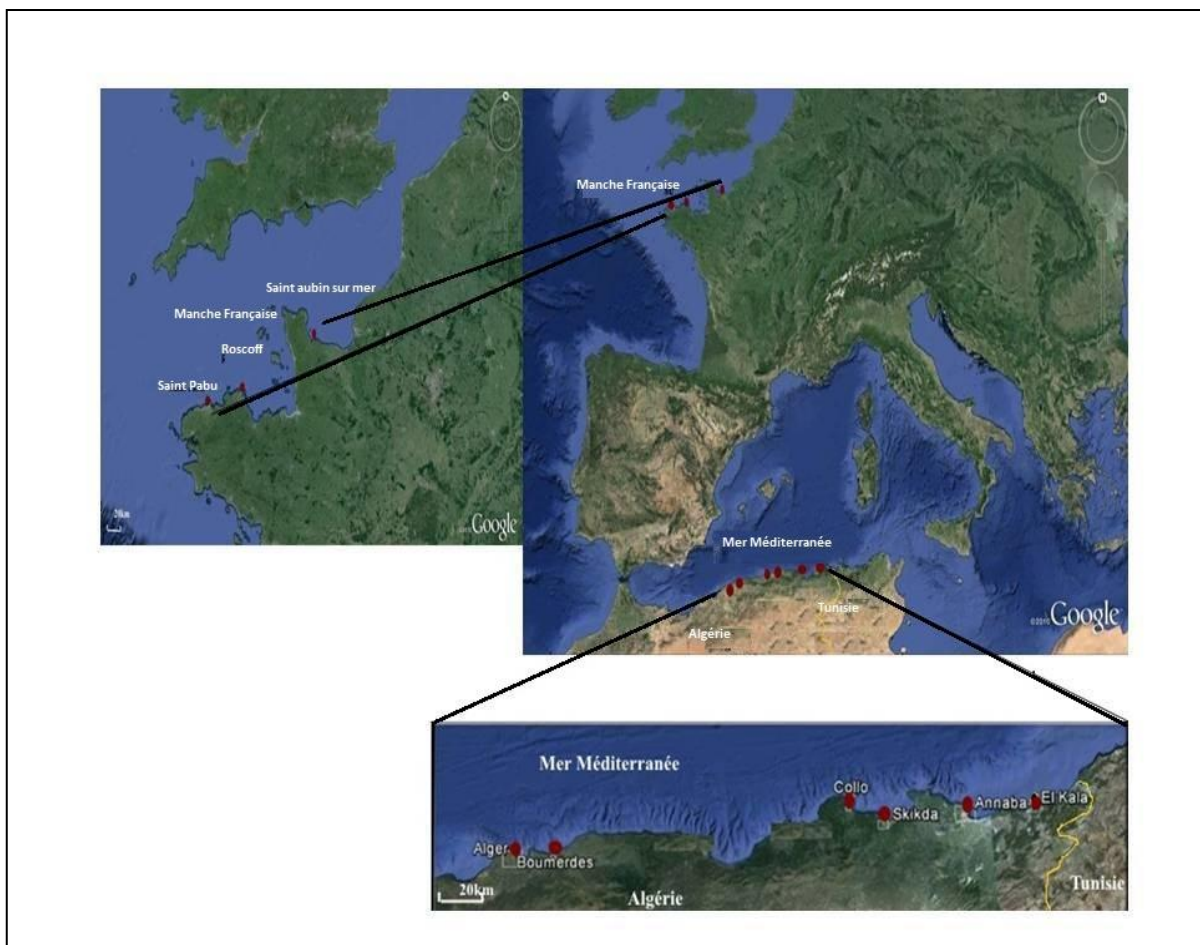


Figure 1. Localisation géographique des sites d'étude dans le littoral Est algérien (El -Kala, Annaba, Skikda et de la Manche Française (Saint aubin, Roscoff, Saint pabu) (Google Earth).

➤ Site d'El-Kala

El-Kala est une commune de la Wilaya d'El Tarf proche de la frontière Algéro-Tunisienne située à 20 km au Nord-Est d'El Tarf et 77 km à l'Est d'Annaba, se trouve à l'extrême Nord-Est d'Algérie sur une Latitude $36^{\circ}53'53.33''N$ et une longitude $8^{\circ}27'3.28''E$ (Figure 1).

Le prélèvement des échantillons s'est effectué au niveau du site d'El-Kala « plage El-Mordjène» (Figure 2) qui est éloignée des sources de pollution et donc a servi comme référence. Le site d'El-Kala comprend une belle mosaïque d'habitats, zone humide, terrestre et marine, classé réserve de la biosphère par l'UNESCO en 1990. Par sa nature particulièrement généreuse, cet ensemble d'écosystèmes abrite une faune et une flore très riches en termes de biodiversité.



Figure 2. Station d'étude « plage El-Mordjène » (El-Kala)

➤ Site d'Annaba

Le deuxième point de prélèvement est localisée au niveau de la plage Saint Cloud (Annaba) (Figure 3) qui se trouve à l'extrême Nord-Est d'Algérie sur une latitude $36^{\circ}54'5.79''N$ et une longitude $45^{\circ}22.20''E$, la Wilaya d'Annaba est située à 600 km de la capitale Alger, ouverte sur le littoral méditerranéen sur 80 km, à 152 km au Nord-Est de Constantine, à 246 à l'Est de Jijel et environ 80 km à l'Ouest de la frontière Tunisienne (Figure 1).

La région d'Annaba est considérée comme étant un pôle très important en Algérie par la présence du complexe d'engrais (FERTIAL), les unités laitières (ORELAIT), les unités métallurgiques (PROMETAL, SIDER) et le complexe sidérurgique d'El Hadjar qui sont les principales sources de pollution industrielle dans le site d'Annaba.



Figure 3. Station d'étude « plage Saint Cloud » (Annaba)

➤ Site de Skikda

Skikda se situe à l'Est du littoral Algérien; sur une latitude $36^{\circ}52'18.86''N$ et une longitude $6^{\circ}54'3.28''E$, se trouve à 105 km à l'Est de Jijel, à 65 km au Nord-Est de Constantine et à 72km à l'Ouest d'Annaba (Figure 1). La Station choisie pour cette étude est la plage « Stora » (Figure 4) qui est considérée comme polluée du fait qu'elle soit quotidiennement exposée aux divers rejets de polluants toxiques d'origine industrielle et urbaine.

Le littoral de Skikda est caractérisé par un trafic maritime intense ; des rejets urbains d'une grande ville ; et bien connu pour être affecté par les émissions de la zone industrielle pétrochimique. La pollution causée par le transport, la transformation et le stockage des hydrocarbures, et leurs dérivés. Ce tissu industriel dense implanté sur le littoral constitue un véritable danger pour l'environnement qui subit d'importants rejets de produits toxiques polluant l'air, l'eau, et le sol détruisant petit à petit la santé de ces écosystèmes.



Figure 4. Station d'étude « plage Stora » (Skikda)

2.1.1.2. Sites de la manche française

La Manche est un département français dans la région Basse-Normandie. Son nom provient du bras de mer qui le borde sur tout son pourtour nord et ouest, et le quart est. Elle est limitrophe des départements du Calvados, de l'Orne, de la Mayenne et d'Ille-et-Vilaine, sur 350 km de côtes (Figure 5).



Figure 5. Localisation géographique de la Manche Française (Google Earth).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Avec trois façades maritimes en 300 kilomètres de côtes, le climat manchois est fortement océanique : les hivers sont doux, avec une température moyenne de janvier comprise entre 4 °C et 7 °C du Bocagé vers le cap de la Hague, aux rares gelées, les étés tempérés, avec une température moyenne d'août de 17 °C environ. Ainsi. L'amplitude thermique journalière est entre 4 °C sur la côte et 7 °C dans les terres l'hiver, 5 °C à 12 °C l'été. La pluviométrie est importante (entre 120 et 160 jours de précipitations supérieures à 1 mm par an en moyenne), mais varie beaucoup en fonction des terroirs, entre 700 mm sur la côte et 1300 mm dans le bocage du sud. Les côtes ouest et nord bénéficient de l'influence adoucissante de la mer, permettant la naturalisation de beaucoup de plantes méditerranéennes ou exotiques (mimosas, palmiers, etc.), Le vent marin souffle régulièrement sur la côte, ce qui participe avec les marées à des changements de temps rapides dans une journée. Les forts coups de vent ou les tempêtes sont courantes.

➤ **Site Saint-Aubin-sur-Mer**

est située entre 49° 19' 45" Nord et 0° 23' 19" Ouest c'est une commune française, située dans le département du Calvados en région Basse-Normandie, 49° 19' 45" Nord 0° 23' 19" Ouest, (Figure 6).



Figure 6. Site de « Saint-Aubin sur mer

➤ **Site Roscoff**

est une commune française du Léon, dans le département du Finistère, en Bretagne. Sa position géographique est entre 48° 43' 38" Nord et 3° 59' 04" Ouest (Figure 7).



Figure 7. Site de « Roscoff »

- **Site Saint-Pabu** : est une commune du nord du département du Finistère, dans la région Bretagne, localisée géographiquement entre $48^{\circ} 33' 52''$ Nord et $4^{\circ} 35' 47''$ Ouest (Figure 8).



Figure 8. Site de « Saint-Pabu »

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

Pour mieux interpréter les résultats, il est nécessaire de connaître les facteurs naturels qui peuvent influencer la physiologie de l'espèce étudiée.

Ainsi, durant la période d'échantillonnage qui s'étale de Janvier à Décembre 2012 et à chaque sortie, les paramètres physico-chimiques de l'eau de mer ont été enregistrés sur terrain, à l'aide d'un multi paramètres (CONSORT C535). La température exprimée en degré Celsius (C°), la salinité et l'oxygène dissous en gramme par litre (g/l), et le pH ont été mesurés.

➤ **Hydrodynamisme**

La circulation générale des eaux marines en méditerranée occidentale régit et conditionne la distribution des facteurs biologiques, hydrologiques, chimiques, vaseux, etc. D'après Millot (1987), cette circulation apparaît avec la pénétration de l'eau d'origine

Atlantique. Cette eau entre dans le bassin algérien vers 0° sous forme d'une veine étroite de courant et longeant les côtes algériennes à l'est. Vers 1°E et 2°E elle devient instable. Le flux d'eau d'origine atlantique venant du détroit de Gibraltar vient rejoindre les côtes Algériennes aux environs d'Oran (ouest algérien) vers 0° d'où la grande influence du courant Atlantique sur la côte oranaise. Ce courant turbulent prend la dénomination de courant Algérien à cause de son caractère spécifique d'écoulement le long des côtes Algériennes (Millot, 1985).

La côte algérienne est caractérisée par 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 de salinité allant de 36,5 à 38 ‰.

Le long des côtes algériennes, l'eau atlantique modifiée décrit un écoulement plus ou moins stable avant de se diviser en deux branches. Dans le bassin algérien, l'eau atlantique modifiée pénétrerait (Millot, 1987; Benzohra, 1993) sous forme d'une veine de courant étroite qui donne naissance à des méandres et tourbillons côtier associés à des upwellings (Taupier-Letage et Millot, 1988). Ces derniers favoriseraient une forte productivité biologique et par conséquent, augmentation des capacités trophiques du milieu (Figure 9).

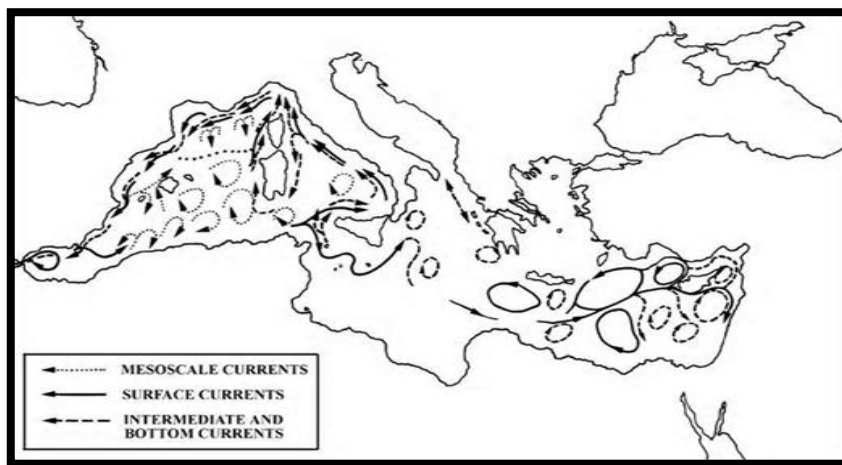


Figure 9. Eau de l'Atlantique entrant dans la Méditerranée et se dirigeant vers l'Est en passant par les côtes Algériennes (Millot, 1987).

2.1.3. Méthode d'échantillonnage et de récolte

Sur chacune des trois stations retenues, la macrofaune, la flore, et le sédiment associé ont été prélevés dans la zone intertidale, à marée basse, durant la période d'étude. La méthode d'échantillonnage est la même, inspirée des travaux de Rouabah et Scaps (2003). Elle consiste à déterminer une superficie de 1m² par quadrat (échantillonnage aléatoire simple), puis procéder à forcer les animaux à sortir de leurs galeries par l'utilisation de produits

MATÉRIEL ET MÉTHODES

chimiques, eau de javel ou KMnO_4 , en solution diluée respectivement à 10 % et 0,5 à 1 % dans l'eau de mer.

Les vers destinés à l'étude biologique et biochimique ont été collectés en douceur à la main, afin de ne pas les blesser, ces vers peuvent perdre accidentellement une partie de leur corps, et ont également la capacité d'autotomie suite à un stress comme la manipulation ; alors que les vers destinés à l'étude écologique ont été collectés par raclage des algues y compris la faune associée, soigneusement à l'aide d'un grattoir. Les récoltes (algues, animaux, sédiments) ont été gardées dans l'eau de mer du site d'origine, dans des sacs en plastique étiquetés, et transportés immédiatement dans une glacière au laboratoire.



(a)

(b)

Figure 10. Méthode de récolte par l'utilisation de l'eau de javel diluée (a), à l'aide d'un grattoir (b).

Par contre, au niveau de la Manche française, les individus ont été récoltés par une seule méthode : Les individus ont été extraits des blocs de calcaire après avoir été délités in situ au marteau (Figure 11).



Figure 11. Méthode de récolte dans la manche française.

Une fois au laboratoire, concernant l'analyse écologique, le matériel retenu est placé dans un plateau à fond blanc avec environ 2 cm d'eau de mer du site de collecte. Tous les

animaux sont extraits des algues et des sédiments dérivants ; triés par groupe zoologique ; ensuite conservés dans une solution de formol à 10 % dans l'eau de mer ; ils ont été examinés sous une loupe binoculaire (ZEISS STEMI DV4). Les espèces présentant difficultés de reconnaissance ont été identifiées ultérieurement en collaboration avec le Laboratoire d'Écologie numérique et d'Écotoxicologie (Université des Sciences et Technologies de Lille).

Pour les études biologique et biochimique, une fois identifiés, les vers appartenant à la famille des Nereidae et ce, grâce à l'observation de leur pharynx, qui se rétracte à l'intérieur comme réponse à la manipulation. Donc on doit les aider à évaginer la trompe réduite tout étant anesthésiés avec le formol, et si cela ne cause pas l'éversion, une légère pression a été appliquée à leur région pharyngienne derrière la tête ; les spécimens de *Perinereis cultrifera* ont été identifiés, et séparés des autres taxons, puis conservés.

2.1.4. Inventaire et biodiversité

L'apparition de la biodiversité dans le cadre de l'écologie des écosystèmes, assez récente et encore peu développée (Jones et Lawton, 1995), est actuellement l'une des voies de recherches les plus dynamiques (Schulze et Mooney, 1994).

Afin de déterminer l'espèce à étudier ainsi que la faune et la flore associée, une étude de la biodiversité des stations d'étude, El Mordjène, Saint-Cloud, et Stora a été effectuée. Tous les individus récoltés ont été identifiés et classés par groupe zoologique, particulièrement les Annélides polychètes en s'appuyant sur les traits taxonomiques de Fauvel (1923, 1927) qui se basent sur des mesures morphométriques (la taille, le poids, le nombre de sétigères), la couleur et le sexe des individus récoltés. Les seules parties du corps qui ne sont pas métamérisés sont la tête et le pygidium.

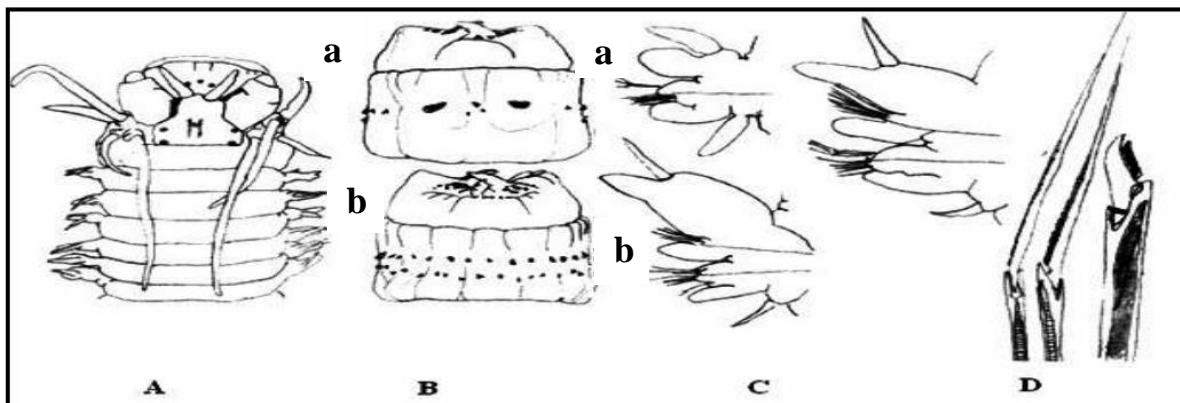


Figure 12. Les différentes parties taxonomiques

- A : segments Antérieurs constituant la tête.
- B : Répartition des paragnathes sur la face dorsale (a) et La face ventrale (b).
- C : Parapodes uniramés (a) et parapodes biramés (b).
- D : Soie chitineuse.

2.1.5. Aperçu sur la systématique des Annélides

Du latin *annelus* : petits anneaux, *Annelida* est un groupe des leuphotrochozoaires hyponeuriens à symétrie bilatérale, communément appelé vers segmentés ; avec plus de 16500 espèces décrites, répartis dans la plupart des habitats à travers le monde, marins, dulcicoles et terrestres (Struck *et al.*, 2007 ; Zrzavý *et al.*, 2009). Traditionnellement, en se basant sur des caractéristiques morphologiques (nombre de soies), les Annélides ont été classés en trois grands groupes, les Polychètes, les Oligochètes, et les Hirudinées ; si bien qu'il est maintenant clair que les Oligochètes, et les Hirudinées forment une seule classe dénommée Clitellates (McHugh., 2000 ; Rouse et Pleijel., 2006 ; Zrzavý *et al.*, 2009).

La plupart des polychètes ont des parapodes sur chaque segment, qui portent des soies, ainsi que sur la partie antérieure du corps, des structures ciliées sensorielles appelées organes de nuque. Ils présentent une grande diversité de formes, dans certains, les segments le long du corps sont d'une morphologie uniforme, tandis que dans d'autres les segments sont fusionnés (Rouse et Pleijel., 2001), pour former des régions spécialisées pour l'alimentation ou la respiration ou encore pour le développement de l'embryon (Fauchald et Jumars., 1979) ; en se fondant sur leur écologie, ces vers principalement marins, sont subdivisés en deux groupes :

Les polychètes errants (*Errantia*), qui nagent librement, ou vivent dans des galeries qu'elles peuvent quitter.

Les polychètes sédentaires (*Sedentaria*), qui vivent à l'intérieur de tubes de grains de sable agglomérés par du mucus qu'elles ne quittent jamais, et n'exposent que leur tête à l'extrémité du tube.

Les Clitellates sont reconnus par le biais du clitellum, une ceinture glandulaire impliquée dans la production des cocons, ils partagent également un système de reproduction complexe. La majorité des clitellates vivent en eau douce, et les habitats terrestres. Ils sont divisés en Oligochètes, qui comprend les vers de terre familiers, et aussi de nombreux groupes aquatiques, et les Hirudinées qu'on appelle parfois Achètes (dépourvus de parapodes et de soies), qui comprend les sangsues, et d'autres groupes parasites (Brusca et Brusca., 1990).

Actuellement la classification profonde de l'embranchement des Annélides reste non résolue (McHugh., 2000 ; Bartolomaeus *et al.*, 2005) ; des études récentes basées sur des analyses moléculaires, suggèrent qu'il peut inclure des groupes autrefois considérés distincts, et exclure d'autres, et que les Clitellates sont dérivés des polychètes (Westheide *et al.*, 1999 ; Struck *et al.*, 2007 ; Zrzavý *et al.*, 2009). Ces analyses moléculaires n'ont pas encore permis d'établir les relations entre les groupes des Annélides.

2.1.6. Indices écologiques

Un peuplement peut être caractérisé par sa composition taxonomique mais aussi par sa densité, sa richesse, sa diversité spécifique. Les indices suivants ont été déterminés dans cette présente étude :

- **Abondance (ni)** : c'est le nombre d'individus d'une même espèce.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

• **Richesse totale (S)** : c'est le nombre total des espèces recensées dans un peuplement (Blondel, 1975).

• **Richesse moyenne (s)** : c'est la moyenne des richesses stationnelles ou richesse par relevé. Ce paramètre exprime le nombre d'espèces les plus représentatives du milieu au sens de la fréquence de leur présence (Ramade, 1984).

• **La fréquence d'occurrence ou centésimale (F)** : c'est le pourcentage du nombre de relevés où une espèce est présente sur le nombre total de relevés. On considère qu'une espèce est accidentelle ($F < 25\%$), accessoire ($25\% < F < 50\%$), régulière ($50\% < F < 75\%$), constante ($75\% < F < 100\%$), omniprésente ($F = 100\%$).

$$F = \frac{r_i}{R} \times 100$$

r_i : nombre de relevés dans lequel l'espèce i est présente.

R : nombre total de relevés

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

$$H' = -\sum P_i \log_2 P_i$$

où

$$\begin{array}{l} i = n \\ P_i = \frac{n_i}{N} \\ i = 1 \end{array}$$

$$\log_2 P_i = \log p_i \times 3,322$$

n_i : effectif de l'espèce i .

N : effectif total du peuplement.

H' est exprimé en Bit (Binary digit = unité binaire d'information)

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

• **L'équitabilité ou équipartition** : Des peuplements à physionomie très différente peuvent ainsi avoir la même diversité. Il est nécessaire de calculer parallèlement à l'indice de diversité H' , l'équitabilité (E) en rapportant la diversité observée à la diversité théorique maximale (H' max) (Blondel, 1979).

$$E = H' / H' \text{ max}$$

où

$$\text{max} = \text{Log}_2 S$$

L'équitabilité varie de 0 à 1. Elle tend vers 0 quand la quasi-totalité des effectifs est concentrée sur une espèce, elle tend vers 1 lorsque toutes les espèces ont une même abondance, cas théorique dans la mesure où il existe toujours des espèces rares dans un peuplement (Barbault, 1981).

2.2 Analyse biologique

2.2.1. Présentation et identification du matériel biologique

L'Annélide polychète *Perinereis cultrifera* (Grube, 1948) est une espèce benthique ; caractérisée par une répartition géographique étendue (Rouhi *et al.*, 2008). L'aire de répartition occupe la Méditerranée, le nord-ouest de l'Europe, l'océan Atlantique, l'océan Indien, et le Pacifique (Fauvel., 1923 ; Durchon., 1957 ; Cazeaux., 1965 ; Wu *et al.*, 1985). En Algérie, elle est communément appelée « ver vert de roche », ou encore « ver à antennes et à pattes » ; elle est collectée à partir de substrats durs recouverts d'algues, de la zone intertidale, et vendus comme appât commercial pour la pêche sportive (Rouabah *et al.*, 2008 ; Younsi *et al.*, 2010).



Figure 13. *Perinereis cultrifera* prélevée du littoral Est -Algérien



Figure 14. *Perinereis cultrifera* prélevée de la Manche française

Selon le registre européen des espèces marines ERMS ; la classification de l'annélide polychète *Perinereis cultrifera* acceptée et citée dans Fauchald et Bellan (2009) est la suivante :

Règne : Animal
Embranchement : Annélides
Classe : Polychètes
Sous classe : Aciculata
Ordre : Phyllodocida
Famille : Nereidae
Genre : *Perinereis* (Kinberg, 1865)
Espèce : *Perinereis cultrifera* (Grube, 1840)

❖ Morphologie externe

En général le corps d'une annélide polychète comprend trois parties (Fauvel., 1923 ; Rouse et Pleijel., 2006 ; Glasby *et al.*, 2008), comme le montre la figure 14 :

▪ La région céphalique

Composée de deux unités, le prostomium (la tête proprement dite) avec deux palpes, deux antennes, et deux paires d'yeux noirs ; le péristomium situé autour de la bouche, et porte latéralement quatre paires de cirres tentaculaires. La trompe extroversé se termine par une paire de mâchoires brunes dentelées ; à la surface de cette trompe, il y a des petites denticules : les paragnathes, qui sont distribués sur des aires conventionnés par des chiffres romains allant de I à VIII (Figure 15).

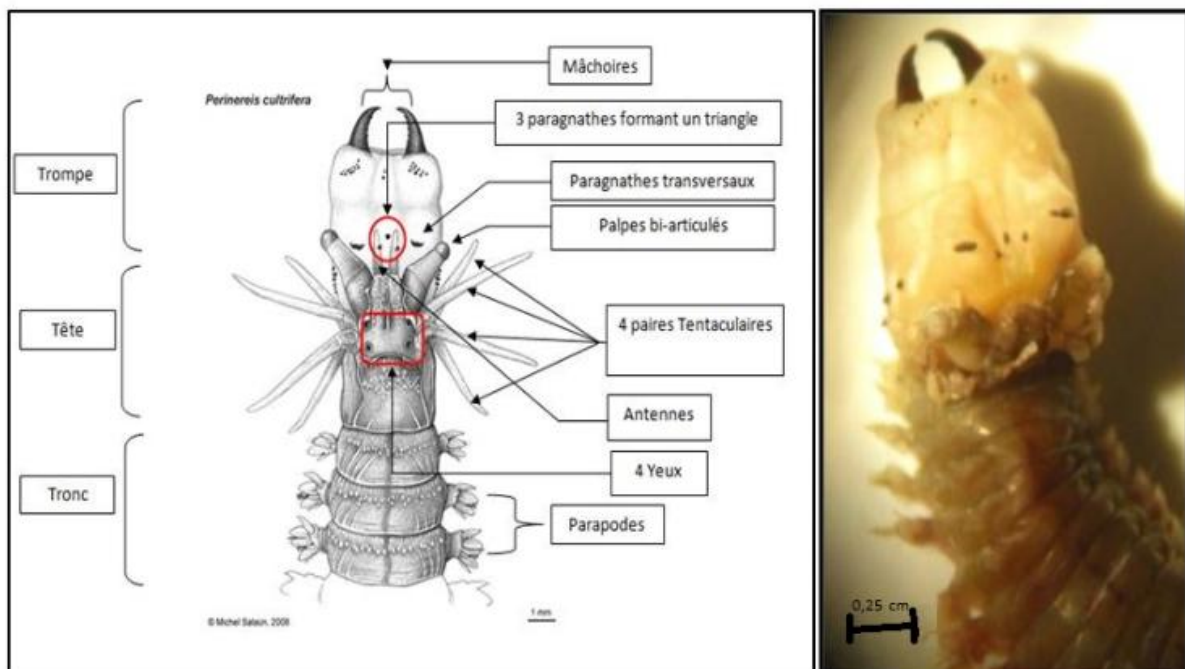


Figure 15. Morphologie externe de *Perinereis cultrifera* (x10).

▪ La région du corps

Est constituée d'unités répétées appelés métamères (ou encore sétigères) identiques arrangées le long de l'axe antéro postérieur, visibles extérieurement ; chaque métamère porte une paire de projections musculaires de la paroi du corps : les parapodes.

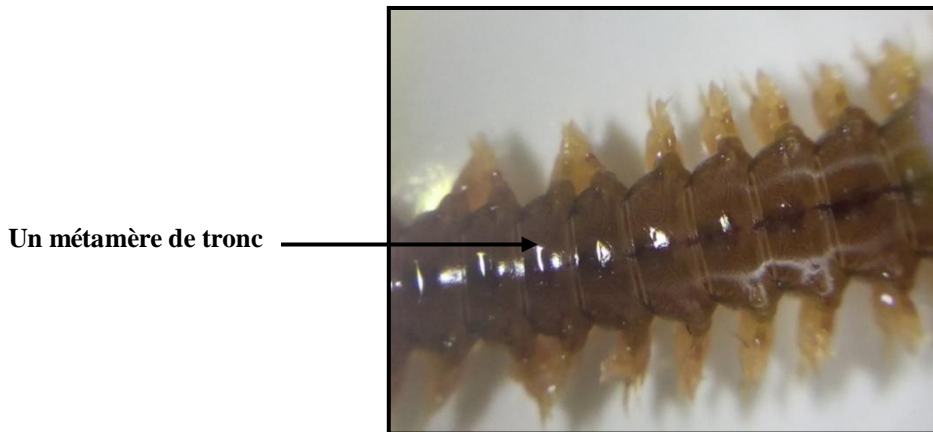


Figure 16. Région médiane de *P. cultrifera* montrant la métamérisation du corps (x 2,5).

Chaque parapode est constitué d'un lobe dorsal le notopode, avec un cirre dorsal, et un lobe ventral le neuropode, qui porte un cirre ventral, le parapode est donc dit biramé, à l'exception des parapodes des deux premiers sétigères qui sont uniramés (lobe dorsal uniquement).

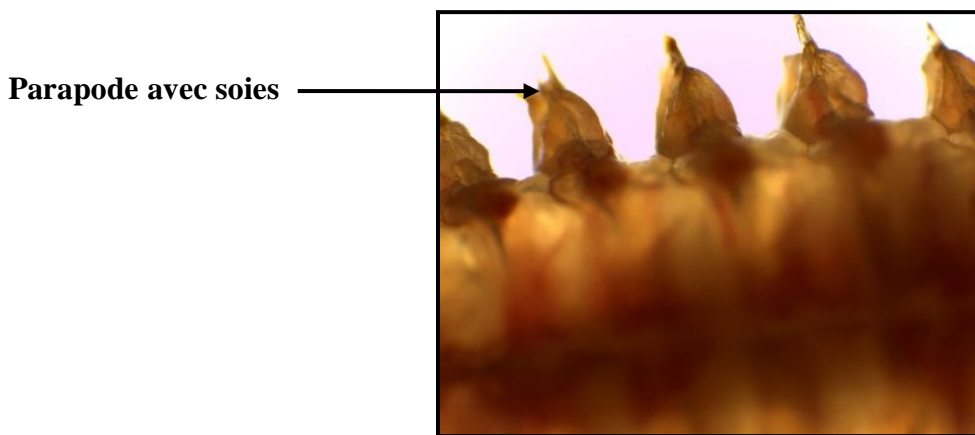


Figure 17. Les parapodes de *P. cultrifera* (x 16).

▪ Une région caudale

La queue est appelée pygidium, porte l'anus en position terminale, et deux cirres pygidiaux. C'est en avant du pygidium où se trouve la zone de croissance et de régénération, où les nouveaux métamères se forment, de sorte que le segment le plus jeune du corps est toujours le plus postérieur. Les seules parties du corps qui ne sont pas métamérisées sont la tête et le pygidium.

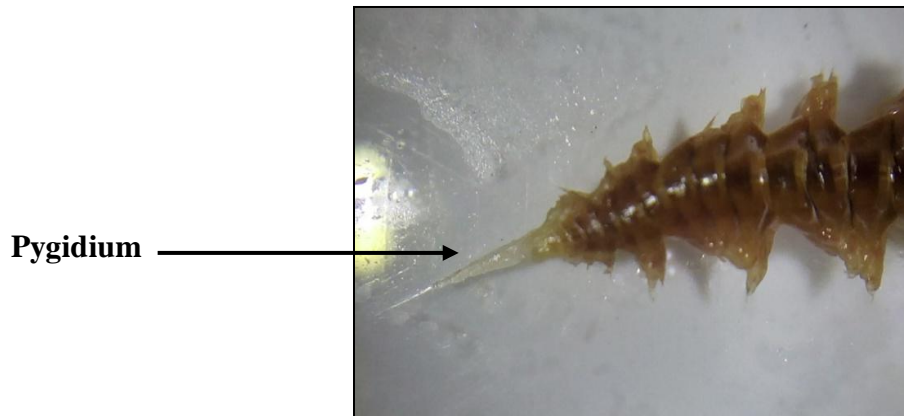


Figure 18. Partie postérieure de *P. cultrifera*, vue dorsale montrant le pygidium (x 8,5).

❖ Anatomie interne

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

Les produits génitaux sont situés dans le cœlome et flottent librement dans le liquide cœlomique où ils poursuivent leur développement. Arrivés à maturité, les produits génitaux seront libérés dans l'eau de mer où s'effectuera la fécondation. Les animaux ne survivent pas à la suite de l'émission des produits sexuels, ils sont donc dits semelpares.

Chaque lobe du parapode porte un faisceau de soies, appelées aussi notochaeta ou bien neurochaeta selon leur localisation sur le notopode ou bien le neuropode, et supporté par une acicule.

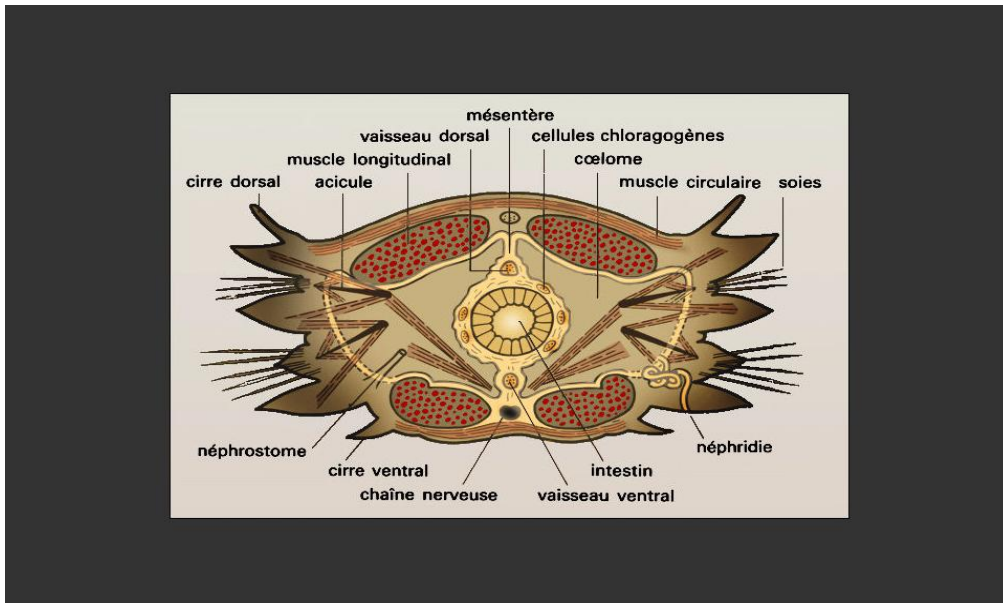


Figure 19. Coupe transversale schématique du segment moyen de *P. cultrifera* (Manaranche, 2015).

2.2.1.1. Critères d'identification

L'identification de notre matériel biologique est basée sur la forme et la répartition des paragnathes au niveau de la trompe (Figure 20 A), les caractères morphologiques des parapodes et la structure des soies (Figure 20 B).

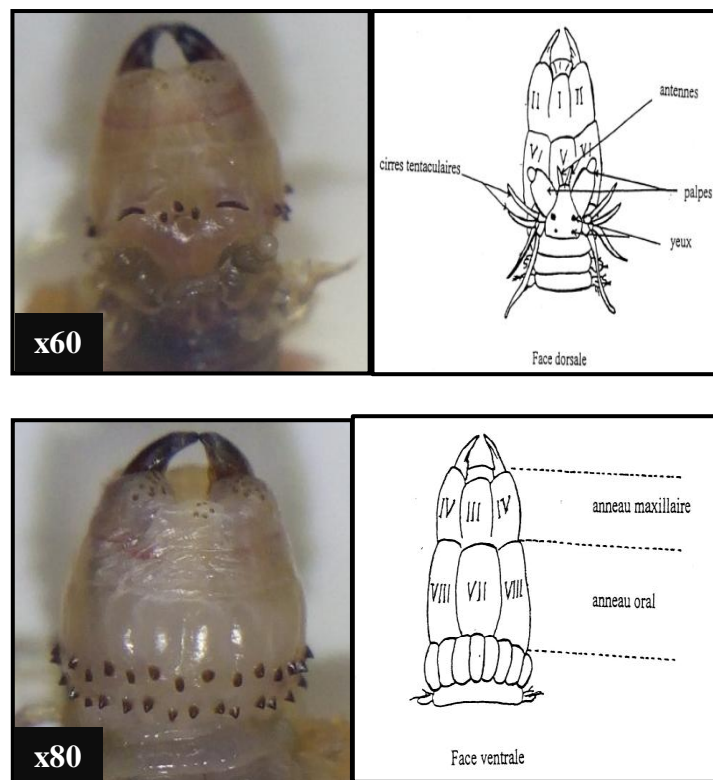


Figure 20 A. Traits taxonomiques d'identification de *P. cultrifera* (Fauvel, 1923)

- I: 1 à 3 paragnathes en ligne longitudinal
- II: Amas à rangs obliques
- III: Amas rectangulaires à 2 rangs
- IV: Amas triangulaires
- V: 3 en triangle
- VI: De chaque côté un gros paragnathe coupant transversal
- VII-VIII: Une double rangée transversale

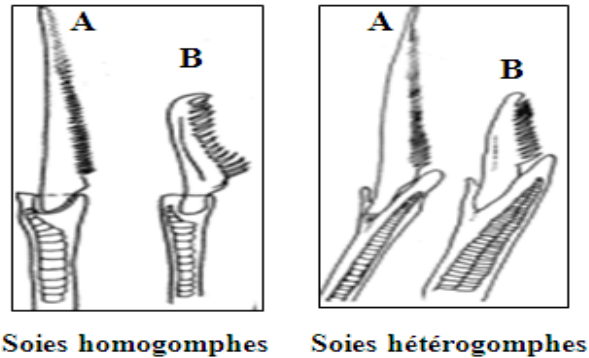


Figure 20 B. Traits taxonomiques d'identification de *P. cultrifera* (Fauvel, 1923).

A: Soies en épines (spinigères) B: Soies en serpes (falcigères)

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

Selon les traits taxonomiques de Fauvel (1923) basés sur la répartition des paragnathes au niveau de la tête sur la face dorsale et la face ventrale, la trompe est divisée en deux anneaux : terminal (I, II, III, IV) et oral (V, VI, VII, VIII), chacun est divisé en six lobes distingués par des chiffres romains.

Le lobe VI de chaque côté, un gros paragnathe en forme de barre transversale et le lobe V contient trois petits cônes disposés en forme de triangle, qui contribue dans la détermination du genre et de l'espèce, et les lobes VII et VIII, où une double rangée transversale de paragnathes forme ce qu'on appelle le double collier.

Les parapodes sont biramés à l'exception des deux premiers métamères, et portent des soies composés en arête hétérogomphe sur le notopode, et des soies en serpe homogomphe et en serpe hétérogomphe sur le neuropode.

2.2.2. Différentiation des sexes

Le sexe de tous les spécimens *P. cultrifera* échantillonnés a été déterminé par l'examen macroscopique du contenu coelomique à l'aide d'une binoculaire; une courte incision à l'aide d'un épingle à environ 30 sétigères derrière la tête de 3-4 mm de long a été faite au niveau de la ligne médio-ventrale du corps.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Selon l'absence, ou bien le type de gamètes présents dans le liquide cœlomique, trois catégories d'individus ont été identifiées :

Absence de gamètes : les vers sont dit indifférenciés, ou bien asexués. Cette classe correspond aux individus de petite taille qui n'ont pas encore acquis la maturité sexuelle.

Présence de gamètes sphériques de couleur jaune clair, les ovocytes, indiquant les femelles. Chez ces dernières matures et ayant une grande taille, les ovocytes sont clairement visibles à travers la paroi du corps.

Visualisation des amas spermatiques, ou celles de spermatozoïdes, de couleur blanc laiteux correspond aux mâles. Le sperme est mieux observé lorsque les vers sont placés sur un fond noir.

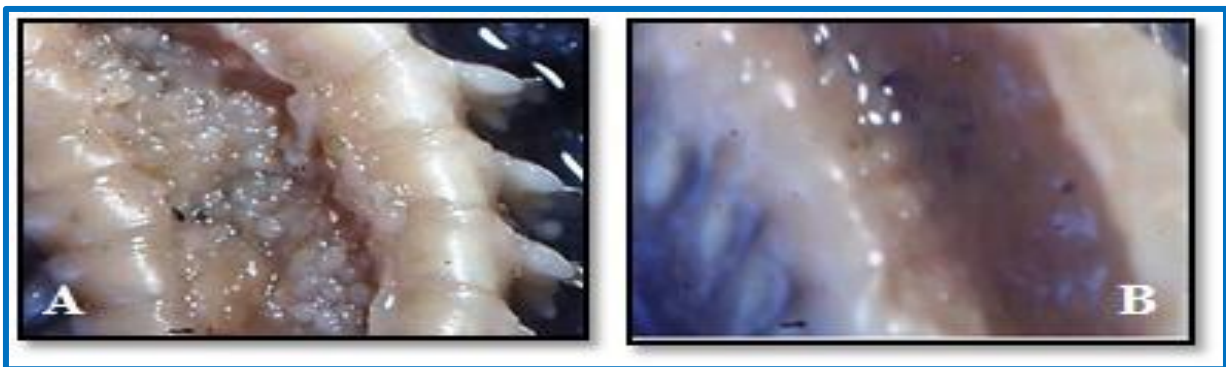


Figure 21. Différentiation des sexes chez *Perinereis cultrifera* par visualisation des cellules germinales, ovocytes (A) (Gx16), amas spermatiques (B) (Gx8).

2.2.3. Paramètres morphométriques

Après prélèvement des ovocytes des femelles de *P. cultrifera* récoltées à partir des sites d'étude, différents paramètres biométriques ont été considérés à savoir : la taille (cm), le nombre de sétigères, le poids corporel (g) et le diamètre ovocytaire (μm). Les différentes mensurations ont été déterminées à l'aide d'une loupe munie d'un micromètre préalablement étalonnée.

2.2.3.1. Diamètre ovocytaire

Afin de déterminer le diamètre ovocytaire moyen (μm), d'une trentaine d'ovocytes au maximum ; à l'aide d'un microscope photonique (OLYMPUS CH 20) muni d'un micromètre étalonné. Huit plus grandes femelles de chaque récolte ont été mensuellement sélectionnées.

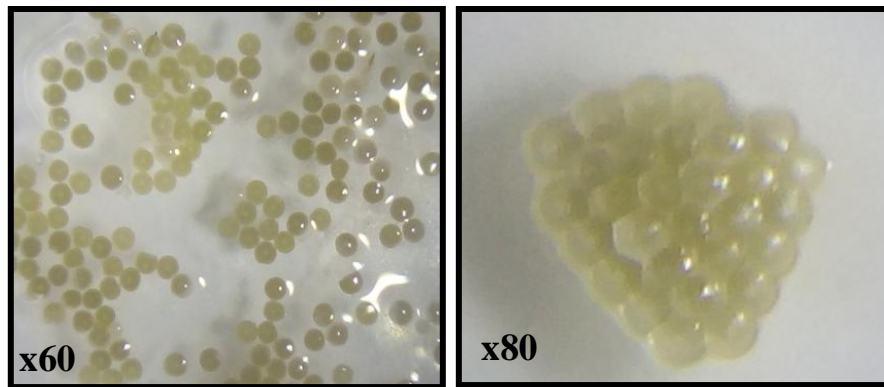


Figure 22. Aspect naturel d'une ponction cœlomique chez *Perinereis cultrifera* montrant des ovocytes.

Suite à une dissection de ces dernières sur une lame et sous un microscope performant spécialisé lié à un ordinateur « Leica suite lazerleica dm 500 », l'observation microscopique montre des cellules sphériques sombres de diamètres différents : se sont les ovocytes.

2.2.4. Reproduction et Développement

2.2.4.1. Cycle de développement

La représentation schématique du cycle de vie de *P. cultrifera* donnée (figure 23) , montre qu'il est marqué par deux phases, semi-pélagique brève, et benthique ; les œufs sont de grande taille, lecitotrophes ; la segmentation est spirale aboutit une larve ciliée, la trochophore qui présente une couronne ciliaire peu développée, se développe en métatrochophore. L'éclosion a lieu au stade erpochète de 3 sétigères, à la fin de la phase semi-pélagique, la larve devient sédentaires au stade erpochète de 4 sétigères, perd la couronne ciliaire, et acquiert des habitudes benthiques, le jeune ver benthique de 10 à 11 métamères a le même style de vie que les adultes, migre vers le bas durant la phase de croissance, et de différenciation sexuelle, où il accomplit les modifications morphologiques de l'épitoquie (Rouabah., 2003). D'après Prevedelli et Simonini (2003) chez *P. cultrifera*, les œufs fécondés ont tendance à s'agglutiner pour former une grappe, et s'adhèrent à un substrat, également les larves produisent une substance collante qui les ancre sur un substrat, et les empêche d'être emportés dans la mer ouverte par l'action de la marée.

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

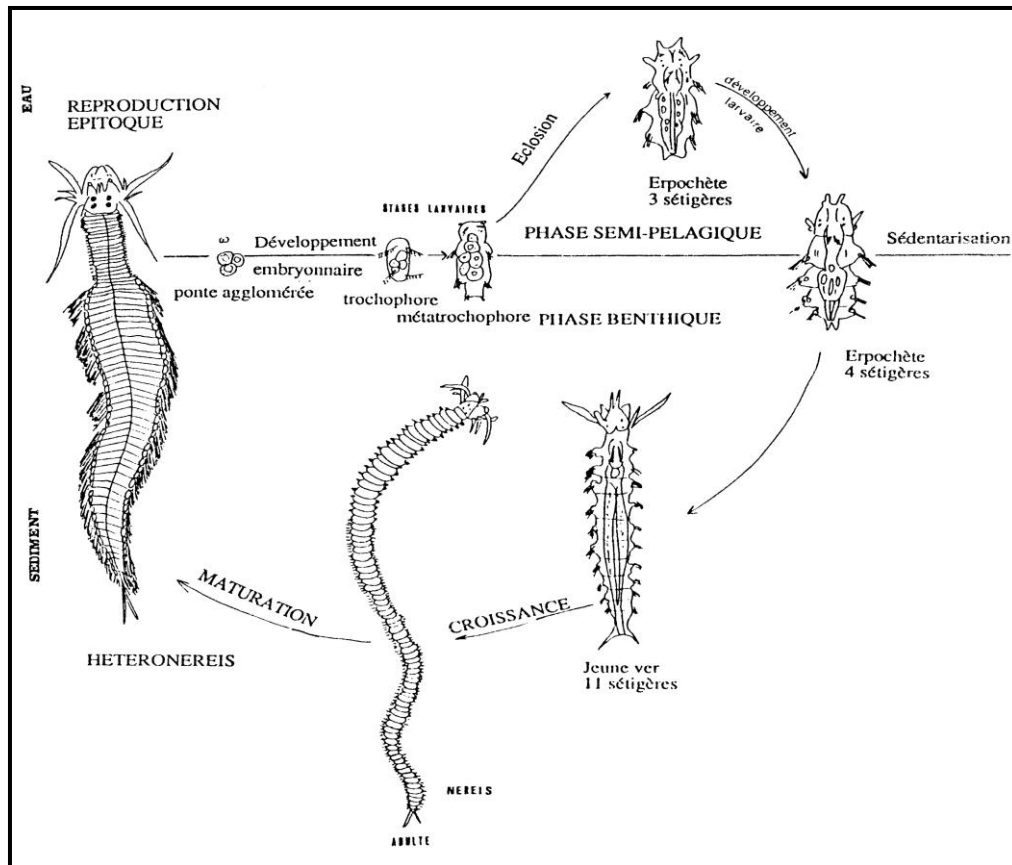


Figure 23. Cycle de vie du modèle biologique *Perinereis cultrifera* (Rouabah, 2003).

2.2.4.2. Reproduction

Perinereis cultrifera est une espèce gonochorique, les géniteurs produisent donc des gamètes mâles et femelles ; comme d'autres Nereidae, les gonades n'ont jamais été localisées (Andries, 2001).

La reproduction se fait par gamétogénèse (ovogénèse et spermatogénèse), les cellules germinales mâles et femelles submatures, au cours d'une "danse nuptiale", rejettent alors leurs gamètes dans l'eau de mer (essaimage) et se développent flottant librement dans le liquide cœlomique (Eckelbarger, 2005, 2006 ; Rouse, 2006) qui est une enveloppe nutritive pour la croissance des ovocytes (Hoeger *et al.*, 1999).

La gamétogénèse comprend deux phases, une phase de division ou de prolifération durant laquelle les gonies se divisent par mitose donnant naissance à des ovocytes ou de spermatocytes, une phase de différenciation ou de développement aboutissant à des gamètes matures.

En se basant sur les données bibliographiques (Andries, 2001 ; Lawrence et Soame, 2010), la croissance des ovocytes chez les Nereidae se produit dans une période de temps prolongée durant laquelle ils vont subir une croissance très lente, suivie par une croissance rapide et

terminée par une différenciation d'ovocytes matures ; quatre phases successives de l'ovogénèse sont généralement décrites (Baert, 1986) :

A) Pré-vitellogenèse nommée aussi une première croissance

Commence immédiatement après la prophase de méiose. Les jeunes ovocytes montrent alors un cytoplasme trèsbasophile, sans aucune inclusion, mais dont le volume s'accroît par rapport à celui du noyau. Les formations de réticulum subissent un certain accroissement. Ce stade coïncide avec le début de la période d'accroissement des ovocytes (Baert, 1986).

La croissance ovocytaire s'échelonne sur deux ans environ pour le genre *Perinereis*. Pendant cette période d'accroissement, la taille de l'ovocyte augmente considérablement : de 30 à 40 μm , les cellules atteignent un diamètre supérieur à 200 μm à la maturité. Cette croissance n'est cependant pas constante en fonction du temps. Au début de la première année de la croissance ovocytaire, les jeunes ovocytes de *p. cultrifera* présentent un diamètre moyen de 40 μm . Dans un premier temps (première année) le développement de ces cellules est relativement faible : leur diamètre double pour atteindre environ 80 μm . Une augmentation de taille considérable est observée durant la deuxième année de croissance et plus particulièrement pendant les mois d'hiver (décembre à mars). Ainsi les ovocytes matures atteignent une taille proche de 260 μm (Baert, 1986).

B) Vitellogenèse ou synthèse du vitellus

Il recouvre donc la période de croissance dite "lente" de l'ovocyte. Durant cette étape du développement ovocytaire, la cellule germinale femelle accumule des substances de réserve, le vitellus et destinées au développement embryonnaire. Ces éléments de nature essentiellement glycoprotéique se présentent sous la forme de granules qui sont encore rares dans l'ovocyte jeune (Dhainaut, 1970a). Par contre, lorsque la cellule atteint un diamètre de 50-60 μm , le nombre de globules vitellins s'accroît considérablement ; dans le même temps, des globules lipidiques apparaissent et s'accumulent également dans le cytoplasme. Dans le cytoplasme d'un ovocyte en vitellogenèse, les formations membranaires (réticulum endoplasmique et appareil de Golgi) se localisent essentiellement dans la zone corticale de la cellule (Baert, 1986).

C) Corticogénèse ou synthèse des alvéoles corticaux

Il correspond à la période de croissance ovocytaire "rapide" qui s'échelonne sur les mois d'hiver précédant la reproduction, d'où la dénomination "stade du grand accroissement". Pendant le grand accroissement, l'ovocyte "submature" voit apparaître et se développer un nouveau type d'inclusion cytoplasmique : les alvéoles corticaux. Ceux-ci, délimités par une membrane et présentant un aspect très fibreux, apparaissent entre les globules vitellins et lipidiques et se trouvent disséminés dans tout le cytoplasme jusque dans la zone péri nucléaire.

D) Maturité

A ce stade cytologique, aucune inclusion cytoplasmique nouvelle n'apparaît. La cellule germinale semble cesser la synthèse de ses substances de réserve. Par contre un profond

remaniement des structures cytoplasmiques s'effectue. Les alvéoles corticaux migrent vers le chorion cellulaire et constituent une gangue muqueuse épaisse de 40 à 50 µm. Les ribonucléoprotéines se concentrent en une auréole péri nucléaire contenant quelques lames de réticulum allongées et des mitochondries localisées au stade précédent à proximité des dictyosomes. Le vitellus occupe une position intermédiaire ainsi que les lobules lipidiques. Les corps de Golgi se retrouvent quant à eux à l'intérieur de la couche muqueuse et présentent une activité phosphatase acide (Porchet, 1974).

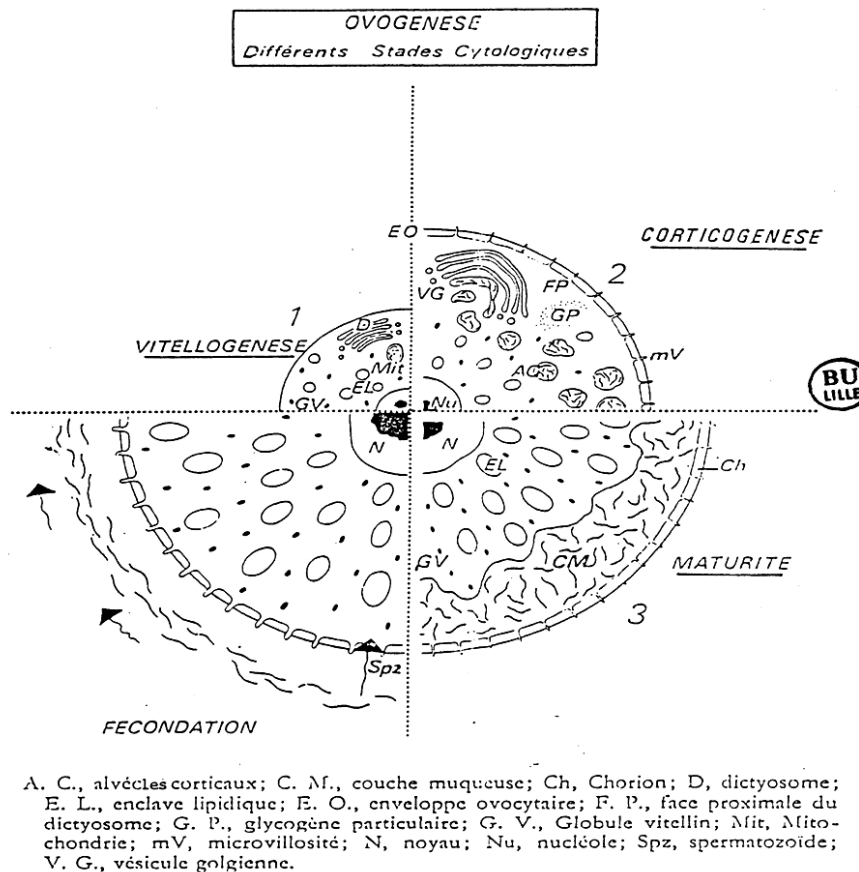


Figure 24. Représentation schématique de stades cytotogiques de l'ovogénèse de *Perinereis cultrifera* (Porchet, 1974).

Bien que chaque espèce présente des caractéristiques particulières, il est possible de distinguer ces différents stades dans le développement des ovocytes quel que soit le type de Néréidien étudié (Dhainaut, 1970 a, b ; Porchet, 1976).

2.2.5. Cycle ovogénétique

2.2.5.1. Ovogénèse

Par ailleurs, on peut rencontrer deux types fondamentaux d'ovogénèse : Une ovogénèse extra-ovarienne où les cellules germinales quittent l'ovaire précocement, au cours de la pré-

MATÉRIEL ET MÉTHODES

vitellogénèse, et subissent l'ovogénèse dans le cœlome, et une ovogénèse intra-ovarienne où les ovocytes restent dans l'ovaire, où se déroule la plus grande partie de la vitellogénèse.

Ces derniers, une fois évacués dans le liquide cœlomique, vont subir un accroissement et la différenciation. Enfin, l'ovogénèse peut être asynchrone, comme le cas de la plupart des Polychètes, telle que *Perinereis cultrifera* (Gasmi, 2010 ; Snani *et al.*, 2015). ou synchrone telle que *Platynereis dumerilii* (Fischer *et al.*, 2004) et dans ce cas, chez le même individu, les ovocytes se trouvent au même stade de vitellogénèse.

A la fin de la gamétogénèse, la maturité sexuelle se traduit par des modifications morphologiques et anatomiques caractéristiques de l'épitoque ainsi on assiste à une augmentation de la taille des yeux, un élargissement des parapodes, formations de soies hétéronéroidiennes disposées en éventail (Bauchot-Boutin et Bobin, 1954), modifications musculaires dans les segments correspondants à l'exception du 19 ou 20^{ème} segment antérieur où ils sont tassés les uns contre les autres, ce qui rend l'animal plus court, plus large et aplati à épitoque médiane et postérieure (Durchon, 1967).

Cette métamorphose permet à l'animal, qui devient hétéronérien une adaptation à une vie pélagique courte (Herbert *et al.*, 2008) afin de nager vers la surface au moment de l'essaimage qui s'effectue à des périodes bien déterminées avec le cycle lunaire (Gambi *et Cigliano*, 2006) caractérisé par ce qu'on appelle la danse nuptiale.

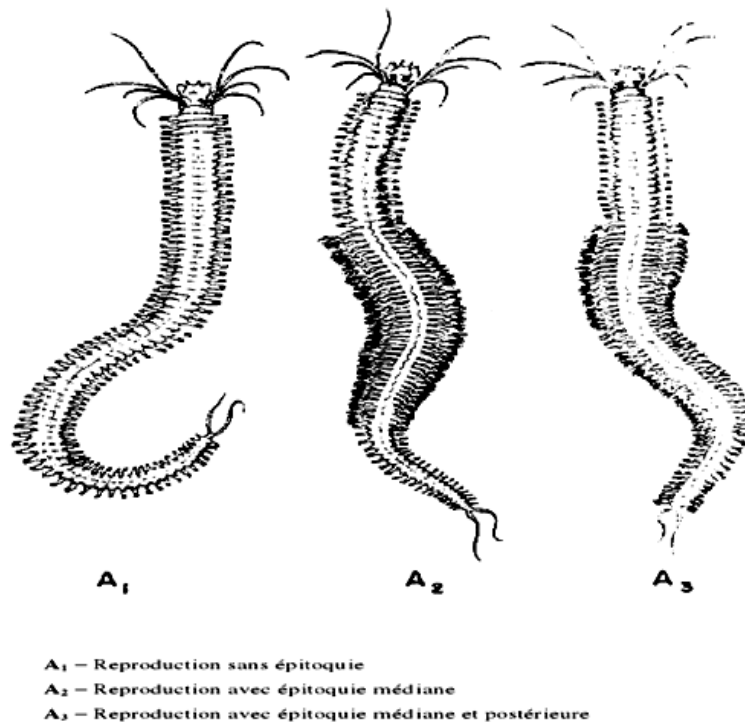


Figure 25. Mode de reproduction chez les Nereidiens (Durchon, 1967).

La fécondation est externe, la reproduction chez *P. cultrifera* est strictement simple, les géniteurs meurent dans les jours qui suivent l'essaimage et l'évacuation des gamètes se fait par lyse de la paroi du corps (Prevedelli et Simonini, 2003).

Chez les Nereidae, l'âge auquel les individus immatures (atoquie) entrent en gamétogénèse passent à la maturité et enfin la reproduction est sous le contrôle de facteurs environnementaux (en plus du contrôle endocrinien) tels que la température, la photopériode et le cycle lunaire (Hardege *et al.*, 1990 ; Olive *et al.*, 1997 ; Andreis, 2001 ; Lawrence et Somae, 2010).

L'observation des données sur les populations qui ont été étudiées sur le littoral Algérien montre que le mode de reproduction, et la durée de vie, diffèrent selon la localisation géographique, à Alger la durée de vie des individus ne dépasse pas probablement deux ans, et se reproduisent par atoquie, (Rouabah *et al.*, 2008) ; tandis qu'à Annaba, Rouabah et Scaps (2003) indiquent qu'ils ont une durée de vie de trois ans, et se reproduisent par épitoquie.

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

Zghal et Ben Amor (1989) rapportent que les caractéristiques biométriques permettent de distinguer trois types morphologiques :

- ◆ - la forme épitoque de la Manche et de l'Atlantique caractérisée par son poids important et son grand nombre de sétigères (plus de 120),
- ◆ - la forme atoque de la baie d'Alger constituée d'un faible nombre de sétigères (moins de 80),
- ◆ - la forme épitoque de Salammbô en Tunisie, intermédiaire entre les deux formes précédemment décrites.

2.2.5.2. Vitellogénèse

Chez les Annélides Polychètes notamment l'espèce *P.cultrifera*, l'accumulation de protéines totales est exogène ; la vitelline se produit au cours de la deuxième étape de l'ovogénèse « la corticogénèse » qui suit l'étape de la vitellogénèse. En outre, les résultats des études métaboliques *in vitro* montrent une augmentation progressive du taux de sécrétion de vitellogénines (le précurseur) nouvellement synthétisées par les coelomocytes, qui produisent cette protéine jusqu'à la fin de la croissance des ovocytes.

Ainsi, contrairement aux résultats des précédentes études cytologiques et autoradiographiques, les données actuelles indiquent clairement que le processus de vitellogénèse est actif non seulement pendant la phase de vitellogénèse, mais aussi tout au long de la corticogénèse (Baert *et al.* 2011). La vitellogénine synthétisée est incorporée dans les ovocytes après le transfert par le biais du fluide coelomique. Dans les cellules germinales, un processus de conversion, impliquant des clivages protéolytiques de la vitellogénine, produit des vitellines matures qui sont accumulés dans les granules vitellins (Maurice *et al.* 2011).

2.3. Analyse biochimique

2.3.1. Le liquide cœlomique et ses constituants

Coel signifie cavité, chez un animal coelomate, le mésoderme se creuse d'une ou de plusieurs cavités, ces dernières sont complètement entourées de mésoderme ; ce sont les cavités cœlomiques. L'ensemble des cavités cœlomiques d'un individu forme le cœlome.

Le cœlome confère plusieurs avantages aux animaux. Il laisse un espace où les organes peuvent croître. Le fluide qu'il contient facilite la circulation, et peut servir à tamponner les variations de températures et à absorber les chocs. Il permet de construire un squelette hydrostatique efficace. Le fluide qui baigne les organes internes peut être filtré pour éliminer les déchets métaboliques. Enfin, il permet au tube digestif de se mouvoir indépendamment du corps de l'animal.

D'après Fontaine (1982), chez les Annélides Polychètes, la cavité générale ou cœlome, est spacieuse. Elle est tapissée intérieurement, ainsi que tous les organes qu'elle renferme, par un endothélium péritonéal qui est une très mince membrane à cellules aplaties. Cette membrane péritonéale forme un mésentère dorsal et un mésentère ventral soutenant le tube digestif. Elle présente des régions plus ou moins abondamment garnies de cils vibratiles qui déterminent des courants dans la lymphe périviscérale (ou liquide cœlomique). La cavité générale est distincte de l'appareil circulatoire qui est clos, sang et liquide cœlomique ne se mélangeant pas. C'est dans cette cavité générale que va s'accomplir la maturation des produits génitaux qui se détachent précocement, y flottent en grande quantité. Mais outre les gamètes, on trouve aussi d'autres cellules : des Protozoaires parasites et surtout une catégorie de cellules cœlomiques particulièrement intéressante, les éléocytes.

Ces éléocytes se sont vus attribués différents noms : lymphocytes, leucocytes, amibocytes, phagocytes, granulocytes, cellules chloragogènes ... (Fauvel, 1959). Mais on a pu montrer, notamment chez *Sabella spallanzani* et *Amphitrite johnstoni* (Dales, 1961, 1964), que ces cellules constituent les étapes de la vie d'un même type cellulaire, c'est Romieu (1923) qui a employé le premier le terme d'éléocytes, car il avait observé dans ces cellules des gouttelettes colorables au Soudan III et au Tetroxyde d'osmium, donc riches en graisses non saturées.

Dans notre étude il serait plus correct de parler de cœlomocytes, terme plus général qualifiant tous les éléments libres du cœlome autres que les gamètes.

C'est dans le milieu intérieur chez les Annélides Polychètes où se fait la maturation des gamètes. Comme a pu l'écrire Porchet (1974) au moment de la reproduction, le corps des *heteronereis* est presque réduit à l'état d'un sac bourré de produits génitaux mûrs. Ainsi, remarque-t-il, chez les *Perinereis cultrifera* épitoques le contenu cœlomique des femelles (ovocytes, liquide cœlomique et cœlomocytes) représente plus de la moitié du poids total de l'animal, alors que le "cœlome" du ver sexuellement indifférencié n'en constitue que 10% environ.

Durchon et Lafont (1951) notent que la multiplication et la maturation des cellules germinales, aux dépens des éléocytes, s'accompagnent de changements importants dans la composition chimique du liquide cœlomique.

2.3.2. Séparation des constituants cœlomiques

Toutes les opérations portant sur l'animal sont faites selon les techniques de Durchon (1955). Le contenu cœlomique de *P. cultrifera* est prélevé par ponction intracœlomique. Les ponctions sont effectuées par des micropipettes (La pipette Pasteur), dont nous veillons à ce que l'extrémité soit suffisamment effilée, est introduite dans le cœlome. Le contenu cœlomique monte de lui-même dans notre micropipette, tant par capillarité que sous l'effet de la pression intracœlomique. Le contenu cœlomique ainsi prélevé est constitué du liquide cœlomique, d'ovocytes, d'éléocytes et d'autres cellules. Il nous faudra donc séparer ces différents éléments, nous avons utilisé la méthode de séparation des constituants cœlomiques décrite par Porchet (1974).

Une première centrifugation nous donne un culot constitué par les éléments figurés, le surnageant étant le liquide cœlomique. Nous recueillons ce liquide cœlomique.

Le culot subit ensuite 4 lavages à l'eau de mer. A chaque lavage on effectue une légère centrifugation: chaque fois le surnageant est recueilli. Finalement on obtient un culot d'ovocytes.

Un examen cytologique peut nous permettre de nous assurer que le culot ovocytaire est débarrassé de tout autre élément figuré, c'est la "fraction ovocytaire" ou "ovocytes".

2.3.3. Prélèvement des tissus

Pour chaque population de *P. cultrifera* après mensuration, pesée, identification du sexe, et avant conservation, un échantillon de trois femelles à poids similaire a été sélectionné immédiatement, et sera destiné aux analyses biochimiques.

2.3.4. Extraction des métabolites ovocytaires

L'extraction des métabolites ovocytaires de *P. cultrifera* a été réalisée selon le procédé de Shibko *et al* (1966). Les ovocytes sont broyées aux ultra-sons (Sonifier B-30) et centrifugés (5000 tours/mn pendant 10mn), le surnageant I est récupéré et servira au dosage des glucides. Au culot I, on ajoute 1 ml d'un mélange éther/ chloroforme (V/V) et une deuxième centrifugation (5000 tours/mn pendant 10 mn) permet de récupérer le surnageant II qui permettra le dosage des lipides ; le culot II sera ensuite repris dans 1 ml de NAOH (0,1N) pour l'estimation des protéines totales (Figure 26).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

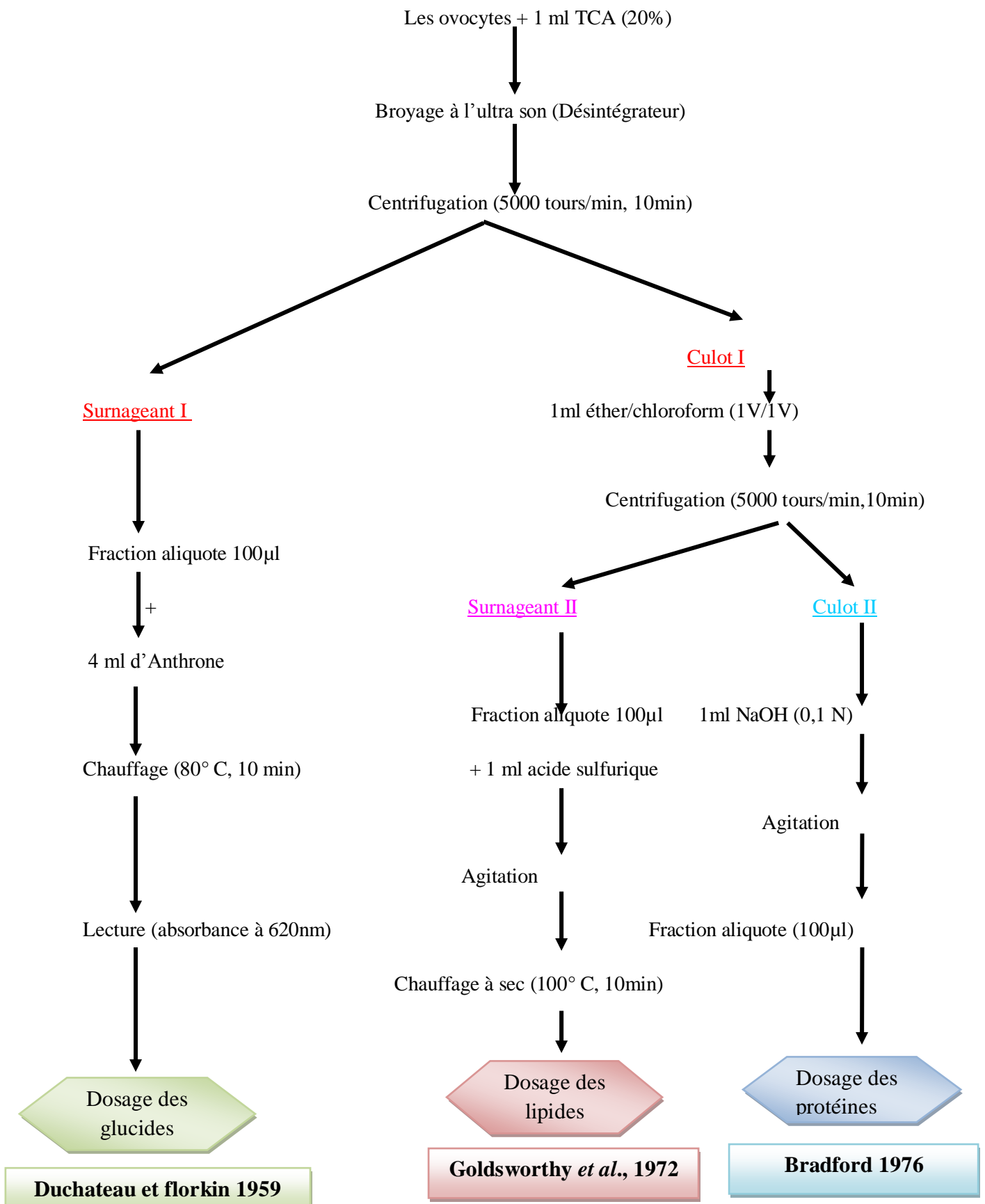


Figure 26. Extraction et Dosage des métabolites selon Schibko *et al.* (1966)

2.3.5. Dosage quantitatif des métabolites

2.3.5.1. Dosage des protéines

Les protéines contenues dans les ovocytes ont été quantifiées selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu brillant de comassie G 250 (BBC) comme réactif et l'albumine de sérum de bœuf (BSA) comme standard.

Le dosage des protéines ovocytaires a été effectué dans une fraction aliquote (100µl). Les absorbances ont été obtenues grâce à un spectrophotomètre et la lecture a été réalisée à une longueur d'onde de 595nm contre un blanc de gamme. Les résultats sont exprimés en µg/mg d'ovocytes (Tableau 1).

Tableau 1. Dosage des protéines dans les ovocytes: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
B.S.A (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

2.3.5.2. Dosage des glucides

Les glucides ont été dosés selon la méthode de Duchateau et florkin (1959), en utilisant l'anthrone comme réactif, et le glucose (1 g/l) comme standard (Tableau 2).

²-[150mg d'anthrone + 75 ml d'acide sulfurique (très doucement par petite quantité) + 25 ml d'eau distillée ajoutées doucement]. Solution verte laissée d'abord à l'obscurité pendant 04 h, sa conservation est à 4 c° pendant 2-3 semaines.

Tableau 2. Dosage des glucides dans les ovocytes de *P. cultrifera* : réalisation de la gamme d'échantillonnage

Tubes	1	2	3	4	5	6
Glucose (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4

Les étapes du dosage des échantillons sont les suivantes :

Dans des tubes à essai, on additionne à une fraction aliquote de 100 µl du surnageant I de chaque échantillon, 4 ml du réactif. Après chauffage du mélange au bain marie à 80 C°

pendant 10mn; une coloration verte se développe, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration des glucides dans l'échantillon. La lecture des absorbances est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc de gamme à une longueur d'onde de 620 nm.

2.3.5.3 Dosage des lipides

La concentration des lipides totaux a été estimée selon Goldsworthy *et al.* (1972) utilisant le réactif sulfophosphanillinique (0,38 g de vanilline, 55ml d'eau distillée et 195ml d'acide orthophosphorique à 85%). La solution mère des lipides est préparée en utilisant l'huile de table (Cevital) selon la procédure suivante : 25mg d'huile de table pesés dans un tube eppendorf ; cette quantité est ensuite reprise dans 10ml du mélange (éther / chloroforme) (1V/1V) (Tableau 3).

Tableau 3. Dosage des lipides dans les ovocytes : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant Ether/Chloroforme (µl)	100	80	60	40	20	0
Vanilline (ml)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

Après évaporation des prises aliquotes de 100µl de surnageant II dans un bain à sec à 40°C, on additionne 1ml d'acide sulfurique concentré (96%), les tubes fermés sont agités et chauffés dans un bain à sec à 100°C pendant 10 minutes. Après refroidissement, on prélève 200µl de chaque tube auxquels on ajoute 2,5 ml de réactif sulfophosphanillinique et on agite. Après 30 minutes à l'obscurité, le complexe se colore en rose. La densité optique est lue sur un spectrophotomètre (Jenway 6300) à une longueur d'onde de 530 nm.

2.3.6. Analyse quantitative des vitellogénines et des vitellines

2.3.7. Extraction des vitellogénines et des vitellines

La préparation de la solution mère de Tris-HCl, consiste à diluer 3.02g de Tris (0.5M) dans 300ml d'eau distillée, puis ajouter cette solution à un pH de 7.4 de l'HCl concentré et la compléter à 500ml d'eau distillée.

Pour réaliser le tampon complet : Diluer 2.9g de NaCl (0.5 M) dans 10 ml de la solution mère de Tris-HCl et compléter à 100ml d'eau distillée.

Les échantillons ovocytaires conservés, sont broyés aux ultrasons grâce au désintégrateur (OSI : Sonfier, celldisruptor) pendant 30 secondes à 2 répétitions l'homogénéat obtenu est centrifugé à 5000 tours/min pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse (SIGMA).

Il en résulte 3 couches distinctes, une couche surnageant qui représente les lipides, un culot contenant des glycoprotéines et une couche intermédiaire renfermant les vitellogénines et les

MATÉRIEL ET MÉTHODES

vitellines. Cette dernière est récupérée à l'aide d'une simple seringue médicale graduée, déposée dans un autre tube eppendorf, puis maintenue au congélateur jusqu'au dosage.

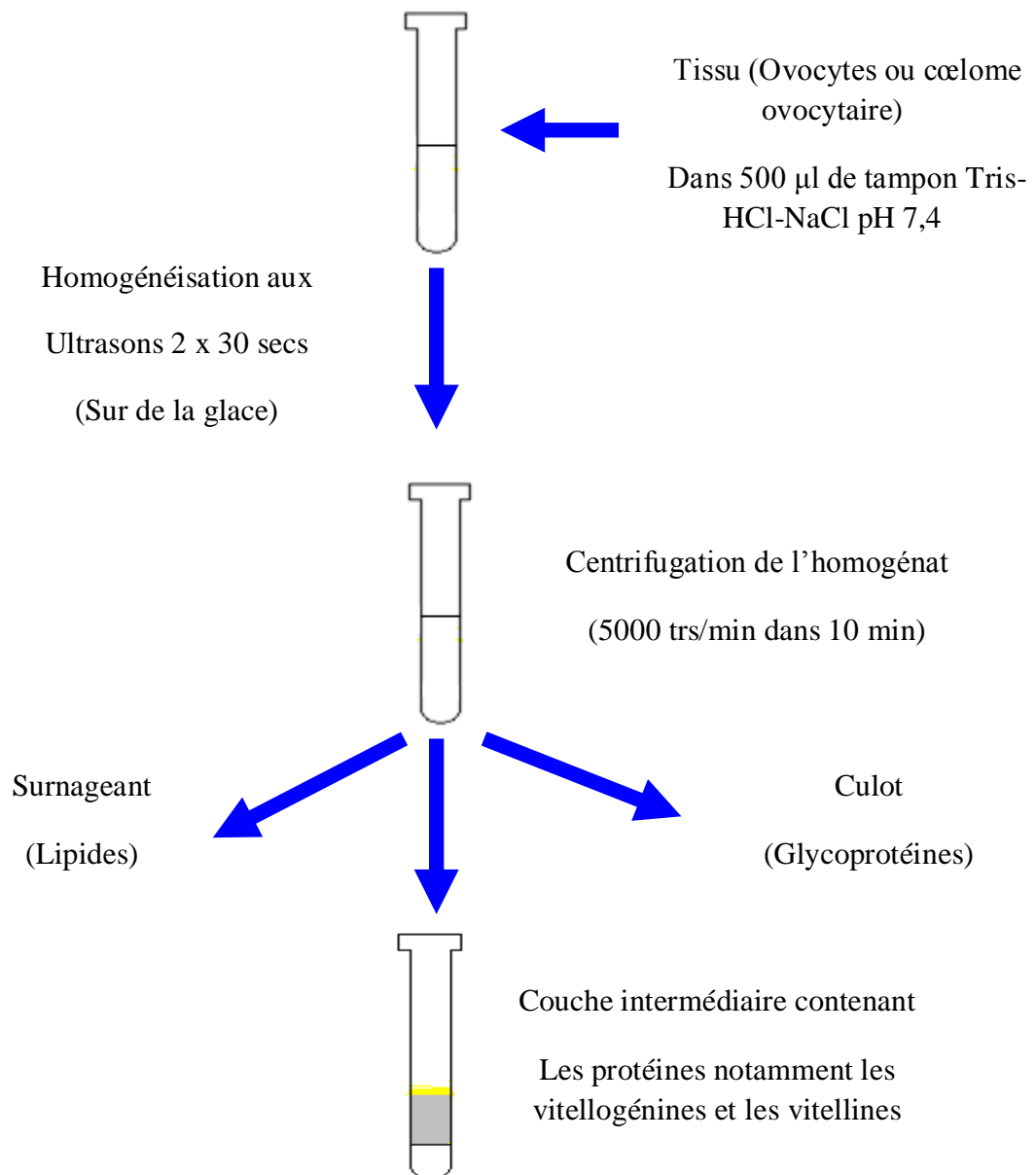


Figure 27. Extraction des vitellogénines et vitellines Fabre *et al.* (1990)

2.3.7.1. Dosage quantitative des vitellogénines

A partir de chaque échantillon biologique représenté par le liquide cœlomique dépourvu d'ovocytes, prendre 100µl, soit le 1/3 de l'échantillon, y ajouter 4 ml de réactif BBC, bien agiter et lire l'absorbance à 595 nm. Les résultats sont exprimés en µg/µl de liquide cœlomique d'après la courbe d'étalonnage.

2.3.7.2. Dosage quantitative des vitellines

A partir de chaque échantillon ovocytaire représenté par les ovocytes isolés du liquide coelomique, Prendre 100 µl de la couche intermédiaire, obtenue après centrifugation, y additionner 4 ml de BBC, bien agiter puis passer à la lecture des densités optiques au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm contre un blanc de gamme. Les résultats sont exprimés en µg/mg d'ovocytes

2.3.8. Analyse quantitative des acides nucléiques

➤ **Activité des acides nucléique au cours de la reproduction et de développement**

La synthèse des trois types d'ARN dans l'ovocyte primaire est bien plus importante quantitativement que dans le spermatocyte primaire, puisque le diamètre de l'ovocyte passe de 15 à 100 µm (Phase de croissance)..

C'est dans l'ovocyte primaire essentiellement, et un peu dans l'ovocyte secondaire, que s'opère la traduction des ARN et non pas dans un stade ovotide qui serait parallèle au stade spermatide. L'ovocyte reste sphérique et ne connaît pas des modifications morphologiques spécialisées. L'ovocyte compétent pour reprendre la méiose à deux reprises lors de l'ovulation et lors de la fécondation et pour devenir fécondable, parmi ces protéines très nombreuses, on peut citer la tubuline et l'actine nécessaire aux divisions et les enzymes intervenant dans ces divisions, les glycoprotéines des grains corticaux situés sous la membrane plasmique.

Ce n'est qu'une des ARN qui est traduite en vue de la maturation cytoplasmique, la plus part d'entre eux sont stockés pour être traduits plus tard, après la condition le déroulement des premiers stades du développement embryonnaire conditionné par l'utilisation de ces ARN matures.

2.3.9. Technique d'extraction des acides nucléiques (ADN, ARN)

La technique d'extraction des acides nucléiques (ADN et ARN) des ovocytes, à été réalisée selon Shibko *et al.* 1966 et les dosages ont été faits par Burton (1956) pour l'ARN et par Schneider (1957) pour l'ADN.

Les ovocytes sont déposés dans des tubes d'ependorf contenant 500 µl d'eau distillée additionnée de 2 µl phénylméthylsilfonyfluoride (PMSF), (45mg de PMSF/1ml d'éthanol), puis stockés au congélateur à -20°C jusqu'au jour du dosage.

Le jour du dosage, on remplace la solution de conservation par 1ml de saccharose (0.25 M) et de soude (0.006 M) avant de passer au broyage aux ultra sons (sonifier B-30). Prélever par la suite 0.625 ml de l'homogénat et mettre ce dernier dans 0.125 ml de PCA (6.97 M), puis centrifuger à 4000 tours pendant 15m. Le surnageant (1) est jeté et dans le culot (1) additionner 1.25 ml de PCA (0.5 M) et centrifuger dans les même conditions que la première fois. On obtient un surnageant (2) qui sera également jeté et dans le culot (2), additionner 2.25 ml de NaOH (0.3 N) ; après incubation à 37°C pendant 60 min, ajouter 0.250 ml de PCA (6.67 M) puis refroidir à 0°C pendant 10 min et passer aux même conditions de centrifugation. Le surnageant (3) qui servir au dosage de l'ARN. Le culot (3) est récupéré

MATÉRIEL ET MÉTHODES

dans 1.25 ml de PCA (0.5 M) et centrifuger. Le surnageant (4) va aussi servir au dosage de l'ARN, et le culot (4) récupéré dans 1 ml de PCA (0.15 M), incubé à 90°C pendant 20 min et additionné de 0.625 ml de PCA (0.97 M), le refroidir à 0°C pendant 10 min, et après centrifugation, on obtient un surnageant (5) qui va servir au dosage de l'ADN. Au culot (5), additionner 1.25 ml de PCA (0.15 M) puis centrifuger dans les mêmes conditions pour obtenir un surnageant (6) qui va également servir au dosage de l'ADN (figure 28).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

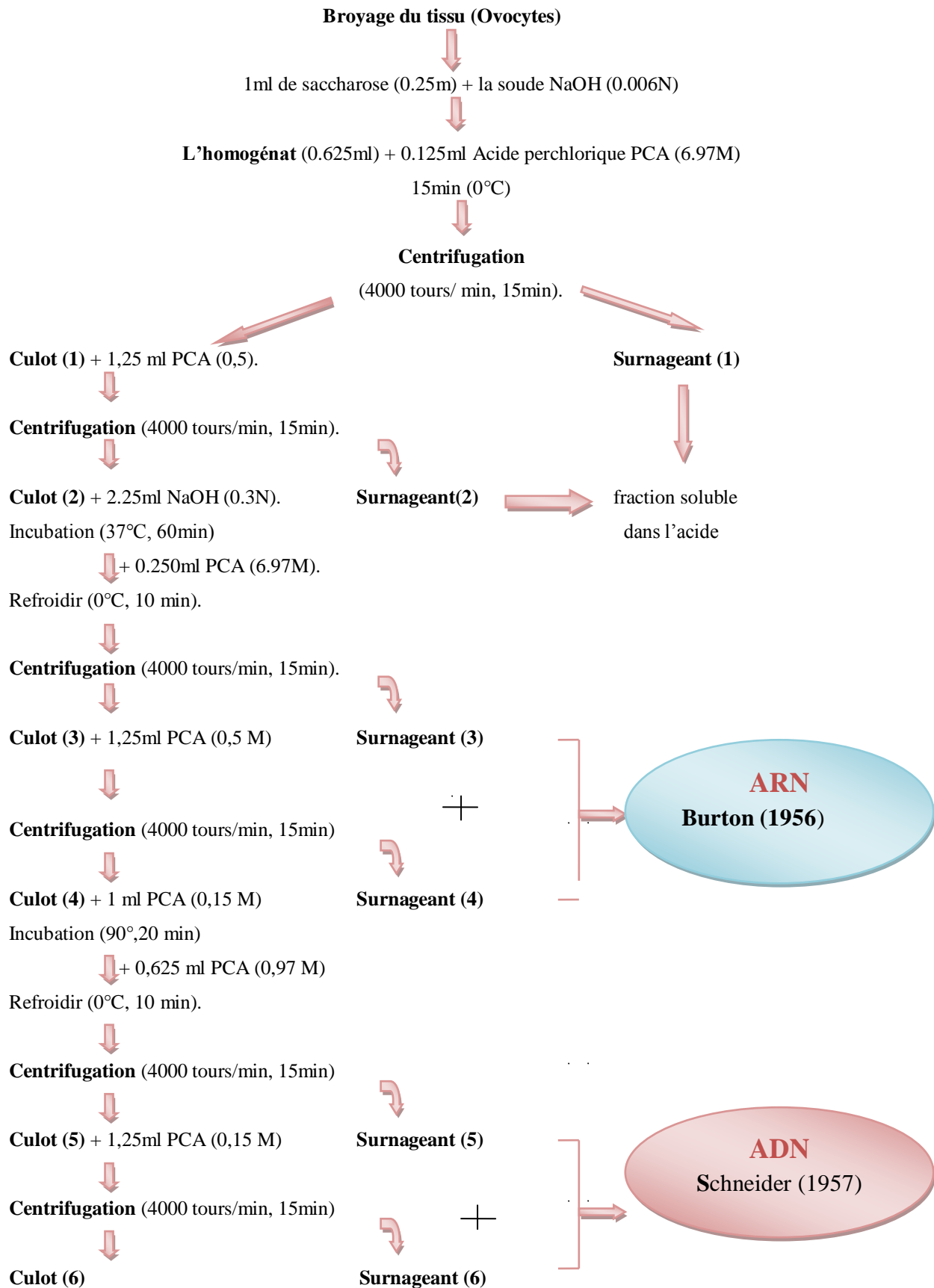


Figure 28. Principales étapes d'extraction des acides nucléiques : ARN, ADN selon Shibko *et al.* (1966).

2.3.9.1. Dosage de l'ARN

L'ARN a été quantifié selon la méthode de Schneider (1957) qui utilise l'orcinol comme réactif (0,5g de FeCl₃, 1g d'orcinol et 100 ml d'HCl) et une solution mère d'ARN extrait de levure de boulangerie comme standard (1mg/ml d'eau distillée) (Tableau 4).

Tableau 4. Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification du taux d'ARN.

Tubes	1	2	3	4	5
ARN standard (µl)	0	20	40	60	80
Eau distillée (ml)	1,5	1,48	1,46	1,44	1,42
Orcinol (ml)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5

Après agitation, les tubes sont chauffés au bain marie à 90°C pendant 20 minutes. Il se forme une coloration bleu clair.

Le dosage de l'ARN a été effectué à partir des fractions aliquotes de 100µl des extraits biologiques auxquels est additionné 1,5 ml de réactif d'orcinol. Les absorbances sont lues à une longueur d'onde de 660 nm contre un blanc de gamme.

2.3.9.2. Dosage de l'ADN

L'ADN a été quantifié selon la méthode de Scheneider (1957) qui utilise le diphénylamine comme réactif (1g de diphénylamine, 100ml d'acide acétique glacial, 2,75 ml d'acide sulfurique) et une solution mère d'ADN extrait de thymus de veau comme standard (1mg/ml d'eau distillée) (Tableau 5)

Tableau 5. Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification du taux d'ADN.

Tubes	1	2	3	4	5
ADN standard (µl)	0	20	40	60	80
Eau distillée (ml)	500	480	460	440	4,20
Diphénylamine (ml)	1	1	1	1	1

Après chauffage au bain marie pendant 20 minutes à 90°C, il se développe alors une coloration rosâtre.

Le dosage de l'ADN est effectué sur des fractions aliquotes (100µl) des extraits biologiques auxquels est additionné 1 ml de réactif de diphénylamine.

Les absorbances sont lues à une longueur d'onde de 602 nm contre un blanc de gamme

2.4. Analyse écotoxicologique

Au début des années 80, la notion de biomarqueur est apparue et désigne les changements biochimiques, physiologiques et histologiques chez les organismes susceptibles d'être utilisés comme organisme sentinelle pour estimer soit l'exposition à des contaminants, soit les effets induits par la pollution (Lagadic *et al.*, 1997). La notion de biomarqueur est donc relativement récente et le développement de son utilisation comme outil de surveillance et d'évaluation de l'environnement est étroitement liée à la connaissance des mécanismes moléculaires des processus toxiques chez différentes espèces animales ou végétales appartenant aux différents écosystèmes.

Les biomarqueurs proposés se situent à différents niveaux des mécanismes d'action toxique, allant de la cause aux effets. Les paramètres peuvent se mesurer de la première interaction de l'agent toxique avec un récepteur cellulaire jusqu'aux altérations structurelles et fonctionnelles (Aarab, 2004). Ainsi sont apparues les notions de :

1) Biomarqueurs d'exposition

Ils rendent compte de la nature et de l'intensité des entités toxiques biodisponibles dans le milieu. Ils sont en général impliqués dans les métabolismes de détoxification des xénobiotiques (ex.: cytochromes P450) ou dans les mécanismes de défense cellulaire (ex.: enzymes antioxydantes). Leurs variations peuvent être spécifiques ou non d'une catégorie de contaminants (ex.: induction chez le poisson du cytochrome P450 CYP1A par les HAPs) et n'entraînent pas obligatoirement d'effets délétères. Elles signifient la plupart du temps que l'organisme s'est adapté à une agression extérieure d'ordre chimique (Lagadic *et al.*, 1997).

2) Biomarqueurs d'effet

Ils correspondent à des cibles moléculaires qui, lorsqu'elles sont atteintes, signifient que les mécanismes de défense ou de détoxification de l'organisme n'ont pas été suffisamment efficaces pour contrer l'action néfaste d'un xénobiotique (ex.: indicateurs de stress oxydatif, adduits à l'ADN, perturbation au niveau du cycle reproducteur). Les conséquences peuvent être parfois irréversibles, entraînant à terme la mort de l'animal ou bien une incapacité à se reproduire. De tels effets peuvent par la suite altérer la structure même des populations et donc des écosystèmes. Ils rendent compte de la gravité des atteintes fonctionnelles des organismes et sont prédictifs d'effets sur les communautés et les populations (Lagadic *et al.*, 1997).

3) Biomarqueurs de susceptibilité

Ils peuvent correspondre à des molécules biologiques comme les protéines qui, lorsqu'elles sont sur-exprimées ou sous-exprimées, augmentent la sensibilité d'un organisme à un contaminant. Ces variations d'expression peuvent être dues à des différences génétiques interindividuelles ou résulter d'une exposition précédente à un xénobiotique. Par exemple, un individu présentant une sur-expression du cytochrome CYP1A sera plus à même de développer des adduits à l'ADN lorsqu'il sera exposé à des HAPs (synthèse de métabolites hautement réactifs via le CYP1A) qu'un individu présentant une expression normale. Par

contre, il pourra détoxifier plus efficacement d'autres xénobiotiques (ex.: aflatoxine) et leur sera donc plus résistant (Schlenck, 1999).

Ces outils peuvent être intégrés au sein de la stratégie de surveillance des milieux en complément avec d'autres outils chimiques. Les organismes aquatiques (point de départ de la plus part des chaînes trophiques) sont les plus exposés à des pollutions multiples qui peuvent engendrer des effets néfastes sur les milieux naturels et avoir de graves conséquences sur la santé des populations animales et végétales ainsi que la santé humaine. Les HAP, les PCB, les pesticides et les métaux sont les substances qui ont été les plus recherchées dans les écosystèmes aquatiques. De nombreuses études ont permis de déterminer les effets de ces polluants sur les organismes aquatiques appelés espèces sentinelles, en particulier les poissons pour les vertébrés et les moules pour les invertébrés. Parmi les marqueurs biologiques mesurés, les marqueurs biochimiques et moléculaires revêtent un intérêt particulier de par leur spécificité vis-à-vis de certains contaminants, permettant ainsi la détection de ces produits, qu'une analyse chimique peut confirmer (Arab, 2004).

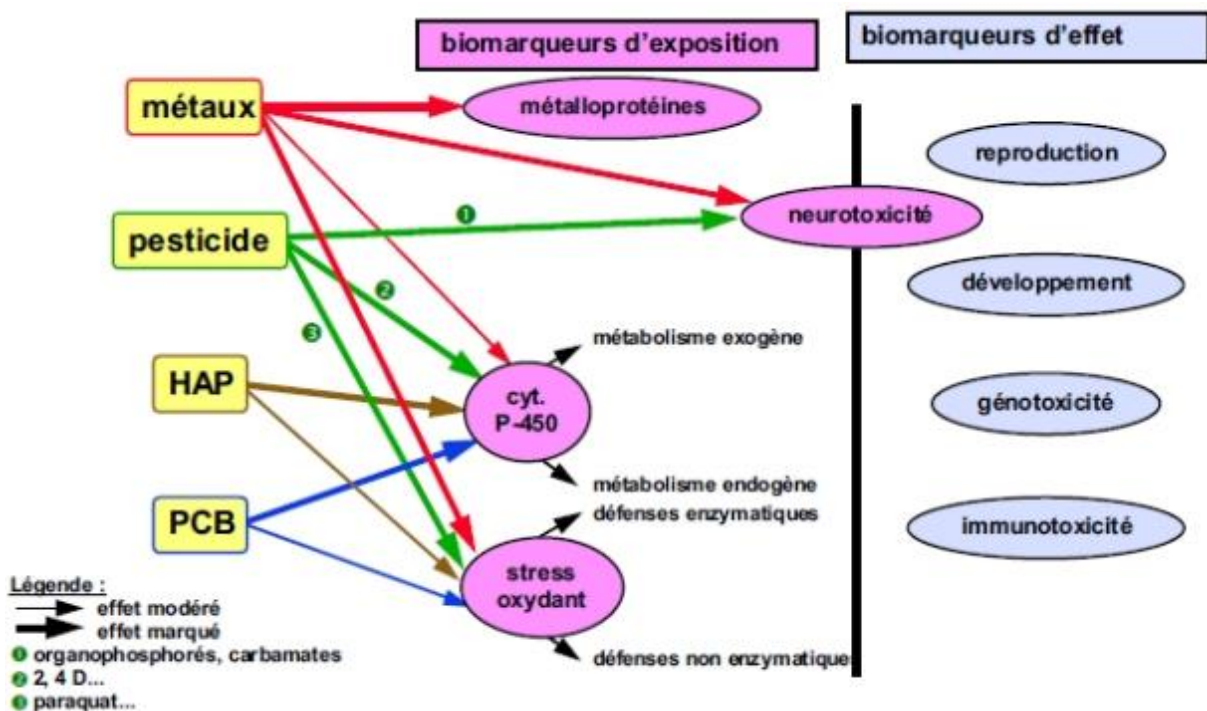


Figure 29. Relations entre les principaux contaminants et les marqueurs biologiques (Narbonne et Michel, 1993).

➤ **Activité enzymatique de l'Acétylcholinestérase (AChE)**

Contrairement aux systèmes enzymatiques, l'acétylcholinestérase ne joue aucun rôle dans la détoxification chez les êtres vivants. Cette enzyme est, pour sa part, impliquée de transmission de l'influx nerveux à travers l'organisme : dans les jonctions inter neuronales et

MATÉRIEL ET MÉTHODES

neuromusculaires, la terminaison nerveuse libère un médiateur chimique, l'acétylcholine (ACh), qui permet la transmission du message nerveux d'une cellule à l'autre.

L'acétylcholinestérase est une enzyme clé du système nerveux central, elle est responsable de l'hydrolyse du neurotransmetteur acétylcholine en choline et acétate au niveau des synapses (Eldafrawi 1985), ce qui permet au système de revenir à son état de repos. L'inhibition de l'enzyme par de nombreux neurotoxiques entraîne une accumulation du médiateur chimique dans l'espace synaptique, qui maintient de ce fait une transmission permanente de l'influx nerveux, laquelle conduit généralement à la tétanie musculaire et à la mort (Bocquené, 1996).

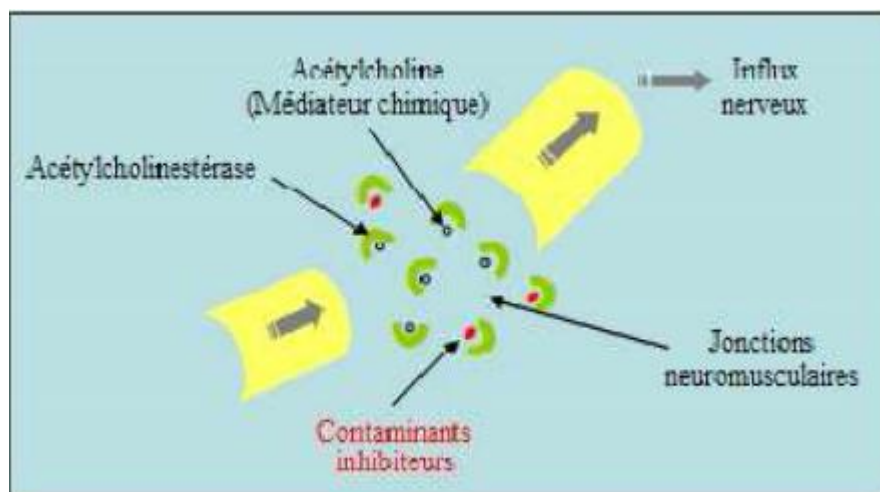


Figure 30. Action des cholinestérases dans la transmission de l'influx nerveux et inhibition par un contaminant (Burgeot *et al.*, 1994). Le contaminant inhibiteur (rouge) rentre en compétition avec le substrat naturel de l'enzyme, l'acétylcholine (vert). L'enzyme inhibée par le contaminant maintient en permanence la transmission de l'influx ce qui aboutit à la paralysie et à la mort.

Les conséquences de l'inhibition de l'AChE ont tristement servi pour la mise au point de gaz de combat neurotoxiques (sarin, soman), mais sont aujourd'hui surtout exploitées dans la fabrication de produits phytosanitaires destinés à la protection des cultures. Parmi les nombreuses molécules susceptibles d'inhiber l'AChE, les composés organophosphorés (ou organophosphates) et les carbamates, tous deux utilisés comme matière active dans la préparation d'insecticides. (Bocquené et Galgani 2004).

Notons encore, comme inhibiteurs potentiels de l'activité cholinestérasique, les pyrèthroïdes (utilisés dans les produits domestiques de lutte contre les insectes), les triazines et le paraquat (tous deux herbicides puissants agissant sur les processus de respiration et de photosynthèse des végétaux), certaines toxines algales et les métaux lourds (comme pour toutes les enzymes, la conformation de la molécule d'AChE est modifiée par la présence de métaux) ; en ce qui concerne les métaux toutefois, les concentrations utilisées pour les tests sont jusqu'ici très éloignées des concentrations généralement mesurées in situ. (Bocquené et Galgani 2004). A ce titre, la mesure de l'activité AChE est donc un outil qui peut apporter des

informations sur la contamination du milieu marin par toute une variété de pesticides, organophosphorés et carbamates pour la plupart. (Bocquené et Galgani, 2004).

2.4.1. Méthode de dosage de l'Acétylcholinestérase (AChE)

La méthode de dosage de l'AChE la plus courante et celle d'Ellman *et al.*, (1961) ; elle consiste à fournir à l'enzyme (AChE), un substrat artificiel, l'acétylthiocholine, dont l'hydrolyse catalysée par l'AChE libère de la thiocholine et de l'acide acétique.

La quantité de thiocholine obtenue est proportionnelle à l'activité enzymatique révélée grâce à une méthode colorimétrique faisant intervenir le DTNB (acide 5-5-dithio-bis-2-nitrobensoïque) qui se lie avec la thiocholine pour former un complexe de couleur jaune, le TNB (acide 5-thio-2-nitrobensoïque) qui est dosé.

L'activité spécifique de l'AChE est évaluée à partir des corps entiers, des individus de *p. cultrifera* récolté dans les trois stations d'étude.

Les individus sont homogénéisés dans 1 ml de solution détergente (solution D) [38,03 mg EGTA (acide éthylène glycol-bis, β -aminoéthyl éther NNN'N' tétra-acétique), 1 ml Triton X 100%, 5,845 g NaCl (chlorure de sodium), 80 ml tampon tris (10 mM, pH 7)], puis centrifugés (9000 trs/mn, 15 mn). Le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme.

Le dosage de l'activité AChE est réalisé sur une fraction aliquote de 100 μ l à laquelle on ajoute 100 μ l de DTNB préparé extemporanément [39,6 mg DTNB, 15 mg CO_3HNa (bicarbonate de sodium), 10 ml tampon tris (0,1 M, pH 7)] et 1 ml de tampon tris (0,1 M, pH 7). Après 3 à 5 minutes, 100 μ l de substrat acétylthiocholine préparé extemporanément [23,6 mg ASCh, 1 ml eau distillée] sont ajoutés. La lecture des absorbances s'effectue toutes les 4 mn pendant 20 mn à une longueur d'onde de 412 nm contre un blanc où 100 μ l de la solution détergente remplace les 100 μ l du surnageant.

La concentration en protéines totales des différents échantillons biologiques (homogénat) a été préalablement déterminée, par un dosage selon la technique de Bradford (1976). L'activité spécifique de l'AChE est exprimée en nMol/min/mg de protéine.

L'activité spécifique de l'AChE est déterminée d'après la formule d'Ellman *et al.* (1961)

$$X = \frac{\Delta Do/mn}{1,36 \times 10^4} \times \frac{Vt}{Vs} \quad / \quad \text{mg de protéines}$$

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

MATÉRIEL ET MÉTHODES

ΔDo : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

$1,36 \times 10^4$: coefficient d'extinction molaire du DTNB.

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

V_s : volume du surnageant dans la cuve : 0,1 ml.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

➤ Quantification des protéines

La quantification des protéines a été faite selon Bradford (1976) sur une fraction aliquote de 0,1 ml de l'homogénat, avec 4 ml de Bleu Brillant de Coomassie (G250, Merk) comme réactif (50 mg de Bleu Brillant de Coomassie, 25 ml d'éthanol (95%), 50 ml d'acide orthophosphorique (85%) et compléter à 500 ml avec l'eau distillée). L'albumine de sérum de bœuf (Sigma, France) a été utilisée comme standard.

Les absorbances ont été lues à une longueur d'onde de 595 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre, et la gamme d'étalonnage réalisée à partir d'une solution d'albumine à 1mg/ml (Tableau 6).

Tableau 6. Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution d'albumine (μ l)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (μ l)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

➤ Activité enzymatique de la Glutathion S-transférase (GST)

La glutathion-S-transférase a un rôle important dans la détoxification des substances xénobiotique exogènes ou endogènes en catalysant la conjugaison de ces substances avec le groupement thiol du glutathion endogènes (Jakoby et Habig, 1980). Les glutathion S-transférases représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles essentiellement cytosoliques, impliquées dans des opérations diverses de transports et de biosynthèses intracellulaires (George, 1990). Elles sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques parmi lesquels figure la détoxification de nombreux xénobiotique (Habig *et al.*, 1974). Mais la fonction des GST la plus étudiée en ce qui concerne la prévention de la pollution dans l'environnement demeure leur activité de catalyse des réactions de conjugaison entre un peptide, le glutathion, et des molécules réactives comportant des sites électrophiles, capables de réagir dangereusement avec des macromolécules comme les acides nucléiques (ARN, ADN). La catalyse de cette conjugaison du glutathion avec certains substrats représente une étape dans la formation de composés qui seront moins

toxiques et plus hydrosolubles que les molécules de départ (Chatterjee et Bhattacharya, 1984).

Ces enzymes sont généralement solubles (cytosoliques) et présentes sous plusieurs isoformes, dont certaines sont inductibles par les contaminants qu'elles rendent moins toxiques. Cette particularité en a fait une activité intéressante en tant que marqueur biochimique. Les GST ont été mises en évidence dans la plupart des êtres vivants tels que la levure (Foley et Sheehan, 1998), les mollusques (Fitzpatrick et Sheehan, 1993; Fitzpatrick *et al.*, 1995 ; Blanchette et Singh, 1999), les vers de terre (Stenersen *et al.*, 1979, Borgeraas *et al.*, 1996), les crustacés (Lee et Keeran, 1988 ; Leblanc et Cochrane, 1987), les insectes (Stenersen *et al.*, 1987 ; Prapanthadara *et al.*, 1996), les poissons (George Young, 1988 ; Martínez-Lara *et al.*, 2002 ; Pérez-López *et al.*, 2002), les mammifères (Habig *et al.*, 1974 ; Kamisaka *et al.*, 1975; Rouimi *et al.*, 1996 ; Bolton et Ahokas, 1997 ; Pascal *et al.*, 1998) et les plantes (Hong *et al.*, 1999).

Une grande variété de composés chimiques induit les GST, dont certains inducteurs des cytochromes P450 tels que les hydrocarbures polyaromatiques et les PCB. Dans l'état actuel de nos connaissances sur les poissons toutefois, toutes les isoenzymes de la famille des GST n'ont pas encore été individualisées (comme c'est le cas pour les cytochromes P450) et leur activité spécifique demeure mal connue. Leur utilisation comme bioindicateur de pollution caractéristique d'un type de polluant dans l'environnement reste encore à définir et se rapproche encore aujourd'hui plus de celle d'un indicateur non-spécifique, témoin de l'état de santé global des organismes qui peuplent les écosystèmes marins. (Chatterjee et Bhattacharya, 1984).

2.4.2. Méthode de dosage de de la Glutathion S-transférase (GST)

La mesure de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) est déterminée selon Habig *et al.* (1974). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1 chloro 2,4 dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion (GSH) et mesurée à une longueur d'onde de 340 nm dans un spectrophotomètre visible/uv (GENESYSTEM8).

Les échantillons Corps entier de *P. cultrifera* récolté au niveau des trois sites sont homogénéisés dans 1 ml de tam

pon phosphate (0.1M, pH 6).

L'homogénat est centrifugé à 14000 trs/mn pendant 30 mn et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme.

Le dosage consiste à faire réagir 200µl du surnageant avec 1.2 ml du mélange CDNB (1mM)/GSH (5mM) [20.26 mg CDNB, 153.65 mg GSH, 1ml éthanol, 100ml tampon phosphate (0.1M, PH6)]. La lecture des absorbances est effectuée toutes les 1mn pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200µl d'eau distillée remplaçant la quantité du surnageant.

Une quantification des protéines a été réalisée selon Bradford (1976), la technique a été citée précédemment (page 41).

L'activité spécifique de GST est déterminée d'après la formule d'Habig *et al.* (1974)

$$X = \frac{\Delta Do/mn}{9.6} \times \frac{Vt}{Vs} \text{ / mg de protéines}$$

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

ΔDo : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

9.6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB ($\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$).

V_t : volume total dans la cuve : 1,4 ml [0,2 ml surnageant + 1.2 ml du mélange CDNB/GSH].

V_s : volume du surnageant dans la cuve : 0,2 ml.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en m

2.5. Analyse histologique

2.5.1. Technique histologique classique

- ❖ **Fixation** : cette étape a pour but la conservation des structures, le durcissement des pièces, l'immobilisation des constituants tissulaires/cellulaires; prévenant ainsi de la putréfaction bactérienne. La fixation doit inactiver les molécules qui pourraient changer la morphologie tissulaire, telles que les enzymes, pour éviter la destruction des protéines du tissu. Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion du matériel dans un grand volume de liquide fixateur. Nos échantillons biologiques (portion du métastomium contenant le liquide cœlomique gorgé d'ovocytes) extraits des femelles de *P. cultrifera* récoltées à partir des deux sites d'étude pendant le mois d'Avril, ont été conservés dans du formol à 9% pendant 48 heures.
- ❖ **Traitement des tissus et Inclusion** : Le principe de l'inclusion consiste à traiter les pièces dans un ordre déterminé par différents solvants de manière à faire pénétrer dans le tissu, à l'origine hydraté, une substance hydrophobe, qui maintiendra les constituants structuraux en place lors de la coupe ; ceci implique que la pièce soit soumise à une série

de traitements successifs par des mélanges dont chacun est destiné à préparer la pénétration de celui qui le suivra et à éliminer celui qui l'a précédé. Ainsi, nos échantillons ont été déposés dans six bains d'alcool absolu pendant une heure suivi de trois bains de xylène pendant deux heures avant de passer à l'imprégnation dans deux bains paraffine pendant deux heures.

- ❖ **Mise en bloc** : enrobage des échantillons dans des moules en inox remplis de paraffine.
- ❖ **Coupe** : les coupes des échantillons biologiques ont été réalisées à l'aide d'un microtome de type « LEICA RM2125 » après réglage de l'épaisseur à 3µm.
- ❖ **Étalement des coupes** : les rubans ont été étalés grâce à de l'eau gélatinée sur des lames porte objet préalablement nettoyées.
- ❖ **Séchage** : les lames ont d'abord été séchées sur une plaque chauffante puis déposées dans un panier (porte-lames) avant d'être installées dans une étuve réglée à une température de 70° pendant une heure.
- ❖ **Déparaffinage et coloration** : Nos lames ont été débarrassées de la paraffine en les déposant dans un bain de xylène pendant dix minutes suivi de deux bains d'alcool 95° pendant dix minutes chacun avant d'être rincées à l'eau courante pendant dix minutes. La coloration des coupes a été réalisée avec de une solution d'hémalum de Meyer pendant dix minutes, rincées à l'eau puis recolorées avec de l'éosine dont la concentration est de 12g/l additionné de quelques gouttes d'acide nitrique, pendant dix minutes suivi d'un autre rinçage. Les lames sont ensuite passées dans des bains successifs de trois minutes chacun, deux dans l'alcool 95°, un dans un mélange (alcool/xylène) avant de passer dans trois bains de xylène.
- ❖ **Montage** : Les lames colorées doivent être protégées par des lamelles ; il est donc nécessaire d'interposer entre lame et lamelle un milieu de montage (goutte d'EIKIT) afin d'éviter le dessèchement et d'assurer la meilleure conservation possible.
- ❖ **Observation** : les lames ainsi prêtes, l'observation a pu être faite avec aisance.

2.6. Analyse immunogénétique

2.6.1. Marqueurs génétiques

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

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

2.6.1.2. Extraction de l'ADN génomique

La technique d'extraction utilisée est celle basée sur le CTAB (Canadian Centre for DNA Barcoding) (Winnepeninckx et al. 1993). Ce protocole a été modifié et adapté aux annélides. Ajouter 0,5 ml de protéinase K (10 mg/ml) à 10 mg de tissus broyé dans 5 ml de la solution d'extraction 2×CTAB (4gr :2% CTAB, 20 ml : 1M tris-HCl , Ph 8.0, 8ml : 20 mM EDTA , pH 8.0 , 16,4 gr : NaCl, QSP : 200ml.). Incubation de la plaque pendant toute une nuit à 56°C dans une chambre humide et la protéger avec un film. Le lendemain, Centrifugation à 1500 g (RCF) pendant 5 min. Transférer 50µl du surnageant dans une nouvelle plaque propre. Rajouter 100µl (PBB) Plant Binding Buffer (Binding Buffer : 80 ml, H₂O : 16ml). Incubation pendant 5min à température ambiante. Mélanger avec la micropipette 5 à 10 fois. Prendre 150µl du mélange et le mettre dans une plaque micro-filter watman 800 et en dessous mettre un filtreur. Centrifuger pendant 5min à 5000g. rajouter 180 µl PWB (Protein Wash Buffer) (Binding Buffer : 50m, EtOH 96% : 50 ml). Centrifugation 5000 g pendant 2min. rajouter 750 µl de WB (wash buffer) (EtOH 96% : 300 ml, 1M NaCl: 23.75 ml, 1M tris-HCl , pH 7.4 : 4.75ml, 0.5M EDTA, pH 8.0 : 0.475 ml). Centrifugation 5000g pendant 5 min. Incubation à 56°C pendant 30min. Centrifugation pendant 5 min à 1500g. Rajouter 60µl H₂O dans chaque puits en dessous d'une nouvelle plaque standard. Laisser à température ambiante pendant 1min. Centrifugation 5000g pendant 5min. L'ADN récupéré est purifié et quantifié par dosage spectrophotométrique à 260 et 280 nm. L'intégrité de l'ADN génomique extrait est contrôlée sur gel d'électrophorèse.

2.6.1.3. PCR (Polymerase chain reaction)

La PCR (*Polymerase Chain Reaction*) consiste en l'amplification exponentielle d'un fragment d'ADN spécifique par copies multiples à l'aide de deux amorces spécifiques (petites séquences oligonucléotidiques en général de 20 nucléotides) et d'une enzyme, la *Taq* ADN polymérase. Mise au point en 1985 par Karry Mullis, elle permet de repérer un fragment d'ADN ou de gène précis, même présent en quantité infime dans un mélange, puis de le multiplier rapidement. Il s'agit d'une répllication *in vitro* de séquence spécifique d'ADN dite d'intérêt ou ADN cible à partir d'un extrait d'ADN (ADN matriciel). La PCR utilise de manière répétitive la propriété des ADN polymérases de ne pouvoir synthétiser un brin complémentaire d'ADN qu'à partir de l'extrémité 3'OH d'une amorce. La PCR repose sur trois étapes qui sont indispensables pour toute synthèse d'ADN et qui sont répétées plusieurs fois : dénaturation de l'ADN matrice, hybridation des amorces à l'ADN cible dénaturé et élongation des amorces par l'ADN polymérase. Tous les éléments nécessaires à la réaction sont regroupés dans un microtube qui sera soumis aux différentes températures correspondant à chaque étape. La quantité d'ADN étant multipliée par deux à chaque cycle, au fil des cycles la quantité d'ADN va augmenter de façon exponentielle. On obtient, théoriquement 2^n copies de la séquence cible pour n cycles. Cette réaction nécessite des oligonucléotides (amorces) s'hybridant avec les extrémités 3' de la portion de la séquence à amplifier, une enzyme ADN polymérase, des nucléotides ou dNTP (déoxyribonucléotides triphosphates: dATP, dGTP, dTTP, dCTP) et un milieu réactionnel contenant une concentration précise en Magnésium sous forme de MgCl₂, un élément clef de l'efficacité de la réaction intervenant en tant que cofacteur enzymatique.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'enzyme assurant l'amplification est une ADN polymérase dont la plus utilisée est la *Taq DNA* polymérase issue de la bactérie thermophile *Thermus aquaticus*. Les produits utilisés lors de cette réaction d'amplification sont les suivants : dNTP (dATP, dCTP, dTTP, dGTP) 10 μmol chacun = 100 mM, préparation d'1 mL de dNTP 500 μM chacun pour une utilisation à 100 μM final (5 μL dATP + 5 μL dTTP + 5 μL dGTP + 5 μL dCTP + 980 μL H₂O UP stérile), Taq DNA polymérase 5u. μL -1. Les amplifications ont été réalisées à l'aide d'un thermocycleur (Figure 31).



Figure 31. PCR ou thermocycleur utilisé pour la réaction d'amplification de l'ADN.

Les PCR ont été réalisées suivant le protocole du Kit puReTaq Ready-To-Go PCR beads (Amersham). 100 ng d'ADN matrice ont été utilisés. La réaction de PCR se fait en présence des composants suivante : 5 μl : dream taq buffer ($\times 10$), 4 μl : dNTP (2mM), 5 μl : Amorces (2 μM) utilisées (Tableau 7), 10 μl ADN génomique, 0,2 μl : dream taq polymérase. Les étapes d'amplification sont constituées d'une dénaturation de 1 min à 95°C, d'une hybridation de 1 min à une température variable suivant les amorces utilisées et d'une élongation de 1 min à 72°C. cycles d'amplification sont effectués par PCR. Le programme comporte quarante cycles.

Tableau 7. Liste des oligonucléotides et les températures d'hybridation utilisées lors de la réaction de PCR.

Nom de l'amorce	Température d'hybridation (°C)
Cytochrome B (Cytb)	50

- **Electrophorèse sur gel d'agarose**

La quantité d'ADN obtenue (produits de PCR) est déposée sur un gel d'électrophorèse. Les électrophorèses sont réalisées sur un gel d'agarose (1 %) en présence d'un tampon de migration TAE 1X (4,84 g Tris ; 1,14 ml acide acétique ; 2 ml EDTA 0,5M) et de bromure d'éthidium (BET) qui est un intercalant de l'ADN et permet la visualisation de celui-ci sous rayonnement Ultra Violet (UV). L'ADN migre dans le gel d'agarose de la cathode vers l'anode (les acides nucléiques étant chargés négativement dans la gamme de pH utilisée). Un

courant d'environ 100 volts est appliqué aux bornes de la cuve. A l'issue de la migration, l'ADN est visualisé sous U.V et photographié à l'aide d'une caméra Polaroid MP4. La taille du fragment est déterminée par comparaison avec le marqueur de taille qui a migré sur le même gel.

- **Préparation des gels :**

1.4 g d'agarose sont fondus à ébullition dans 100 mL de tampon d'électrophorèse TBE 0.5× (Tris base 44.5 mM, acide borique 44.5 mM, EDTA 1 mM). Après refroidissement, le gel est coulé dans la cuve à électrophorèse. Une fois pris en masse dans la cuve, il est recouvert de tampon d'électrophorèse (TBE 0.5x).

Les échantillons sont lestés par un dixième du volume de tampon de charge 10× (10 µL d'ADN + 1 µL de tampon de charge) et déposés dans les puits du gel (Figure 32) dont l'un contient de l'ADN utilisé comme marqueur de taille (1kb DNA ladder). Le bleu de bromophénol contenu dans le tampon de charge, migre comme un fragment de 300 pb dans un gel à 0,8% d'agarose et permet de suivre la progression de l'électrophorèse (Métais, 1996). A la fin de la migration, le gel est placé pendant 15 minutes dans un bain d'eau UP contenant 0,5µg/ ml de bromure d'éthidium (BET) pour permettre la visualisation des bandes d'ADN grâce à la fluorescence rouge-orangé du complexe acides nucléiques-BET excité par la lumière ultraviolette (312 nm). Le gel est par la suite photographié sur une table UV.

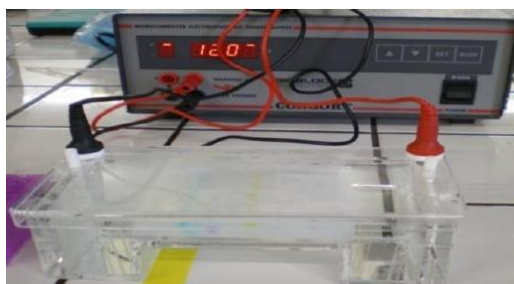


Figure 32. Petite cuve à électrophorèse

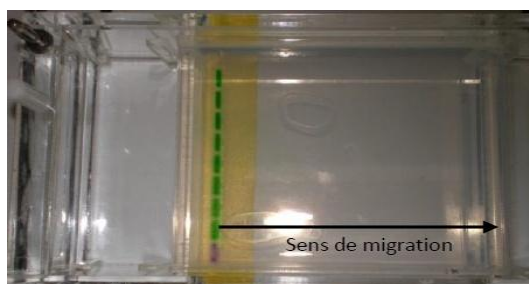


Figure 33. Progression des échantillons d'ADN déposés dans les puits de gels (de l'anode vers la cathode).

2.6.1.4. Séquençage automatique

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

MATÉRIEL ET MÉTHODES

PCR traité (10 ng), 1 µl du tampon de l'enzyme « Big Dye buffer», 1,5 µl d'un « mix » (enzyme, dNTP, ddNTP marqués), 1,6 µl Amorces (2 µM), 2 µl : produit PCR. Le programme de la réaction comporte 25 cycles : 1 min de dénaturation à 96°C, 5s d'hybridation à 50°C et 4 min d'élongation à 60°C. Les produits sont précipités en présence d'EDTA 5µl (125 mM) et 60 µl d'éthanol 100%. Après agitation, les produits sont gardés pendant 15 min à température ambiante avant d'être centrifugés, à 3000 g pendant 30 min à 4 °C. Juste après l'arrêt de la machine, retourner d'un coup sec la plaque pour éliminer le surnageant. Centrifuger ensuite la plaque à l'envers pendant 2 min à 200 g. Vérifier qu'il ne reste plus d'alcool dans les puits. Remettre ensuite les échantillons en suspension en rajoutant 20 µl de formamide (Applied Biosystems). Puis passage sur le séquenceur capillaire (Figure 34) après avoir dénaturé la plaque 5min à 94°C.

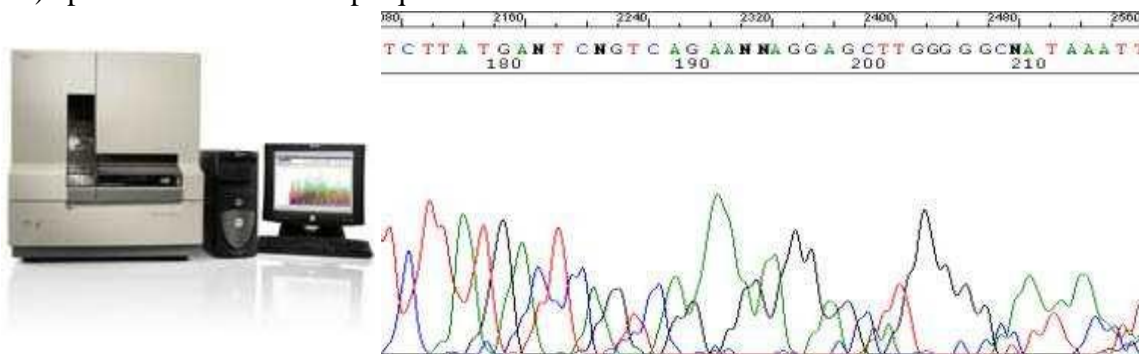


Figure 34. séquenceur automatique et séquences obtenues après séquençage.

➤ Méthodes statistiques et analyse moléculaire

Ces analyses ont été réalisées avec le programme DNAsp. Afin de déterminer le nombre de sites nucléotidiques montrant de la variation dans un échantillon de séquences d'individus de la même population ou de populations différentes, le nombre moyen de sites polymorphes entre paires de séquences et la moyenne non corrigée des différences des séquences prises 2 à 2 ont été déterminés.

➤ Outils d'analyses bioinformatiques

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

Chez les Annélides polychètes les cellules coelomiques responsables des mécanismes de défenses cellulaires semblent être représentées essentiellement par les coelomocytes. Le but de l'étude de ces coelomocytes est de comparer des différents types de ces cellules immunitaires existant dans le littoral algérien et la manche française.

2.6.2. Les coelomocytes

Les ovocytes qui évoluent librement dans le coelome sont entourés par de nombreuses cellules somatiques appelées coelomocytes. Ces derniers éléments ne présentent jamais d'intrications étroites avec les cellules germinales et de ce fait ne peuvent donc être assimilés à des cellules folliculeuses (Dhainaut, 1970 a).

Un travail récent (Dhainaut, 1984) a permis de différencier 6 types cellulaires parmi les coelomocytes de Néréidiens. Sur ces 6 classes, 3 sont plus fréquemment rencontrées : les granulocytes de type 1 et II et les éléocytes. Ces différentes catégories de cellules présentent une activité phagocytaire importante et joueraient donc ainsi un rôle important dans le processus d'épuration du milieu intérieur. De même celles-ci se caractérisent par leur capacité à incorporer activement des produits provenant de la digestion et relargués dans le liquide coelomique (Dakhama, 1983). Inversement, le rôle des coelomocytes dans l'élaboration des réserves ovocytaires a également été pressenti chez les Annélides (Eckelbarger, 1976). Cette fonction, jusqu'à présent uniquement supposée, a été principalement attribuée aux éléocytes, catégorie la plus abondante chez les Néréidiens.

En effet, un certain épuisement des importantes réserves éléocytaires (principalement glycogène et lipides) semblent accompagner la maturation génitale. Ces cellules pourraient donc participer au maintien d'un certain équilibre dans le milieu coelomique : les réserves des éléocytes proviendraient de métabolites issus d'une part du catabolisme des produits phagocytés et d'autre part d'un processus de capture d'un matériel d'origine "digestive", puis seraient utilisées pour assurer la présence dans le liquide coelomique d'éléments simples nécessaires aux métabolismes des cellules coelomiques et plus particulièrement des ovocytes. La fonction "régulatrice" du milieu intérieur décrite ci-dessus ne serait cependant pas la seule remplie par les coelomocytes. Comme l'ont montré les résultats d'études métaboliques (Porchet *et al.*, 1979) autoradiographiques (Dhainaut, 1984) et immunologiques (Dhainaut *et al.*, 1984) ces cellules, et plus particulièrement les éléocytes, synthétisent un matériel protéique qui est ensuite excrété dans le milieu environnant. Elles pourraient ainsi représenter le site de synthèse des substances ovocytaires d'origine exogène. L'ensemble de ces données suggère donc le rôle primordial pouvant être rempli par les cellules somatiques dans le cadre des interrelations métaboliques entre l'ovocyte et son milieu. Cependant, au stade des connaissances actuelles, il est encore difficile de définir avec exactitude la nature de ces relations et seuls les résultats d'études plus approfondies pourront permettre de confirmer certaines interprétations faites et ainsi amener à mieux comprendre les mécanismes coelomiques mis en œuvre dans le cadre du développement ovocytaire.

2.6.2.1. Observation des coelomocytes

2.6.2.1.1. Coloration vitale au rouge neutre 2%

On prépare une solution de rouge neutre (2 gr de rouge neutre dans 100 ml d'H₂O distillée). Ensuite, on ajoute 5 µl du liquide cœlomique et 5 µl de la solution au rouge neutre, le mélange est monté entre lame et lamelle. On utilise cette préparation pour observation au microscope photonique (LEICA ICC50 HD). On prépare une chambre humide (papier imbibé d'eau dans une boîte de pétri) afin de ne pas sécher la lame.

2.6.2.1.2. Coloration par frottis sanguin

Après avoir déposé une goutte du liquide cœlomique à l'extrémité de la lame, on procède à un étalement par l'utilisation d'une lamelle sur la lame, sécher et passer à la fixation dans de l'alcool absolu (Fix-Ral) pendant quelques secondes. Une fois la lame égouttée sur papier filtre, on plonge rapidement la lame dans la solution au rouge (Éosine-Ral) et on égoutte sur papier filtre. La dernière étape est marquée par une coloration au liquide bleu (Bleu-Ral) des cellules et un rinçage de la lame à l'eau distillée. Après séchage, on passe à l'observation et à la prise des photos grâce au microscope doté de caméra numérique (LEICA ICC50 HD).

2.7. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont représentés par la moyenne suivie de l'écart type des échantillons biologiques.

La régression linéaire ainsi que l'analyse de la variance à un et à deux critères de classification ont été réalisées respectivement grâce au logiciel MINITAB version 16 française.

L'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) a été utilisée afin de comparer les mois de chaque site et les mois des trois sites. Cette analyse a été appuyée par le test de Tukey.

La comparaison des effets (mois et site) a été effectuée par l'analyse de la variance (ANOVA) à deux critères de classification.

RÉSULTATS

3. RÉSULTATS

3.1. Les paramètres physico-chimiques

D'après l'examen des différents paramètres physico-chimiques mesurés in situ au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint Cloud), et Skikda (Stora), dans une période s'étalant de Janvier à Décembre 2012, on remarque :

Tableau 8. Variations mensuelles des paramètres physico-chimiques (température, salinité, oxygène dissout et pH) de l'eau de mer prélevés dans les trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène) (a), Annaba (Saint-Cloud) (b), et Skikda (Stora) (c), de Janvier à Décembre 2012

Paramètre Site	Température (°C)			Salinité (mg/l)			Oxygène dissout (mg/l)			pH		
	(a)	(b)	(c)	(a)	(b)	(c)	(a)	(b)	(c)	(a)	(b)	(c)
Mois												
Janvier	12,5	12,2	11,4	33,4	31,3	32,4	8,1	7,1	6,3	7,8	7,4	7,1
Février	14,3	13,9	14,4	35,8	32,6	34,7	8,4	7,5	4,2	8,6	8,8	8,3
Mars	16,2	15,7	15,3	32,5	33,4	31,7	8,7	7,0	4,7	8,1	7,6	8,7
Avril	18,5	16,9	19,2	36,4	34,4	36,5	8,8	5,1	5,4	8,9	8,5	8,1
Mai	18,3	18,4	17,3	39,7	40,5	41,9	7,1	6,4	5,6	8,1	8,0	8,7
Juin	23,7	22,1	21,7	42,3	42,9	42,8	8,8	7,2	5,1	8,5	8,3	8,1
Juillet	26,6	25,5	27,3	41,7	42,5	43,1	8,4	5,4	3,2	8,4	8,4	8,2
Août	26,2	24,1	24,5	37,4	39,8	40,1	8,1	5,4	3,6	8,3	7,9	7,7
Septembre	19,4	20,8	17,6	34,6	34,8	33,1	8,5	5,7	4,2	7,9	8,1	8,3
Octobre	20,5	19,2	18,6	31,5	32,7	35,4	8,4	5,1	4,6	8,2	7,8	7,5
Novembre	20,8	23,6	19,7	36,1	30,8	33,7	8,9	7,1	5,1	8,4	7,7	8,1
Décembre	14,7	13,3	13,2	27,9	30,1	29,8	8,6	6,6	5,7	7,7	8,2	8,3

Pendant la période d'étude, les températures de l'eau de mer évoluent d'une manière similaire au niveau des trois sites avec des fluctuations selon les saisons. Les températures les plus basses sont enregistrées durant l'hiver et l'automne avec des minimums enregistrés au mois Janvier avec 12,5 °C à El-Kala (El-Mordjène), et 12,2 °C à Annaba (Saint-Cloud), et 11,4 °C à Skikda (Stora). Par contre, les températures les plus élevées ont été observées en été avec des valeurs maximales de 26,6°C à El-Kala (El-Mordjène) 25,5°C à Annaba (Saint-Cloud) et 27,3°C à Skikda (Stora) pendant le mois de juillet (Figure 35).

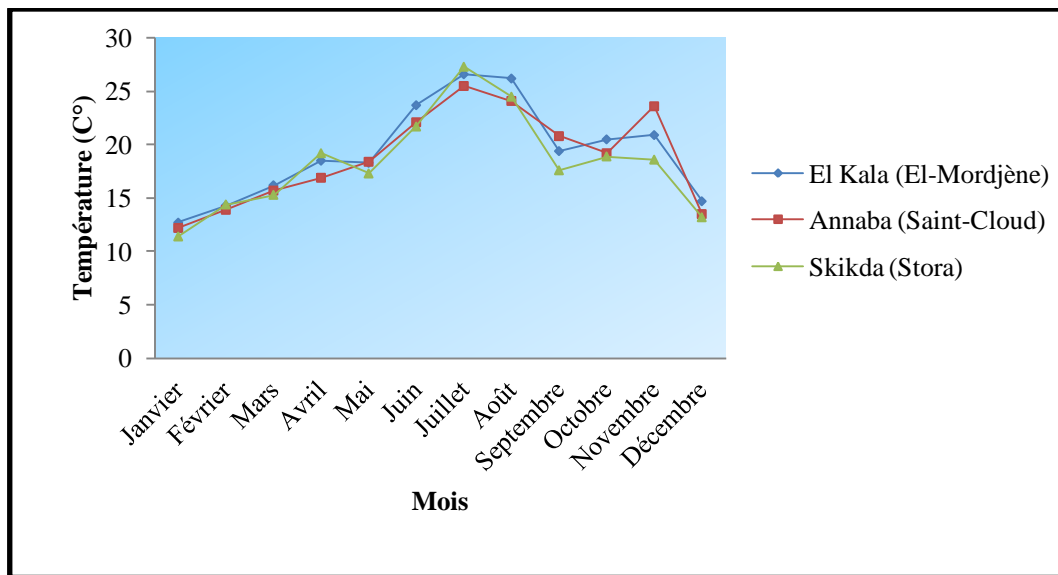


Figure 35. Variations mensuelles de la température (C°) de l'eau de mer prélevée dans les trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud), et Skikda (Stora), de Janvier à Décembre 2012.

La moyenne annuelle de ce paramètre montre une température plus élevée au niveau du site El-Kala (El-Mordjène) avec $19,33 \pm 4,60^{\circ}\text{C}$ comparativement aux deux sites Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) avec $18,82 \pm 4,52^{\circ}\text{C}$ et $18,29 \pm 4,58^{\circ}\text{C}$ respectivement (Tableau 9),

L'analyse de la variance ANOVA à un seul facteur contrôlé indique qu'il n'existe pas de différences significatives entre les moyennes de la température dans les sites d'étude ($P > 0,05$). Le test de Tukey permet de classer les sites étudiés en un seul groupe A (Tableau 9),

Les variations mensuelles de la salinité (mg/l) suivent la même tendance au niveau des trois sites, des valeurs minimales sont enregistrées en période hivernale et au début de la période printanière, avec un minimum en décembre pour le site d'El-Kala (El-Mordjène), 27,9 mg/l et 30,1 mg/l, 29,8 mg/l pour les deux sites Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) respectivement, Les valeurs les plus élevées ont été enregistrées en Juin au niveau des deux sites El Kala (El-Mordjène) et Annaba (Saint-Cloud) avec un maximum de 42,3 mg/l, 42,9 mg/l respectivement. La valeur maximale a été enregistrée en Juillet avec 43,1 mg/l pour le site Skikda (Stora) (Figure 36).

La moyenne annuelle de ce paramètre montre une salinité plus élevée au niveau du site Skikda (Stora) avec $36,25 \pm 4,61$ mg/l comparativement aux deux sites : El-Kala (El-Mordjène) et Annaba (Saint-Cloud) avec $35,25 \pm 4,52$ mg/l et $35,47 \pm 4,62$ mg/l respectivement (Tableau 9).

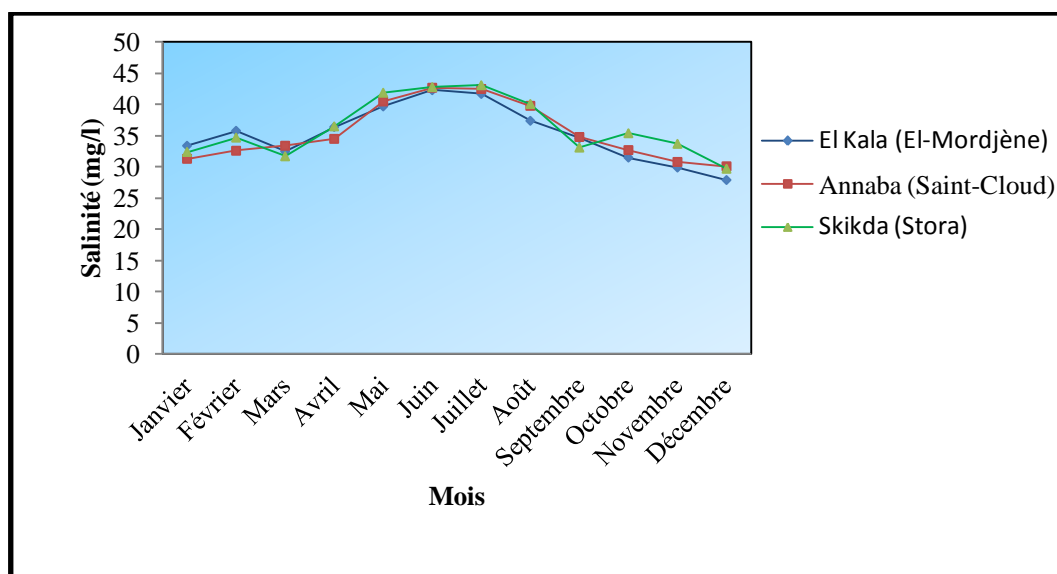


Figure 36. Variations mensuelles de la salinité (mg/l) de l'eau de mer prélevée dans les trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) de Janvier à Décembre 2012.

L'analyse de la variance ANOVA à un seul facteur contrôlé indique qu'il n'existe pas de différences significatives entre les moyennes de la salinité mesurées dans les sites d'étude ($P > 0,05$). Le test de Tukey permet de classer les sites étudiées en un seul groupe A (Tableau 9).

Les teneurs en Oxygène dissous, montre des variations très importantes entre les sites étudiées, Le site d'El-Kala (El-Mordjène) montre des valeurs élevées avec un maximum de 8,9 mg/l au mois de Novembre suivi d'une diminution importante enregistrée au mois de Mai avec 7,1 mg/l. Le site Annaba (Saint-Cloud) présente d'importantes fluctuations au cours des mois avec un pic au mois de Février 7,5 mg/l suivie d'une diminution au mois d'Avril avec 5,1 mg/l, au niveau du site de Skikda (Stora), une diminution importante est enregistrée au mois de Juillet avec une valeur de 3,2 mg/l et un pic au mois de Janvier avec 6,3mg/l (Figure 37).

La moyenne annuelle de ce paramètre montre un oxygène dissout plus élevé au niveau du site El Kala (El-Mordjène) avec $8,33 \pm 0,43$ mg/l comparativement aux deux sites d'Annaba (Saint-Cloud) et de Skikda (Stora) avec $6,32 \pm 0,89$ mg/l et $4,46 \pm 1,07$ mg/l respectivement (Tableau 9).

Le test de Tukey permet de classer les sites étudiés en trois classes : la classe A, regroupe le site d'El-Kala (El-Mordjène), la classe B regroupe le site d'Annaba (Saint-Cloud), et la classe C regroupe le site de Skikda (Stora), qui présente les teneurs d'Oxygène dissous les plus faibles (Tableau 9).

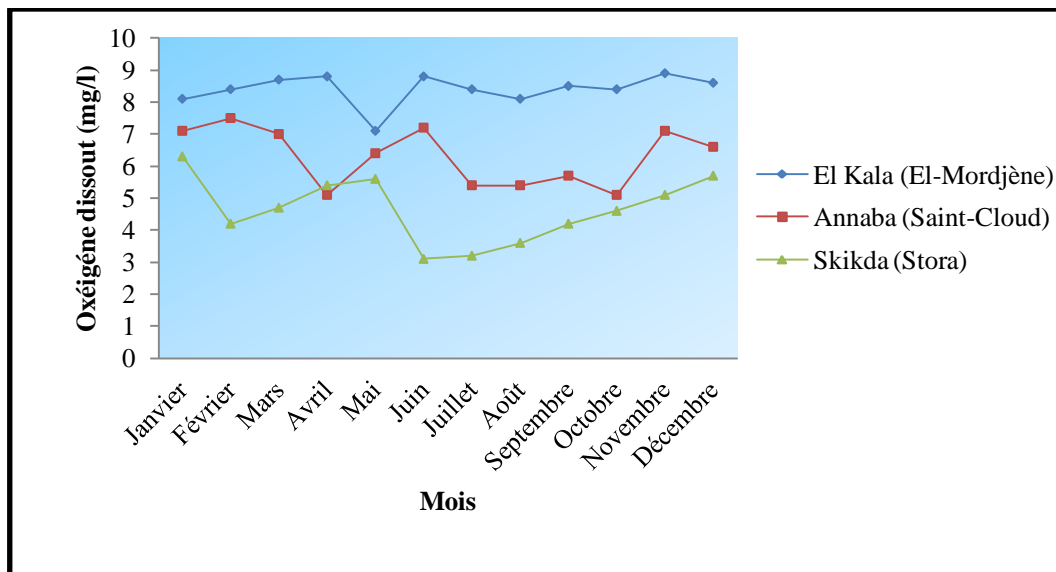


Figure 37. Variations mensuelles de la concentration en oxygène dissout (g/l) de l'eau de mer prélevée dans les trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) de Janvier à Décembre 2012.

L'analyse de la variance indique qu'il y a une différence très hautement significative ($P < 0,001$) entre les moyennes de l'oxygène dissous enregistrées au niveau des sites d'étude (Tableau 9).

Les mesures du pH montrent des variations relativement constantes au niveau des trois sites, avec un pH légèrement alcalin. Le pH varie entre un pH minimum de 7,9 et un pH maximum de 8,9 à El-Kala (El-Mordjène), et entre 7,4 comme valeur minimale et 8,8 comme valeur maximale à Annaba (Saint-Cloud), et enfin 7,1 comme valeur minimale et 8,7 comme valeur maximale à Skikda (Stora) (Figure 38).

La moyenne annuelle de ce paramètre montre un pH plus élevé au niveau du site El-Kala (El-Mordjène) avec $8,16 \pm 0,41$ mg/l comparativement aux deux sites Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) avec $8,07 \pm 0,40$ mg/l et $8,12 \pm 0,48$ mg/l respectivement (Tableau 9).

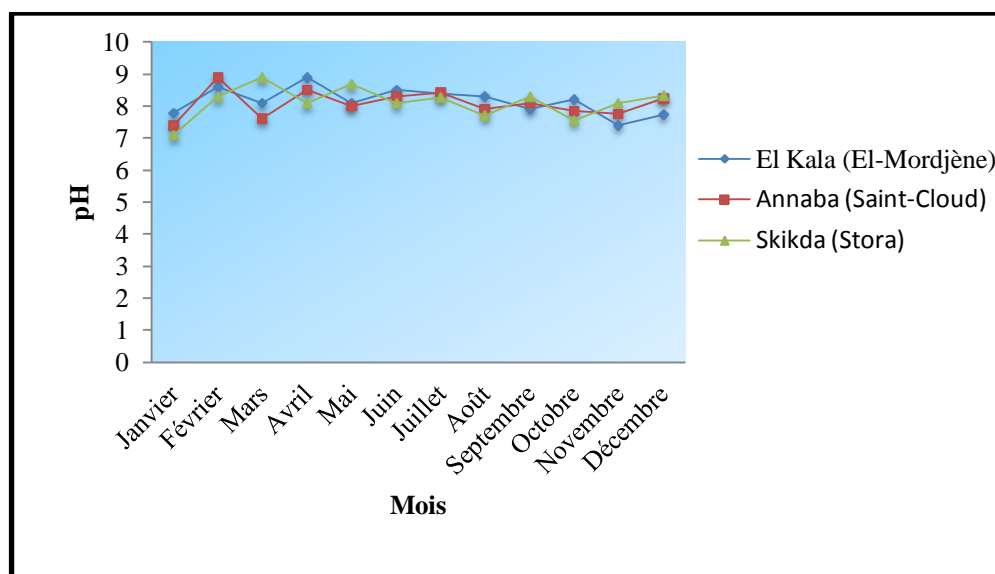


Figure 38. Variations mensuelles du pH de l'eau de mer prélevées dans les trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) de Janvier à Décembre 2012.

L'analyse de la variance ANOVA à un seul facteur contrôlé indique qu'il n'existe pas de différences significatives entre les moyennes du pH dans les sites d'étude ($P > 0,05$). Le test de Tukey permet de classer les sites étudiées en un seul groupe A (Tableau 9).

Tableau 9. Traitement statistique des paramètres physico-chimiques (température, salinité, oxygène dissous, et pH) de l'eau de mer prélevés dans les trois sites d'étude,

Paramètre / Site	Température (°C)	Salinité (mg/l)	Oxygène dissous (mg/l)	pH
El Kala	19,33±4,60 A	35,25±4,52 A	8,33±0,43 A	8,12±0,48 A
Annaba	18,82±4,52 A	35,47±4,62 A	6,32±0,89 B	8,07±0,40 A
Skikda	18,29±4,58 A	36,25±4,61 A	4,46±1,07 C	8,16±0,41 A
P	0,878 NS	0,855 NS	0,000 ***	0,901 NS

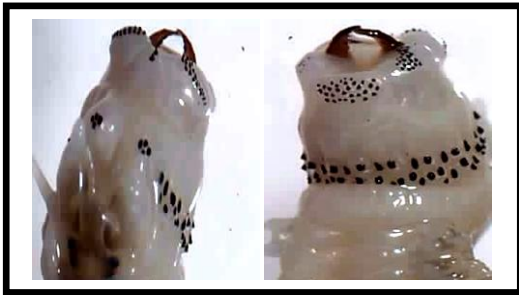
NS : non significative ($P > 0,05$) ; * : très significative ($P < 0,05$) ; ** : hautement significative ($P < 0,01$) ; *** : Très hautement significative ($P < 0,001$).

3.2. Inventaire et biodiversité

Afin de réaliser l'inventaire faunistique des trois sites d'étude, nous avons identifié les différents groupes zoologiques récoltés durant la période d'étude sur deux années de janvier 2012 à décembre 2013, La répartition des espèces est assez homogène au niveau des deux sites ; Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora), Néanmoins, une diversification plus importante et une abondance numérique est observée au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène), Nous avons pu recenser 117 espèces de macroinvertébrés au niveau des trois sites (Figures 39 et 40).

Le tri des récoltes échantillonnées au niveau des sites d'étude nous a permis d'identifier les espèces suivantes :

Les Néréidæ



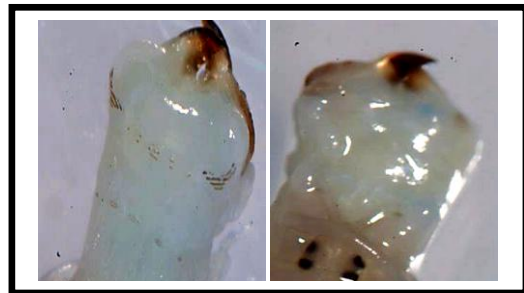
Nereis falsa (53mm)



Perinereis cultrifera (65mm)



Perinereis macropus (74mm)

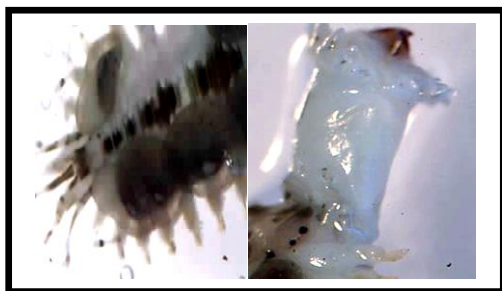


Platynereis dumerilii(38mm)



Nereis diversicolor (70 mm)

Annélides polychètes



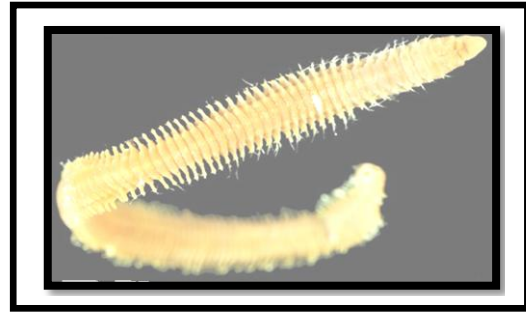
Lepidonotus clava (12mm)



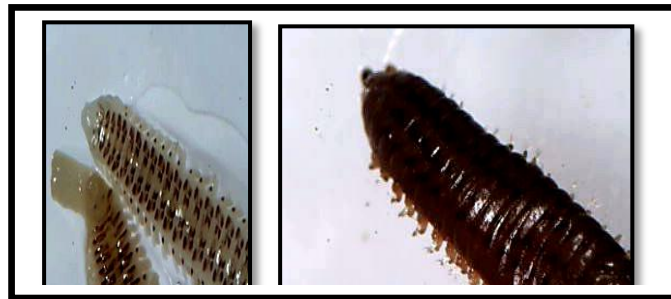
Scolelepis squamata (55mm)



Amphitrite gracilis (15mm)

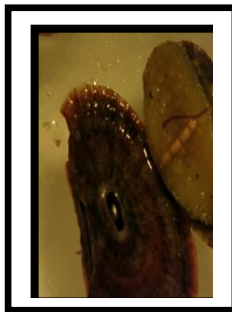


Lumbrinereis (20mm)



Non identifiées

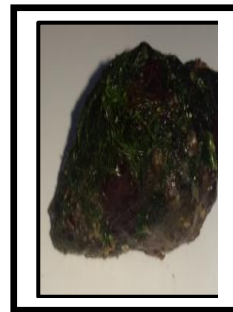
Faune associée



Duodora graeca



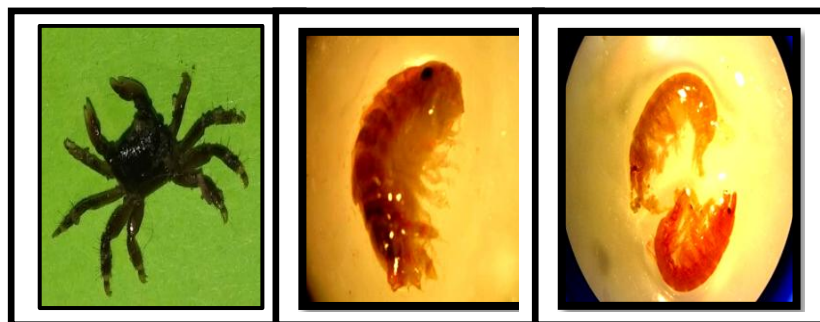
Patella sp



Tricolia speciosa



Mitylus galloprovincialis



Eriphia verrucosa

Isopoda sp

Amphipoda sp

Figure 39. Espèces identifiées de la faune associée au niveau des trois sites d'étude : El Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora).

L'inventaire de la flore associée à *P.cultrifera* nous a permis d'identifier les types d'algues suivantes :



Corallina elongata

Colpomenia sinuosa

Ulva Lactuca

Figure 40. Espèces identifiées de la flore au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud), et Skikda (Stora).

3.3. Indices écologiques

Les indices écologiques étudiés sont les indices de composition et les indices de structure en l'occurrence : l'abondance, la richesse totale, la fréquence centésimale, la diversité et l'équitabilité,

3.3.1. L'abondance

Le nombre d'individus des différentes espèces est très variable, Pour la famille des Nereidae, les espèces retrouvées en grand nombre dans tous les sites est *Perinereis cultrifera*. L'espèce *Perinereis macropus* aussi retrouvée en grand nombre surtout durant l'année 2012 avec 403 et 203 individus dans les deux sites El-Kala (El-Mordjène) et Annaba (Saint-Cloud) respectivement, par contre, en 2013, une diminution importante du nombre de cette espèce a été enregistrée.

Concernant l'espèce *Nereis falsa*, durant l'année 2012, une abondance moyenne a été remarqué dans les deux sites El Kala (El-Mordjène) et Skikda (Stora) avec 35 et 13 individus respectivement , par contre, durant l'année 2013, l'abondance de cette espèce est très marquée mais dans les deux sites El-Kala (El-Mordjène) et Annaba (Saint-Cloud).

Platynereis dumerilii est présente avec un nombre faible variant entre 9 et 15 individus durant les deux années 2012 et 2013.

L'espèce *Nereis diversicolor* présente une abondance faible dans les deux sites El-Kala (El-Mordjène) et Skikda (Stora) variant entre 23 et 16 individus respectivement et en 2013 l'abondance varie entre 14 et 20 individus mais dans les deux sites El-Kala (El-Mordjène) et Annaba (Saint-Cloud). Cependant, pour les Autres familles d'Annélides ; le Nombre d'individus (ni) des différentes espèces récoltées de janvier 2012 à décembre 2013 est très faible, variant entre 0 et 10 individus dans le site d'El-Kala (El-Mordjène) et presque nulle dans les deux autres sites : Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) (Tableau 10).

Concernant la faune associée, chez les Mollusques, 1 espèce *Mitylus galloprovincialis* sont les plus abondants dans les trois sites et durant les deux années, cependant, chez les

RÉSULTATS

Arthropodes les deux espèces amphipoda sp et les isopoda sp sont les plus abondants, La flore présente des abondances similaires dans les trois sites et durant les deux années.

Tableau 10. Nombre d'individus (ni) des différentes espèces récoltées de janvier 2012 à décembre 2013 au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora).

Famille	Site	2012			2013		
		El-Kala	Annaba	Skikda	El-Kala	Annaba	Skikda
	Espèce						
Néreidae	<i>Perinereis cultrifera</i>	289	245	190	214	142	78
	<i>Peinereis macropus</i>	403	203	0	18	0	11
	<i>Nereis falsa</i>	35	0	13	134	137	0
	<i>Platynereis dumerilii</i>	9	0	0	15	0	0
	<i>Nereis diversicolor</i>	23	16	0	20	14	0
Aphroditidae	<i>Lepidonotus clava</i>	0	0	9	0	0	7
Spionidae	<i>Scolelepis squamata</i>	9	2	1	10	3	1
Lumbrineridae	<i>Lumbrinereis sp</i>	8	1	0	7	0	9
Terebellidae	<i>Amphitrite gracilis</i>	3	0	0	8	0	0

Tableau 11. Nombre d'individus (ni) des différentes espèces récoltées de janvier 2012 à décembre 2013 au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora).

Embranchement	Site	2012			2013		
		El-Kala	Annaba	Skikda	El-Kala	Annaba	Skikda
	Espèce						
Mollusques	<i>Diodora graeca</i>	23	4	22	22	3	21
	<i>Tricolia speciosa</i>	15	4	22	21	2	23
	<i>Patella sp</i>	50	17	11	44	22	11
	<i>Mitylus galloprovincialis</i>	489	244	134	324	233	165
Arthropodes	<i>Eriphia verrucosa</i>	3	2	1	2	3	4
	<i>Isopoda sp</i>	55	43	23	76	34	22
	<i>Amphipoda sp</i>	23	22	21	23	45	55

Nous avons effectué par la même occasion un inventaire de la flore partageant le même habitat de ces espèces représenté ci-dessous,

Tableau 12. Espèces floristiques identifiées au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora).

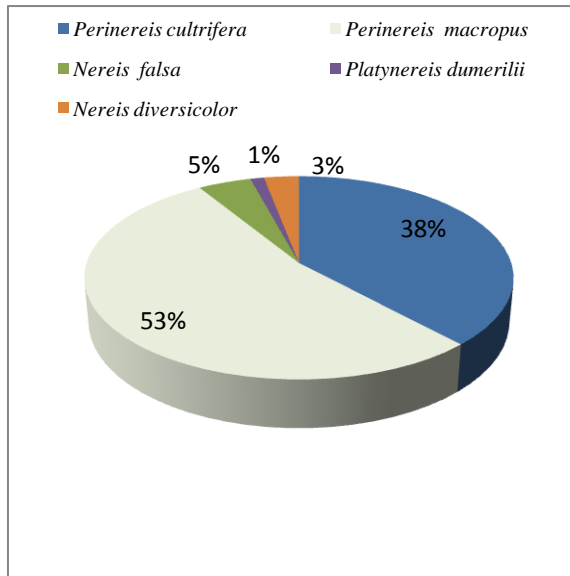
Embranchement	Site	2012			2013		
		El Kala	Annaba	Skikda	El Kala	Annaba	Skikda
	Espèce						
Chlorophyta	<i>Ulva Lactuca</i>	45	15	25	35	20	35
Rhodophyta	<i>Corallina elongata</i>	30	55	40	45	50	40
Rhodophyta	<i>Colpomenia sinuosa</i>	25	30	35	20	30	25

Pour l'année 2012, Les pourcentages des différents taxons, représentés dans les (figures 41, 42, et 43) révèlent une dominance chez les annélides polychètes de *Perinereis cultrifera* au niveau des trois sites avec une abondance de 94% à Skikda (Stora), Dans le site d'El-Kala (El-Mordjène), cette espèce représente que 38% et partage son milieu avec quatre autres annélides polychètes, dont 53% *Perinereis macropus*, 5% *Nereis falsa*, 3% *Nereis diversicolor*, par contre, *Platynereis dumerillii* ne représente que 1%, alors que, dans le site d'Annaba (Saint-Cloud) *Perinereis cultrifera* représente 53% et partage son milieu avec deux autres annélides dont 44% *Perinereis macropus* et 3% *Nereis diversicolor*.

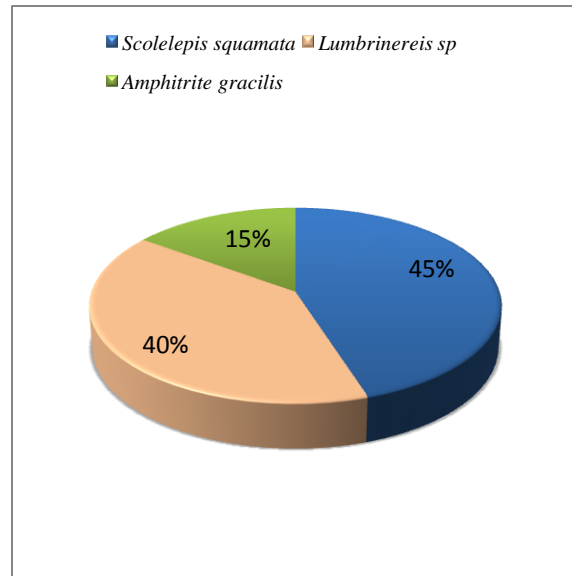
Concernant les autres familles d'Annélides : *Scolelepis squamata* représente la majorité des espèces avec 45% dans le site d'El-Kala (El-Mordjène) et 67% dans le site d'Annaba (Saint-Cloud), suivie de *Lumbrinereis sp* avec 40% et 33% dans les mêmes sites respectivement ; contrairement dans le site de Skikda (Stora), nous avons observé une dominance de *lepidonotus clava* avec 90% et un faible pourcentage de *scolelepis squamata* avec 10%.

Concernant la faune associée, l'espèce *Mitylus galloprovincialis* représente la majorité des mollusques avec plus de 71% sur les trois sites suivie de *Patella sp* avec 6 à 9% ; cependant, sur les sites d'El-Kala (El-Mordjène) et Skikda (Stora), nous avons observé une présence rarissime de mollusque *Tricolia speciosa* et de *Diodora graeca*,

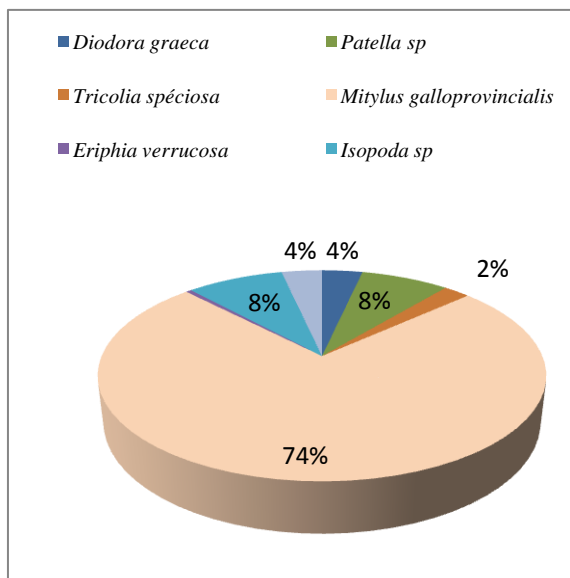
L'espèce *isopoda sp* représentent la majorité des arthropodes avec plus de 51 % sur les trois sites suivie de l'espèce *amphipoda sp* avec 28% à 47% ; cependant sur les trois sites, nous avons observé une faible présence de l'espèce *Eriphia verrucosa* avec 2 à 4%. La comparaison des différentes structures au niveau des trois sites révèle une relation étroite site/espèce sur le plan répartition des différentes populations.



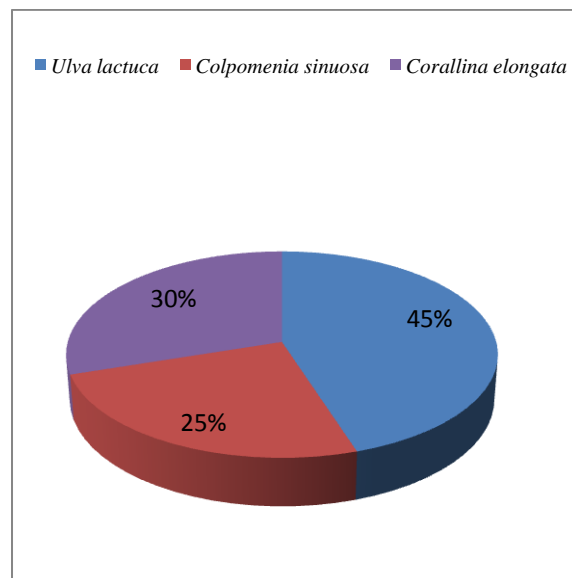
Néréidiens



Annélides polychètes

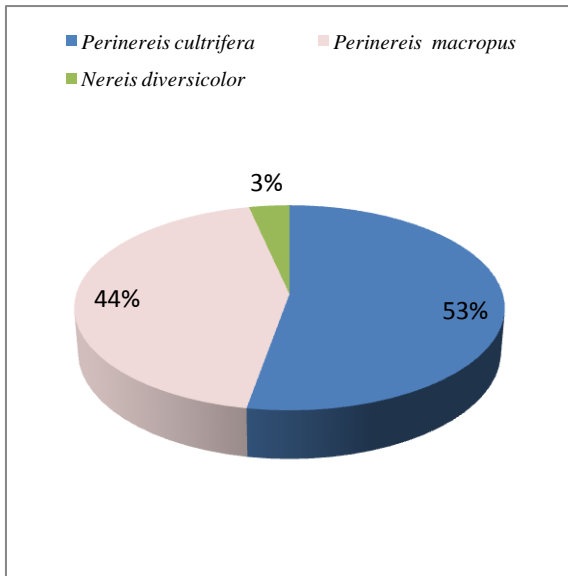


Faune associée

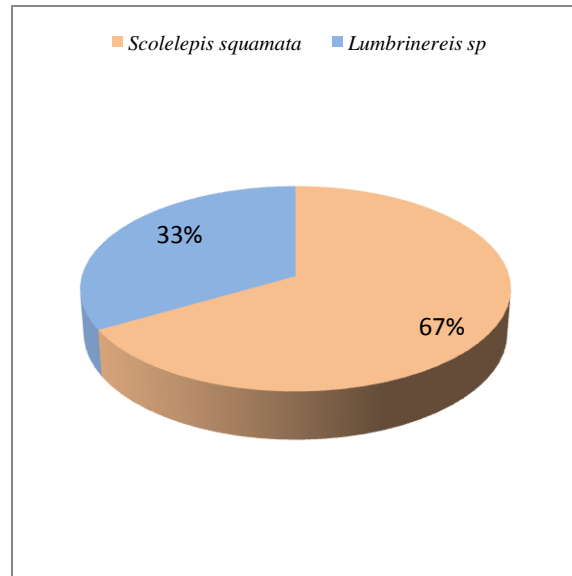


Algues

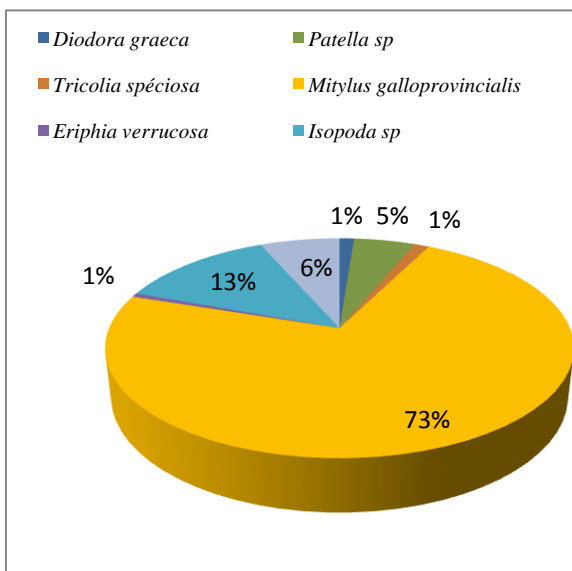
Figure 41. Pourcentage des différents embranchements recensés à El-Kala (El-Mordjène) de janvier à décembre 2012.



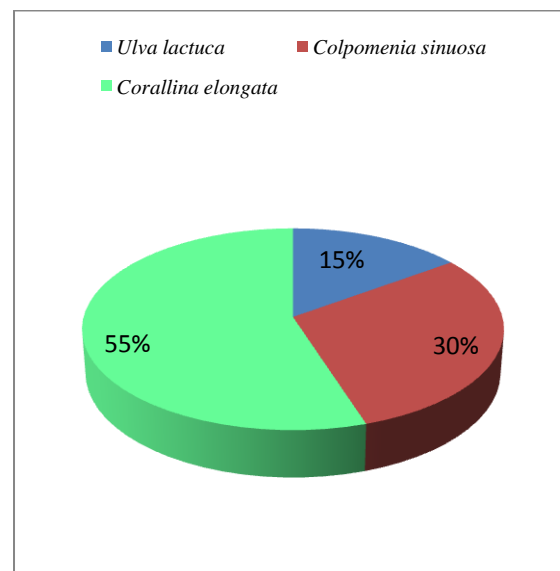
Néreiidiens



Annélides polychètes

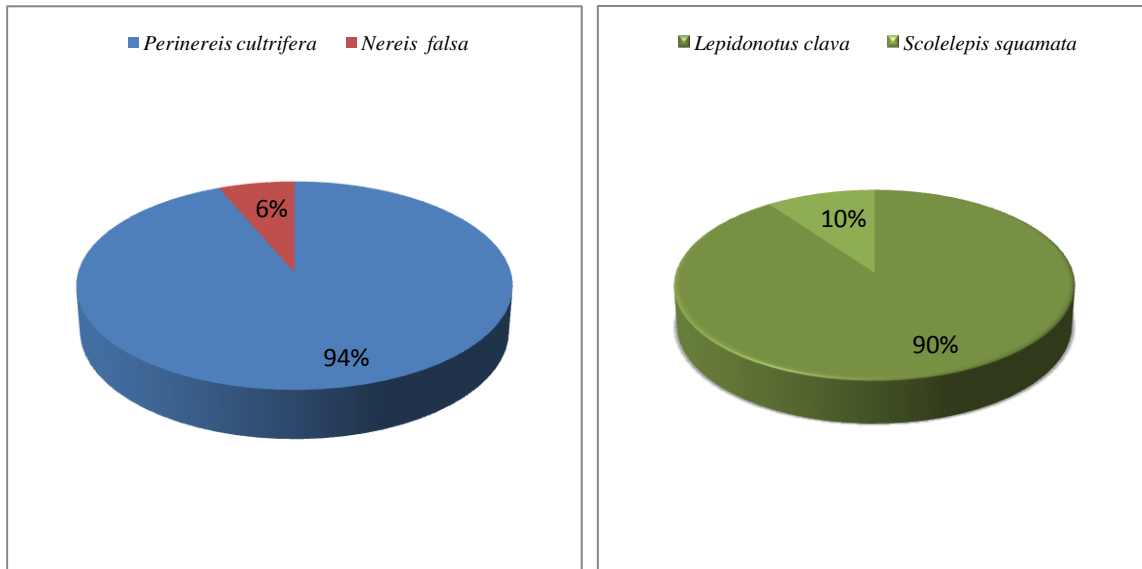


Faune associée



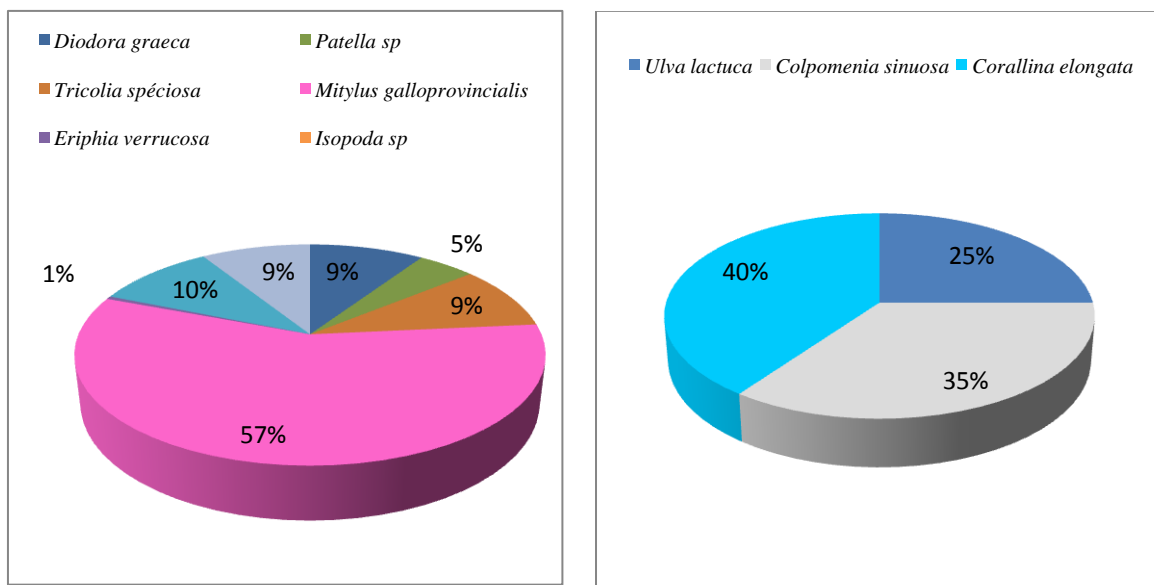
Algues

Figure 42. Pourcentage des différents embranchements recensés à Annaba (Saint-Cloud) de janvier à Décembre 2012.



Néreiidiens

Annélides polychètes



Faune associée

Algues

Figure 43. Pourcentage des différents embranchements recensés à Skikda (Stora) de janvier à Décembre 2012.

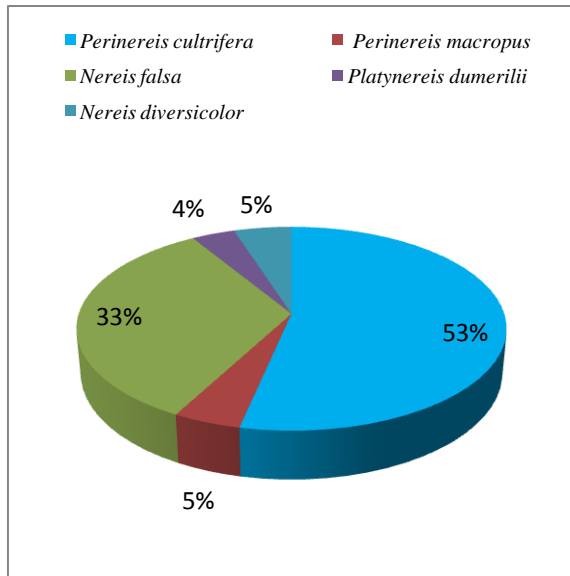
Pour l'année 2013, les pourcentages des différents taxons, représentés dans les figures (46, 47 et 48) révèlent une dominance chez les annélides polychètes de *Perinereis cultrifera* au niveau des trois sites avec une abondance de 88% à Skikda. Dans le site d'El Kala (El-Mordjène), cette espèce ne représente que 53% et partage son milieu avec quatre autres annélides polychètes, dont 33% *Nereis falsa*, 5% *Perinereis macropus*, 5% *Nereis diversicolor*, par contre, *Platynereis dumerillii* ne représente que 4%, alors que, dans le site d'Annaba (Saint-Cloud) *Perinereis cultrifera* représente 48% et partage son milieu avec trois autres annélides dont 47% *Nereis falsa* et 3% *Nereis diversicolor*.

Concernant les autres familles d'annélides : *Scolelepis squamata* représente la majorité des espèces avec 100% dans le site d'Annaba (Saint-Cloud), contrairement dans le site d'El-Kala (El-Mordjène) nous avons observé la présence des trois espèces, *Scolelepis squamata* avec 42%, *Lumbrinereis sp* avec 40% et des espèces *Amphitrite gracilis* de la famille des Térébilidea avec 28% et dans le site de Skikda nous avons observé la présence des trois espèces : *Amphitrite gracilis Lumbrinereis sp* avec 53%, *Lepidonotus clava* avec 41% et *Scolelepis squamata* avec un faible pourcentage 6%.

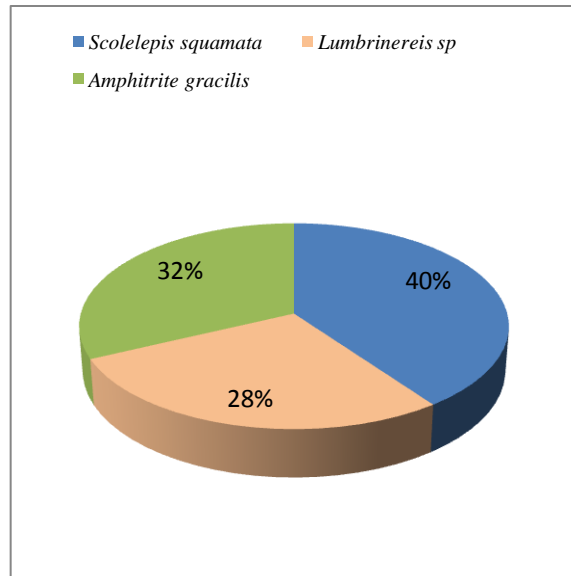
Concernant la faune associée : L'espèce *Mitylus galloprovincialis* représente la majorité des mollusques avec plus de 75% sur les trois sites suivie de *Patella sp* avec 5 à 11% ; cependant sur les deux sites El-Kala (El-Mordjène) et Skikda (Stora), nous avons observé une présence rarissime de *Tricolia speciosa* et *Diodora graeca* avec 1 à 10%.

Les Arthropodes amphipodes représentent la majorité des arthropodes sur les deux sites Annaba et Skikda avec 55 et 68% respectivement, suivie des Arthropodes amphipodes avec 41 et 27%; contrairement, dans le site d'El -Kala (El-Mordjène), l'espèce amphipoda sp représente la majorité des arthropodes avec 75 %, nous avons observé une faible présence de l'espèce *Eriphia verrucosa* avec 2 à 5%,

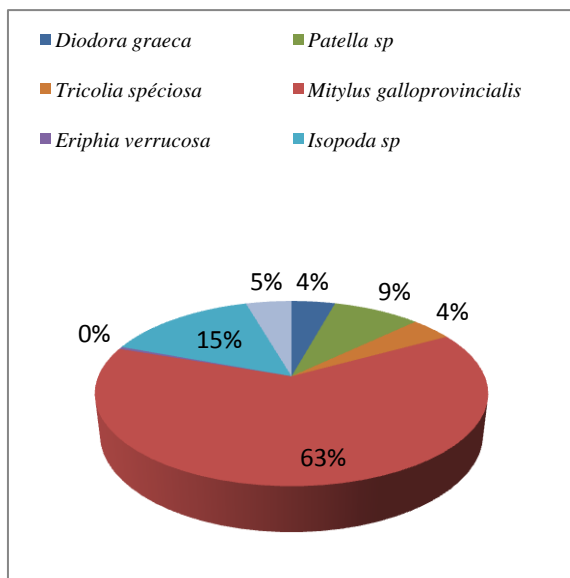
La comparaison des différentes structures au niveau des trois sites révèle une relation site/espèce sur le plan répartition des différentes populations,



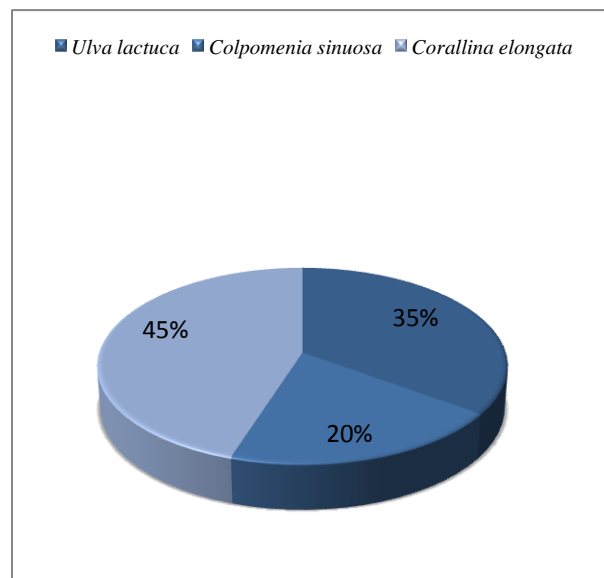
Néreiidiens



Annélides polychètes

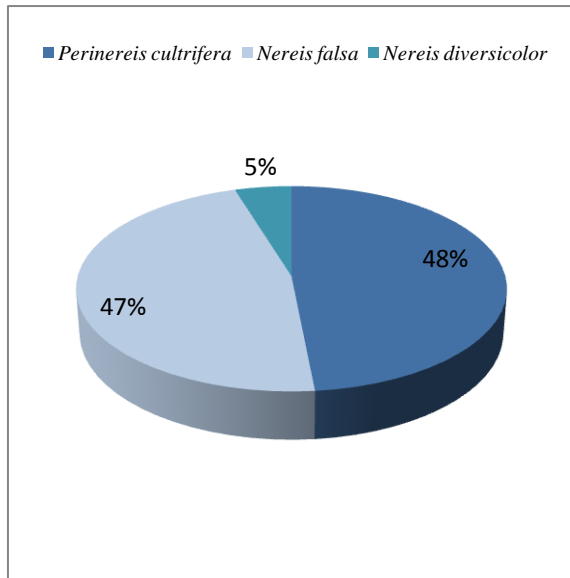


Faune associée

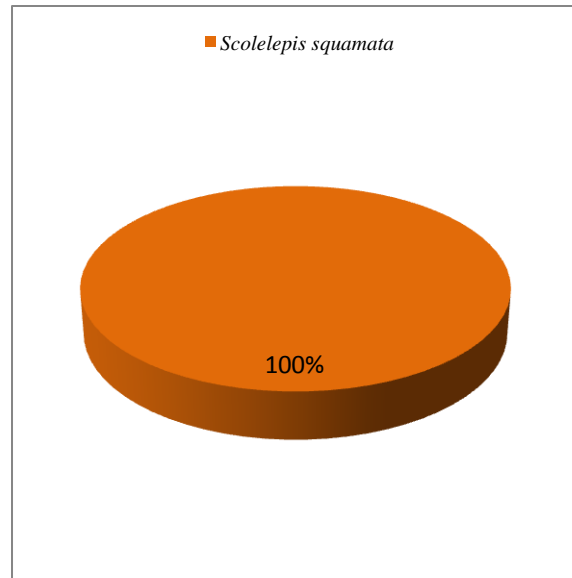


Algues

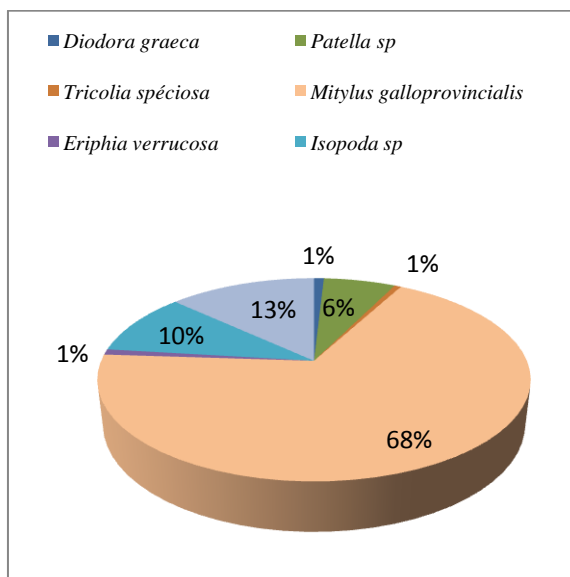
Figure 44. Pourcentage des différents embranchements recensés à El-Kala (El-Mordjène) de janvier à décembre 2013.



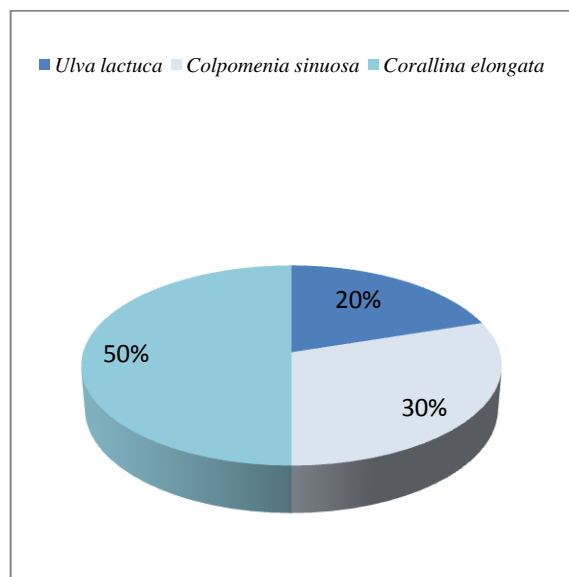
Néréidiens



Annélides polychètes

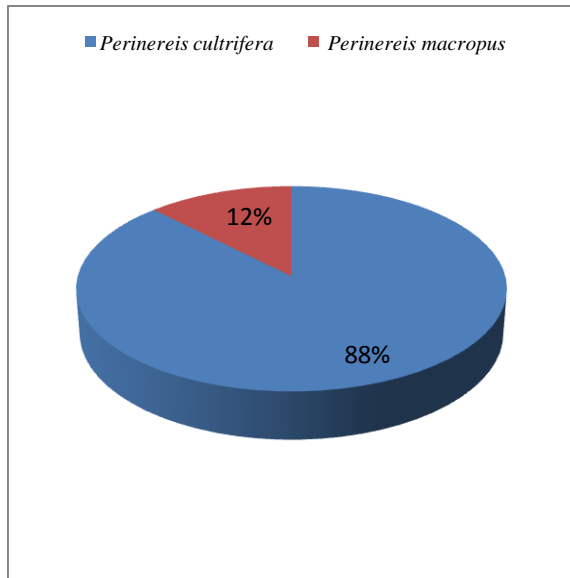


Faune associée

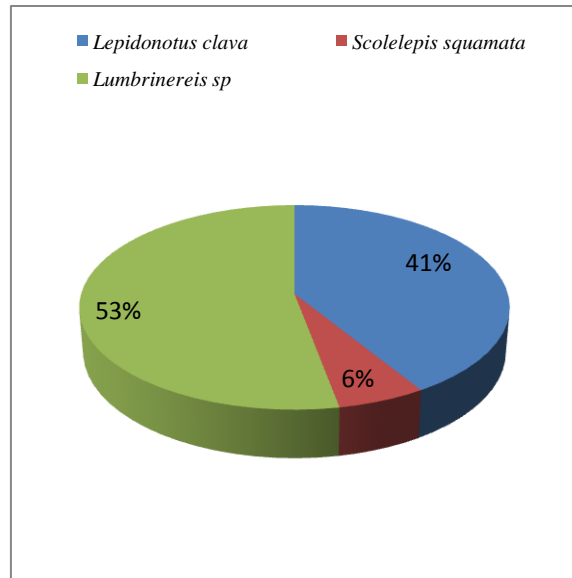


Algues

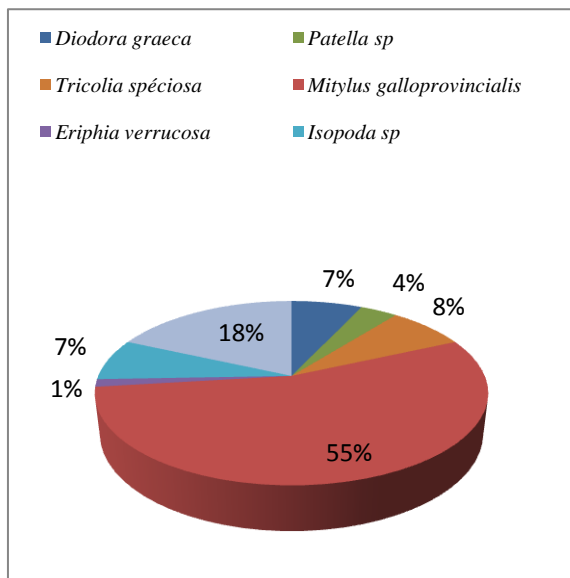
Figure 45. Pourcentage des différents embranchements recensés à Annaba (Saint-Cloud) de janvier à Décembre 2013



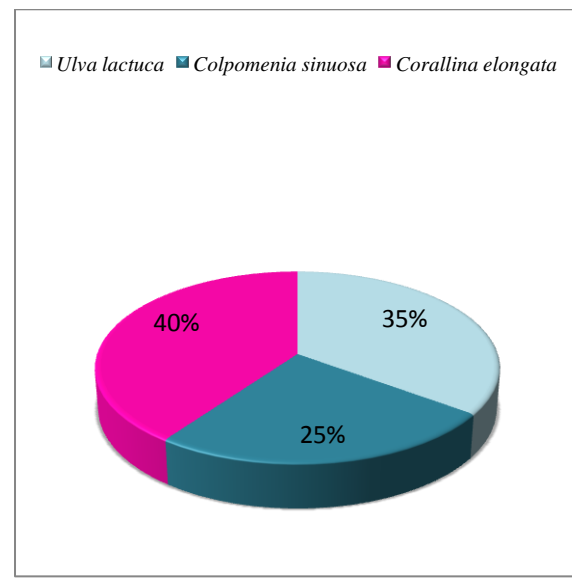
Néreiidiens



Annélides polychètes



Faune associée



Algues

Figure 46. Pourcentage des différents embranchements recensés à Skikda (Stora) de janvier à Décembre 2013.

3.3.2. Richesse et abondance du peuplement

Les résultats montrent que la richesse totale n'est pas homogène dans les différents sites, Elle varie de 11 à 15 espèces, tandis que l'abondance du peuplement varie de 1437 à 447 individus et de 938 à 407 durant les deux années 2012 et 2013 respectivement (Tableau 13),

Tableau 13, Caractéristiques du peuplement des trois sites d'étude par la richesse spécifique, la richesse totale et l'abondance,

Indice écologique Site	2012		2013	
	Richesse totale S	Abondance	Richesse totale S	Abondance
	Espèces	peuplement N	Espèces	peuplement N
El-Kala	15	1437	15	938
Annaba	12	803	11	638
Skikda	11	447	12	407

3.3.3. Fréquence centésimale

La fréquence centésimale (F) de l'espèce *Perinereis cultrifera* à Skikda (Stora) est de 93,6% pour l'année 2012, et 87,64% pour l'année 2013, Néanmoins, l'espèce *Scolelepis squataam* représente une fréquence centésimale de 100% uniquement au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) en 2013.

Par ailleurs, en 2012, La fréquence centésimale (F) de l'espèce *Lepidonotus clava* à Skikda (Stora) est de 90% durant l'année 2012 et de 41,18% en 2013. La fréquence des différentes autres espèces sont présentes avec un faible pourcentage (Tableau 14).

Tableau 14, Fréquence centésimale (%) des espèces inventoriées dans les sites d'étude. (Néreiidiens, et Annélides polychètes)

Site Espèce	2012			2013		
	El Kala (%)	Annaba (%)	Skikda (%)	El Kala (%)	Annaba (%)	Skikda (%)
<i>Perinereis cultrifera</i>	38,08	52,8	93,6	53,36	48,46	87,64
<i>Peinereis macropus</i>	53,10	43,57	0	4,49	0	12,36
<i>Nereis falsa</i>	4,61	0	6,4	33,42	46,76	0
<i>Platynereis dumerilii</i>	1,18	0	0	3,74	0	0
<i>Nereis diversicolor</i>	3,03	3,45	0	4,99	4,78	0
<i>Lepidonotus clava</i>	0	0	90	0	0	41,18
<i>Scolelepis squamata</i>	45	66,67	10	40	100	5,88
<i>Lumbrinereis sp</i>	40	33,33	0	28	0	52,94
<i>Amphitrite gracilis</i>	15	0	0	32	0	0

Concernant l'espèce *Isopoda sp*, la fréquence centésimale (F) est de 12,8 % à Annaba (Saint-Cloud) en 2012, et 14,84% à El-Kala (El-Mordjène) en 2013. *Amphipoda sp* est présente dans tous les sites avec une fréquence centésimale de 9,83% à Annaba (Saint-Cloud) en 2012 et de 13,16 et 18,27% à Annaba (Saint-Cloud) et Skikda –Stora) en 2013.

L'espèce *Mitylus galloprovincialis* présente une fréquence centésimale variant entre 57,26% et 72,62% en 2012, et entre 54,82% et 68,13% en 2013 (Tableau 15).

Tableau 15. Fréquence centésimale (%) des espèces inventoriées dans les sites d'études, (Faune associées).

Espèce	Site	2012			2013		
		El -Kala (%)	Annaba (%)	Skikda (%)	El Kala (%)	Annaba (%)	Skikda (%)
<i>Diodora graeca</i>		3,49	1,20	9,40	4,31	0,88	6,98
<i>Tricolia speciosa</i>		2,28	1,19	9,41	4,10	0,58	7,64
<i>Patella sp</i>		7,6	5,05	4,70	8,59	6,43	3,65
<i>Mitylus galloprovincialis</i>		74,32	72,62	57,26	63,28	68,13	54,82
<i>Eriphia verrucosa</i>		0,46	0,59	3,49	0,4	0,88	1,33
<i>Isopoda sp</i>		8,36	12,8	6,55	14,84	9,94	7,31
<i>Amphipoda sp</i>		3,49	9,83	8,98	4,49	13,16	18,27

3.3.4. Diversité et équitabilité

La diversité (H') des peuplements des trois sites dans le littoral Est Algérien varie de 0,161 Bit à El Kala (El-Mordjène), à 0,12 Bit à Annaba (Saint-Cloud), et à 0,002 Bit à Skikda (Stora) durant l'année 2012, Par contre en 2013, la diversité (H') varie de 0,575 Bit à El Kala (El-Mordjène), à 0,09 Bit à Annaba (Saint-Cloud) et de 0,4 Bit à Skikda (Stora),

L'équipartition (E) varie de 0,04 au niveau du site El Kala (El-Mordjène), et de 0,03 et 0,0006 au niveau des deux sites Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) respectivement durant l'année 2012, Pour l'année 2013, L'équipartition (E) varie de 0,14 à El Kala (El-Mordjène), et de 0,02, et 0,11 au niveau des deux sites Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) respectivement (Tableau, 16).

Tableau 16. La diversité (H') et l'équipartition (E) du peuplement de macroinvertébrés dans les différents sites d'étude.

Années	Sites	H'	E
2012	El-Kala	0,161	0,04
	Annaba	0,12	0,03
	Skikda	0,002	0,0006
2013	El-Kala	0,575	0,14
	Annaba	0,09	0,02
	Skikda	0,4	0,11

3.4. Paramètres morphométriques

3.4.1. Taille

3.4.1.1. Au niveau du littoral Est algérien

Les résultats obtenus par les mesures morphométriques montrent que les femelles récoltées au niveau du site d'El Kala (El-Mordjène) présentent les plus grandes valeurs suivies des individus du site d'Annaba (Saint-Cloud) et du site de Skikda (Stora) respectivement, la taille maximale est de 45 ± 2 mm au mois d'Avril chez les individus récoltés au niveau du site d'El Kala (El-Mordjène) et une taille minimale de 18 ± 4 mm durant le mois d'Août chez les individus récoltés au niveau du site de Skikda (Stora) (Tableau 17).

Tableau 17. Mesures de la taille (mm) chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau des trois sites d'étude durant l'année 2012. (m s, n = 50).

Mois \ Site	EL Kala	Annaba	Skikda
Janvier	34 ± 3	28±4	25±3
Février	36±4	33±5	30±4
Mars	41± 3	37±4	33±4
Avril	45±2	40±3	37±2
Mai	49±2	44±2	40±2
Juin	39±3	36±3	32±5
Juillet	37±3	31±4	26±3
Août	25±4	22±3	18±4
Septembre	27±4	24±3	20±4
Octobre	29±5	26±3	25±4
Novembre	30±3	29±5	25±4
Décembre	33±5	30±4	28±3

La tendance linéaire de la variation de la taille en fonction du mois chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau des sites étudiés, montre que la taille des individus augmente à partir du mois de Février atteignant une valeur maximale au mois de Mai au niveau de toutes les sites étudiés, suivi d'une diminution de la taille durant les deux mois Juillet et Août puis augmente progressivement à partir du mois de Septembre dans les trois sites d'étude (Figure 47).

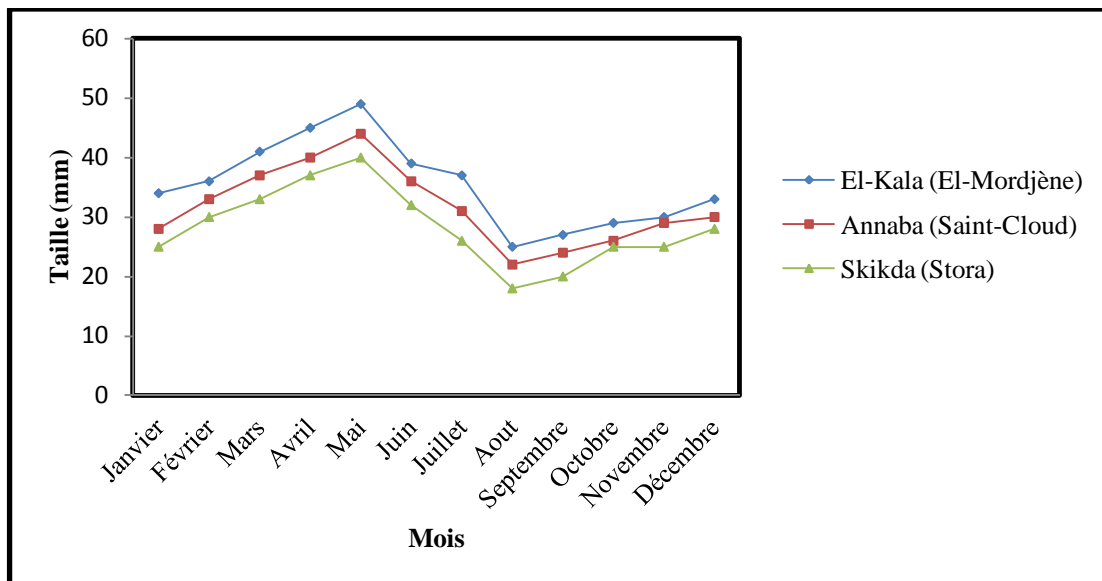


Figure 47. Variations mensuelles de la taille (mm) chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau des sites d'étude durant l'année 2012.

L'analyse de la variance des variations mensuelles de la taille par le test de Tukey, permet de comparer les différentes moyennes et de classer les sites en trois groupes dans les mois : Janvier, Avril, Mai et Juillet. Le groupe A correspond au site d'El-Kala (El-Mordjène), où les valeurs moyennes de taille sont les plus élevées, et le groupe AB qui renferme les femelles du site d'Annaba (Saint Cloud), qui présentent des tailles intermédiaires entre les femelles d'El Kala (El-Mordjène) et Skikda (Stora), et le groupe B correspond au site de Skikda (Stora), qui représente les valeurs les plus faibles (Figure 48).

Le test de Tukey a permis de classer les sites en un seul groupe A durant les mois de Février, Mars, Juin, Août, Septembre, Octobre et Décembre (Figure 48).

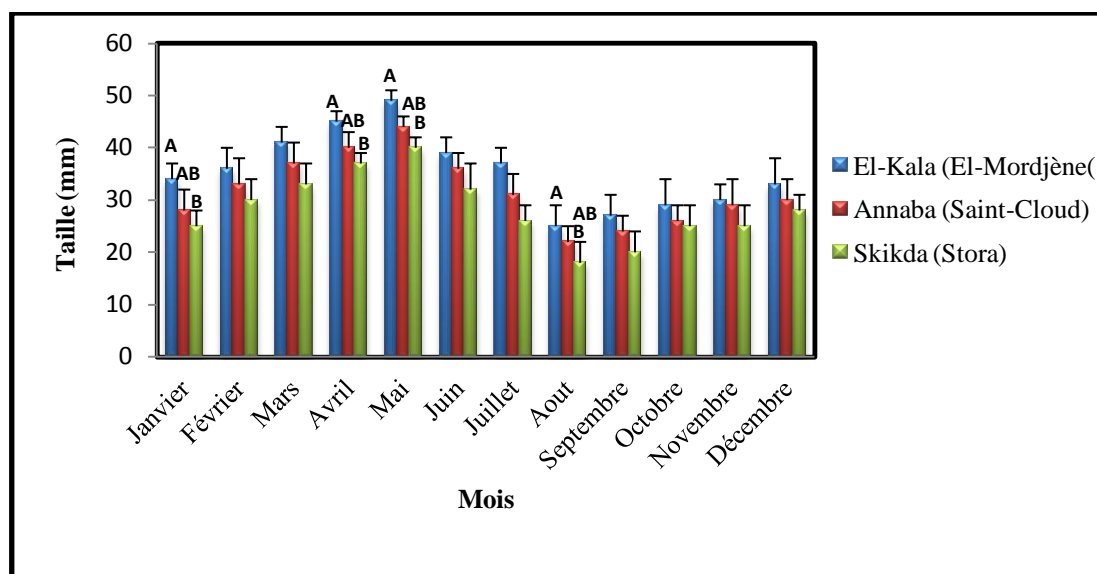


Figure 48. Variations mensuelles de la taille (mm) chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau des trois sites d'étude durant l'année 2012 (classification de Tukey).

L'ANOVA à un seul critère de classification montre qu'il y a une différence non significative durant les mois : Février ($p = 0,312$), Mars ($p = 0,098$), Juin ($P = 0,155$), Août ($p = 0,145$), Septembre ($p = 0,145$), Octobre ($P = 0,500$), Novembre ($P = 0,349$) et Décembre ($P = 0,381$), et une différence significative durant les mois : Janvier ($P = 0,043$), Avril ($P = 0,017$), et Juillet ($P = 0,020$) et une différence très significative durant le mois de Mai ($P = 0,004$).

L'ANOVA à deux critères de classification montre qu'il y a un effet très hautement significatif entre les mois et entre les sites mais aucune signification concernant l'interaction site/mois (Tableau 18).

Tableau 18. ANOVA à deux facteurs contrôlés de la taille chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau des trois sites d'étude.

Sources de la variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Mois	11	4490,67	408,24	31,27	0.000***
Site	2	925,17	462,58	35,43	0.000***
Interaction : Site/Mois	22	80,83	3,67	0,28	0.999NS
Erreur résiduelle	72	940,00	13,06		
Totale	107	6436,67			

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

3.4.1.2. Au niveau de la Manche française

La taille des femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau de la Manche française est plus importante que celle de la côte algérienne. Chez les individus de la manche française, la taille varie entre $56,12 \pm 5$; $63,61 \pm 3,50$ et $53,25 \pm 3,32$ correspondant respectivement à Saint-

Aubin, Saint-Pabu et Roscoff contre des tailles moyennes variables de $35,41 \pm 2$; $31,66 \pm 3$ et $28,25 \pm 3$ correspondant à El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora), (Figure 49),

Tableau 19. Mesures de la taille (mm) chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites de la manche française. ($m \pm s$, $n = 50$).

Site \ Paramètre	Saint-Aubin	Saint-Pabu	Roscoff
Taille (mm)	$56,12 \pm 5$ A	$63,61 \pm 3,50$ B	$53,25 \pm 3,32$ C

Le test de Tukey a permis de classer les sites de la manche française en trois groupes le groupe A renferme le site de Saint-Aubin, le groupe B représente le site de Saint-Pabu et le groupe C renferme le site de Roscoff.

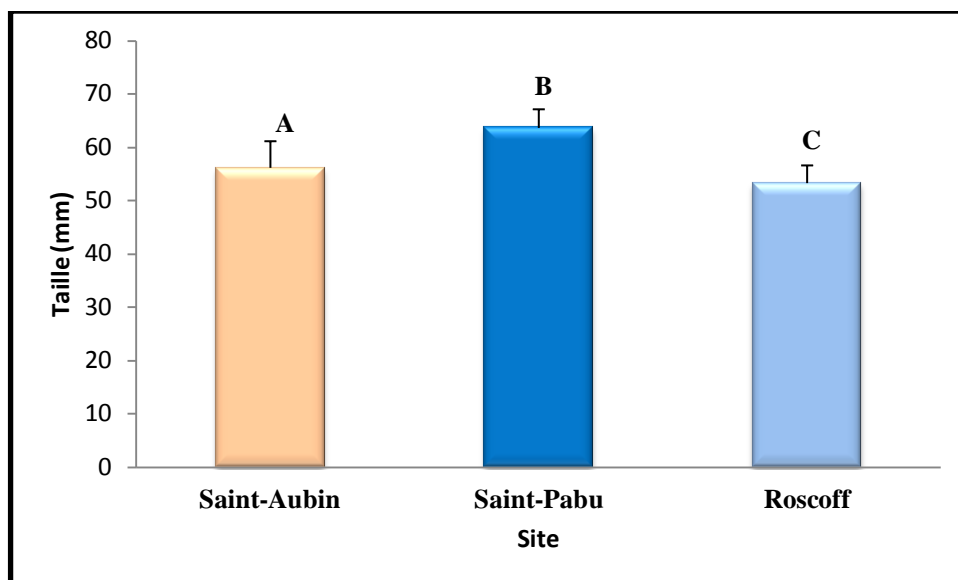


Figure 49. Variations annuelle de la taille chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites de la manche française ($m \pm s$; $n=50$).

L'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification montre une différence très significative entre les tailles des femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites de la manche française (Tableau 20).

Tableau 20. Analyse de la variance à un seul facteur contrôlé de la taille des femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites au niveau de la manche française.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Factorielle	2	459,1	229,5	14,25	0,000***
Résiduelle	21	338,2	16,1		
Totale	23	797,3			

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

3.4.2. Nombre de sétigères

3.4.2.1. Au niveau du littoral Est algérien

Les variations mensuelles du nombre de sétigères chez les femelles prélevées des trois sites montrent que chez les femelles d'El Kala (El-Mordjène), les valeurs sont très proches pendant les mois allant de Février jusqu'à Avril, et varient entre 44 et 48 sétigères, puis augmentent en juin et en Juillet allant de 59 à 68 sétigères, puis le nombre de sétigères diminue et varie entre 28 et 39 sétigères.

Dans le site d'Annaba (Saint Cloud), la plus grande valeur a été enregistré durant le mois de Juillet avec 57 sétigères, tandis que la plus faible à été enregistrée durant le mois d'Août avec 22 sétigères.

Dans le site de Skikda (Stora), la plus grande valeur a été enregistrée durant le mois de Juillet avec 50 sétigères, tandis que la plus faible à été enregistrée durant le mois d'Août avec 19 sétigères. (Tableau 21)

Tableau 21. Variations mensuelles du nombre de sétigères chez les femelles de *P.cultrifera* ($m \pm s$; $n=60$), échantillonnées dans les trois sites : El Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) de Janvier à Décembre 2012.

Site \ Mois	El-Kala	Annaba	Skikda
Janvier	39 ± 7	35±2	26±4
Février	45 ±4	43±4	36±3
Mars	48±4	38±6	29±4
Avril	44±2	34±4	33±2
Mai	54± 4	47±4	37±2
Juin	59±2	49±4	41±3
Juillet	68±3	57±3	50 ±4
Août	28±3	22±4	19 ±3
Septembre	33±7	33±2	24±2
Octobre	36±4	29±3	27±3
Novembre	34±6	37±2	30±6
Décembre	37±2	32±4	24±4

La tendance linéaire de la variation du nombre de sétigères en fonction de la période d'étude chez les individus de *P. cultrifera* au niveau des sites étudiés, montre que le nombre de sétigères des individus augmente jusqu'au mois d'Avril, atteignant un pic en Juillet où le nombre de sétigères le plus élevé a été enregistrée au niveau du site El-Kala (El-Mordjène) (68 ± 3) (Figure 50).

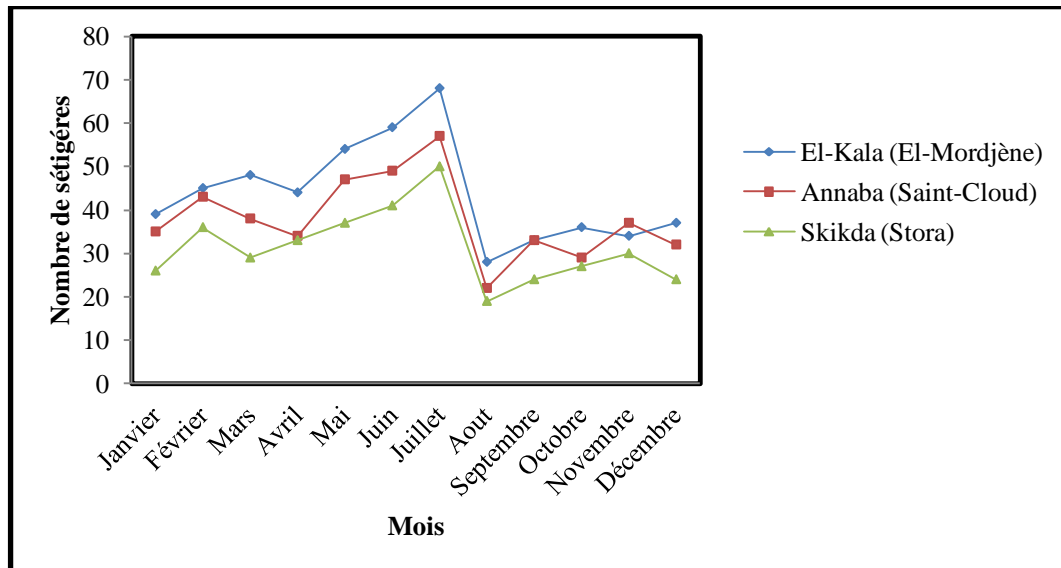


Figure 50. Variations mensuelles du nombre de sétigères chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau des trois sites d'étude durant l'année 2012.

L'analyse de la variance des variations mensuelles du nombre de sétigères par le test de Tukey a permis de comparer toutes les moyennes et de classer les sites étudiés en deux groupes durant les mois d'Avril et de Juillet. Le groupe A renferme le site d'El-Kala (El-Mordjène), et le groupe B regroupe les deux sites : Annaba (Saint -Cloud) et Skikda (Stora).

Le test de Tukey a permis de classer les sites étudiés en deux groupes durant le mois de Mai, le groupe A renferme les deux sites El Kala (El-Mordjène) et Annaba (Saint Cloud). Le groupe B regroupe le site de Skikda (Stora).

Le test met en évidence trois groupes durant les mois de Janvier, Mars, Août, Octobre, et Décembre. Le groupe A comporte les individus d'El-Kala (El-Mordjène) qui présentent les valeurs les plus élevées, et le groupe AB représente les individus du site d'Annaba (Saint -Cloud), avec un nombre de sétigères non différent de celui des individus du site El Kala (El-Mordjène) et des autres stations ; le groupe B correspond au site de Skikda (Stora) qui présente des valeurs inférieures à celles des autres sites.

On outre, le test de Tukey a permis de classer les sites étudiés en trois groupes durant le mois de Juin, le groupe A correspond le site d'El-Kala (El-Mordjène), le groupe B regroupe le site d'Annaba (Saint-Cloud) et le groupe C regroupe le site de Skikda (Stora).

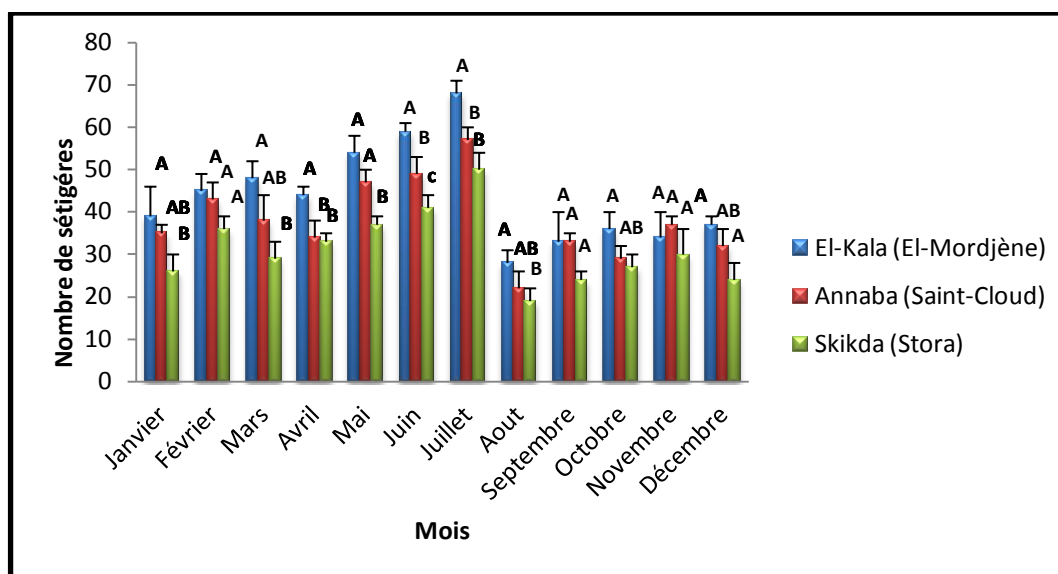


Figure 51. Variations mensuelles du nombre de sésigères chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau des trois sites d'étude durant l'année 2012. (classification de Tukey).

L'ANOVA à un seul critère de classification montre qu'il y a une différence significative durant les deux mois : Janvier ($p=0,024$) et Février ($p=0,015$), une différence hautement significative durant les mois de Mars, Juin, Août et Novembre avec ($p=0,002$), et une différence très hautement significative durant les mois de Mai avec ($p=0,000$) et les mois d'Avril, Juillet, Septembre, Octobre et Décembre avec ($p=0,001$).

L'ANOVA à deux critères de classification montre qu'il y a un effet très hautement significatif entre les mois et entre les sites, et un effet significatif pour l'interaction site/mois (Tableau 22).

Tableau 22. ANOVA à deux facteurs contrôlés du nombre de sésigères chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau des trois sites d'étude.

Sources de la variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Mois	11	9512,92	864,61	58,63	0,000***
Site	2	2780,17	1390,08	94,24	0,000***
Interaction : Site/Mois	22	557,83	25,36	1,72	0,045*
Erreur résiduelle	72	1062,00	14,75		
Totale	107	13912,92			

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

3.4.2.2. Au niveau de la Manche française

Le Nombre de sésigères des femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau de la Manche française est plus important que celui de la côte algérienne. Chez les individus de la manche française, ce Nombre varie entre $86,87 \pm 2,53$; $90 \pm 2,82$ et $83 \pm 2,39$ correspondant respectivement à Saint-Aubin, Saint-Pabu et Roscoff contre des Nombres variables de 48 ± 5 ;

41±4 et 35±6 correspondant à El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora), (Figure 52),

Tableau 23. Mesures du Nombre de sétigères chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites de la manche française. ($m \pm s$, $n = 50$).

Site Paramètre	Saint-Aubin	Saint-Pabu	Roscoff
Nombre de sétigères	86,87±2,53 A	90±2,82 AB	83±2,39 B

Le test de Tukey a permis de classer les sites de la manche française en trois groupes le groupe A renferme le site de Saint-Aubin, le groupe AB représente le site de Saint-Pabu et le groupe B renferme le site de Roscoff.

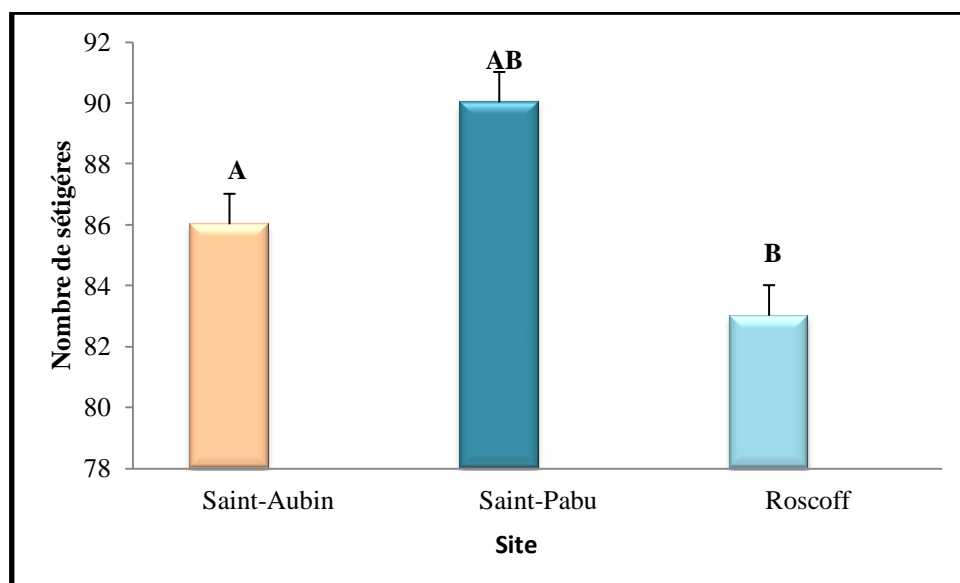


Figure 52. Variations annuelle du Nombre de sétigères des femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites au niveau de la manche française ($m \pm s$; $n=50$).

L'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification montre une différence très significative du Nombre de sétigères des individus de chaque population. (Tableau 24)

Tableau 24. Analyse de la variance à un seul facteur contrôlé du Nombre de sétigères des femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites au niveau de la manche française.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Factorielle	2	151,8	75,9	4,44	0,025*
Résiduelle	22	358,8	17,1		
Totale	23	510.5			

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

3.4.3. Evolution annuelle de l'état sexuel

L'évolution de l'état sexuel de la population de *Perinereis cultrifera* dans les trois sites au cours du cycle annuel allant de Janvier de l'année 2012 à Janvier de l'année 2013 est représentée sur les figures 53A, 53B et 53C. Nous remarquons que la proportion des individus mâles demeure au cours du temps faible, cela est à lier probablement au fait qu'il est plus simple de différencier précocement les ovocytes plutôt que les amas de spermatogonies. La proportion de femelles varie fortement et l'évolution du pourcentage des individus sexués en fonction du temps reflète la variation du ratio des femelles dans la population totale.

La proportion des individus sexués est maximale durant la période allant de janvier à avril dans les populations échantillonnées à Skikda (Stora) ; elle est en moyenne de 70% (Tableau 27).

Pour les populations échantillonnées à El –Kala (El-Mordjène) et Annaba (Saint-Cloud), la proportion des sexués est maximale de février à mai, elle est en moyenne de l'ordre de 80% à El-Kala (El-Mordjène) (Tableau 25), 70% à Annaba (Saint-Cloud) (Tableau 26) et 68% à Skikda (Stora) (Tableau 27). A partir du mois de mai, la proportion des mâles et des femelles diminue dans les trois populations récoltées, traduisant certainement la mort des individus matures épitoques, ce qui correspond à la fin de la période de reproduction. Il est à noter qu'une seconde diminution du pourcentage des individus sexués a lieu en août (51,23%) dans le cas des populations échantillonnées à El-kala (El-Mordjène) et (48,76%) à Annaba durant le même mois et (52,41%) en septembre dans les populations récoltées à Skikda (Stora). Cela est la conséquence directe de l'apparition d'une nouvelle génération d'individus indifférenciés dans les populations échantillonnées au cours de cette période.

Tableau 25. Proportions des individus sexués par rapport à la population totale, et celles des mâles et des femelles par rapport à la population sexuée au cours du cycle annuel (Janvier à Décembre 2012) dans le site d'El-Kala (El-Mordjène).

Mois \ Sexe	Sexués(%)	Mâles(%)	Femelles(%)
Janvier	69,30	24,51	44,79
Février	87,40	37,13	50,27
Mars	80,01	21,97	58,04
Avril	83,12	20,93	62,19
Mai	72,04	23,15	48,89
Juin	65,19	18,43	37,76
Juillet	70,18	25,07	45,11
Août	51,23	14,82	36,41
Septembre	64,72	30,22	34,50
Octobre	55,27	18,67	36,60
Novembre	54,13	15,33	38,80
Décembre	64,52	24,92	39,60
Janvier	71,15	20,57	50,58

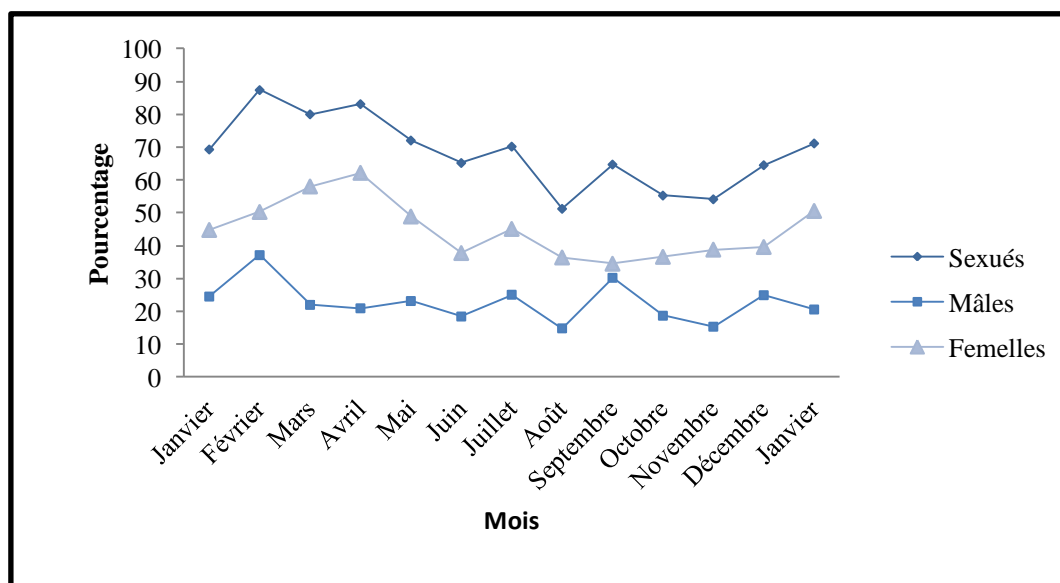
Tableau 26. Proportions des individus sexués par rapport à la population totale, et celle des mâles et femelles par rapport à la population sexuée au cours du cycle annuel (Janvier à Décembre 2012) dans le site d'Annaba (Saint-Cloud).

Mois \ sexe	Sexués(%)	Mâles(%)	Femelles(%)
Janvier	64,12	19,10	45,02
Février	78,66	29,02	49,75
Mars	69,56	21,17	48,39
Avril	72,84	16,23	56,61
Mai	76,20	24,83	51,37
Juin	59,24	19,69	39,55
Juillet	64,25	16,22	48,03
Août	48,76	20,28	28,48
Septembre	57,31	14,11	43,20
Octobre	60,74	23,18	37,56
Novembre	55,49	18,80	36,69
Décembre	66,40	24,85	41,55
Janvier	58,42	29,34	29,08

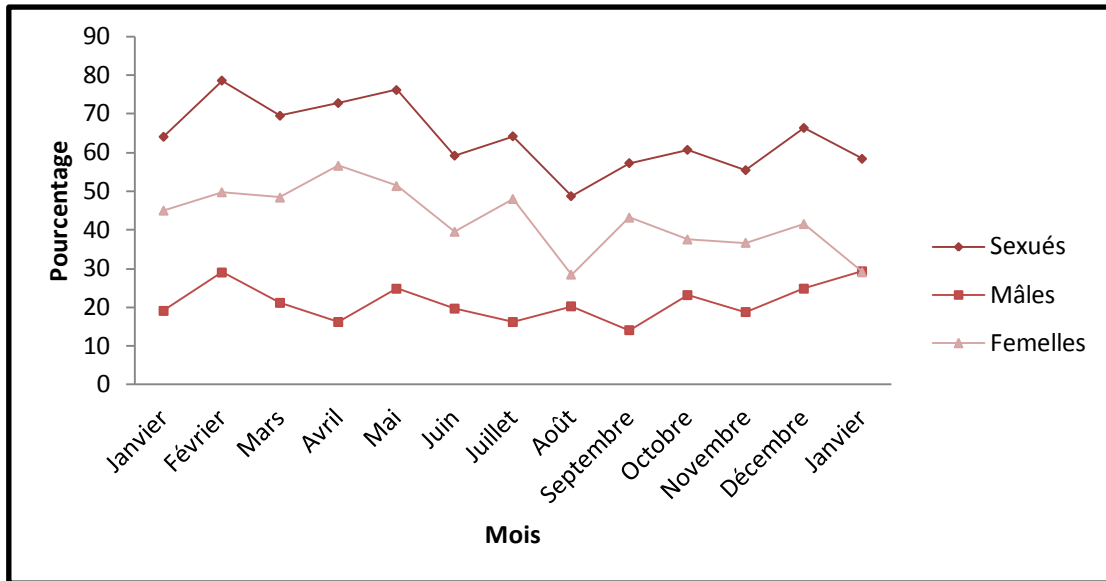
Tableau 27. Proportions des individus sexués par rapport à la population totale, et celle des mâles et des femelles par rapport à la population sexuée au cours du cycle annuel (Janvier à Décembre 2012) dans le site de Skikda (Stora).

Mois \ sexe	Sexués(%)	Mâles(%)	Femelles(%)
Janvier	61,40	32,25	29,15
Février	66,10	26,74	39,36
Mars	70,12	22,63	47,49
Avril	73,02	19,85	53,17
Mai	69,56	25,76	43,80
Juin	54,20	20,14	34,06
Juillet	59,75	27,94	31,81
Août	55,10	18,32	36,87
Septembre	52,41	32,17	20,24
Octobre	59,72	26,08	33,64
Novembre	67,64	21,52	46,12
Décembre	57,13	19,31	37,82
Janvier	62,68	24,17	38,51

(A)



(B)



(C)

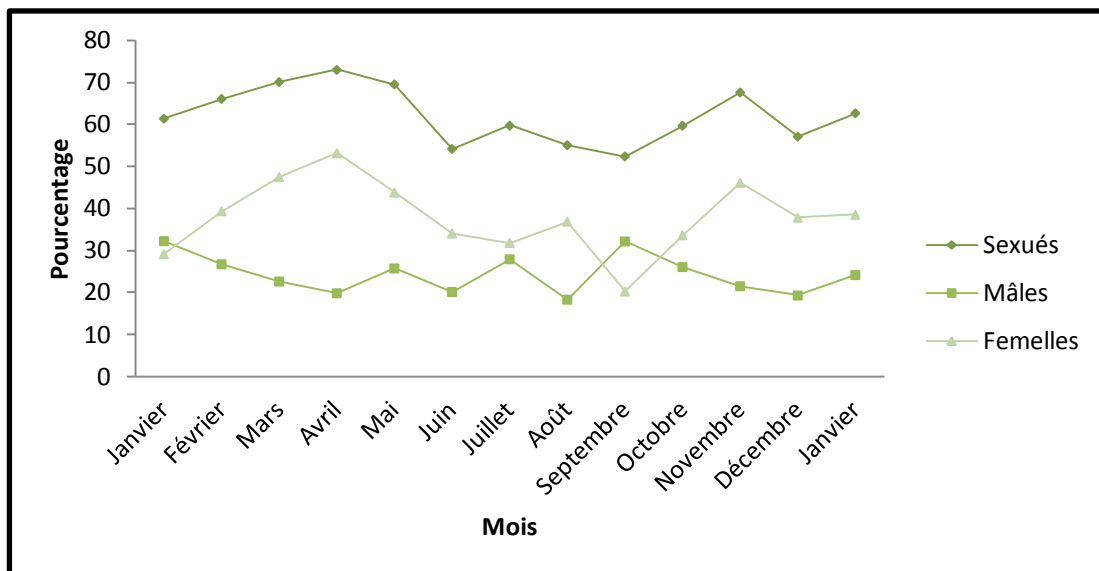


Figure 53. Evolution de l'état sexuel de *P. cultrifera* en fonction du temps : El-Kala (El-Mordjène) (A), Annaba (Saint-Cloud) (B) et Skikda (Stora) (C).

3.4.4. Evolution annuelle du poids frais essuyé

3.4.4.1. Au niveau du littoral Est algérien

Les courbes de variation du poids frais essuyé moyen de la population totale au cours du cycle annuel, correspondant aux trois sites étudiés (Fig.54A, Fig 55A et Fig 56A), montrent que le poids moyen des individus évolue de manière sensiblement identique. Ce dernier augmente graduellement à partir du mois de janvier jusqu'au mois d'avril puis diminue progressivement jusqu'à juin pour se stabiliser en été et en automne (de juin jusqu'à décembre).

D'après les figures (54B, 55B et 56B), nous remarquons que le poids frais moyen des individus sexuellement indifférenciés appartenant respectivement aux populations échantillonnées à El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) est stable durant presque tout le cycle de vie, il est en moyenne de 0,19g à El-Kala (El-Mordjène), de 0,16g à Annaba et de 0,14g à Skikda. Cependant, à partir du mois d'avril, le poids frais moyen des indifférenciés diminue pour atteindre des valeurs minimales de l'ordre de 0,11g au cours du mois de juin, traduisant le recrutement des individus de la nouvelle génération. Par ailleurs, l'évolution du poids chez les individus sexués affiche des courbes de variation du poids frais moyen des mâles et des femelles au cours du cycle présentant globalement le même aspect.

Chez les populations provenant d'El-Kala (El-Mordjène) (tableau 28), nous constatons une augmentation progressive du poids frais moyen des individus sexués à partir du mois de janvier pour atteindre un maximum au mois de mars (fig 54A), les mêmes observations ont été constatées chez les populations des deux autres sites (tableaux 29 et 30) sauf que le maximum de poids a été signalé chez les femelles d'Annaba (Saint-Cloud) au mois d'avril (tableau 29 ; fig 55A). Au cours de cette période, le poids frais moyen des individus sexués à El-kala (El-Mordjène) passe de $0,319 \pm 0,023$ à $0,422 \pm 0,027$ g pour les mâles et de $0,366 \pm 0,037$ à $0,492 \pm 0,057$ g pour les femelles (tableau 28). Une forte diminution du poids frais moyen est signalée au mois de juin qui est précédée par une diminution progressive pendant les mois d'avril et de mai. Au cours de cette période, le poids frais moyen des individus sexués passe de $0,344 \pm 0,034$ g à $0,231 \pm 0,036$ g chez les mâles et de $0,472 \pm 0,05$ g à $0,296 \pm 0,028$ g chez les femelles. Cette chute est étroitement liée à la mort des géniteurs épitoques représentés par des individus de poids élevé.

Il est à noter que cette dernière étape est moins marquée pour les femelles car elle coïncide avec la période de différenciation des femelles de la nouvelle génération où ces dernières présentent dans leur contenu cœlomique les cellules germinales de petite taille pendant les saisons estivale et automnale, période s'étalant de juillet à décembre ; le poids frais moyen des individus sexués augmente pour atteindre des valeurs intermédiaires suivi par une période stable entre septembre et décembre.

Tableau 28. Variations annuelles du poids frais essuyé moyen (g) de la population totale, des individus sexués et indifférenciés dans le site d'EL-Kala (El-Mordjène) ($m \pm s$; $n = 50$).

Population Mois	Population totale	Indifférenciés	Mâles	Femelles
Janvier	0,284±0,053	0,211±0,062	0,319±0,023	0,366±0,037
Février	0,29±0,0550	0,240±0,043	0,452±0,028	0,380±0,050
+Mars	0,361±0,054	0,260±0,041	0,422±0,027	0,492±0,057
Avril	0,358±0,038	0,267±0,024	0,344±0,034	0,472±0,054
Mai	0,345±0,058	0,183±0,027	0,322±0,023	0,381±0,043
Juin	0,203±0,031	0,128±0,046	0,231±0,036	0,296±0,028
Juillet	0,239±0,047	0,166±0,029	0,251±0,025	0,312±0,047
Août	0,219±0,045	0,188±0,024	0,270±0,058	0,328±0,026
Septembre	0,216±0,035	0,190±0,027	0,249±0,032	0,338±0,036
Octobre	0,254±0,054	0,164±0,022	0,226±0,044	0,294±0,025
Novembre	0,229±0,059	0,189±0,017	0,263±0,040	0,324±0,023
Décembre	0,288±0,055	0,172±0,015	0,244±0,028	0,371±0,030
Janvier	0,291±0,081	0,160±0,020	0,250±0,039	0,274±0,036

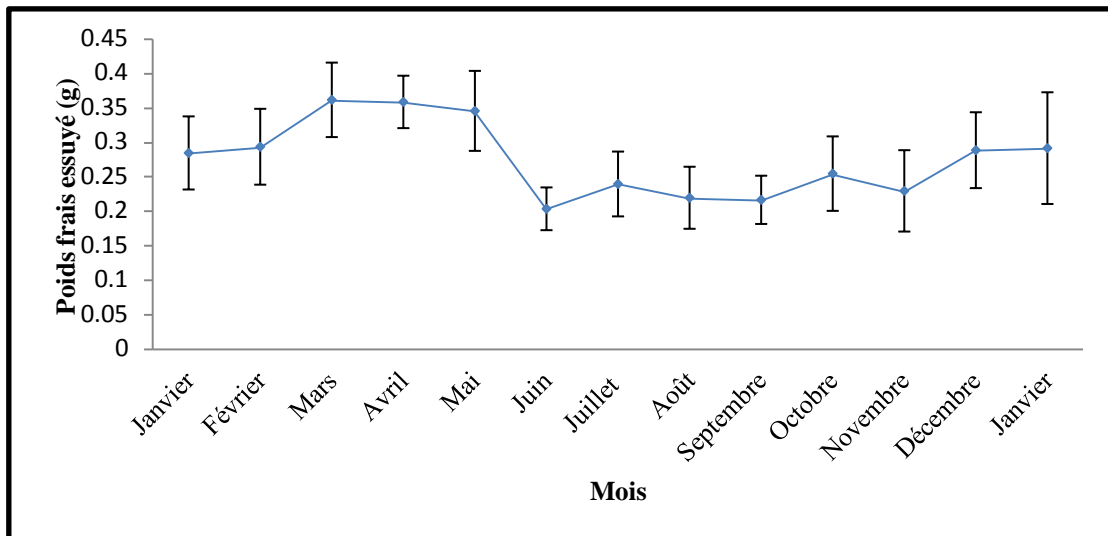
Tableau 29. Variations annuelles du poids frais essuyé moyen (g) de la population totale, des individus sexués et indifférenciés dans le site d'Annaba (Saint-Cloud) ($m \pm s$; $n = 50$).

Population Mois	Population totale	Indifférenciés	Mâles	Femelles
Janvier	0,239±0,043	0,206±0,055	0,259±0,061	0,307±0,043
Février	0,247±0,052	0,227±0,038	0,337±0,044	0,339±0,045
Mars	0,264±0,038	0,219±0,045	0,356±0,029	0,381±0,066
Avril	0,291±0,061	0,224±0,043	0,322±0,023	0,391±0,067
Mai	0,285±0,047	0,148±0,041	0,243±0,057	0,296±0,061
Juin	0,193±0,036	0,113±0,036	0,203±0,045	0,214±0,023
Juillet	0,198±0,045	0,169±0,036	0,233±0,050	0,278±0,046
Août	0,189±0,030	0,165±0,044	0,220±0,057	0,244±0,046
Septembre	0,202±0,032	0,178±0,035	0,264±0,050	0,266±0,042
Octobre	0,221±0,038	0,159±0,032	0,259±0,042	0,295±0,058
Novembre	0,228±0,056	0,189±0,026	0,230±0,050	0,288±0,050
Décembre	0,234±0,041	0,172±0,027	0,213±0,039	0,277±0,047
Janvier	0,257±0,046	0,156±0,028	0,217±0,042	0,244±0,052

Tableau 30. Variations annuelles du poids frais essuyé moyen (g) de la population totale, des individus sexués et indifférenciés dans le site de Skikda (Stora) ($m \pm s$; $n=50$).

Population Mois	Population totale	Indifférenciés	Mâles	Femelles
Janvier	0,205±0,040	0,158±0,029	0,208±0,036	0,251±0,045
Février	0,219±0,042	0,144±0,028	0,245±0,033	0,245±0,055
Mars	0,224±0,046	0,177±0,031	0,258±0,062	0,361±0,061
Avril	0,245±0,045	0,172±0,032	0,232±0,052	0,309±0,046
Mai	0,236±0,035	0,135±0,028	0,204±0,041	0,297±0,037
Juin	0,143±0,027	0,101±0,024	0,188±0,030	0,198±0,034
Juillet	0,128±0,031	0,138±0,033	0,208±0,022	0,273±0,038
Août	0,149±0,036	0,152±0,041	0,262±0,040	0,233±0,038
Septembre	0,174±0,035	0,130±0,033	0,210±0,023	0,265±0,049
Octobre	0,165±0,032	0,149±0,031	0,248±0,055	0,289±0,041
Novembre	0,184±0,028	0,157±0,024	0,226±0,042	0,253±0,032
Décembre	0,178±0,026	0,164±0,032	0,252±0,045	0,241±0,046
Janvier	0,198±0,052	0,160±0,035	0,240±0,040	0,267±0,031

(A)



(B)

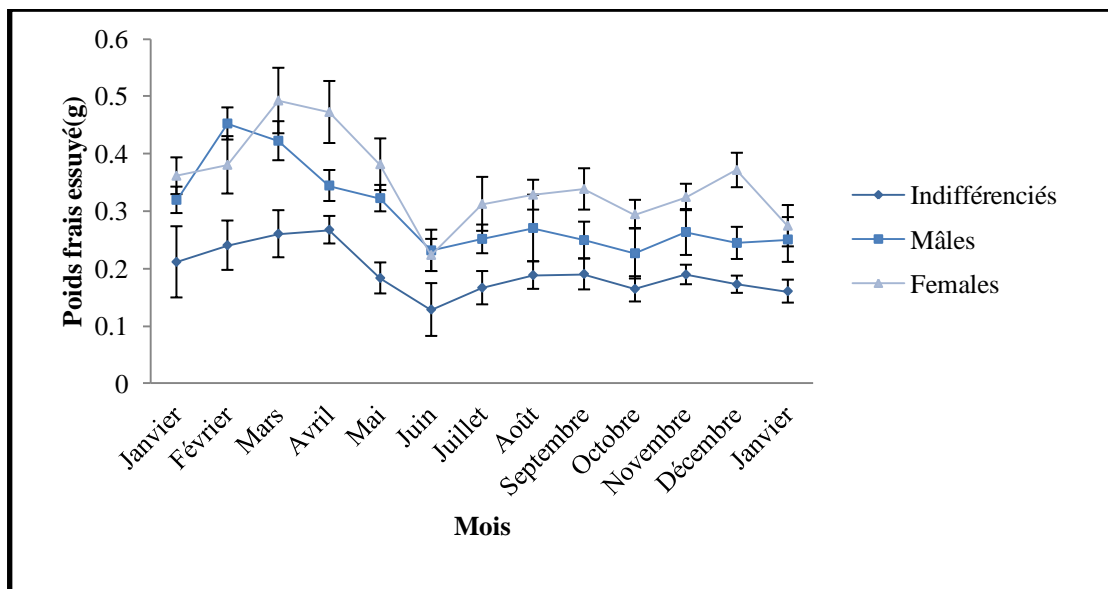
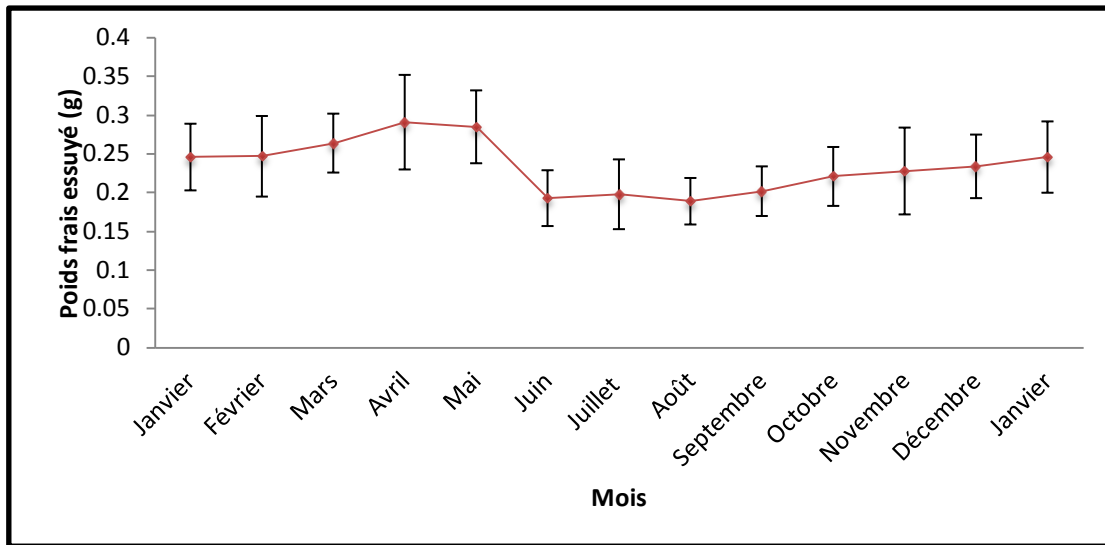


Figure 54. Evolution annuelle du poids frais essuyé (Pfe) moyen chez les populations échantillonnées à El-Kala (El-Mordjène) ($m \pm s$; $n = 50$) : Population Totale (A), Sexués et Indifférenciés (B).

(A)



(B)

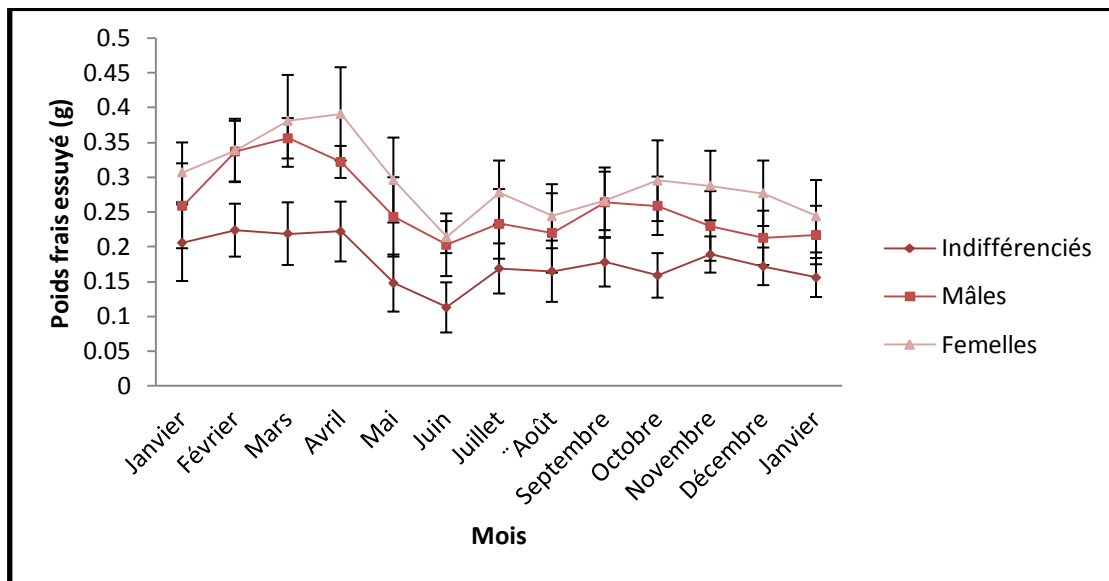
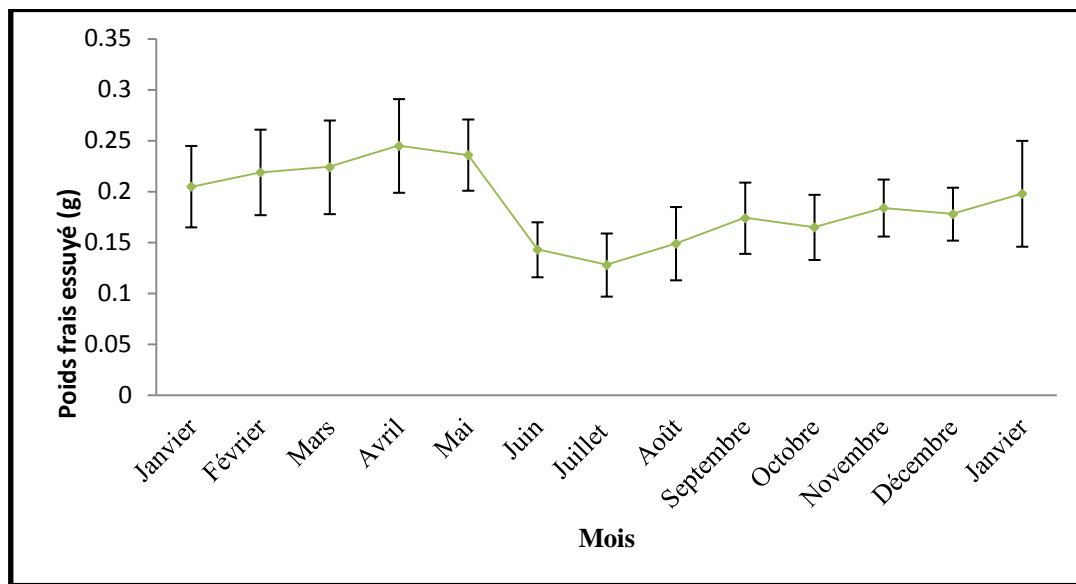


Figure 55. Evolution annuelle du poids frais essuyé (Pfe) moyen chez les populations échantillonnées à Annaba (Saint-Cloud) ($m \pm s$; $n = 50$) : Population Totale (A), Sexués et Indifférenciés (B).

(A)



(B)

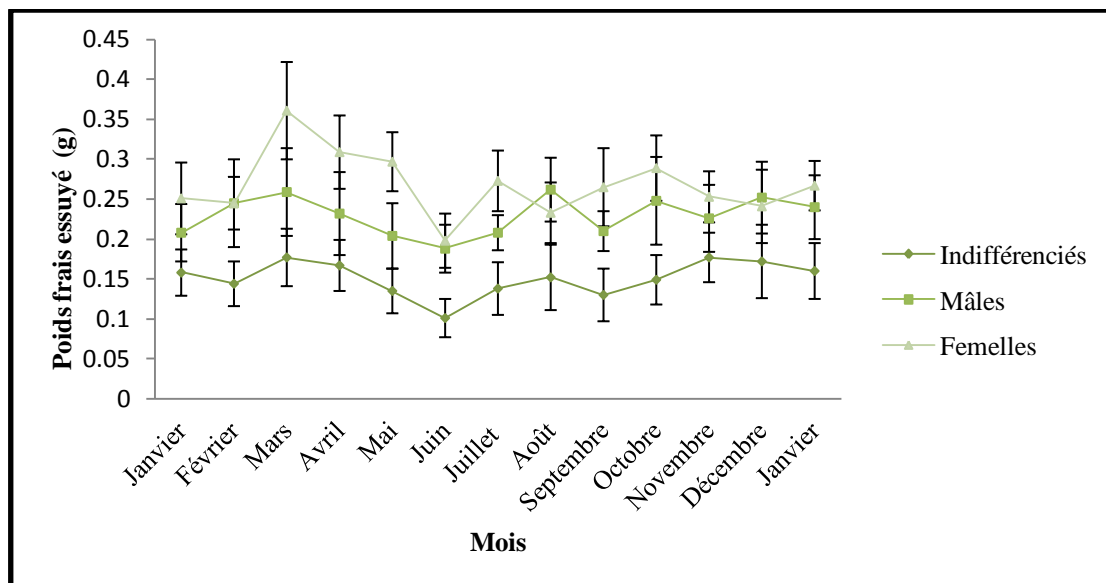


Figure 56. Evolution annuelle du poids frais essuyé (Pfe) moyen (g) chez les populations échantillonnées à Skikda (Stora) ($m \pm s$; $n = 50$) : Population Totale (A), Sexués et Indifférenciés (B).

L'analyse de la variance de la variation mensuelle du poids corporel chez les femelles de *P. cultrifera* par le test de Tukey permet de comparer les moyennes afin de classer les sites étudiés en trois groupes pour les mois de Janvier et de Mars ; il s'agit du groupe A qui renferme les individus d'El Kala (El-Mordjène) qui présentent les valeurs du poids les plus élevées, le groupe B représenté par les individus du site d'Annaba (Saint-Cloud) dont le poids est intermédiaire entre les individus d'El-Kala (El-Mordjène) et de Skikda (Stora) le groupe C renferme au site de Skikda (Stora) qui présente les plus faibles valeurs.

Le test de Tukey nous a permis de classer les sites en deux groupes pour les mois d'Avril, Mai, Août, Septembre, Novembre et Décembre, le groupe A représente le site d'El Kala (El-Morjane), le groupe B correspondant aux deux sites d'Annaba (Saint Cloud) et de Skikda (Stora). Ceci indique l'existence d'une différence entre les femelles d'El Kala (El-Mordjène) et celles des autres sites, alors qu'au sein du même groupe B, il n'y a pas de différence.

Ce test met en évidence deux groupes durant le mois de Février : le groupe A renferme les individus d'El Mordjène et Saint Cloud où le poids est le plus élevé, le groupe B comprend les individus du site Skikda (Stora), qui présente les valeurs les plus faibles.

Les sites regroupés dans la même groupe A durant les mois de Juin, Juillet, et Octobre où il n'existe pas de différence entre les trois sites.

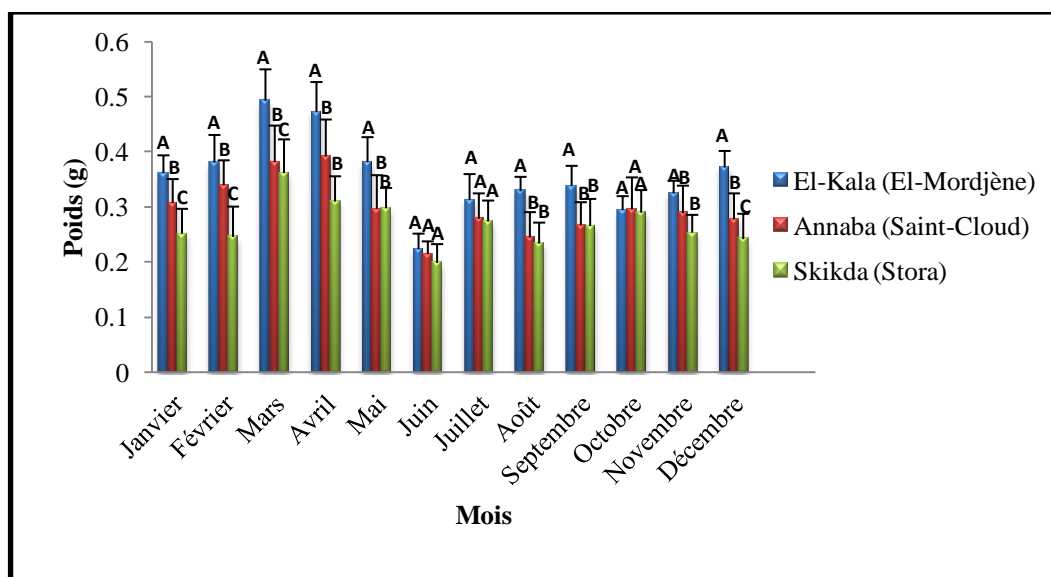


Figure 57. Variations mensuelles du poids corporel (g) chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau des trois sites d'étude durant l'année 2012. (classification de Tukey) ($m \pm s$; $n=50$).

L'ANOVA à un seul critère de classification montre qu'il y a une différence très hautement significative entre les sites ($p = 0,000$) durant les mois de Janvier, Février, Mars, Avril, Août et Décembre, une différence significative ($p = 0,01$) durant le mois de Mai ($p = 0,007$), Septembre ($p = 0,006$), Novembre ($p = 0,004$), et non significative durant les mois de Juin, Juillet et Octobre ($p = 0,05$).

L'ANOVA à deux critères de classification montre qu'il y a un effet très hautement significatif entre les sites, et également pour l'interaction site / mois (Tableau 31)

Tableau 31. ANOVA à deux facteurs contrôlés du poids corporel chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau des trois sites d'étude..

Sources de la variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Mois	11	0,512	0,046	21,38	0,000***
Site	2	0,476	0,238	109,29	0,000***
Interaction : Site/Mois	22	0,227	0,010	4,74	0,000***
Erreur résiduelle	252	0,548	0,002		
Totale	287	1,764			

DDL : Degré de liberté ; SCE: Somme des carrés des écarts ; CM : Carré moyen ; Fobs : Test de Fisher ; P : Seuil de signification.

3.4.4.2. Au niveau de la Manche française

Nous avons mesuré le poids des femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau de la Manche française et de la côte algérienne. En effet, le poids des individus de la Manche française est plus important que celui de la côte algérienne. Chez les femelles de la manche française, le poids varie entre $1,25 \pm 0,25$ g ; $1,77 \pm 0,26$ g et $0,91 \pm 0,2$ g correspondant respectivement à Saint-Aubin, Saint-Pabu et Roscoff contre des poids variant de $0,30 \pm 0,05$ g ; $0,24 \pm 0,06$ g ; $0,16 \pm 0,04$ g correspondant à El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora), (Figure 58),

Tableau 32. Comparaison entre les poids des différents sites dans la manche française

Site	Saint-Aubin	Saint-Pabu	Roscoff
Paramètre			
Poids frais essuyé (g)	$1,25 \pm 0,25$ A	$1,77 \pm 0,26$ AB	$0,91 \pm 0,28$ AB

Le test de Tukey a permis de classer les sites de la manche française en deux groupes le groupe A renferme le site de Saint-Aubin , le groupe AB représente les deux sites Saint-Pabu et Roscoff.

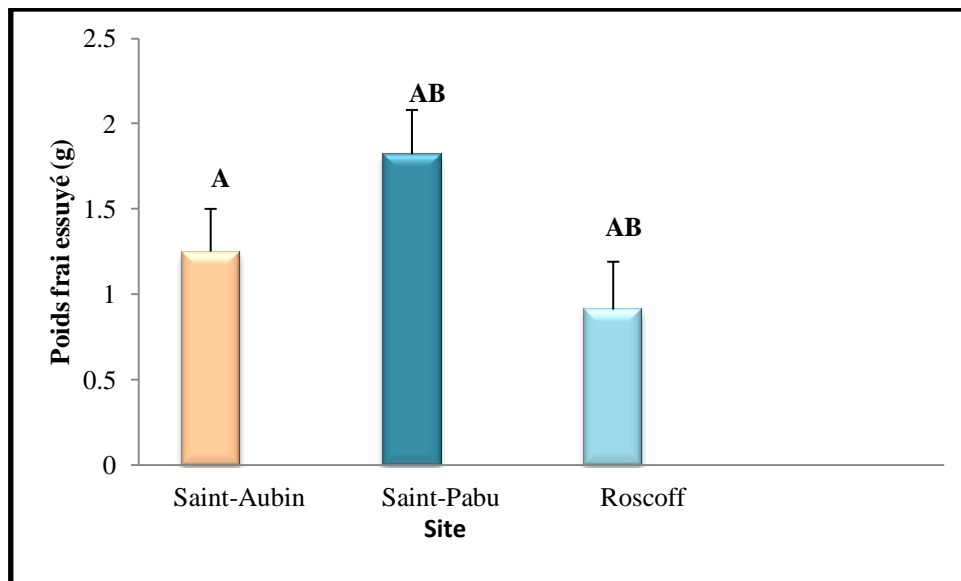


Figure 58. Variations du poids frais essuyé des femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites au niveau de la manche française ($m \pm s$; $n=50$).

L'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification montre une différence très significative entre les poids des individus de chaque population. (Tableau 33)

Tableau 33. Analyse de la variance à un seul facteur contrôlé des poids des femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites au niveau de la manche française.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Factorielle	3	4,77	1,59	3,75	0,028*
Résiduelle	20	8,48	0,42		
Totale	23	13.26			

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

3.4.5. Evolution annuelle du diamètre ovocytaire

3.4.5.1. Au niveau du littoral Est-algérien

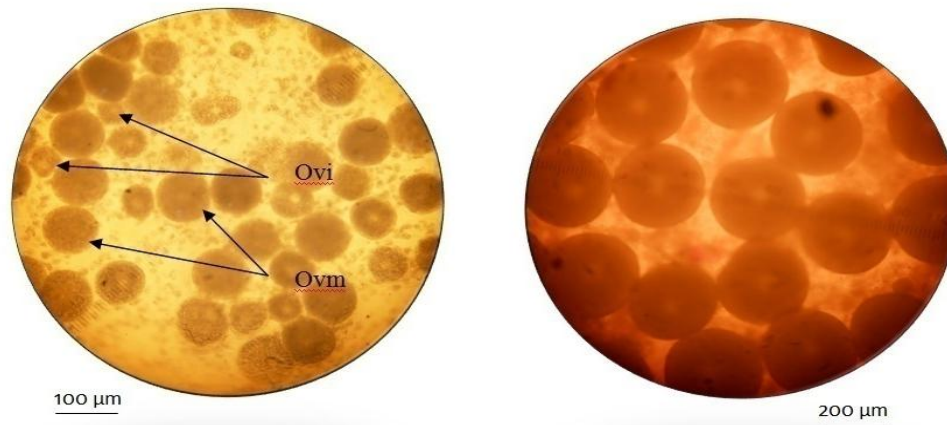


Figure 59. Aspect microscopique d'une ponction cœlomique chez *P.cultrifera*, montrant des ovocytes à des phases de développement variées, immatures (Ovi), en cours de maturation et matures (Ovm).

L'évolution du diamètre ovocytaire moyen des femelles pendant la période d'étude est représentée par les figures 57A, 57B et 57C correspondant aux populations échantillonnées respectivement à partir d'El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora). Ces courbes d'évolution relatives aux trois sites étudiés affichent pratiquement la même tendance. Nous notons une évolution progressive et continue à partir du mois de janvier jusqu'au mois de mai. Cependant, durant la période s'étalant du mois de février au mois de mai, deux groupes de femelles sont identifiées, un premier groupe de femelles renfermant des ovocytes de petite taille et un second renfermant des ovocytes de diamètre nettement plus important (Tableaux 34, 35 et 36)

Tableau 34. Evolution du diamètre ovocytaire moyen chez les femelles échantillonnées à El-Kala (El-Mordjène) au cours du cycle annuel chez *p. cultrifera* (Janvier 2012 à Janvier 2013).

Diamètre	Diamètre 1	Diamètre 2
Mois		
Janvier	225,70±33,08	
Février	236,87±33,40	43,62±24,89
Mars	248,66±41,57	68,12±21,37
Avril	282,47±41,32	76,54±20,47
Mai	268,70±37,51	87,75±17,40
Juin	179,62±25,47	97,25±15,60
Juillet		134,80±24,68
Août		142,61±24,29
Septembre		169,20±25,36
Octobre		172,13±37,20
Novembre		183,63±32,24
Décembre		191,39±26,26
Janvier		198,75±16,97

Tableau 35. Evolution du diamètre ovocytaire moyen chez les femelles échantillonnées à Annaba (Saint-Cloud) au cours du cycle annuel (Janvier 2012 à Janvier 2013).

Diamètre Mois	Diamètre 1	Diamètre 2
Janvier	215,75±28,10	
Février	224,37±42,50	39,76±27,26
Mars	234,87±45,62	61,39±29,80
Avril	270,25±44,09	77,28±40,82
Mai	251,69±28,13	82,75±36,09
Juin	168,25±42,83	93,05±20,31
Juillet		121,24±32,62
Août		136,37±21,07
Septembre		157,03±18,90
Octobre		168,75±21,47
Novembre		174,44±17,19
Décembre		186,32±24,90
Janvier		193,57±14,81

Tableau 36. Evolution du diamètre ovocytaire moyen chez les femelles échantillonnées à Skikda (Stora) au cours du cycle annuel (Janvier 2012 à Janvier 2013).

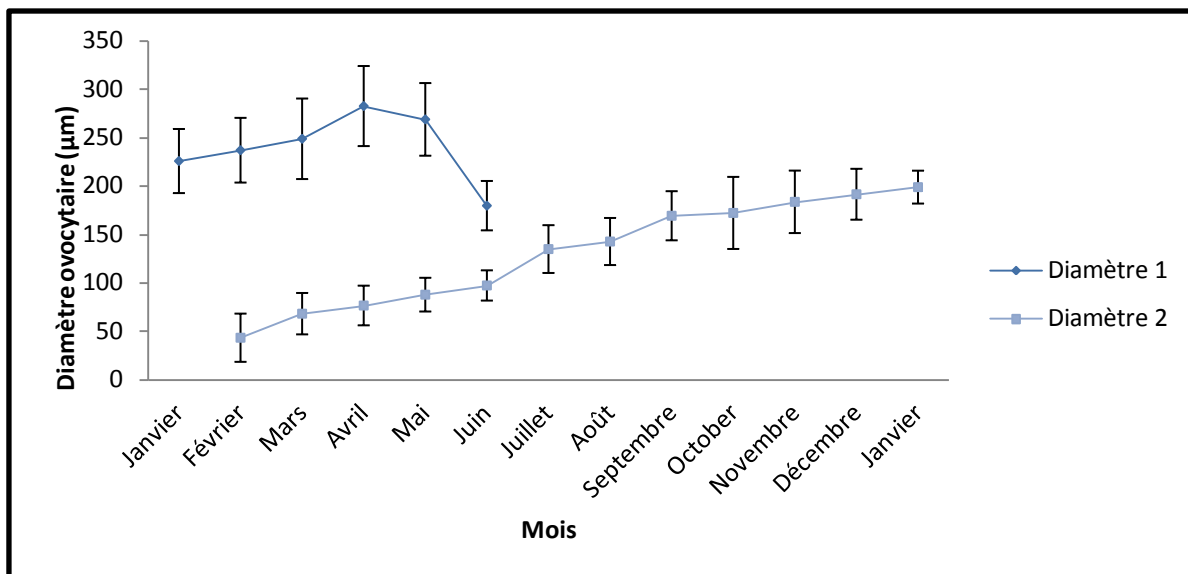
Diamètre Mois	Diamètre 1	Diamètre 2
Janvier	186,83±21,91	
Février	197,23±23,39	37,76±16,29
Mars	201,25±22,23	48,04±17,31
Avril	224,37±34,57	64,93±20,69
Mai	209,87±22,86	73,83±19,88
Juin	148,02±25,16	79,87±20,61
Juillet		101,93±35,53
Août		116,05±19,02
Septembre		129,76±28,75
Octobre		141,93±33,72
Novembre		152,50±20,44
Décembre		176,86±29,77
Janvier		185,63±24,48

Le groupe de femelles de diamètre ovocytaire moyen inférieur à 50 µm commence à apparaître au mois de février puis disparaît graduellement, au fur et à mesure que les ovocytes évoluent vers la maturité, pour atteindre des tailles de plus en plus grandes. Au cours de la période allant de mars à mai, la taille des ovocytes atteint son maximum. Cependant, le diamètre moyen des ovocytes matures est de l'ordre de 250 à 300 µm. En outre, à partir du mois de juin de l'année d'étude, les femelles de grand diamètre ovocytaire disparaissent ; cela ne peut être expliqué que par la mort des géniteurs femelles, les épitoques matures. La courbe d'évolution du diamètre ovocytaire

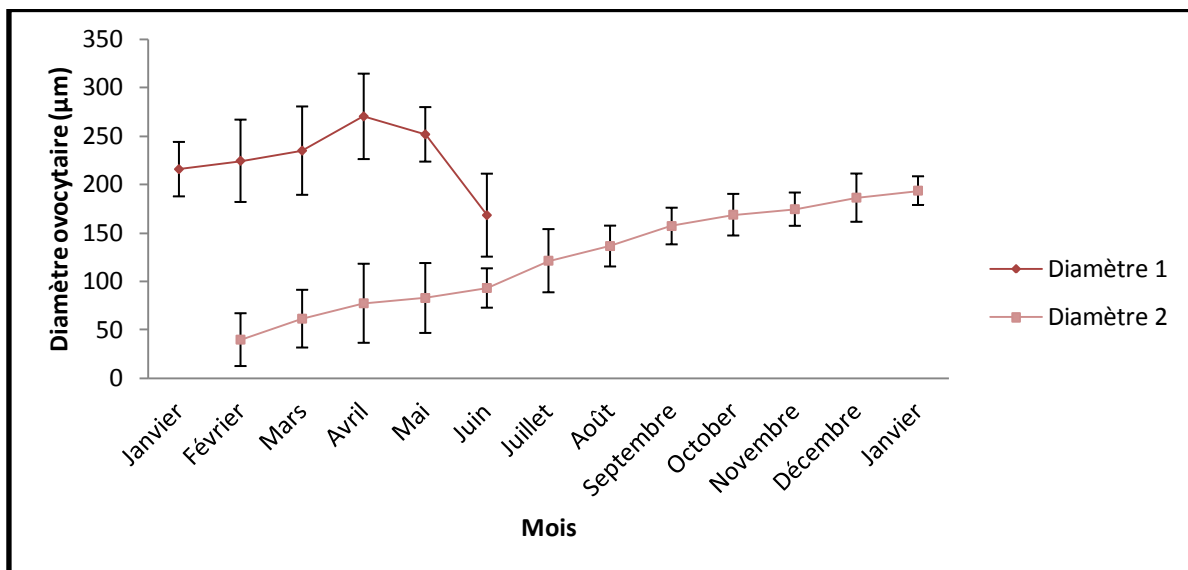
moyen en fonction du temps, montre que le développement ovocytaire s'étale donc sur une période de 16 mois, et ce, chez les trois populations (fig.60A, 60B et 60C).

L'analyse comparative des mensurations du diamètre ovocytaire moyen chez les femelles récoltées à partir des trois sites montre que ce dernier est plus élevé au niveau du site sain d'El-kala (El-Mordjène), suivi de celui d'Annaba (Saint-Cloud) puis de skikda (Stora) durant le mois d'avril chez la première population. En revanche, le diamètre minimum des ovocytes chez cette même population au niveau des trois sites est atteint à Skikda (Stora), suivi de Annaba (Saint-Cloud) puis d'El-kala (El-Mordjène), et ce, au cours du mois de juin.

(A)



(B)



(C)

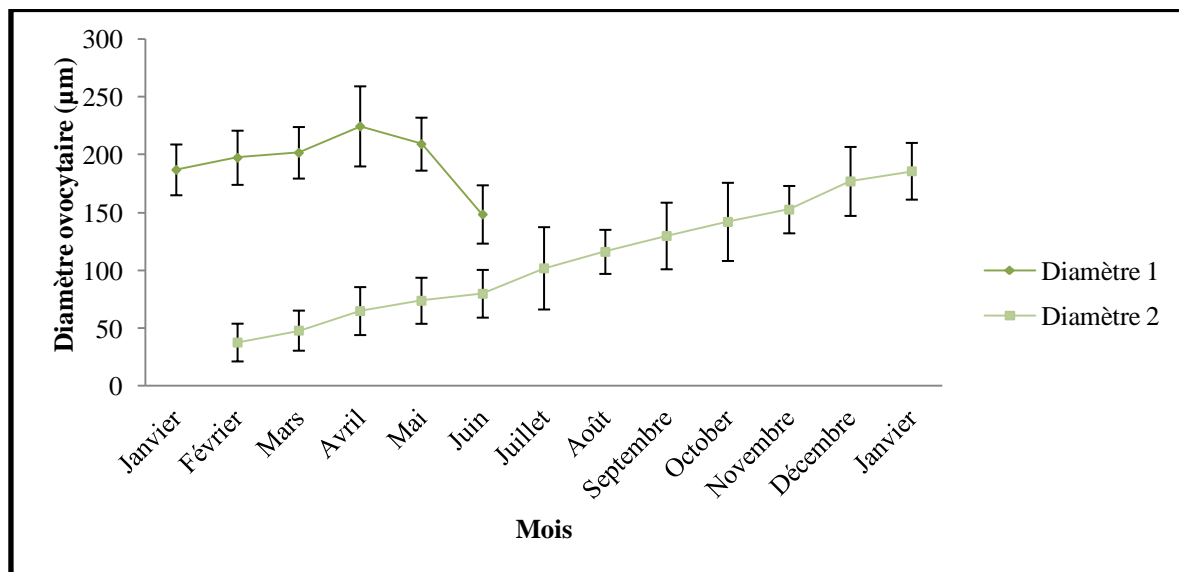


Figure 60. Evolution annuelle du diamètre ovocytaire Moyen de la population de *p. cultrifera* en fonction du temps El-Kala (El-Mordjène) (A), Annaba (Saint-Cloud) (B) et Skikda (Stora) (C).

Pour la cohorte 1 : L'analyse de la variance de l'évolution mensuelle du diamètre ovocytaire par le test de Tukey permet de comparer les différentes moyennes et de classer les sites en trois groupes durant les mois de Janvier et de Mars, le groupe A présente le site d'El-Kala (El-Mordjène), où les valeurs moyennes du diamètre ovocytaire sont les plus élevées, et le groupe AB qui renferme les femelles du site d'Annaba (Saint Cloud), qui présentent des valeurs intermédiaires entre les femelles d'El-Kala(El-Mordjène) et de Skikda (Stora) et le groupe B renferme au site de Skikda (Stora) et qui présente les valeurs les plus faibles.

Dans les deux mois (Février et Juin), Le test de Tukey nous a permis de classer les sites en un même groupe A.

Pour la cohorte 2 : L'analyse de la variance de l'évolution mensuelle du diamètre ovocytaires par le test de Tukey a classé les sites en trois groupes durant les mois d'Août, Septembre et novembre, le groupe A renferme le site d'El-Kala (El-Mordjène), où les valeurs moyennes du diamètre ovocytaires sont les plus élevées, le groupe AB qui renferme les femelles du site d'Annaba (Saint-Cloud) qui présente des valeurs intermédiaires entre les femelles d'El-Kala (El-Mordjène) et de Skikda (Stora) et le groupe B correspondant au site de Skikda (Stora) affichant les valeurs les plus faibles.

Le test de Tukey nous a permis de classer les stations dans le même groupe A dans les mois qui restent, une différence non significative a été enregistrée.

Tableau 37. ANOVA à un facteur contrôlé du diamètre ovocytaire chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau des trois sites d'étude.

		Site	El-Kala (El-Mordjène)	Annaba (Saint- Cloud)	Skikda (Stora)	P
		Mois				
Cohorte 2	Février		A	A	A	0,325 NS
	Mars		A	A	A	0,241 NS
	Avril		A	A	A	0,898 NS
	Mai		A	A	A	0,557 NS
	Juin		A	A	A	0,106 NS
	Juillet		A	A	A	0,132 NS
	Août		A	AB	B	0,047 *
	Septembre		A	AB	B	0,013 *
	Octobre		A	A	A	0,136 NS
	Novembre		A	AB	B	0,049 *
Décembre		A	A	A	0,561 NS	
	/	/	/	/	/	/
Cohorte 1	Janvier		A	AB	B	0,031*
	Février		A	A	A	0,737 NS
	Mars		A	AB	B	0,048 *
	Avril		A	A	A	0,446 NS
	Mai		A	A	B	0,003 **
	Juin		A	A	A	0.164 NS

L'ANOVA à un seul critère de classification montre qu'il y a une différence hautement significative durant le mois de mai pour la cohorte 1 ($p=0.003$).

L'ANOVA à deux critères de classification pour la cohorte 1 montre qu'il y a une différence très hautement significative entre les mois et entre les stations et aucun effet significatif pour l'interaction site/mois (Tableau 38).

Tableau 38. ANOVA à deux facteurs contrôlés du diamètre ovocytaire chez les femelles de *P. cultrifera* de la cohorte 1 dans les stations d'étude.

Sources de la variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Mois	5	4041	2020	17,81	0,000***
Site	2	1488	2976	26,23	0,000***
Interaction : Site/Mois	10	3407	341	0,30	0.980NS
Erreur résiduelle	126	1429	1135		
Totale	143	3355			

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

L'ANOVA à deux critères de classification pour la cohorte 2 montre qu'il y a une différence très hautement significative entre les mois et entre les sites et sans effet significatif pour l'interaction site/mois (Tableau 39).

Tableau 39. ANOVA à deux facteurs contrôlés du diamètre ovocytaire chez les femelles de *P. cultrifera* de la cohorte 2 dans les stations d'étude.

Sources de la variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Mois	10	22959	11429	17,09	0,000***
Site	2	57268	57268	85,65	0,000***
Interaction : Site/Mois	20	5158	258	0,39	0.933NS
Erreur résiduelle	231	1544	669		
Totale	263	1552			

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

3.4.5.2. Au niveau de la Manche française

Les données portant sur l'étude morphologique permettent de distinguer les deux formes épitoques de *Perinereis cultrifera* provenant de la Manche et de la Méditerranée. En effet, le diamètre ovocytaire des femelles de la Manche française est plus important que celui des femelles côte algérienne. Chez les femelles de la manche française, le diamètre varie entre $253,04 \pm 18,79 \mu\text{m}$; $289,25 \pm 17,24 \mu\text{m}$ et $239,31 \pm 20,55 \mu\text{m}$ correspondant respectivement à Saint-Aubin, Saint-Pabu et Roscoff contre des diamètres de $254,63 \pm 26,23 \mu\text{m}$; $239,45 \pm 22,17 \mu\text{m}$; $213,22 \pm 18,51 \mu\text{m}$ correspondant à El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) (Figure 61),

Tableau 40. Comparaison du diamètre ovocytaire (μm) des différents sites de la manche française en période de reproduction ($m \pm s$; $n=8$).

Site	Saint-Aubin	Saint-pabu	Roscoff
Paramètre			
Diamètre ovocytaire (μm)	$253,04 \pm 18,79$ A	$289,25 \pm 17,24$ B	$239,31 \pm 20,55$ C

Le test de Tukey a permis de classer les sites de la manche française en trois groupes le groupe A renferme le site de Saint-Aubin , le groupe B représente le site de Saint-Pabu et le groupe C renferme le site de Roscoff.

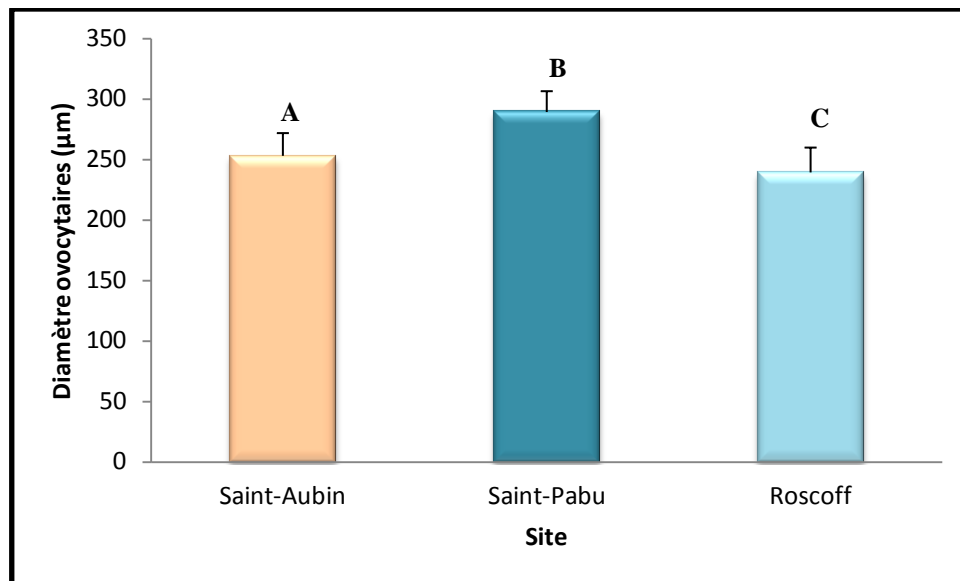


Figure 61. Variations du diamètre ovocytaires (μm) des femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites au niveau de la manche française

L'analyse de la variance ANOVA à un critère de classification montre une différence très hautement significative entre le diamètre ovocytaires des femelles de *P. cultrifera*. (Tableau 41)

Tableau 41. Analyse de la variance à un seul facteur contrôlé du diamètre ovocytaires des femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites au niveau de la manche française.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Factorielle	2	10652	5326	14,89	0,000***
Résiduelle	21	7511	358		
Totale	23	18163			

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

3.5. Analyse biochimique

3.5.1. Effets du stress environnemental sur le contenu biochimique des ovocytes

La quantification des teneurs en réserves énergétiques à savoir les protéines, glucides et lipides à été déterminée mensuellement dans les ovocytes des femelles de *P. cultrifera* échantillonnées au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) pendant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.

3.5.1.1. Taux de protéines

La comparaison des moyennes des concentrations mensuelles en protéines, au niveau des trois sites d'étude montre que la plus grande quantité est de $25,84 \pm 0,75 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocyte a été observée en Avril chez les femelles échantillonnées à partir du site d'El-kala (El-Mordjène) tandis que la plus faible concentration ($8,95 \pm 0,4 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes), a été enregistrée chez les femelles prélevées du site de Skikda (Stora) en Juillet. (Tableau 42 ; Figure 62).

Tableau 42. Taux des protéine ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de *P.cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (ANOVA à un seul facteur contrôlé, appuyée par la classification de Tukey des sites pour chaque mois); ($m \pm s$, $n = 5$).

Site / Mois	El-Kala	Annaba	Skikda	P
Janvier	14,66±0,62 A	13,13±1,04 AB	11,72±1,36 B	0,039*
Février	15,04±0,96 A	13,40±0,38 AB	12,02±0,98 B	0,012*
Mars	16,56±0,85 A	14,78±0,74 AB	13,51±0,89 B	0,012*
Avril	25,84±0,75 A	23,6±0,810 B	19,74±0,83 C	0,000***
Mai	24,75±0,86 A	21,04±0,93 B	18,81±0,90 C	0,000***
Juin	13,63±0,96 A	12,11±0,57 AB	11,29±0,64 B	0,046*
Juillet	10,58±0,62 A	09,30±0,82 AB	08,95±0,40 B	0,047*
Août	11,42±0,80 A	10,96±0,57 A	09,83±0,80 A	0,088NS
Septembre	12,02±0,86 A	11,64±0,84 AB	09,75±0,83 B	0,027*
Octobre	13,18±0,31 A	11,90±0,50 B	10,12±0,91 B	0,003**
Novembre	12,49±0,74 A	11,17±0,42 AB	10,24±0,79 B	0,018*
Décembre	15,19±0,37 A	13,28±0,74 B	10,32±0,69 B	0,008**

P : seuil de signification ; non significatif ($P > 0,05$) ; * très significatif ($P < 0,05$) ; ** hautement significatif ($P < 0,01$) ; *** très hautement significatif ($P < 0,001$).

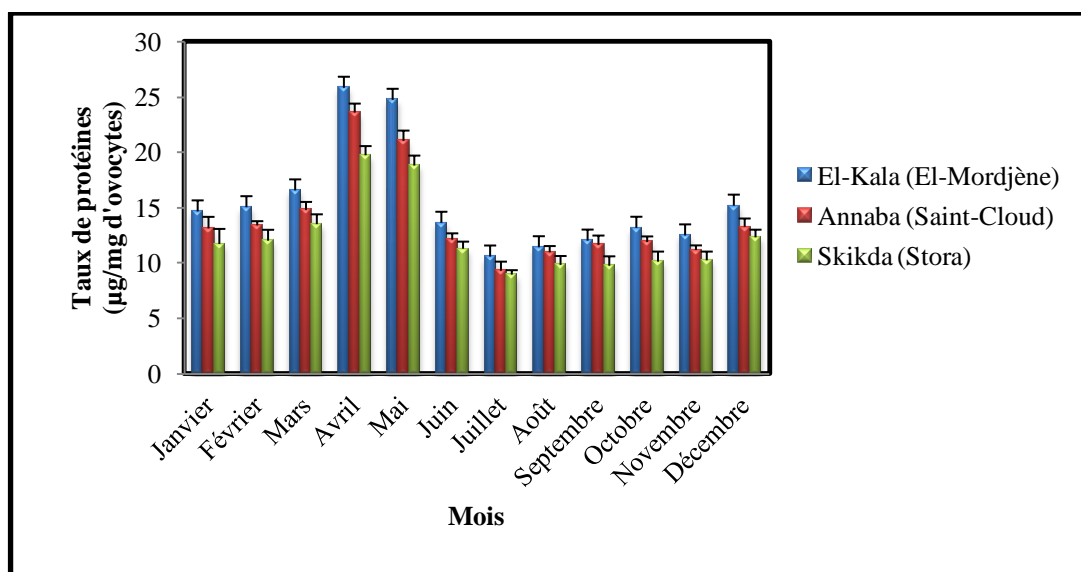


Figure 62. Variations mensuelles du Taux de protéines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d’ovocytes) chez les femelles de *P.cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d’étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud), et Skikda (Stora) durant la période s’étalant de Janvier à Décembre 2013.

Le test de Tukey a permis de classer les sites en trois groupes durant les mois de Janvier, Février, Mars, Juin, Juillet, Septembre et Novembre. Le groupe A renferme le site d’El-Kala (El-Mordjène), le groupe AB représente le site d’Annaba (Saint-Cloud) et le groupe B regroupe le site de Skikda (Stora).

Pendant les deux mois d’Avril et de Mai, trois groupes ont été différenciés: le groupe A représentant le site El-Kala (El-Mordjène), le groupe B renferme le site d’Annaba (Saint-Cloud) et le groupe C concerne le site de Skikda (Stora).

Deux groupes ont été relevés durant les deux mois d’Octobre et de Décembre. Le groupe A renferme le site d’El-Kala (El-Mordjène), le groupe B correspondant aux deux sites : Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora).

L’analyse de la variance à un critère entre les trois sites d’étude montre des différences très hautement significatives ($P < 0,001$) enregistrées durant les deux mois d’Avril et de Mai, et des différences hautement significatives ($P < 0,01$) ont été enregistrées en Octobre et Décembre ; cependant, des différences significatives ($P < 0,05$) ont été enregistrées durant les mois de Janvier, Février, Mars, Juin, Juillet et Novembre. Par contre, aucune différence significative n’a été observée durant le mois d’Août ($P > 0,05$) (Tableau 42).

Les résultats obtenus à partir du dosage des protéines ovocytaires montrent une diminution très hautement significative du taux de protéines chez les femelles récoltées au niveau des deux sites: Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) pendant les deux mois d’Avril et de Mai.

Chez les femelles récoltées au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène), le taux de protéines ovocytaires varie d'un mois à l'autre, avec un taux important dans le mois d'Avril où la valeur maximale atteint $25,84 \pm 0,75 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes, et la plus faible a été enregistrée durant le mois de Juillet avec $10,58 \pm 0,62 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes (Figure 63).

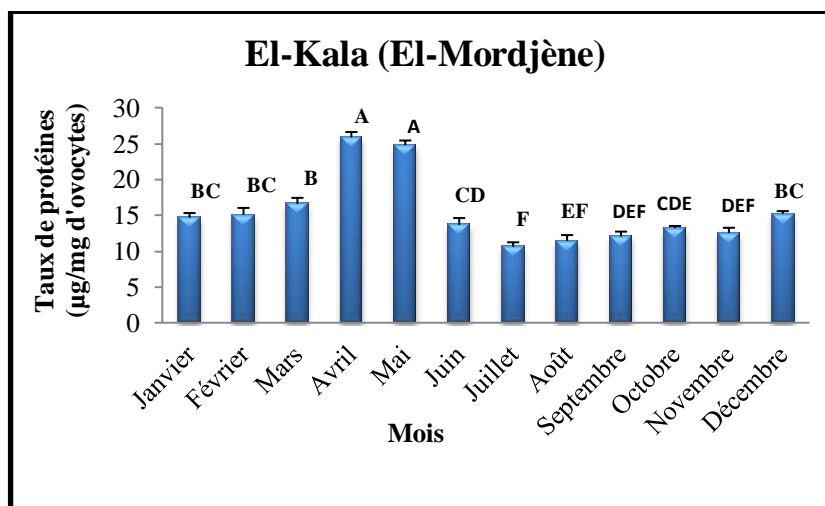


Figure 63. Variations mensuelles du taux de protéines chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène), durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux de protéines entre les mois pour le site d'El-Kala (El-Mordjène) en sept groupes durant l'année 2013 (Figure 63).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé indique une différence très hautement significative du taux de protéines entre les mois d'étude au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) avec une valeur de ($p < 0,001$) (Tableau 43).

Tableau 43. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de protéines chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	796,28	72,38	134,47	0,000***
Résiduelle	24	12,92	0,53		
Totale	35	809,20			

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

Chez les femelles récoltées au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud), le taux de protéines ovocytaires varie d'un mois à l'autre, avec un taux important durant le mois d'Avril avec une valeur maximale $23,6 \pm 0,81 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes, et une valeur minimale a été enregistrée durant le mois de Juillet avec $9,3 \pm 0,82 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes (Figure 64).

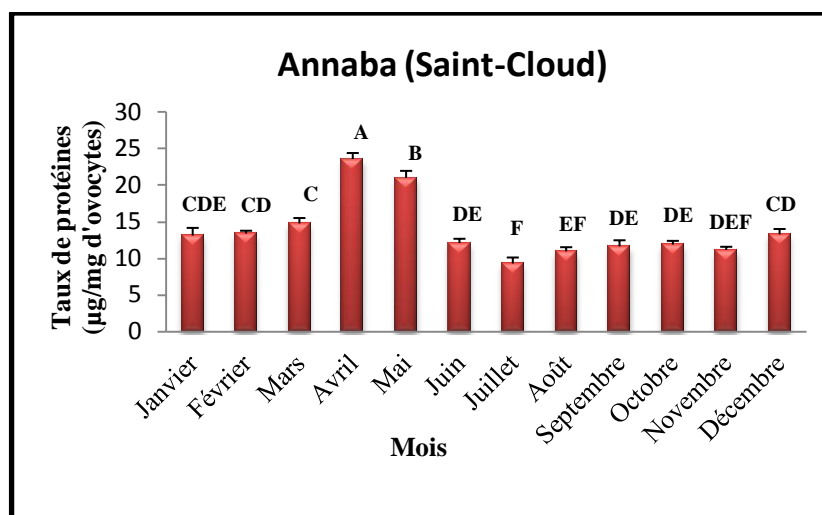


Figure 64. Variations mensuelles du taux de protéines chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux de protéines entre les mois pour le site d'Annaba (Saint-Cloud) en neuf groupes durant l'année 2013 (Figure 64).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé indique une différence très hautement significative entre les mois d'étude au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) avec une valeur de ($p < 0,001$) (Tableau 44).

Tableau 44. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de protéines chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	586,31	53,30	88,65	0,000***
Résiduelle	24	14,43	0,60		
Totale	35	600,74			

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

Chez les femelles récoltées au niveau du site de Skikda (Stora), le taux de protéines ovocytaires varie entre une valeur maximale de $19,74 \pm 0,83$ µg/mg d'ovocytes durant le mois d'Avril, et une valeur minimale de $08,95 \pm 0,40$ µg/mg d'ovocytes au mois de Juillet (Figure 65).

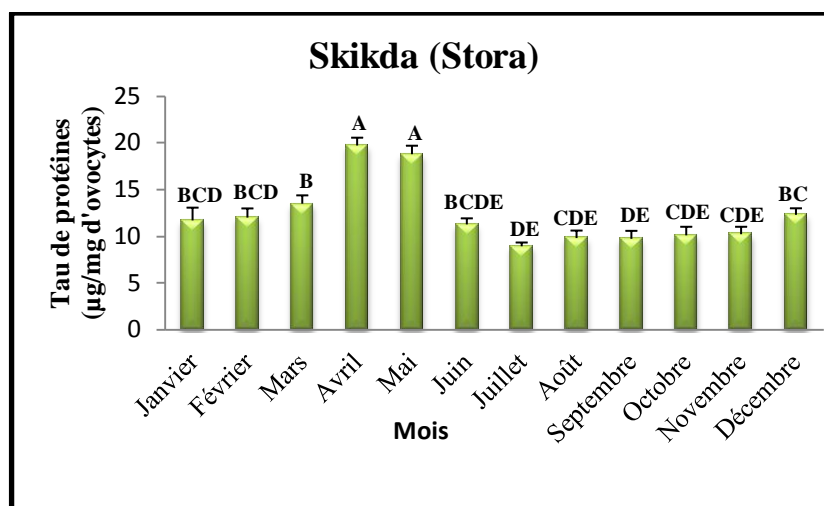


Figure 65. Variations mensuelles du taux de protéines chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (Classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux de protéines entre les mois pour le site de Skikda (Stora) en huit groupes durant l'année 2013 (Figure 65).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé indique une différence très hautement significative entre les mois d'étude au niveau du site de Skikda (Stora) avec une valeur de ($p < 0,001$) (Tableau 45).

Tableau 45. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de protéines chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	400,52	36,41	48,26	0,000***
Résiduelle	24	18,10	0,75		
Totale	35	418,63			

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

L'analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois) révèle un effet site, un effet mois, et une interaction site/mois très hautement significatifs ($p < 0,001$) (Tableau 46).

Tableau 46. ANOVA à deux facteurs contrôlés du taux de protéines chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.

Source de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Mois	11	1742,82	158,43	250,95	0,000***
Site	2	169,98	84,99	134,62	0,000***
Interaction site/mois	22	40,28	1,83	2,90	0,000***
Erreur résiduelle	72	45,45	0,63		
Totale	107				

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

3.5.1.2. Taux de glucides

L'évolution des teneurs en glucides chez les femelles d'El-Kala (El-Mordjène) présente un accroissement progressif à partir du mois de Février, pour atteindre une valeur maximale au mois d'Avril $18,65 \pm 0,39$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes, suivi par une diminution au mois de Mai, qui continue à baisser jusqu'au mois de Juillet et se stabilise pour les mois suivants. la même constatation a été observée chez les femelles du site d'Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora), mais les valeurs sont moindres (Tableau 47 : Figure 66).

Les valeurs moyennes des glucides montrent que le taux le plus élevé était de $18,65 \pm 0,39$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes en Avril pour les femelles prélevées d'El-Kala (El-mordjène), par contre le taux le plus faible était de $10,18 \pm 0,41$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes, observée en Octobre avec $10,18 \pm 0,41$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes chez les femelles de Skikda (Stora).

Tableau 47. Taux de glucides $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes chez les femelles de *P.cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (ANOVA à un seul facteur contrôlé, et la classification de Tukey des sites pour chaque mois); ($m \pm s$, $n = 5$).

Site \ Mois	El-Kala	Annaba	Skikda	P
Janvier	13,68 \pm 0,48 A	12,83 \pm 0,74 A	12,04 \pm 0,9 A	0,088NS
Février	14,02 \pm 0,87 A	13,69 \pm 0,39 A	13,24 \pm 0,64 A	0,513NS
Mars	14,91 \pm 0,28 A	14,08 \pm 0,24 A	13,94 \pm 0,55 A	0,038*
Avril	18,65 \pm 0,39 A	16,71 \pm 0,28 B	14,51 \pm 0,34 C	0,000***
Mai	17,12 \pm 0,42 A	15,36 \pm 0,5 B	14,25 \pm 0,33 C	0,001***
Juin	12,73 \pm 0,44 A	11,27 \pm 0,54 B	11,05 \pm 0,54 B	0,015*
Juillet	11,37 \pm 0,44 A	10,94 \pm 0,67 A	10,41 \pm 0,81 A	0,282NS
Août	12,43 \pm 0,96 A	11,61 \pm 0,56 A	11,57 \pm 0,35 A	0,287NS
Septembre	12,63 \pm 0,58 A	11,31 \pm 0,41 B	10,40 \pm 0,54 B	0,006**
Octobre	11,91 \pm 0,6 A	10,96 \pm 0,42 B	10,18 \pm 0,41 B	0,034*
Novembre	13,38 \pm 0,72 A	12,25 \pm 0,75 A	11,89 \pm 0,36 A	0,080NS
Décembre	12,73 \pm 0,57 A	12,39 \pm 0,74 A	11,94 \pm 0,86 A	0,475NS

P : seuil de signification ; non significatif ($P > 0,05$) ; * très significatif ($P < 0,05$) ; ** hautement significatif ($P < 0,01$) ; *** très hautement significatif ($P < 0,001$).

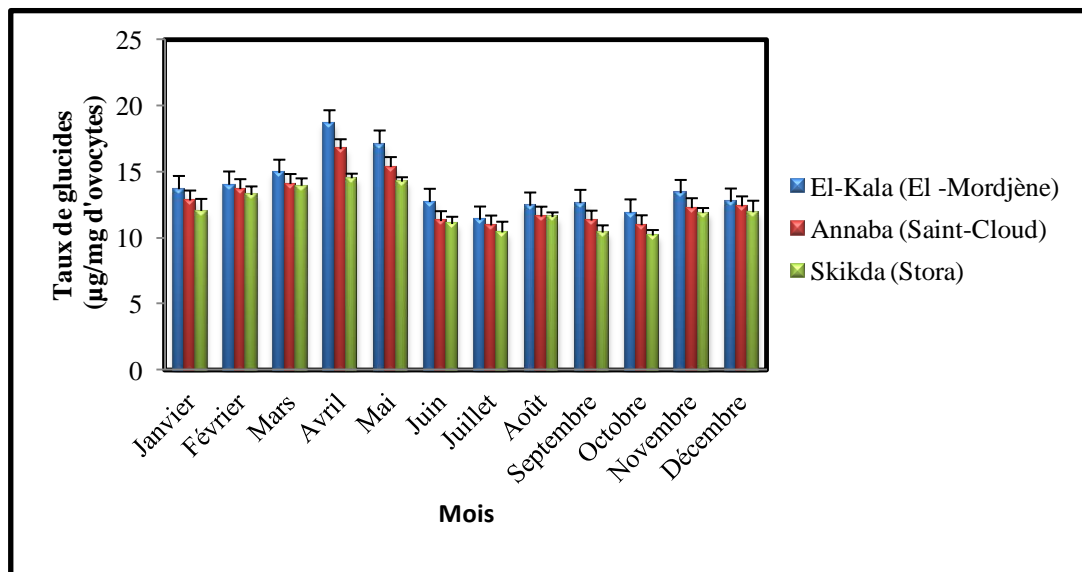


Figure 66. Variations mensuelles du Taux de glucides ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.

Le test de Tukey permet de classer les sites en trois groupes durant les mois d'Avril et de Mai, le groupe A renferme le site d'El-Kala (El-Mordjène), le groupe B représente le site d'Annaba (Saint-Cloud), et le groupe C concerne le site de Skikda (Stora).

Au mois de Septembre, deux groupes ont été marqués: le groupe A représente le site d'El-Kala (El-Mordjène), le groupe B renferme les deux sites à savoir Annaba (Saint Cloud) et Skikda (Stora).

L'analyse de la variance entre les trois sites ne montre aucune différence significative durant les mois qui restent ($P > 0,05$) ; le test de Tukey permet de classer les trois sites en un seule groupe A.

La comparaison des moyennes entre les femelles des trois sites révèle une différence très hautement significative ($P < 0,001$) durant les deux mois d'Avril et de Mai, ainsi qu'une différence significative ($P < 0,05$) aux mois de Mars, Juin et Octobre ; alors qu'aucune différence significative n'a été observée durant les mois de Janvier, Février, Juillet, Août, Novembre et Décembre (Tableau 47).

Chez les femelles récoltées au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène), le taux de glucide varie d'un mois à l'autre, avec un pic important durant le mois d'Avril où la valeur maximale atteint $18,65 \pm 0,39$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes, et la plus faible a été enregistrée durant le mois de Juillet avec $11,37 \pm 0,44$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes (Figure 67).

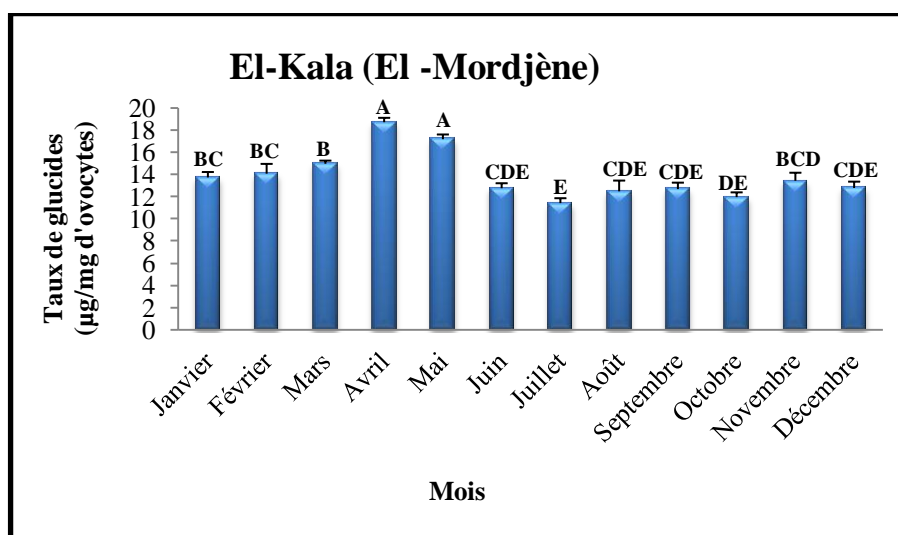


Figure 67. Variations mensuelles du taux de glucides chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site El-Kala (El-Mordjène), durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (Classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux de glucides entre les mois pour le site d'El-Kala (El-Mordjène) en huit groupes durant l'année 2013 (Figure 67).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé, indique une différence très hautement significative du taux de glucides entre les mois d'étude au niveau du site El-Kala (El-Mordjène) avec une valeur de ($p < 0,001$) (Tableau 48).

Tableau 48. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de glucides chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	158,45	14,40	41,28	0,000***
Résiduelle	24	8,37	0,34		
Totale	35	166,83			

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

Chez les femelles récoltées au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud), le taux de glucides varie d'un mois à l'autre, avec un pic maximal au mois d'Avril avec $16,71 \pm 0,28$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes, et une valeur minimale enregistrée au mois de Juillet avec $10,94 \pm 0,67$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes (Figure 68).

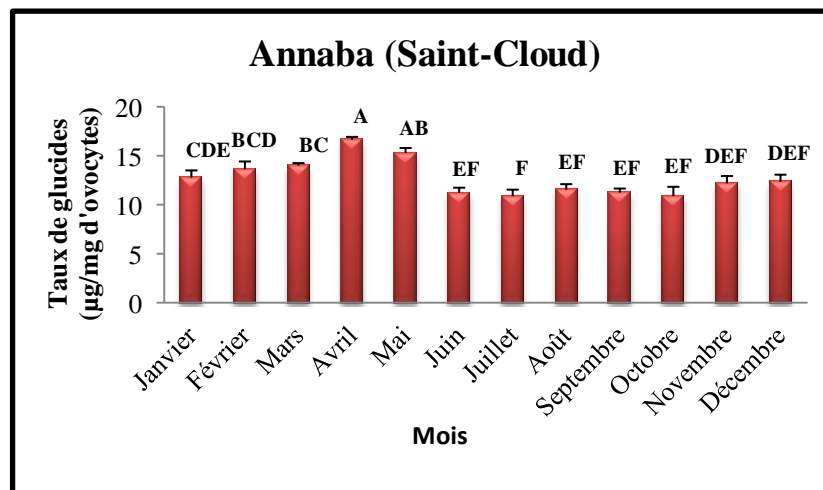


Figure 68. Variations mensuelles du taux de glucides chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux de glucides entre les mois pour le site d'Annaba (Saint-Cloud) en huit groupes durant l'année 2013 (Figure 68).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé, indique une différence très hautement significative entre les mois d'étude au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) avec une valeur de $p < 0,001$ (Tableau 49).

Tableau 49. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de glucides chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	104,49	9,49	27,65	0,000***
Résiduelle	24	8,24	0,34		
Totale	35	112,74			

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

Chez les femelles récoltées au niveau du site de Skikda (Stora) , le taux de glucides varie entre une valeur maximale de $14,51 \pm 0,34$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes au mois d'Avril, et une valeur minimale de $10,18 \pm 0,41$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes au mois d'Octobre (Figure 69).

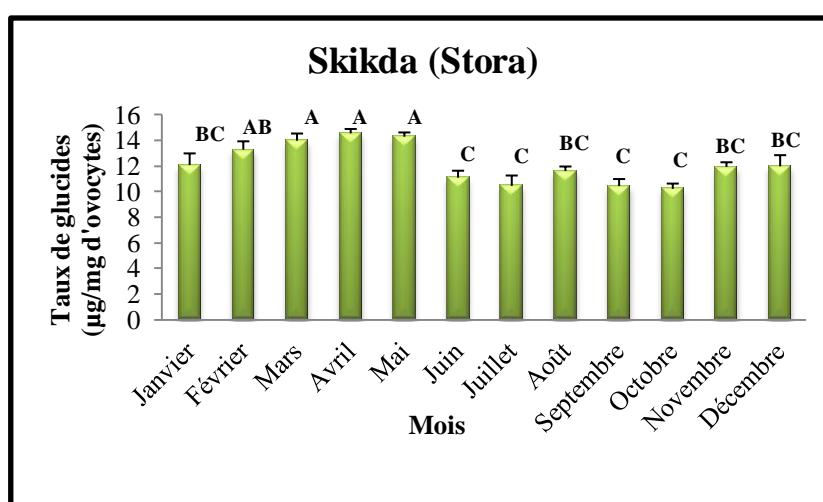


Figure 69. Variations mensuelles du taux de glucides chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013 (Classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux de glucides entre les mois pour le site de Skikda (Stora) en quatre groupes durant l'année 2013 (Figure 69).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé, indique une différence très hautement significative entre les mois d'étude au niveau du site de Skikda (Stora) avec une valeur de ($p < 0,001$) (Tableau 50).

Tableau 50. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de glucides chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site de Skikda (Stora) dans une période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	78,04	7,09	17,08	0,000***
Résiduelle	24	9,96	0,41		
Totale	35	88,00			

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

Toutefois, l'analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois) révèle un effet site, mois et une interaction site /mois très hautement significatifs ($p < 0,001$) (Tableau 51).

Tableau 51. ANOVA à deux facteurs contrôlés du taux de glucides chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.

Source de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Mois	11	319,71	29,06	78,71	0,000***
Site	2	51,12	25,56	69,22	0,000***
Interaction site/mois	22	21,27	0,96	2,62	0,001***
Erreur résiduelle	72	26,58	0,36		
Totale	107				

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

3.5.1.3. Taux des lipides

L'évolution du taux de lipides montre une valeur maximale de $16,52 \pm 0,41 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes, en Avril chez les femelles récoltées au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène), par contre la plus faible valeur a été enregistrée en Juillet $7,37 \pm 1,4 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes chez les femelles du site de Skikda (Stora) (Tableau 52 ; figure 70).

Tableau 52. Taux de lipides $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes chez les femelles de *P.cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (ANOVA à un seul facteur contrôlé et la classification de Tukey des sites pour chaque mois) ($m \pm s$, $n = 5$).

Site \ Mois	El-Kala	Annaba	Skikda	P
Janvier	12,64 \pm 0,49 A	11,93 \pm 1,40 A	10,19 \pm 0,89 A	0,059 NS
Février	12,91 \pm 0,54 A	11,38 \pm 0,84 A	11,35 \pm 0,80 A	0,068 NS
Mars	14,87 \pm 0,34 A	13,25 \pm 0,74 A	11,89 \pm 1,50 A	0,073 NS
Avril	16,52 \pm 0,41 A	14,88 \pm 0,79 B	12,69 \pm 0,56 C	0,000***
Mai	15,14 \pm 0,39 A	13,36 \pm 0,40 B	12,39 \pm 0,60 C	0,001***
Juin	11,26 \pm 1,01 A	10,47 \pm 0,57 A	10,22 \pm 0,98 A	0,381NS
Juillet	10,82 \pm 1,39 A	09,07 \pm 0,93 A	07,37 \pm 1,40 A	0,055 NS
Août	09,85 \pm 0,87 A	09,11 \pm 0,16 A	07,89 \pm 1,18 A	0,103 NS
Septembre	10,60 \pm 1,37 A	10,13 \pm 0,87 A	08,18 \pm 1,01 A	0,078NS
Octobre	10,74 \pm 1,22 A	10,30 \pm 1,04 A	08,94 \pm 1,34 A	0,246 NS
Novembre	11,47 \pm 0,47 A	10,89 \pm 0,82 A	09,27 \pm 0,78 A	0,022*
Décembre	12,18 \pm 1,04 A	11,17 \pm 1,10 A	10,03 \pm 0,89 A	0,115 NS

P : seuil de signification ; non significatif ($P > 0,05$) ; * très significatif ($P < 0,05$) ; ** hautement significatif ($P < 0,01$) ; *** très hautement significatif ($P < 0,001$).

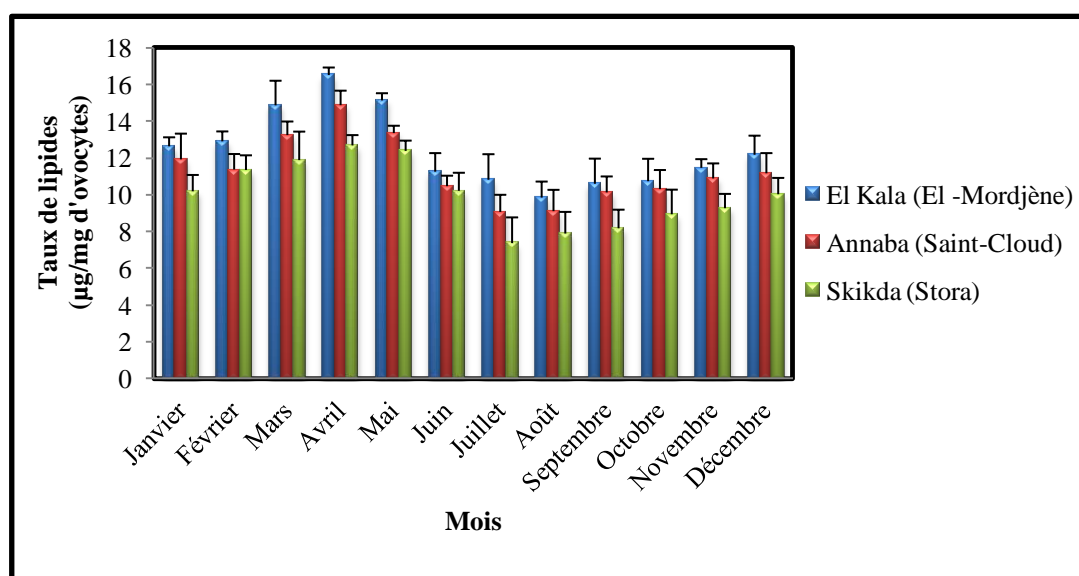


Figure 70. Variations mensuelles du taux de lipides ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de *P.cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.

Le test de Tukey a permis de classer les sites en trois groupes durant le mois d'Avril et de Mai, le groupe A renferme le site d'El-Kala (El-Mordjène), le groupe B représente le site d'Annaba (Saint-Cloud) et le groupe C concerne le site de Skikda (Stora).

L'analyse de la variance entre les trois sites ne montre aucune différence significative durant les mois qui restent ($P > 0,05$) ; le test de Tukey permet de classer les trois sites en un seul groupe A (Tableau 52).

Chez les femelles récoltées au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène), le taux de lipides varie d'un mois à l'autre, avec un pic important au mois d'Avril où la valeur maximale atteint $16.52 \pm 0,41$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes, et la plus faible a été enregistrée au mois d'Août avec $9.85 \pm 0,87$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes (Figure 71).

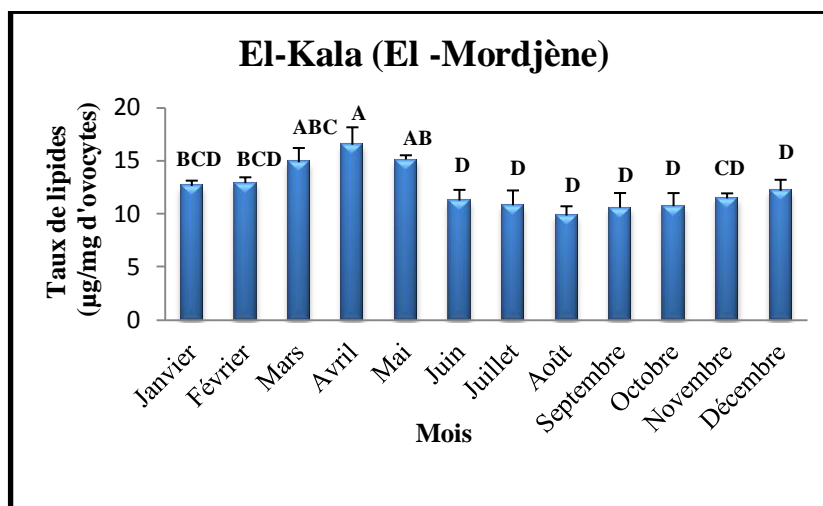


Figure 71. Variations mensuelles du taux de lipides chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène), durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (Classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux de lipides entre les mois pour le site d'El-Kala (El-Mordjène) en huit groupes durant l'année 2013 (Figure 71).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de lipides indique une différence très hautement significative du taux de lipides entre les mois d'étude dans le site d'El Kala (El-Mordjène) avec une valeur de $p < 0,001$ (Tableau 53).

Tableau 53. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de lipides chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	141,38	12,85	13,92	0,000***
Résiduelle	24	22,16	0,92		
Totale	35	163,55			

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

Chez les femelles récoltées dans le site d'Annaba (Saint-Cloud), le taux de lipides varie entre une valeur maximale de $14,88 \pm 0,79$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes au mois d'Avril, et une valeur minimale de $9,07 \pm 0,93$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes au mois de Juillet (Figure 72)..

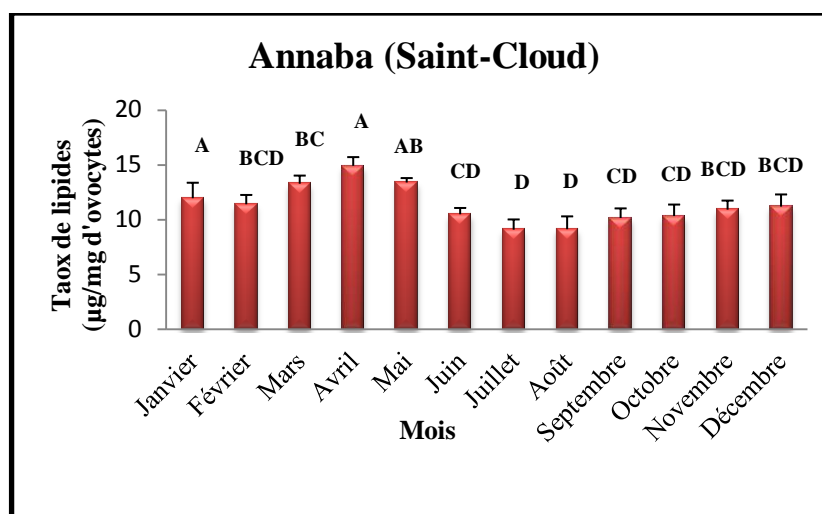


Figure 72. Variations mensuelles du taux de lipides chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (Classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux de lipides entre les mois pour le site d'Annaba (Saint-Cloud) en sept groupes durant l'année 2013 (Figure 72).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de lipides indique une différence très hautement significative entre les mois d'étude dans le site d'Annaba (Saint-Cloud) avec une valeur de ($p < 0,001$) (Tableau 54).

Tableau 54. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de lipides chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	99,00	9,00	10,79	0,000***
Résiduelle	24	20,01	0,83		
Totale	35	119,02			

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

Chez les femelles récoltées au niveau du site de Skikda (Stora), le taux de lipides varie entre une valeur maximale de $12,69 \pm 0,56$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes au mois d'Avril, et une valeur minimale de $7,37 \pm 1,40$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes au mois de Juillet (Figure 73).

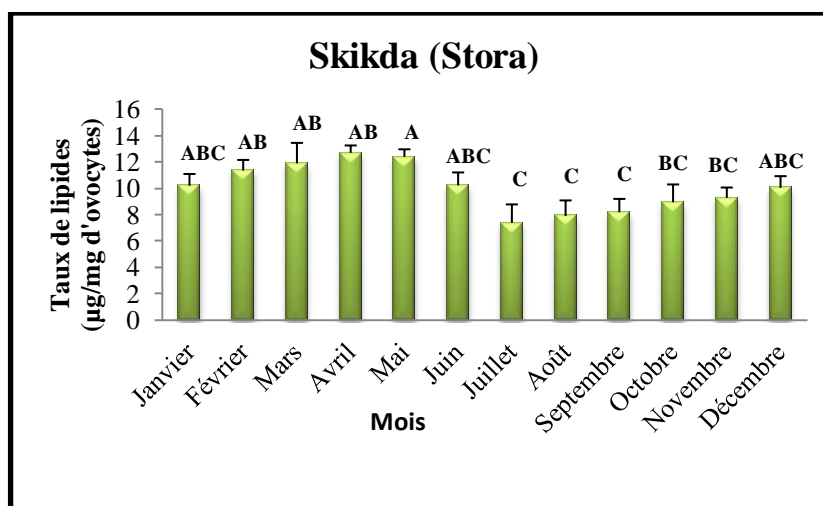


Figure 73. Variations mensuelles du taux de lipides chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013. (Classification de Tukey) ; ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux de lipides entre les mois pour le site de Skikda (Stora) en cinq groupes durant l'année 2013 (Figure 73).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de lipides indique une différence très hautement significative entre les mois d'étude dans le site de Skikda (Stora) avec une valeur de ($p < 0,001$) (tableau 55).

Tableau 55. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de lipides chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	104,16	9,47	8,68	0,000***
Résiduelle	24	26,19	1,09		
Totale	35	130,35			

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

L'analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois) réalisée sur les données relatives aux trois stations, révèle un effet site et mois très hautement significatifs ($p < 0,001$) et une interaction site/mois non significative (Tableau 56).

Tableau 56. ANOVA à deux facteurs contrôlés du taux de lipides chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période s'étalant de Janvier à Décembre 2013.

Source de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Mois	11	331,12	30,10	31,70	0,000***
Site	2	102,96	51,48	54,22	0,000***
Interaction site/mois	22	13,43	0,61	0,64	0,877NS
Erreur résiduelle	72	68,36	0,95		
Totale	102				

DDL: Degré de liberté; SCE: Somme des carrés des écarts; CM: Carré moyen; F obs : Test de Fisher; P: de signification

3.5.2. Analyse quantitative des vitellogénines et des vitellines

La teneur en vitellogénine et en vitellines a été mesurée respectivement dans le liquide cœlomique et les ovocytes respectivement chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période de reproduction (Mars, Avril et Mai) de l'année 2013.

3.5.2.1. Évaluation du taux de vitellogénines

Le suivi mensuel du taux de vitellogénines dans le liquide cœlomique montre une valeur maximale de vitellogénines chez les femelles récoltées dans le site d'El-Kala (El-Mordjène) au mois d'avril avec $2,40 \pm 0,23$ µg/mg de liquide cœlomique et une valeur minimale chez les femelles du site de Skikda (stora) au mois de mai avec $0,83 \pm 0,16$ µg/mg de liquide cœlomique. (Tableau 57).

Tableau 57. Variation du taux de vitellogénines (µg/mg de liquide cœlomique) chez les femelles de *P. cultrifera* ($m \pm s$; n = 5) échantillonnées au niveau des trois sites d'étude durant la période de reproduction de l'année 2013.

Mois \ Site	El-Kala	Annaba	Skikda	P
Mars	$1,72 \pm 0,32$ A	$1,5 \pm 0,23$ A	$1,29 \pm 0,23$ A	0.270 NS
Avril	$2,71 \pm 0,26$ A	$2,45 \pm 0,28$ A	$2,21 \pm 0,30$ A	0.178 NS
Mai	$1,34 \pm 0,33$ A	$1,15 \pm 0,30$ A	$1,01 \pm 0,24$ A	0.448 NS

P : seuil de signification ; non significatif ($P > 0,05$) ; * très significatif ($P < 0,05$) ; ** hautement significatif ($P < 0,01$) ; *** très hautement significatif ($P < 0,001$).

Le test de Tukey a permis de classer les sites en un seul groupe A durant les trois mois d'étude, une différence non significative a été enregistrée entre les trois sites quelque soit les mois ($p > 0,05$) (Tableau 57).

Les résultats obtenus à partir du dosage des vitellogénines montrent une diminution du taux de vitellogénines dans le liquide cœlomique chez les femelles récoltées au niveau des deux sites Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora), durant toutes la période d'étude (Figure 74).

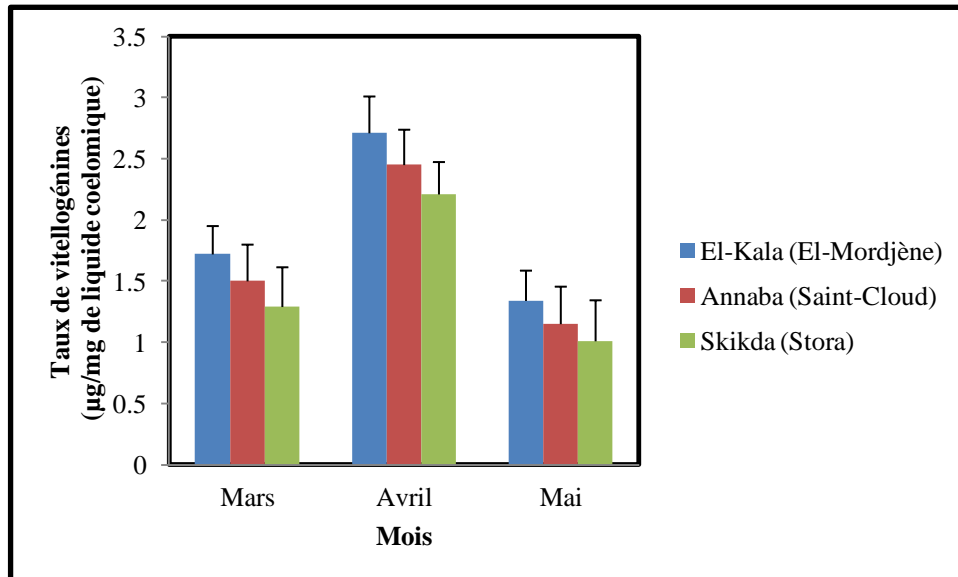


Figure 74. Variations du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide cœlomique) chez les femelles de *P. cultrifera* ($m \pm s$; $n = 5$), échantillonnées au niveau des trois sites d'étude durant la période de reproduction de l'année 2013.

Les résultats obtenus affichent un pic de vitellogénines au mois d'Avril quelque soit le site. Le pic est désormais plus important chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées à El-Kala (El-Mordjène).

Cependant, chez les femelles récoltées au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène), le taux de vitellogénines varie entre une valeur maximale de $2,71 \pm 0,26 \mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide cœlomique au mois d'avril, et une valeur minimale de $1,34 \pm 0,33 \mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide cœlomique au mois de Mai (Figure 75).

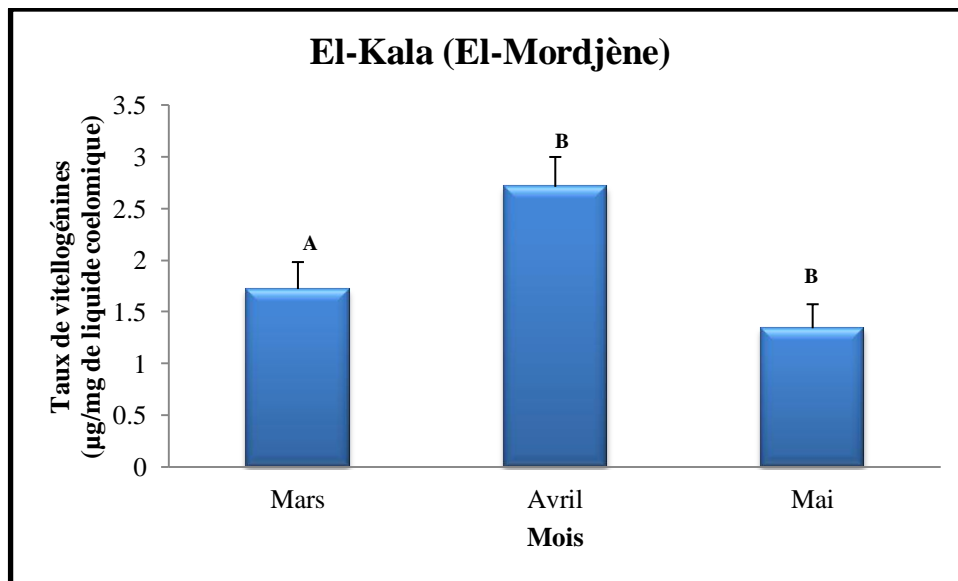


Figure 75. Variations du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide coelomique) chez les femelles récoltées au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période de reproduction de l'année 2013, (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux de vitellogénines entre les mois pour le site d'El-Kala (El-Mordjène) en deux groupes durant l'année 2013 (Figure 75).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé indique une différence hautement significative entre les mois d'étude au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène), avec une valeur de ($p < 0,01$) (Tableau 58).

Tableau 58. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide coelomique) chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période de reproduction de l'année 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	2	3,028	1,514	15,77	0,004**
Résiduelle	6	0,576	0,096		
Totale	8	3.605			

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

Chez les femelles récoltées au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud), la valeur maximale du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide coelomique) a été enregistrée au mois d'Avril avec $2,45 \pm 0,28 \mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide coelomique et une valeur minimale a été enregistrée au mois de Mai avec $1,15 \pm 0,30 \mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide coelomique (Figure 76).

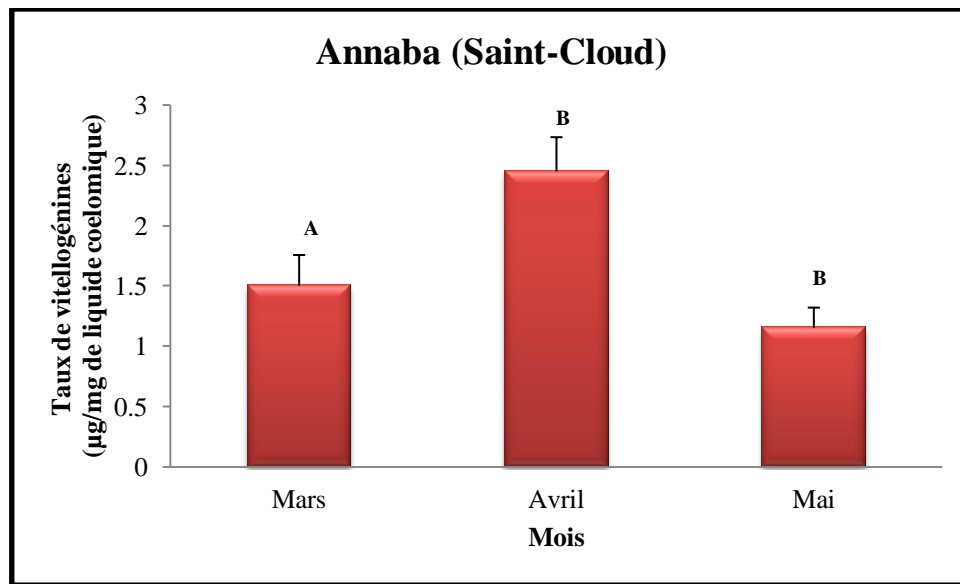


Figure 76. Variations du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide coelomique) chez les femelles récoltées au niveau du site Annaba (Saint-Cloud) durant la période de reproduction de l'année 2013, (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux de vitellogénines entre les mois pour le site d'Annaba (Saint-Cloud) en deux groupes durant l'année 2013 (Figure 76).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé, indique une différence hautement significative entre les mois d'étude au niveau du site Annaba (Saint-Cloud) avec une valeur de ($p < 0,01$) (Tableau 59).

Tableau 59. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide coelomique) chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période de reproduction de l'année 2013 .

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	2	2,726	1,363	15,27	0,004**
Résiduelle	6	0,535	0,089		
Totale	8	3.261			

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

Chez les femelles récoltées à partir du site de Skikda (Stora), la valeur maximale du taux de vitellogénines a été enregistrée au mois d'Avril avec $1,21 \pm 0,30 \mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide coelomique et une valeur minimale a été enregistrée au mois de Mai avec $1,01 \pm 0,24 \mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide coelomique.

Par ailleurs, pendant toute la période de reproduction, le contenu du liquide cœlomique est le plus pauvre en vitellogénines, chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site Skikda (Stora) (Figure 77).

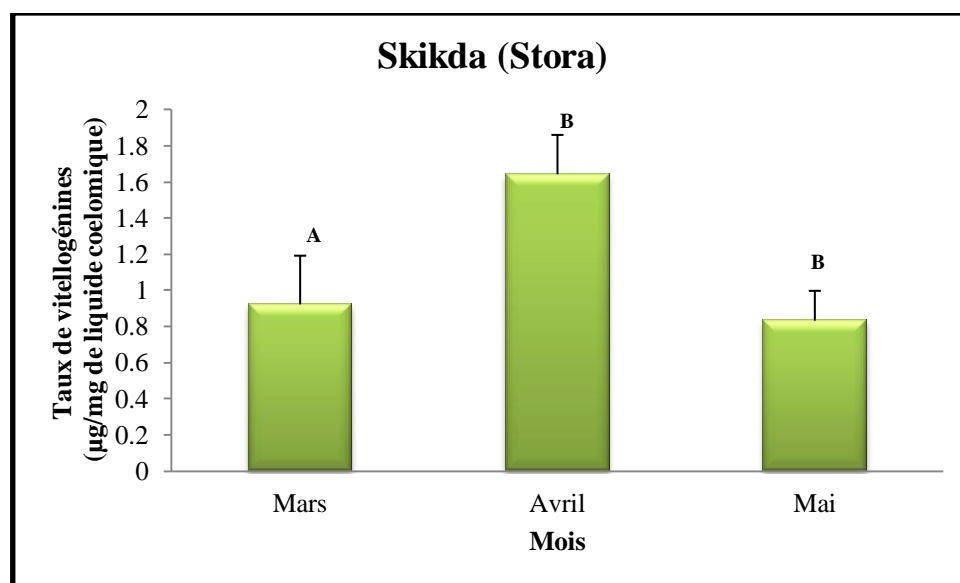


Figure 77. Variations du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide cœlomique) chez les femelles récoltées au niveau du site Skikda (Stora) durant la période de reproduction de l'année 2013, (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux de vitellogénines entre les mois pour le site de Skikda (Stora) en deux groupes durant l'année 2013 (Figure 77).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé, indique une différence hautement significative entre les mois d'étude au niveau du site Skikda (Stora) avec une valeur de ($p < 0,01$) (Tableau 60).

Tableau 60. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide cœlomique) chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période de reproduction de l'année 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	2	2,370	1,185	17,30	0,003**
Résiduelle	6	0,411	0,0685		
Totale	8	2.781			

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

L'analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois) réalisée sur les données relatives aux trois sites révèle un effet site très hautement significatif ($p < 0,001$), un

effet mois très significatif ($p < 0,05$) et l'interaction site/mois ne présente pas d'effet significatif ($P > 0,05$) (Tableau 61).

Tableau 61. ANOVA à deux facteurs contrôlés du taux de vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de liquide cœlomique) chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude durant la période de reproduction de l'année 2013 .

Source de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Mois	2	0,794	0,397	4,70	0,023*
Site	2	8,102	4,051	47,88	0,000***
Interaction site/mois	4	0,023	0,005	0,07	0,991 NS
Erreur résiduelle	18	1,523	0,084		
Totale	26				

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

3.5.2.2. Évaluation du taux de vitellines

Le suivi mensuel du taux de vitellines pendant la saison de reproduction dans les ovocytes de *P. cultrifera* montre une valeur maximale au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) dans le mois d'avril de l'ordre de $2,40 \pm 0,23 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes et une valeur minimale au mois de mai $0,83 \pm 0,16 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes à Skikda (Stora) (Tableau 62).

Tableau 62. Variation du taux de vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) de *P. cultrifera* ($m \pm s$; $n = 5$) échantillonnées au niveau des trois sites d'étude durant la période de reproduction de l'année 2013.

Mois \ Site	El-Kala	Annaba	Skikda	P
Mars	$1,36 \pm 0,26$ A	$1,18 \pm 0,25$ A	$0,92 \pm 0,26$ A	0,196 NS
Avril	$2,40 \pm 0,23$ A	$2,19 \pm 0,28$ AB	$1,64 \pm 0,28$ B	0,013 **
Mai	$1,26 \pm 0,21$ A	$1,05 \pm 0,17$ A	$0,83 \pm 0,16$ A	0,266 NS

P : seuil de signification ; non significatif ($P > 0,05$) ; * très significatif ($P < 0,05$) ; ** hautement significatif ($P < 0,01$) ; *** très hautement significatif (

Le test de Tukey a permis de classer les sites en trois groupes au mois d'Avril, le groupe A renferme le site d'El-Kala (El-Mordjène), le groupe AB présente le site d'Annaba (Saint-Cloud) et le groupe C renferme le site de Skikda (Stora). Une différence hautement significative a été enregistrée entre les trois sites d'étude au mois d'Avril..

Durant les deux mois de Mars et de Mai, les trois sites regroupés en un seul groupe A, aucune différence entre les trois sites d'étude n'a été signalée.

Les résultats obtenus à partir du dosage de Vitellines montrent une inhibition de la synthèse des vitellines dans les ovocytes des femelles récoltées au niveau des deux sites d'Annaba (Saint-Cloud) et de Skikda (Stora), durant toute la période d'étude (Figure 78).

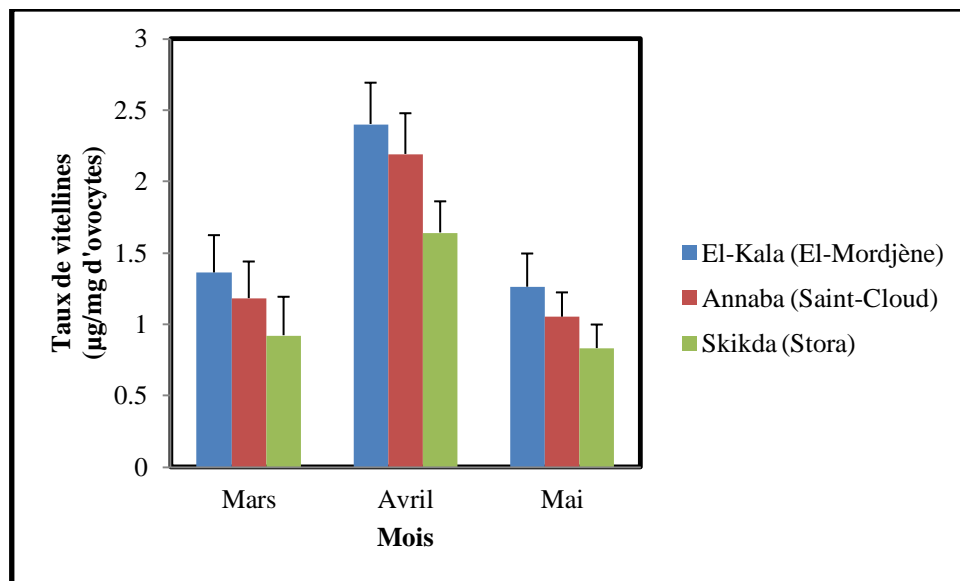


Figure 78. Variations du taux de vitellines $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes chez les femelles de *P. cultrifera* échantillonnées au niveau des trois sites d'étude durant la période de reproduction de l'année 2013 ($m \pm s$; $n = 5$).

Chez les femelles récoltées au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène), le taux de vitellines varie d'un mois à l'autre, la valeur maximale atteint $2,40 \pm 0,23 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes durant le mois d'avril, et la plus faible a été enregistrée au mois de Mai $1,26 \pm 0,21 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes (Figure 79).

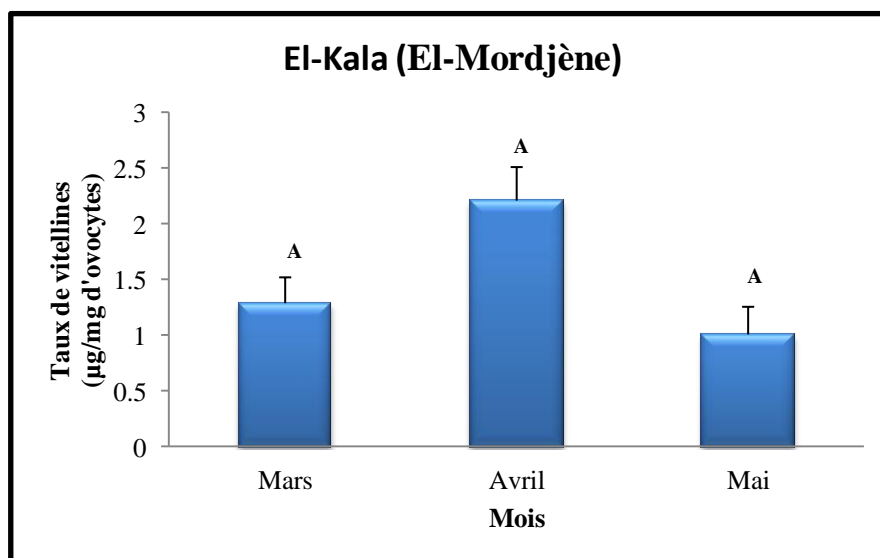


Figure 79. Variations du taux de vitellines $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période de reproduction de l'année 2013, (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$)

Le test de Tukey a classé les variations du taux de vitellines entre les mois pour le site d'El-Kala (El-Mordjène) en un seul groupe durant l'année 2013 (Figure 79).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé indique une différence non significative entre les mois d'étude au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) avec une valeur de ($P > 0,05$) (Tableau 63).

Tableau 63. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site d' El-Kala (El-Mordjène) durant la période de reproduction de l'année 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	2	0,234	0,117	1,71	0,258 NS
Résiduelle	6	0,411	0,068		
Totale	8	0.646			

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

Chez les femelles récoltées au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud), la valeur maximale du taux de vitellines a été enregistrée également au mois d'Avril avec $19 \pm 0,28 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes et la valeur minimale a été enregistrée au mois de Mai avec $1,05 \pm 0,17 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes (Figure 80).

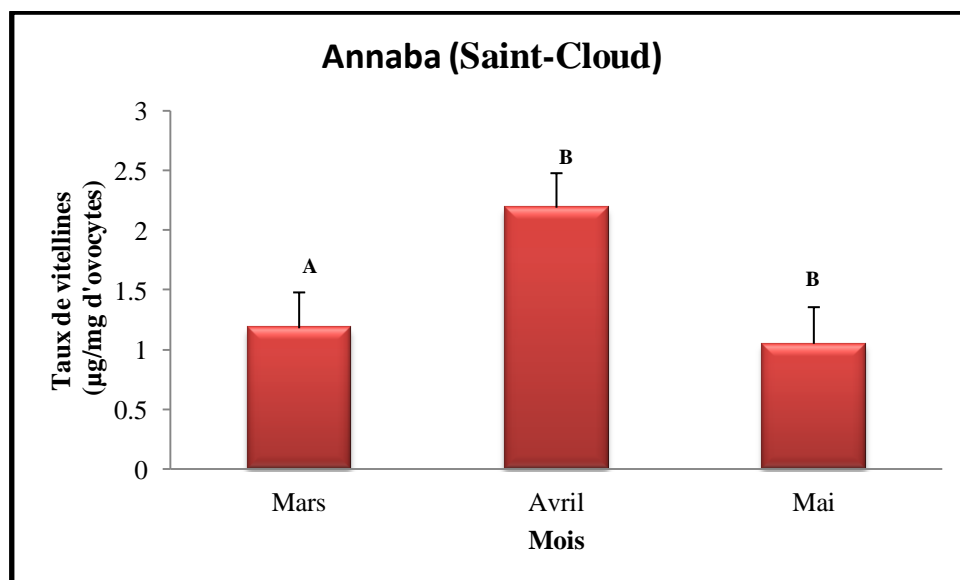


Figure 80. Variations du taux de vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles les femelles récoltées au niveau du site Annaba (Saint-Cloud) durant la période de reproduction de l'année 2013, (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux de vitellines entre les mois pour le site d'Annaba (Saint-Cloud) en deux groupes durant l'année 2013 (Figure 76).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé, indique une différence hautement significative entre les mois d'étude au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période de reproduction avec une valeur de ($p < 0,01$) (Tableau 64).

Tableau 64. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période de reproduction de l'année 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	2	2,313	1,156	19,71	0,002**
Résiduelle	6	0,352	0,058		
Totale	8	2.660			

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

De même, chez les femelles récoltées au niveau du site de Skikda (Stora), la valeur maximale du taux de vitellines a été enregistrée au mois d'Avril avec $1,64 \pm 0,28 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes et la valeur minimale a été enregistrée au mois de Mai avec $0,83 \pm 0,16 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes (Figure 81).

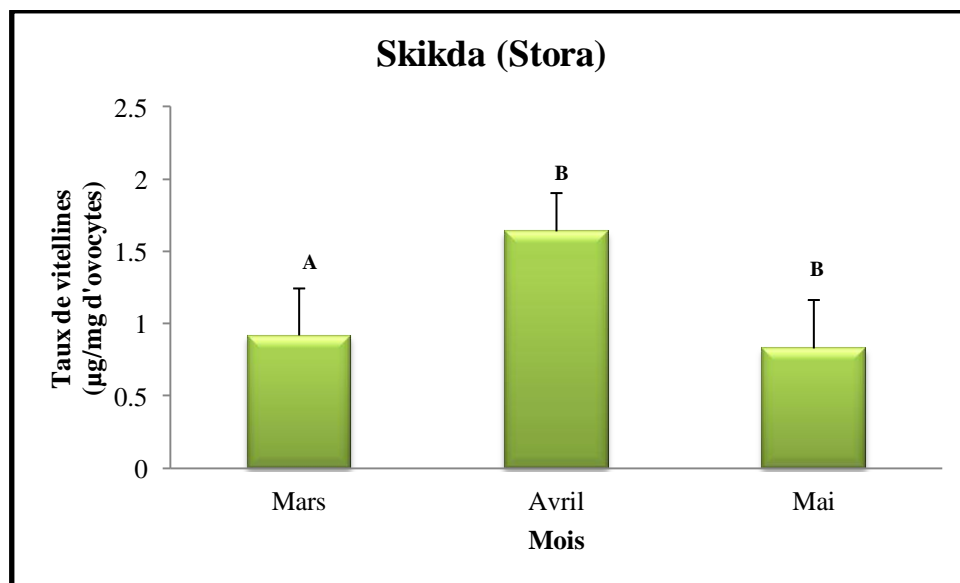


Figure 81. Variations du taux de vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site Skikda (Stora) durant la période de reproduction de l'année 2013, (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux de vitellines entre les mois pour le site de Skikda (Stora) en deux groupes durant l'année 2013 (Figure 81).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé indique une différence très hautement significative entre les mois d'étude au niveau du site de Skikda (Stora) avec une valeur de ($p < 0,001$) (Tableau 65).

Tableau 65. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux de vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période de reproduction de l'année 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	2	4,643	2,321	47,26	0,000***
Résiduelle	6	0,294	0,049		
Totale	8	4.937			

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

L'analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois) réalisée sur les données relatives aux trois sites révèle un effet site très hautement significatif ($p < 0,001$) et un effet mois non significatif ($P > 0,05$) et une interaction site/mois hautement significative ($p < 0,01$) (Tableau 66).

Tableau 66. ANOVA à deux facteurs contrôlés du taux de vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude durant la période de reproduction de l'année 2013.

Source de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Mois	2	0,037	0,018	0,32	0,730 NS
Site	2	5,743	2,871	48,83	0,000***
Interaction stations/mois	4	1,448	0,362	6,16	0,003**
Erreur résiduelle	18	1,058	0,058		
Totale	26				

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

3.5.3. Analyse quantitative des acides nucléiques

La teneur en ADN et ARN a été mesurée mensuellement dans les ovocytes des femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude d'El Kala (El Morjane), Annaba (Saint Cloud), Skikda (Stora) pendant la période d'étude qui s'étale de Janvier à Décembre de l'année 2013.

3.5.3.1. Évaluation du taux d'ADN ovocytaire chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude

L'évolution des taux d'ADN ovocytaire montre une valeur maximale au mois d'Avril chez les femelles récoltées au niveau du site d'El Kala, elle est de l'ordre de $31,47 \pm 2,24$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes, tandis que la plus faible a été observée au mois de Septembre pour les femelles prélevées au site de Skikda $4,53 \pm 1,21$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes.

Le test de Tukey a permis de classer les sites en trois groupes durant les mois de Janvier, Février, Mars, Avril, et Mai ; le groupe A renferme le site d'El Kala, le groupe B représente le site d'Annaba, le groupe C correspond du site de Skikda. Une différence très hautement significative a été enregistrée entre les trois sites d'étude. Les résultats obtenus à partir du dosage de l'ADN ovocytaire montrent une diminution très hautement significative du taux d'ADN chez les femelles récoltées au niveau du site de Skikda et ce, durant les mois de Janvier, Février, Mars, Avril, et de Mai (Figure 82).

Trois groupes ont été relevés durant les mois de Juin et Décembre le groupe A renferme le site d'El Kala, le groupe AB représente le site d'Annaba, le groupe B représente le site de Skikda. Une différence très significative a été enregistrée entre les trois sites d'étude.

Durant les trois mois de Juillet, Novembre et Septembre, deux groupes ont été signalés: le groupe A renferme les deux sites El Kala et Annaba, le groupe B représente le site de Skikda. Une différence hautement significative a été enregistrée entre les trois sites d'étude.

Durant les deux mois d'Août et Octobre, les trois sites regroupent un seul groupe A, où la différence est non significative entre les trois sites.

Tableau 67. Évaluation du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocyte) chez trois populations femelles de *P. culrifera* récoltées au niveau d'El-Kala (El-Mordjène, Annaba, et Skikda. durant la période allant de Janvier à Décembre 2013. (ANOVA à un seul facteur contrôlé, et classification de Tukey des sites pour chaque mois); ($m \pm s$, $n = 5$).

Site \ Mois	El Kala	Annaba	Skikd	P
Janvier	14,52 \pm 1,92 A	9,84 \pm 1,15 B	5,34 \pm 0,82 C	0,001***
Février	20,33 \pm 1,76 A	14,89 \pm 1,41 B	10,41 \pm 1,84 C	0,001***
Mars	24,99 \pm 1,45 A	11,80 \pm 0,97 B	11,72 \pm 1,34 C	0,000***
Avril	31,47 \pm 2,24 A	22,51 \pm 2,10 B	16,96 \pm 1,36 C	0,000***
Mai	25,30 \pm 2,04 A	19,30 \pm 1,82 B	13,65 \pm 2,32 C	0,001***
Juin	14,87 \pm 1,13 A	11,88 \pm 1,97 AB	9,21 \pm 1,49 B	0,019*
Juillet	10,67 \pm 1,40 A	8,36 \pm 1,07 A	5,50 \pm 1,17 B	0,006**
Août	7,58 \pm 1,21 A	6,14 \pm 1,51 A	5,88 \pm 1,55 A	0,359NS
Septembre	9,06 \pm 0,98 A	7,42 \pm 1,12 A	4,53 \pm 1,21 B	0,007**
Octobre	9,75 \pm 1,57 A	9,01 \pm 1,01 A	6,71 \pm 1,05 A	0,055NS
Novembre	10,67 \pm 1,55 A	9,64 \pm 1,12 A	5,33 \pm 0,97 B	0,004**
Décembre	11,91 \pm 1,73 A	10,61 \pm 1,14 AB	7,48 \pm 1,24 B	0,021*

P: seuil de signification ; non significatif ($P > 0,05$) ; *très significatif ($P < 0,05$) ; ** hautement significatif ($P < 0,01$) ; *** très hautement significatif ($P < 0,001$).

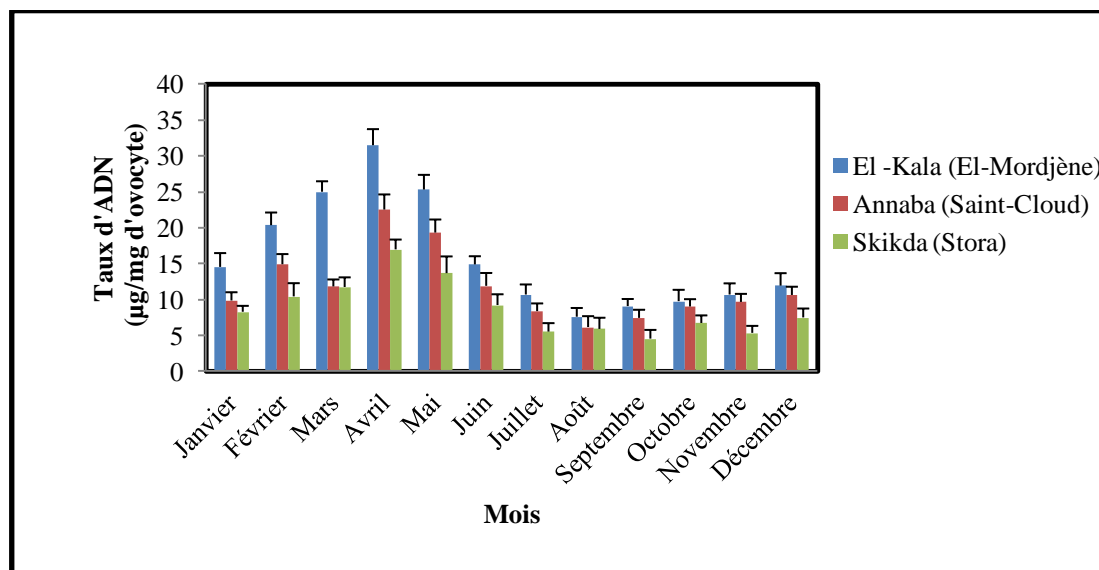


Figure 82. Évaluation du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez trois populations des femelles de *P. culrifera* récoltées au niveau des trois sites d'El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013. ($m \pm s$; $n = 5$).

Chez les femelles récoltées du site El Kala (El-Mordjène), le taux de l'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) varie entre une valeur maximale de $31,47 \pm 2,24 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes dans le mois d'avril, et une valeur minimale de $7,58 \pm 1,21 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes au mois d'Août (Figure 83).

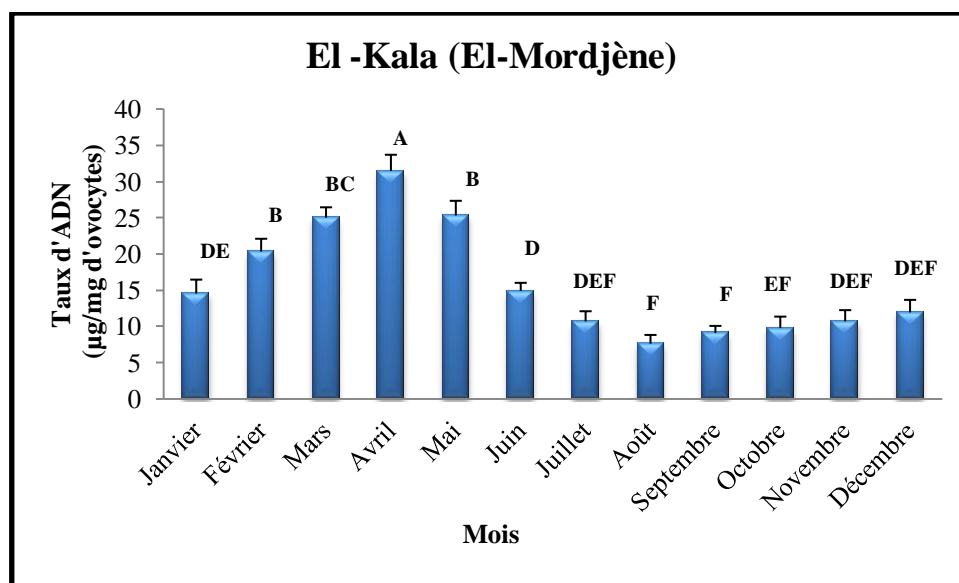


Figure 83. Évaluation du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez la population de femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013. (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux d'ADN entre les mois pour le site d'El-Kala (El-Mordjène) en neuf groupes durant l'année 2013 (Figure 83).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé indique une différence très hautement significative entre les mois d'étude dans le site d'El-Kala (El-Mordjène) avec une valeur de ($p < 0,001$) (Tableau 68).

Tableau 68. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site d'El Kala (El-Mordjène) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	1981,32	180,12	68,01	0,000***
Résiduelle	24	63,56	2,65		
Totale	35	20,4488			

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

Chez les femelles récoltées au niveau du site d'Annaba, la valeur maximale du taux d'ADN $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes a été enregistrée au mois d'Avril avec $22,51 \pm 2,10$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocyte et une valeur minimale a été observée au mois d'Août avec $6,14 \pm 1,51$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes (Figure 84)

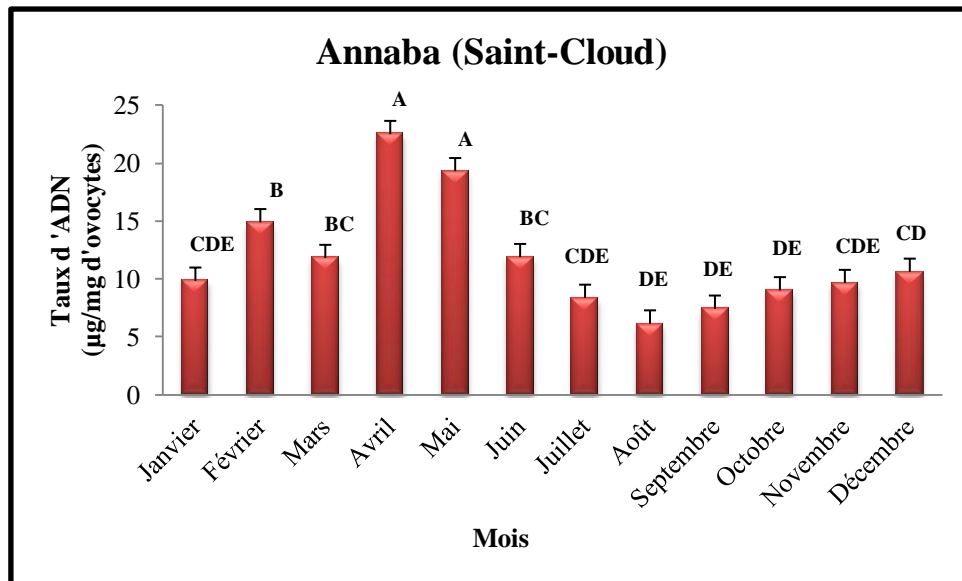


Figure 84. Évaluation du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez la population de femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site d'Annaba durant la période allant de Janvier à Décembre 2013. (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux de d'ADN entre les mois pour le site d'Annaba (Saint-Cloud) en six groupes durant l'année 2013 (Figure 84).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé indique une différence très hautement significative entre les mois d'étude au niveau du site d'Annaba avec une valeur de ($p < 0,001$) (Tableau 69).

Tableau 69. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocyte) chez les femelles de *P. cultrifera* dans le site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	783,95	71,27	36,30	0,000***
Résiduelle	24	47,11	1,96		
Totale	35	831,06			

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

Chez les femelles récoltées, la valeur maximale du taux d'ADN a été enregistrée au mois d'Avril avec $16,96 \pm 1,36 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes et une valeur minimale a été observée au mois de Septembre avec $4,53 \pm 1,21 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes (Figure 85).

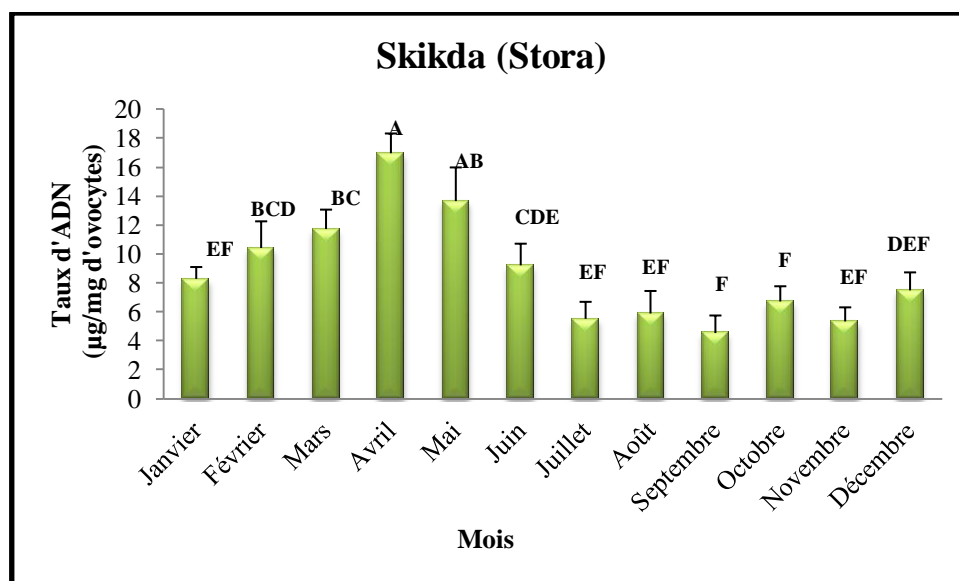


Figure 85. Évaluation du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les populations des femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.(classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux d'ADN entre les mois pour le site de Skikda (Stora) en huit groupes durant l'année 2013 (Figure 85).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé indique une différence très hautement significative entre les mois d'étude dans le site de Skikda (Stora) avec une valeur de ($p < 0,001$) (Tableau 70).

Tableau 70. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de *P. cultrifera* dans le site de Skikda (Stora) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	505,41	45,95	22,71	0,000***
Résiduelle	24	48,56	2,02		
Totale	35	553,97			

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

L'analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois) révèle un effet site, un effet mois, et une interaction sites/mois très hautement significatifs ($p < 0,001$), (Tableau 71).

Tableau 71. ANOVA à deux facteurs contrôlés du taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de *P. cultrifera* récoltée au niveau des trois sites d'étude . durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.

Source de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Mois	11	981,38	490,69	221,87	0,000***
Site	2	2883,66	262,15	118,54	0,000***
Interaction site/mois	22	387,02	17,59	7,95	0,000***
Erreur résiduelle	72	159,23	2.21		
Totale	107				

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

3.5.3.2. Évaluation du taux d'ARN ovocytaire chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude

L'évolution du taux d'ARN ovocytaire montre une induction dans les deux sites d'Annaba et de Skikda, une valeur maximale a été enregistrée au mois d'Avril chez les femelles récoltées au niveau du site de Skikda (Stora), elle est de l'ordre de $83,4 \pm 2,91 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes, tandis que la plus faible a été observée au mois d'Août pour les femelles prélevées au niveau du site d'El Kala (El-Mordjène) avec $14,87 \pm 1,94 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes. Cependant le site d'Annaba (Saint-Cloud) affiche des valeurs intermédiaires.

Le test de Tukey a permis de classer les sites en trois groupes durant les mois de Mars, Avril, et Mai ; le groupe A renferme le site d'El Kala, le groupe B représente le site Annaba et le groupe C correspond au site de Skikda. Une différence très hautement significative a été enregistrée entre les trois sites d'étude de février, Avril, Mai, Octobre.

Au mois d'Août, les trois sites regroupent en un seul groupe A, où la différence n'est pas significative entre les trois sites d'étude.

Durant les mois qui restent, deux groupes ont été signalés, le groupe A renferme le site El Kala, le groupe B représente les deux sites de Annaba et Skikda. Une différence hautement significative a été enregistrée entre les trois sites d'étude de Janvier, Mars, Juin, Septembre et Novembre.

Tableau 72. Évaluation du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez trois populations de femelles de *P. culrifera* récoltées au niveau d'El-Kala, Annaba, et Skikda durant la période allant de Janvier à Décembre 2013. (ANOVA à un seul facteur contrôlé et classification de Tukey des sites pour chaque mois); ($m \pm s$, $n = 5$).

Mois \ Site	El- kala	Annaba	Skikda	P
Janvier	31,28 \pm 2,09 A	34,62 \pm 1,15 B	41,88 \pm 2,51 B	0,002**
Février	35,41 \pm 2,28 A	39,24 \pm 1,21 B	46,05 \pm 1,49 B	0,001***
Mars	39,46 \pm 2,87 A	46,75 \pm 2,68 B	54,26 \pm 2,59 C	0,002**
Avril	51,35 \pm 2,06 A	69,87 \pm 2,34 B	83,4 \pm 2,94 C	0,000***
Mai	45,72 \pm 2,54 A	52,59 \pm 1,79 B	64,14 \pm 2,74 C	0,000***
Juin	29,67 \pm 2,23 A	30,71 \pm 2,20 B	39,01 \pm 1,63 B	0,003**
Juillet	15,3 \pm 1,21 A	18,66 \pm 1,85 B	20,23 \pm 1,12 B	0,01**
Août	14,87 \pm 1,94 A	15,27 \pm 1,71 A	16,92 \pm 1,18A	0,336NS
Septembre	16,71 \pm 1,11 A	19,51 \pm 1,97 B	24,79 \pm 2,05 B	0,004**
Octobre	17,74 \pm 1,5 A	21,51 \pm 2,35 B	29,76 \pm 2,16 B	0,001***
Novembre	22,84 \pm 1,43 A	25,54 \pm 1,27 B	28,88 \pm 1,24 B	0,003**
Décembre	25,53 \pm 1,98 A	29,89 \pm 1,35 B	31,81 \pm 1,71 B	0.007**

P : seuil de signification ; non significatif ($P > 0,05$) ; * très significatif ($P < 0,05$) ; ** hautement significatif ($P < 0,01$) ; *** très hautement significatif ($P < 0,001$).

Les résultats obtenus à partir du dosage de l'ARN ovocytaire montrent une augmentation très hautement significative du taux d'ARN chez les femelles récoltées au niveau du site de Skikda (Stora) qui est montré dans les mois de Mars, Avril et Mai (Figure 86).

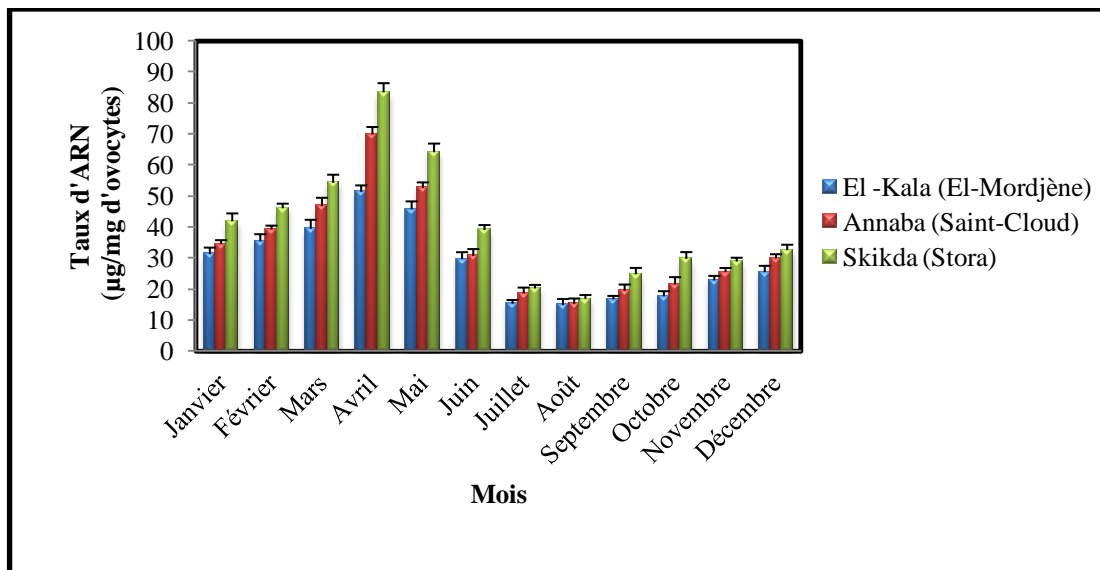


Figure 86. Évaluation du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez trois populations des femelles de *P. culrifera* récoltées au niveau d'El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud), et Skikda (Stora) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013. ($m \pm s$; $n = 5$)

Chez les femelles récoltées au niveau du site d'El Kala (El-Mordjène) le taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) varie entre une valeur maximale de $51,35 \pm 2,06$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes au mois d'avril, et une valeur minimale de $14,87 \pm 1,94$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes au mois d'Août (Figure 87).

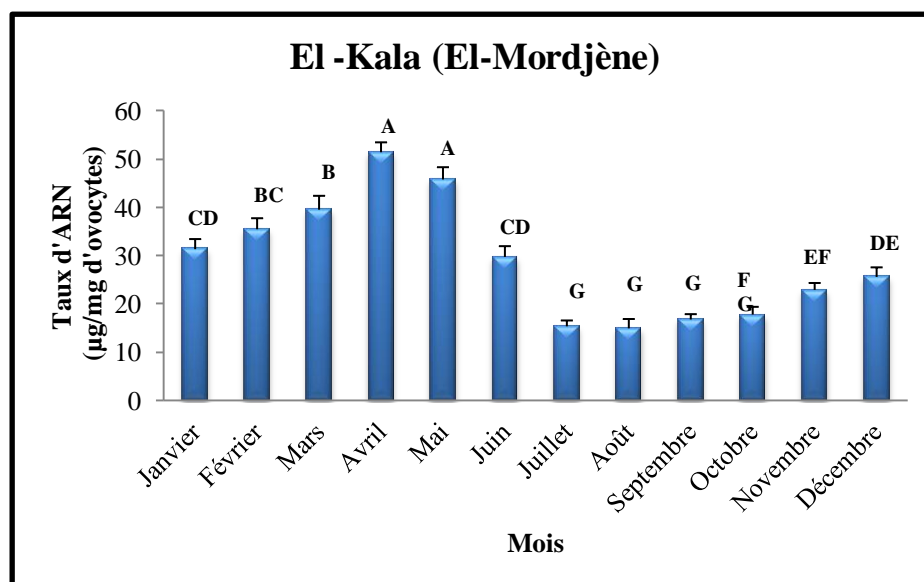


Figure 87. Évaluation du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez la population de femelle de *P. culrifera* récoltées au niveau d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013. (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux d'ARN entre les mois pour le site d'El-Kala (El-Mordjène) en huit groupes durant l'année 2013 (Figure 87).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé indique une différence très hautement significative entre les mois d'étude au niveau du site d'El Kala (El-Mordjène) avec une valeur de ($p < 0,001$) (Tableau 73).

Tableau 73. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site d'El Kala (El-Mordjène) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	4950,85	450,08	110,99	0,000***
Résiduelle	24	97,32	4,05		
Totale	35	5048.17			

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

Par ailleurs, Chez les femelles récoltées à partir du site d'Annaba (Saint-Cloud), la valeur maximale du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) a été enregistrée au mois d'Avril avec $69,87 \pm 2,34$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes et une valeur minimale a été signalée au mois d'Août avec $15,27 \pm 1,71$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes (Figure 8)

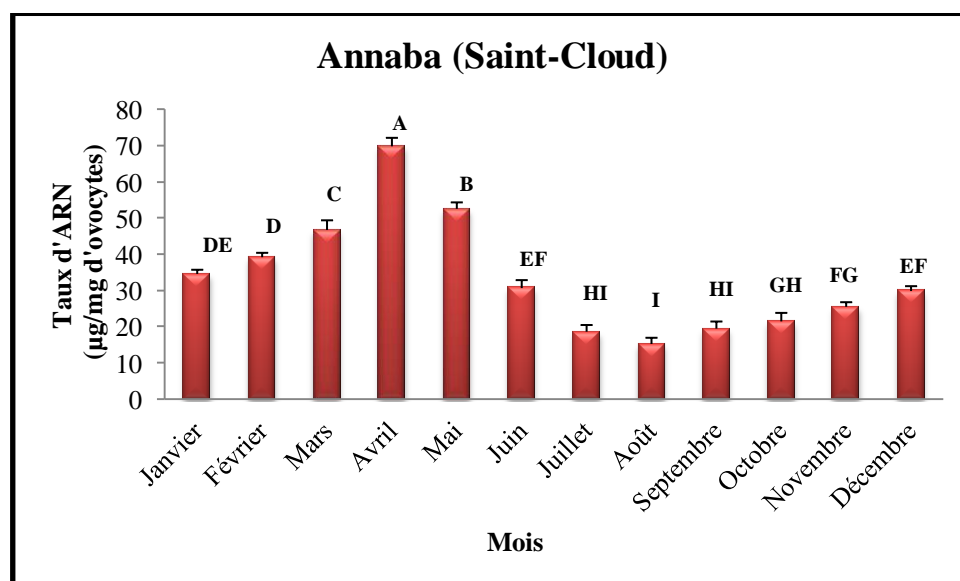


Figure 88. Évaluation du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez la population de femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site d'Annaba durant la période allant de Janvier à Décembre 2013. (Saint-Cloud) (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations du taux d'ARN entre les mois pour le site d'Annaba (Saint-Cloud) en dix groupes durant l'année 2013 (Figure 88).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé indique une différence très hautement significative entre les mois d'étude au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) avec une valeur de ($p < 0,001$) (Tableau 74).

Tableau 74. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	8617,62	783,42	219,03	0,000***
Résiduelle	24	85,84	3,58		
Totale	35	8703.46			

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

En outre, Chez les femelles récoltées à partir du site de Skikda (Stora), la valeur maximale du taux d'ARN a été enregistrée au mois d'Avril avec $83,4 \pm 2,94 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes et une valeur minimale a été également notée au mois d'Août avec $16,92 \pm 1,18 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes (Figure 89).

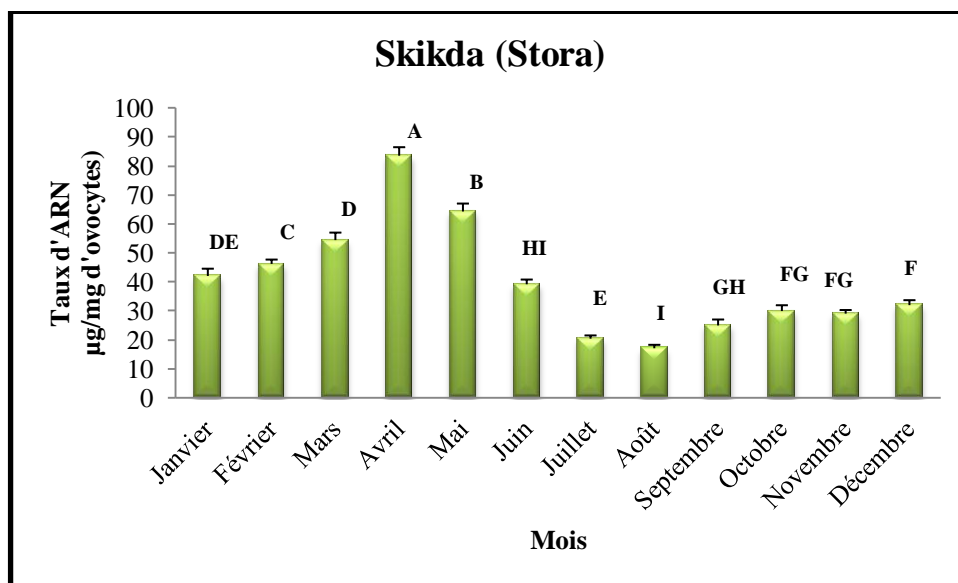


Figure 89. Évaluation du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez la population de femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau du site de Skikda (Stora) (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé indique une différence très hautement significative entre les mois d'étude au niveau du site de Skikda (Stora) avec une valeur de ($p < 0,001$) (Tableau 75)

Le test de Tukey a classé les variations du taux d'ARN entre les mois pour le site de Skikda (Stora) en dix groupes durant l'année 2013 (Figure 89).

Tableau 75. ANOVA à un seul facteur contrôlé du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	1244,59	1131,33	268,07	0,000***
Résiduelle	24	101,29	4,22		
Totale	35	1254.88			

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

L'analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois) révèle un effet site, un effet mois, et une interaction site/mois très hautement significatifs ($p < 0,001$), (Tableau 76).

Tableau 76. ANOVA à deux facteurs contrôlés du taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ d'ovocytes) chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau des trois sites d'étude durant la période allant de Janvier à Décembre 2013.

Source de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Mois	11	2328,77	1164,39	294,73	0,000***
Site	2	2492,25	2266,30	573,65	0,000***
Interaction site/mois	22	1083,82	49,26	12,47	0,000***
Erreur résiduelle	72	284,45	3.95		
Totale	107				

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

3.5.4. Dosage des biomarqueurs

3.5.4.1. Dosage de l'activité enzymatique de l'ACHÉ

L'activité enzymatique de l'ACHÉ exprimée en nM/mn/mg de protéines est déterminée mensuellement au niveau du corps entier des femelles *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites du littoral est Algérien : El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) au cours de la période allant de Janvier à Décembre 2012. Cette activité est calculée par application de la formule d'Ellman *et al* (1961) en utilisant les pentes des droites de régression exprimant l'absorbance en fonction du temps ; les résultats sont exprimés par rapport à une quantité de protéines exprimées en milligrammes (mg) (Figure 90).

Les valeurs des variations mensuelles de l'activité enzymatique de l'ACHé dans les trois sites étudiés, avec les résultats d'analyse de la variance à un seul critère de classification indiquent une différence très hautement significative entre les sites durant les mois de Mars, Avril et Novembre, une différence hautement significative durant les mois de Janvier, Mai, Juin, Juillet, Septembre, Octobre et Décembre et une différence très significative pendant les deux mois de Février et Août. (Tableau 77).

L'activité de l'ACHé au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) varie entre une valeur moyenne minimale de $16,63 \pm 1,61$ nM/mn/mg de protéines au mois d'Août et une valeur maximale de $37,59 \pm 1,89$ nM/mn/mg de protéines au mois d'Avril. Concernant le site d'Annaba (Saint-Cloud), l'activité de l'ACHé oscille entre $14,89 \pm 1,54$ et $30,61 \pm 1,88$ nM/mn/mg de protéines au mois d'Août et d'Avril respectivement. Par contre, pour le site de Skikda (Stora), elle varie entre $11,54 \pm 2,04$ et $27,38 \pm 1,81$ nM/mn/mg de protéines durant les deux mois d'Avril et Août.

Le test de Tukey a permis de classer les sites en trois groupes durant les mois de Janvier, Février, Mai, Juin, Août et Septembre, le groupe A renferme le site d'El-Kala (El-Mordjène), le groupe AB représente le site d'Annaba (Saint-Cloud) et le groupe B concerne le site de Skikda (Stora).

Au mois de Mars, deux groupes sont décelé : le groupe A représente les deux sites El-Kala (El-Mordjène) et Annaba (Saint-Cloud), le groupe B concerne le site de Skikda (Stora).

Deux groupes ont été relevés durant les mois d'Avril, Juillet, Octobre, Novembre et Décembre. Le groupe A renferme le site d'El-Kala (El-Mordjène), le groupe B regroupe les deux sites, Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora).

Tableau 77. Activité enzymatique de l'ACHé (nM/mn/mg de protéines) chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des sites d'étude durant la période allant de Janvier à Décembre 2012. (ANOVA à un seul facteur contrôlé, et classification de Tukey des sites pour chaque mois); ($m \pm s$, $n = 5$).

Mois \ Site	EL Kala	Annaba	Skikda	P
Janvier	28,21±1,78 A	24,23±2,15 AB	21,13±2,30 B	0,01**
Février	30,56±1,84 A	27,08±2,12 AB	24,76±1,59 B	0,025*
Mars	32,73±2,09 A	28,96±1,83 A	19,87±1,93 B	0,001***
Avril	37,59±1,89 A	30,61±1,88 B	27,38±1,81 B	0,000***
Mai	32,03±1,54 A	28,16±1,78 AB	25,48±1,89 B	0,01**
Juin	27,5± 2,06 A	23,86±1,66 AB	20,33±1,58 B	0,008**
Juillet	30,77±2,17 A	25,38±1,77 B	21,81±1,40 B	0,003**
Août	16,63±1,61 A	14,89±1,54 AB	11,54±2,04 B	0,031*
Septembre	19,15±1,64 A	17,81±1,40 AB	14,23±1,49 B	0,01**
Octobre	25,22±1,50 A	19,23±1,79 B	16,91±1,42 B	0,002**
Novembre	25,72±0,53 A	20,72±1,58 B	17,67±1,55 B	0,001***
Décembre	27.75±1.45 A	22.19±1.81 B	20.84±1.25 B	0.003**

P : seuil de signification ; non significatif ($P > 0,05$) ; * très significatif ($P < 0,05$) ; ** hautement significatif ($P < 0,01$) ; *** très hautement significatif ($P < 0,001$).

Les résultats obtenus à partir du dosage de l'activité enzymatique de l'ACHé montrent une diminution très hautement significative de l'activité chez les femelles récoltées au niveau des deux sites Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) pendant les trois mois de Mars, Avril et Mai. Une chute brusque est enregistrée au niveau du site de Skikda (Stora) qui est ressentie au mois de Mars. (Figure 90).

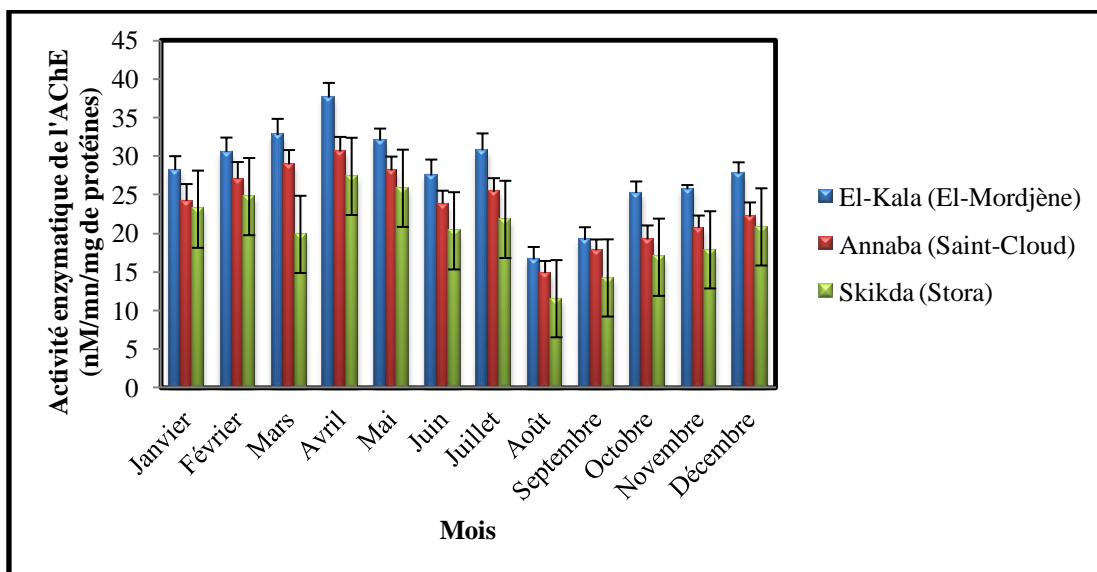


Figure 90. Variations mensuelles de l'activité enzymatique de l'AChE (nM/mn/mg de protéines) dans les trois sites d'étude chez les femelles de *P. cultrifera* de Janvier à Décembre de l'année 2012; ($m \pm s$, $n = 5$).

Chez les femelles récoltées d'El-Kala (El-Mordjène), l'activité enzymatique de l'AChE varie d'un mois à l'autre, avec une activité importante au mois d'Avril où la valeur maximale atteint $37,59 \pm 1,89$ nM/mn/mg de protéines et que la plus faible a été enregistrée $16,63 \pm 1,61$ nM/mn/mg de protéines au mois d'Août (Figure 91).

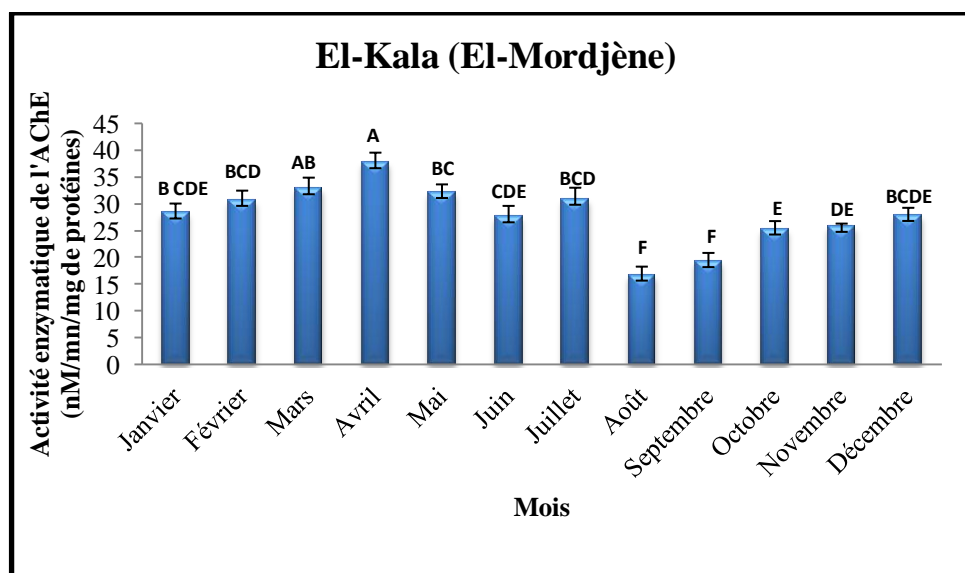


Figure 91. Variations mensuelles de l'activité enzymatique de l'AChE (nM/mn/mg de protéines) chez les femelles du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012. (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations de l'activité enzymatique de l'ACHé entre les mois pour le site d'El-Kala (El-Mordjène) en huit groupes durant l'année 2013 (Figure 19).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé indique une différence très hautement significative entre les mois d'étude au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) avec une valeur de $p < 0,001$ (Tableau 78).

Tableau 78. ANOVA à un seul facteur contrôlé de l'activité enzymatique de l'ACHé chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	1095,78	99,62	33,26	0,000***
Résiduelle	24	71,87	2,99		
Totale	35	1167.65			

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

Par ailleurs, chez les femelles récoltées au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud), l'activité enzymatique de l'ACHé varie tout le long de la période d'étude. L'activité enzymatique de l'ACHé la plus importante a été enregistrée au mois d'Avril ($30,61 \pm 1,88$ nM/mn/mg de protéines) et une valeur moyenne la plus faible concerne le mois d'Août ($14,89 \pm 1,54$ nM/mn/mg de protéines) (Figure 92).

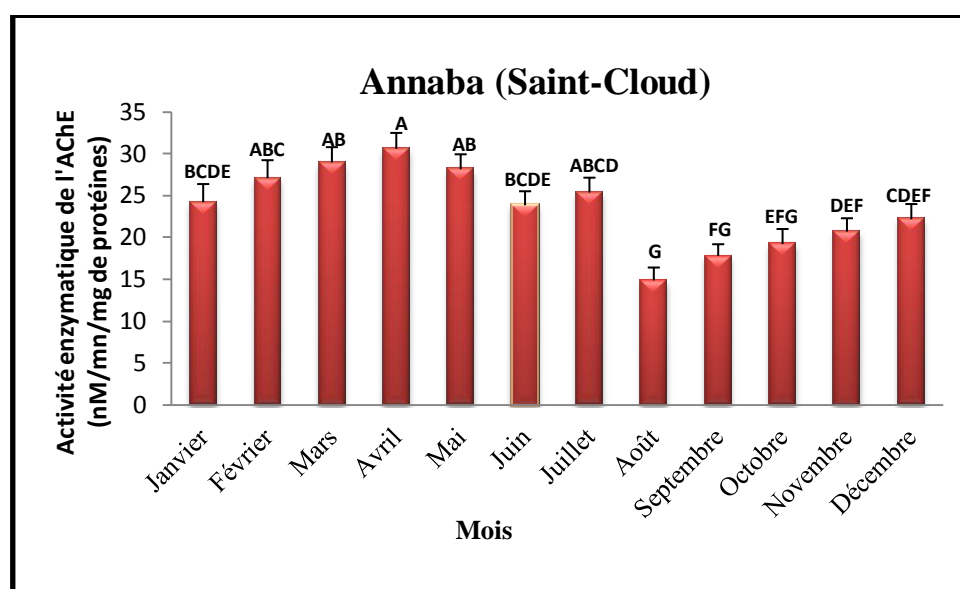


Figure 92. Variations mensuelles de l'activité enzymatique de l'ACHé (nM/mn/mg de protéines) chez les femelles du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012. (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations de l'activité enzymatique de l'AChE entre les mois pour le site d'Annaba (Saint-Cloud) en dix groupes durant l'année 2013 (Figure 92).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé montre une différence très hautement significative entre les mois d'étude au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) avec une valeur de $p < 0,001$ (Tableau 79).

Tableau 79. ANOVA à un seul facteur contrôlé de l'activité enzymatique de l'AChE chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	759,63	69,06	21,41	0,000***
Résiduelle	24	77,40	3,22		
Totale	35	837,03			

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

En outre, chez les femelles récoltées du site de Skikda (Stora), l'activité enzymatique de l'AChE varie entre une valeur moyenne maximale enregistrée au mois d'Avril ($27,38 \pm 1,81$ nM/mn/mg de protéines) et une valeur moyenne minimale au mois d'Août ($11,54 \pm 2,04$ nM/mn/mg de protéines) (Figure 93).

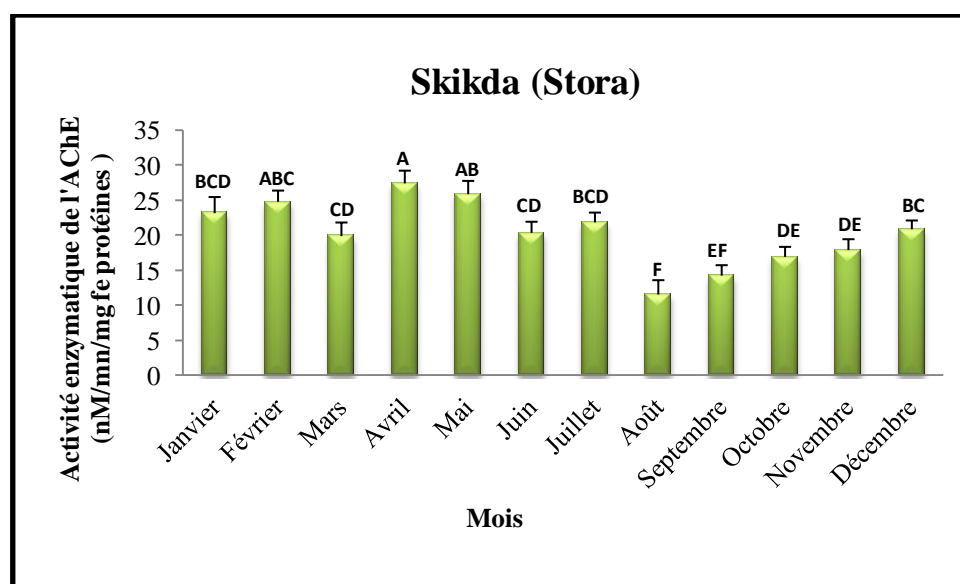


Figure 93. Variations mensuelles de l'activité enzymatique de l'AChE (nM/mn/mg de protéines) chez les femelles du site de Skikda (Stora) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012. (classification de Tukey); ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations de l'activité enzymatique de l'AChE entre les mois pour le site de Skikda (Stora) en neuf groupes durant l'année 2013 (Figure 93).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé indique une différence très hautement significative entre les mois d'étude au niveau du site de Skikda (Stora) avec une valeur de ($p < 0,001$) (Tableau 80).

Tableau 80. ANOVA à un seul facteur contrôlé de l'activité enzymatique de l'AcHe chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	707,92	64,36	21,83	0,000***
Résiduelle	24	70,75	2,95		
Totale	35	778,67			

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

L'analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois) réalisée sur les données relatives aux trois sites révèle un effet site et mois très hautement significatifs ($p < 0,001$) et une interaction site/mois très significative ($p < 0,05$) (Tableau 81)

Tableau 81. ANOVA à deux facteurs contrôlés de l'activité enzymatique de l'AcHe chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau des trois sites d'étude durant la période allant de Janvier à Décembre 2012.

Source de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Mois	11	1051,07	525,97	172,06	0,000***
Site	2	2436,17	221,47	72,48	0,000***
Interaction stations/mois	22	127,16	5,78	1,48	0,023*
Erreur résiduelle	72	220,01	3,06		
Totale	107				

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

3.5.4.2. Dosage de l'activité enzymatique de la GST

Les variations mensuelles de l'activité enzymatique de la GST dans les trois sites étudiés montrent une augmentation (stimulation) de l'activité de la GST au niveau des deux sites de Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora), par rapport au site d'El-Kala (El-Mordjène). L'augmentation la plus importante a été enregistrée au mois d'Avril atteignant $11,82 \pm 0,65$ $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines au niveau du site de Skikda (Stora), et $9,15 \pm 0,71$ $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud), alors que la valeur la plus faible a été détectée au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) au mois d'Août avec $2,81 \pm 0,55$ $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines.

L'analyse de la variance montre une différence hautement significative entre les sites pendant les mois d'Avril, Mai, Juin, Septembre, Octobre et Novembre. Le test de Tukey classe les sites en deux groupes ; le groupe A renferme les deux sites de Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) où l'activité de la GST est la plus élevée, le groupe B correspond au le site d'El-Kala (El-Mordjène) et qui présente les valeurs les plus faibles dans notre étude.

Une différence très significative entre les sites pendant les mois de Janvier, Août et Décembre a été enregistrée, et le test de Tukey a permis de classer les sites en trois groupes, le groupe A renferme le site de Skikda (Stora), le groupe AB renferme le site d'Annaba (Saint-Cloud), et le groupe B renferme le site d'El-Kala (El-Mordjène), aucune différence enregistrée entre les sites pendant les mois de Février, Mars et Juillet (Tableau 82).

Tableau 82. Activité enzymatique de la GST chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées à partir des sites d'étude durant la période allant de Janvier à Décembre 2012, avec l'ANOVA à un seul facteur contrôlé, et classification de Tukey des sites pour chaque mois ($m \pm s$, $n = 5$).

Site \ Mois	El-Kala	Annaba	Skikda	P
Janvier	5,20±1,10 B	6,28±1,02 AB	8,34±1,22 A	0,036*
Février	6,58±1,05 A	7,21±1,21 A	8,87±1,38 A	0,139NS
Mars	6,94±0,42 A	7,91±1,14 A	9,43±1,29 A	0,065NS
Avril	8,78±0,69 B	9,15±0,71 A	11,82±0,65 A	0,003**
Mai	7,90±0,62 B	8,31±0,75 A	10,72±0,80 A	0,007**
Juin	4,17±1,09 B	3,73±0,68 A	7,64±0,88 A	0,010**
Juillet	5,80±0,65 A	6,88±0,59 A	7,10±0,97 A	0,161NS
Août	2,81±0,55 B	3,23±0,60 AB	4,37±0,61 A	0,043*
Septembre	3,25±0,90 B	5,69±0,77 A	5,80±0,61 A	0,011**
Octobre	3,84±0,51 B	4,74±0,69 A	6,95±0,57 A	0,002**
Novembre	4,39±0,75 B	4,94±0,87 A	7,08±0,81 A	0,011**
Décembre	4,70±0,88 B	6,72±0,91 AB	7,59±1,24 A	0,034*

P : seuil de signification ; non significatif ($P > 0,05$) ; * très significatif ($P < 0,05$) ; ** hautement significatif ($P < 0,01$) ; *** très hautement significatif ($P < 0,001$)

Les variations mensuelles de l'activité enzymatique de la GST varient progressivement depuis le mois de Février jusqu'au mois d'Avril où il a été enregistré une des valeurs moyennes les plus élevées avec $8,78 \pm 0,69 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) et $11,82 \pm 0,65 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines au niveau du site de Skikda (Stora), les valeurs diminuent progressivement depuis le mois de Mai jusqu'au mois d'Août avec $2,81 \pm 0,55 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines à El-Kala (El-Mordjène) et $3,23 \pm 0,60 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines à Annaba (Saint-Cloud) et $4,37 \pm 0,61 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines à Skikda (Stora) (Figure94).

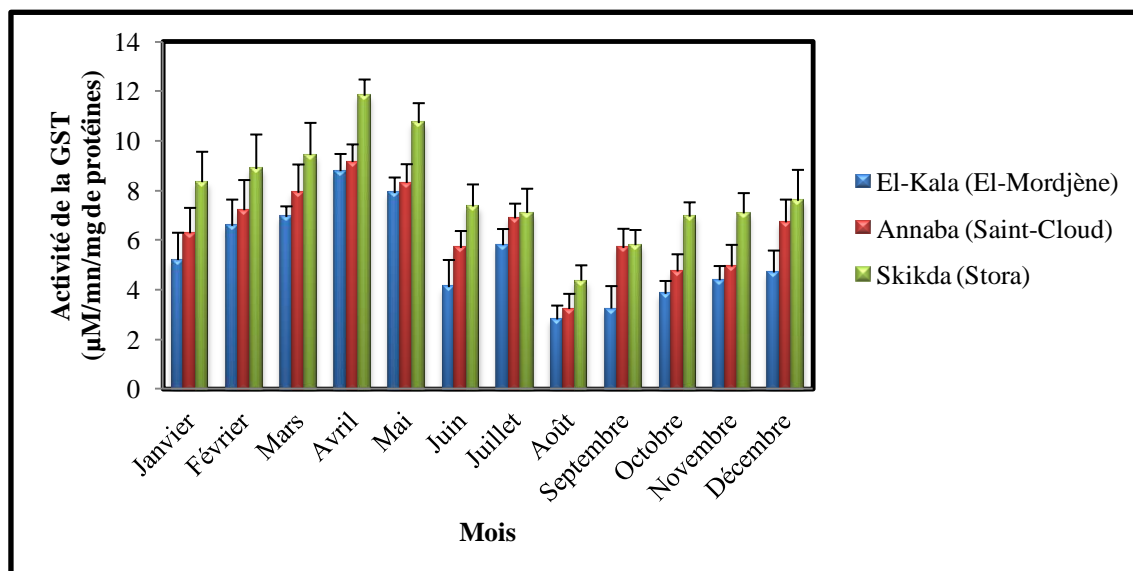


Figure 94. Variations mensuelles de l'activité enzymatique de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau des trois sites d'étude durant la période allant de Janvier à Décembre 2012 chez les femelles de *P. cultrifera* ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey montre qu'il existe des variations importantes entre les valeurs moyennes de l'activité de la GST au cours de l'année au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène), où les douze mois d'étude sont regroupés dans onze classes, avec une valeur maximale de $8,78 \pm 0,69 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines enregistrée au mois d'Avril, une valeur minimale de $2,81 \pm 0,55 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines observée au mois d'Août (Figure 95).

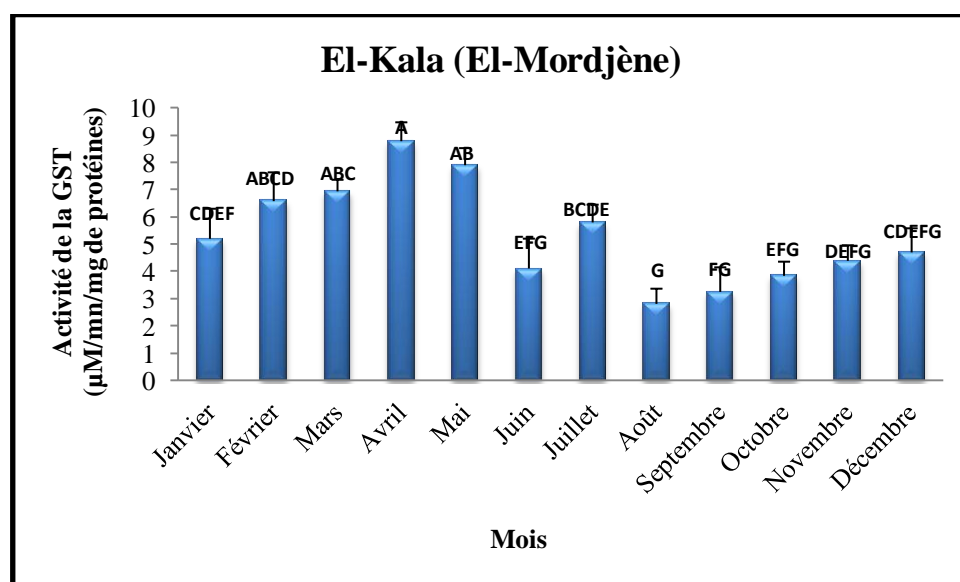


Figure 95. Variations mensuelles de l'activité enzymatique de la GST ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les femelles du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012, avec la classification de Tukey ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations de l'activité enzymatique de la GST entre les mois pour le site d'El-Kala (El-Mordjène) en douze groupes durant l'année 2013 (Figure 95).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé affiche une différence très hautement significative entre les mois étudiés au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène), avec ($p < 0,001$) (Tableau 83).

Tableau 83. ANOVA à un seul facteur contrôlé de l'activité enzymatique de la GST chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	115,09	10,46	16,73	0,000***
Résiduelle	24	15,00	0,62		
Totale	35	130,09			

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

En outre, chez les femelles récoltées au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud), l'activité de la GST varie d'un mois à l'autre atteignant une valeur maximale au mois d'Avril avec $9,15 \pm 0,71 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines, et une valeur minimale enregistrée au mois d'Août $3,23 \pm 0,60 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines. Le test de Tukey montre des fluctuations importantes entre les mois au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) qui nous permet de classer les douze mois d'étude en huit groupes (Figure 96).

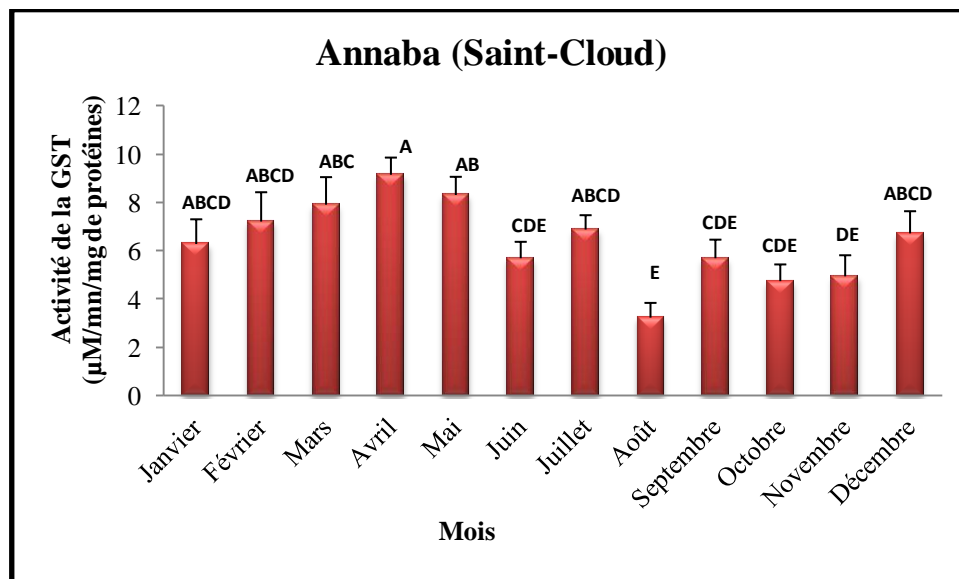


Figure 96. Variations mensuelles de l'activité enzymatique de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) chez les femelles du site d'Annaba (Saint-Cloud) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012, avec la classification de Tukey ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations de l'activité enzymatique de la GST entre les mois pour le site d'Annaba (Saint-Cloud) en neuf groupes durant l'année 2013 (Figure 96).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé indique qu'il existe une différence très hautement significative entre les mois étudiés au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) avec ($p < 0,001$) (Tableau 84).

Tableau 84. ANOVA à un seul facteur contrôlé de l'activité enzymatique de la GST chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) . durant la période allant de Janvier à Décembre 2012.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	137,99	12,54	13,42	0,000***
Résiduelle	24	22,43	0,93		
Totale	35	160.43			

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

Cependant, chez les femelles récoltées au niveau du site de Skikda (Stora), l'activité de la GST varie d'un mois à l'autre atteignant une valeur maximale au mois d'Avril avec ($11,82 \pm 0,65 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines), et une valeur minimale enregistrée au mois d'Août ($4,37 \pm 0,61 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines). Le test de Tukey montre une variation importante entre les mois, qui nous permet de classer les douze mois d'étude en neuf groupes (Figure 97).

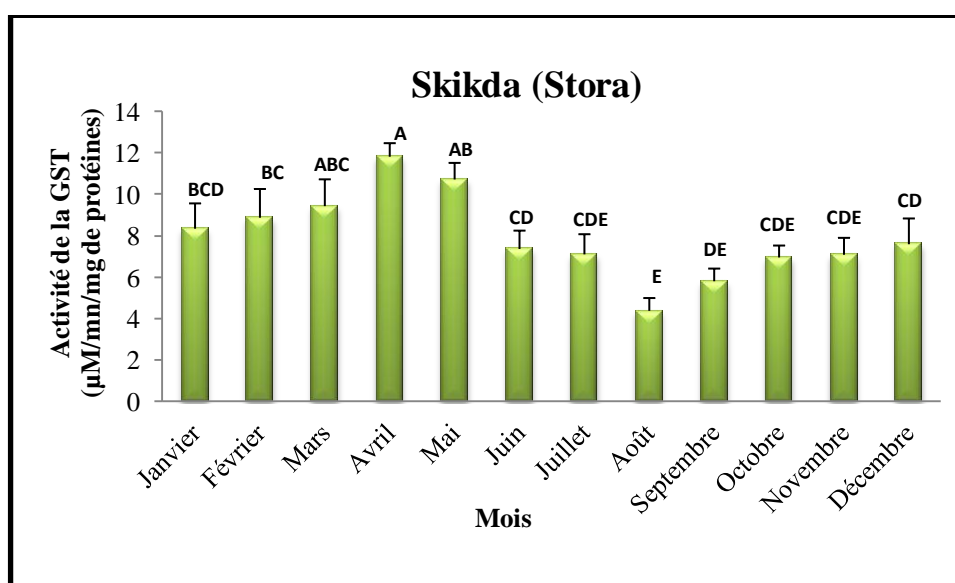


Figure 97. Variations mensuelles de l'activité enzymatique de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) chez les femelles du site de Skikda (Stora) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012 et classification de Tukey ($m \pm s$, $n = 5$).

Le test de Tukey a classé les variations de l'activité enzymatique de la GST entre les mois pour le site de Skikda (Stora) en neuf groupes durant l'année 2013 (Figure 97).

L'ANOVA à un seul facteur contrôlé montre une différence très hautement significative entre les mois étudiés au niveau du site de Skikda (Stora) avec $p < 0,001$ (tableau 85).

Tableau 85. ANOVA à un seul facteur contrôlé de l'activité enzymatique de la GST chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau du site de Skikda (Stora) durant la période allant de Janvier à Décembre 2012.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Factorielle	11	91,22	8,29	11,36	0,000***
Résiduelle	24	17,51	0,73		
Totale	35	108,74			

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

L'analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois) réalisée sur les données relatives au niveau des trois sites révèle un effet site et mois très hautement significatifs et une interaction site/mois non significative (Tableau 86).

Tableau 86. ANOVA à deux facteurs contrôlés de l'activité enzymatique de la GST chez les femelles de *P. cultrifera* au niveau des trois sites d'étude durant la période allant de Janvier à Décembre 2012.

Source de variation	DDL	SCE	CM	F obs.	P
Mois	11	124,55	62,28	81,58	0,000***
Site	2	327,27	29,75	38,97	0,000***
Interaction stations/mois	22	17,04	0,77	1,01	0,459NS
Erreur résiduelle	72	54,96	0,76		
Totale	107				

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

3.5.5. Analyse histologique

3.5.5.1. Interprétation de la structure ovocytaire chez les femelles récoltées à partir des trois sites d'étude

Les coupes histologiques réalisées au niveau de la partie médiane du corps des femelles matures montrent que l'ovogenèse est asynchrone où les ovocytes baignant dans le liquide cœlomique se trouvent aux différents stades de vitéllogénèse, ces cellules sont entourées par

d'autres cellules de plus petite taille appelées cœlomocytes et plus précisément les éléocytes dont le rôle est primordialement nourricier. Les ovocytes provenant des trois sites d'étude sont à un stade avancé de la vitéllogénèse et sont de forme sphérique entourées d'une fine membrane appelée membrane vitelline.

La comparaison de la structure des ovocytes issus des trois sites d'étude montre que ceux des femelles récoltées à partir du site d'El-Kala (El-Mordjène) présentent une activité vitellogénique intense grâce à la présence de globules vitellins très denses et bien colorés concentrés surtout à la périphérie de la membrane vitelline et répartis également sur toute la surface cytoplasmique entourant le noyau qui apparaît volumineux témoignant d'une intense activité nucléaire, le nucléole est également bien apparent dans certains ovocytes. Ces ovocytes sont prêts à faire rompre le tégument afin d'être libérés (épitoquie) se préparant à la fécondation.

En revanche, les ovocytes issus des femelles matures provenant du site pollué d'Annaba (Saint-Cloud) sont légèrement de plus faible diamètre et les signes de la vitéllogénèse active sont de faible intensité car les globules vitellins sont moins fréquents et moins concentrés à la périphérie et répartis moins uniformément au niveau de la masse cytoplasmique ; la membrane vitelline est fine et le noyau en plus du nucléole sont moins volumineux témoignant d'une activité plus ralentie.

Cependant, les mêmes constatations ont été observées concernant les ovocytes issus des femelles matures provenant du deuxième site pollué Skikda (Stora) sont aussi de plus faible diamètre comparativement aux deux sites El-Kala (El-Mordjène) et Annaba (Saint-Cloud) et les signes de la vitéllogénèse active sont de faible intensité ; la membrane vitelline est légèrement plus fine et le noyau en plus du nucléole sont moins volumineux. Ces observations confirment les résultats biométriques et biochimiques où l'apport des matériaux de construction ovocytaires dosés sont plus faibles au niveau des ovocytes provenant du site affecté par la pollution, par ailleurs, la somme des résultats obtenus sur le plan histologique nous ont permis de constater que la croissance ovocyttaire et par où la vitéllogénèse ont été sensiblement perturbées.

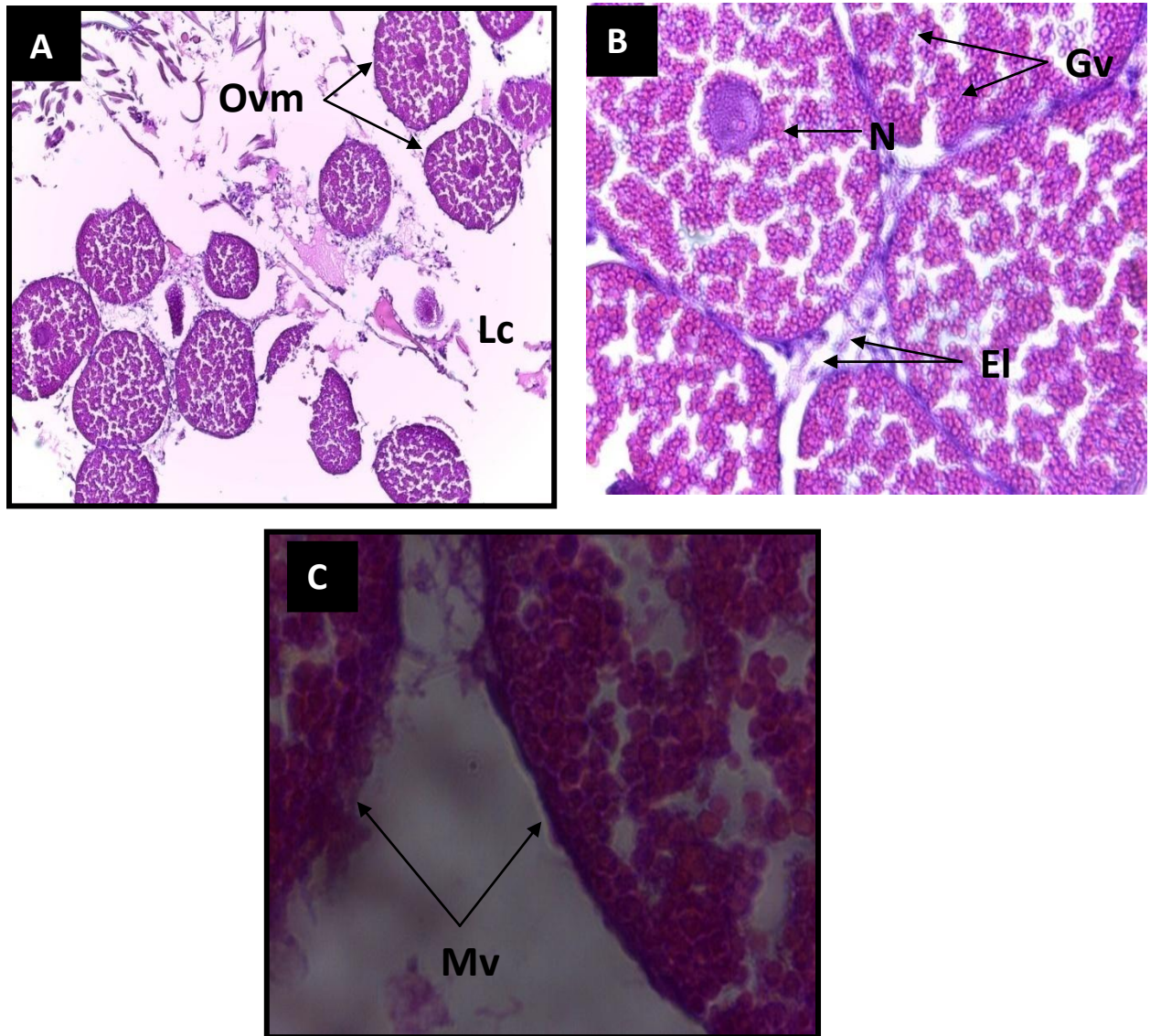


Figure 98. Coupe histologique d'une Ponction cœlomique chez *P. cultrifera* provenant d'El-Kala (El-Mordjène) montrant : Ovocytes en maturation (mode de développement asynchrone) (A), GR×150 ; des ovocytes matures (B), GR×600 ; la périphérie de l'ovocyte mature montrant la membrane vitelline (C), GR×1500.

Abréviations : *Lc* : *Liquide cœlomique*, *Ovm* : *Ovocyte mature*, *Gv* : *Globules vitellins*, *N* : *Noyau*, *Mv* : *Membrane Vitelline*, *El* : *Eléocytes*.

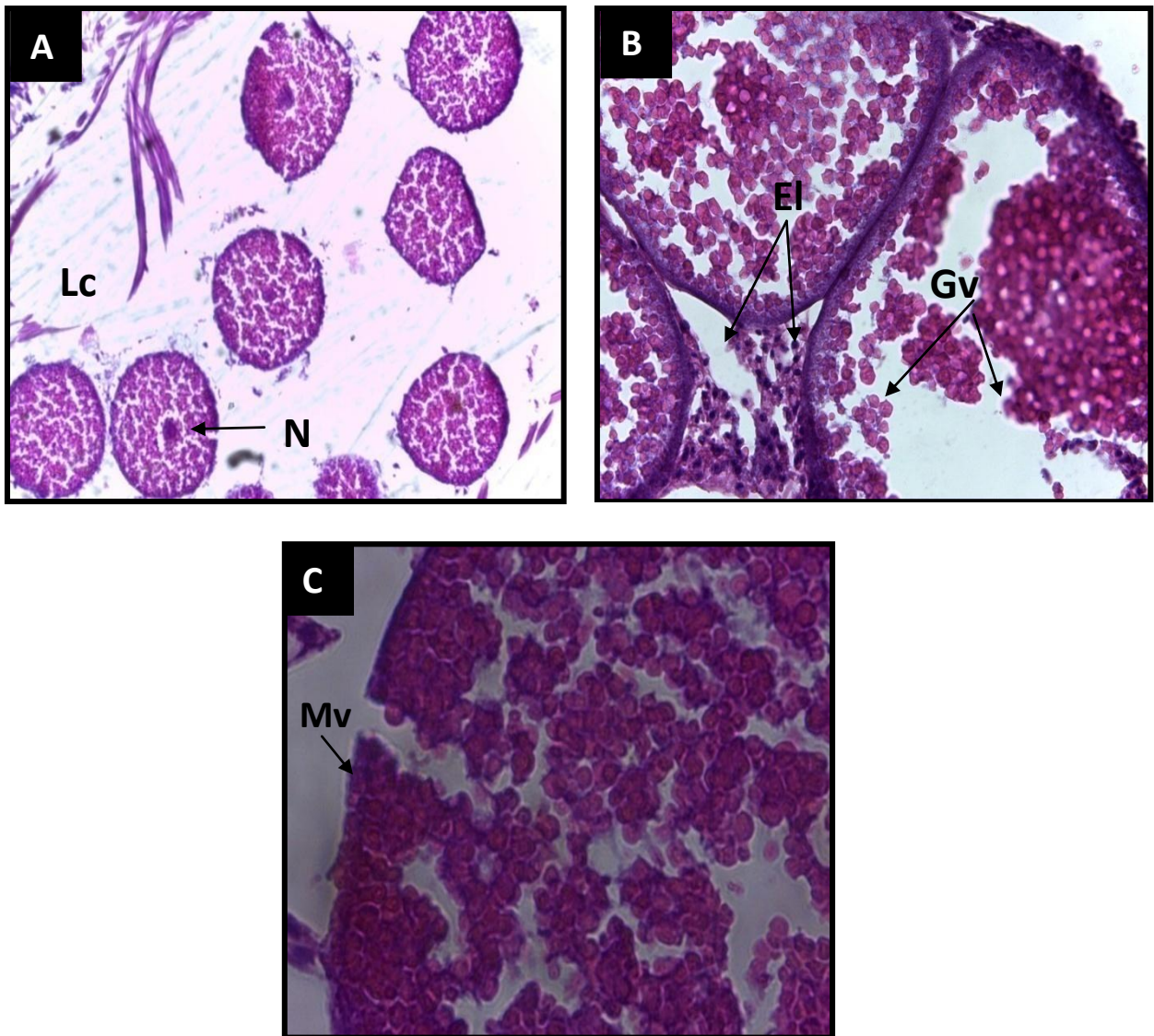


Figure 99. Coupe histologique d'une Ponction cœlomique chez *P. cultrifera* provenant d'Annaba (Saint-Cloud) montrant : Ovocytes en maturation (A), GR×150 ; un ovocyte mature (B), GRx600 ; la périphérie de l'ovocyte mature montrant la membrane vitelline (C), GR×600

Abréviations : *Lc* : *Liquide cœlomique*, *Ovm* : *Ovocyte mature*, *Gv* : *Globules vitellins*, *N* : *Noyau*, *Mv* : *Membrane Vitelline*, *El* : *Eléocytes*.

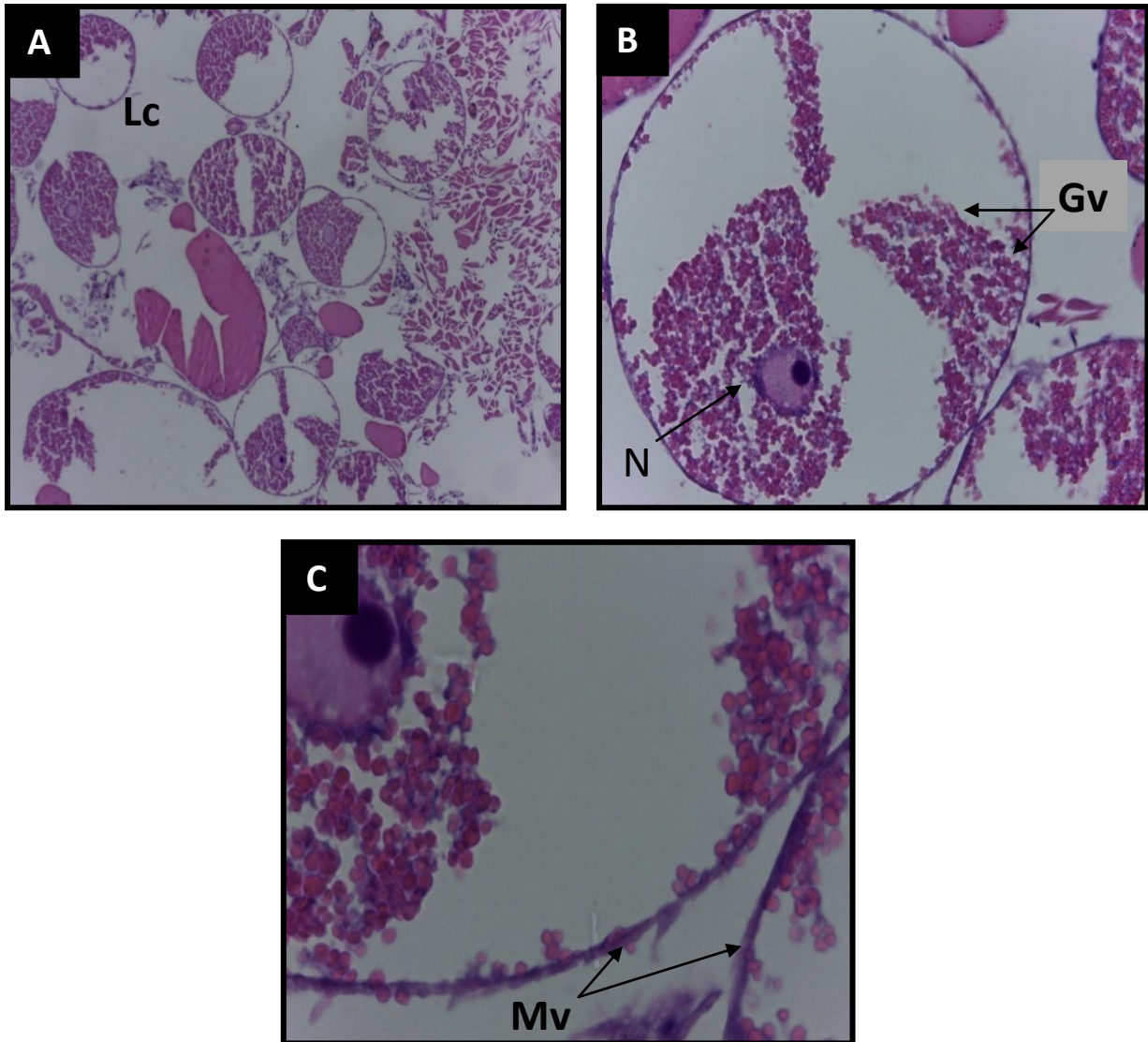


Figure 100. Coupe histologique d'une Ponction cœlomique chez *P. cultrifera* provenant de Skikda (Stora) montrant : Ovocytes en maturation (A), GR×150 ; un ovocyte mature (B), GR×600 ; la périphérie de l'ovocyte mature montrant la membrane vitelline (C), GR×600.

Abréviations : *Lc* : *Liquide cœlomique*, *Ovm* : *Ovocyte mature*, *Gv* : *Globules vitellins*, *N* : *Noyau*, *Mv* : *Membrane Vitelline*, *El* : *Eléocytes*.

3.5.5.2. Étude des paramètres morphométriques de l'ovocyte mature

Tableau 87. Variations des paramètres morphométriques (diamètre ovocytaires, Epaisseur de la membrane vitelline et diamètre du noyau) des ovocytes matures des femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude : El Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) ou cours de la période de Reproduction après une étude histologique.

Site \ Paramètre	Diamètre ovocyttaire (µm)	Epaisseur de la membrane vitelline (µm)	Diamètre du noyau (µm)
El-Kala	252,01±11,86 A	02,19±0,30 A	48,45±3,49 A
Annaba	231,36±09,97 AB	02,04±0,14 AB	40,77±2,03 B
Skikda	206,96±10,54 B	01,56±0,13 B	35,82±2,47 B
P	0,007**	0,025*	0,004**

P : seuil de signification ; non significatif (P>0,05) ; * très significatif (P<0,05) ; ** hautement significatif (P<0,01) ; *** très hautement significatif (P<0,001),

3.5.5.2.1. Evaluation du diamètre ovocytaires (µm) chez *P. cultrifera*

L'évolution du diamètre ovocyttaire moyen des femelles de *P. cultrifera* pendant la période de reproduction est représentée par la figure 101. Nous notons que Les individus récoltés au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) présentent une moyenne maximale de l'ordre de 252,01±11,86 µm ; par contre, les individus récoltés au niveau du site de Skikda (Stora) présentent une moyenne minimale de l'ordre de 206,96±10,54 µm. Cependant, Les individus récoltés au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) affichent une moyenne intermédiaire de l'ordre de 231.36±9.97 µm.

L'analyse de la variance ANOVA à un seul facteur contrôlé indique qu'il ya une différence hautement significative entre les ovocytes (diamètre ovocyttaire) au niveau des trois sites d'étude (P<0,01). Le test de Tukey a permis de classer les sites étudié en trois classes: la classe A regroupe le site d'El-Kala (El-Mordjène), la classe AB regroupe le site d'Annaba (Saint-Cloud) et la classe B regroupe le site de Skikda (Stora) qui présente les diamètres les plus faibles (Tableau 87).

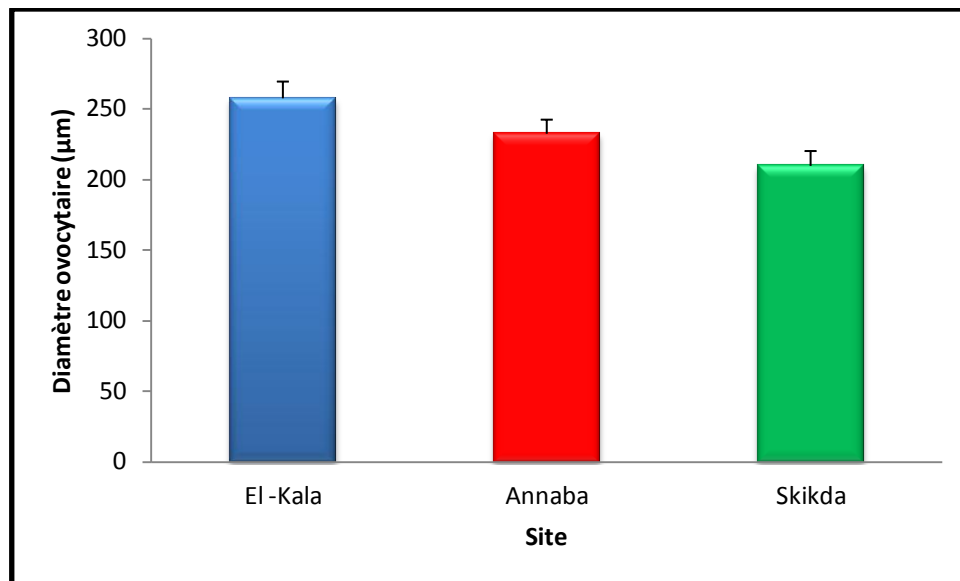


Figure 101. Variations du diamètre ovocytaire (μm) des ovocytes matures des femelles *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude : El Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) ou cours de la période de reproduction après une étude histologique.

3.5.5.2.2. Evaluation de l'épaisseur de la membrane vitelline (μm) de l'ovocyte mature chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude

Par ailleurs, les variations de l'épaisseur de la membrane vitelline (μm) des ovocytes matures des femelles *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude : El Kala, (El-Mordjène) Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) ou cours de la période de reproduction après une étude histologique montrent une moyenne maximale chez les individus récoltés au niveau du site d'El Kala (El-Mordjène) avec $2.19 \pm 0.30 \mu\text{m}$, suivie par les individus des deux sites d'Annaba et de Skikda respectivement avec $2.04 \pm 0.14 \mu\text{m}$ et $1.56 \pm 0.13 \mu\text{m}$.

L'analyse de la variance ANOVA à un seul facteur contrôlé indique qu'il y a une différence très significative ($P < 0,05$) entre l'épaisseur de la membrane vitelline (μm) des ovocytes matures des femelles *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude : El Kala, (El-Mordjène) Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora). Le test de Tukey a permis de classer les sites étudiés en trois classes : la classe A regroupe le site El Kala (El-Mordjène), la classe AB regroupe le site d'Annaba (Saint-Cloud) et la classe B regroupe le site de Skikda (Stora) qui présente les épaisseurs membranaires les plus faibles. (Tableau 87).

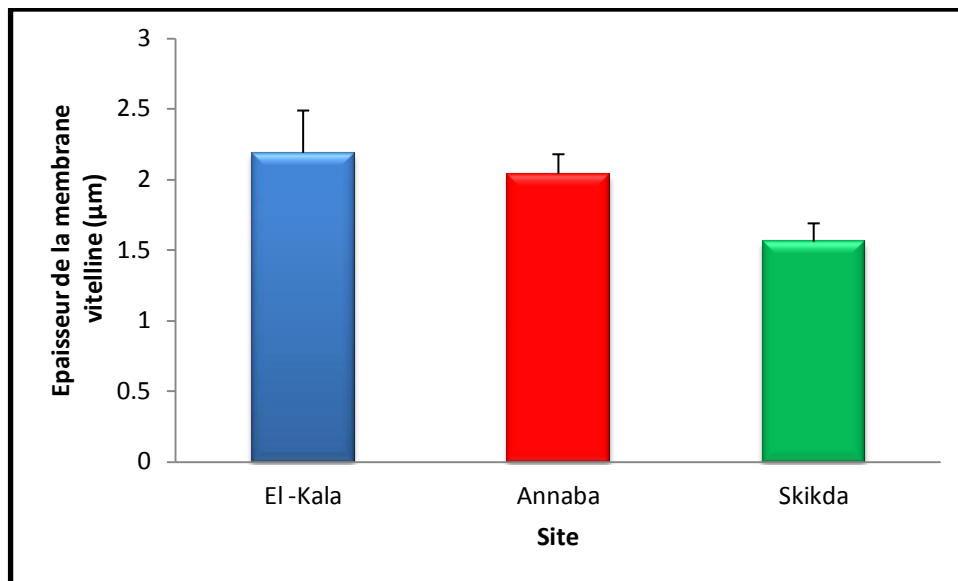


Figure 102. Variations de l'épaisseur de la membrane vitelline (μm) des ovocytes matures des femelles *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude : El-Kala, Annaba, et Skikda ou cours de la période de reproduction après une étude histologique.

3.5.5.2.3. Evaluation du diamètre du noyau (μm) chez *P. cultrifera*

En outre, Les mêmes observations ont été enregistrées concernant les variations du diamètre du noyau (μm) des ovocytes matures des femelles *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude : El Kala, Annaba, et Skikda ou cours de la période de reproduction après une étude histologique ou les individus récoltés au niveau du site d'El Kala (El-Mordjène) présentent une moyenne maximale de $48,45 \pm 3,49 \mu\text{m}$, suivie par celle des deux sites d'Annaba (Saint-Cloud) et de Skikda (Stora) avec $40,77 \pm 2,03 \mu\text{m}$ et $35,82 \pm 2,47 \mu\text{m}$ respectivement.

L'analyse de la variance ANOVA à un seul facteur contrôlé montre qu'il existe une différence hautement significative ($P < 0,01$) entre le diamètre du noyau (μm) des ovocytes matures des femelles *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites d'étude El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora). Le test de Tukey a permis de classer les sites étudiés en deux classes : la classe A regroupe le site d' El-Kala (El-Mordjène) et la classe B regroupe les deux sites d'Annaba (Saint-Cloud) et de Skikda (Stora) (Tableau 87).

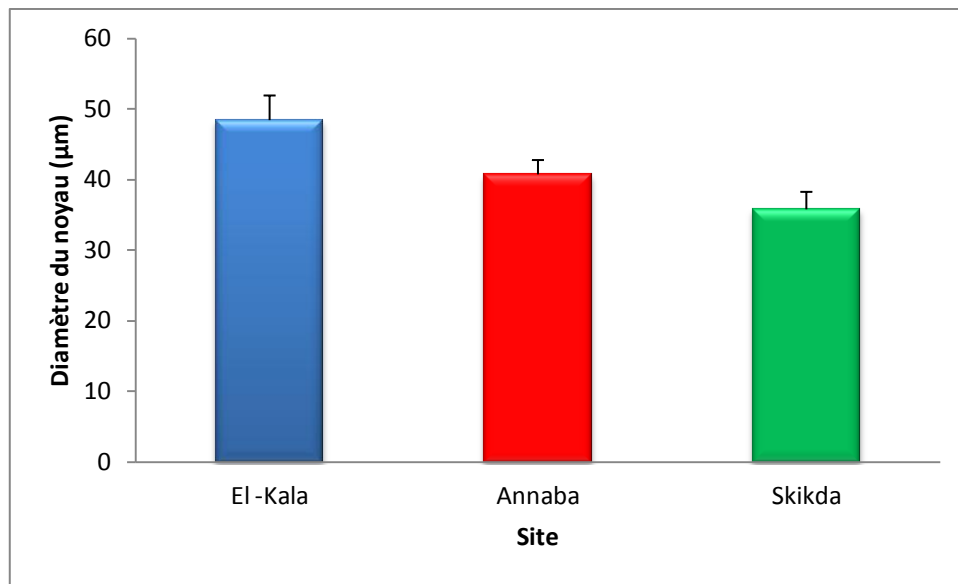


Figure 103. Variations du diamètre du noyau (μm) des ovocytes matures des femelles *P. cultrifera* récoltées au niveau des trois sites : d'El-Kala (El-Mordjène), Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) ou cours de la période de reproduction après une étude histologique.

3.5.6. Analyse Immunogénétique du complexe d'espèces jumelles de *P. cultrifera*

3.5.6.1. Alignement des séquences *cyt-b*

Les séquences du *cyt-b* de 82 individus ont été amplifiées par PCR et séquencées, une fois récupérées, les séquences ont été nettoyées et alignées à l'aide du logiciel Codoncode aligner (v 5,0,2) licence disponible au niveau du laboratoire Génétique et Evolution des Populations Végétales (GEPV) de l'université des sciences et technologies de Lille 1 (France). La figure 104 représente une partie de l'alignement du *cyt-b*.

PC123-cytb-C5*	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
Sk-PC169	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
An-PC122	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
Sk-PC171	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
SP-PC49	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
Sk-PC170	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
Sk-PC172	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
Sk-PC173	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
<< SA-PC2	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
SA-PC5	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
<< SP-PC44	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
SP-PC46	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
<< SP-PC42	AATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
SP-PC50	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
Ro-PC63	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
SP-PC51	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
PC78-cytb-B4*	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
PC79-cytb-C4*	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
Ro-PC59	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
EK-PC82	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
PC58-cytb-B3*	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
PC65-cytb-F3*	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
EK-PC81	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
CtyComparison3:	TGGAAATAAAAATTTTCAGCGTCTCCTAAAAATATTAGGGAAAAAATAATGCCATAAAATTTAGAGATATTAATAATACTGTAAACCAACCATGCTTTTGAATGTGTGATATA
	1 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100

Figure 104. Alignement des séquences *cyt-b* amplifiées par PCR et après Séquençage.

Le tableau 88 représente l'insertion d'autres groupes du genre *Perinereis* en plus de *P. cultrifera* dont la distribution géographique est au niveau de l'Atlantique nord, Baltique, Méditerranée, Afrique du Sud, et Madagascar, nous avons intégré *P. rulieri* qui provient de l'Atlantique nord, Baltique et Méditerranée ainsi que *P. marionii* qui se trouve dans les côtes UK et en Méditerranée et enfin, *P. aibuhitensis* qui se trouve en Asie à l'arbre phylogénétique précédemment créé. Les résultats obtenus montrent que ces espèces proches à l'exemple de *P. rulieri* se regroupent avec certains taxons de *P. cultrifera* de notre échantillonnage, et que *P. marionii* avec celui de *P. aibuhitensis*, ce qui nous laisse supposer deux hypothèses possibles : soit nos échantillons contiennent des espèces cryptiques, soit il y a partage d'haplotypes mitochondriaux entre les espèces (Figure 105).

Tableau 88. Ajout des autres groupes du genre *Perinereis*.

	Distribution géographiques
<i>P. cultrifera</i>	Atlantique nord, Baltique, Méditerranée, Afrique du Sud, Madagascar
<i>P. rulieri</i>	Atlantique nord, Baltique, Méditerranée
<i>P. marionii</i>	Côtes UK, Méditerranée
<i>P. aibuhitensis</i>	Asie

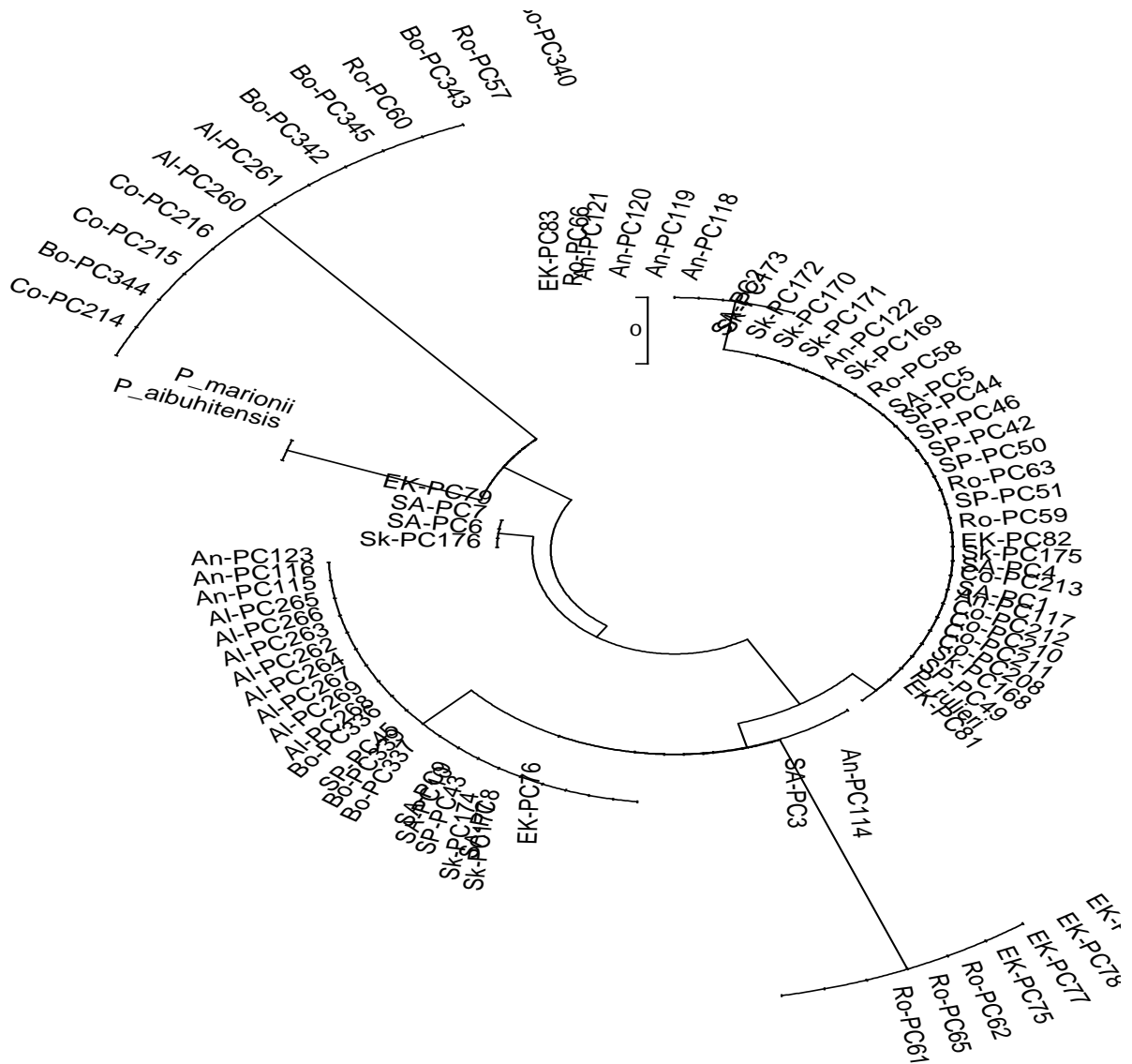


Figure 105. Arbre phylogénétique basé sur les séquences de Cyt-*b* isolées chez *P. cultrifera* des 9 populations avec l’ajout des autres groupes.

3.5.6.2. Comparaison des caractéristiques immunologiques chez *Perinereis cultrifera* et *Nereis diversicolor* (Annélide polychètes) du littoral Est-algérien et des côtes de la manche française :

Chez les Annélides polychètes, les cellules ceolomiques responsables des mécanismes de défense cellulaire semblent être représentées essentiellement par les granulocytes, ces cellules assurent la fonction phagocytaire.

3.5.6.2.1. Observation des cellules immunitaires

1) Au niveau du littoral Est-algérien

Les colorations au rouge neutre du frottis coelomiques chez *P. cultrifera* et *Nereis diversicolor* au niveau des deux sites d’étude : El-Kala (El-Mordjène) et Annaba (Saint-

Cloud) ont permis l'observation au microscope photonique qui révèle la présence de trois types de cœlomocytes chez les individus des deux espèces récoltées au niveau de ces deux sites cités.

a) Coloration au rouge neutre

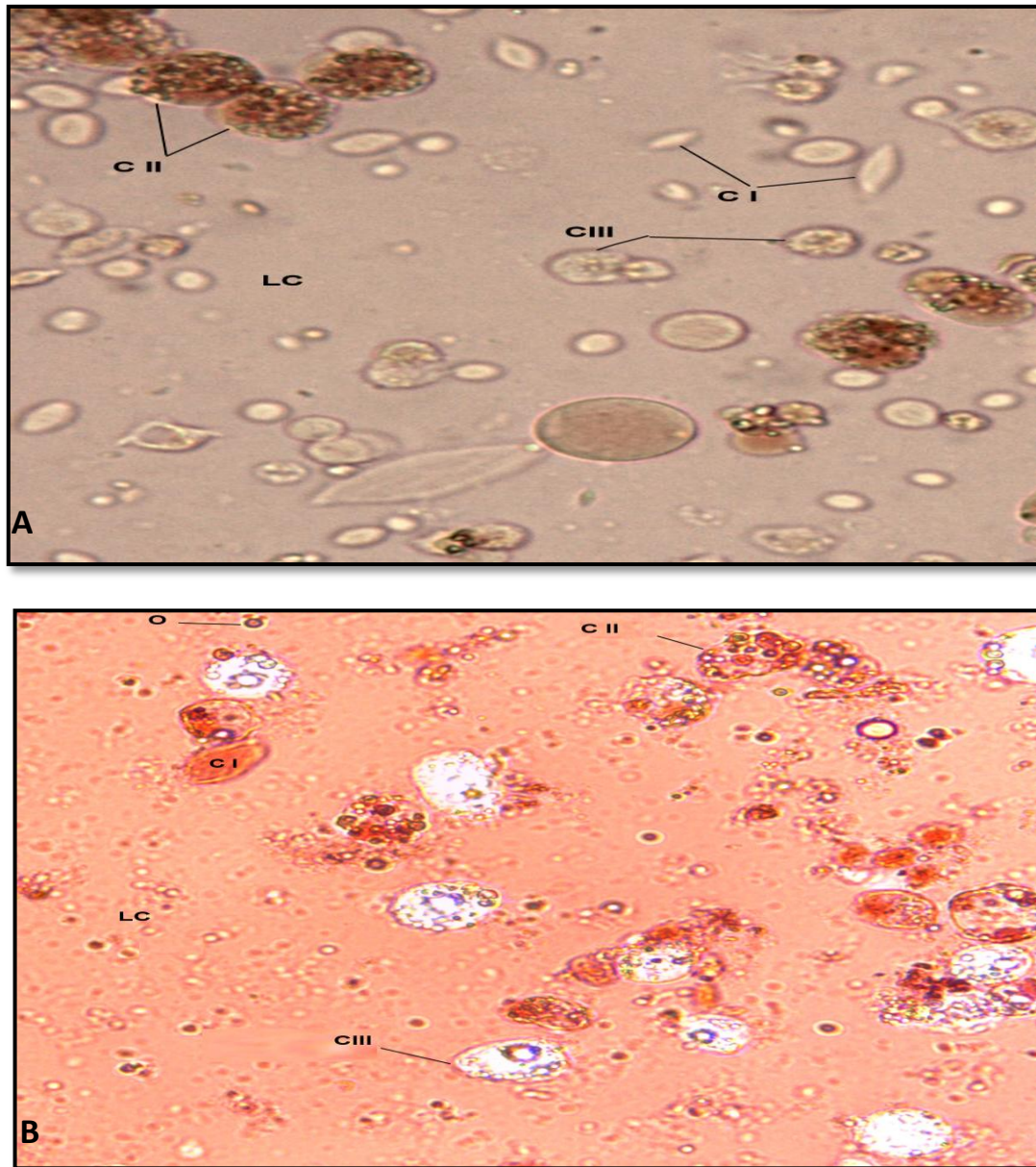


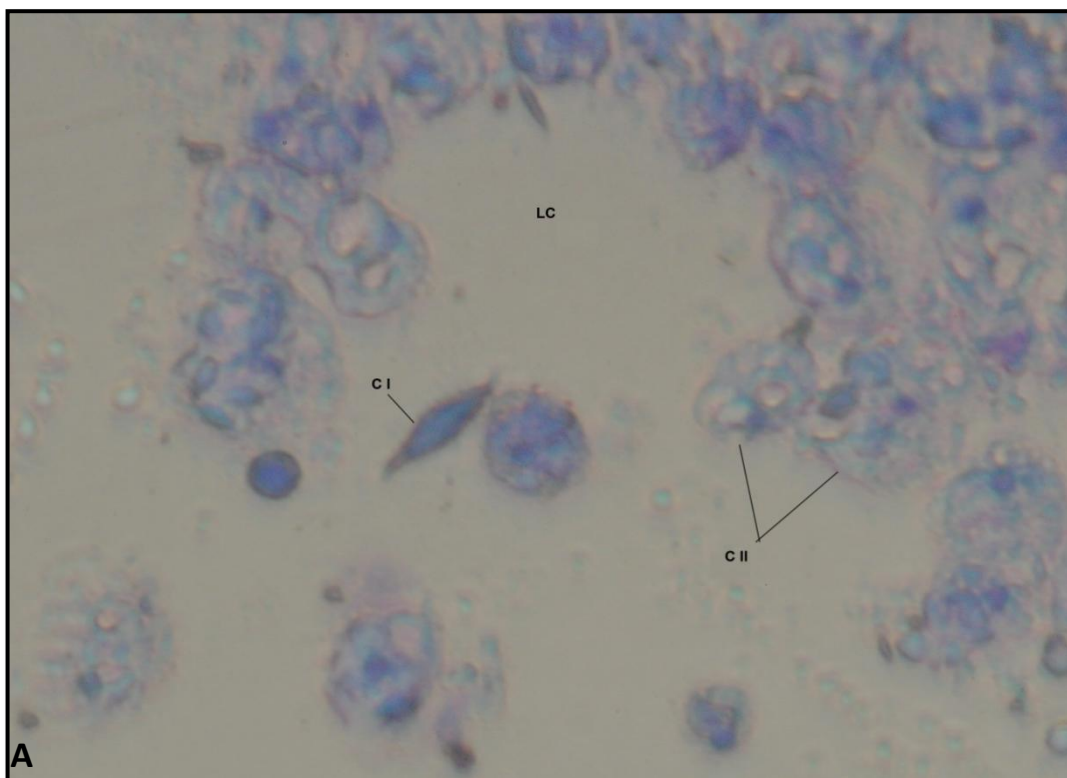
Figure 106. Coloration au rouge neutre des cœlomocytes de *P. cultrifera* au niveau des sites d'étude, El-Kala (El-Mordjène) , A, Annaba (Saint-Cloud) , B.. (C I: Cœlomocyte type I, C II : Cœlomocyte type II, C III : Cœlomocyte type III, LC : Liquide Cœlomique, O: Ovocyte) ($\times 600$).

Les cœlomocytes repérées au niveau du liquide cœlomique des individus des deux espèces sont celles de type I, de type II, et de type III. Seul les cœlomocytes de type I sont absentes chez les individus de *P. cultrifera* récoltés au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud).



Figure 107. Coloration au rouge neutre du cœlome chez *N. diversicolor* (C I: Cœlomocyte type I, C II: Cœlomocyte type II, C III: Cœlomocyte type III, LC: Liquide Cœlomique,) ($\times 600$).

b) Coloration par frottis sanguin



A

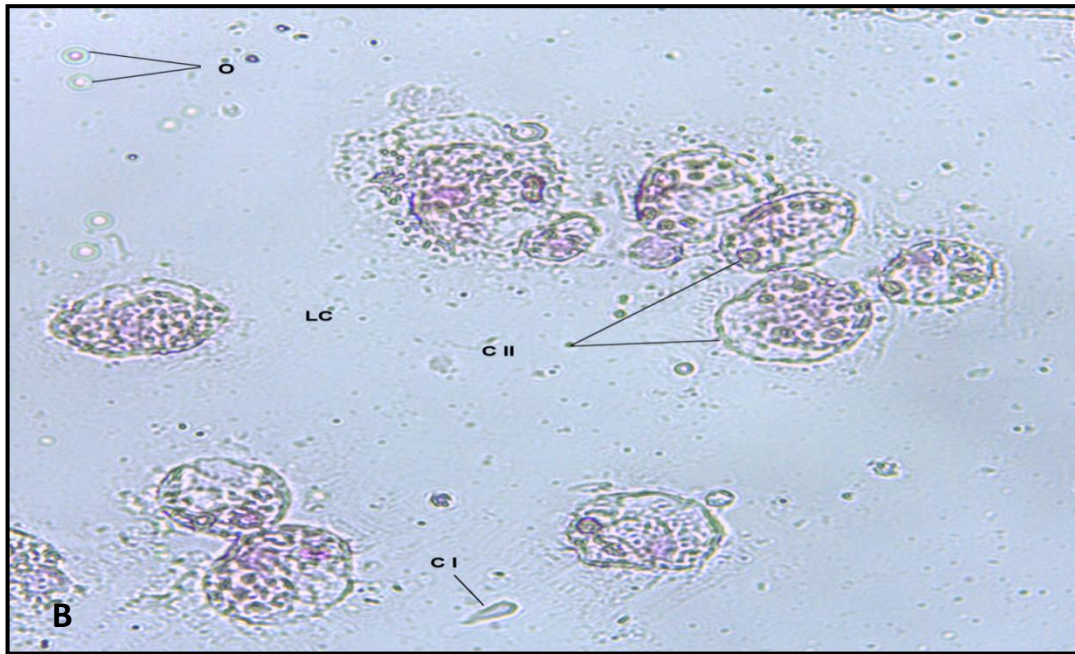


Figure 108. Coloration par frottis sanguin chez *P. cultrifera* au niveau des sites d'étude, El-Kala (El-Mordjène), A, Annaba (Saint-Cloud), B. (C I: Coelomocyte type I, C II: Coelomocyte type II, C III: Coelomocyte type III, LC: Liquide Cœlomique) ($\times 600$).

Le frottis sanguin a révélé deux types de cœlomocytes au niveau du liquide cœlomique des individus de *P. cultrifera* qui sont celles de type I, et de type II au niveau des deux sites. Les cœlomocytes de type III sont absentes chez les individus de *P. cultrifera* au niveau des deux sites.

2) Au niveau de la manche française

Les observations au microscope photonique des cœlomocytes chez *Nereis diversicolor* révèlent la présence des deux groupes : éléocytes et granulocytes.

a) Les éléocytes : cellules adhérentes et très polymorphes. Ce sont des cellules de très grande taille mesurant en moyenne $30\mu\text{m}$ de diamètre sur le vivant. Elles apparaissent bourrées d'inclusions colorées en jaune qui correspondent aux gouttelettes lipidiques et possèdent un petit noyau central ; par ailleurs, on observe des phagosomes contenant des sarcolytes, ce sont des véritables cellules phagocytaires qui apparaissent immobiles lors de l'observation (Figure 109).

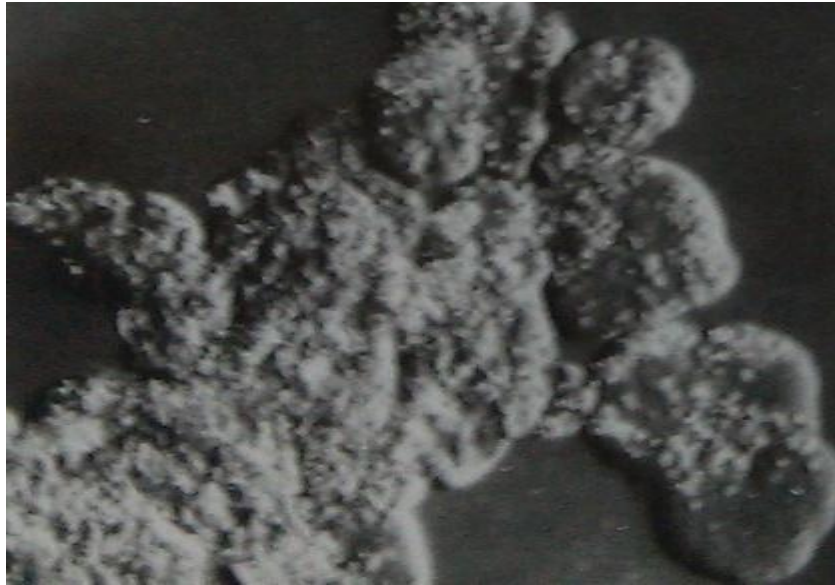


Figure 109. Observation d'un agrégat d'éléocytes chez *Nereis diversicolor* dont les lobules lipidiques sont visibles à travers la membrane. (x1200) (Berl, 1988).

b) Les granulocytes : Cellules adhérentes à cytoplasme granuleux, c'est une lignée très hétérogène. Dhainaut (1984) distingue trois catégories de granulocytes (Figure 110) :

- **Les granulocytes I :** Ce sont des cellules de 6 à 7 μm de diamètre qui se présentent sous deux formes : ovulaire et effilée forme qu'elles perdent après étalement sur lame, elles prennent alors une forme circulaire caractéristique différente de celle d'autres granulocytes.
- **Les granulocytes II :** constituent la catégorie numériquement la plus importante, ce sont de relativement grandes cellules (5 à 6 μm de diamètre), au cytoplasme fortement coloré en vert par suite de l'abondance de granule de tailles diverses, ces cellules possèdent un noyau légèrement excentré.
- **Les granulocytes III :** cellules de petite taille : 3 à 5 μm de diamètre caractérisées par la présence d'un volumineux noyau, sphérique central, leurs cytoplasme est très réduit et granuleux, sur le vivant ce sont de petites cellules qui émettent de nombreux et fins filopodes qui leur confèrent une grande mobilité sur un support.



Figure 110. Vu microscopique du cœlome chez *Nereis diversicolor* montrant les trois types de granulocytes: granulocyte I (G1), granulocytes II (G2), granulocytes III (G3) (x7700 (Beri, 1988).

DISCUSSION

4. DISCUSSION

Le milieu marin reçoit une grande variété de catastrophes naturelles et anthropiques par l'apport de contaminants, dont beaucoup ont le potentiel d'endommager le matériel génétique, ou d'interférer avec le processus de division cellulaire. Les êtres vivants sont constitués de certaines biomolécules (acides nucléiques, protéines) d'une complexité telle que ces molécules sont dotées de propriétés biologiques notamment la reproduction (Bergeron et Regnault, 1980).

Les Annélides sont des invertébrés marins utilisés comme bioindicateurs de pollution marine. Un indicateur biologique est un ensemble d'organismes qui par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques permet, de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème ou d'un éco-complexe et de mettre en évidence aussi précocement que possible leurs modifications naturelles ou provoquées (Blandin, 1986).

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

Cependant, la compréhension de l'impact de cette pollution est limitée par la complexité de nombreux états (eau, sédiment, paramètres physicochimiques de l'eau). Afin de mieux comprendre les réponses biologiques en particulier biochimique des organismes marins vis-à-vis des polluants, on a besoin de mettre en évidence les variations des facteurs environnementaux qui agissent de façon certaine sur la dynamique de ces espèces (Salvat, 1967).

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

La température de l'eau de mer, la salinité, l'oxygène dissous et le pH sont des composantes importantes de la qualité de l'eau de mer.

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

De plus, la variation de la température a des effets sur tous les autres paramètres mesurés comme le pH, la conductivité électrique, le taux des sels dissous comme elle a un effet sur toutes les réactions de dégradation, de minéralisation des matières organiques et le

développement des micro-organismes responsables ou non de ces transformations. L'accroissement de la température favorise avec d'autres facteurs la productivité primaire et donc une augmentation de nourriture pour la faune aquatique (Bremond et Vuichard, 1973).

Dans les trois sites d'étude, les résultats obtenus ne montrent pas de grandes variations au niveau des sites, et la température moyenne à El-Kala (El-Mordjène) est supérieure à celle des autres sites. Les résultats obtenus concordent avec les travaux réalisés au niveau du littoral Algérois par Rouibah *et al.* (2005), où ils ont enregistré une valeur de température dans une station contaminée inférieure à celle de la station de référence.

Les valeurs trouvées lors de notre étude sont inférieures à celles trouvées à partir de l'étude réalisée au niveau du site de Skikda (Gueddah, 2003; Kara, 2007; Bordjiba, 2009), au niveau de la baie d'Alger (Bachari-Houma, 2011), et par Allouti (2011) au niveau d'El Kala et de Skikda, où les résultats obtenus montrent que la température en Mai dans le site d'El-Kala est inférieure à celle du site de Skikda, et le contraire est enregistré au mois de Juillet en concordance avec nos résultats. Ces fluctuations sont en relation avec les conditions climatiques, notamment la température de l'air. D'après Vincke (1982), les températures les plus basses sont observées en hiver et les plus élevées en été. Aussi, les températures les plus basses sont observées en général en profondeur et les plus élevées en surface en relation avec la température de l'air. Cependant, la température de surface peut être inférieure à celle du fond à cause de la circulation générale, l'influence des apports continentaux et les conditions météorologiques. Les conditions météorologiques sont très défavorables avec les fortes précipitations.

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

La salinité détermine en grande partie les processus biologiques, mais également les processus chimiques dans l'eau. Elle est connue aussi par son influence sur la biodisponibilité des métaux (Durou *et al.*, 2006). Elle conditionne la répartition et la dynamique des espèces (Verschuren *et al.*, 2000 ; Llanso *et al.*, 2002 ; Teske et Wooldridge, 2003 ; Giménez *et al.*, 2005 ; Pasquaud, 2006).

Dans ce travail, les résultats obtenus à partir des mesures du taux de la salinité effectués pendant la période estivale (Mai), sont supérieurs à ceux déterminés par Allouti (2011), dans les sites d'El-Kala (El-Mordjène) et de Miramar (Skikda) au mois de Février. Cette variation obtenue entre la période hivernale et estivale serait du fait de l'action conjuguée des fortes

températures qui engendrent de fortes évaporations et une baisse des précipitations (Soucek, 2007).

En comparant les résultats obtenus, il nous a été confirmé l'inexistence d'une différence entre les sites étudiés, malgré la différence enregistrée entre les périodes d'étude, où la diminution de la salinité durant l'hiver et le printemps peut être due à l'effet de la dilution par les eaux de pluies, par contre son augmentation en période estivale est due à l'augmentation de la température et à la nature du substrat. Ces observations sont en accord avec les travaux réalisés au niveau de la côte Oranaise par Rouane-Hacene (2013), du site de Skikda par Gueddah (2003), et de la baie d'Alger (Bachari-Houma, 2011).

L'oxygène dissout est consommé lors de l'oxydation hétérotrophe de la matière organique, et la respiration par la faune, et la flore aquatique. La quantité d'oxygène dissout dans l'eau est nécessaire à la vie aquatique et à l'oxydation des matières organiques essentielles à la vie aquatique en tant que nourriture (Tran *et al.*, 2001 ; 2002). Trois facteurs influencent les variations de concentration en oxygène dans l'eau : la production d'O₂ par photosynthèse ; La respiration entraînant une consommation de l'O₂ et la réaération, c'est-à-dire les échanges entre l'eau et l'air qui sont d'autant plus rapides que la surface de l'eau est agitée (Hubiche, 2002).

L'oxygène dissout des eaux de mer dans le site d'El-Kala (Mordjène) est relativement élevé par rapport aux autres sites étudiés, ceci pourrait être expliqué par les mouvements de la marée, qui engendre un brassage continu de la masse d'eau et par conséquent un enrichissement de la phase dissoute. Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés dans la baie d'Alger par Bachari-Houma (2011), et dans la côte Oranaise pendant la période automnale par Rouane-Hacene (2013). Les valeurs faibles d'Oxygène ont été enregistrées dans les sites d'Annaba (Saint-Cloud) et de Skikda (Stora). Le site de Skikda (Stora) caractérisé par la présence des polluants organiques due aux rejets industriels de la plateforme pétrochimique.

Le pH (Potentielle d'hydrogène), expression de l'acidité du milieu, il compte parmi les paramètres physicochimiques qui conditionnent le milieu aquatique et influencent un grand nombre de processus biologiques et chimiques (Pezo *et al.*, 1985).

Il est lié aux variations de la température, de la salinité, de l'oxygène dissout, du taux de CO₂ et des terrains traversés (Ben Bouih, 2000). Le pH est compris habituellement entre 6 et 8,5 alors que dans les eaux tièdes, celui-ci est compris entre 5 et 9 (Hceflcd, 2007). Les données collectées ne montrent pas une variation importante entre les trois sites, et présente généralement des valeurs similaires, l'alcalinité des différents sites d'étude enseigne une bonne qualité du milieu pour la biodiversité et la production de la faune et de la flore aquatiques. Les observations ont été signalées au niveau du site de Skikda (Gueddah, 2003 ; Gueddah, 2006 ; Kara, 2007; Bentayeb et Mechtouf, 2007, Allouti, 2011), au niveau d'El-Kala (Benchikh, 2009; Allouti, 2011), au niveau du golfe d'Annaba (Sifi, 2009), du littoral Algérois (Rouibah *et al.*, 2005 ; Bachari-Houma, 2011), et à Oran (Rouane-Hacene, 2013).

4.2. Effets du stress environnemental sur la diversité biologique

D'après Afli *et al.* (2005), La biodiversité, ou diversité biologique, est la variété et la variabilité de tous les organismes vivants. Ceci inclut la variabilité génétique à l'intérieur des espèces et de leurs populations, la variabilité des espèces et de leurs formes de vie, la diversité des complexes d'espèces associées et de leurs interactions.

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

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

Les inventaires effectués nous ont permis de mettre en évidence les différentes espèces qui sont associées à notre espèce (*P. cultrifera*). Des espèces de la famille des *neridae* : *N. falsa*, *P. macropus*, *Pl. dumerilii*, *N. diversicolor*; avec la présence d'autres annélides polychètes qui sont : *Lepidonotus clava*, *Scolelepis squamata*, *Lumbrinereis sp*, *Terebellidae* et des espèces non identifiées. En Plus de cette espèce, d'autres espèces ont été inventoriées comme *Diodora greaca*, *Patella sp*, *Tricoliaspeciosa* et une espèce de mollusque bivalve : *Mitylus galloprovincialis*, ainsi que des espèces d'arthropodes : *Eriphiaverrucosa*, *Isopoda sp* non identifiée et une espèce d'arthropode amphipode non identifiée : *Amphipoda sp*, mais surtout six espèces d'annélides polychètes se présentant comme suit :

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

Perinereis macropus (Claparède, 1870) habite en mer basse, dans les fentes des rochers, à un niveau élevé et dans les Algues calcaires de la Manche, et de l'Atlantique (Fauvel, 1923). Elle se trouve dans les roches calcaïques. Pendant notre période d'étude, cette espèce a été

trouvée à El-Mordjène (El-Kala), Stora (Skikda). Elle a été repérée au niveau des côtes Tunisiennes par Ayari (2009) et Zaabi-Sendi (2013) dans un sédiment de texture sable grossier à 2 m de profondeur.

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

Nereis falsa (Quatrefages, 1865) a été localisée dans la Manche (Guernesey); l'Atlantique (Maroc), à l'est de l'Algérie, la Méditerranée (Naples, Monaco), et l'Adriatique (Fauvel, 1923). Elle a été trouvée au niveau des trois sites d'étude (El-Mordjène, Saint Cloud, Stora). Des études antérieures ont été réalisées sur cette espèce et ont montré que sa présence se limitait uniquement au site d'El-Kala (El-Mordjène) (Younsi, 2006).

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

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

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

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

en rapport avec la richesse des espèces. La valeur de l'indice de diversité diminue avec la richesse des gastéropodes (Damerdji *et al.*, 2005).

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

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

4.3. Effets du stress environnemental sur les paramètres morphométriques

L'étude des paramètres morphométriques, à savoir la taille, le nombre de sétigères, le poids corporel et le diamètre ovocytaire a été entreprise pour l'espèce *P. cultrifera* afin de déceler un éventuel effet de la pollution sur la reproduction des femelles de cette espèce.

Les réponses des organismes à la contamination chimique de l'environnement leur permettent, dans une certaine limite, de se maintenir ou de rétablir un certain équilibre. Ces mécanismes homéostatiques se traduisent à l'échelle de l'individu par une dépense d'énergie (Le Gal *et al.*, 1997), où le coût énergétique d'un stress environnemental se solde par une

diminution de la qualité d'énergie disponible pour la reproduction et la croissance et en conséquence par une réduction de la fitness des individus. Une modification de la croissance peut refléter un changement de la quantité d'énergie présente dans un organisme et suggérer l'existence d'une diminution de la conversion énergétique en tissus somatiques.

Les organismes peuvent augmenter leur survie dans un environnement pollué par le développement d'une résistance avec une réponse évolutive aux polluants. Cependant, l'évolution de cette résistance est habituellement accompagnée d'une forme physique coûteuse, tels que la réduction de la reproduction, de la croissance (Wirgin et Waldman, 2004) ou de la tolérance réduite aux différents facteurs de stress (Meyer et De Giulio, 2003). Le suivi mensuel des mesures biométriques montre une évolution similaire chez les femelles des trois populations provenant des trois sites : le poids, la longueur totale du corps et le nombre de sétigères. Le poids augmente progressivement au début de la période d'étude, atteignant une valeur maximale au cours des deux mois Avril et Mai dans les trois sites d'étude. Cette augmentation est suivie d'une diminution du poids au début de Juin. Ceci correspond à la période de la différenciation sexuelle. Un certain nombre d'auteurs ont observé que différentes espèces de bivalves exposées à des pollutions environnementales pouvaient présenter une croissance lente (Peteiro *et al.*, 2006). Elle peut aussi être associée à des épisodes de stress chimique qui implique une perte de poids des tissus des organismes, liée à une mobilisation des réserves énergétiques pour leur détoxication (Modassir et Ansari, 2000).

Bien que les trois populations présentent une évolution similaire, on constate que les valeurs enregistrées chez les femelles d'El-Kala (El-Mordjène) sont toujours élevées par rapport à celles des femelles des deux autres sites, Cela est en accord avec plusieurs travaux réalisés sur *Nereis diversicolor* montrant que ces paramètres biométriques chez les vers en provenance du site contaminé n'ont jamais atteints une valeur supérieure à celles du site sain. Ils ont également confirmé que les vers vivant dans des milieux perturbés présentent un stade du gain du poids réduit (Durou *et al.*, 2007 ; Durou *et al.*, 2008 ; Mouneyrac *et al.*, 2009 ; Gillet *et al.*, 2008).

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

Le nombre de sétigères augmente progressivement au début de mois de Février pour atteindre des valeurs maximales au mois de Juillet où on constate que les valeurs enregistrées chez les femelles d'El-Kala (El-Mordjène) sont toujours élevées par rapport à celles enregistrées chez les femelles de Annaba (Saint-Cloud) et de Skikda (Stora).

Les résultats indiquent qu'il existe une augmentation linéaire du nombre de sétigères, et aucune relation n'existe avec les autres paramètres biométriques. Certains individus possèdent un grand nombre de sétigères avec une petite taille, et d'autres présentent des caractéristiques inverses. Çinar et Altun (2007) confirment que chez le Nereidae *Pseudonereis anomala*, la longueur du corps augmente par addition de nouveaux métamères dans la région postérieure, tandis que la largeur des métamères antérieurs augmente proportionnellement avec l'augmentation du poids, de même qu'Omena et Amaral (2001) expliquent que la largeur de la partie antérieure du corps augmente au fur et à mesure que la partie postérieure s'allonge. La croissance chez les Annélides Polychètes se fait par ajout de nouveaux métamères au niveau de la zone de croissance postérieure (Anderson, 1973; Glasby *et al.*, 2008).

Une étude sur l'effet de la résistance de *Nereis diversicolor* aux métaux a montré une diminution importante des facteurs de croissance en comparaison avec la population non résistante (Pook *et al.*, 2009) que chez *P. cultrifera* ainsi que chez d'autres espèces de Néréidés ; les caractéristiques biométriques diffèrent fortement selon la localisation géographique (Rouabah et Scaps, 2003; Çinar et Ergen, 2005; Çinar et Altun, 2007; Rouhi *et al.*, 2008).

A une échelle géographique plus large on remarque que les individus adultes provenant de la Manche et l'Océan Atlantique sont plus gros que ceux de la Méditerranée. Nos résultats sont accord avec Cazaux (1965), il a indiqué que le poids des adultes à Arcachon atteint couramment 3 g pour 115 à 120 segments. Sur la côte Nord Bretagne, Scaps *et al.* (1992) ont observé de gros individus pesant entre 3 et 6,6 g avant que ne se manifestent les modifications caractéristiques de l'épitoquie. A Salammbô, Zghal et Ben Amor (1989) rapportent que les individus matures épitoques ont un poids moyen de 0,25 g et un nombre moyen de segments de 97. Scaps *et al.*, (1992) ont indiqué que cette variabilité des caractéristiques biométriques se retrouve aussi à petite échelle spatiale sur la côte Nord Bretagne. Ainsi le poids des individus adultes, établis après migration au niveau de la zone à *Fucus serratus*, est significativement plus élevé que celui des individus qui sont demeurés dans la frange supérieure de cette ceinture algale.

4.4. Effets du stress envirennemental sur la croissance ovocytaire

Les individus sexuellement différenciés pour les trois populations provenant des trois sites d'étude ont été observé à chaque mois d'échantillonnage, leur pourcentage a été maximal durant la période d'étude jusqu'au mois de Mai, ce qui indique que la majorité de la population était sexuellement mature, et sur le point de se reproduire ; cependant les individus sexuellement indifférenciés ont été très marqués à partir du mois de Juin à Juillet, où on

constate également une nette diminution de la population d'âge mûr pendant ces deux mois, et ceci est forcément le résultat de la mort des géniteurs.

Nos résultats sont en accord avec les travaux sur *P. cultrifera* présente en Algérie (Rouabah et Scaps., 2003 ; Rouabah *et al.*, 2008), selon ces auteurs, l'augmentation de la proportion des individus des deux sexes correspond à la période la plus intense de la reproduction, ainsi que la différenciation sexuelle des individus de la deuxième génération, tandis que sa diminution est en raison de la mort des individus matures après reproduction, si elle est accompagnée par l'augmentation de la proportion des individus immatures, elle reflète l'apparition d'une nouvelle génération d'individus indifférenciés.

Le sex ratio déterminé pour les deux populations de *P. cultrifera* révèle que les femelles sont plus nombreuses que les mâles, ce résultat va dans le même sens que celui de plusieurs auteurs qui démontrent qu'il existe un déséquilibre entre les deux sexes en faveur des femelles chez d'autres espèces de Nereidae (Fidalgo et Costa., 2003 ; Durou *et al.*, 2007 ; Durou *et al.*, 2008 ; Mouneyrac *et al.*, 2009), cela est probablement dû du fait qu'il est très difficile d'identifier les plaques spermatiques (Rouabah et Scaps., 2003 ; Rouabah *et al.*, 2008) ; cependant notre résultat est contradictoire avec celui de Prevedelli et Simonini (2003) qui ont rapporté que le sex ratio chez une population de *P. cultrifera* prélevée au niveau d'un habitat saumâtre (lagune de Venise) est en équilibre.

L'étude biométrique de la croissance ovocytaire des trois populations de *P. cultrifera*, nous a permis de constater qu'elle est asynchrone contrairement à ce qui est couramment admis, puisque nous avons rencontré chez le même individu des ovocytes présentant des diamètres différents ; par ailleurs, chez des espèces voisines tel que *Platynereis dumerilii* (Fischer et Dorresteyn, 2004) et *Nereis virens* (Hoeger *et al.*, 1999), la croissance ovocytaire est synchrone. En effet, les ovocytes libres dans le cœlome ont montré des fluctuations remarquables de diamètre, tandis que les plus grandes valeurs enregistrées au cours des mois d'Avril et de Mai suggèrent que la période de reproduction est concentrée pendant ces deux mois de l'année.

Ce résultat est en accord avec Rouabah et Scaps (2003) qui ont déterminé le cycle ovogénétique de *P. cultrifera* échantillonnée à partir de Saint-Cloud (Annaba), ils ont confirmé que la croissance ovocytaire s'étale sur une période de 16 mois, et que la reproduction se déroule en fin Avril début Mai, la même étude a mis en évidence deux groupes de femelles qui sont présents au cours d'ovogenèse, l'un portant un grand diamètre ovocytaire, et l'autre un petit diamètre, cette dernière observation a été confirmée par Rouabah *et al* (2008) sur deux populations, en provenance de Pointe Pescade et Figuier (baie d'Alger), ils ont démontré également que la maturité des ovocytes a lieu après 9 à 12 mois dès le recrutement des ovogonies.

P. cultrifera est une espèce semelpare, la reproduction conduit à la mort des individus après libération des gamètes ; cependant on constate qu'au mois de Juin il existe quand même un groupe de femelles portant un diamètre important, qui diminue au cours de Juillet, ce qui ne laisse pas suggérer que c'est une nouvelle cohorte de femelles en processus d'ovogenèse,

cette remarque à été constatée par Golding et Yuwono (1994) chez *N. diversicolor* qui suggèrent qu'il existe des individus qui ne parviennent pas à se reproduire, chez lesquelles la ponte a été bloquée, et la vie prolongée, cela a été expliquée par la présence d'une deuxième ponte, cela est en accord avec Rouabah *et al* (2008) qui ont démontré que la reproduction chez *P. cultrifera* en provenance de la baie d'Alger a lieu durant toute l'année, mais elle est plus intense à partir du mois de Mars à Mai.

Chez *Nereis virens*, l'ovogenèse se déroule en presque une année et demi, en trois phases : une première phase de croissance lente, une phase intermédiaire durant laquelle les ovocytes augmentent de taille d'environ six fois, et une dernière phase pendant laquelle les ovocytes atteindront leur stade final de développement (Hoeger *et al.*, 1999) ; de même d'après Zribi *et al.* (2007), l'ovogenèse se déroule de la même façon chez la plupart des Nereidae ; chez *Perinereis macropus*, trois catégories d'ovocytes ont été classées en fonction de leur taille, celle de la prévitéllogénèse, celle de la vitéllogénèse, durant laquelle les ovocytes ont une taille nettement importante ; et celle au stade final de maturité où les ovocytes atteignent leur diamètre maximal.

Il est à noter que le diamètre ovocytaire enregistré chez les femelles des deux sites Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) a été nettement inférieur à celui enregistré chez les femelles d'El-kala (El-Mordjène), cela se traduit par le stockage des réserves au cours du processus de l'ovogenèse qui semble inférieur chez cette population. Cependant, alors qu'aux mois de Juin et Juillet, le résultat s'explique vraisemblablement par l'apparition de femelles de la nouvelle génération en cours de l'ovogenèse.

4.5. Effets de la pollution sur les paramètres biochimiques des ovocytes

Les organismes vivants ont la capacité unique d'extraire de l'énergie à partir de leur environnement et de la transformer pour construire leurs propres matières. Chez les animaux, au moment où la nourriture prise excède la demande en énergie pour les processus physiologiques de l'animal, l'excès de cette énergie sera stockée sous forme de glycogène et lipides (Ware., 2011 ; Durou et Mouneyrac. 2007) pour être utilisé plus tard pour survivre à la carence alimentaire, répondre aux exigences de maintenance, croissance, et reproduction, et dans les mécanismes de défense contre les facteurs de stress (Durou *et al.*, 2007a et b). Au moment de l'augmentation de la demande en énergie tel qu'au moment de la reproduction ou bien du stress, ses réserves emmagasinées sont alors mobilisées. Les lipides et les glucides fournissent les sources d'énergie essentielles et facilement disponibles pour la plupart des invertébrés aquatiques, bien que leur importance comme sources primaires ou secondaires de l'énergie varie au sein des espèces (Taghon *et al.*, 1994) ; en fonction des saisons, le statut de reproduction de l'organisme et la durée de l'état de stress.

Lorsque ces réserves d'énergie atteignent un seuil critique, les protéines peuvent être aussi une source importante d'énergie, bien qu'ils ne sont pas synthétisés et stockés dans ce but (Le Gal *et al.*, 1997). Faire face à un stress environnemental peut induire un ajustement physiologique compensatoire en terme de changement dans le métabolisme énergétique qui lui-même demande la majorité de la dépense en énergie de l'organisme

(Durou *et al.*, 2008). Une telle altération se traduit par l'ensemble des réponses de l'individu au niveau de la croissance, taux de mortalité, période et succès de la reproduction (Postma *et al.*, 1995 ; Marchand *et al.*, 2004 ; Xie et Klerks., 2004). Mayer *et al* (2002) ont suggéré l'utilisation des niveaux des réserves métaboliques afin d'examiner les perturbations du métabolisme énergétique. De même que Smolders *et al* (2004) ont signalé que ce paramètre est le plus sensible et le plus rapide à évaluer dans les conditions sous optimales de l'environnement. Parmi les réserves énergétiques, les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme biologique. Elles peuvent assurer la catalyse biochimique, la régulation hormonale et s'intégrer dans la cellule en tant que constituants structuraux en même temps que les lipides et les glucides (Jacob et Monod, 1961). A Côté des protéines, les glucides et les lipides jouent un rôle important dans la constitution des réserves destinées au développement de l'embryon chez les Annélides (Rouabah-Sadaoui et Marcel, 1995). Beaucoup d'auteurs se sont intéressés par ailleurs à l'étude de l'impact de la pollution sur la biochimie des organismes polychètes. Ils ont utilisé beaucoup d'espèces comme biondicateurs de la pollution : *Nereis diversicolor*, *Nereis virens*, *Neanthes succina*,... etc. (Douhri *et al.*, 2009, Durou *et al.*, 2006, Gillet *et al.*, 2008 , Rhee *et al.* , 2007). Cependant moins sont ceux qui ont basés leurs études sur la relation entre la reproduction et la biochimie de ces organismes.

Les résultats obtenus concernant l'évolution des taux de protéines révèle des différences qui varient avec la période d'activité sexuelle surtout au mois de février où l'on constate un pic avec un taux plus élevé chez *P.cultrifera* suivi d'une diminution après la période de maturation sexuelle (mars et avril) chez la même espèce. Ces résultats s'accordent avec ceux de Porchet (1974) chez *P. cultrifera*. Il rapporte que la teneur en protéines totales augmente progressivement pendant la maturation sexuelle. L'étroite relation entre les taux de protéines et le cycle reproductif est due au fait ces derniers interviennent dans la formation des gamètes (Holland, 1978 ; Ansell *et al.*, 1980) et sont également utilisés comme source d'énergie en particulier pendant la gamétogénèse (Mann et Glomb, 1978 ; Barber et Blace, 1981). Rouabah-Sadaoui et Marcel (1995) ont montré que la teneur en protéines totales augmente progressivement pendant la maturation du clitellum chez *Eisenia fetida*. L'évolution du taux de glucides chez *P. cultrifera* pendant la période de février à mai 2012 montre que les quantités de glucides sont dans l'ensemble relativement faibles. Cependant, on note une augmentation considérable de ces taux au cours de la maturation des ovocytes (mars et avril) chez *P. cultrifera* et au mois de juillet (maturation des ovocytes). Ces résultats s'accordent avec ceux de Porchet (1974) chez *P. cultrifera*, où la teneur en glucides augmente considérablement au cours de la maturation sexuelle.

Nos résultats sont également en accord avec ceux de Rouabah-Sadaoui et Marcel (1995) chez *Eisenia fetida* où ils rapportent que la teneur en glucides augmente considérablement au cours de la maturation du clitellum, en particulier le galactose, le mannose et les hexosamines. D'après Freitas *et al.*, (2002a) et dans le cas de *Mytilus galloprovincialis*, il existe des variations considérables dans les proportions des différents constituants biochimiques pour la même espèce provenant de localités différentes. Ces fluctuations sont dues aux capacités nutritives plus ou moins grandes des eaux, et de la

qualité de nourriture disponible également (Pérez-Camacho *et al.*, 1995 ; Fernández-Reiriz *et al.*, 1998 ; Albentosa *et al.*, 1999). Il existe, en effet, de grandes différences dans les compositions biochimiques des espèces de plancton et donc dans leur capacité nutritive (Delaunay *et al.*, 1993).

L'analyse quantitative des lipides montre que les taux de lipides sont élevés durant la période de maturation des ovocytes (mars à avril), suivi d'une chute durant la période de ponte (fin d'avril à mai) chez *P. cultrifera*. Ces résultats s'accordent avec ceux de (Garcia-Alonso *et al.*, 2006) où chez *Nereis virens* et pendant la maturation des ovocytes, les gouttelettes lipidiques se concentrent près du noyau de chaque ovocyte. Ces observations ne correspondent pas à ceux de Rouabah-Sadaoui et Marcel (1995) chez *Eisenia fetida* où les taux de lipides sont relativement faibles et marquant une légère augmentation au cours de la maturation du clitellum. Ces résultats ne concordent pas avec ceux de Caner (1981) chez *P. cultrifera*. Il rapporte que le taux de lipides diminue durant la maturation des ovocytes. Fontaine (1982) dose chez *P. cultrifera* les lipides totaux du liquide coelomique, des coelomocytes et des ovocytes en fonction de l'âge des vers. Il trouve que les lipides constituent 12,5 à 26,6 % du poids sec. Rouabah-Sadaoui et Marcel (1995) ont rapporté par ailleurs que les polychètes sont plus riches en lipides que les lombriciens.

Les mêmes résultats ont été rapportés chez les Bivalves : *Tapes decussatus* et *T. philipinarum* (Beninger et Stephan, 1985), ainsi que chez *Dreissena polymorpha* (Nalepa *et al.*, 1993) et chez l'huître *Crassostrea gigas* (Pazos *et al.*, 1996), où les teneurs en lipides augmentent au cours de la maturation sexuelle et diminuent vers la fin de l'activité de reproduction.

4.6. Evaluation des taux de vitellogénines et de vitellines

Le stress environnemental perturbe l'ovogénèse en ciblant la synthèse des vitellines et des vitellogénines et donc en agissant sur le processus de vitellogénèse chez les espèces étudiées.

Chez le Néréidien *P. cultrifera*, la vitellogénine (175 kDa) est clivée après incorporation dans l'ovocyte (Baert, 1985, 1986). La protéolyse de la vitellogénine aboutit à l'accumulation dans l'ovocyte mûr, d'une protéine de 15 kDa (Baert, 1987) et d'un complexe lipoglycoprotéique de 400 kDa composé de plusieurs polypeptides de 98, 83, 22, 20 et 16 kDa (Baert, 1984), celle-ci semble être synthétisée par les éléocytes, cellules très proches des ovocytes au niveau coelome ; elle est transmise à travers la membrane vitelline cependant, ces cellules ont un double rôle : un rôle fondamentalement nourricier et un rôle immunitaire.

Dans les jeunes ovocytes de *P. cultrifera* ont été identifiées Cinq lipoglycoprotéines assimilables à des vitellines (V₁ à V₅), mais parmi celles-ci seule la plus légère (V₅) a permis de montrer que V₁ à V₅ sont immunologiquement apparentées. Des études métaboliques ont permis, *in vivo*, de conclure à l'existence d'une relation précurseur-produit entre V₁ et V₅, cette dernière étant une vitelline mature. De plus, ces études ont montré le rôle des Coelomocytes dans la synthèse et la sécrétion d'une fraction vitellogène analogue à V₁ qui est incorporée dans les ovocytes (Baert, 1986).

La vitelline, composant majeur du vitellus, est une substance qui a été identifiée dans les ovocytes chez de nombreux animaux et dont la purification a souvent été achevée. Outre l'importance quantitative de ce type de matériel dans les ovocytes, les vitellines d'origines diverses possèdent certaines caractéristiques communes tel que un poids moléculaire élevé compris généralement entre 200 et 600 Kd, une composition sous-unitaire complexe avec plusieurs polypeptides de poids moléculaires variables toujours retrouvés au sein de ces molécules et une nature lipoglycoprotéique (Baert, 1986).

Le fait que l'ovocyte soit capable d'assumer de façon autonome ses synthèses vitellines a souvent été considéré comme un caractère primitif (Bilinski, 1976). Parmi les Annélides Polychètes, les Néréidiens ont longtemps semblé répondre à ce critère. Chez les vers marins, les résultats obtenus par autoradiographie ont en effet montré que l'ovocyte est capable de synthétiser un matériel protéique à destination des globules vitellins (Dhainaut, 1970a).

Le suivi mensuel du taux de vitellogénines et de vitellines montre une augmentation considérable de la quantité de vitellogénines et de vitellines chez les femelles durant le mois d'avril. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Baert *et al.* (2011).

En tout état de cause, il peut être conclu que la croissance rapide des ovocytes au moment de maturité va de pair avec une "accélération" du processus d'accumulation du composant majeur du vitellus (Baert, 1986). Les résultats obtenus montrent une perturbation très prononcée de la croissance ovocytaires par l'apport ralenti des éléments essentiels du vitellus ; cependant, des études antérieures ont montré que le métabolisme ovocyttaire se déroule en deux phases successives, durant la première, l'ovocyte élabore des substances de réserves d'abord lipidiques puis protéiques suivie d'une 2^{ème} où celui-ci synthétise des réserves essentiellement glucidiques (Porchet et Dhainaut, 1973). Les ganglions cérébroïdes secrètent une hormone qui contrôle le développement ovocyttaire. Cette hormone exerce une double action ; d'une part, elle est inhibitrice de la croissance des ovocytes et d'autre part, elle est indispensable à leur métabolisme.

Les résultats montrent un ralentissement du passage des constituants vitellins vers les ovocytes des femelles provenant des deux sites pollués d'Annaba et de Skikda, ceci pourrait s'expliquer soit par une perturbation de synthèse de l'hormone cérébrale (Durchon et Porchet, 1971) soit par l'imperméabilité de la membrane vitelline bloquant la diffusion des matériaux vitellins. Il y a même un dysfonctionnement des éléocytes qui se sont concentrés beaucoup plus sur les réponses immunitaires par rapport au stress environnemental.

4.7. Évaluation du taux d'ADN et d'ARN ovocytaires

Des études menées sur les indicateurs biochimiques du stress chez les organismes aquatiques (Livingston, 1982) montrent qu'ils peuvent aider éventuellement à prédire les effets toxiques d'un polluant ou à évaluer la bonne santé des organismes marins *in situ*. D'autres travaux montrent que les effets toxiques d'un polluant sur la croissance peuvent aussi être détectés en examinant les macromolécules (Mehrle et Mayer., 1980). En grandissant, les organismes synthétisent et accumulent de l'ARN utilisé pour la

synthèse des protéines. ARN et le ratio ARN/ADN peuvent être utilisés comme un index de croissance (Wilder et Stanley, 1983).

L'ovocyte accumule en grande quantité les matériaux protéiques mais l'élaboration des protéines dépend de la synthèse préalable d'ARN, pour laquelle l'ADN chromosomique et nucléolaire sert de matrice. Le nucléole, lieu de synthèse de l'ARN ribosomal, émet des extrusions qui se répartissent dans le nucléoplasme et correspondent à une augmentation de la quantité de l'ADN qui sert de matrice pour la synthèse d'ARNr (Daas, 2005).

L'évaluation du taux d'ADN révèle une diminution de ce dernier au niveau des deux sites pollués Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) par rapport à El-Kala (El-Mordjène) de manière très hautement significative au cours des deux mois suivants Avril et Mai correspondant à la période de reproduction.

Cette diminution peut être due à l'interaction des produits chimiques rejetés par les zones industrielles et urbaines. Les travaux de Guemouda (2015) ont mentionné l'effet de la pollution par le dosage des hydrocarbures chez les individus de *P. cultrifera* récoltés au niveau des deux sites Annaba (Saint-Cloud) et Skikda (Stora) par rapport à El-Kala (El-Mordjène). Ces résultats confirment les travaux de Hamdani (2011), qui montre que l'évaluation saisonnière des taux d'ADN révèle une diminution de ces taux à Sidi Salem par rapport à El Battah de manière très hautement significative en hiver et en été. Nos résultats concernant les acides nucléiques semblent en accord avec ceux de (Tripathi *et al.*, 2003), qui ont également signalé une diminution significative d'ADN dans les tissus des gonades des poissons exposés au diméthoate (Organophosphorés) : *Corydoras punctatus* CL50/24h (17,92 mg / L).

Cependant, Nos résultats montrent que le stress environnemental stimule la synthèse de l'ARN ovocytaire. Le taux d'ARN chez *P. cultrifera* a tendance à augmenter au niveau des deux sites d'Annaba (Saint-Cloud) et de Skikda (Stora) par rapport à El-Kala (El-Mordjène), ceci explique une induction de sa synthèse. Cette induction peut être due à l'interaction des produits chimiques provoquant une stimulation du système de détoxification afin de synthétiser les divers enzymes adéquates (GST, GSH, MDA, mono-oxygénases, réductases, etc...).

Nos résultats sont en accord avec ceux de Kermiche (2011) après traitement des femelles de *Gambusia affinis* à la CL50/96h du Cd, les résultats montrent une diminution du taux d'ADN d'une part et une augmentation du rapport ARN/ADN d'autre part.

4.8. Effets du stress environnemental sur l'activité des biomarqueurs

La surveillance de la contamination chimique dans un écosystème ne permet pas d'évaluer son impact sur les organismes, les populations et les communautés constitutives. La réponse des organismes à la contamination en termes d'effets sublétaux, ne peut être évaluée que par des mesures de paramètres biologiques, physiologiques ou biochimiques (Mc Carthy et Shugart 1990). En effet, si l'écologie numérique détecte des modifications dans les

communautés d'un écosystème, il est nécessaire de disposer d'indicateurs plus précoces révélant un risque de modification de l'écosystème.

L'inhibition ou l'induction *in vivo* des biomarqueurs est un bon outil environnemental pour évaluer l'exposition et les effets potentiels des xénobiotiques sur les organismes (Dembélé *et al.*, 2000; Ozmen *et al.*, 1999; Mc longhlin *et al.*, 2000; Sturm *et al.*, 2000; Vâro *et al.*, 2001). La capacité d'un organisme de s'adapter à un environnement altéré par la contamination anthropogénique, dépend principalement des mécanismes efficaces de la détoxification de divers composés endo et exogènes (Jakanovic, 2001). Chez les organismes aquatiques, ces mécanismes sont les premiers sollicités par la présence des xénobiotiques (Roche *et al.*, 2003). Toutes les réponses à un stress externe, incluant les Eléments Traces Métalliques (ETMs), impliquent des changements dans les profils d'expression génique. Quelques réponses sont le résultat de l'exposition à un composé chimique, d'autres sont compensatoires, c'est à dire qu'elles reflètent la réponse d'un organisme aux dommages moléculaires ou aux dysfonctionnements cellulaires provoqués par la présence du composé chimique (Ankley *et al.*, 2006). La présence de métaux constitue un stress majeur susceptible de perturber les grandes fonctions physiologiques des animaux (Labrot *et al.*, 1996).

4.8.1. Effets du stress environnemental sur l'activité enzymatique de l'AChE

Plusieurs travaux ont porté sur l'utilisation de la mesure de l'activité des enzymes impliqués dans la dégradation de certains neurotransmetteurs tel que l'acétylcholinestérase (AChE) pour la mise en évidence de l'exposition d'organisme à des produits toxiques (Sarker *et al.*, 2010).

Il a été constaté une forte inhibition de l'activité enzymatique de l'AChE chez les individus de *P. cultrifera* récoltés au niveau des sites de Saint-Cloud (Annaba) et Stora (Skikda) comparativement à ceux récoltés à El-Mordjène (El-Kala). Cela témoigne de l'exposition de ces organismes aux polluants tels que : les métaux lourds et les hydrocarbures.

Nos résultats confirment cette inhibition, où des études ont déjà mis en évidence l'inhibition de l'activité de l'AChE par des contaminants incluant certains agents surfactants, les hydrocarbures combustibles et les métaux lourds (Kammenga *et al.*, 2000; Dellali *et al.*, 2001). D'autres études ont montré que les éléments métalliques comme le mercure, le cadmium, le cuivre ou le zinc inhibent l'activité de l'acétylcholinestérase (Varo *et al.*, 2012; Tu *et al.*, 2012).

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

et la température peut également affecter l'activité de l'acétylcholinestérase chez *Nereis diversicolor*. En outre, les études effectuées sur *D. trunculus* au niveau du golfe d'Annaba ont montré une diminution de l'activité de l'AChE en rapport avec la pollution métallique (Amira *et al.*, 2011; Soltani *et al.*, 2012 ; Belabed, 2013) et sur les *Patella caerulea* (Boumaaza, 2014). Hamza-Chaffai *et al.* (1998) ont également constaté que des niveaux élevés de cuivre ou de métaux lourds peuvent également affecter l'acétylcholinestérase chez le bivalve.

4.8.2. Effets du stress environnemental sur l'activité enzymatique de la GST

La GST joue un rôle important dans la détoxification des organismes (Cossu *et al.*, 1997). L'activité de la GST peut être induite par certains polluants (Regoli *et al.*, 2004). signalent l'induction de certaines isoenzymes de la GST par des substrats tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et les biphényles polychlorés (PCB).

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

4.9. Effets du stress environnemental sur la structure ovocytaire

L'étude histologique du cœlome des femelles de la population de *P. cultrifera* au cours du mois d'Avril permet de dégager des données très intéressantes sur le cycle ovogénétique de cette espèce.

Ceci suggère que la période de la reproduction est concentrée pendant la saison printanière et que la croissance ovocytaire est asynchrone puisque chez le même individu, nous avons rencontré des ovocytes présentant des diamètres à peu près similaires. Cette croissance a été également observée chez d'autres espèces notamment *Platynereis dumerilii* (Fisher et Dorresteijn, 2004) ; en outre, chez une espèce voisine de Néreidés tel que *Perinereis macropus*, la croissance ovocytaire est asynchrone où l'on retrouve tous les stades de la vitellogenèse chez le même individu (Zribi *et al.*, 2007).

Les résultats obtenus montrent une perturbation très prononcée de la croissance ovocytaire par l'apport ralenti des éléments essentiels du vitellus ; cependant, des études antérieures ont montré que le métabolisme ovocytaire se déroule en deux phases successives, durant la première, l'ovocyte élabore des substances de réserves d'abord lipidiques puis protéiques suivie d'une 2^{ème} où celui-ci synthétise des réserves essentiellement glucidiques (Porchet et Dhainaut, 1969). Les ganglions cérébroïdes secrètent une hormone qui contrôle le développement ovocytaire. Cette hormone exerce une double action ; d'une part, elle est inhibitrice de la croissance des ovocytes et d'autre part, elle est indispensable à leur métabolisme (Porchet, 1974).

D'autres études cytologiques ont montré que les globules vitellins en formation sont situés à proximité des dictyosomes. On y décèle de nombreuses vésicules morphologiquement identiques à celles élaborées par l'appareil de Golgi. Ces vésicules semblent matérialiser le processus par lequel s'effectue le transfert du matériel protéique depuis les dictyosomes jusqu'aux globules protéiques soulignant ainsi le rôle de l'appareil de Golgi dans l'édification du vitellus (Caro et Palade, 1964 ; Janieson et Palade, 1967). Les travaux de Baert *et al.* (1984) indiquent que les globules lipidiques représentent 16,4% du poids ovocytaire et qui sont essentiellement des triglycérides et des stérols libres et que les acides aminés les plus importants sont la glutamine, la leucine et l'alanine ; ces composés sont à la base des vitellines comme chez les insectes (Hagedorn et Kunkel, 1979) et chez *Nereis virens* (Fisher, 1979).

Les résultats montrent un ralentissement du passage des constituants vitellins vers les ovocytes des femelles provenant des deux sites pollués Annaba et Skikda, ceci pourrait s'expliquer soit par une perturbation de synthèse de l'hormone cérébrale (Durchon et Porchet, 1971) soit par l'imperméabilité de la membrane vitelline bloquant la diffusion des matériaux vitellins soit même un dysfonctionnement des éléocytes qui se sont concentrés beaucoup plus sur les réponses immunitaires par rapport au stress environnemental.

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

De nombreux travaux ont montré l'existence de complexes d'espèces jumelles chez les Annélides polychètes appartenant aux genres *Arenicola*, *Capitella*, *Eulalia*, *Glycera*, *Hediste*, *Marenzelleria*, *Neanthes*, *Nephtys* et *polydora* (Röhner *et al.*, 1997 ; Sato et Masuda, 1997). Les données de la littérature indiquent que *Perinereis cultrifera* peut être considérée comme une espèce à répartition cosmopolite.

Cependant, le statut taxonomique de nombreuses espèces d'annélides polychètes demeure à ce jour peu développé et celui de certaines espèces n'est toujours pas résolu. Ainsi, le grand nombre d'espèces à répartition cosmopolite reflète en partie nos lacunes dans ce domaine plutôt qu'une réelle tendance à une large répartition géographique. Fréquemment, une révision attentionnée révèle qu'une espèce cosmopolite est souvent composée d'un certain nombre d'espèces possédant une aire de répartition géographique limitée (Kupriyanova et Badyaev, 1998). D'autre part, on peut noter que selon la

localisation géographique des populations, le mode et la période de reproduction, la durée de vie ainsi que la morphologie des individus varient fortement.

A l'échelle géographique plus restreinte de la Manche-Atlantique et de la Méditerranée et dans l'état actuel de nos connaissances, on peut donc émettre l'hypothèse que l'existence de deux stratégies de reproduction et de deux morphes distincts est l'aboutissement d'un mécanisme de spéciation reflétant l'histoire évolutive des populations. Cette hypothèse semble particulièrement bien étayée par les résultats d'ordre morphologique et biochimique que nous avons obtenu lors de la comparaison des formes épitoques présentes en Manche et en Méditerranée. En effet, nous avons constaté d'importantes différences dans la morphologie et le nombre de paragnathes à la surface du proboscis. La congruence des données d'ordre écologique, morphologique et biochimique indiquent donc clairement que jusqu'à une révision plus poussée du complexe d'espèces *Perinereis cultrifera*, ce nom spécifique devrait être utilisé avec précautions de façon à éviter des comparaisons non justifiées d'études à caractères écologique ou biochimique réalisées à partir d'individus issus de différentes régions géographiques.

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

4.11. Étude de l'aspect des cellules immunitaire chez *P. cultrifera*

Les invertébrés ne possèdent pas de système de défense aussi complexe que celui des vertébrés. En dehors de la phagocytose qui représente la fonction principale d'élimination des bactéries, le liquide cœlomique joue aussi un rôle prépondérant dans la décense antibactérienne de part les molécules qu'il contient. Des substances hémolytiques et agglutinantes ont été signalées chez les Annelides oligochètes (Cooper *et al.*, 1974) et chez les polychètes (Russel *et al.*, 1983). Chez ces derniers, les connaissances relatives aux cellules cœlomiques sont beaucoup plus restreintes, chez diverses familles, un certain nombre d'études relative à la cytophysiologie des cœlomocytes sont maintenant anciennes, chez *Arennicola marina* (Fretter, 1953), chez *Platynereis dumerilli* (Dales, 1964).

Les cœlomocytes sont considérés comme les cellules immunitaires chez les coelomates primitifs (Annélides, Mollusques). Ces cellules sont les leucocytes qui ont longtemps été considérées comme les cellules principales (non spécifiques) du système de défense immunitaire innée de ces animaux (Engelmann *et al.*, 2005). Divers termes ont été utilisés par les auteurs pour désigner ces cellules : Amœbocyte, lymphocytes-like (Dales et Dixon, 1981), les termes «Granulocyte» et «éléocyte» (Romieu, 1923). Chez la famille des Nereidae, Baskin (1974) a introduit le terme de « granulocytes » pour les cellules ayant des granules denses.

Du point de vue des processus immunitaires, les données sont encore fragmentaires dans le domaine humoral des substances hémagglutinantes et hémolytiques ont été décelées chez *Nereis virens* (Russel *et al.*, 1983). Dans le domaine des activités cellulaires, des réactions de phagocytose liés à la défense antibactérienne ont été observées chez *Arenticola marina* (Russel *et al.*, 1983)..

Du point de vue morphologique, après des descriptions assez épisodiques (Dhainaut, 1966 a) , ce n'est qu'en 1984 que Dhainaut présente une analyse détaillée des différentes catégories de cœlomocytes , et propose une classification et une terminologie , les cœlomocytes sont ainsi subdivisés en éléocytes, en granulocytes (eux même répartis en plusieurs sous populations : granulocytes I , II, et III) et en quelques types cellulaires plus rares.

Du point de vue physiologique, c'est d'abord le rôle trophique des cœlomocytes vis-à-vis des gamètes qui a été démontré. Les éléocytes constituent la catégorie cellulaire impliquée dans ce processus, Beart et Slomianny, (1987) démontrent que ceux-ci élaborent une vitellogénine qui est ensuite captée par les ovocytes et stockée sous forme de vitelline. Les éléocytes sont également impliqués dans la synthèse des lipides neutres (Fontaine *et al.* , 1984a) et des phospholipides (Taki *et al.*, 1988), substances qui participent à la formation des réserves lipidiques de l'ovocyte. Les éléocytes assurent également le nettoyage du milieu intérieur en capturant les sarcolytes libres dans le cœlome (Dhainaut, 1966).

Les granulocytes représentent la deuxième grande catégorie de cellules cœlomiques. Très peu de données relatives à leurs fonctions étaient connues jusqu'à une date récente, un des premiers aspects fonctionnels qui a pu être mis en évidence est leur intervention au cours des processus d'encapsulation. Il a été montré que l'injection expérimentale de billes de latex est suivie d'une encapsulation rapide des implants qui sont enveloppés par plusieurs couches de granulocytes (Porchet-Henneré *et al.* , 1987) ,une réaction comparable est obtenue lors de la pénétration de parasites (Porchet et Béri, 1987). Les capsules formées sont constituées de plusieurs couches concentriques réparties en trois zones : une zone interne constituée par les granulocytes II qui au bout de 48h déversent par extrusion leur contenu granulaire à la surface de l'implant, puis une zone intermédiaire représentée par les granulocytes I qui donnent une structure rigide à la capsule grâce à leurs microfilaments et leurs microtubules enfin, une zone externe dans laquelle on trouve les granulocytes III qui limiteraient le recrutement des cellules.

En comparant les cœlomocytes chez *P. cultrifera* au niveau des deux sites d'étude : El-Kala (El-Mordjène) et d'Annaba (Saint-Cloud), il a été constaté l'existence de trois types de

cœlomocytes : Type I ; Type II et type III ; en plus de ces trois types cellulaires, il existe aussi les types IV et V (Dhainaut, 1984). Chez *N. diversicolor*, il existe trois types de cœlomocytes qui ont été décrit d'abord en utilisant la microscopie électronique (Dhainaut et Porchet-Henneré 1988). Les cœlomocytes de type I existent aussi chez les Arenicolidae (Dales et Dixon, 1981), les Ophelidae, les Glyceridae, les Nephtyidae (Klein, 1989). Les cœlomocytes de type II ne sont pas seulement présents chez les Polychètes mais aussi chez d'autres famille tel que les Terebellidae (Dawe *et al.*, 1968), les Arenicolidae (Klein, 1989) et chez les Nereidae (Maramorosch, 1968). On les trouve aussi chez d'autres invertébrés tel que les Mollusques, et les Arthropodes (Hildemann, 1970). La présence de trois types de cœlomocytes chez *P. cultrifera* récoltées au niveau du site d'Annaba (Saint-Cloud) contre deux types seulement au niveau du site d'El-Kala (El-Mordjène) ceci reflète le niveau de contamination du milieu et donc due aux mécanismes de défense adoptés par les espèces du site d'Annaba (affecté par la pollution) comparativement aux espèces présentes au niveau d'El-Kala (Non affecté par la pollution).

CONCLUSION

5. CONCLUSION

Notre étude a pour but de comparer les modes et périodes de reproduction, les caractéristiques biologiques, génétiques et immunologiques chez *Perinereis cultrifera* du littoral algérien et des côtes de la manche française afin d'évaluer la qualité des écosystèmes marins (niveau de pollution marine) et d'étudier la phylogénie et l'immunité de ces espèces jumelles.

Dans un premier volet, une étude sur la reproduction grâce à trois approches ont été entretenues :

- Une approche écologique nous a permis l'identification de cinq espèces de nereidiens *Perinereis cultrifera*, *Perinereis macropus*, *Platynereis dumerilii*, *Nereis falsa*, *Nereis diversicolor* avec d'autres espèces de différents embranchements : *Diodora graeca*, *Eriphia verrucosa*, *Phascolosoma granulatum*, ainsi que trois espèces d'algues : *Colpomenia sinuosa* *Ulva lactuca* *Corallina elongata*. Au niveau du site d'El-Kala, la richesse et l'abondance sont les plus élevées par rapport à celles des trois autres sites, et selon l'indice de Shannon - Weaver, les trois sites présentent une richesse en biodiversité et une abondance équilibrée, ce qui place El-Kala comme site riche en matière de biodiversité. L'analyse des paramètres physico-chimiques de l'eau de mer indique l'indifférence entre les trois sites pour la température, le pH, la salinité, le taux d'O₂ dissout.

- Une approche morphométrique et biologique consacrée à la révélation des effets de la pollution sur les paramètres biométriques à savoir (poids, taille, et nombre de sétigères) et qui suivent la même tendance avec une diminution au niveau des deux sites pollués (Annaba et Skikda) et que le nombre de sétigères n'est pas proportionnel à la taille. Les paramètres morphométriques (Poids, taille, nombre de sétigères, diamètre ovocytaire) sont plus importants chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau de la manche française par rapport à ceux du littoral algérien.

Les paramètres liés à la maturité sexuelle et la reproduction ont montré un sex ratio en faveur des femelles chez les trois populations, et un diamètre ovocytaire chez les femelles des deux sites pollués (Annaba et Skikda) inférieur à celui des femelles d'El-kala, et la période de reproduction de cette espèce se situe entre les deux mois d'Avril et de Mai.

- Une approche biochimique a été consacrée à l'analyse de différentes réserves métaboliques (protéines, glucides et lipides) au niveau des ovocytes, où les fluctuations mensuelles enregistrées varient selon la période de reproduction au niveau des ovocytes des d'espèces.

Un autre aspect biochimique permettant l'évaluation du taux de vitellines et de vitellogénines de *P. cultrifera* a marqué une inhibition de la synthèse de vitellogénines et de vitellines chez les femelles prélevées à partir des sites pollués (Annaba et Skikda) par la présence des polluants dans le milieu, et qui sont de nature multiple.

L'étude quantitative des acides nucléiques (ADN et ARN ovocytaires) montre des teneurs faibles en ADN au niveau des sites pollués (Annaba et Skikda) comparativement à El-kala. En outre, l'analyse quantitative du taux d'ARN ovocytaire révèle une induction très significative de sa synthèse.

Les variations mensuelles de l'activité enzymatique des biomarqueurs ont indiqué une inhibition de l'activité de l'ACHé au niveau des deux sites pollués (Annaba et Skikda) contrairement à El-Kala et ce, durant toute la période d'étude. Par ailleurs, les activités enzymatiques pour la GST a permis d'enregistrer une induction de leur activités au niveau des deux sites pollués (Annaba et Skikda). L'étude histologique démontre une ovogenèse asynchrone où les ovocytes issus des femelles matures provenant des deux sites pollués (Annaba et Skikda) sont légèrement de plus faibles diamètres et les signes de vitellogenèse active sont de faible intensité.

Dans un deuxième volet, nous avons comparé entre deux populations de *Perinereis cultrifera* de la manche française et du littoral Est algérien sur le plan phénotypique (poids, taille et diamètre ovocytaire), sur le plan génétique en étudiant le gène mitochondrial *cyt-b* et sur le plan immunitaire en caractérisant les cœlomocytes en souffrance.

Une étude préliminaire a été réalisée concernant les marqueurs génétiques spécifiques chez *P. cultrifera* (Annélide, Polychète) de la Manche française et du littoral Algérien. L'ADN génomique a été extrait selon la méthode CCDB puis des essais de PCR d'amorces universelles et spécifiques ont été amplifiées. Les résultats ont montré que les amorces spécifiques à *P. cultrifera* sont *cyt-b* et rarement COI que nous attendons la confirmation de nos collègues français.

Enfin, nous avons séquencé 82 individus pour le gène *cyt-b*. Les résultats obtenus montrent un mélange entre les espèces des deux populations de la Manche française et du littoral Algérien. En effet, les individus des différents sites se répartissent dans les différents clades sans regroupement spécifique des individus par site de récolte. Cela laisse à supposer qu'il existe un déterminisme purement environnemental et non génétique

En ce qui concerne l'aspect des cœlomocytes chez *P. cultrifera*, les premiers résultats obtenus à partir des différentes observations au microscope photonique, ont montré qu'il existe trois types de cellules : Cœlomocytes types I, II, et III, en comparant l'aspect des cellules détectées chez *Nereis diversicolor*. La présence des cellules immunitaires nous a permis d'évaluer la qualité du milieu

A l'avenir, il serait intéressant de mener des recherches supplémentaires approfondies sur :

- L'ultrastructure des ovocytes.
- L'effet des métaux lourds et des hydrocarbures totaux sur la biologie, la biochimie et la physiologie de cette espèce.
- L'utilisation d'une approche «multimarqueurs» en milieux marins, afin de mieux cerner les réponses biologiques à des contaminations chimiques.

CONCLUSION

- L'impact de la pollution sur l'immunité de *Perinereis cultrifera* et des polluants sur l'expression génique de la métallothionéine.
- L'analyse moléculaire phylogénétique des espèces d'Annélides Polychètes du littoral Est Algérien.
- D'approfondir l'étude par l'endocrinologie (dosage hormonal) en fonction de la saison de reproduction.
- D'étendre les sites d'étude de l'Est à Ouest (Jijel et Bejaia...).
- Complétant l'étude comparative par analyse des gènes nucléaires ITS et d'étudier les divergences génétiques entre les deux populations.

RÉSUMÉ

1. Résumé

2. Abstract

3. ملخص

6. RÉSUMÉ

Parmi les espèces représentant un intérêt commercial, le polychète *Perinereis cultrifera* connu localement sous l'appellation vernaculaire de ver de rocher est l'espèce la plus demandée. De par sa répartition géographique, elle intéresse les pays de la façade atlantique (France, Portugal) et du pourtour méditerranéen (Algérie, France, Italie, Tunisie).

Le but de ce travail est de comparer les modes et périodes de reproduction, les caractéristiques biologiques, génétiques et immunologiques chez *P. cultrifera* du littoral algérien et des côtes de la manche française afin d'évaluer la qualité des écosystèmes marins (niveau de pollution marine) et d'étudier la phylogénie et l'immunité de ces espèces jumelles, dans cette étude comparative de populations de *P. cultrifera* présentes respectivement sur le littoral Est Algérien en Méditerranée et en Manche Atlantique, nous avons choisis six stations : trois stations localisées dans le littoral Est-algérien en Méditerranée : El Mordjène (El-Kala), Saint-Cloud (Annaba) , Stora (Skikda) et trois stations au niveau des côtes de la manche française : Saint pabu, saint aubin, et Roscoff et cela, pendant la période qui s'étend de Janvier 2012 à Décembre 2013. Une étude sur la reproduction grâce à trois approches ont été entretenues dans ce présent travail :

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

L'analyse des paramètres physico-chimiques de l'eau de mer indique l'indifférence entre les trois sites pour la température, le pH, la salinité, le taux d'O₂ dissout.

-Une approche morphométrique et biologique a révélé un impacte de la pollution environnementale sur la croissance et sur le diamètre ovocytaire chez les femelles d'Annaba et de Skikda, et que la période de reproduction de *P. cultrifera* est courte et a lieu durant les mois d'Avril et de Mai. Les paramètres morphométriques (Poids, taille, nombre de sétigères, diamètre ovocytaire) sont plus importants chez les femelles de *P. cultrifera* récoltées au niveau de la manche française par rapport a ceux du littoral algérien.

-Une approche biochimique par l'étude quantitative des métabolites ovocytaires montre des teneurs faibles en protéines, glucides, et lipides au niveau des sites pollués (Annaba et Skikda) comparativement à El-kala. Concernant L'analyse du taux des vitellogénines et des vitellines : constituants des réserves nutritives accumulées dans l'ovocyte au cours de sa croissance chez *P. cultrifera* a révélé une inhibition de la synthèse de ces paramètres au niveau des sites pollués

L'étude quantitative des acides nucléiques (ADN et ARN ovocytaires) montre des teneurs faibles en ADN au niveau des sites pollués (Annaba et Skikda) comparativement à El-kala. En outre, l'analyse quantitative du taux d'ARN révèle une induction de sa synthèse.

L'analyse écotoxicologique de l'activité spécifique de l'AChE révèle une forte inhibition de cette enzyme, qui témoigne d'une neurotoxicité chez les individus récoltés au niveau des deux sites pollués (Annaba et Skikda), par contre une induction de l'activité enzymatique de la GST a été enregistrée au niveau de ces derniers et qui également dûe au stress environnemental.

L'analyse histologique démontre une ovogenèse asynchrone où les ovocytes issus des femelles matures provenant du deux sites pollués (Annaba et Skikda) sont légèrement de plus faibles diamètres et les signes de vitéllogénèse active sont de faibles intensités.

-L'étude immunogénétique des populations de *P. cultrifera* du littoral Algérien et de la Manche française a montré : d'une part la présence des trois types de cellules : Cœlomocytes types I, II, et III. La présence de ces cellules immunitaires nous a permis d'évaluer la qualité du milieu, et d'autre part, le cyt-b est l'amorce spécifique de ces espèces et l'étude phylogénétique avec le gène cyt-b a révélé un mélange entre les individus des deux populations.

Mots clés: *Perinereis cultrifera*, Reproduction, littoral Est-algérien, manche, Cœlomocytes, Ovocytes, Stress environnemental, Dosage biochimique.

6. Abstract

Among the species of commercial interest, the polychaete *Perinereis cultrifera* locally known vernacular name rock worm is the species most sought. Because of its geographical distribution, it interests the countries of the Atlantic coast (France, Portugal) and Mediterranean (Algeria, France, Italy, Tunisia).

The aim of this study is to compare the patterns and breeding seasons, biological, genetic and immunological characteristics in *P. cultrifera* the Algerian coast and the coast of the French round to assess the quality of marine ecosystems (level of marine pollution) and to study the phylogeny and immunity of these sibling species, in this comparative study of populations of *P. cultrifera* present respectively in coastal eastern Algeria in the Mediterranean and Atlantic Channel, we selected six stations: three stations located in the east coast of Algeria in the Mediterranean: El Mordjène (El-Kala), St. Cloud (Annaba), Stora (Skikda) and three stations at the coast of the French round: Saint pabu, St. Aubin and Roscoff and that during the period extending from January 2012 to December 2013. A reproduction study using three approaches have been maintained in the present work:

-An ecological approach shows that biodiversity polychaete annelids in the three sites (El-Kala, Annaba, Skikda) of the Algerian coast during two years 2012 and 2013 has allowed us to identify five species: *Perinereis cultrifera*, *Perinereis macropus*, *Nereis falsa*, *Platynereis dumerilii* and *Nereis diversicolor* belonging to the family of nereididae besides other polychaete families identified: Aphroditidae, Spionidae, Terebellidae, and Lumbrineridae and species of fauna and associated flora have been identified. Analysis of physico-chemical parameters of seawater indicates indifference between the three sites to the temperature, pH, salinity, dissolved O₂ levels.

-A Morphometric approach showed a biological impact of environmental pollution on the growth and the oocyte diameter in females Annaba and Skikda, and the breeding of *P. cultrifera* is short and takes place during the months April and May. The morphometric parameters (weight, size, number of sétigères, oocyte diameter) are greater in females of *P. cultrifera* harvested at the French round compared to those of the Algerian coast.

-A Biochemical approach for the quantitative analysis of metabolites oocyte shows low levels of protein, carbohydrates, and lipids at polluted sites (Annaba and Skikda) compared to El-Kala. The analysis concerning the vitellogénines rates and yolk: constituents nutrient reserves accumulated in the oocyte during its growth in *P. cultrifera* revealed inhibition of the synthesis of these parameters at polluted sites.

-The quantitative study nucleic acids (DNA and RNA oocyte) shows low levels of DNA at polluted sites (Annaba and Skikda) compared to El-Kala. In addition, the quantitative analysis of RNA levels reveals induction of its synthesis.

-The ecotoxicological analysis of specific AChE activity revealed a strong inhibition of this enzyme, which shows a neurotoxicity in individuals collected at both polluted sites (Annaba and Skikda) by induction against the enzymatic activity of GST was registered at the customer, and due to environmental stress.

-Histological analysis demonstrated an asynchronous oogenesis where oocytes from mature females from two polluted sites (Annaba and Skikda) are slightly smaller diameters and signs of active yolk are low intensities.

-The Study Immunogenetics populations of *P. cultrifera* the Algerian coast and the French Channel showed: firstly the presence of three types of cells: coelomocytes types I, II, and III. The presence of these immune cells enabled us to evaluate the quality of the environment, and secondly, the cytochrome-b is the specific primer of these species and phylogenetic study with the cytochrome-b gene revealed a mixture between individuals of the two populations.

Keywords: *Perinereis cultrifera*, Reproduction, Algerian eastern coast, French round, Cœlomocytes, oocyte, environmental stress, Biochemical analysis.

6. ملخص

من بين الأنواع ذات الأهمية التجارية متعددة الأشواك *perinereis eultrifera* ، تعرف محليا باسم دودة الصخر و هي النوع الأكثر طلبا نظرا لتوزيع الجغرافي لها فهي محل اهتمام بلدان الضفة الاطلنطية (فرنسا ، البرتغال) و دول البحر المتوسط (الجزائر ، فرنسا ، ايطاليا ، تونس)

الهدف من هذه الدراسة هو مقارنة أنماط و مواسم التكاثر ، الخصائص البيولوجية ، الجينية و المناعية الموجودة على مستوى الساحل الجزائري و المانش الفرنسي بهدف تقييم جودة النظم الايكولوجية البحرية (مستوى التلوث) لهذا الغرض اخترنا ست محطات : ثلاثة تقع على مستوى الساحل الجزائري في البحر المتوسط القالة (المرجان) عنابة (سنكلود) و سكيكدة (ستورة) و ثلاثة تقع على مستوى المانش الفرنسي و هي (سانت بابي ، سانت أوبان ورسكوف) خلال الفترة الممتدة ما بين جانفي 2012 إلى ديسمبر 2013.

- الدراسة الايكولوجية و من خلال دراسة تنوع الديدان الحلقية متعددة الأشواك المتواجدة في مواقع الدراسة الثلاث (القالة ، عنابة ، سكيكدة) خلال سنتين من الدراسة (2012،2013) تمكنا من تحديد هوية 5 أنواع وهي : *N, Perinereis cultrifera, Perinereis macropus, Nereis falsa, Platynereis dumerilii* و *diversicolor* تنتمي إلى عائلة (Nereididae) إضافة إلى عائلات أخرى من متعددة الأشواك Aphroditidae, Lumbrineridae (Spionidae, Terebellida) و كذلك الحيوانات و النباتات المشتركة مع *p.cultrifera* تحليل البيانات الفزيوكيميائية لماء البحر بين انه لا يوجد اختلاف كبير بالنسبة (الحرارة ، الحموضة ، الأوكسجين ، و الملوحة)

- الدراسة المورفولوجية و البيولوجية بينت تأثير التلوث على قطر بويضات اناث الموقعين (عنابة ، و سكيكدة) و ان وقت التكاثر لـ *p.cultrifera* هو قصير و يكون ما بين شهري أفريل و ماي ، معايير المورفولوجية (اللون ، الحجم ، عدد الأشواك) قطر البويضات (اكبر واهم لـ *p.cultrifera* الموجودة في الماتس الفرنسي مقارنة بالموجودة بالساحل الجزائري

- الدراسة البيوكيميائية الكمية تظهر مستويات منخفضة لكل من (البروتينات ، السكريات ، الدهون) في عنابة و سكيكدة) مقارنة بالقالة .

التحليل الكمي للحمض النووي ADN بين انخفاض نسبته في الموقعين الملوثنين (عنابة و سكيكدة) أما التحليل الكمي للـ ARN بين تنشيط تركيبه

الدراسة الايكوتكسيكولوجية بينت ان تحليل النشاط الانزيمي للـ AChE يوضح تثبيط فوى لهذا الاخير في الموقعين الملوثنين (عنابة ، سكيكدة) أما تحليل النشاط الانزيمي للـ GST بين تنشيط هذا الاخير في الموقعين الملوثنين (عنابة ، سكيكدة)

أما الدراسة الهستولوجية فقد أظهرت تشكيل بويضي (افوجينيز) متزامن أين البويضات الناتجة عن الإناث الناضجة الصادرة من الموقعين الملوثنين عنابة و سكيكدة تتميز بقطر أصغر بقليل و علامات نشاط فيتيلوجينيزي ذو كثافة منخفضة

الموجودة بالساحل الجزائري و المانش الفرنسي بينت وجود ثلاثة انواع من *P, cultrifera* الدراسة الجينومناعية لوجود هذا النوع من الخلايا المناعية يسمح بتقييم نوعية الوسط (I , II , III السيلوموسيت) نوع

-الدراسة الجينية فيما يخص *p.cultrifera* المتواجدة في الساحل الجزائري و المانش الفرنسي بينت أن B cytochrome هي الأشعال المحددة بالنسبة لـ *p.cultrifera* و دراسة التشوه و التطور للدينان مع cyt-b كشف عن وجود خليط بين أفراد الساحل الجزائري و المانش الفرنسي .

الكلمات المفتاحية :

Perinereis cultrifera ، التكاثر ، الساحل الجزائري ، سيلوموسيت ، البويضات ، تلوث المحيط

**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

7. Références bibliographiques

- Aarab N., 2004.** Les biomarqueurs chez les poissons et les bivalves : de l'exposition à l'effet et du laboratoire au terrain. Thèse de Doctorat. Univ. Bordeaux 1. 234p.
- Afli A., Ben Mustapha K., Jarboui O., Bradai M. N., Hattour A., Langar H., Sadok S., 2005.** La biodiversité marine en tunis. Ministère de l'environnement et du développement durable, ministère de la recherche scientifique, de la technologie et du développement des compétences, *Amsterdam*, **12**: 173-177.
- Albentosa M., Fernandez-Reiriz M.1., Perez-Camacho A., Labarta U., 1999.** Growth performance and biochemical composition of *Ruditapes decussatus* (L.) spat fed on microalgal and wheatgerm flour diets. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **232**: 23-37.
- Alioua A., Maizi N., Semadi F., Tahar A., Kahoul M., 2008.** Détection et étude de la pollution mercurielle à l'aide des Bioindicateurs dans la region d'Azzaba (Algérie Orientale). *European journal of scientific research*, **24(1)** : 12-22 pp.
- Allouti N., 2011.** Etude biologique de deux néreidés : *Pernereis cultrifera* et *Nereis falsa* (Annélides, Polychètes) dans l'est algérien (El-kala) : cycle de reproduction, activité biochimique et enzymatique. Mémoire de magister. Option : Ecotoxicologie. Université d'Annaba. 87p.
- Amira A., Sifi K., Soltani N., 2011.** Measure of environmental stress biomarkers in *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba (Algeria). *European Journal of Experimental Biology*, **1(2)**:7-16.
- Anderson D.T., 1973.** Embryology and phylogeny in annelids and arthropods. International series of monographs in pure and applied biology, *New York, Pargamon Press*.
- Ansell A.D., Frenkiel L. Moueza M., 1980.** Seasonal changes in tissue weight and biochemical composition for the Bivalve *Donax trunculus* L. on the Algerian Coast. *J. Exp. Mar. Bio/. Ecol*, **45**: 105-116.
- Andreis J. C., 2001.** Endocrine and environmental control of reproduction in Polychaeta. *Can. J. Zool.*, **79**: 254-270.
- Audouin J.V., Milne Edwards H., 1833.** Classification des Annélides, et description de celles qui habitent les côtes de la France. *Annales des Sciences Naturelles*, **29**: 195-269.
- Ayari R., Afli A., 2003.** Bionomie benthique du petit golfe de Tunis. *Bulletin de l'Institut National des Sciences et Technologie de la Mer de Salammbô*, **30**: 79-87.
- Ayari R., Afli A., 2008.** Functional groups to establish the ecological quality of soft benthic fauna within Tunis Bay (Western Mediterranean). *Vie et Milieu*, **58**: 67-75.

- Ayari R., Muir A., Aissa P., Paterson G., Afli A., 2009.** An updated list of Polychaetous annelids from Tunisian coasts (Western Mediterranean Sea). *Cahier de Biologie Marine*, **50**: 1–13.
- Bachari-Houma F., 2011.** Monitoring et étude de la pollution dans les eaux marines et les sédiments superficiels de la côte algéroise: modélisation et impact sur l'environnement. *Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral*, 23p.
- Baert J.L., 1986.** Vitelline et Organisation de la vitellogenèse protéique chez *Perinereis cultrifera* (Annélide Polychète), Université des Sciences et Techniques de Lille Flandres Artois, thèse de doctorat en sciences naturelles.
- Ballesteros E., 2003.** The coralligenous in the Mediterranean. RAC-SPA editor, Tunisia, *under press*, 104 p.
- Barbault R., 1981.** Ecologie des populations et des peuplements. *Ed. Masson, Paris*, 200p.
- Barber B.J., Blake N.L., 1981.** Energy storage and utilization in relation to gametogenesis in *Argopecten irradians concentricus* (Say). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **52**:121-134.
- Bartolomaeus T., Purschke G., Hausen, H., 2005.** Polychaete phylogeny based on morphological data- a comparison of *current attempts*. *Hydrobiologia*, **535/536**: 341-356.
- Baskin D.G., 1974.** The coelomocytes of Nereid polychaetes. *In Contemporary topics in immunobiology. Edited by Cooper Plenum Publishing Corp*, New York. pp. 55
- Bauchot-Boutin M.L., Bobin G., 1954.** Modifications hétéronéréidiennes des parapodes, des soies et des bulbes sétigères chez *Perinereis cultrifera* (Grübe) (Annélide Polychète). *Arch. Anat. Micr. Morph. Exp.*, **43**: 137-162 pp.
- Beart J.L., Slomianny M.C., 2011.** Vitellin accumulation and vitellogenin synthesis in relation to oogenesis in *Perinereis cultrifera* (Polychaeta Annelida). 121 – 128.
- Baert J.L., 1985.** *Multiple forms of vitellin in young oocytes of Perinereiscultrifera (Polychaete annelid): occurrence and relation to vitellin maturation in the oocyte. Comp. Biochem. Physiol.*, **81B** : 851-856.
- Baert J.L., 1986.** Vitelline et Organisation de la vitellogenèse protéique chez *Perinereis cultrifera* (Annélide Polychète), Université des Sciences et Techniques de Lille Flandres Artois, thèse de doctorat en sciences naturelles.
- Baert J.L., Sautiere P., Porchet M., 1984.** Purification And characterization of oocyte vitellin From, *Perinereis cultrifera* (polychaete Annelide) *Eur.j.Biochem.***142**:527-532.
- Baert J.L., Slomianny M.X., 1987.** Heterosynthetic origin of the major yolk protein, vitellin, in a nereid, *Perinereis cultrifera* (Polychaète annélide). *Comp. Biochem. Physiol.*, **88B**, 1191-1199.

- Belabed S., 2013.** Toxicité aigüe du Cadmium à l'égard de *Donax trunculus* en condition de laboratoire: paramètres de létalité, pharmacocinétique et mesure de biomarqueurs durant l'exposition et la restauration. Thèse en vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat, Université Badji Mokhtar- Annaba-, 120p.
- Belkadi N., Kharaaf S., 2004.** Traitement des eaux usées industrielles. Mémoire d'ingénieur d'état en Chimie Analytique. Université de Skikda, 66p.
- Bellan G., 1961.** Contribution à l'étude des Annélides Polychètes de la région de Luc-surmer. *Bulletin de la Société Linnéenne de Normandie*, **10**: 87–100.
- Bellan-Santini D., Lacaze J.C., Poizat C., 1994.** Les biocénoses marines et littorales de Méditerranée, synthèse, menaces et perspectives. *Collection Patrimoines Naturels. Volume n°19. Série patrimoine écologique. Muséum National d'Histoire Naturelle*, 1-246.
- Ben Bouih H., 2000.** Contribution à l'évaluation de la pollution métallique des zones humides de la région du Gharb, cas du lac Fouarat. Thèse de Doctorat, Université Ibn Tofaïl, kénitra, 200p.
- Benchikh N., 2009.** Etude de la croissance et cycle de reproduction de la moule *Perna perna* dans le golf d'Annaba et le littoral d'El Kala. Thèse de Magister, Université Badji Mokhtar-Annaba-, 99p.
- Beninger 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. philippinarum*) reared in a common habitat. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 81B, No. 3, pp. 591-601.
- Bentayeb I., Mechtouf M., 2007.** Evaluation du niveau de pollution des effluents du complexe de raffinage de Skikda (RA1K). *Mémoire d'ingénieur d'état en Ecologie et Environnement. Université de Constantine*, 125p.
- Benzohra M., 1993.** Les structures hydrodynamiques le long des côtes Algérienne. Dans circulation des eaux et pollution des côtes méditerranéennes des pays du Maghreb, Rabat.
- Beri M., 1988.** Degranulation des coelomocytes au cours des reactions immunitaires d'un invertébre marin: *Nereis diversicolor* (Annelide polychète). Caractérisation des coelomocytes d'après leurs récepteurs membranaires, identification et rôle biologique des produits extrudés. Thèse de doctorat, Université des sciences et technique de lille flandres artois.
- Bergeron R., Regnault J.P., 1980.** Reproduction et développement collection Biomoduls Edition études vivantes. Monreale, Paris, **28** : 19-28.
- Bigot L. Amoureux J.M., 2008.** Définition de l'état de référence et contrôle de surveillance des masses d'eau de transition (MET)-*Directive Cadre sur l'Eau-Martinique 2008. Analyse de la macrofaune de substrat meuble. Rapport Equilibre/LOBB pour le compte d'Impact-Mer*, 22p.

- Blanchette B. N. & Singh B. R., 1999.** Purification and characterization of the glutathion S-transferases from the northern quahog *Mercinaria mercinaria*. *Marine Biotechnology*, **1** : 74-80.
- Blandin P., 1986.** Bio-indicateurs et diagnostic des systèmes écologiques. *Bull. Ecol.*, **17**: 211-307.
- Blondel J., 1979.** Biogéographie et écologie. Ed, *Masson*, Paris, 173p.
- Blondel J., 1975.** L'analyse des peuplements d'oiseaux. Elément d'un diagnostic écologique .la méthode d'échantillons fréquentiels progressif (E.F.P), *Ecol. (Terre et Vie)*, **29(4)** :533-589.
- Bocquené G., 1996.** L'acétylcholinestérase, marqueur de neurotoxicité. Application à la surveillance des effets biologiques des polluants chez les organismes marins. Thèse Doct., Ecole Pratique des Hautes Etudes :250p.
- Bocquené G., Galgani F., Walker C.H., 1997.** Les cholinesterases, biomarqueurs de neurotoxicité In Biomarqueurs en Ecotoxicologie: *Aspects Fondamentaux*. *Masson, Paris*, pp. 209-240
- Bocquené G., Galgani F., 2004.** Les marqueurs biologiques des effets des polluants : l'acétylcholinestérase. France, IFREMER. 27 p.
- Bolton R. M., Ahokas J. T., 1997.** Purification and characterization of hepatic glutathione transferases from an insectivorous marsupial, the brown antechinus *Antechinus stuartii*. *Xenobiotica*, **27(6)**: 573-586.
- Bordjiba O., Bekhouche F., Hassaine A., Djenidi R., 2009.** Impact de la Pollution Par Les Hydrocarbures Sur la Qualité des Eaux Usées Dans la Région de Skikda (Nord-Est Algérien). *European Journal of Scientific Research*, **26(1)**: 87-97.
- Bordjiba O., Bekhouche F., Hassaine A., Djenidi R., 2009.** Impact de la pollution par les hydrocarbures sur la qualité des eaux usées dans la région de Skikda (Nord-Est Algérien). *European journal of scientific research*, **26(1)** : 87-97 pp.
- Borgeraas J., Nilsen K., Stenersen J., 1996.** Methods for purification of glutathione transferases in the earthworm genus *Eisenia*, and their characterization. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **114(2)**: 129-140.
- Boudouresque C.F., 1996.** Impact de l'homme et conservation du milieu marin en Méditerranée. *GIS Posidonie publ.*, 2^{ème} édit., *Marseille*, 1-243.
- Boumaza., F.A., 2014.** Évaluation de l'état de santé des eaux du golfe d'Annaba à travers un Mollusque Gastéropode *Patella caerulea* (L., 1758) : paramètres écologiques et biochimiques. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba.163pp.
- Boutefnouchet N., Bouzerna N., Chettibi H., 2005.** Assessment of the petrochemical industry pollution on the Skikda Bay, Algeria.*Int. J. Environ. Res. Public Health*, **2(3)**: 463-468 pp.

- Bouzeraa N., Abbes A., Soltani N., 2004.** Analyse des protéines chez trois espèces de bivalves vivant dans des milieux différents, la lagune El Mellah et le Golfe d'Annaba. *Bult. Inst. Nat. Sc. Tec. Mer. Actes des 7ème journées de l'INSTM N° 9. Tunisie, 2004*, **9**: 97-100.
- Bradford M.M., 1976.** A rapid and sensitive methods for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principe of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**: 278-254.
- Bremond R., Vuichard R., 1973.** Paramètres de la qualité des eaux, *Ministère de la protection de la nature et de l'environnement, SPEPE*, Paris, 179 p.
- Brusca R.C., Brusca G.J., 1990.** Invertebrates. Sinauer Associates. Inc., *Sunderland, Mass.* 1-10p.
- Burgeot T., Bocquene G., Pingray G., Godefroy D., Legrand J., Dimeet J., Marco F., Vincent F., Henocque Y., Jeanneret H.O., 1994.** Monitoring biological effects of contamination in marine fish along French coasts by measurement of ethoxyresorufin O-deethylase activity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **29**:131-147.
- Burton A., 1956.** Study of the condition and mecanisme of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of desoxyribonucleic acid. *Biochimy*, **62**: 315-323.
- Cabioch L., L'Hardy J.P., Rulier F., 1968.** Inventaire de la faune marine de Roscoff - Annélides. Editions de la station marine de Roscoff, 1-98pp.
- Caner F., 1981.** Contribution à l'étude biochimique de l'ovogénèse de *Perinereis cultrifera* Annélide Polychète, 92 p.
- Caro L.G., Palade G.E., 1964.** Protein sunthesis storage and discharge in the pancreate exocrine cells. An autorariographic study. *J. Cell. Bio*, **20**: 473-495 pp.
- Castelli A., Bianchi C.N., Cantone G., Çinar M.E., Gambi M.C., 2008.** Annelida Polychaeta. *Biologia Marina Mediterranea*, **15 (1)** : 323-373.
- Cazaux C., 1965.** Evolution de *Perinereis cultrifera* (Grübe) au cours d'un cycle annuel à *Procès-Verbaux de la Société Linnéenne de Bordeaux*, **101** : 1-18.
- Chatterjee S., Bhattacharya S., 1984.** Detoxification of indutrial polluantsbtheglutathione-S-transferase system in the liver of Anabas testudineus (Bloch). *Toxicol. Lett*, 187-198 pp.
- Çinar M.E., Altun C., 2007.** A Preliminary Study on the Population Characteristics of the Lessepsian Species *Pseudonereis anomala* (Polychaeta: Nereididae) in Skenderun Bay (Levantine Sea, Eastern Mediterranean). *Turkish Journal of Zoology*, **31**: 403-410.
- Claparède E., 1870.** Les annelides chétopodes du Golfe de Naples 1re partie. *Mémoires de la Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève*, **20**:1-225.

- Cooper T.L., Lemi C.A., mooret C.j., 1994.** Agglutinins and cellular immunity in earthworms, *Ann.N.Y. Acad.Sci*, 234-50.
- Cossu C., Doyotte A., Jacquin M. C. Vasseur P., 1997.** Mécanismes de formation et effets des espèces réactives de l'oxygène. In Ramade F. (Ed), *Biomarqueurs en Ecotoxicologie : Aspects fondamentaux. Masson, Paris*, 125-147.
- Daas-Maamcha. O., 2005.** Etude biologique de deux espèces de Myriapodes Chilopodes: *Eupolybothrus nudicornis* et *Lithobius forficatus*. Effets de traitements hormonaux et insecticides sur l'ovogenèse. PhD thesis, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria.
- Dakhama A., 1983.** Contribution à l'étude cytophysiologique de l'intestin des Néréidiens (Annélides Polychètes). Thèse 3ème Cycle, LILLE.
- Dakki M., 2004.** Programme d'Aménagement Côtière en Méditerranée marocaine : Etude de faisabilité. *Ministère de l'Aménagement du Territoire, de l'Eau et de l'Environnement. Royaume du Maroc*, 85 pp.
- Dales R.P., 1964.** The coelomocytes of the terebellid polychaete *Amphitrite johnstoni*. *Quart. J. Microscop. Sci. GE*, **105** : 263-279 pp.
- Dales R.P., and Dixon, L.R.J. 1981.** Polychaete. In *Invertebrate blood cells*. Edited by N.A. Ratcliffe and A.F. Rowley. Vol. 1. *Academic Press*, New York, 35–74 pp.
- Dales R.P., 1961.** The coelomic and Peritoneal Cell Systems of some Sabellid Polychaetes. *Quart. J. Microscop. Sc*, **102** : 327-346 pp.
- Damerdji A., Ladjmi L., Doumandji S., 2005.** Malacofaune associée à *Rosmarinus officinalis* L. (Labiatae) : inventaire et aperçu bioécologique près de Mansourah (Tlemcen, Algérie). *Revue science et technologie*, **23** : 11-20.
- Dauvin J.C., Bachelet G., Bellan G., 2006.** Biodiversity and biogeographic relationships of the polychaete fauna in the Atlantic and Mediterranean French waters. *Scientia Marina*, **70(S3)**: 259-267.
- Dauvin J.C., Dewarumez J.M., Gentil F., 2003.** Liste actualisée des espèces d'Annélides Polychètes présentes en Manche. *Cahiers de Biologie Marine*, **44**: 67-95.
- Davis W. R., 1993.** The role of bioturbation in sediment resuspension and its interaction with physical shearing. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*, **171**: 187-200.
- Dehorne A., 1930.** La grande vacuole des éléocytes chez les Néréides, les néphroé léocytes. *Cornp. Rend. Soc. Biol*, **103** : 663-665 pp.
- Delaunay F., Marty J., Moal J., Samain, J.F., 1993.** The effect of onospecific algal diets on growth and fatty acid composition of *Pecten maximus* (L). larvae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*, **(173)**:163–179.

- Dellali M., Gnassla-Barelli M., Rome O.M., Aissa P., 2001.** The use of achetylcholinesterase activity in *Ruditapes decussatus* and *Mytillus galloprovincialis* in the biomonitoring of Bizerta lagoon. *Comparative Biochemistry and Physiology Part*, **130** : 227-235.
- Dellali M., Gnassla-Barelli M., Rome O.M. Aissa P., 2001.** The use of achetylcholinesterase activity in *Ruditapes decussatus* and *Mytillus galloprovincialis* in the biomonitoring of Bizerta lagoon. *Comp. Biochem. Physiol*, **130(C)**: 227-235.
- Dhainaut A., 1970.** Contribution à l'étude de la gamétogenèse des Néréidiens dans les conditions naturelles et en l'absence d'hormone cérébrale. Thèse de Doctorat en Science Naturelles, Université de Lille, 293 pp.
- Dhainaut A., 1966.** Etude ultrastructurale de l'évolution cytoplasmique au cours des premiers stades de l'ovogénèse chez *N. pelagica* . *C.R.Acad. Sci. Paris*, **262** :2616-2649
- Dhainaut A., 1984.** Oogenesis in polychaetes. Ultrastructural differentiation and metabolism of nereid oocytes. *Fortschr. Zool*, **29**:183-205.
- Dhainaut A., Porchet M., Fischer A., Baert J.L., 1984.** Biochemical and metabolic aspects of oocyte differentiation in Nereids Annelida Polychaeta. *Adv. Invert. Reprod*, **3** : 3-16.
- Dhainaut, A., Porchet-Henneré E., 1988.** Haemocytes and coelomocytes. In The ultrastructure of the Polychaeta. Edited . *Westheide*. New York. pp. 215–230.
- Dotan Y., Lichtenberg D., Pinchuk I., 2004.** Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Progress in Lipid Research*, **43**: 200-227.
- Downs C.A., Fauth J.E., Robinson C.E., Curry R., Lazendorf B., Halas J.C., Halas J., Woodley C. M., 2005.** Cellular diagnostics and coral health : declining coral health in the Florida keys. *Mar. Pollut. Bull*, **51**: 558-569.
- Durchon M., Lafon M., 1951.** Quelques données biochimiques sur les Annélides. *Ann. des Sc. Nat., Zool., 11^{ème} série*, XIII, 427-452 pp.
- Durchon M., 1955.** Sur le polymorphisme présenté par quelques Néréidiens (Annélides Polychètes) au moment de leur reproduction. *Bull. Soc. Hist. Nat. De l'Afrique du Nord*, **46** : 180-193 pp.
- Durchon M., 1967.** L'endocrinologie des Vers et Mollusques. *Ed. Masson, Paris*.
- Durou C., Mouneyrac C., 2007.** Linking steroid hormone levels to sexual maturity index and energy reserves in *Nereis diversicolor* from clean and polluted estuaries. *General and Comparative Endocrinology*, **150** : 106-113.
- Durou C., Mouneyrac C., Amiard-Triquet C., 2008.** Environmental quality assessment in estuarine ecosystems : Use of biometric measurements and fecundity of the ragworm *Nereis diversicolor* (Polychaeta, Nereididae). *Water Research*, **42**: 2157-2165.
- Durou C., Poirier L., Amiard J. C., Budzinski H., Gnassia-Barelli M., Lemenach K., 2007.** Biomonitoring in a clean and multi-contaminated estuary based on biomarkers and

- chemical analyses in the endobenthic worm *Nereis diversicolor*. *Environ. Pollut*, **148** : 445-458.
- Durou C., Smith B.D., Roméo M., Rainbow P.S., Mouneyrac C., Mouloud M., Gnassia-Barelli M., Gillet P., Deutch B., Amiard-Triquet C., 2006.** From biomarkers to population responses in *Nereis diversicolor* : assessment of stress in estuarine ecosystems. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **66** : 402-411.
- Durou C., Smith B.D., Roméo M., Rainbow P.S., Mouneyrac C., Mouloud M., Gnassia-Barelli M., Gillet P., Deutch B., Amiard-Triquet C., 2007b.** From biomarkers to population responses in *Nereis diversicolor* : Assessment of stress in estuarine ecosystems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **66**, 402-411.
- Durou C., Poirier, L., Amiard, J.C., Budzinski, H., Gnassia-Barelli, M., Lemenach, K., Peluhet, L., Mouneyrac, C., Romeo, M., Amiard-Triquet, C., 2007a.** Biomonitoring in a clean and a multi-contaminated estuary based on biomarkers and chemical analyses in the endobenthic worm *Nereis diversicolor*. *Environ. Pollut*, **148**,445–458
- Dutrioux E., Martin F., Guéloret O., 1989.** Oil pollution and Polychaeta in an estuarine mangrove community. *Oil and Chemical Pollution*, **5**: 239 262.
- Eckelbarger K.J., 1976.** Origin and development of the amoebocytes of *Nicolea zoa Zuicora* (Polychaeta : Terebellidae) with a discussion on their possible role in oogenesis. *Marine Biol*, **36**:169-182.
- Eldredge N., 1998.** Life in the Balance. Humanity and the Biodiversity Crisis. *Princeton*.
- Ellman G.L., Courtney K.D., Andreas V., Featherstone R.M., 1961.** A new and rapid colorimetric determination of AChE activity. *Biochemical Pharmacology*, **7**: 88-95.
- Engelmann L., 2005.** Transmembrane homodimerization of receptor-like protein tyrosine phosphatases" Chin CN, Sachs JN and Engelman DM *FEBS Letters* (2005) **579**(17), 3855-8.
- Fabre J.H., 1855.** Recherche sur l'anatomie des organes reproducteurs sur le développement des Myriapodes. *Ann. Sci-Nat. Zool*, 4^{ème} série **3**.
- Fauchald K., Jumars P.A., 1979.** The diet of worms : a study of polychaete feeding guilds. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* **1**: 193-284.
- Fauvel P., 1959.** Classe des Annélides Polychètes. *Traité de Zoologie de P.P. Grassé. Masson* Tome V - Fasc. **1**: 13-196 pp
- Fernandez-Reiriz M.J., Labarta, M., Albentosa A., Perezcamacho A., 1998.** Effect of microalgal diets and commercial wheatgermflours on the lipid profile of *Ruditapes decussatus spat*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **119A**: 369-377.
- Fidalgo E., Costa P., 1999.** Reproduction and growth in captivity of the Polychaeta *Nereis diversicolor* (O. F. Müller, 1776), using two different kinds of sediment: Preliminary assays. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, **15** (1-4): 351-355.

- Fischer A., Dorresteiijn A., 2004.** The polychaete *Platynereis dumerilii* (Annelida): a laboratory animal with spiralian cleavage, lifelong segment proliferation and a mixed benthic/pelagic life cycle, *Bio Essays*, **26** : 314-325.
- Fischer A., 1979.** *Naturwissenschaften*, **66** : S 316.
- Fitzpatrick P.J., Sheehan D., 1993.** Separation of multiple forms of glutathione S-transferases from the blue mussel. *Mytilus edulis.*, *Xenobiotic*, **23**: 851-861.
- Fitzpatrick P.J., Krag T.O.B., Hojrup P., Sheehan D., 1995.** Characterization of a glutathione S-transferases and a related glutathione-binding protein from gill of the blue mussel, *Mytilus edulis*. *Biochemical Journal*, **305**: 145-150.
- Foley V., Sheehan D., 1998.** Glutathione S-transferases of the yeast *Yarrowia lipolytica* have unusually large molecular mass. *J Biochem*, **333**: 839–845.
- Fontaine F., 1982.** Les lipides coelomiques chez *Perinereis cultrifera* Grube. Thèse. 3ème cycle : Biol. du dévelop. et de la reprod. : Lille 1 ; 958.
- Fossi M.C., Minutoli R., Guglielmo L., 2001.** Preliminary results on biomarker responses in zooplankton of brakish environments. *Mar. Pollut. Bull*, **42**: 745-748.
- Freites L., Labarta U.y., Fernández-Reiriz M.J., 2002a.** Evolution of acid profiles of subtidal and rocky shore mussel seed (*Mytilus galloprovincialis*, Lmk.). Influence of environmental parameters. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*, 268: 185-204.
- Fulton M., Key P.B., 2001.** Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticides exposure and effects. *Environ. Toxicol. Chem*, **20** : 37-45.
- Galloway T.S., Depledge M.H., 2001.** Immunotoxicity in invertebrates: measurement and ecotoxicological relevance. *Ecotoxicology*, **10**: 5-23.
- Gambi M.C., Cigliano M., 2006.** Observations on reproductive features of three species of Eunicidae (Polychaeta) associated with *Posidonia oceanica* seagrass meadows in the Mediterranean Sea. *Scientific Advances In Polychaete Research. Scientia Marina.*, 301-308 pp.
- Garcia-Alonso J., Hoeger U., Rebscher N., 2006.** Régulation of vitellogenesis in *Nereis virens* (Annelida: Polychaeta). Effect of estradiol-17 on eleocytes, *Comp. Biochem. Physiol. A: Mol. Integr. Physiol.* **143 (1) (2006)** :55-61.
- Garrec J.P., Van Haluwyn C., 2002.** Biosurveillance vegetale de la qualite de l'air. Tec, Doc, Paris. 117p.
- Gasmi H., 2010.** Effet du stress environnemental sur la biodiversité et la physiologie d'un bioindicateur de pollution *Perinereis cultrifera* (Annélide, Polychète) , Aspects biologie, morphométrique, et biochimique. Thèse de Magistère en biologie et physiologie animale option Ecotoxicologie Université d'Annaba, 99p.

- George S., Young., 1988.** Turbulence Structure of the Convective Boundary Layer. Part II. Phenix 78 Aircraft Observations of Thermals and Their Environment. *J. Atmos.Sci.*, 45, 727–735.
- George S.G., 1994.** Enzymology and molecular biology of phase II xenobiotic-conjugating enzymes in fish. In: Malins D. C. Ostrander G. K. *Aquatic Toxicology*. Lewis, Boca Raton FL, USA, 37-85.
- Gilles B., 2007.** Biodiversité et fonctionnement des écosystèmes aquatiques. Laboratoires Arago, Banyuls, UMR 7628, CNRS, UPMC.
- Gillet P., Mouloud M., Durou C., Deutsch B., 2008.** Response of *Nereis diversicolor* population (Polychaeta: Nereididae) to the pollution impact, Authie and Seine estuaries (France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 76: 201-210.
- Gillet P., Torresani S., 2003.** Structure of the population and secondary production of *Hediste diversicolor* (O.F. Müller, 1776), (Polychaeta, Nereidae) in the Loire estuary, Atlantic Coast, France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 56, 621-628.
- Giménez S., Costa C., Espinet B., Solé F., Pujol R.M., Puigdecamet E., García-Moreno P., Sánchez J., Gallardo F., Estrach T., García-Muret P., Romagosa V., Serrano S., Servitje O., 2005.** Comparative genomic hybridization analysis of cutaneous large Bcell lymphomas. *Experimental Dermatology*, 12 : 883- 890.
- Glasby C.J., Glasby S.P., Pleijel F., 2008.** Worms by number. *The Royal Society B*:1-6.
- Goldsworthy G.J., Mordue W., Guthkelch J., 1972.** Studies on Insect adipokinetic hormones. *Gen. Comp. Endocrinol*, 18(3): 545 pp.
- Grimes S., 2003.** Bilan et Diagnostic National de la pollution marine de la côte algérienne liée à des activités menées à terre. Programme d’actions stratégie (PAS) destiné à combattre la pollution due à des activités menées à terre et de sa stratégie opérationnelle. *Rapport pam/pas med/medpol*.
- Grimes S., 2005.** Plan de gestion de l’aire marine du parc national d’El Kala, Projet MedMPA, PNUE, PAM, CAR-ASP.
- Grimes S., 2010.** Peuplement benthiques des substrats meubles de la côte Algérienne, Taxonomie, Structure et Statut écologique. Thèse de doctorat, Université d’Oran, Faculté des sciences. 362p.
- Grimes S., Boutiba Z., Bakalem A., Bouderbala M., Boudjllal B., Boumaza S., Boutiba M., Guedioura A., Hafferssas A., Hemida F., Kaidi N., Khelifi H., Kerzabi F., Merzoug A., Nouara A., Sellali B., Sellali-Merabtine H., Samroud R., Seridi H., Taleb M.Z., Taouahria T., 2004.** Biodiversité Marine et littorale Algérienne. ISBN 9961-9547-O-X. Ouvrage domicile au laboratoire « Réseau de surveillance environnementale ». Université Es Sénia, Oran : 361p.
- Grübe E., 1840.** Actinien, Echinodermen und Würmer des Adriatischen und Mittelmeers. *J.H. Bon, Königsberg*, 92 p.

- Gueddah D., Djebbar A.B., 2006.** Pollution par les métaux lourds du sédiment marin dans la region de Skikda (Algérie). *N° Spécial : 2^{ème} Colloque euro-méditerranéen de biologie de l'environnement.*
- Gueddah D., 2003.** Evaluation de la pollution industrielle et urbaine dans la region de Skikda: impact sur l'écosystème marin côtier. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Sciences de la Mer, Université Badji Mokhtar-Annaba-, 145p.
- Guemouda M., 2015.** Impact de la pollution par les hydrocarbures sur *Perinereis cultrifera* (Annélides, Polychètes) dans le littoral Est-Algérien. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Biologie, Université Badji Mokhtar-Annaba-, 282 p.
- Guemouda M., Meghlaoui Z., Daas T., Daas-Maamcha O., Scaps P., 2014.** Monitoring pollution in East Algerian coasts using biochemical markers in the polychaete annelid *Perinereis cultrifera*. *Annals of Biological Research*, **5** (2), p31
- Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B., 1974.** The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, **249**: 7130-7139.
- Halliwell B., Gutteridge J.M., 1999.** Free radicals in medicine and biology. *Oxford University press.*
- Hamza-Chaffai A., Roméo M., Gnassia-Barelli M., El abed A., 1998.** Effect of copper and lindane on some biomarkers measured in the clam *Ruditapes decussatus*. *B. Environ. Contam. Tox.*, **61**: 397-404.
- Harnish, D.G., White, B.N., 1982.** Insect vitellins: identification, purification and characterization from eight orders. *Journal of Experimental Zoology* **220**, 1–10.
- Harford A.J., O'Halloran K., Wright P.A., 2006.** Flow cytometric analysis and optimization for measuring phagocytosis in three Australian freshwater fish. *Fish & shellfish Immunology*, **20**: 562-573.
- Hceflcd A., 2007.** Haut Commissariat Aux Eaux Forêt et la Lutte Contre la Désertification, etude diagnostique de la zone humide AL Massira- Faija, cercle d'EL Brouj et Cercle de Settat (Maroc), 242p.
- Hildemann W.H., Cooper E.L. 1970.** Eds Symposium on the phylogeny of transplantation reactions, *Transplant; Proc*, 11-179 pp.
- Hinck J.E., Blazer V.S., Deuslow N.D., Echols E.R., Gross T.S., May T.W., Anderson P. J., Coyle J.J., Tillitt D.E., 2007.** Chemical contaminants, health indicators and reproductive biomarker responses in fish from the Colorado River and its tributaries. *Science of the Total Environment*, **378**: 376-402.
- Hoarau P., Gnassia-Barelli M., Roméo M., Girard J.P., 2001.** Differential induction of Glutathione S-Transferases in the clam *Ruditapes decussatus* exposed to organic compounds. *Environ. Toxicol. Chem.*, **20**: 523-529.

- Hoeger U., Rebscher N., Geier G., 1999.** Metabolite supply in oocytes of *Nereis virens* : Role of nucleosides. *Hydrobiologia*, **402** :163-174.
- Holland D.L., 1978.** Lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates. In : Malins. D.C.. Sargent. J.R, *Biochemical and biophysical perspectives in marine biology*. Academic Press, London, 85-123.
- Hong S.H., Park H.J., Kong K.H., 1999.** Purification and biochemical properties of glutathione S-transferase from *Oryza sativa*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **122**: 21-27.
- Hubiche J.L., 2002.** cahier indicateurs. edition loire estuaire cellule de mesures et de bilans. crédits photo: © 1997 photodisc. incichtyologiques en milieu estuarien. These de Doctorat. Univ. Bordeaux. 361 p.
- Hutchings P., 1998.** Biodiversity and functioning of Polychaeta in benthic sediments. *Biodiversity and Conservation*, **7**: 1133-1145.
- Jacob F., Monod J., 1961.** Genetic regulatry mechanisms in the sysnthesis of proteins. *J.Mol.Biol3*, 318 -356
- Jakboy B.W., Habig H.W., 1980.** Glutathione transferase In Enzymatic basis of detoxication (Eds.). By Jakboy, B.W. New York : *Academic Press.*, Vol II : 63-94.
- Jamieson J.D., Palade G.E., 1967.** Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. II. Transport to condensing vacuoles and zymogene granules. *J. Cell. Biol*, **34**: 597-615 pp.
- Jones C.G., Lawton J.H., 1995.** Linking species and ecosystems. Chapman & Hall, New-York.
- Kamisaka K., Habig W.H., Ketley J.N., Arias M., Jakoby W.B., 1975.** Multiple forms of human glutathione S-transferase and their affinity for bilirubin. *European Journal of Biochemistry*, **60(1)** :153-161.
- Kammenga J.E, Dllinger R., Donker H.M., Koheler H.R., Smonsen V., Triebskorm R., Weeks M.J., 2000.** Biomarkers in terrestrial invertebrates for ecotoxicological soil risk assesement. *Rev. Environ. Contam. Toxico*, **164**: 93-147.
- Kara L., 2007.** Contribution à l'étude de l'évaluation de la quantité physico-chimique des eaux de baignade de la côte larbi ben m'hidi (w. skikda). Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en écologie, Université de Constantine, 97p.
- Kavitha P., Venkateswara Rao J., 2007.** Pxidative stress and locomotor behaviour reponse as biomarkers for assessing recovery status of mosquito fish, *Gambusia affinis* after lethal effect of an organophosphate pesticide, monocrotophos. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **87**:182-188
- Klein J., 1989.** Are invertebrates capable of anticipatory immune responses? *Scand. J. Immunol*, **29**, 499.

- Knox G.A., 1977.** In Essays in Polychaetous Annelids in Memory of *Olga Hartman*, edited by D. J. Reish , K. Fauchald, Allan Hancock Foundation, University of Southern California, Los Angeles, 547–604.
- Kupriyanova E.K., Dadayev A.V., 1998.** Ecological correlates of arctic *serpulidae* (Annelida, Polychaeta) distributions. *Ophelia*, **49**: 181-193
- Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C., 1997.** Intérêt d'une approche multiparamétrique pour le suivi de la qualité de l'environnement. In : Lagadic L., Caquet T., Amiard J. C. & Ramade F. (Eds.), *Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects Fondamentaux*. Masson, Paris, 393-401 p.
- Larba R., 2014.** Biosurveillance de l'environnement dans la région Est: mesure de biomarqueurs chez *Helix aspersa* et corrélation avec les caractéristiques physico-chimiques des sols. Thèse en vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat (LMD), Université Badji Mokhtar-Annaba, 118 p.
- Le Gal Y., Lagadic L., Le Bras S., Caquet T., 1997.** Charge énergétique en adénylates (CEA) et autres biomarqueurs associés au métabolisme énergétique. Lagadic L., Caquet T., Amiard J. C., Ramade F (Eds). *Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux*. Paris, Masson, 241-286.
- LeBlanc G.A., Cochrane B.J., 1987.** Identification of multiple glutathione S-transferases from *Daphnia magna*. *Comp Biochem Physiol B*. 88(1):39-45
- Lee R.F., Keeran W.S., 1988.** Marine invertebrate glutathione-S-transferases: purification, characterization and induction. *Marine Environmental Research*. Volume 24. 1-4 : 97-100.
- Livingstone D.R., 1982.** General biochemical indices of sublethal stress. *Mar Pollut Bull*, **13**: 261–263.
- Livingstone D.R., 1993.** Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarker in the aquatic environment. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **57**: 195-211.
- Livingstone D.R., 1998.** The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish. *Comp. Biochem. Physiol*, **120(A)**: 43-49.
- Llansó R.J., Scott L.C., Dauer D.M., Hyland J.L., Russell D.E., 2002.** An estuarine benthic index of biological integrity for the Mid Atlantic region of the United States. I. Classification of assemblages and habitat definition. *Estuaries* 25:1219-1230.
- Mackie G.L. Schloesser D.W., 1996.** Comparative biology of *zebra mussels* in Europe and North America: An overview. *Am. Zool*, **36** : 244-258.
- Magurran A.E., 1988.** Ecological Diversity and its measurement. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Mann R., Glomb S.J., 1978.** The effect of temperature on growth and ammoniac excretion of the *manila clam Tapes japonicus*. *Estu. Coast. Mar. Sc*, **6**: 335-339.

- Maramorosch, K., 1968.** Ed., *Insect Viruses*, Springer Verlag, New York.
- Marchand, M.N., Levaitis J.A., 2004.** Effects of habitat features and landscape composition on the population structure of a common aquatic turtle in a region undergoing rapid development. *Conservation Biology*, **18**:758-767
Marine Pollution Bulletin 39:48-53.
- Martinez-Lara E., Leaver M., George S., 2002.** Evidence from heterologous expression of glutathione S-transferases A and A1 of the plaice (*Pleuronectes platessa*) that their endogenous role is in detoxification of lipid peroxidation products. *Mar. Environ. Res.* **54**, 263–266.
- Maurice P., Beart J.L., Dhainaut A., 2011.** Evolution of the concepts of vitellogenesis in Polychaete Annelids. 53-61pp.
- Mayer J.D., Salovey P., Caruso DR., 2002.** Mayer-Salovey-Caruso Emotional Intelligence Test (MSCEIT) Item Booklet. *Toronto*: MHS Publ.
- McHugh D., 2000.** Molecular phylogeny of the Annelida. *Can.J. Zool.*, **78** : 1873-1884.
- Mehrle P.A., Mayer F.L., 1980.** Clinical tests in aquatic toxicology: state of the art. *Environ Health Perspect*, **34**:139–143.
- Meyer J.N., De Giulio R.T., 2003.** Heritable adaptation and fitness costs in killifish (*Fundus heteroclitus*) inhabiting a polluted estuary. *Ecol. Appl.*, **13**: 490-503.
- Millot C., 1985.** Some features of the Algerian current. *J. geophy. res.*, **90(C4)**: 7169-7176.
- Millot C., 1987.** Circulation in the western Mediterranean Sea. *Oceanog. Acta*, **10(2)**: 144-149.
- Minier L., Eufemia N., Epel D., 1999.** The multi-xenobiotic resistance phenotype as a tool to biomonitor the environment. *Biomarkers*, **4**:77-93.
- Minelli A., 1993.** Biological systematics : the state of the art. *Chapman & Hall. London*.
- Modassir y., Ansari A., 2000.** Effect of petroleum hydrocarbon on physiological and biochemical parameters in an estuarine clam (*Paphia malabarica*). *Fishery Technology*. **37**: 40-45.
- Molinier R., Picard J., 1952.** Recherche sur les herbiers de phanérogames marines du littoral méditerranéen français. *Annales de l'Institut océanographique*, **27** (3), 257–2.
- Monod G., Devaux A., Riviere J. L., 1988.** Effects of chemical pollution on the activities of hepatic xenobiotic metabolizing enzymes in fish from the river Rhône. *The Science of the Total Environment.*, **73**: 189-201.
- Montagu G., 1808.** Description of several marine animals found on the south coast of Devonshire. *Trans. Linn. Soc. London*, vol. 9, pp. 81-114, pis. 2-8.
- Mouneyrac C., Durou C., Gillet P., Hummel H., Amiard-Triquet C., 2009.** Linking Energy Metabolism, Reproduction, Abundance, and Structure of *Nereis diversicolor* Populations.

- In : Amiard-Triquet, C & Rainbow, P. S., 2009. Environmental Assessment of Estuarine Ecosystems A case Study., Taylor & Francis Group, LLC CRC Press., 370p.
- Narbonne J., Michel X., 1993**, Use of biomarkers in assessment of contamination in marine Néréidiens (Annélides Polychètes). Thèse 3ème Cycle, LILLE. of contamination in marine fish along French coasts by measurement of ethoxyresorufinO-deethylase activity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 29, 131-147.
- Olive P.J.W., 1999**. Polychaeta aquaculture and Polychaeta science: A mutual synergism. *Hydrobiologia*, 402: 175-183.
- Omena E.P., Amaral A.C.Z., 2001**. Morphometric study of the Nereidid *Laeonereis acuta* (Annelida : Polychaeta). *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 81 : 423-426.
- Orbea A., Fahimi H.D., Cajaraville M.P., 2000**. Immunolocalization of four antioxidant enzymes in digestive glands of mollusks and crustaceans and fish liver. *Histochemistry and cell biology*, 114: 393-404.
- Papageorgiou N., Arvanitidis C., Eleftheriou A., 2006**. Multicausal environmental severity: a flexible framework for microtidal sandy beaches and the role of polychaetes as an indicator taxon. *Estuarine Coastal Shelf Science*, 70: 643-653.
- Pascal S., Debrauwer L., Ferte M.P., Anglade P., Rouimi P., Scalla R., 1998**. Analysis and characterization of glutathione S-transferase subunits from wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Science*, 134: 217-226.
- Pasquaud S., 2006**. Les relations trophiques :velements de structuration des peuplements ichtyologiques en milieu estuarien. These de Doctorat. Univ. Bordeaux. 361 p.
- Payne J., Mathieu A., Melvin W., Fancey L.L., 1996**. Acetylcholinesterase, an old biomarker with a new future. Field trials in association with two urban rivers and a paper mill in Newfoundland. *Marine Pollution Bulletin*, 32: 225-231.
- Pazos A.J., Ruiz C., Garcia-Martin O., Abad M., Sanchez J.L., 1996**. Seasonal variations of the lipid content and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* cultured in El Grove, Galicia, NW Spain. *Comp. Biochem. Physiol., Part B Biochem. Mol. Biol.* 114, 171–179.
- Pérez-Camacho A., Labarta U., Beiras R., 1995**. Growth of mussels (*Mytilus edulis galloprovincialis*) on cultivation rafts: influence of seed source, cultivation site and phytoplankton availability. *Aquaculture*, 138: 349-362
- Perez-López M., Nóvoa-Valiñas M.C., Melgar Riol M.J., 2002**. Glutathione S-transferase cytosolic isoforms as biomarkers of polychlorinated biphenyl Arochlor-1254) experimental contamination in rainbow trout. *Toxicol. Lett.* 136, 97–106
- Peteiro L.G., Babarro J.M.F., Labarta U., Fernandez-Reiriz M.J., 2006**. Growth of *Mytilus galloprovincialis* after the Prestige oil spill. *ICES Journal of Marine Science*, 63: 1005-1013.

- Pezo R., Maco J. et Canepa J., 1985.** Cambiental por actividades petroleras en lors ri' os pastaza, Tigre, Corrientes, Samiria y Amazonas. Instituto de investigaciones de la Amazonia peruana (IIAP), Iquitos, Peru, 59p. in: Loayza-Muro, R. et Elias -letts, R., 2007. Responses of the mussel *Anodontites trapesialis* (Unioniae) to environmental stressors: Effects of pH, temperature and metals on filtration rate. *Environmental Pollution*, **149**: 209-215.
- Philips D.J.H., Rainbow P.S., 1994.** Biomonitoring of trace aquatic contaminants Chapman and Hall. London.
- Porchet M., 1974.** Activité endocrine cérébrale chez les Nereidae : Données quantitatives, influence sur la teneur en glucides des ovocytes et du liquide cœlomique, mécanisme régulateur de la sécrétion hormonale. Thèse de Doctorat en Sciences naturelles, Université de Lille, 222 pp.
- Porchet-Hennere T., Bert M., 1987.** Cellular reaction of the polychete Annelid *Nereis Diversicolor*. against coelomic parasites, *J. Invert. Pathol*, **50**:58-66.
- Porchet M., 1976.** Données actuelles sur le contrôle endocrine de la maturation génitale des Néréidiens (Annélides Polychètes). *Ann. Biol.*, **7-8** : 329-377 pp
- Porchet M., A., Dhainaut., 1973.** Effet de l'activité endocrine cérébrale sur la maturation de l'ovocyte des Néréidiens (Annélides Polychètes). Aspects cytologiques et biochimiques. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.***13**:31-49.
- Postma J.F., Kleunen A., Admiraal W., 1995.** Alterations in life-history traits of *Chironomus riparius* (diptera) obtained from metal contaminated rivers. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*.1995;29:469-475
- Prapanthadara L.A., Koottathep S., Promtet N., Hemingway J., Ketterman A.J., 1996.** Purification and characterization of a major glutathione S-transferase from the mosquito *Anopheles dirus* (species B). *insect Biochemistry and Molecular Biology.*, **26(3)**: 277-285.
- Prevedelli D., Simonini R., 2003.** Life cycles in brackish habitats : adaptative strategies of some polychaetes from the venice lagoon. *Oceanologica Acta.*, **26**:77-84.
- Prevedelli D., Simonini R., 2003.** Life history and demography of three populations of *Ophryotrocha japonica* (Polychaeta : Dorvilleidae) ,Marine ecology progress series – volume, **258** :171-180 pp.
- Price N.M., Morel F.M.M., 1990.** Cadmium and Cobalt substitution for Zinc in a marine diatom. *Nature*, **344**: 658-660.
- Quatrefages Abmand D.B., 1865.** Histoire naturelle des annelés marins et d'eau douce. Annélides et géphyriens, *Paris, Librairie Encyclopédie de Rôret*, **1** :688.
- Ramade F., 1984.** Eléments d'écologie : Ecologie fondamentale. Ed. *Mc. Graw Hill*, Paris, 397 p

- Ramade F., 1993.** Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'environnement. *Ediscience*. Paris, 822 pp.
- Ramade F., 2002.** Dictionnaire encyclopédique de l'Écologie et des Sciences de l'environnement. Paris, Dunod Science.
- Ramos R., Garcia E., 2007.** Induction of mixed-function oxygenase system and antioxidant enzymatiques in the coral *Montastraea faveolata* on acute exposure to benzo (a) pyrene. *Comparative Biochemistry and Physiology*. **144(C)**: 348-355.
- Ramos-Espla A., Sanchez-Lizaso J.L., 2002.** Impacto del arrastre sobre comunidades circalitorales de fondos blandos dominadas por coralinaceas. ACTAS, Septima Reunion del Foro Cientifico Para la Pesca Espanola en el Mediterraneo. 103p.
- Russel C.S., Rodrigues J., Lar P.S., 1983.** Humagglutinin activity in *Nereis* ceolomic fluid *comp. Biochem. Physiol.* **75A**. 57-64.
- Retière C., 1979.** Contribution à l'étude des peuplements benthiques du golfe normano-breton. *Thèse Doctorat Etat, Sciences Naturelles, Université de Rennes*, 370pp.
- Rettob M., Diana A., Luchman H., Lawrence L., 2013.** Reproduction Aspects of Marine Worms *Perinereis cultrifera* (Grube, 1840) in Langgur waters, Lesser Kei Islands, Southeast Maluku Regency, Indonesia.
- Rhee J.S., Lee Y.M., Hwang D.S., Lee K.W., Kim, I.C., Shin K.H., Raisuddin S., Lee J.S., 2007.** Molecular cloning and characterization of omega class glutathione S-transferase (GST-O) from the polychaete *Neanthessuccinea*: Biochemical comparison with theta class glutathione S-transferase (GST-T). *Comp. Biochem. Physiol. C*. doi:10.1016/j.cbpc. 2007.05.003.
- Rodier J., 1996.** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. *Chimie, physico-chimie, bactériologie, biologie*. 8^{ème} Ed. Dunod Bordas, Paris, 1135p.
- Röhner M., Bastrop R., Jürss K., 1997.** Genetic differentiation in *Hediste diversicolor* (Polychaeta : Nereididae) from the North Sea and Baltic Sea. *Marine Biology*, **130**: 171-180.
- Romieu M., 1923.** Recherches histophysiologiques sur le sang et sur le corps cardiaque des Annelides polychètes. Fac. Sciences Université Paris (DOINI), Thèse de Doctorat.
- Rossi F., Como S., Corti S., Lardieci C., 2002.** Seasonal variation of a deposit- feeder assemblage and sedimentary organic matter in a brackish basin mudflat (Western Mediterranean, Italy). *Euarine, Coastal and Shelf Science*. **53**: 181-191.
- Rouabah A., Rouabah L., 2007.** Biodiversité et complexe d'espèces *Perinereis cultrifera*: un exemple de spéciation. *Sciences et Technologies*, **25**, 79–87.
- Rouabah A., Scaps P., 2003.** Life Cycle and Population Dynamics of the Polychaete *Perinereis cultrifera* from the Algerian Mediterranean Coast. P.S.Z.N. : *Marine Ecology*., **24(2)** : 85-99.

- Rouabah A., 2003.** Comparaison au plan biochimique et génétique de populations de l'annélide polychète *Perinereis cultrifera* du littoral français et algérien : précision des liens de parenté.
- Rouabah L., Rouabah A., Ferroudj S., Scaps P., 2008.** Comparaison of the life cycles of two populations of the polychaete *Perinereis cultrifera* from the Bay of Algiers (Mediterranean Sea). *Scientia Marina.*, **72(4)** : 769-778.
- ouabah-Sadaoui L, Marcel R., 1995.** Sugars and lipids of the clitellum and cocoon albumin in *Eisenia fetida* Sav (Annelida Oligochaeta). *Reprod Nutr Dev* 35:537–548
- Rouane-Hacene O., 2013.** Biosurveillance de la qualité des eaux côtières du littoral occidental algérien, par le suivi des indices biologiques, de la biodisponibilité et la bioaccumulation des métaux lourds (Zn, Cu, Pb et Cd) chez la moule *Mytilus galloprovincialis* et l'oursin *Paracentrotus lividus*. *Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Biologie, Université d'Oran*, 295p
- Rouhi A., Sifi J., Gillet P., Deutsch B., 2008.** Reproduction and population dynamics of *Perinereis cultrifera* (Polychaeta : Nereididae) of the Atlantic coast, El Jadida, Marocco. *Cah. Biol. Mar.*, **49**: 151-160.
- Rouibah M., Boulahdid M., Boudjellal B., Eddalia N., Ounadi F., 2005.** Etude de la pollution du littoral Algérois et du lac de Reghaia. *Par l'APPL, ISMAL*, 73p.
- Rouimi P., Anglade P., Debrauwer L., Tulliez J., 1996.** Characterization of pig liver glutathione S-transferases using HPLC-electrospray-ionization mass spectrometry. *Biochemical Journal.*, **317**: 879-884.
- Rouse G.W., Pleijel, F., 2001.** Polychaetes. Oxford University Press, London. 354 p
- Rouse G.W., Pleijel, F., 2006.** Annelid Phylogeny and Systematics. *In: Rouse, G., Pleijel, F., Reproductive Biology and Phylogeny of Annelida. Science Publishers, Enfield, NH, USA.*, **4**: 688 pp.
- Rouse G.W., 2006.** Annelid Sperm and Spermiogenesis. *In: Rouse, G., Pleijel, F., Reproductive Biology and Phylogeny of Annelida. Science Publishers, Enfield, NH, USA.* **4**: 688 pp.
- Salvat B., 1967.** La macrofaune carcinologique endogée des sédiments intertidaux (Tanaïdacs, Isopodes, Amipodes), Ethologie, Bionomie et cycle biologique, *Thèse de Doctorat en sciences naturelles. Faculté des sciences. Université de Paris* : 275p.
- Sarkar A., Holkar P.K.R., Patil S.S., 2010.** Application of Acetylcholinesterase Activity in Marine Organisms as a Biomarker of Coastal Pollution. National Conference on Emerging Trends in Engineering, *Technology and Management, MS2K*, **10** : 383-386.
- Sarkar A., Nagarajan R., Singbal S.Y.S., Chhapadkar S., Pal S., 1997.** Contamination of organochlorine pesticides in sediments from the Arabian Sea along the west coast of India. *Wat. Res.*, **31(2)**: 195-200.
- Sato M., Masuda Y., 1997 .** Genetic differentiation in two sibling species of the brackish-water polychaete *Hediste japonica* complex (Nereididae). *Marine Biology*, **130**: 163-170

- Scaps P., Borot O., 2000.** Acetylcholinesterase activity of the polychaete *Nereis diversicolor*: effects of temperature and salinity. *Comp. Biochem. Physiol.*, **125(C)**: 377-383.
- Scaps P., 1992.** Bases biologiques de l'élevage de deux espèces d'annélides polychètes *Nereis diversicolor* (O.F. Müller) et *Perinereis cultrifera* (Grübe). *Thèse de l'Université de Rennes I*, 171 p.
- Scaps P., 2002.** A review of the biology, ecology and potential use of the ragworm *Hediste diversicolor* (O.F. Müller) (Annelida : Polychaeta). *Hydrobiologia*. **470**, 203-218
- Schlenk D., 1999.** Necessity of defining biomarkers for use in ecological risk assessments.
- Schneider W.C., 1957.** Determination of nucleic acids in tissues by pentose analysis. In methods in enzymology Vol. III. (Ed. by Colowick S. P. and Kaplan N. O.), 680-684. *Acad. Press, N. Y.*
- Schulze E.D., Mooney H.A., 1994.** Biodiversity and ecosystem function. Springer Verlag, NewYork.
- Shannon C.E., Weaver W., 1963.** The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urban. 117 p.
- Shibko S., Koivistoinen, P., Tratnyeck, C., Newhall A., Freidman L., 1966.** A method for sequential quantitative separation and glycogen from a single rat liver homogenate or from a sub cellular fraction. *Anal. Biochem.* **19**: 415-428 pp.
- Sifi K., 2009.** Biosurveillance de la qualité des eaux du golfe d'Annaba: croissance, composition biochimique et dosage de biomarqueurs du stress environnemental chez *Donax trunculus* (Mollusque, Bivalve). *These de Doctorat en Ecotoxicologie. Université d'Annaba*, 140pp.
- Sifi K., Chouahda S., Soltani N., 2007.** Biosurveillance de l'environnement par mesure de biomarqueurs chez *Donax trunculus* (L., 1758) dans le golfe d'Annaba (Algerie). *Mésogé*, **63** : 11-18.
- Smolders, R., De Coen W., Blust R., 2004.** An ecologically relevant exposure assessment for a polluted river using an integratedmultivariate PLS approach. *Environmental Pollution*, **132**, 245-263.
- Snani M., Meghlaoui Z, Daas-Maamcha O., Daas T., Scaps P., 2015.** Laying period and biomarkers of the polychaete *Perinereis cultrifera*. From the eastern coast of Algeria subjected to marine pollution. *Journal of Entomology and Zoology studies*, **3(3)**:211-212.
- 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.*, 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*. *Aquatic Toxicology*, **83**: 315-322.

- Souissi M., Ouali K., Hadj Moussa W., Rouachdia R., Djabourabi A., Bensouilah M., 2008.** Proportioning of Biomarkers (GSH, GST, AChE, Catalase) Indicator of pollution at *Gambusia affinis* (Teleostei Fish) Exposed to Cadmium. *Environmental Research Journal*, **2**(4): 177-181.
- Stegeman J.J., Brouwer M., Di Giulio R.T., Förlin L., Fowler B.A., Sanders B.M., Van Veld P.A., 1992.** Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect, In : *Biomarkers Biochemical Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress*. Huggett R.J., Kimerle R.A., Mehrle P.M. and Bergman H.L. Eds, **6**: 235.
- Stenersen J., Guthenberg C., Mannervik B., 1979.** Glutathione S-transferases in earthworms (Lumbricidae). *Biochemical Journal*, **181**: 47-50.
- Stenersen J., Kobro S., Bjerke M., Arend U., 1987.** Glutathione transferases in aquatic and terrestrial animals from nine phyla. *Comp. Biochem and Physiol.*, **86C**(1) :73-82.
- Stephens G.C., 1975.** Uptake of naturally occurring primary amines by marine annelids. *Biol. Bull*, **149**: 397-407.
- Stien X., Percic P., Gnassia-Barelli M., Romeo M., Lafaurie M., 1998.** Evaluation of biomarkers in caged fishes and mussels to assess the quality of waters in a bay of the NW Mediterranean Sea. *Environmental Pollution*, **99**: 339-345.
- Struck, T., Schult, N., Kusen, T, Hickman, E., Bleidorn, C., McHugh, D., Halanych, K.M., (2007).** Annelid phylogeny and the status of Sipuncula and Echiura. *BMC Evolutionary Biology*, **7** : 57.
- Taki. L., 1988.** Synthesis and release of vitellogénine associated phospholipide by the coelomocytes. *Perinereis cultrifera* (A.P) , **3**:112-110.
- Taghon G.L., Prahl M., Sparrow C.M., Fuller K., 1994.** Lipid class and glycogen content of the lugworm *Abarenicola pacifica* in relation to age, growth rate, and reproductive condition. *Marine Biology* **120**:287-295.
- Taleb Z.M., Boutiba Z., 2007.** La moule *Mytilus galloprovincialis*: bioindicatrice de pollution marine-cas du port d'Oran. *Sciences et Technologie.*, **25C**: 59-64 pp.
- Taupier-L., Millot I., 1988.** Surfacc circulation in the Algerian Basin DURING 1984. *Oceanologica Acta*, **5**:79-85.
- Tayebi A., Malaoui M., 2012.** Impact de la pollution marine chez *Perinereis cultrifera* (Annélides, Polychètes) dans le littoral Est Algérien: Aspects morphométriques et activité enzymatique de la glutathion S-transférase. *Mémoire de Master en Ecotoxicologie. Université Annaba.*, 25p.
- Teske P.R., Wooldridge T.H., 2003.** What limits the distribution of subtidal macrobenthos in permanently open and temporarily open/closed South African estuaries? Salinity vs. Sediment particle size. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **57**: 225-238.

- Tiebskorn R., Kähler H.R., Honnen W., Schramm M., Adams S.M., Mäller E., 1997.** Induction of heat shock proteins, changes in live ultrastructure and alterations of fish behaviour: are these biomarkers related and are they useful to detect the state of pollution in the field, *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, **6**: 57-73.
- Tran D., Boudou A., Massabuau J., 2001.** How water oxygenation level influences cadmium, accumulation pattern in the asiatic clam *Corbicula fluminea*: a laboratory and field study. *Environ Toxicol Chem*, **20**: 2073-2080.
- Tran D., Boudou A., Massabuau J., 2002.** Relationship between feeding-induced ventilatory activity and bioaccumulation of dissolved and algal-bound cadmium in the asiatic clam *Corbicula fluminea*. *Environ Toxicol Chem*, **21**: 327-333.
- Trigui El-Menif N., Jaafar Kefi F., Ramdani M., Flower R., Boumaiza M., 2007.** Habitat and associated fauna of *Lithophaga lithophaga* (Linné, 1758) in the Bay of Bizerta (Tunisia). *Journal of Shellfish Research*, **26**(2): 569-574.
- Tripathi A.K., Prajapati V., Kumar S., 2003.** Bioactivity of l-carvone, d-carvone and dihydrocarvone towards three stored product beetles. *J. Econ. Entomol*, **96**: 1594-1601.
- Tu T.H., Silvestre F., Meulder D.B., Thome J.P., Phuong N.T., Kestemont P., 2012.** Combined effects of deltamethrin, temperature and salinity on oxidative stress biomarkers and acetylcholinesterase activity in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Chemosphere*, **86**: 83-91.
- Van der Oost R., Beyer J., Vermeulen N.P.E., 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **13** : 57-149.
- Varo I., Pastor A., Ramo J., Torreblanca A., 2012.** Long-term effect of temperature on bioaccumulation of dietary metals and metallothionein induction in *Sparus aurata*. *Chemosphere*, **87**: 1215-1221.
- Verschueren N., Schaeken, W., d'Ydewalle, G., 2000.** Two reasoning mechanisms for solving the conditional fallacies. In A. Markman & L. Barsalou (Eds.), *Proceedings of the Twenty-Fifth Annual Meeting of the Cognitive Science Society*, **25** : 1176 – 1181.
- Viarengo A., Lafaurie M., Gabrielides G.P., Fabbri R., Marro A., Roméo M., 2000.** Critical evaluation of an intercalibration exercise undertaken in the framework of the MED POL biomonitoring program. *Marine Environmental Research*, **49** :1-18.
- Vincke J. F., 1982.** Projet regional de développement de l'aquaculture en Méditerranée.
- Ware D.M., 2011.** Growth, Metabolism, and Optimal Swimming Speed of a Pelagic Fish. *Journal de l'Office des recherches sur les pêcheries du Canada*, 1975, **32**(1): 33-41, 10.1139/f75-005
- Weisshappel J.B.F., Svavarsson J., 1998.** Benthic amphipods (Crustacea: Malacostraca) in Icelandic waters: diversity in relation to faunal patterns from shallow to intermediate deep Arctic and North Atlantic Oceans. *Marine Biology*, **131**: 133-143.
- Westheide W., McHugh, D., Purschke, G., Rouse, G., 1999.** Systematization of the Annelida: different approaches. *Hydrobiologia*, **402**: 291-307.

- Wilder I.B., Stanley J.G., 1983.** RNA – DNA ratio as an index to growth in salmonid fishes in the laboratory and in streams contaminated by carbaryl. *J Fish Biol*, **22**: 165 – 172.
- Winzinger G., Weltje L., Gerchen J., Sordyl H., 2007.** Genotoxic damage in field-collected three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* L.): A suitable biomonitoring tool? *Mutation Research/ Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **628**:19-30.
- Wirgin I., Waldman J.R., 2004.** Resistance to contamination in North American fish populations. *Mutat. Res.*, **552** :73-100.
- Won E. J., Kim R. O., Rhee J. S., Park G. S., Lee J., Shin K. H., Lee Y. M., Lee J. S., 2011.** Response of glutathione S-transferase (GST) genes to cadmium exposure in the marine pollution indicator worm, *Perinereis nuntia*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, **154**: 82–92.
- Xie L. and P. L. Klerks., 2004.** Changes in cadmium accumulation as a mechanism for cadmium resistance in the least killifish *Heterandria formosa* . *Aquat Toxicol* 66:73-81.
- Younsi M., 2006.** Contribution à l'étude de la position taxonomique de *Perinereis cultrifera* au niveau du bassin méditerranéen -Littoral Nord Est Algérien-. *Mémoire en vue de l'obtention du diplôme: Magistère en Biologie Moléculaire et Cellulaire Université Mentouri Constantine*. p139.
- Younsi M., 2014.** Etude biologique de deux espèces de Polychètes Nereididae du littoral Est Algérien et analyse comparative: biogéographique, morphométrique et biochimique. *Thèse présentée pour l'obtention du grade de doctorat en biologie, Université Badji Mokhtar-Annaba-*, 171p. +annexes.
- Zaabi-Sendi S., 2013.** Etude faunistique et écologique des Annélides Polychètes de la côte nord-est de la Tunisie (Peninsule du Cap Bon, Méditerranée Ouest). *Thèse de doctorat, Université de Carthage, Faculté des Sciences de Bizerte*, 493p.
- Zaidi N., Soltani N., 2011.** Environmental risks of two chitin synthesis inhibitors on *Gambusia affinis*: Chronic effects on growth and recovery of biological responses. *Biological Control.*, **59**: 106-113.
- Zghal F., Ben Amor Z., 1989.** Sur la présence en Méditerranée de la race épitoque de *Perinereis cultrifera* (Polychète). *Archives de l'Institut de Pasteur Tunis*, **66** : 293-301.
- Zribi S., Zghal F., Tekaya S., 2007.** Ovogenèse de *Perinereis macropus* Claparède 1870 (Annélide, Polychète) dans le golfe de Gabès (Tunisie). *C. R. Biologies*, **330**: 199-204.
- Zrzavý J., Ríha, P., Piálek, L., Janouškovec, J., (2009).** Phylogeny of Annelida (Lophotrochozoa): total-evidence analysis of morphology and six genes. *BMC Evolutionary Bio*