

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار - عنابة

UNIVERSITÉ BADJI-MOKHTAR ANNABA



FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

LABORATOIRE DE BIOSURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE

THESE

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

Option : Biologie animale

THEME

Utilisation de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) en tant que bioindicateur général de la qualité du milieu marin

Présentée par : Sandra Amri

Membres du jury

Pr. Mohamed Achou	Président	Université Badji-Mokhtar, Annaba
Pr. Kheireddine Ouali	Directeur de thèse	Université Badji-Mokhtar, Annaba
Pr. Mohamed Banni	Examineur	Institut supérieur agronomique Chott-Mariem, Tunisie
Pr. Hichem Nasri	Examineur	Université Chadli Bendjedid, El-Tarf
Dr. Hana Sbartai	Examinatrice	Université Badji-Mokhtar, Annaba
Dr. Wilia Khati	Examinatrice	Université Chadli Bendjedid, El-Tarf

Année universitaire : 2017 - 2018

Mes remerciements vont en premier lieu aux membres du jury

Monsieur Mohamed Achou

Professeur à l'université de Badji-Mokhtar, pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury.

Monsieur Kheireddine Ouali

Professeur à l'université de Badji-Mokhtar, d'avoir accepté de diriger cette thèse. Il m'a fait profiter de son expérience et de ses connaissances. Je le remercie de m'avoir confié ce sujet, pour m'avoir conseillé, encouragé et soutenu tout au long de la thèse avec patience et disponibilité. Qu'il trouve ici, le témoignage de ma profonde reconnaissance et ma sincère gratitude.

Monsieur Mohamed Banni

Professeur à l'institut supérieur agronomique de Chott-Mariem (Tunisie), pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, pour son aide précieuse pour la réalisation d'une partie et qui a accepté avec amabilité et gentillesse de juger ce travail malgré ses lourdes responsabilités.

Monsieur Hichem Nasri

Professeur à l'université de Chadli Bendjedid, qui m'a honoré de sa participation à ce jury.

Madame Hana Sbartai

Docteur à l'université de Badji-Mokhtar, je la remercie chaleureusement pour sa participation à ce jury.

Madame Wilia Khati,

Docteur à l'université de Chadli Bendjedid, qui m'a honoré en acceptant de porter un regard d'expert sur mon travail.

Mille mercis ne suffisent pas pour exprimer ma grande gratitude à mes parents qui n'ont jamais cessé de me soutenir, que ce travail soit le témoignage de ma profonde reconnaissance. Enfin, merci à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Table des matières

	Page
Résumé en français	
Résumé en anglais	
Résumé en arabe	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	01
 Première partie : Synthèse bibliographique	
I. Pollution marine.....	06
I.1. Eaux usées.....	06
I.2. Métaux lourds.....	06
I.3. Hydrocarbures.....	07
I.4. Pesticides.....	07
I.4.1. Définition.....	07
I.4.2. Composition des pesticides.....	08
I.4.3. Classification.....	08
I.4.3.1. Premier système de classification.....	09
I.4.3.2. Deuxième système de classification.....	09
I.4.3.2.1. Organochlorés.....	09
I.4.3.2.2. Organophosphorés.....	09
I.4.3.2.3. Carbamates.....	10
I.4.3.2.4. Pyréthri-noïdes.....	10
I.4.4 Utilisation des pesticides en Algérie.....	10
I.4.5. Impact des pesticides sur le milieu marin.....	11
II. Stress oxydatif et biomarqueurs.....	12
II.1. Définition du stress oxydatif.....	12
II.2. Espèces réactives de l'oxygène.....	13
II.3. Principales sources d'espèces réactives de l'oxygène.....	13
II.3.1. Sources endogènes.....	14

II.3.1.1 NAD(P)H oxydase.....	14
II.3.1.2. Xanthine oxydase.....	14
II.3.1.3. Enzymes de la voie de l'acide arachidonique.....	14
II.3.1.4. Mitochondrie.....	14
II.3.1.5. Peroxysome.....	15
II.3.1.6. Réticulum endoplasmique lisse.....	15
II.3.1.7. Lysosome.....	15
II.3.1.8. Noyau.....	15
II.3.2. Sources exogènes.....	16
II.4. Rôle physiologique des espèces réactives de l'oxygène.....	17
II.5. Défenses physiologiques contre le stress oxydatif.....	17
II.5.1. Définition d'un biomarqueur.....	17
II.5.2. Biomarqueurs de défense.....	17
II.5.2.1. Ethoxyrésorufine -O- dééthylase.....	18
II.5.2.2. Superoxyde dismutase.....	18
II.5.2.3. Catalase.....	18
II.5.2.4. Glutathion -S transférase.....	18
II.5.2.5. Glutathion peroxydase.....	18
II.5.2.6. Glutathion.....	19
II.5.2.7. Acide lipoïque.....	19
II.5.2.8. Métallothionéine.....	19
II.5.3. Biomarqueurs de dommage.....	19
II.5.3.1. Acétylcholinestérase.....	19
II.5.3.2. Peroxydation lipidique.....	20
II.5.4. Approche multibiomarqueur.....	20
III. Présentation de l'espèce <i>Paracentrotus lividus</i>	21
III.1. Position systématique.....	21
III.2. Synonymie et noms vernaculaires.....	21
III.3. Distribution géographique.....	22
III.4. Caractères morphologiques.....	23
III.4.1. Morphologie externe.....	23
III.4.2. Morphologie interne.....	24
III.5. Respiration.....	26
III.6. Régime alimentaire.....	26

III.7. Déplacement.....	27
III.8. Écologie.....	27
III.9. Reproduction.....	28
III.10. Croissance et prédation.....	29
III.11. Intérêt économique.....	29

Deuxième partie : Biosurveillance de la pollution des eaux côtières du golfe d'Annaba

Chapitre I : Evaluation du niveau trophique par le dosage des paramètres physicochimique

I.1. Matériel et Méthodes.....	31
I.1.1. Présentation du site d'étude.....	31
I.1.2. Localisation des stations d'échantillonnage.....	33
I.1.2.1. Station S.1.....	34
I.1.2.2. Station S.2.....	34
I.1.2.3. Station S.3.....	35
I.1.3. Paramètres météorologiques.....	36
I.1.4. Mesure des paramètres physicochimiques de l'eau de mer.....	37
I.1.4.1. Paramètres mesurés <i>in situ</i>	37
I.1.4.2. Paramètres dosés au laboratoire.....	37
I.1.4.2.1. Azote ammoniacal.....	38
I.1.4.2.2. Nitrite.....	39
I.1.4.2.3. Nitrate.....	39
I.1.4.2.4. Orthophosphate.....	40
I.1.5. Niveau trophique.....	41
I.1.6. Analyse statistique.....	42
I.2. Résultats.....	42
I.2.1. Paramètres mesurés <i>in situ</i>	42
I.2.1.1. Température.....	42
I.2.1.2. Potentiel d'hydrogène.....	43
I.2.1.3. Salinité.....	44
I.2.1.4. Oxygéné dissous.....	45
I.2.1.5. Turbidité.....	46
I.2.2. Paramètres dosés au laboratoire.....	46
I.2.2.1. Azote ammoniacal.....	47

I.2.2.2. Nitrite.....	47
I.2.2.3. Nitrate.....	48
I.2.2.4. Orthophosphate.....	49
I.2.3. Niveau trophique.....	50
I.2.4. Analyse statistique.....	51
I.3. Discussion.....	51
I.3.1. Paramètres mesurés <i>in situ</i>	51
I.3.2. Paramètres dosés au laboratoire.....	55
I.3.3. Niveau trophique.....	57

Chapitre II : Détermination de la qualité écotoxicologique par le dosage des pesticides

II.1. Matériel et Méthodes.....	58
II. 1.1.Présentation du site d'étude.....	58
II. 1.2.Prélèvement des échantillons d'eau mer.....	58
II.1.3. Préparation des échantillons.....	58
II.1.4. Dosage des pesticides.....	59
II.1.4.1. Diuron.....	59
II.1.4.2. Atrazine.....	60
II.1.4.3. Nonylphénol.....	61
II.1.4.4. Glyphosate.....	62
II.1.5. Détermination du risque quotient	64
II.1.6. Analyse statistique.....	65
II.2.Résultats.....	65
II.2.1. Pesticides.....	65
II.2.1.1. Diuron.....	65
II.2.1.2. Atrazine.....	66
II.2.1.3. Nonylphénol.....	67
II.2.1.4. Glyphosate.....	68
II.2.2. Risque quotient.....	69
I.2.3. Analyse statistique.....	70
II.3. Discussion.....	71
II.3.1. Pesticides.....	71
II.3.2. Risque quotient.....	79

Chapitre III : Evaluation du niveau de la pollution par le dosage des biomarqueurs

III.1. Matériel et méthodes.....	81
III.1.1. Description du site d'étude.....	81
III.1.2. Matériel biologique.....	81
III.1.3. Détermination des indices physiologiques.....	81
III.1.4. Dosage des biomarqueurs.....	82
III.1.4.1. Préparation des surnageants.....	82
III.1.4.2. Protéines.....	82
III.1.4.3. Glutathion réduit.....	83
III.1.4.4. Glutathion -S Transférase.....	84
III.1.4.5. Catalase.....	85
III.1.4.6. Acétylcholinestérase.....	86
III.1.4.7. Malondialdéhyde.....	87
III.1.4.8. Métallothionéine.....	88
III. 1.5. Détermination du niveau de pollution.....	89
III.1.6. Analyse statistique.....	90
III.2. Résultats.....	91
III.2.1. Indices physiologiques.....	91
III.2.1.1. Indice de condition.....	91
III.2.1.2. Indice gonadique.....	92
III.2.2. Biomarqueurs.....	92
III.2.2.1. Glutathion réduit.....	92
III.2.2.2. Glutathion -S Transférase.....	93
III.2.2.3. Catalase.....	94
III.2.2.4. Acétylcholinestérase.....	95
III.2.2.5. Malondialdéhyde.....	96
III.2.2.6. Métallothionéine	96
III.2.3. Niveau de pollution.....	97
III.2.4. Analyse statistique.....	99
III.2.4.1. Variation intersaisons et interstations des paramètres biotiques.....	99
III.2.4.2. Analyse en composantes principales.....	99
III.2.4.2.1. Variation intersaisons des paramètres biotique et abiotique.....	99
III.2.4.2.2. Variation interstations des paramètres biotique et abiotique.....	101
III.2.4.3. Classification ascendante hiérarchique de la variation intersaisons et interstations	102

III.3. Discussion.....	103
III.3.1. Indices physiologiques.....	103
III.3.2. Biomarqueurs.....	105
III.3.3. Niveau de pollution.....	112
Conclusion et perspectives.....	115
Références bibliographiques.....	117
Annexes	

Ce travail de thèse a pour objectifs, dans un premier temps d'évaluer le niveau d'eutrophisation, la qualité écotoxicologique et le niveau de la pollution des eaux côtières du golfe d'Annaba ; et dans un second temps de mettre en évidence l'intérêt de l'utilisation d'une approche multimarqueurs en milieux marin afin de mieux cerner les réponses biologiques aux contaminations chimiques. Dans cette étude, l'oursin *Paracentrotus lividus* a été échantillonné de façon saisonnière au niveau de 3 stations (cap de Garde, Lacaroube et Draouche) durant l'année 2012 dans les zones côtières du golfe d'Annaba (Sud-Est de la Méditerranée). Pour tous les oursins récoltés, l'indice de condition et l'indice gonadique ont été calculés pour déterminer la période de reproduction. En outre, un ensemble de marqueurs biochimiques ont été dosés dans les gonades, en plus les paramètres physicochimiques et les pesticides ont été respectivement mesurés et dosés dans l'eau de mer.

L'évaluation des paramètres environnementaux a dévoilé la présence de divers contaminants, le dosage des sels nutritifs a permis d'indiquer que l'eutrophisation est plus marquée en hiver, la station S.3 paraît être soumise à une grande influence continentale. En ce qui concerne les pesticides, les concentrations retrouvées ont été plus ou moins aux normes fixées par Environmental quality Standard. Toute fois le calcul du risque quotient du mélange inspire à la nécessité d'une prise de conscience vis-à-vis de la qualité écotoxicologique des eaux du golfe d'Annaba.

Outre la pollution, le changement saisonnier est un important facteur influençant l'activité des biomarqueurs, l'augmentation significative des niveaux des biomarqueurs au printemps étant une tendance majeure observée, cette activité peut également être liée à l'état de la reproduction. La variabilité saisonnière a été confirmée par les résultats significatifs des Kruskal-Wallis et par le degré élevé de divergence entre les saisons via l'analyse en composantes principales, avec un total de 82,96 % de la variance expliquée. L'analyse discriminante s'est avérée être une méthode très utile pour classer le niveau de la pollution des différentes stations, le calcul de l'indice de pollution multibiomarqueurs semble bien traduire les données scientifiques en informations utiles pour estimer le niveau de pollution de l'environnement côtier, la station S.2 et S.3 sont suspectés d'être les points chauds de la pollution.

Mots clés : *Paracentrotus lividus*, biomarqueurs, reproduction, pesticides, golfe d'Annaba et indice de pollution multibiomarqueurs

The objective of this thesis is to assess the level of eutrophication, the ecotoxicological quality and the level of pollution in the coastal waters of the Gulf of Annaba ; and secondly to highlight the value of using a multi-label approach in marine environments in order to better identify biological responses to chemical contaminations. In this study, the sea urchin *Paracentrotus lividus* was sampled seasonally at 3 stations (cape Garde, Lacaroube and Draouche) during 2012 in the coastal areas of the Gulf of Annaba (Southeastern Mediterranean). For all sea urchins harvested, the condition index and gonad index were calculated to determine the breeding period. In addition, a set of biochemical markers were assayed in the gonads, in addition the physicochemical parameters and the pesticides were measured and dosed in the sea water.

The assessment of environmental parameters revealed the presence of various contaminants, the nutrient content of the salts indicated that eutrophication is more pronounced in winter, station S.3 appears to be subject to great continental influence. For pesticides, the recovered concentrations were more or less equal to the standards set by Environmental Quality Standard. However, the calculation of the risk quotients of the mixture inspires the need for an awareness of the ecotoxicological quality of the waters of the Gulf of Annaba.

However, pollution, seasonal change is an important factor influencing the activity of biomarkers, with the significant increase in biomarker levels in spring being a major trend observed, this activity may also be related to reproductive status, sea urchin. The seasonal variability was confirmed by significant Kruskal-Wallis results and by the high degree of divergence between seasons via principal component analysis, with a total of 82.96 % of the explained variance. Discriminant analysis has proved to be a very useful method for classifying the level of pollution of the different stations, the calculation of the multimarker pollution index seems to translate the scientific data into useful information for estimating the level of pollution of the coastal environment , station S.2 and S.3 are suspected of being hot spots of pollution.

Key words : *Paracentrotus lividus*, biomarkers, reproduction, pesticides, Gulf of Annaba and multimarker pollution index

الهدف من هذه الرسالة هو تقييم مستوى الإغناء الغذائي، والجودة الإيكولوجية السمية ومستوى التلوث في المياه الساحلية لخليج عنابة؛ وثانيا لتسليط الضوء على قيمة استخدام نهج متعدد التسمية في البيئات البحرية من أجل تحسين تحديد الاستجابات البيولوجية للتلوثات الكيميائية. في هذه الدراسة، تم أخذ عينات من قفذ البحر باراسنتروتوس ليفيدوس موسميا في 3 محطات (كيب غاردا، لاكاروب، دراوش) خلال عام 2012 في المناطق الساحلية لخليج عنابة (جنوب شرق البحر الأبيض المتوسط). وبالنسبة لجميع قنفاذ البحر التي يتم حصادها، تم حساب مؤشر الحالة ومؤشر الغدد التناسلية لتحديد فترة التكاثر. بالإضافة إلى ذلك، تم قياس مجموعة من العلامات البيوكيميائية في الغدد التناسلية، بالإضافة إلى قياس المعلمات الفيزيائية والكيميائية ومبيدات الآفات وقياسها في مياه البحر.

وكشف تقييم البارامترات البيئية عن وجود ملوثات مختلفة، فإن محتوى المغذيات من الأملاح يشير إلى أن الإغناء بالمغذيات أكثر وضوحا في فصل الشتاء، ويبدو أن المحطة S.3 تخضع لنفوذ قاري عظيم. وبالنسبة لمبيدات الآفات، كانت التركيزات المستعادة مساوية تقريبا للمعايير التي حددها معيار جودة البيئة. ومع ذلك، فإن حساب خواص المخاطرة للمخاطر يلهم الحاجة إلى الوعي بالجودة الإيكولوجية السمية لمياه خليج عنابة.

ومع ذلك، فإن التغير الموسمية هو عامل مهم يؤثر على نشاط المؤشرات الحيوية، مع الزيادة الكبيرة في مستويات المؤشرات الحيوية في الربيع كونها اتجاها رئيسيا لوحظ، قد يكون هذا النشاط أيضا مرتببا بالحالة الإنجابية، قنفذ. تم تأكيد التباين الموسمي من خلال نتائج كروسكال واليس الكبيرة وبدرجة عالية من الاختلاف بين المواسم عن طريق تحليل المكون الرئيسي، مع ما مجموعه 82.96% من التباين أوضح. وقد أثبت التحليل التمييزي أنه طريقة مفيدة جدا لتصنيف مستوى تلوث المحطات المختلفة، فإن حساب مؤشر التلوث المتعدد العلامات يبدو أنه يترجم البيانات العلمية إلى معلومات مفيدة لتقدير مستوى تلوث البيئة الساحلية، فإن المحطة S.2 و S.3 يشتهب في أنها مناطق ساخنة من التلوث.

الكلمات الدالة : باراسنتروتوس ليفيدوس، المؤشرات الحيوية، الاستنساخ، المبيدات، خليج عنابة ومؤشر التلوث المتعدد العلامات.

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Morphologie externe de l'oursin <i>Paracentrotus lividus</i> (A) : vue oral, (B) : vue aboral.....	24
02	Morphologie interne de l'oursin <i>Paracentrotus lividus</i>	25
03	Localisation du golfe d'Annaba.....	31
04	Localisation des stations d'échantillonnage.....	33
05	Vue générale du cap de Garde.....	34
06	Vue générale de la plage Lacaroube.....	35
07	Vue générale de la plage Draouche.....	36
08	Variation spatiotemporelle de la température de l'eau (°C) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	43
09	Variation spatiotemporelle du pH de l'eau des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	44
10	Variation spatiotemporelle de la salinité de l'eau (‰) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	45
11	Variation spatiotemporelle de l'oxygène dissous de l'eau (mg/L) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	45
12	Variation spatiotemporelle de la turbidité de l'eau (NTU) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	46
13	Variation spatiotemporelle de la concentration de l'azote ammoniacal de l'eau (μ M) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	47
14	Variation spatiotemporelle de la concentration des nitrites de l'eau (μ M) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	48
15	Variation spatiotemporelle de la concentration des nitrates de l'eau (μ M) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	49
16	Variation spatiotemporelle de la concentration des orthophosphates de l'eau (μ M) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	50
17	Niveau trophique de l'eau des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	51
18	Variation spatiotemporelle de la concentration du diuron de l'eau (μ g/L) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	66
19	Variation spatiotemporelle de la concentration de l'atrazine de l'eau (μ g/L) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	67
20	Variation spatiotemporelle de la concentration du nonylphénol de l'eau (μ g/L) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	68

21	Variation spatiotemporelle de la concentration du glyphosate de l'eau ($\mu\text{g/L}$) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	69
22	Variation spatiotemporelle du RQm de l'eau des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012.....	70
23	Variation spatiotemporelle de l'IC (%) de l'oursin <i>Paracentrotus lividus</i> prélevé dans les trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	91
24	Variation spatiotemporelle de l'IG (mg/cm^3) de l'oursin <i>Paracentrotus lividus</i> prélevé dans les trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3)	92
25	Variation spatiotemporelle de la concentration du GSH ($\mu\text{mol/mg}$ de protéine) au niveau des gonades de l'oursin <i>Paracentrotus lividus</i> prélevé dans les trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	93
26	Variation spatiotemporelle de l'activité spécifique du GST (nmol/min/mg de protéine) au niveau des gonades de l'oursin <i>Paracentrotus lividus</i> prélevé dans les trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	94
27	Variation spatiotemporelle de l'activité spécifique de la CAT ($\mu\text{mol/min/mg}$ de protéine) au niveau des gonades de l'oursin <i>Paracentrotus lividus</i> prélevé dans les trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	94
28	Variation spatiotemporelle de l'activité spécifique de l'AcHE (nmol/min/mg de protéine) au niveau des gonades de l'oursin <i>Paracentrotus lividus</i> prélevé dans les trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	95
29	Variation spatiotemporelle de la concentration du MDA (nmol/g de tissu) au niveau des gonades de l'oursin <i>Paracentrotus lividus</i> prélevé dans les trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	96
30	Variation spatiotemporelle de la concentration de la MT (nmol/g de tissu) au niveau des gonades de l'oursin <i>Paracentrotus lividus</i> prélevé dans les trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).....	97
31	Niveau de pollution des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012.....	98
32	Analyse en composante principale basé sur la variation saisonnière au niveau du golfe d'Annaba (2012). (Plan factorielle (1,2), axe 1: 82, 96 %, axe : 2 35,67. (A) : cercle de corrélation des variables biotiques et abiotiques avec les deux premiers axes principaux. (B) : projection des saisons sur les 2 premiers axes principaux).....	100
33	Analyse en composantes principales basée sur la variation spatiale au niveau du golfe d'Annaba (2012). (Plan factoriel (1,2), axe 1 : 68,08 %, axe 2 : 31,92 %. (A) : Cercle de corrélation des variables biotiques et abiotiques avec les deux premiers axes principaux. (B) : Projection des saisons sur les 2 premiers axes principaux).....	101

34	Classification ascendante hiérarchique de la variabilité intersaisons selon la variation des paramètres biotiques et abiotiques du golfe d'Annaba durant l'année 2012.....	102
35	Classification ascendante hiérarchique de la variabilité interstations selon la variation des paramètres biotiques et abiotiques du golfe d'Annaba durant l'année 2012.....	103

Liste des tableaux

N°	Tire	Page
01	Différentes espèces réactives de l'oxygène impliquées dans le stress oxydant.....	13
02	Noms vernaculaires de l'oursin <i>Paracentrotus lividus</i>	22
03	Caractérisation météorologique du golfe d'Annaba durant la période d'échantillonnage.....	36
04	Echelle de classification du niveau trophique des eaux côtières.....	42
05	Étude comparative de la variation des paramètres physicochimiques des eaux côtières Algérienne.....	55
06	Étude comparative de la variation de la concentration des sels nutritifs des eaux côtières Algérienne.....	57
07	Préparation et conservation des échantillons d'eaux de mer.....	58
08	Composant du kit diuron - Elisa.....	59
09	Composant du kit atrazine - Elisa.....	60
10	Composant du kit nonylphénol - Elisa.....	61
11	Composant du kit glyphosate - Elisa.....	63
12	Echelle d'appréciation du risque écotoxicologique du RQ et RQm.....	65
13	Variation du RQ de l'eau des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012.....	70
14	Étude comparative de la variation de la concentration du diuron au niveau des zones côtières marines.....	72
15	Étude comparative de la variation de la concentration de l'atrazine au niveau des zones côtières marines.....	74
16	Étude comparative de la variation de la concentration du nonylphénol au niveau des zones côtières marines.....	77
17	Étude comparative de la variation de la concentration du glyphosate dans milieux aquatiques.....	79
18	Indice de réponse des biomarqueurs en fonction du niveau de discrimination.....	90
19	Niveau de pollution.....	90
20	Variation spatiotemporelle du MPI des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012.....	98
21	Étude comparative de la variation du MPI au niveau des zones côtières marine.....	114

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
%	: Pour cent
‰	: Pour mille
°C	: Degré Celsius
µl	: Microlitre
µM	: Micromole
µm	: Micromètre
AChE	: Acétylcholinestérase
CAT	: Catalase
Cos²	: Cosinus carré
CSEO	: Concentration sans effet observée correspondant
DIN	: Azote inorganique dissous
DMSO	: Diméthylsulfoxyde
DS	: Déviation standard
EQS	: Environmental quality standards
g	: Accélération centrifuge radiale
GSH	: Glutathion réduit
GST	: Glutathion - S transférase
km	: Kilomètre
Km²	: Kilomètre carré
L	: Litre
m	: Mètre
MDA	: Malondialdéhyde
mg	: Miligramme
min	: Minutes
ml	: Millilitre
MPI	: Indice de pollution multimarqueurs
MT	: Métallothionéine
N	: Nord
ng	: Nanogramme

NH₄⁺	:	Azote ammoniacal
nm	:	Nanomètre
nmol	:	Nanomole
NO₂⁻	:	Nitrite
NO₃⁻	:	Nitrate
NTU	:	Nephelometric turbidity unity
p	:	Probabilité
pH	:	Potentiel d'hydrogène
PO₄⁻³	:	Orthophosphate
r	:	Coefficient de corrélation
RQ	:	Risque quotient
RQm	:	Risque quotient du mélange
S	:	Station
s	:	Seconde

Introduction

La mer Méditerranée constitue le plus grand bassin semi-fermé du monde qui est partagé par 21 pays ayant une population totale d'environ 450 millions. Au cours des dernières décennies, les zones côtières de cette région sont devenues l'objet d'importantes activités socio-économiques, tels que l'urbanisation, le tourisme, l'agriculture, le transport maritime et l'industrialisation qui ont donné lieu à une pollution généralisée par divers types de produits chimiques (EEA, 1999 ; UNEP/PAM, 2012). Plus importants encore, les caractéristiques hydrographiques et l'échange d'eau limité la rendent particulièrement sensible à la pollution (Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2007a). En conséquence de la concentration de la population humaine le long des côtes, une importante proportion de ces activités ont lieu à proximité de ces zones (Moreno-González *et al.*, 2013 ; Kadri *et al.*, 2015), ces dernières sont exposées à diverses formes de pollutions (SOES, 2011 ; UNEP, 2013).

Au cours des 60 dernières années, plus de 80.000 composés chimiques ont été synthétisés (Landrigan *et al.*, 2002), ces produits chimiques sont omniprésents aux quotidiens et sont dispersés dans l'air, l'eau et le sol. Pourtant, moins de 7 % de ces produits ont été testés pour évacuer leur toxicité chronique (Goldman et Koduru, 2000). De ce fait, ils sont devenus une préoccupation dans le monde entier et sont considérés comme l'une des plus graves menaces anthropiques sur la biodiversité des écosystèmes (Jenssen, 2006 ; Diamanti-Kandarakis *et al.*, 2009).

Au cours des dernières décennies, il est devenu évident que l'eutrophisation est un problème important dans de nombreuses zones côtières (Boynton *et al.*, 1982), son effet nocif sur l'environnement marin côtier est bien documenté (Vollenweider *et al.*, 1992) étant donné que l'eutrophisation est de plus en plus fréquente (Vollenweider *et al.*, 1998). Les zones côtières sont fortement influencées par les apports fluviaux et les activités anthropiques (Markaki *et al.*, 2010 ; Saccon *et al.*, 2013), l'enrichissement en nutriments a pour conséquence de grande envergure telle que la mort des poissons (Glasgow et Burkholder, 2000), l'interdiction de la conchyliculture (Joint *et al.*, 1997), la dégradation de la qualité de l'eau (McGlathery, 2001) et l'asphyxie des organismes benthiques (Baustian et Rabalais, 2009).

Konovalove (1995) a estimé qu'en mer Méditerranée, les apports en sels nutritifs sont de l'ordre de 0,5 million de tonnes de phosphore par an et de 1 à 2 millions de tonnes d'azote par an. En Algérie par exemple, oued Seybouse entraînant au golfe d'Annaba près de 6000 tonnes d'azote et 1100 tonnes de phosphates (Ziouch, 2014). Les travaux d'Ounissi

et al. (1998) et **Ounissi et Frehi (1999)** ont démontré que l'environnement côtier et son peuplement sont fortement déséquilibrés suite aux apports continentaux enrichis. La principale source d'éléments nutritifs est l'activité humaine (**Roselli et al., 2009**), les eaux du ruissellement agricole transportant les engrais (**McClanahan et al., 2005**) et l'écoulement des eaux usées non traitées (**Bowen et Valiela, 2001**). Ainsi que le recyclage à l'interface sédiment-eau qui est considéré comme source nutritive secondaire (**Kormas et al., 2001 ; Tyler et McGlatery, 2003 ; Belias et al., 2007 ; De Vittor et al., 2012**). De ce fait, il est très difficile de distinguer entre les changements induits par les activités de l'Homme et les changements naturels (**Elliott et Quintino, 2007**), toutefois l'expansion industrielle rapide et la croissance de la population des villes côtières sont la source principale des problèmes économiques et environnementaux (**Daniel et al., 2002**).

Le golfe d'Annaba est soumis à de nombreuses sources de pollution telles que les rejets des eaux usées des agglomérations, les activités portuaires (**Boutabia-Trea et al., 2015**) et les apports des oueds (**Belabed et al., 2008**), à cela s'ajoutent les rejets industriels d'une grande usine d'engrais qui délivre elle seule plus d'un million de mètres carrés d'eau chargée d'ammonium et de phosphate (**Ounissi et al., 2008**). En plus, les déchets domestiques non traités délivrent elles seules environ 0,3 million de m³ d'eaux chargées d'ammonium et de phosphate (**Ounissi et al., 2014**).

Hormis les sels nutritifs, les effluents provenant des sources industrielles, agricoles et domestiques contiennent une grande variété de produits chimiques naturels et synthétiques qui peuvent modifier le système endocrinien de la faune sauvage et des animaux du laboratoire (**Heppell et al., 1995 ; Sumpter et Jobling, 1995 ; Jobling et al., 1998**). Parmi ces produits avec des propriétés œstrogéniques, les pesticides, les alkyles phénols (**Allen et al., 1999 ; Fang et al., 2001 ; Gomes et al., 2003**), les peintures *antifouling* (**Kuiper et al., 1996**) et d'autres produits chimiques. Plusieurs études ont porté sur la présence de ces perturbateurs endocriniens dans les eaux douces (**Gagne et al., 2001 ; Garcia-Reyero et al., 2001 ; Witters et al., 2001**) et les effluents des eaux usées (**Kuch et Ballschmiter, 2000 ; Lopez de Alda et Barceló, 2001 ; Snyder et al., 2001 ; Tilton et al., 2002 ; D'Ascenzo et al., 2003 ; Huggett et al., 2003**). Toutefois, il y a une pénurie de données sur les niveaux des perturbateurs endocriniens dans l'eau de mer (**Fossi et al., 2002 ; Gong et al., 2003**).

L'application de pesticides dans les pratiques agricoles est une méthode bien établie pour contrôler la croissance des mauvaises herbes et réduire la perte de culture causée par les organismes nuisibles (**Deme et al., 2014 ; Deng et al., 2014**). Les herbicides sont inclus

dans un large éventail de micropolluants organique avec un impact écologique dont l'utilisation permet de maximiser les rendements des cultures. L'usage répandu des herbicides a fait l'objet de contrôle au cours de ces dernières années (**Benítez *et al.*, 2007** ; **Fontecha-Cámara *et al.*, 2008** ; **Fontecha-Cámara *et al.*, 2011** ; **Wols et Hofman-Caris, 2012** ; **Andersen *et al.*, 2013**). Les travaux de **Rivera *et al.* (1986)** ; **Najdek et Bazulic (1988)** ; **Rico *et al.* (1989)** ; **Mhlanga et Madziva (1990)** ; **Ramesh *et al.* (1990)** ; **Hadfield *et al.* (1993)** ; **Maund *et al.* (1997)** ; **Sundaram (1997)** et **Navarro *et al.* (2004)** ont indiqué des dommages écologiques causés dans différents écosystèmes aquatiques suite à l'utilisation des herbicides.

L'Algérie est parmi les principaux pays utilisateurs de produits agrochimiques en Afrique, l'utilisation des pesticides à usage agricole est de plus en plus fréquente suite à l'augmentation des superficies cultivées, ainsi près de 7000 substances actives de pesticides y sont commercialisées annuellement. En plus, il existe plus de 2300 tonnes de pesticides périmés répartis sur 500 sites détenus majoritairement par les anciennes entreprises nationales des produits phytosanitaires (**Bouziani, 2007**).

Le drainage des surfaces agricoles contenant des concentrations sensiblement élevées est évidemment le facteur principal responsable de la pollution (**Watanabe *et al.*, 2007**). Malheureusement, leur exposition n'est généralement pas limitée à l'endroit où ils sont appliqués, ils atteignent d'autres endroits environnementaux par le biais de divers processus de transport physiques et affectent les organismes vivants (**Kloppel *et al.*, 1997** ; **He *et al.*, 2005**). Les dommages causés par les herbicides sont importants en raison du déséquilibre qu'ils créent dans les écosystèmes naturels (**McKelvey *et al.*, 2002**). Au niveau des organismes aquatiques, ils peuvent induire la production d'espèces réactives d'oxygène (ERO) (**Ahmad *et al.*, 2000** ; **Uner *et al.*, 2006**) et provoquer un déséquilibre entre la production des ERO et l'activité antioxydante endogène (**Kamat *et al.*, 2000**). La réponse biologique des organismes aquatiques induit souvent des changements aux niveaux cellulaires et biochimiques, entraînant des modifications dans la structure et la fonction des cellules (**Parvez et Raisuddin, 2005**).

Pour estimer l'impact de la pollution, les biomarqueurs ont été couramment utilisés en tant qu'indicateur du stress cellulaire (**Tsangaris *et al.*, 2011**), ils sont fréquemment utilisés pour évaluer la qualité de l'habitat (**Maria *et al.*, 2009**). L'approche multibiomarqueurs basée sur l'utilisation combinée de différents biomarqueurs peut à la fois signaler une exposition aux contaminants et quantifier leurs effets sur la santé des organismes, ce qui permet une évaluation plus complète et intégrée de la qualité de l'environnement (**Adams,**

2005 ; Broeg et Lehtonen, 2006 ; Humphrey et al., 2007). Quoique, la réponse physiologique des organismes marins dépend fortement des fluctuations des facteurs biotiques et abiotiques (**Nahrgang et al., 2013 ; Schmidt et al., 2013**) qui peuvent entraîner des difficultés pour interpréter les effets biologiques exercés par les xénobiotiques (**Camus et al., 2004 ; Manduzio et al., 2004**). En plus, les changements des teneurs des biomarqueurs peuvent tout simplement être une partie naturelle du cycle physiologique annuel de l'espèce et donc tout à fait sans rapport avec les changements dans l'exposition aux xénobiotiques (**Sheehan et Power, 1999**).

Au niveau du golfe d'Annaba, la faune et la flore benthique sont des échantillons représentatifs appropriés d'une grande importance pour expliquer le lien entre l'état de santé des organismes aquatiques et les niveaux de contamination. Des études antérieures menées au golfe d'Annaba ont démontré l'effet de la pollution sur la moule *Perna perna* (**Belabed et al., 2013**), le mollusque *Donax trunculus* (**Hamdani et Soltani-Mazouni, 2011**), le gastéropode *Phorcus turbinatus* (**Boucetta et al., 2016**) et *Patella caerulea* (**Boumaza, 2014**) et le phanérogame *Posidonia oceanica* (**Boutabia-Trea et al., 2017**). Toutefois, peu d'informations existent sur le développement de l'oursin *Paracentrotus lividus* au niveau du golfe d'Annaba. Ce dernier, est un échinoïde comestible retrouvé en grande abondance sur les côtes méditerranéennes (**Tejada et al., 2013**), ses gonades en font de lui un fruit de mer très appréciée dans divers pays (**Fernández-Boán et al., 2013 ; Powell et al., 2014**). En plus de sa valeur en tant que nourriture de luxe (**Cook et Kelly, 2007**), il s'est également révélé être un excellent bioindicateur de la pollution dans le milieu marin en raison de ses habitudes sédentaires et sa sensibilité connue aux polluants (**Soualili et al., 2008**). Il a été utilisé dans plusieurs études en tant que bioindicateur de la pollution locale (**Demnati et al., 2002 ; Coteur et al., 2003 ; Bayed et al., 2005 ; Angioni et al., 2014**). Au cours des dernières années, il a acquis de l'importance en tant qu'organisme modèle dans les programmes de biosurveillance des écosystèmes marins (**Bellas et Paredes, 2001 ; Fabbrocini et al., 2010**).

Dans le cadre de ce travail de thèse, il est apparu important de disposer d'une approche multidimensionnelle en ayant recours à une approche biologique intégrée qui a été sélectionnée à l'aide d'une combinaison de mesures physiques, chimiques et biologiques afin de mettre en place une étude assez complète pour qualifier l'état de santé des eaux du golfe d'Annaba en utilisant l'oursin *Paracentrotus lividus*. Nous avons donc choisi de focaliser nos efforts sur trois principaux objectifs :

- 1) Evaluation du niveau trophique par la mesure et le dosage des paramètres physicochimiques.
- 2) Déterminer la qualité écotoxicologique par le dosage des pesticides.
- 3) Evaluation du niveau de la pollution par le dosage des biomarqueurs.

Le présent travail comporte deux parties indépendantes mais complémentaires, la première partie est une compilation des connaissances bibliographiques sur la pollution marine, le stress oxydatif et les biomarqueurs et enfin une présentation de l'oursin *Paracentrotus lividus*. Ces informations sont utiles pour l'interprétation des résultats obtenus. La deuxième partie est analytique et s'intéresse à la biosurveillance de la pollution des eaux côtières du golfe d'Annaba, cette partie comportera trois chapitres :

- Le premier chapitre abordera l'évaluation du niveau trophique, cette étude vient compléter les travaux antérieurs, elle a pour objectif de quantifier à l'aide d'une approche classique le niveau d'enrichissement par le dosage des nutriments.
- Le deuxième chapitre portera sur la détermination de la qualité écotoxicologique par le dosage des pesticides à savoir le diuron, l'atrazine, le nonylphénol et le glyphosate.
- Le troisième chapitre portera sur l'estimation du niveau de la pollution à l'aide des marqueurs biochimiques, il est basé sur le dosage des biomarqueurs au niveau des gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus*.

Au niveau de ces 3 chapitres, nous avons présenté tout d'abord la description du site et des stations d'échantillonnage, ensuite nous avons procédé à une explication détaillée des méthodes de dosages réalisées ainsi que le traitement statistique utilisé pour l'exploitation des données expérimentales obtenues ; puis une discussion qui regroupera l'ensemble des résultats obtenus et leurs comparaisons avec ceux de la littérature vient enserrer chaque chapitre.

Enfin ce manuscrit sera clôturé par une conclusion et des perspectives pour l'ensemble du travail de thèse.

Première partie

Rappel bibliographique

Cette première partie traitera trois volets : la pollution marine, le stress oxydatif et les biomarqueurs ainsi que la présentation d'un organisme sentinelle, l'oursin *Paracentrotus lividus*.

I. Pollution marine

Au cours des dernières décennies les zones côtières ont été le théâtre d'un développement accéléré un peu partout dans le monde (**Key et al., 2006**), la croissance démographique et le développement industriel des cinquante dernières années ont contribué à l'augmentation radicale des volumes d'eaux usées déversées et des polluants qu'elles transportent le long des côtes (**Marcotrigiano et Storelli, 2003**). En effet, qu'il s'agisse du développement urbain, industriel et agricole, l'activité humaine exerce une pression de plus en plus grande sur les milieux marins (**Rao et al., 2007**). Les principaux polluants retrouvés sont :

I.1. Eaux usées

La pollution engendrée par le déversement des eaux usées est l'une des formes de pollution les plus répandues et les plus dommageables pour l'ensemble des écosystèmes marins côtiers (**Espinosa et al., 2007**). Lorsqu'elles ne sont pas traitées convenablement, les eaux usées d'origine domestiques transportent avec elles des quantités excessives de nutriments, des bactéries pathogènes et de matières en suspension (**Siung-Chang, 1997**). Alors que celles d'origine industrielles renferment des polluants organiques et inorganiques (**Kaiser, 2001**). Le rejet croissant des eaux usées favorise le phénomène d'eutrophisation, ce dernier est défini comme étant l'enrichissement des eaux par les nutriments, spécialement les composés azotés et phosphorés causant ainsi l'accélération de la croissance du phytoplancton (**Smayda, 2008**).

I.2. Métaux lourds

Les métaux lourds aussi nommés éléments traces métalliques (ETM), sont présents dans le milieu marin de façon naturelle et certains sont mêmes essentiels au bon fonctionnement de nombreux processus biologiques. Cependant, de trop grandes concentrations de ces métaux, principalement des métaux dits non-essentiels, peuvent s'avérer toxiques pour les organismes aquatiques (**Daby, 2006**). Les effets des métaux

lourds sur le milieu marin sont considérés comme un grave problème de la pollution. En effet leur excès peut provoquer une altération des mécanismes biologiques, l'induction de la formation des radicaux libres (**Sensi et Jeng, 2004**) et l'inhibition des activités enzymatiques de certaines antioxydantes (**Splittgerber et Tappel, 1979**).

I.3. Hydrocarbures

La pollution des écosystèmes marins par les hydrocarbures est un phénomène qui soulève l'inquiétude des gouvernements nationaux et de la communauté internationale depuis de nombreuses années (**Abdullah, 1997**). Des accidents aussi spectaculaires que les grands déversements de pétrole et leurs effets dévastateurs sur les écosystèmes marins et côtiers n'ont pas manqué d'attirer l'attention des médias du monde entier (**Kaiser, 2001**).

I.4. Pesticides

I.4.1. Définition

Couramment appelé produit phytosanitaire, pesticide est un mot récent emprunté à la langue anglaise, il date de 1959. Il est composé de pest «insecte, plante nuisible ou parasite » (lui-même emprunté au français peste au XVI^e siècle) et de -cide, du latin caedere « frapper, abattre et tuer » (**López *et al.*, 2005 ; Gatignol et Étienne, 2010**). Les pesticides regroupent l'ensemble des produits utilisés dans le secteur agricole ou dans d'autres applications pour éliminer les organismes nuisibles (**Regnault-Roger *et al.*, 2005**).

L'agence de protection de l'environnement des États-Unis définit un pesticide comme étant n'importe quelle substance prévue pour empêcher, détruire, repousser ou atténuer n'importe quel parasite. Ceci inclut les insecticides, les herbicides, les fongicides, les fumigènes, les algaecides et d'autres substances (**Landgraf *et al.*, 1998**).

La réglementation française et européenne ne reconnaît pas l'appellation pesticide, mais elle définit précisément les notions de produits phytopharmaceutiques et de biocide, la directive européenne 98/8/CE 16 du février 1998 concernant la mise sur le marché des produits biocides, les définit comme : substances actives et préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentées sous la forme dans laquelle elles sont livrées à l'utilisateur, elles sont destinées à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles et à en prévenir l'action ou à les combattre (**Calvet *et al.*, 2005**). Cependant l'article 2 de la loi Algérienne du journal officiel N°87-17 du 1 août 1987 relative à la

protection phytosanitaire désigne par pesticide : toute substance ou mélange de substances destiné à repousser, détruire ou combattre les organismes nuisibles en vue de la protection ou de l'amélioration de la production végétale (**JORA, 1987**).

Les pesticides regroupent de nombreuses substances utilisées pour la prévention, le contrôle ou l'élimination d'organismes jugés indésirables (**Fréry et al., 2017**), on distingue principalement d'un point de vue réglementaire :

- Produits phytopharmaceutiques ou phytosanitaires, utilisés principalement pour la protection des végétaux en agriculture ou dans d'autres secteurs (**Commission Européenne, 2009**).
- Biocides, substances actives utilisées dans des applications comme la conservation du bois, la désinfection ou la lutte antiparasitaire, dans le but de détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles (**Commission Européen, 1998**).
- Certains médicaments utilisés pour lutter contre les ectoparasites à usage vétérinaire (**Commission Européen, 2004a**) et humain (**Commission Européen, 2004b**).

I.4.2. Composition des pesticides

Les pesticides sont constitués d'une ou de plusieurs substances actives, d'adjuvants pour faciliter ou accélérer l'action toxique des substances actives sur les organismes ciblés et d'un diluant généralement inerte. Une fois dans l'environnement les substances actives seront dissociées des adjuvants et auront par conséquent un effet toxique parfois moindre par rapport au produit en formulation commerciale (**Lipok et al., 2010**). Cependant, bien qu'atténuée, la fonction toxique demeure et provoque des effets indésirables sur les écosystèmes (**Prosser et Hart, 2005**).

I.4.3. Classification

Il existe deux systèmes de classification des pesticides et ils sont comme suit :

I.4.3.1. Premier système de classification

Les pesticides sont généralement classés selon la nature des cibles visées; il existe principalement trois grandes familles : les herbicides, les fongicides et les insecticides. À celles-ci s'ajoutent d'autres familles, moins fréquentes, telles que les rodenticides, les molluscicides, les nématocides, les acaricides et les corvicides (**Faurie *et al.*, 2003 ; Hildebrandt *et al.*, 2008**)

I.4.3.2. Deuxième système de classification

Ce système de classification repose sur la nature chimique de la substance active majoritaire qui compose les produits phytosanitaires (**Calvet *et al.*, 2005**). Cependant il ne permet pas de définir de manière systématique un composé, certains pesticides peuvent en effet être composés de plusieurs familles chimiques (**Raoul *et al.*, 2005**). Les principaux groupes chimiques sont comme suit :

I.4.3.2.1. Organochlorés

Organochlorés (OC) sont des pesticides organiques de synthèse à base de chlore, ils ont connu une forte utilisation en agriculture (1940-1960) (**Rodgers, 2010**). Les OC ont une forte persistance et des risques d'accumulation dans les sols, les tissus végétaux et les graisses animales (**Raven *et al.*, 2009**). Cette classe de pesticides comprend le lindane, l'aldrine, la dieldrine, la chlordécone et le DDT qui est le premier insecticide moderne utilisé aussi bien en agriculture que dans la lutte contre certaines épidémies (**Boily *et al.*, 2004**). Il est actuellement interdit dans la plupart des pays occidentaux, mais continue à être largement utilisé dans les pays en voie de développement (**Fénichel et Brucker -Davis, 2008**).

I.4.3.2.2. Organophosphorés

Organophosphorés (OP) sont des pesticides qui ont été commercialisés à partir des années 1970, pour remplacer les OC désormais interdit, ils se sont rapidement imposés du fait de leur rémanence plus faible et de leur grande efficacité (**Galgani et Bocquené, 1998**). Ces produits présentent une toxicité aiguë bien plus forte que les OC, ils peuvent interférer avec le système nerveux (**Xu *et al.*, 2012**). Leur grande toxicité est en effet une des causes les plus fréquentes d'empoisonnement dans le monde agricole (**Koelle, 1994**).

I.4.3.2.3. Carbamates

Les carbamates sont apparus à la fin des années 1940, leur développement est lié tout comme les OP à l'interdiction progressive des OC à partir des années 1970. Les carbamates contiennent des produits comme l'aldicarbe, le carbofuran ou le carbaryl (**Galgani et Bocquené, 1998**). Ils ont un large spectre d'action, mais sont moins toxiques que les précédents (**Raven *et al.*, 2009**).

I.4.3.2.4. Pyréthrinoïdes

Les pyréthrinoïdes sont les analogues synthétiques des pyréthrines, qui sont des substances naturelles présentes dans les fleurs de chrysanthème. Leur apparition remonte aux années 1970, c'est-à-dire après l'interdiction des pesticides OC. Ils peuvent s'accumuler dans l'environnement et l'organisme humain, ils sont très solubles dans les graisses et instables chimiquement (**Legube, 2009 ; Fréry *et al.*, 2017**).

Outre les principaux groupes chimiques cités, il existe de nombreuses autres familles comme les aldéhydes, les amides, les pyridil, les urées substituées, les triazines, les aminophosphates et les isoxazoles (**Marc, 2004 ; Murati, 2012**)

I.4.4. Utilisation des pesticides en Algérie

Les pesticides sont devenus omniprésents dans notre société moderne, leur développement a contribué à améliorer notre qualité de vie, mais il a aussi fait naître de nouveaux dangers. Dans notre pays, l'usage des produits phytosanitaires se répand de plus en plus avec le développement de l'agriculture, mais aussi dans le cadre des actions de lutte contre les vecteurs nuisibles. La fabrication des pesticides a été assurée par des entités autonomes de gestion des pesticides comme : Fertial et Moubaydal. Mais avec l'économie de marché actuelle, plusieurs entreprises se sont spécialisées dans l'importation d'insecticides et divers produits apparentés. Ainsi, environ 400 produits phytosanitaires sont homologués en Algérie, dont une quarantaine de variétés sont largement utilisées par les agriculteurs. C'est la loi n° 87-17 du 1^{er} août 1987, relative à la protection phytosanitaire, qui a instauré au départ les mécanismes qui permettent une utilisation efficace des pesticides. Cette loi régit les aspects relatifs à l'homologation, l'importation, la fabrication, la commercialisation, l'étiquetage, l'emballage et l'utilisation des pesticides. Récemment, dans notre pays, l'usage des pesticides ne cesse de se multiplier dans de nombreux domaines et en grandes quantités.

C'est le milieu agricole d'abord qui utilise des tonnes de pesticides et des raticides; ces produits sont consacrés en majorité pour le traitement des cultures, la lutte contre les rongeurs et pour augmenter la production agricole. Ainsi, l'épandage de pesticides est courant sur les champs de pommes de terre dans le but de détruire les parasites pour la protection des récoltes (**Bouziani, 2007**).

En application des dispositions de l'article 3 de l'ordonnance N° 03-04 du 19 Joumada El Oula 1424 correspondant au 19 juillet 2003 et conformément aux dispositions de la loi N° 87-17 du 1^{er} août 1987 et sous réserve du dispositif réglementaire institué par le décret exécutif N° 03-451 du 1^{er} décembre 2003, susvisés le décret de 31 janvier 2010 a pour objet de fixer les mesures applicables lors d'importation et d'exportation de produits phytosanitaires à usage agricole (**Boumaza, 2017**). L'importation de produits phytosanitaires à usage agricole est exercée par des importateurs agréés conformément à la réglementation en vigueur et elles doivent obéir aux réglementations suivantes selon le journal officiel (**JORA, 2003**) :

- L'importation de produits phytosanitaires à usage agricole est interdite lorsque le produit n'est pas homologué dans le pays d'origine.
- Les produits phytosanitaires à usage agricole importés doivent être accompagnés du bulletin d'analyse correspondant à chaque lot justifiant que le produit est conforme aux exigences ayant prévalu à son homologation en Algérie, délivrée par un laboratoire agréé par les services officiels du pays d'origine.
- Les produits phytosanitaires à usage agricole destinés à l'exportation sont soumis au contrôle de conformité par l'inspection phytosanitaire.

I.4.5. Impact des pesticides sur le milieu marin

D'une manière générale, le devenir des pesticides dans le milieu est lié à la forme sous laquelle sont commercialisés les produits (**Getzin, 1985**), à la nature du terrain (**Gerstl, 1990**), aux pratiques culturales (**Logan et al., 1987**) et aux conditions météorologiques. Les propriétés physicochimiques des différentes molécules vont conditionner leur transfert vers le milieu aquatique (**Galgani et Bocquené, 1998**). La biogéochimie des pesticides en milieu marin est complexe, la forme particulière ou libre des composés et leur partition dans les compartiments biotiques et abiotiques vont intervenir sur leur disponibilité pour les organismes vivants. De même leurs propriétés intrinsèques conditionnent le devenir de ces molécules (**Kenaga, 1972**), les concentrations dans les sédiments et dans les chaînes

alimentaires est fréquente et conduit à des niveaux de contamination très importants pour les niveaux trophiques supérieurs (**Ramade, 1992**).

L'arrivée de ces pesticides dans l'environnement marin et les perturbations qui peuvent en résulter ont fait prendre conscience de la nécessité d'action de biosurveillance visant à évaluer les niveaux de contamination et permettant de dégager les tendances de l'évolution de la contamination et de l'état de santé des organismes qui y vivent (**Galgani et Bocquené, 1998**). Plusieurs travaux ont reconnu leurs effets délétères chez les organismes vivants (**Adedeji et Okocha, 2012 ; Sani et Idris, 2016**) qui n'étaient pas visés par le traitement phytosanitaire (**Maroni *et al.*, 2000**).

La diversité des molécules présentes dans le milieu rend difficile leur quantification par des méthodes chimiques. De même, bien que spécifiques et quantitatives, les seules mesures chimiques ne permettent pas de conclure quant à la signification biologique de la pollution du milieu, en effet la présence de produits de dégradation et de métabolites pour lesquels l'analyse est généralement beaucoup plus délicate, voir même impossible pour certains, pose le problème de l'évaluation de la contamination réelle de l'environnement. Dans ce contexte, l'utilisation de mesure relative à la réponse du système biologique appelé biomarqueur est de plus en plus répandue.

II. Stress oxydatif et biomarqueurs

II.1. Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif a été défini par **Halliwell (1987)**, comme la production d'espèces réactives de l'oxygène et est synonyme de dommage. Pour **Sies (1997)**, c'est un déséquilibre entre les systèmes prooxydants et antioxydants en faveur des premiers, et sources d'effets toxiques potentiels. Tandis **Favier (1997, 2006)** et **Grandjean (2005)**, ont défini le stress oxydatif comme est l'état dans lequel les réactions prooxydantes dépassent les capacités antioxydantes d'un tissu ou d'un organisme, il résulte un déséquilibre du taux : antioxydants/prooxydants.

Selon les points de vue actuels, le stress oxydant peut être défini comme étant un déséquilibre entre la production et l'élimination des métabolites réactifs de l'oxygène et du nitrogène en faveur de leur production conduisant à des dommages potentiels (**Durackova *et al.*, 2008**).

II.2. Espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) « de l'anglais Reactive Oxygen Species (ROS) sont des dérivés de l'oxygène dont certains électrons se trouvent dans un état énergétique excité, donc très réactionnel. En plus de l'oxygène, certaines ERO contiennent également un atome d'azote et sont aussi appelées espèces réactives de l'azote (ERN) « de l'anglais Reactive Nitrogen Species (Haleng *et al.*, 2007) avec pour premier maillon le radical monoxyde d'azote ($\bullet\text{NO}$). En réalité les ERN sont un sous-groupe des ERO, puisque le monoxyde d'azote contient déjà l'atome d'oxygène, que la formation des dérivés du $\bullet\text{NO}$ dépend de la présence de l'oxygène et que les ERN contiennent tous un ou plusieurs atomes d'oxygène, la nomination d'espèces réactives de l'oxygène et de l'azote « Reactive Nitrogen Oxygen Species (RNOS) » peut être aussi utilisée pour désigner l'ensemble des ERO et ERN (Serteyn *et al.*, 2002).

Les ERO sont des molécules réactives produites dans les cellules vivantes au cours des processus vitaux normaux, elles sont générées dans la plupart des compartiments cellulaires (Del Río *et al.*, 2006 ; Mittler *et al.*, 2004 ; Navrot *et al.*, 2007). Les ERO se composent à la fois de radicaux libres et des formes non radicalaires (Novelli, 1997 ; Halliwell, 1987). Le tableau 01 résume les différentes espèces réactives d'oxygènes (Gardés-Albert et Vasson, 2005).

Tableau 01 : Différentes espèces réactives de l'oxygène impliquées dans le stress oxydant.

Radicaux libres	Dérivés oxygénés non radicalaires
Radical superoxyde ($\text{O}_2\bullet$)	Oxygène singulet ($\frac{1}{2}\text{O}_2$)
Radical perhydroxyle ($\text{HO}_2\bullet$)	Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)
Radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$)	Nitroperoxyde (ONOOH)
Radical peroxyde ($\text{RO}_2\bullet$)	Peroxynitrite (ONOO^-)
Radical alkoxyde ($\text{RO}\bullet$)	Acide hydro chloréux (HOCl)
Monoxyde d'azote ($\text{NO}\bullet$)	

II.3. Principales sources d'espèces réactives de l'oxygène

Il existe deux sources principales d'espèces réactives de l'oxygène et elles sont comme suit :

II.3.1. Sources endogènes

La production des ERO dans la cellule est essentiellement d'origine enzymatique et déroule de plusieurs sources possibles :

II.3.1.1 NAD(P)H oxydase

La NAD(P)H oxydase est une enzyme membranaire qui catalyse la réduction mono-électronique de l'oxygène en utilisant le NADPH ou le NAD comme donneur d'électron, c'est un complexe multimérique de structure similaire, mais non identique pressant dans tous les cellules phagocytaires et non phagocytaires (**Griendling *et al.*, 1994**), l'ion superoxyde issu de la réaction catalysée par la NAD(P)H oxydase est expulsé hors de la cellule ou dans une vésicule de phagocytose ou au sein du cytoplasme (**Griendling *et al.*, 2000**).

II.3.1.2. Xanthine oxydase

La xanthine oxydoréductase est une molybdo-enzyme catalysant l'oxydation de l'hypoxanthine et de la xanthine au cours du métabolisme des purines en générant de l'O₂^{•-} et H₂O₂ (**Salvayre et Salvayre, 2005**).

II.3.1.3. Enzymes de la voie de l'acide arachidonique

L'acide arachidonique est un acide gras polyinsaturé qui joue un rôle de second messenger via une voie de signalisation impliquant le contrôle de la protéine kinase C et de la MAP kinase p38 (**Bianchi *et al.*, 2002 ; Bécuwe *et al.*, 2003**), il provient de l'hydrolyse des phospholipides membranaires par la phospholipase A₂ dont la destinée est double : la synthèse de la leucotriènes d'une part et des prostaglandines-thromboxanes d'une autre part, ces deux voies sont régulées par l'action catalytique des lipo-oxygénases et des cyclo-oxygénases respectivement. Ces enzymes sont impliquées dans la production des ERO (**Bonizzi *et al.*, 2000**).

II.3.1.4. Mitochondrie

Au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale une proportion significative de l'oxygène (2 à 6 %) échappe à la réduction complète en molécule d'eau et subit une réduction monoélectronique au niveau des complexes I, II et III de la chaîne respiratoire pour donner naissance à l'anion superoxyde (**Kowaltowski *et al.*, 2009 ; Murphy, 2009**). Entre

70 à 80 % de l'anion superoxyde cellulaire est produit au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale faisant de cette dernière le site majeur de production de l' $O_2^{\bullet-}$ dans la cellule (Hamanaka et Chandel, 2010).

II.3.1.5. Peroxysome

Le peroxysome est un organite cellulaire entouré par une membrane simple et ne contenant pas de matériel génétique, il contient de nombreuses enzymes capables de générer une grande quantité de peroxyde d'hydrogène, toutefois l' H_2O_2 généré est rapidement détoxifié par la catalase peroxysomale (Hwang *et al.*, 2012). Il semblerait que l'échappement H_2O_2 du compartiment peroxysomal soit très faible et jusqu'à présent aucun rôle spécifique des ERO d'origine peroxysomale n'a été décrit (Beaudeux et Vasson, 2005).

II.3.1.6. Réticulum endoplasmique lisse

Le réticulum endoplasmique est un sous compartiment cellulaire séparé en réticulum endoplasmique rugueux et lisse, le réticulum endoplasmique lisse contient des enzymes qui catalysent les réactions de détoxification des molécules pharmacologiques liposolubles et d'autres métabolites toxiques. La plus connue de ces enzymes est le cytochrome P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques tout en produisant des ERO (Halliwell et Gutteridge, 1986,1988 ; Beaudeux et Vasson, 2005).

II.3.1.7. Lysosome

Au niveau des lysosomes, la myéloperoxydase (MPO) lysosomale est une enzyme responsable de la production de l'acide hypochloreux (HOCl), produit par oxydation de l'ion Cl^- par le peroxyde d'hydrogène. Elle possède une activité de peroxydase et une activité de chloration, utilisant dans les deux cas le peroxyde d'hydrogène comme substrat oxydant. En complément, la MPO peut catalyser l'oxydation de l'ion nitrite (NO_2^-) en formant des espèces réactives d'azote (Hazen *et al.*, 1999).

II.3.1.8. Noyau

La membrane nucléaire possède également des cytochromes oxydases et une chaîne de transport des électrons, dont la fonction physiologique est inconnue, son activité est beaucoup plus faible que celle de son homologue mitochondrial, mais une perte d'électrons peut également intervenir, générant ainsi l'anion superoxyde : l'effet de ces ERO produits à

proximité de l'ADN nucléaire pourrait être fonctionnellement important, par leur capacité à générer des lésions oxydatives de l'ADN (**Halliwell et Gutteridge, 1999**).

II.3.2. Sources exogènes

Les sources exogènes des ERO peuvent être représentées par divers facteurs qui peuvent être due à des molécules toxiques tels que l'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂), présents dans notre environnement participent à la genèse de radicaux libres, car ils sont responsables d'une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés (**Bartsch et Nair, 2000 ; Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2001**).

Les métaux lourds peuvent être responsables dans la formation des ERO, leur rôle est lié à leur capacité à exister sous différents états d'oxydation. En effet, les cations d'éléments : Fe, Cu, Cr ou Mn, sont capables de céder un ou plusieurs électrons susceptibles de réduire l'oxygène et ses dérivés. La plus connue de ces réactions est la réaction de Fenton qui se produit en présence de fer ferreux et qui conduit à la réduction du peroxyde d'hydrogène en radical hydroxyl et en anion hydroxyl. D'autres réactions de ce type faisant intervenir des métaux réduits ont également été décrites, telle que la réaction d'Haber-Weiss au cours de laquelle le peroxyde d'hydrogène réagit avec un radical superoxyde, comme l'anion superoxyde, aboutissant, là encore, à la production du radical hydroxyle (**Remon, 2006**).

Certaines métaux ou dérivées métalliques exercent une action inhibitrice sur les activités de biotransformation des xénobiotiques (**Förlin *et al.*, 1986**), les métaux qui n'existent que sous un seul état d'oxydation tel que le cadmium et le nickel, peuvent induire une accumulation de ERO pour trois raisons : une perturbation de certaines voies métaboliques, une inactivation des enzymes du système antioxydant ou un épuisement du stock de molécules de faible masse moléculaire comme l'ascorbate, le glutathion, la vitamine E ou les caroténoïdes, qui présentent des capacités antioxydantes (**Sanità Di Toppi et Gabbrielli, 1999**).

Le métabolisme de certaine substance exogène et l'auto-oxydation spontanée des métabolites réduits : les substances se comportent comme des systèmes redox, réduits par voie enzymatique par réduction à un électron, peuvent transférer cet électron à l'oxygène moléculaire en l'activant sous forme de radical superoxyde (**Cossu, 1997a**).

La contamination par les pesticides peut provoquer une augmentation de la production d'espèces réactives dans différents organismes (Ahmad *et al.*, 2000 ; Uner *et al.*, 2006). À cela s'ajoutent d'autres facteurs tels que les rayonnements ultra-violet (Ward *et al.*, 1987).

II.4. Rôle physiologique des espèces réactives de l'oxygène

Traditionnellement, les dérivés partiellement réduits de l'oxygène étaient simplement considérés comme des sous-produits toxiques du métabolisme (Arora *et al.*, 2002), à l'heure actuelle, ils sont également perçus comme des molécules signal qui contrôlent des processus comme la mort cellulaire programmée, les réponses aux stress abiotiques et biotiques (Gapper et Dolan, 2006 ; Gadjev *et al.*, 2006). Aussi, ils peuvent intervenir dans la stimulation de certains récepteurs membranaires (Chabaud, 2007).

II.5. Défenses physiologiques contre le stress oxydatif

L'organisme dispose de nombreuses substances endogènes capables soit de maintenir les espèces réactives de l'oxygène à des concentrations quasi stationnaires (c'est le cas des antioxydants enzymatiques), soit de piéger ces espèces (antioxydants non enzymatiques) (Van der Oost *et al.*, 2003).

II.5.1. Définition d'un biomarqueur

Un biomarqueur est un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant (Lagadic *et al.*, 1997).

II.5.2. Biomarqueurs de défense

Les principaux mécanismes d'action des biomarqueurs développés par les organismes vivants visent à éliminer les ERO et les catalyseurs de leur formation, induire la synthèse des antioxydants, augmenter l'activité des systèmes de réparation et l'élimination des molécules endommagées (Hamid-Öğüş *et al.*, 1997), les principaux biomarqueurs de défense sont comme suit :

II.5.2.1. Ethoxyrésorufine-*O*-dééthylase

L'éthoxyrésorufine-*O*-dééthylase (EROD) est une enzyme monooxygénase à fonction mixte dépendante du cytochrome P450, l'induction des monooxygénases permet la biotransformation de polluants hydrophobes en composés hydrosolubles, constitue une réponse de défense de l'organisme aux polluants parce qu'elle limite les interactions avec les composants cellulaires qui peuvent être délétères pour l'organisme (**Estabrook et al., 1963**).

II.5.2.2. Superoxyde dismutase

La superoxyde dismutase (SOD) est une métalloenzyme qui est capable de dismuter l'ion superoxyde en molécule de peroxyde d'hydrogène et d'oxygène, elles comportent un métal de transition (Fe, Mn ou Cu) au niveau de leur site actif, dans la réaction de dismutation, l'ion métallique capte un électron de l'anion superoxyde et le transfère au noyau imidazole de l'une des histones du site actif (**McCord et Fridovich, 1969**).

II.5.2.3. Catalase

La catalase (CAT) est une enzyme peroxysomale dont le rôle est de prévenir les peroxydations des molécules biologiques induites par le peroxyde d'hydrogène (**Aarab, 2004**), elle est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (**Ko et al., 2000**).

II.5.2.4. Glutathion -S transférase

La Glutathione - S transférase (GST) est une enzyme de désintoxication de phase II qui participe aux défenses antioxydantes (**Hajime et al., 2005**) dont la fonction est de conjuguer le GSH à des composés électrophiles par formation d'un pont thioéther (**Fouremant, 1989**), les produits sont ensuite métabolisés en acide mercapturique puis excrétés dans la bile ou l'urine (**Roméo et Giambérini, 2008**).

II.5.2.5. Glutathion peroxydases

La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme capable de détoxifier le peroxyde d'hydrogène et d'autres hydroperoxydes d'origine lipidique en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur ; dans le cas de la GPx ce

substrat est le GSH, mais d'autres peroxydases peuvent utiliser le cytochrome c et le NADH (Ursini *et al.*, 1995).

II.5.2.6. Glutathion

Le glutathion est un tripeptide impliqué dans de nombreux processus métaboliques parmi lesquels le maintien des communications intracellulaires et la prévention de l'oxydation des groupements thiols grâce à son pouvoir réducteur (Barhoumi *et al.*, 1993). Il est présent majoritairement à l'état réduit (GSH) dans les cellules, une augmentation de la forme oxydée (GSSG) traduit un stress oxydant (Hamid-Öğüş *et al.*, 1997).

II.5.2.7. Acide lipoïque

L'acide lipoïque est impliqué dans la formation de l'acétylcoenzyme A à partir du pyruvate, c'est un réducteur puissant sous sa forme réduite capable de réduire le glutathion et les radicaux peroxydes (Lagadic *et al.*, 1997).

II.5.2.8. Métallothionéine

La métallothionéine (MT) est une protéine de faible poids moléculaire, riche en cystéines et montrant une forte affinité à lier les ions métalliques (Margoshes et Vallee, 1957). La synthèse de la MT est principalement induite par les métaux essentiels ou non comme le cuivre, le zinc, le cadmium, le mercure et l'argent. mais aussi dans une moindre mesure par les composés organiques comme les pesticides ou les antibiotiques (Amiard *et al.*, 2006 ; Roméo et Giambérini, 2008).

II.5.3. Biomarqueurs de dommage

Les principaux biomarqueurs de dommage sont comme suit :

II.5.3.1. Acétylcholinestérase

L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme qui hydrolyse rapidement le neurotransmetteur d'acétylcholine (ACh) en choline et acide acétique (Massoulié *et al.*, 1993) dans les synapses cholinergiques dans les jonctions neuromusculaires du système nerveux et se retrouve tout au long du système nerveux central et périphérique, elle se retrouve également dans les tissus non neuromusculaires (Harrison *et al.*, 2002). Selon Day et Scott (1990) et Galgani et Bocquené (1989), l'inhibition d'AChE peut être

considérée comme un premier biomarqueur proposé en biosurveillance de la contamination par les pesticides.

II.5.3.2. Peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique a été utilisée comme marqueur du stress oxydatif reflétant l'état de peroxydation des membranes cellulaires des invertébrés et des vertébrés marins (**Damiens *et al.*, 2004**). Le processus de peroxydation des lipides implique une chaîne de réaction conduisant à la décomposition des acides gras polyinsaturés, leur dégradation induit la formation d'une grande variété de composés comme les radicaux lipidiques alcoxyles, des cétones, des alcanes, des époxydes et des aldéhydes, dont le malondialdéhyde (MDA), la plupart de ces composés sont toxiques et mutagènes (**Viarengo *et al.*, 1990 ; Valavanidis *et al.*, 2006 ; Almeida *et al.*, 2007**).

II.5.4. Approche multibiomarqueur

L'approche multibiomarqueur a pour but d'évaluer la qualité environnementale des eaux, elle est dorénavant préconisée et employée par tous les spécialistes de l'écotoxicologie pour la biosurveillance de la pollution des milieux aquatiques. Différents programmes de biosurveillance ont été constitués à la fin des années 1980 ayant pour objectif d'étudier de façon fondamentale et appliquée (**Roméo et Giambérini, 2008**) la réponse des organismes marins à la présence des contaminants. Le principal objectif des programmes de biosurveillance était d'utiliser une batterie de biomarqueurs sur des poissons et des moules sur plusieurs sites en mer méditerranée (**Lehtonen *et al.*, 2006**). Les biomarqueurs pris en considération étaient : l'inhibition de AChE indiquant la neurotoxicité et le stress général ; l'induction de la MT traduisant l'exposition aux métaux lourds ; l'activité antioxydante de la catalase et de la GST traduisant un stress oxydant et la biotransformation des xénobiotiques. A cela s'ajoute d'autres marqueurs tels que : l'activité des macrophages ; la fréquence des micronoyaux ; les adduits d'ADN et la stabilité de la membrane lysosomale (**Roméo et Giambérini, 2008**).

Les programmes de biosurveillance des milieux marins ont pour objectif d'intégrer ces différents aspects en utilisant comme outils des espèces sentinelles, quand un xénobiotique est introduit dans un milieu, ses premiers effets s'observent au niveau des organismes, puis des populations, des communautés et plus tardivement au niveau de l'écosystème. Plus la détection de ces perturbateurs est précoce, meilleures sont les possibilités de remédiation

et les chances d'en définir la source, ce qui explique l'intérêt porté aux organismes sentinelles et à l'étude de leurs biomarqueurs. Ces organismes sont en effet des bioindicateurs particuliers utilisés pour révéler précocement la présence et la toxicité d'un ou de plusieurs polluants dans le milieu (**Berthet, 2008**). Différents invertébrés ont été utilisés : comme les poissons, les moules, les gastéropodes et les échinodermes.....ex.

III. Présentation de l'espèce *Paracentrotus lividus*

III.1. Position systématique

La classification systématique de l'oursin *Paracentrotus lividus* selon **Fischer et al. (1987)** est comme suit :

Embranchement : *Echinodermata*

Classe : *Echinoidea*

Sous classe : *Regularia*

Ordre : *Diadematoïdea*

Sous ordre : *Camarodonta*

Famille : *Echinidea*

Genre : *Paracentrotus*

Espèce : *Paracentrotus lividus*

III.2. Synonymie et noms vernaculaires

L'oursin *Paracentrotus lividus* a eu des noms scientifiques différents au cours des temps, mais qui ne sont pas valides à savoir (**Tortonese, 1965**) :

Echinus saxatilis (Tiedemann, 1815).

Echinus lividus (Lamarck, 1816).

Echinus vulgaris (Blainville, 1825).

Echinus purpureus (Risso, 1826).

Toxopneuste lividus (Agassiz et Desor, 1846)

Toxopneuste concavus (Agassiz et Desor, 1846)

Toxopneuste complanatus (Agassiz et Desor, 1846)

Toxopneuste lividus (Heller, 1868)

Strongylocentrus lividus (Agassiz, 1872)

Paracentrotus lividus (Mortensen, 1903)

Les noms vernaculaires de l'espèce les plus couramment utilisés dans les pays riverains de la méditerranée sont indiqués dans le **tableau 02** (Davidson, 1981 ; Fischer *et al.*, 1987)

Tableau 02 : Noms vernaculaires de l'oursin *Pracentrotus lividus*.

Pays	Noms
Algérie	Quanfoud El - bahar
Tunisie	Quanfoud bahri
Liban	Toutia
France	Oursin commun, oursin de pierre et châtaigne de mer
Italie	Riccio di mare
Espagne	Erizo de mar
Malte	Rizza

III.3. Distribution géographique

L'oursin *Paracentrotus lividus* est présent aussi bien dans l'atlantique que dans la méditerranée, en atlantique il a été signalé depuis l'Irlande jusqu'au Maroc, y compris les îles Canaries, Açores et Madère (Tortonese, 1965 ; Fischer *et al.*, 1987) et le Sahara occidental (Allain, 1975). En mer méditerranée, cette espèce est très abondant en bassin occidental puis devient moins abondant dans la partie la plus orientale du bassin Méditerranée (Tortonese et Vadon, 1987).

En Algérie l'oursin a été signalé dans les côtes Algériennes par différents travaux de Semroud et Kada (1987) ; Guettaf *et al.* (2000) ; Dermeche *et al.* (2009) ; Soualili et Guilou (2009) ; Rouane-Hacene *et al.* (2017), ces différents auteurs ont signalé la présence de l'espèce *Paracentrotus lividus* au large des côtes Algériennes.

III.4. Caractères morphologiques

III.4.1. Morphologie externe

L'oursin *Paracentrotus lividus* a une forme quasi sphérique avec une symétrie pentaradiale légèrement aplatie sur la surface inférieure (**Fig.01**), dont la couleur varie du vert olive au violet foncé (**Ruppert et Barnes, 1994**). le diamètre moyen est de 50 mm et peut atteindre 70 à 80 mm dans des conditions favorables (**Fischer et al., 1987**) d'où son statut de bon indicateur de l'environnement (**Verlaque, 1987**).

Il est recouvert par un test dure formée par la réunion de spicules calcaires qui ont pris naissance dans l'intérieur du mésoderme et que recouvre l'épithélium ectodermique, les spicules calcaires forment par leur soudure des petites plaques arrangées avec un ordre en séries portant de l'extrémité supérieure du corps pour aller se terminer à l'extrémité inférieure et décrivant ainsi chacune une demi-circonférence. Développant deux types de plaque, celles qui sont percées pour laisser passer les ambulacres et celle dont les plaques ne possèdent pas de semblable ouverture. Il existe dix séries de plaques à ambulacres et dix séries de plaques non munies d'ambulacres; de plus les séries semblables sont regroupées côte à côte deux par deux de manière à former cinq séries doubles de plaques à ambulacres et cinq séries doubles de plaques sans ambulacres. Il existe en surplus autour de l'anus des petites plaques connues sous la dénomination de plaques ocellaires et plaques génitales et alternant entre elles. Aux plaques génitales aboutissent les zones interambulacraires et les zones ambulacraires aboutissent aux plaques ocellaires qui sont très petites. Une des plaques génitales se fait remarquer parmi les autres grâce à sa dimension plus grande et à la présence sur elle d'une quantité de pores ; elle a été nommée plaque madréporique et c'est par ces pores que pénètre l'eau de mer à l'intérieur du canal de sable (**Roule et al., 1889**).

La bouche nommée lanterne d'Aristote, est située dans la partie inférieure porte un appareil formé de cinq dents calcaires résistantes servant à l'animal pour mastiquer sa nourriture, la membrane entourant la bouche (membrane péristomiale) comporte de petites pinces appelées pédicellaires, certains de ces pédicellaires sont venimeux; Ils ont des fonctions multiples : capture des proies, le nettoyage du test, la défense et empêche les petits organismes de s'y fixer (**Hyman, 1955 ; Boué et Chanton, 1978 ; Roule et al., 1889**).

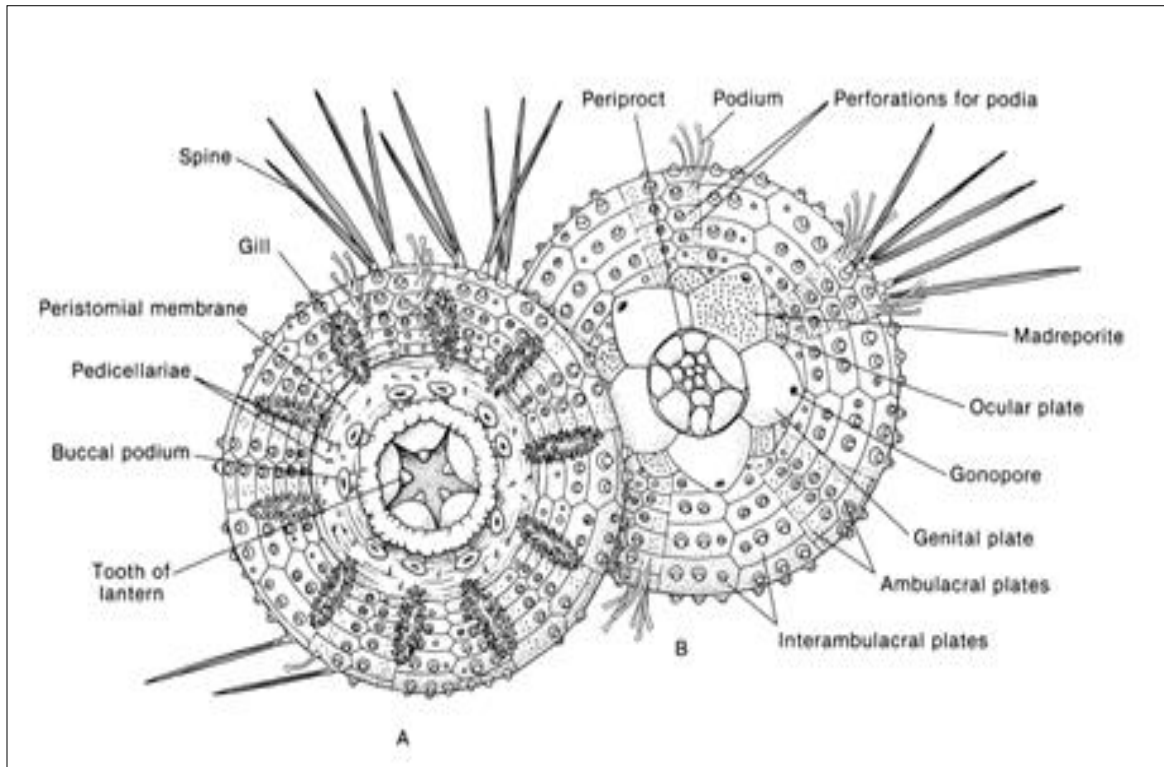


Figure 01 : Morphologie externe de l'oursin *Paracentrotus lividus*. (A) : Vue oral, (B) : Vue aboral (**Ruppert et Barnes, 1994**).

III.4.2. Morphologie interne

Comme tous les oursins réguliers, l'espèce *Paracentrotus lividus* présente un test protégeant une grande cavité coelomique, qui loge en grande partie les organes digestifs et reproducteurs (**Fig.02**). Tous les autres systèmes internes : le système aquifère, le système sinusaire, le système nerveux et le système lacunaire ou sanguin sont repartis entre des cloisonnements au centre de cette cavité, celle-ci est remplie d'eau de mer où flottent des globules sanguins en suspension (**Tortonese, 1965**).

Le tube digestif fait suite de la bouche, il est entouré sur lui-même et débouchant à l'anus, il est attaché à la paroi du corps par des lames mésentériques. Dans tout son parcours, il n'offre pas la même consistance en vue du rôle physiologique que jouent ses différentes parties (**Harmelin et al., 1981**). Dans une des moitiés en effet s'accomplissent les phénomènes physiologiques de la digestion et le tube digestif y possède une épaisseur beaucoup plus grande que dans la seconde moitié où a lieu la respiration. Il existe un canal de communication se rendant directement de la première partie du tube digestif à la

seconde ; ce canal qui relie ainsi la partie antérieure du tube digestif à la partie postérieure a reçu le nom de siphon (Roule *et al.*, 1889 ; Beaumont et Cassier, 1973).

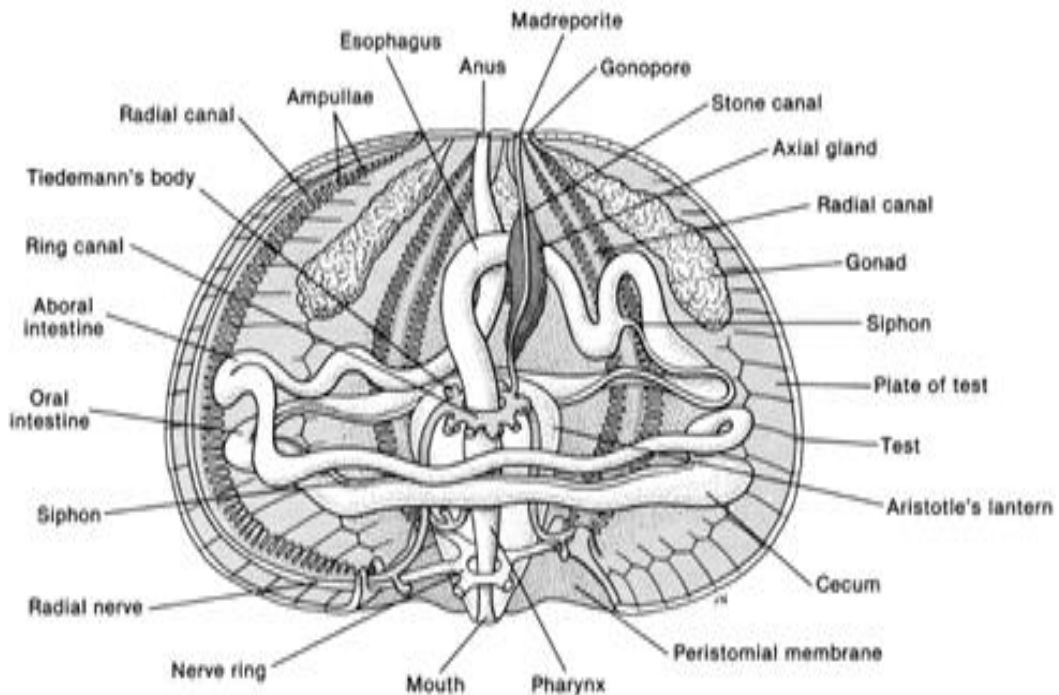


Figure 02 : Morphologie interne de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Ruppert et Barnes, 1994).

L'appareil ambulacraire est muni de vésicule de poli, envoie cinq canaux ambulacraires qui se divisent pour fournir une branche aux tentacules péribuccaux et se continue ensuite dans les zones ambulacraires sous la forme de canaux doubles. Sur le trajet de ces derniers sont insérés les ambulacres. Le canal de sable va déboucher au-dehors sous la plaque madreporique ; à ce canal est accolé un deuxième canal qui part de l'anneau sanguin et présente sur son trajet une dilatation nommée glande ovoïde dont le rôle est peu connu. Le système sanguin est constitué par deux vaisseaux logeant la paroi intestinale : l'un des deux se place au côté externe de la paroi intestinal, c'est le vaisseau marginal externe ; le second qui est le vaisseau marginal interne suit ainsi que son nom l'indique, le côté interne. Le rôle physiologique de ces vaisseaux est d'absorber les produits digérés et les transmettre à l'anneau sanguin périoesophagien, pour cela l'un de ces vaisseaux remonte jusqu'à l'œsophage et y débouche dans l'anneau sanguin. Cet anneau envoie de petites ramifications dans les vésicules de poli ; de même l'anneau ambulacraire envoie des

ramifications dans ces vésicules de sorte que le sang passe par là dans le système ambulacraire (**Roule et al., 1889**).

La morphologie des organes reproducteurs reflète une symétrie radiale, cinq gonades s'ouvrent dans les pores génitaux près de l'anus sont disposés radialement dans la cavité coelomique le long des zones ambulacrales, ils commencent à se développer lorsque l'échinoïde est encore très petit, d'environ 4 à 6 mm (**Spirlet et al., 1994**).

III.5. Respiration

Les oursins réguliers vivent généralement dans les milieux agités très oxygénés, en raison de leur anatomie complexe, ils disposent de tissus qui sont pratiquement tous en contact direct avec le milieu ambiant tant à l'extérieur qu'à l'intérieur du corps. Les échanges respiratoires se font très facilement à travers toutes les surfaces, certaines oranges semblent cependant avoir une fonction respiratoire plus importante. Il s'agit de certains pieds ambulacraires qui ne différencient pas des ventouses terminales, et qui de ce fait n'ont plus aucun rôle dans la fixation. De plus il existe dix branchies sur un cercle péribuccal qui correspondent à des extensions plus ou moins ramifiées d'une cavité localisée autour de la partie antérieure du tube digestif (**Barnabé, 1989**).

III.6. Régime alimentaire

Le régime alimentaire de l'oursin *Paracentrotus lividus* se révèle être très variable et suivant la région occupée, il est considéré comme relativement électrique dans le choix de sa nourriture (**Verlaque, 1987**). D'après **Zupi et Fresi (1984)** il peut avoir un comportement alimentaire assez variable, détritivore ou herbivore suivant les circonstances. Aussi **Régis (1986)** et **Verlaque (1987)**, ont démontré que l'oursin peut absorber à travers le test et les piquants de la matière organique dissoute et particulaire.

Sur substrat rocheux, les principaux végétaux identifiés dans son contenu digestif dépendent étroitement de la composition des phytocénoses accessibles telles que : *Ulvales*, *Codium*, *Ectocarpales*, *Dictyota*, *Gelidiales*, *Geramiaceae*, *Rhodomelaceae*, *Corallina*, *Phymatolithon lenormandii* (**Kempf, 1962 ; Neill et Larkum, 1965 ; Pina et al., 1984**). Dans les régions pauvres en macrophytes, il se comporte comme racleur généraliste (**Märkel, 1969**), Il est capable de ronger les roches devenant dans certaines régions calcaires un agent d'érosion non négligeable (**Schneider et Torun-Ski, 1983 ; Verlaque et Nedelec, 1983**).

Dans les herbiers denses, les besoins trophiques de *Paracentrotus lividus* sont assurés dans une large proportion par du matériel végétal (**Nedelec et Verlaque, 1984**), les jeunes oursins dont le diamètre du test est égal à 1 cm consomment à la fois des algues multicellulaires et des fragments de feuilles de *Peyssonnelia* et *Corallinaceae*; dès que le diamètre du test dépasse 2 cm, l'oursin se nourrit sur les feuilles où il ne tarde pas à sélectionner la zone distale couverte d'épiphytes. Cependant l'oursin adulte consomme essentiellement les feuilles de la phanérogame et leur épiflore (**Traer, 1980**).

III.7. Déplacement

Les oursins réguliers apparaissent comme des animaux fixes et immobiles, en réalité ils sont parfaitement mobiles et sont aptes à effectuer des déplacements relativement importants, leurs mouvements sont relativement lents, les piquants de la face intérieure servent aussi au cours des déplacements. Chaque piquant est articulé sur le test par l'intermédiaire d'un tubercule rond et de muscles rayonnants tout autour de la base du piquant. Par contraction de ces muscles, l'extrémité du piquant peut décrire des trajectoires complexes dans l'espace. Dans certains cas, les oursins peuvent se déplacer passivement, ils s'adhèrent au substrat et se laissent entraîner par les courants en roulant sur l'extrémité de leurs piquants (**Barnabé, 1989**).

III.8. Ecologie

L'oursin est le principal invertébré herbivore de la Méditerranée, il s'agit d'une espèce clé dans la régulation des communautés algales. Par conséquent, toute modification de densité ou de la structuration démographique des communautés d'oursin peut avoir des conséquences sur l'ensemble de l'écosystème infralittoral (**Azzolina et al., 1985 ; Palacin et al., 1998 ; Bonaviri et al., 2012**).

L'espèce *Paracentrotus lividus* se rencontre dans des biotopes variés (**Cherbonnier, 1956**), il occupe les roches littorales recouvertes de peuplement d'algues, mais s'accommode également dans les herbiers à *Posidonia oceanica*. Sur substrat dur l'espèce vit souvent associée avec l'espèce *Arbacia lixula* et se fixe préférentiellement dans les fissures et sur les blocs rocheux faiblement inclinés. Dans les herbiers de *Posidonia oceanica*, ils ont tendance à se rassembler au voisinage des tiges émergeant du sédiment (**Kempf, 1962 ; Harmelin et al., 1980**).

Au niveau de la partie supérieure de l'étage infralittoral, il est très abondant il présente une distribution qui est fonction de l'intensité de l'hydrodynamisme. Les individus les plus âgés sont plus visibles par contre les juvéniles se cachent dans les fissures et sous les roches (Kempf, 1962 ; Fenaux, 1968 ; Harmelin *et al.*, 1981).

D'un point de vue bathymétrique, cette espèce est présente dès la zone intertidale jusqu'à - 80 m, sa densité décroît avec la profondeur, les plus fortes densités sont observées entre 0 et - 10 m (Lecchini *et al.*, 2002 ; Lawrence, 2013).

III.9. Reproduction

Tous les oursins réguliers sont gonochoriques, c'est-à-dire que chaque individu est mâle ou femelle dès la naissance et le restera durant toute la durée de sa vie (Barnabé, 1989). Les organes génitaux sont placés en dedans de la paroi du corps dans les espaces correspondant aux zones interambulacraires, il se compose de 5 glandes émettant chacune un conduit aboutissant aux pores des plaques génitales (Roule *et al.*, 1889). Les 5 glandes génitales granuleuses sont d'un jaune orangé chez les femelles et plus fin et d'un jaune pâle chez les mâles (Fenaux, 1968). La maturité est atteinte vers 3 ans, soit pour un diamètre moyen hors piquant de 30 mm (Lawrence, 2013).

Le cycle de reproduction l'oursin *Paracentrotus lividus* est annuel, lorsque les gonades sont mûrs au début du printemps (Allain, 1975) et dans certaines localités à l'automne (Cripp et Willis, 1975), la ponte est synchronisée et déclenchée par un signal externe tel que le changement de température ou l'hydrodynamisme (Spirlet *et al.*, 1998). La variabilité dans le cycle de reproduction est due à de nombreux facteurs environnementaux tels que la qualité et l'abondance de la nourriture, les stimulateurs biologiques, la profondeur, la température, la photopériode et la périodicité lunaire (Ebert, 1968 ; Dix, 1970 ; Gonor, 1973 ; Régis, 1979 ; Lawrence et Lane, 1982).

La fécondation est externe et produit un gamète dont le développement aboutit à une larve pélagique à symétrie bilatérale, à partir de laquelle se formera l'oursin. La larve appartient au méroplancton où elle vit pendant un à deux mois, jusqu'à ce que sa morphologie adulte lui permette de rejoindre son habitat benthique (Verlaque, 1984 ; Fenaux *et al.*, 1985 ; Pedrotti et Fenaux, 1992 ; Fenaux, 1994). Durant la phase larvaire le taux de mortalité est élevé et peut atteindre jusqu'à 20 % par jour (Rumrill, 1990). Ce

fort taux de mortalité est compensé par une importante fécondité, une femelle peut pondre jusqu'à 5 million ovocytes par acte de ponte (**Luis *et al.*, 2005**).

III.10. Croissance et prédation

Pendant les 4 premières années de sa vie, l'oursin *Paracentrotus lividus* croît d'environ 1 cm de diamètre par an (piquants exclus) ensuite, sa croissance ralentie, son diamètre peut atteindre environ 8 cm (piquants exclus) pour une longévité qui peut dépasser les 10 ans. La taille maximale et la longévité sont cependant très variables suivant les secteurs, même très proche géographiquement mais soumis à des conditions environnementales différentes. Un effet «latitude» est également avancé, les individus seraient plus grands et vivraient plus longtemps en Atlantique qu'en Méditerranée. Ses prédateurs sont nombreux et variés. Les poissons possédant une mâchoire puissante comme les balistes ou certains sparidés sont capables de broyer le test. Les invertébrés comme des mollusques gastéropodes et céphalopodes, ou encore des échinodermes avec les étoiles de mer comptent parmi les principaux consommateurs d'oursins (**Allain, 1978**).

III.10. Intérêt économique

D'après les annuaires statistiques des pêches de la FAO il n'y aurait qu'en France que la pêche serait pratiquée. En effet, ces oursins sont pêchés dans quasiment tous les pays de la méditerranée (**Le Direac'H *et al.*, 1987**), les quantités pêchées sont trop faibles et de manière générale la pêche ne s'opère pas de manière réellement professionnelle, ce qui explique que ces pays ne figurent pas dans les annuaires de la FAO ; de plus il n'aurait pas de rubrique « oursin » dans les bulletins statistiques du conseil général des pêches pour la méditerranée (**Ledireach, 1987**).

Cette espèce est exploitée par excellence sur tout le pourtour de la Méditerranée ; en Yougoslavie, en Algérie et au Maroc ces oursins sont principalement consommés par les touristes. C'est aussi le cas en Tunisie où ils sont aussi appréciés dans les classes plus aisées de la population. Par contre en Turquie et en Espagne, ce sont plutôt les populations locales du bord de mer qui apprécie les oursins. C'est aussi le cas de la Grèce où la consommation des oursins est une ancienne tradition. En Italie la consommation est aussi bien régionale que touristique. Dans tous ces pays, la pêche est faite par des amateurs ou des non professionnels, il n'a pas de statut de pêcheur d'oursin à proprement parler à part pour quelques pêcheurs Espagnols (**Ballesteros et Garcia-Rubies, 1987**). En règle générale il

n'a pas vraiment de réglementation concernant la pêche des oursins en particulier dans les pays méditerranéens (**Le Direac'H et al., 1987**).

Deuxième partie

Biosurveillance de la pollution des eaux côtières du golfe d'Annaba

Chapitre I

**Evaluation du niveau trophique par le
dosage des paramètres
physicochimique**

I.1. Matériel et Méthodes

I.1.1. Présentation du site d'étude

L'Algérie est un pays africain ayant une zone côtière d'environ 1600 km de long dans la mer Méditerranée (Tayeb *et al.*, 2015), le site d'étude se situe à l'extrême Est des côtes Algériennes, limité à l'Est par le cap Rosa ($8^{\circ} 15'$ Est et $36^{\circ} 58'$ Nord) et à l'Ouest par le cap de Garde ($7^{\circ} 47'$ Est et $36^{\circ} 58'$ Nord) ; la distance séparant les deux caps est d'environ 40 km (Hafsaoui, *et al.*, 2016). Selon Vaissière et Fredj (1963), le plateau continental est généralement étroit avec un fond hétérogène, ce dernier est accidenté, nettement restreint au Nord du cap de Garde, puis s'élargit dans le golfe jusqu'à 27 km puis se rétrécit légèrement au niveau du cap Rosa (Fig.03). Globalement, le fond débute à l'Ouest par du sable fin auquel succède une ceinture d'herbiers à *Posidonia oceanica* installée généralement sur un substrat dur et souvent entrecoupé par des zones sableuses (Pergent *et al.*, 1993).



Figure 03 : Localisation du golfe d'Annaba (Derbal *et al.*, 2007).

Le golfe est battu par des vents Nord à Nord-Ouest de la fin de l'automne jusqu'à la fin du printemps et par un vent d'Est en été. Le côté Sud-Ouest particulièrement exposé aux vents du Nord, est sujette à d'intenses transports et accumulations sédimentaires générés par l'action hydrodynamique (Boudinar, 2016). Selon l'étude du LCHF (1976), le mouvement hydrodynamique est généralement de faible amplitude, à l'entrée de la baie

d'Annaba on retrouve un mouvement hydrodynamique permanent d'orientation 100° - 120° . Au Sud du cap de Garde, le courant se dirige vers l'Est aux environs de l'oued El-Mafrag en diminuant d'intensité (**Derbal, 2007**). La bathymétrie entre les deux caps limitant le golfe d'Annaba est estimée à 65 mètres, les isobathes -10, - 20, - 30, - 40 et - 50 mètres sont assez éloignés les uns des autres au Sud du golfe et se rapprochent ensuite vers le Nord du cap de Garde. Ceux de - 50 et - 100 mètres sont très rapprochés et parallèles à la ligne du rivage (**Vaissière et Fredj, 1963**).

Au niveau du golfe les teneurs en éléments minéraux sont très hétérogènes et s'organisent selon un gradient décroissant depuis la côte vers le large, il se jette essentiellement trois oueds : Seybouse, El-Mafrag et Bedjima (**Nadji, 2016**). Ces derniers charrient vers le golfe les eaux de leur bassin versant, ces eaux charriées se composent d'eaux de pluie et de rejets directs de polluants industriels. Le golfe reçoit aussi les eaux usées urbaines qui ne subissent qu'un traitement sommaire au niveau de la station de traitement des eaux de Sidi Brahim, ainsi que de nombreux autres émissaires provenant des différentes plages qui longent le golfe (**Kadri, 2015 ; Boudinar, 2016**). À cela s'ajoute l'enceinte portuaire qui contribue de façon incontestable à la pollution du golfe d'Annaba (**Grimes, 2010**).

Les zones côtières du golfe d'Annaba reçoit les apports continentaux essentiellement par oued Seybouse (**Reggam et al., 2015**), ce dernier s'étend sur 225 km de long et draine un vaste bassin versant d'une superficie de 6474 km² (**Guettaf et al., 2014**) ou s'exercent d'importantes activités agricoles et industrielles intenses (**ABH, 2002**). Le débit de l'oued varie entre 0 et 100 m³/s, mais pendant les périodes de fortes averses il peut atteindre des valeurs de l'ordre de 630 m³/s (**Bougherira et Aoun-Sebaiti, 2012**) et décharge annuellement dans le golfe environ un demi-milliard de mètres cubes d'eau (**LCHF, 1976**). Les eaux de l'oued Seybouse sont excessivement riches en nutriments engendrant l'eutrophisation du milieu (**Gaïd, 1986 ; Djabri et al., 1998 ; Djabri, 1992**). Selon **Ounissi et al. (2002)**, le golfe d'Annaba reçoit de la Seybouse des quantités excessives d'azote minéral (4,3 tonnes/jours), de phosphates (0,7 tonne /jours) et de carbone organique dissous (2,3 tonnes/jours).

À cela s'ajoutent les eaux de l'estuaire d'El-Mafrag, ces eaux sont généralement troubles tout le long de la côte jusqu'à la plage Draouche et parfois au-delà. Elles sont fortement eutrophes (**Ounissi et al., 2002**). L'estuaire d'El-Mafrag est un écosystème microtidal formé par deux rivières Bounamoussa et El-Kébir avec leurs marécages, le bassin

versant s'étend sur 3200 km² est occupé par d'importants marécages (\approx 600 km²). En période de crue, l'eau excédentaire envahit complètement la plaine littorale et occasionne de sérieuses atteintes de l'environnement (**Haridi *et al.*, 2006**). Le bassin peu peuplé est exploité par l'agriculture, cette dernière y est essentiellement intensive et l'industrie se limite à de petites usines agroalimentaires. Le débit à l'embouchure d'El-Mafrag est fortement variable avec des valeurs extrêmes de 0 m³/s en période sèche et jusqu'à 500 m³/s lors des périodes de crues (**Khélifi-Touhami *et al.*, 2006**). Quant à oued Bedjima, il reçoit les eaux usées des agglomérations urbaines, ainsi que de multiples égouts domestiques avant d'atteindre la mer (**Hadjadji, 2014**). D'énormes quantités d'orthophosphate et l'azote inorganique dissous sont libérées dans le golfe, ces quantités sont très polluantes et auront certainement un impact sur l'environnement (**Ziouch, 2014**).

I.1.2. Localisation des stations d'échantillonnage

Les campagnes d'échantillonnage ont été effectuées à raison d'une fois par saison : l'hiver (Février), le printemps (Avril), l'été (Juillet) et l'automne (Octobre) durant l'année 2012. L'échantillonnage a été effectué au niveau de 3 stations (**Fig.04**).

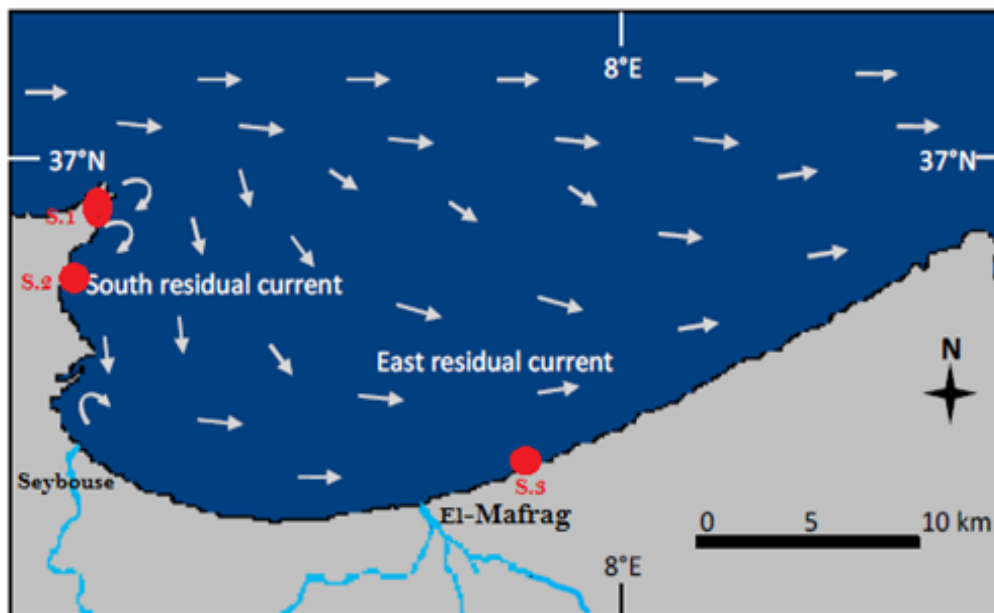


Figure 04 : Localisation des stations d'échantillonnage (**Ziouch, 2014**).

I.1.2.1. Station S.1

Notre première station de prélèvement est le cap de Garde (S.1). Elle est située à l'Ouest du golfe d'Annaba ($36^{\circ} 57' 59,94''$ Nord - $7^{\circ} 47' 38,30''$ Est) (**Google Earth, 2017**), cette station est supposée n'être exposée à aucune source de pollution du fait de sa localisation assez éloignée des divers rejets (**Fig.05**) mise à part la présence de quelques habitations non reliées au réseau d'assainissement. Cette station enregistre très peu de baigneurs en période estivale.

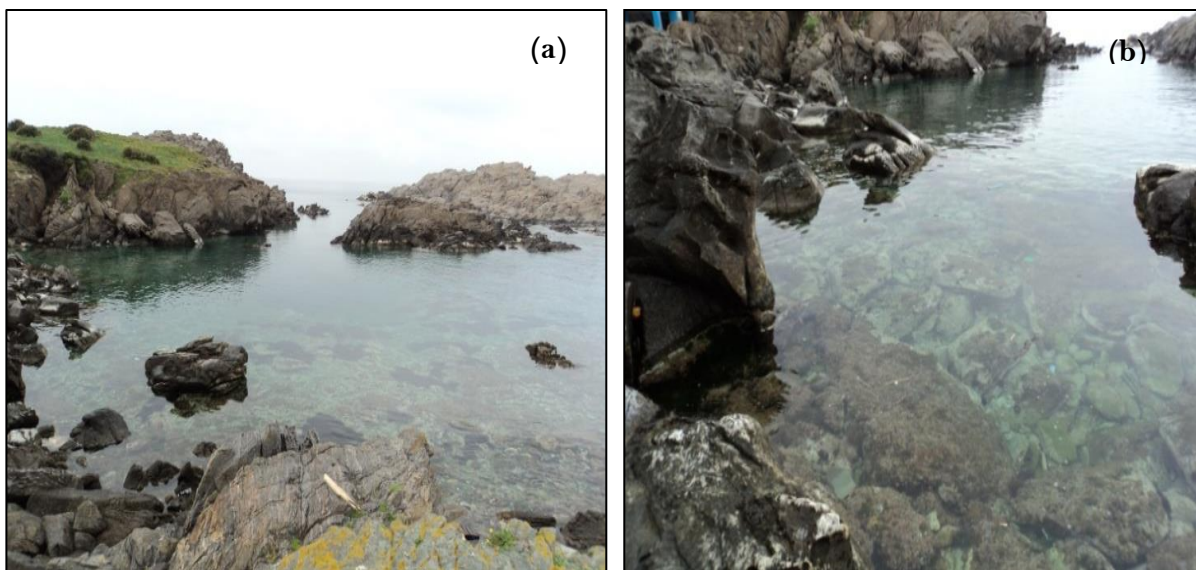


Figure 05 : Vue générale du cap de Garde (Photos prises le : 03/03/ 2012). (photo a) : cap de Garde - (photo b) : point de prélèvement.

I.1.2.2. Station S.2

Notre deuxième station de prélèvement est la plage Lacaroube (S.2). Elle est située à l'Ouest du golfe d'Annaba ($36^{\circ} 55' 2,68''$ Nord - $7^{\circ} 46' 4,83''$ Est) (**Google Earth, 2017**), cette plage s'étale sur 300 mètres et se caractérise par des sources ponctuelles de pollution notamment bactérienne (**Hidouci, 2015**). Elle reçoit les rejets domestiques des habitants sans traitement préalable (**Fig.06**), elle est par ailleurs très fréquentée en période estivale par les baigneurs.

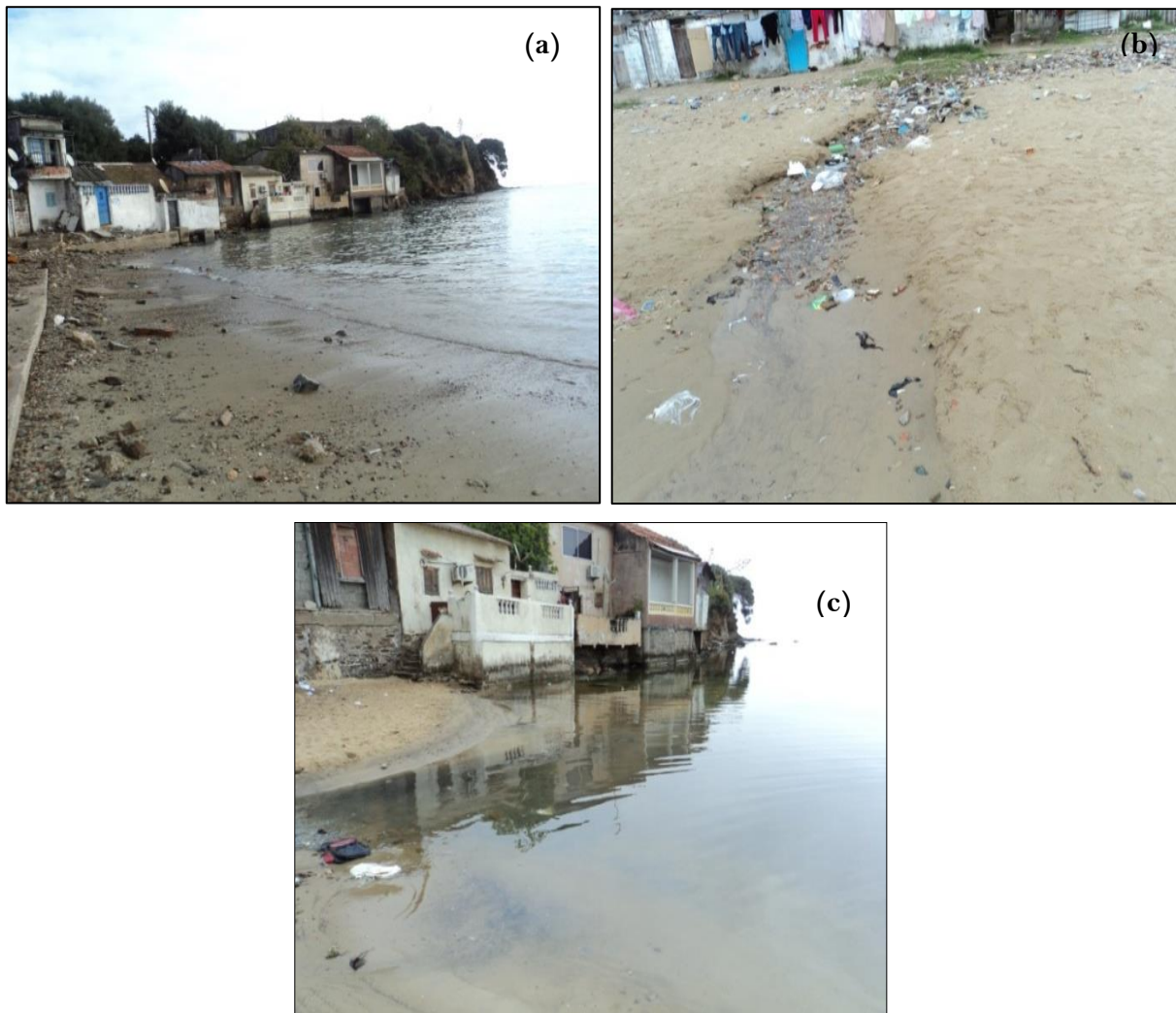


Figure 06 : Vue générale de la plage Lacaroube (photos prises le : 03/03/2012). (photo a) : plage Lacaroube - (photo b) : rejets domestiques - (photo c) : point de prélèvement.

I.1.2.3. Station S.3

Notre troisième station de prélèvement est la plage de Draouche (S.3). Elle est située à l'Est du golfe d'Annaba ($36^{\circ} 52' 18,13''$ Nord - $7^{\circ} 46' 8,32''$ Est) (Google Earth, 2017) dans la commune de Berrihane, entre l'estuaire d'El-Mafrag et le cap Rosa. Cette plage est supposée n'être exposée à aucune source de pollution du fait de sa localisation assez éloignée des divers rejets urbains (Fig.07), elle est fréquentée par des pêcheurs, des animaux ainsi que quelques estivants en été. Le point de prélèvement des échantillons se situe en aval de la plage à 2 Km, nous avons essayé de nous rapprocher au maximum de l'estuaire d'El-Mafrag.

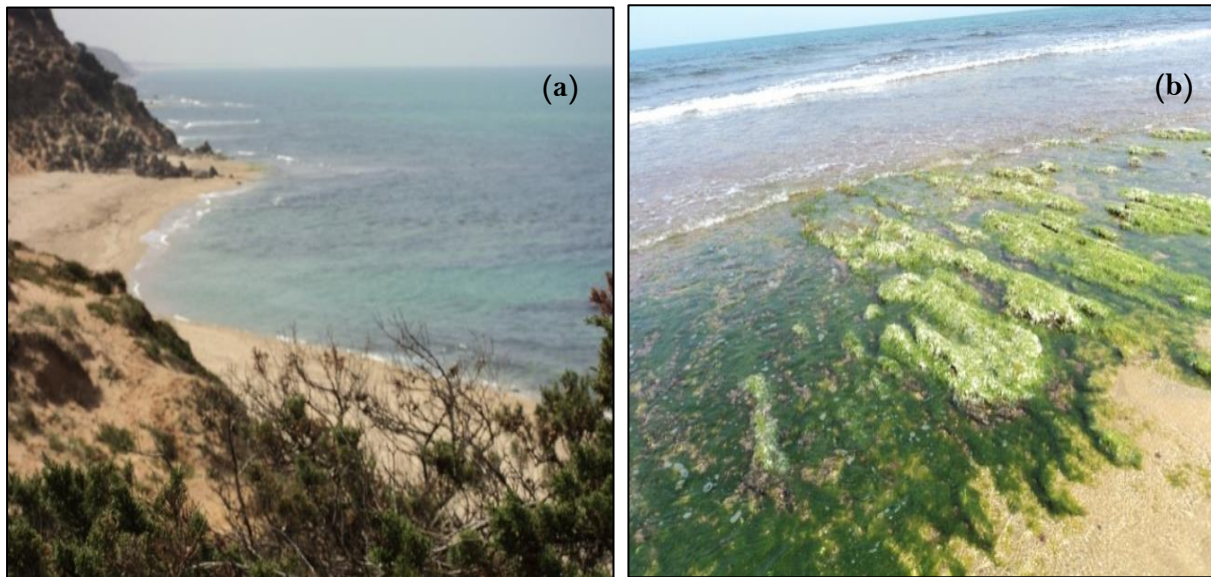


Figure 07 : Vue générale de la plage Draouche (photos prises le : 03/03/2012).
(photo a) : plage Draouche - (photo b) : point de prélèvement.

I.1.3. Paramètres météorologiques

Le climat général de la région d'Annaba est du type méditerranéen, il se caractérise par une saison estivale chaude et sèche et une saison hivernale froide et pluvieuse. Les paramètres météorologiques du site d'étude ont été obtenus à partir de la station météorologique et elles sont représentées dans le **tableau 03 (Station météorologique 603600 et 603670)**.

Tableau 03 : Caractérisation météorologique du golfe d'Annaba durant la période d'échantillonnage.

Saisons	Golfe d'Annaba	Température (°C)	Précipitation (mm)	Observation <i>in situ</i>
Hiver	Côté Est	10,20	169,4	Eau légèrement turbide
	Côté Ouest	13,40	221,76	Eau très turbide
Printemps	Côté Est	22,50	50,30	-
	Côté Ouest	25,70	101,34	-
Eté	Côté Est	25,20	01,02	-
	Côté Ouest	25,90	02,03	-
Automne	Côté Est	23,30	64,27	-
	Côté Ouest	23,30	37,33	-

Les valeurs de la température sont celles du jour du prélèvement.

Les valeurs de la précipitation sont celles du cumule du mois du prélèvement.

- : Rien à signaler.

I.1.4. Mesure des paramètres physicochimiques de l'eau de mer

I.1.4.1. Paramètres mesurés *in situ*

La mesure des paramètres physicochimiques (le potentiel d'hydrogène, la température, la salinité et l'oxygène dissous) de l'eau de mer des stations d'échantillonnage a été réalisée *in situ* au moment du prélèvement à l'aide d'un multiparamètre de terrain (WTW Multi 340i) calibré tous les mois avant chaque sortie. Les étapes de la mesure sont comme suit :

- Allumer l'appareil ;
- Rincer la sonde avec de l'eau de mer ;
- Plonger la sonde dans l'eau ;
- Attendre quelques secondes la stabilisation de l'affichage sur l'écran, puis lire le résultat de la mesure ;
- Refaire les mêmes étapes pour les autres sondes.
- Les résultats de la mesure sont exprimés en degré Celsius pour la température (°C), par mille pour la salinité (‰) et en milligramme par litre pour l'oxygène dissous (mg/L).

En ce qui concerne la turbidité, elle a été mesurée à l'aide d'un turbidimètre (HACH 2100N) calibré tous les mois avant chaque sortie. Les étapes de la mesure sont comme suit :

- Allumer l'appareil ;
- Rincer les cuves de la lecture avec l'échantillon à analyser ;
- Remplir la cuve de lecture avec l'échantillon à analyser ;
- Attendre quelques secondes la stabilisation de l'affichage sur l'écran puis lire le résultat de la mesure.
- Le résultat de la mesure est exprimé en Nephelometric turbidity unity (NTU).

I.1.4.2. Paramètres dosés au laboratoire

Pour le dosage de quatre sels nutritifs (l'azote ammoniacal, les nitrites, les nitrates et les orthophosphates), une bouteille en plastique d'une capacité d'un litre et demi est prélevée au niveau de chaque station. Les bouteilles sont remplies jusqu'au bord et les bouchons sont placés de telle façon qu'il n'y ait aucune bulle d'air (Rodier *et al.*, 1978).

Les échantillons sont numérotés, étiquetés puis transportés à l'obscurité et à basse température ($\approx 4^{\circ}\text{C}$) dans des glacières. Au laboratoire, les échantillons sont filtrés à travers un filtre Whatman GF/C ($0,45\ \mu\text{m}$). Les dosages ont été réalisés sur le filtrat selon les méthodes colorimétriques décrites par **Aminot et Kérouel (2004a)** qui restent jusqu'à présent une des plus rapides et des plus simples pour le dosage des sels nutritifs dans l'eau de mer.

I.1.4.2.1. Azote ammoniacal

Pour désigner l'azote ammoniacal on utilise souvent le terme d'ammoniaque qui correspond aux formes ionisées (NH_4^+) et non ionisées (NH_3) de cette forme d'azote (**Rejsek, 2002**). Le principe de base du dosage est basé sur la réaction de Berthelot où l'ammoniaque en milieu basique réagit avec l'hypochlorite pour former une monochloramine, puis successivement avec deux molécules de phénol pour former le bleu d'indophénol (**Solorzano, 1969**). La composition et la préparation des réactifs nécessaires au dosage de l'azote ammoniacal sont représentées en **annexe 1**.

La réalisation du dosage nécessite l'élaboration d'une gamme étalon d'ammonium, cette gamme nécessite la préparation de 6 concentrations (0 ; 0,2 ; 0,5 ; 1 ; 2 et 5 $\mu\text{mol/L}$) en fioles jaugées à partir de la solution diluée d'ammonium à 500 $\mu\text{mol/L}$. Afin de réaliser la courbe d'étalonnage nous avons préparé une solution étalon diluée d'ammonium donc la composition et la préparation sont représentées en **annexe 1**. Les étapes du dosage s'appliquent aux filtrats d'échantillons et à la gamme étalon dont les étapes sont comme suit :

- Transférer 100 ml de la solution à doser dans un flacon approprié ;
- Ajouter 5 ml de la solution de phénol- nitroprussiate ;
- Mélanger, puis ajouter sans attendre 5 ml de la solution complexante au chlore ;
- Mélanger puis placer les flacons immédiatement à l'abri de la lumière à température ambiante au moins 6 heures ;
- La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec de l'eau distillée remplaçant l'échantillon à doser, la densité optique est mesurée à une longueur d'onde $\lambda = 630\ \text{nm}$;
- Tracer la droite étalon : Absorbance = $f(\text{concentration en } \text{NH}_4^+)$;
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon chacun des échantillons est alors déduit ; les concentrations obtenues en NH_4^+ sont exprimées en μM .

- La représentation graphique de la courbe d'étalonnage est représentée en **annexe 1**.

I.1.4.2.2. Nitrite

Le principe du dosage des nitrites (NO_2^-) est basé sur la réaction de Griess où le nitrite réagit avec une première amine aromatique pour former un diazoïque qui est couplé à une seconde amine aromatique pour produire une coloration rose (**Bendschneider et Robinson, 1952**). La composition et la préparation des réactifs nécessaires au dosage sont représentées en **annexe 2**.

La réalisation du dosage nécessite la préparation d'une gamme étalon de nitrite, cette gamme nécessite la préparation de 5 concentrations (0 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,5 et 1 $\mu\text{mol/L}$) en fioles jaugées à partir de la solution étalon diluée de nitrite à 50 $\mu\text{mol/L}$. Afin de réaliser la courbe d'étalonnage nous avons préparé une solution étalon diluée de nitrite dont la composition et la préparation sont représentées en **annexe 2**. Les étapes du dosage s'appliquent aux filtrats d'échantillons et à la gamme étalon dont les étapes sont comme suit :

- Transférer 50 ml de l'échantillon à doser dans un récipient approprié ;
- Ajouter 1 ml de la solution de sulfanilamide, puis mélanger ;
- Attendre 2 à 5 min puis ajouter 1 ml de la solution de N - naphthyl éthylène-diamine ;
- Mélanger, puis laisser agir 10 minutes ;
- La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec de l'eau distillée remplaçant l'échantillon à doser, la densité optique est mesurée à une longueur d'onde $\lambda = 543 \text{ nm}$;
- Tracer la droite étalon : Absorbance = $f(\text{concentration en } \text{NO}_2^-)$;
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon chacun des échantillons est alors déduit ; les concentrations obtenues en NO_2^- sont exprimées en μM ;
- La représentation graphique de la courbe d'étalonnage est représentée en **annexe 2**.

I.1.4.2.3. Nitrate

Le dosage des nitrates a été réalisé selon la méthode de **Gales (1974)** dont le principe de base repose sur la réduction quasi quantitative du nitrate en nitrite, le dosage nécessite

une colonne en verre remplie de cadmium, le remplissage de la colonne et son activation ont été réalisés selon la méthode décrite par **Aminot et Kérouel (2004a)**. La composition et la préparation des réactifs nécessaires au dosage des nitrates sont représentées en **annexe 3**. Les étapes du dosage sont comme suit :

- Transférer 100 ml de l'échantillon à doser dans un récipient approprié ;
- Ajouter 2 ml de la solution de chlorure d'ammonium ;
- Mélanger puis ajouter 2 ml de la solution d'hydroxyde de sodium ;
- Passez l'échantillon sur la colonne de cadmium (débit de 20 à 30 ml /min) ;
- Récupérer les premiers 30 ml sortant de la colonne pour le rinçage du récipient destinée au dosage ;
- Récupérer ensuite les 50 ml de l'effluent sortant de la colonne dans le récipient rincé ;
- Doser les nitrites formés lors du passage de l'échantillon sur la colonne en appliquant la procédure décrite précédemment (chapitre. I, §.I.1.4.2.2) ;
- La concentration des nitrites mesurés est la somme de la concentration en nitrate initial du milieu réduit et du nitrite initiale du milieu ;
- La concentration du nitrate est déduite par soustraction de la concentration initiale des nitrites de la concentration mesurée en nitrites.
- Les concentrations obtenues en NO_3^- sont exprimées en μM .

I.1.4.2.4. Orthophosphate

Le dosage des orthophosphates a été réalisé selon la méthode d' **Hansen et Robinson (1953)**, le principe du dosage est basé sur la réduction des ions orthophosphates avec une solution acide contenant des ions de molybdate et d'antimoine pour former un complexe d'antimonyl-phosphomolybdate, l'addition de l'acide ascorbique donne un complexe de molybdène coloré en bleu. La composition et la préparation des réactifs nécessaires au dosage sont représentées en **annexe 4**.

La réalisation de ce dosage nécessite l'élaboration d'une gamme étalon d'orthophosphate, cette gamme nécessite la préparation de 5 concentrations (0 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,5 et 1 $\mu\text{mol/L}$) en fioles jaugées à partir de la solution diluée d'orthophosphate à 50 $\mu\text{mol/L}$. Afin de réaliser la courbe d'étalonnage nous avons préparé une solution étalon dilué d'orthophosphate dont la composition et la préparation sont représentées

en **annexe 4**. Les étapes du dosage s'appliquent aux filtrats d'échantillons et à la gamme étalon dont les étapes sont comme suit :

- Transférer 50 ml de l'échantillon à doser dans un récipient approprié ;
- Ajouter 2 ml de la solution d'acide ascorbique ;
- Mélanger puis attendre 15 min ;
- Ajouter 2 ml de la solution acide de molybdène et d'antimoine ;
- Laisser réagissait 5 min ;
- La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec de l'eau distillée remplaçant l'échantillon à doser, la densité optique est mesurée à une longueur d'onde $\lambda = 880 \text{ nm}$;
- Tracer la droite étalon : Absorbance = $f(\text{concentration en } \text{PO}_4^{3-})$;
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon chacun des échantillons est alors déduit ; les concentrations obtenues en PO_4^{3-} sont exprimées en μM .
- La représentation graphique de la courbe d'étalonnage est représentée en **annexe 4**.

I.1.5. Niveau trophique

Pour compléter l'interprétation et notamment mettre en évidence un éventuel déséquilibre dans l'apport des nutriments au niveau des stations échantillonnage du golfe d'Annaba, l'azote inorganique dissous a été calculer afin de classer le niveau trophique selon l'échelle de classification de **Wasmund *et al.* (2001)** qui est représentée dans le **tableau 04**. La détermination de la concentration de l'azote inorganique dissous est comme suit :

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

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

NH₄⁺ : Concentration de l'azote ammoniacal (μM).

NO₂⁻ : Concentration des nitrites (μM).

NO₃⁻ : Concentration des nitrates (μM).

Tableau 04 : Echelle de classification du niveau trophique des eaux côtières.

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

I.1.6. Analyse statistique

L'analyse statistique des données a été réalisée avec le logiciel XL STAT 2014, l'état de distribution normale a été vérifié précédemment en appliquant le test de Shapiro-Wilk, ce qui a permis de choisir des méthodes non paramétriques pour l'analyse statistique. L'analyse de la variance (test de Kruskal -Wallis) a été utilisée pour comparer la variation intersaisons et interstations. Le test a été réalisé à un niveau de signification de $\alpha = 0,05$.

I.2. Résultats

La détermination des paramètres physicochimiques de l'eau de mer nous a permis de caractériser la qualité des eaux côtières, leur variation au niveau du golfe d'Annaba est comme suit :

I.2.1. Paramètres mesurés *in situ*

I.2.1.1. Température

L'évolution spatiotemporelle de la température des eaux des stations d'échantillonnage a indiqué que les valeurs les plus faibles ont été enregistrées durant la saison hivernale au niveau des stations S.1 et S.2 (**Fig.08**), avec des valeurs respectivement de l'ordre de $13,90 \pm 0,36$ °C et $14,06 \pm 0,15$ °C. En saison printanière, la température a présenté une augmentation appréciable où le maximum de $29,43 \pm 0,32$ °C a été noté en été.

L'application du test non paramétrique de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la température des eaux des stations d'échantillonnage, a révélé

l'existence de différences significatives entre les saisons ($p = 0,03$) et l'absence de différences significatives entre les stations ($p = 0,73$).

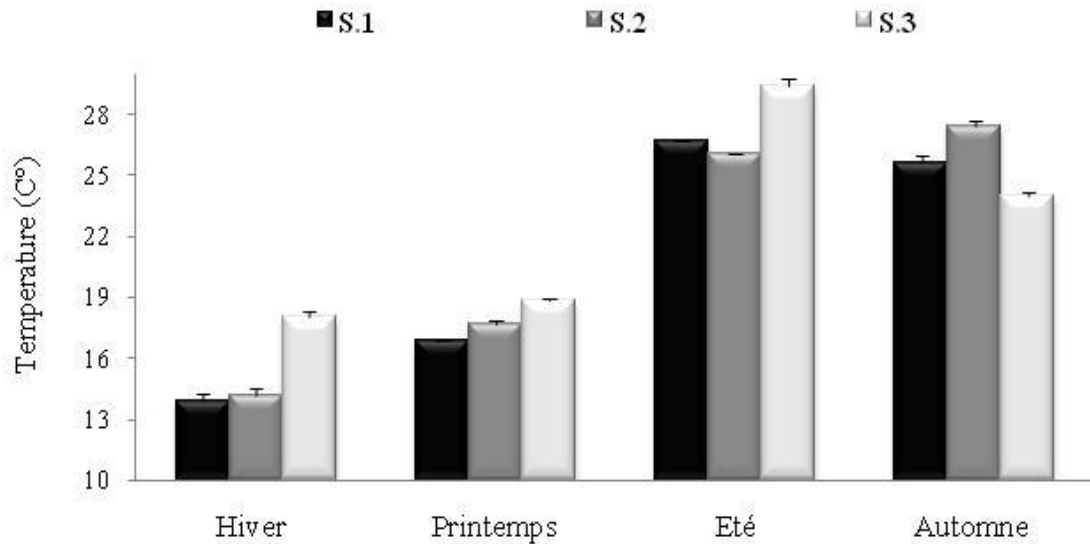


Figure 08 : Variation spatiotemporelle de la température de l'eau (°C) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; $n = 3$).

I.2.1.2. Potentiel d'hydrogène

D'une manière générale les eaux des stations d'échantillonnage ont présenté un pH légèrement alcalin, il oscille entre $8,02 \pm 0,03$ et $9,36 \pm 0,02$ (**Fig.09**). Les valeurs les plus élevées ont été enregistrées en hiver au niveau de la station S.3, alors que les valeurs les plus faibles ont été retrouvées en été au niveau de la station S.2.

L'application du test non paramétrique de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation du pH des eaux des stations d'échantillonnage, a révélé l'existence de différences significatives seulement entre les saisons ($p = 0,028$), toutefois aucune différence significative n'a été enregistrée entre les stations ($p = 0,098$).

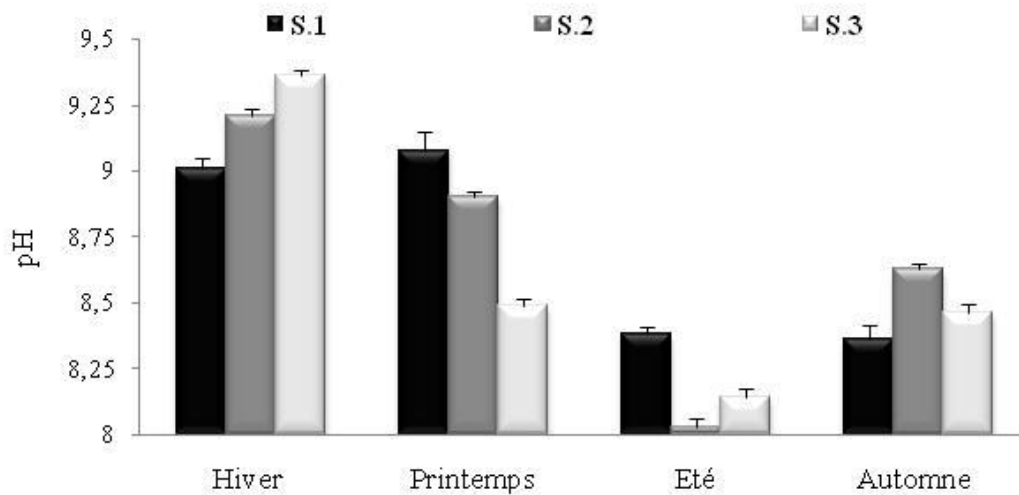


Figure 09 : Variation spatiotemporelle du pH de l'eau des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).

I.2.1.3. Salinité

La variation de la salinité au niveau des stations d'échantillonnage lors de la période d'étude a indiqué une différence assez proche entre les stations et les stations (**Fig.10**), avec des valeurs comprises entre $35,26 \pm 0,15$ et $36,26 \pm 0,58$ ‰. Toutefois à la saison hivernale une valeur de l'ordre de $24 \pm 0,1$ ‰ a été enregistrée au niveau de la station S.3.

L'application du test non paramétrique de Kruskal -Wallis relatif à la comparaison de la variation de la salinité des eaux des stations d'échantillonnage, a révélé l'absence de différences significatives aussi bien entre les saisons ($p = 0,33$) et les stations ($p = 0,12$).

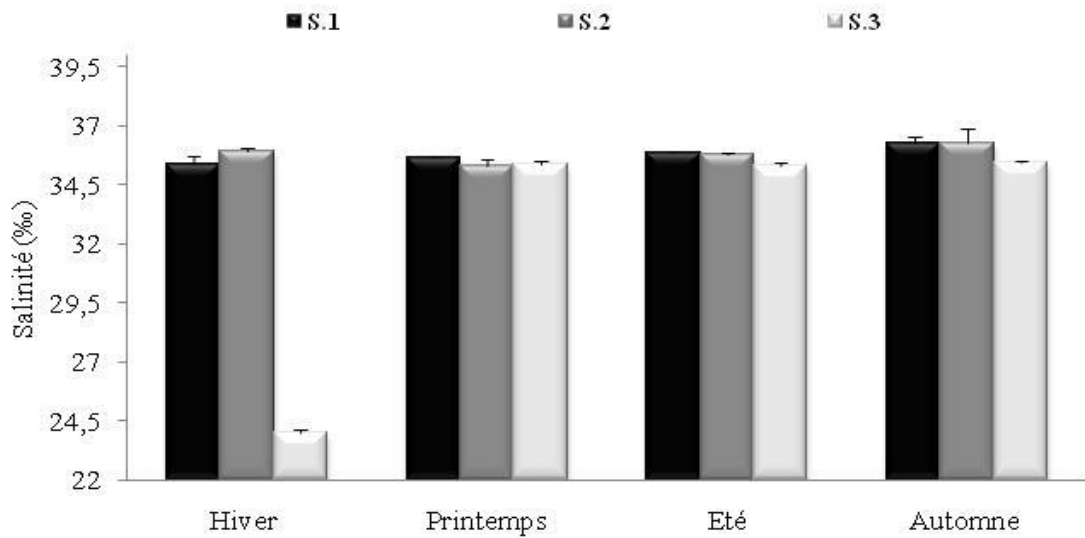


Figure 10 : Variation spatiotemporelle de la salinité de l'eau (‰) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).

I.2.1.4. Oxygène dissous

Les teneurs en oxygène dissous de l'eau des stations d'échantillonnage sont comprises entre 0 et $11,11 \pm 1,89$ mg/L (**Fig.11**). Les teneurs les plus élevées ont été retrouvées en hiver alors que les plus faibles teneurs ont été enregistrées en été et en automne.

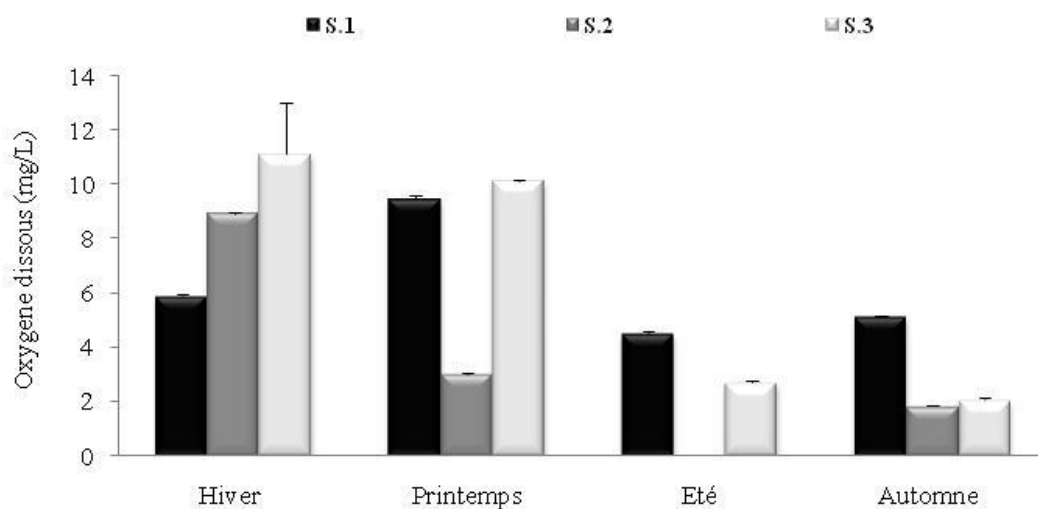


Figure 11 : Variation spatiotemporelle de l'oxygène dissous de l'eau (mg/L) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).

L'application du test non paramétrique de Krustal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de l'oxygène dissous des eaux des stations d'échantillonnage, a révélé l'absence de différences significatives entre les saisons ($p = 0,08$) et les stations ($p = 0,30$).

I.2.1.5. Turbidité

La variation spatiotemporelle de la turbidité des eaux des stations d'échantillonnage est représentée dans la **figure 12**. Nous avons remarqué que la turbidité varie énormément en fonction des saisons, les résultats obtenus ont indiqué que les valeurs les plus élevées ont été retrouvées en hiver ($36,46 \pm 0,61$ NTU) et en automne ($15,23 \pm 0,20$ NTU) au niveau de la station S.3.

L'application du test non paramétrique de Krustal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la turbidité des eaux des stations d'échantillonnage, a révélé l'absence de différences significatives entre les saisons ($p = 0,76$) et les stations ($p = 0,09$).

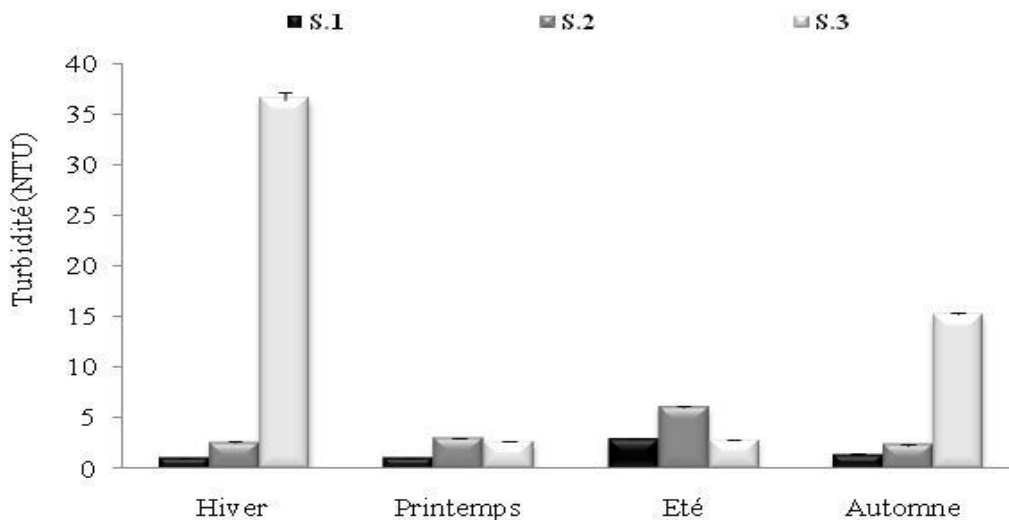


Figure 12 : Variation spatiotemporelle de la turbidité de l'eau (NTU) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; $n = 3$).

I.2.2. Paramètres dosés au laboratoire

Les concentrations des sels nutritifs dans les eaux du golfe d'Annaba ont dévoilé des fluctuations très importantes, les résultats obtenus sont comme suit :

I.2.2.1. Azote ammoniacal

La variation de l'azote ammoniacal dans les stations d'étude est représentée au niveau de la **figure 13**, les concentrations ont été le plus souvent comprises entre $03,62 \pm 0,53$ et $24,47 \pm 2,56 \mu\text{M}$. Exclusivement en hiver, une valeur de l'ordre de $106,7 \pm 79,1 \mu\text{M}$ a été retrouvée au niveau de la station S.3.

L'application du test non paramétrique de Krustal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration de l'azote ammoniacal des eaux des stations d'échantillonnage, a révélé l'absence de différences significatives aussi bien pour les saisons ($p = 0,053$) que pour les stations ($p = 0,61$).

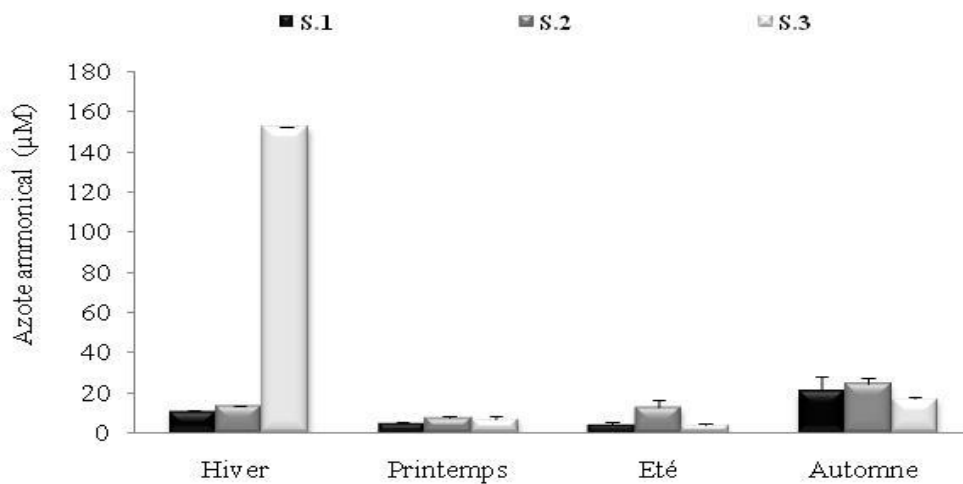


Figure 13 : Variation spatiotemporelle de la concentration de l'azote ammoniacal de l'eau (μM) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; $n = 3$).

I.2.2.2. Nitrite

La variation des concentrations des nitrites lors de la période d'étude est représentée dans la **figure 14**. Nous avons remarqué que la concentration des nitrites a été plus élevée en hiver ($04,55 \pm 3,38 \mu\text{M}$), cependant durant les autres saisons très peu de fluctuations ont été observées et les concentrations ont été inférieures à $1 \mu\text{M}$.

L'application du test non paramétrique de Krustal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration des nitrites des eaux des stations d'échantillonnage, a révélé l'absence de différences significatives entre les saisons ($p = 0,40$) et les stations ($p = 0,19$).

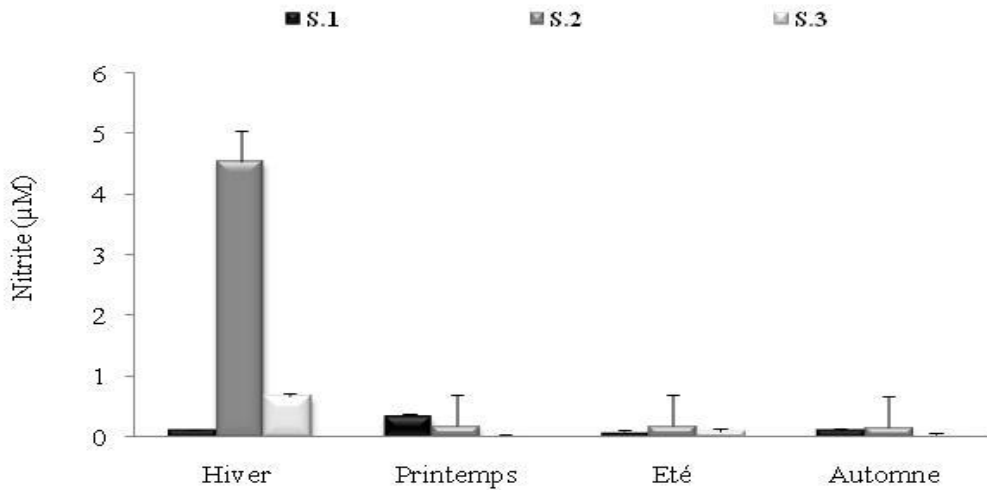


Figure 14 : Variation spatiotemporelle de la concentration des nitrites de l'eau (μM) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; $n = 3$).

I.2.2.3. Nitrate

La variation de la concentration des nitrates des eaux des stations d'échantillonnage est représentée dans la **figure 15**. Les résultats obtenus ont indiqué des concentrations élevées en hiver et au printemps (concentrations comprises entre $11,01 \pm 0,83$ et $29,13 \pm 1,15 \mu\text{M}$) et un peu plus faibles en été (concentrations comprises entre $8,36 \pm 0,39$ et $11,94 \pm 0,39 \mu\text{M}$). Cependant durant la période automnale, les concentrations des nitrates ont été relativement moins abondantes et les concentrations ont été inférieures à $3,33 \pm 0,58 \mu\text{M}$.

L'application du test non paramétrique de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration des nitrates des eaux des stations d'échantillonnage, a révélé la présence de différences significatives entre les saisons ($p = 0,03$) et l'absence de différences significatives entre les stations ($p = 0,43$).

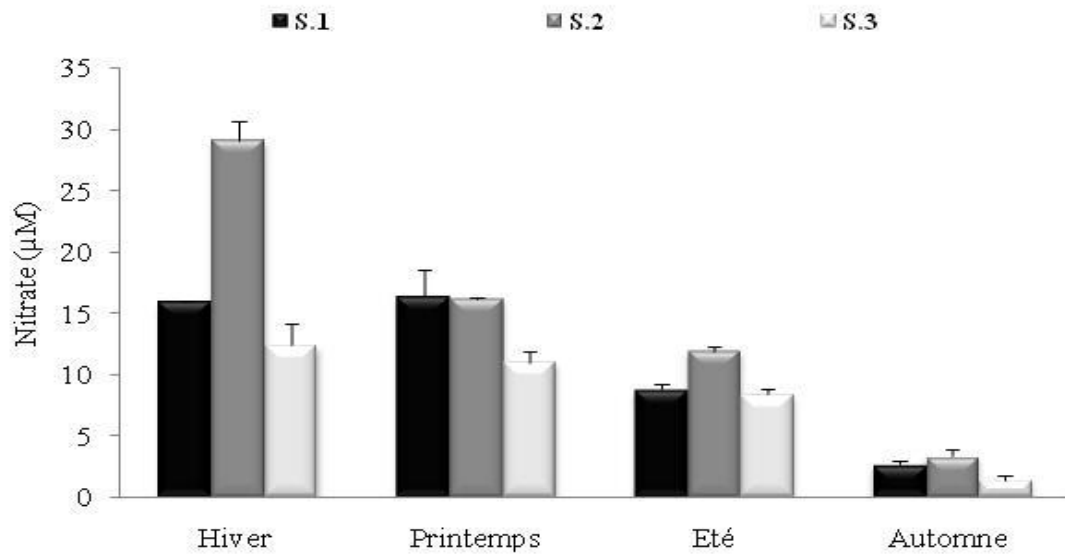


Figure 15 : Variation spatiotemporelle de la concentration des nitrates de l'eau (μM) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; $n = 3$).

I.2.2.4. Orthophosphate

La concentration des orthophosphates au niveau des stations d'échantillonnage varie entre $0,36 \pm 0,06$ et $12,18 \pm 0,03 \mu\text{M}$ (**Fig.16**). La concentration la plus élevée a été retrouvée au niveau de la station S.2 en hiver. À partir du printemps, les concentrations n'ont pas dépassé la valeur de $2,50 \mu\text{M}$.

L'application du test non paramétrique de Krustal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration des orthophosphates des eaux des stations d'échantillonnage, a révélé aucune différence significative entre les saisons ($p = 0,14$) et les stations ($p = 0,69$).

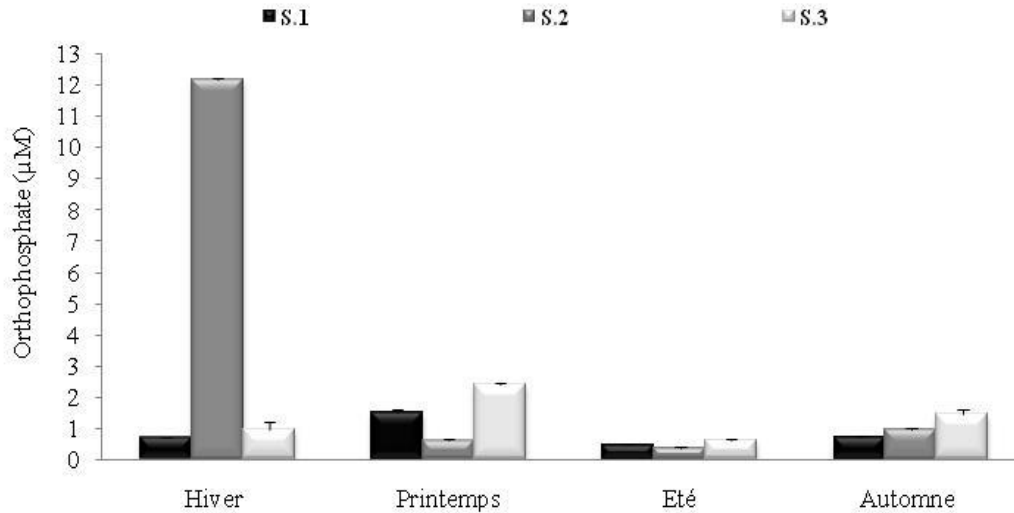


Figure 16 : Variation spatiotemporelle de la concentration des orthophosphates de l'eau (μM) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; $n = 3$).

I.2.3. Niveau trophique

La variation de la quantité de l'azote inorganique dissous dans le golfe d'Annaba est représentée dans la **figure 17**. Les résultats obtenus ont permis de constater que les valeurs les plus élevées ont été retrouvées en hiver ($165,40 \pm 1,67 \mu\text{M}$). Tandis que durant les autres saisons, nous avons observé une faible fluctuation saisonnière et les concentrations ont été inférieures à $28 \mu\text{M}$.

La station S.3 paraît être soumise à une grande influence continentale en hiver, ce qui explique son caractère polytrophe, en effet on y a noté des teneurs en azote inorganique dissous extrêmement élevées, ces apports terrigènes suggèrent l'existence des variations saisonnières très accentuées. En revanche la station S.1 et S.2 pour leur part, elles ont été caractérisées par un niveau trophique stable durant toute la période d'étude.

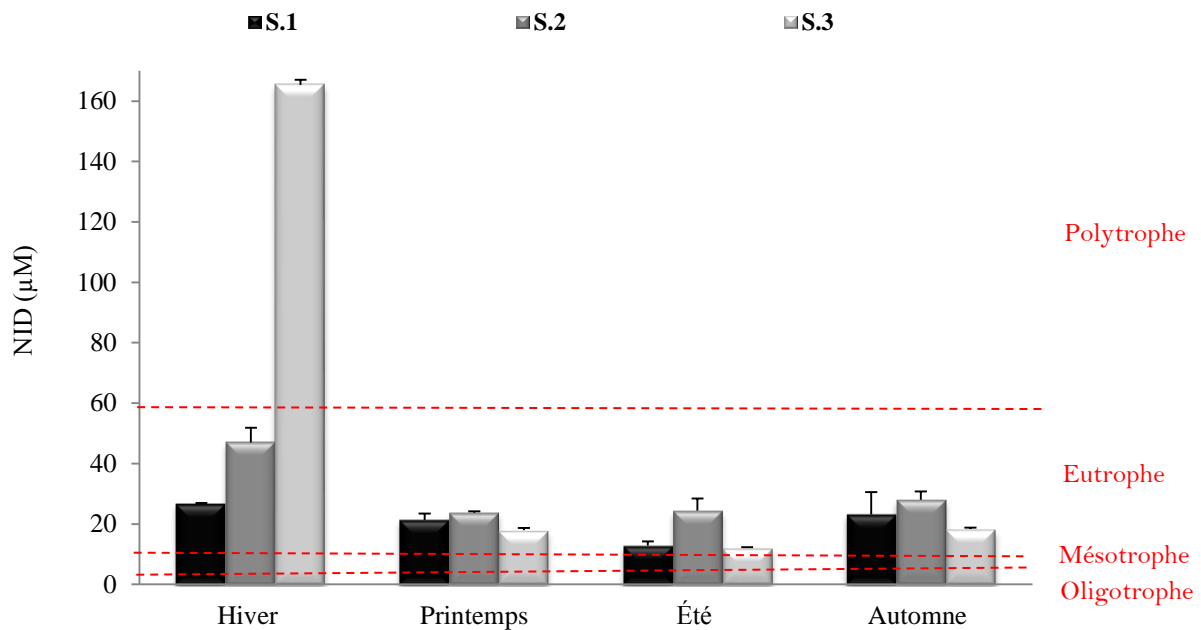


Figure 17 : Niveau trophique de l'eau des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).

I.2.4. Analyse statistique

La variation intersaisons et interstations des paramètres physicochimiques de l'eau ont déjà été mentionnées précédemment (chapitre. I, §.I.2.1 et I.2.2.), la comparaison non paramétrique entre les saisons par l'application du test de Kruskal-Wallis, a révélé des différences significatives ($p < 0,05$) pour la température, le pH et les nitrates. Ces résultats justifient la variation significative des paramètres abiotiques d'une saison à l'autre au niveau du golfe d'Annaba. Toutefois la comparaison interstations n'a révélé aucune différence significative ($p > 0,05$) pour l'ensemble des paramètres mesurés et dosés.

I.3. Discussion

I.3.1. Paramètres mesurés *in situ*

La température de l'eau est un facteur abiotique d'une importance majeure dans la vie des écosystèmes aquatiques, son évolution reste liée d'une part aux conditions locales telles que le climat régional, la topographie, la durée de l'ensoleillement et la profondeur (McNeely *et al.*, 1980). La température mesurée au niveau des stations

d'échantillonnage reflète bien l'influence du climat méditerranéen tempéré, elle affiche l'existence de deux périodes caractéristiques l'une chaude et l'autre froide, cela a été aussi observé par **Boutabia-Trea (2016)** et **Bouzenda et al. (2017)**. Dans les régions côtières peu profondes et abritées, la température de l'eau se rapproche de celle de l'air, c'est à partir de l'été que l'effet de l'insolation se manifeste le plus intensément, ce réchauffement est dû à l'absorption des rayons infrarouges qui provoque dans les zones peu protégées une hyperthermie (**El Morhit, 2009**).

Les températures enregistrées dans les eaux côtières du golfe d'Annaba semblent être favorables au développement de l'oursin *Paracentrotus lividus*; ce dernier colonise principalement les régions tempérées où les conditions thermiques fluctuent entre 10 et 15 °C en hiver et 18 et 25 °C en été (**De Casamajor, 2004**). La hausse de la température de l'eau de mer peut induire la ponte chez l'oursin *Paracentrotus lividus* (**Fenaux, 1968 ; Byrne, 1990 ; Soualili et Guillou, 2009**).

Le pH de l'eau peut influencer de nombreux processus chimiques ou biologiques en régulant d'une part les concentrations ou la spéciation d'espèces mineures, d'autre part les réactions enzymatiques sont très sensibles aux variations de ce facteur (**Knutzen, 1981 ; Hinga, 2002**). Le pH de l'eau des stations d'échantillonnage a été légèrement alcalin, selon **Barnabé (1991)**, les eaux côtières méditerranéennes ont un pH qui varie entre 7,9 et 8,3. La fluctuation du pH des eaux des stations d'étude peut être expliquée par divers processus comme la poussée du phytoplancton consommatrice du CO₂, la minéralisation de la matière organique productrice du CO₂, le mélange avec les eaux douces, l'accumulation de la matière organique d'origine continentale et la contamination par des rejets agricoles, urbains ou industriels (**Dussart, 1966 ; Aminot et Keroual, 2004b**).

Les invertébrés marins sont très sensibles aux variations du pH (**Pane et Barry, 2007 ; Pörtner, 2008**), ce dernier peut limiter l'énergie dirigée vers les processus cellulaires coûteux tels que la synthèse des protéines ce qui entraîne une diminution de la croissance et la perturbation du cycle de reproduction (**Guppy et Withers, 1999 ; Seibel et Walsh, 2003**). L'oursin *Paracentrotus lividus* adulte a une aptitude à réguler la concentration des ions au niveau du fluide extracellulaire (**Stickle et Diehl, 1987**) ce qui leur procure une légère capacité de tamponner le pH de l'eau de mer (**Binyon, 1966 ; Shick, 1983**).

La salinité de la mer Méditerranéenne est comprise entre 38 - 39 ‰, en comparaison à la mer Rouge (36 - 47 ‰), la mer Baltique (15 ‰) et la mer Noire (18 - 22 ‰) (**Aminot et Keroual, 2004b**). Au niveau des eaux côtières la salinité peut être très variable, de faibles

valeurs peuvent être rencontrées au large des estuaires (**Lacaze et Ramade, 1993**). La faible valeur enregistrée en période hivernale semble être due aux phénomènes de dilution suite à l'intrusion d'eau douce. La station Draouche est la plus proche aux panaches de l'estuaire d'El-Mafrag, lors des fortes précipitations une très grande quantité d'eau douce a été déversée suite à l'inondation de la région. Nos résultats obtenus sont en accord avec ceux de nombreux auteurs tels qu'**Ounissi et al. (2014)** et **Ziouch (2014)** qui rapportent l'existence de fluctuations similaires qui varie entre 23 et 37,9 ‰. Aussi **Aminot et Kérouel (2004b)** ; **Lacaze et Ramade (1993)** ont rapporté qu'au niveau des eaux littorales peu profondes, les apports d'eau douce continentale génèrent des stratifications verticales dans les eaux côtières, il n'est pas rare d'observer à proximité des embouchures fluviales des salinités s'abaissant à 25 ‰ en période humide.

Les oursins sont des organismes généralement considérés comme sténohalins (**Roller et Stickle, 1993**), la diminution de la salinité peut entraîner un ralentissement de la maturation des gonades et une diminution de la croissance (**Basuyaux et al., 1998**). Cependant **Binyon (1966)** ; **Vidolin et al. (2007)** ; **Whiteley et al. (2001)** ; **Dissanayake et al. (2010)** ont démontré que les oursins peuplant les eaux côtières peu profondes où les fluctuations de salinité se produisent, développent des compétences osmorégulatrices hautement améliorées. La capacité de tamponner de telles fluctuations même partiellement pourrait être une fonction adaptative qui permettrait aux organismes de faire face à des contraintes environnementales (**Himmelman et al., 1984** ; **Vidolin et al., 2007** ; **Catarino, 2012**). Cependant une baisse brutale de la salinité peut entraîner la mortalité rapide de cette espèce (**Le Gall et al., 1989** ; **Fernandez et al., 2002**).

L'importance de l'oxygène comme paramètre de qualité du milieu n'est plus à démontrer, il intervient dans la plupart des processus biologiques permettant la vie terrestre et marine. Au niveau des zones côtières, l'oxygène est la variable environnementale qui a le plus évolué au cours des dernières décennies (**Diaz et al., 1995**). Dans les conditions normales, la quantité d'oxygène dissoute dans l'eau de mer serait d'environ de 8,6 mg/L (**Davis, 1975**) et sa disponibilité pour les organismes aquatiques dépend d'un certain nombre de facteurs qui agissent sur sa solubilité (**Davis et al., 1963**). La fluctuation de l'oxygène dissous lors de la période d'étude a été très variable, les concentrations élevées mesurées à la saison hivernale et printanière peuvent être expliquées par la poussée phytoplanctonique qui a provoqué un apport d'oxygène endogène lors de la photosynthèse ce qui conduit au fait que l'oxygène est produit plus rapidement qu'il n'est évacué vers l'atmosphère, ce qui pourrait engendrer des sursaturations temporaires considérables en milieu côtier

(Aminot et Kérouel, 2004b). Cependant les faibles quantités enregistrées à l'été et à l'automne peuvent être expliquées par l'élévation de la température qui est un des facteurs limitant de la solubilité de l'oxygène, ainsi que le calme hydrodynamique illustré par la baisse des débits des échanges de l'eau (Lacaze, 1996). À cela s'ajoute la dégradation bactérienne des détritiques qui consomment énormément d'oxygène, cette consommation sera plus importante avec l'augmentation de la température (Belaud, 1996).

Les invertébrés marins ont des besoins en oxygène dissous extrêmement variables, selon Shick (1983) ; Lawrence et Lane (1982) les échinodermes ont de faibles taux respiratoires dus à la diffusion de faible quantité d'oxygène dans les tissus internes. Ainsi les oursins qui échouent souvent sur les roches à la marée basse peuvent résister à une exposition de 15 heures à l'air humide avant de mourir (Johansen et Vadas, 1967).

La description générale d'une masse d'eau n'apparaît pas satisfaisante sans une appréciation de son aspect visuel en particulier sa transparence, cette dernière intervient notamment sur la quantité de la lumière disponible pour la production primaire (Pijanowski, 1975). Au niveau des eaux côtières la turbidité varie entre 0,3 - 3 NTU (Aminot *et al.*, 1997 ; Vangriesheim *et al.*, 1992). Nos résultats obtenus sont dans la fourche à l'exception de certaines valeurs élevées mesurées en hiver et en automne qui peuvent être attribués à l'action des vents plus forts et plus fréquents à cette période de l'année, ces derniers provoquent des turbulences qui remettent en suspension les particules du sédiment ; à cela s'ajoutent les apports continentaux de matériel solide, la remise en suspension des dépôts sédimentaires par les houles et parfois les poussées phytoplanctoniques intenses par les apports nutritifs continentaux (Aminot et Kérouel, 2004b ; Gaujous, 1995).

La comparaison des paramètres physicochimiques (mesurés *in situ*) cités auparavant avec différents travaux déjà réalisés au même site d'étude et au niveau d'autres zones côtières Algérienne, nous a permis de constater des résultats similaires (Tableau 05), avec quelques différences qui peuvent être dues à la période de perturbation caractéristique en hiver, dans laquelle apparaissent des valeurs très importantes qui coïncident avec la période de submersion que la région avait subie durant le mois de février 2012 durant laquelle 169,4 mm de pluie a été enregistrée par les stations météorologiques sur le côté Ouest du golfe d'Annaba (Station météorologique 603600) et 221,76 mm sur le côté Est (Station météorologique 603670).

Tableau 05 : Étude comparative de la variation des paramètres physicochimiques des eaux côtières Algérienne.

Sites	T (°C)	pH	S (‰)	OD (mg/L)	Tu (NTU)	Références
Golfe d'Annaba	14,1 - 25,8	-	35,1 - 38,1	-	-	Frehi <i>et al.</i> (2007)
	14,6 - 26,8	-	36,4 - 37,7	-	-	Boumaza (2014)
	14,1 - 28,6	-	35,5 - 38,1	-	-	Hadjadji <i>et al.</i> (2014)
	12 - 28	-	23 - 37,9	-	-	Ounissi <i>et al.</i> (2014)
	14 - 28	7,6 - 8,8	37 - 39	2 - 12	-	Kadri <i>et al.</i> (2015)
	10,09 - 29	7,67 - 7,8	36 - 37	6,60 - 6,92	-	Hidouci (2015)
	12 - 29	7,5 - 8,5	34 - 38	5 - 15	-	Boutabia-Trea (2016)
	12,1 - 28,8	-	26,6 - 39,9	2,8 - 15,2	-	Bouzenda <i>et al.</i> (2017)
	13,9 - 29,43	8,03 - 9,36	24 - 36,27	0 - 11,11	0,99 - 37,47	Présent travail
Golfe de Skikda	13 - 23,9	7,27 - 8,5	33,2 - 39,3	5,11 - 7,79	-	Bouhayene (2015)
Golfe d'Alger	14,5 - 21	7,39 - 8,29	35,1 - 36,78	6,43 - 10,63	80 - 116	Bachari-Houma (2009)
	22	-	36,40	7,2	-	Grimes (2010)
Golfe d'Oran	16,3 - 30,67	7,45 - 8,1	36,17 - 37,67	2 - 6,5	1 - 11	Rouane-Hacene (2013)
	16,33 - 29,33	7,46 - 8,04	36,17 - 37,67	2,33 - 5,77	-	Rouane-Hacene (2017)

T : Température - S : Salinité - OD : Oxygène dissous - Tu : Turbidité

I.3.2. Paramètres dosés au laboratoire

Dans les conditions les plus couramment rencontrés dans les milieux marins, les nutriments ne sont pas directement toxiques pour les espèces qui y vivent, toutefois ils peuvent être à l'origine des nuisances indirectes telles que l'eutrophisation et l'anoxie du milieu marin (Le Pape *et al.*, 1996).

L'azote ammoniacal est assez souvent rencontré dans les eaux, il traduit habituellement un processus de dégradation incomplète de la matière organique, il peut avoir pour origine : la matière végétale des cours d'eau, la matière organique animale ou humaine et les rejets industriels (Rodier *et al.*, 1978). Les résultats obtenus traduisent une forte richesse des eaux côtières du golfe d'Annaba à la saison hivernale. La station S.3 paraît être plus directement soumise aux influences des apports de l'estuaire d'El-Mafrag, ces constatations soulignent l'importance de l'enrichissement continental induit par les apports terrestres, cela a été aussi observé par Ounissi *et al.* (2014) et Ziouch (2014) qui ont indiqué des concentrations en NH_4^+ de l'ordre de 200 - 260 μM au niveau des panaches d'El-Mafrag.

Les nitrites constituent une étape importante dans la métabolisation des composées azotées, ils s'insèrent dans le cycle de l'azote entre l'azote ammoniacal et les nitrates, leur présence est due soit à l'oxydation bactérienne de l'azote ammoniacal soit à la réduction des nitrates. Ils ne représentent qu'un stade intermédiaire et sont facilement oxydés en nitrates, leur présence dans l'eau est donc rare et en faible quantité. Les nitrites peuvent être dangereux tant à court terme qu'à long terme, ils sont considérés comme des agents mutagènes potentiels vis-à-vis des organismes (**Rejsek, 2002**). Leur présence au niveau du golfe d'Annaba reste relativement faible dans l'ensemble des stations d'étude comparée aux autres sels nutritifs dosés.

Les nitrates constituent le stade final de l'oxydation de l'azote, ils se trouvent naturellement dans les eaux, ils ne sont pas toxiques, mais participent à d'importants phénomènes d'eutrophisation (**Lacaze et Ramade, 1993**). Ils proviennent en grande partie de l'action de l'écoulement des eaux sur le sol constituant le bassin versant, la nature des zones de drainage joue un rôle essentiel dans leur présence et l'activité humaine accélère le processus d'enrichissement des eaux en nitrates (**Rejsek, 2002**). Il convient de noter que la période d'apport joue un rôle considérable en hiver du fait des basses températures et du faible éclaircissement, la production biologique est faible. Une bonne partie des apports d'un fleuve se diluera en mer sans être consommée (**Leveau et al., 1988**). L'évolution des nitrates dans les eaux du golfe d'Annaba est dominée par deux grandes variations saisonnières : de teneurs faibles en été et en automne, et de fortes teneurs en hiver et en printemps. La présence de fortes teneurs en nitrates serait la résultante de l'activité anthropique. Selon **Bremond et Perrodon (1979)**, des teneurs supérieures à 12 µg/L de nitrates seraient directement liées à l'activité anthropique.

Le phosphore inorganique dissous est représenté quasi exclusivement par les orthophosphates, ce dernier joue un rôle dans la productivité aquatique (**Bouchareb, 2013 ; Aminot et Kérouel, 2004a**). Habituellement, ils proviennent pour une bonne partie des eaux de ruissellement, qui entraînent les engrais d'origine agricole et les sous-produits domestiques, aussi le sédiment est une source de largage imprévisible (**Draredja, 2007**). Dans les eaux du golfe, les orthophosphates montrent des concentrations élevées en hiver, les valeurs maximales notées dans la station S.2 s'expliqueraient par l'importance des apports domestiques et surtout du fait qu'à cette période de l'année le brassage des eaux, sous l'action des vents qui sont parfois violents, permet un relargage important du phosphore à partir du sédiment. Comme le rapporte **Despreaux (1990)**, les sédiments fins

agiraient comme accumulateurs de cet élément dans les conditions oxydantes habituelles pour le relarguer en quantités importantes si le milieu devient réducteur.

La comparaison des concentrations des sels nutritifs cités ci-dessus avec les différents travaux déjà réalisés nous ont permis de constater des résultats plus ou moins similaires comparés avec les travaux déjà réalisés au niveau du golfe d'Annaba (**Tableau 06**). Cependant, elles sont plus importantes comparées avec celles réalisées au golfe d'Alger et d'Oran. Tous les éléments chimiques qu'ils soient naturels ou anthropiques sont transmis aux zones côtières via les fleuves, les ruissellements et l'atmosphère (**Roy-Barman et Jeandel, 2011**).

Tableau 06 : Étude comparative de la variation de la concentration des sels nutritifs des eaux côtières Algérienne.

Sites	NH ₄ ⁺ (μM)	NO ₂ ⁻ (μM)	NO ₃ ⁻ (μM)	PO ₄ ³⁻ (μM)	Références
	14,4	0,8	12	6,8	Ounissi <i>et al.</i> (1998)
	0 - 111	-	0-70	0 -100	Ounissi et Frehi (1999)
	5,06 - 272,8	-	0,03 - 58,37	0 - 5,94	Frehi <i>et al.</i> (2007)
	0 - 110	-	0 - 65	-	Hadjadji <i>et al.</i> (2014)
	2,8 - 18	0 - 5	1-18	1 - 7	Ziouch (2014)
	0,01 - 1	0,01 - 0,35	1 -17	0,01 - 0,75	Boutabia-Trea (2016)
	3,62 - 106,69	0,03 - 4,55	1,40 - 29,14	0,37 - 12,18	Présent travail
Golfe d'Alger	9,06	0,04 - 0,22	0,03 - 0,4	0,05 - 0,8	Bachari Houma (2009)
Golfe d'Oran	0,16 - 0,96	0,16 - 0,64	16 - 48,38	0,16 - 2,58	Rouane-Hacene (2013)
	0,71 - 4,28	0,21 - 1,08	18,87 - 43,06	1,10 - 1,08	Rouane-Hacene (2017)

I.3.3. Niveau trophique

Le niveau trophique de chaque station d'échantillonnage a été évalué à l'aide de l'échelle **Wasmund *et al.* (2001)**, les résultats obtenus ont indiqué que les eaux côtières du golfe d'Annaba ne sont pas satisfaisantes, l'eutrophisation est plus marquée au niveau de la station S.3 en hiver. Cela aussi a été démontré par **Ziouch (2014)** qui a indiqué de grandes quantités de DIN en hiver à proximité de cette station, il en est de même pour **Frehi *et al.* (2007)** qui ont démontré un état d'eutrophisation au niveau du golfe d'Annaba. La présence excessive de nutriments, agit directement sur la prolifération de l'oursin *Paracentrotus lividus*, ce qui a pour conséquence la réduction de la croissance (**Basuyaux et Mathieu, 1999**).

Chapitre II

Détermination de la qualité
écotoxicologique par le dosage des
pesticides

II.1. Matériel et Méthodes

II.1.1. Présentation du site d'étude

La description du site et la localisation des stations d'échantillonnages ont été déjà décrites précédemment (chapitre. I, §. I.1.1 et I.1.2).

II.1.2. Prélèvement des échantillons d'eau de mer

Au niveau de chaque station, une bouteille en verre ambrée d'une capacité d'un litre est prélevée, les bouteilles sont remplies jusqu'au bord et le bouchon est placé de telle façon qu'il n'y ait aucune bulle d'air (**Rodier *et al.*, 1978**). Les échantillons sont numérotés, étiquetés puis transportés à l'obscurité et à basse température ($\approx 4\text{ }^{\circ}\text{C}$) dans des glacières.

II.1.3. Préparation des échantillons

Les échantillons sont préparés au laboratoire selon les recommandations du dosage de chaque pesticide (**tableau 07**).

Tableau 07 : Préparation et conservation des échantillons d'eaux de mer.

Pesticides	Étapes
Diuron et Atrazine	<ul style="list-style-type: none"> - Les échantillons troubles ou présentant des particules seront filtrés sur du papier Whatman GF/C (0,2 μm) ; - Conserver à 4 $^{\circ}\text{C}$ jusqu'au moment de l'analyse.
Nonylphénol	<ul style="list-style-type: none"> - Les échantillons troubles ou présentant des particules seront filtrés à travers un filtre Whatman GF/C (1 μm) ; - Les filtrats sont récupérés, puis ajouter du méthanol et du DMSO à une concentration finale de 1 % et 10 % respectivement ; - Conserver à 4 $^{\circ}\text{C}$ jusqu'au moment de l'analyse.
Glyphosate	<ul style="list-style-type: none"> - Les échantillons troubles ou présentant des particules seront filtrés à travers un filtre Whatman GF/C (0,2 μm) ; - Les filtrats sont conservés par ajout de quelque gouttes d'acide chlorhydrique, ces derniers seront neutralisés par de la soude juste avant la réalisation du dosage ; - Conserver à 4 $^{\circ}\text{C}$ jusqu'au moment de l'analyse.

II.1.4. Dosage des pesticides

Pour le dosage des pesticides nous avons utilisé des kits-Elisa (enzyme-linked immunosorbent assay), les dosages ont été réalisés selon le mode opératoire décrit dans le carnet de chaque Kit, les étapes du dosage sont comme suit :

II.1.4.1. Diuron

Pour le dosage du diuron nous avons utilisé le kit Abraxis (Référence N° : 520001), ce dernier est réservé pour le dosage du diuron dans les échantillons d'eau, le contenu du kit est représenté dans le **tableau 08**, la limite de détection du kit est de l'ordre de 0,03 µg/L.

Tableau 08 : Composant du kit diuron - Elisa.

01	Microplaque à 96 puits.
02	Cinq standards à différentes concentrations de diuron (0,03 ; 0,10 ; 0,3 ; 1,0 et 3,0 µg/L).
03	Un contrôle négatif à 0,03 µg de diuron /L.
04	Un contrôle positif à 0,30 µg de diuron /L.
05	Tampon de dosage.
06	Enzyme conjuguée.
07	Solution de lavage concentrée 15 fois.
08	Solution substrat.
09	Solution stop.

Le principe de la technique est basé sur la compétition d'un anticorps fixé sur une phase solide, entre l'antigène recherché dans l'échantillon et un conjugué fourni par le kit, les étapes du dosage sont comme suit :

- Faire sortir la microplaque et les réactifs à température ambiante avant utilisation ;
- Définir le plan de la plaque avec standards, contrôles et échantillons ;
- Diluer le tampon de lavage concentré avec l'eau distillée ;
- Ajouter 25 µl du tampon de dosage dans chaque puits ;
- Ajouter 50 µl des solutions étalons, des contrôles et des échantillons dans les puits selon le schéma de travail donné ;
- Ajouter 50 µl de la solution enzyme conjuguée ;
- Recouvrir la plaque avec du parafilm puis incuber la plaque pendant 30 min à température ambiante sous agitation orbitale ;

- Laver chaque puits avec 300 µl de la solution tampon de lavage, répéter l'étape 3 fois ;
- Le tampon restant dans les puits doit être retiré en tapotant la plaque sèche sur du papier absorbant ;
- Ajouter 100 µl de la solution substrat dans chaque puits puis incubé pendant 25 à 30 min à température ambiante, à l'obscurité et sous agitation ;
- Ajouter dans chaque puits 50 µl de solutions stop ;
- Lire l'absorbance à une longueur d'onde $\lambda = 450$ nm à l'aide d'un lecteur de microplaque (Mindray MW-12A) ;
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon chacun des échantillons est alors déduit. La concentration en diuron est exprimée en µg/L.

II.1.4.2. Atrazine

Pour le dosage de l'atrazine nous avons utilisé le kit Abraxis (Référence N° : 1520005), ce dernier est réservé pour le dosage de l'atrazine dans les échantillons d'eau, le contenu du kit est représenté dans le **tableau 09**, la limite de détection du kit est de l'ordre de 40 ng/L.

Tableau 09 : Composant du kit atrazine - Elisa.

01	Microplaque à 96 puits.
02	Six standards à différentes concentrations d'atrazine (0,05 ; 0,1 ; 0,25 ; 1 ; 2,5 et 5 ng/L).
03	Un contrôle négatif à 0,05 ng d'atrazine /L.
04	Un contrôle positif à 6 ng d'atrazine /L.
05	Tampon de dosage.
06	Enzyme conjuguée.
07	Solution de lavage concentré 5 fois.
08	Solution substrat.
09	Solution stop.

Le principe de la technique est basé sur la compétition d'un anticorps fixé sur une phase solide, entre l'antigène recherché dans l'échantillon et un conjugué fourni par le kit, les étapes du dosage sont comme suit :

- Faire sortir la microplaque et les réactifs à température ambiante avant utilisation ;
- Définir le plan de la plaque avec standards, contrôles et échantillons ;
- Diluer le tampon de lavage avec de l'eau distillée ;

- Déposer 25 µl du tampon de dosage dans chaque puits ;
- Déposer 25 µl de la solution étalon, des contrôles et des échantillons dans les puits selon le schéma de travail donné ;
- Ajouter 50 µl de l'enzyme conjuguée ;
- Incuber 30 minutes à température ambiante sous agitation orbitale ;
- Laver les puits de la microplaque 3 fois avec 250 µl de la solution de lavage ;
- Le tampon restant dans les puits doit être retiré en tapotant la plaque sèche sur du papier absorbant ;
- Ajouter 100 µl de la solution substrat, puis incuber entre 15 à 20 min à température ambiante, à l'abri de la lumière et sous agitation ;
- Ajouter 50 µl de la solution stop ;
- Lire les absorbances à une longueur d'onde $\lambda = 450$ nm à l'aide d'un lecteur de microplaque (Mindray MW-12A) ;
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon chacun des échantillons est alors déduit. La concentration en atrazine est exprimée en ng/L.

II.1.4.3. Nonylphénol

Pour le dosage du nonylphénol nous avons utilisé le kit Tokiwa Chemicals Industries (Référence N° : 590012), ce dernier est réservé pour le dosage du nonylphénol dans les échantillons d'eau, le contenu du kit est représenté dans le **tableau 10**, la limite de détection du kit est non indiquée.

Tableau 10 : Composant du kit nonylphénol - Elisa.

01	Microplaque à 96 puits.
02	Microplaque à 96 puits non revêtue.
03	Plaque de recouvrement.
04	Quatre standards à différentes concentrations de nonylphénol (50 ; 200 ; 1000 et 5000 µg/L).
05	Solution de tampon.
06	Enzyme conjuguée en poudre.
07	Solution de lavage concentré 6 fois.
08	Solution substrat.
09	Solution stop.

Le principe de la technique est basé sur la compétition d'un anticorps fixé sur une phase solide, entre l'antigène recherché dans l'échantillon et un conjugué fourni par le kit, les étapes du dosage sont comme suit :

- Retirez le contenu du kit du réfrigérateur et le laisser à température ambiante avant utilisation ;
- Définir le plan de la plaque avec standards, contrôles et échantillons ;
- Diluer le tampon de lavage avec de l'eau distillée ;
- Préparer du méthanol à 10 % (qui contiennent 1 % de DMSO) ;
- Diluer les quatre standards (50 ; 200 ; 1000 et 5000 µg/L) avec du méthanol à 10 % préparer ci-dessus à des concentrations de l'ordre de 5 ; 20 ; 100 et 500 µg/L respectivement ;
- Préparer l'enzyme conjuguée en poudre avec la solution tampon ;
- Mélanger 100 µl de la solution conjuguée et 100 µl des étalons ou des échantillons dans chaque puits de la microplaque non revêtue, puis mélanger à l'aide l'une micropipette ;
- Prélever 100 µl du mélange ci-dessus puis déposer dans chacun des puits de la microplaque revêtue ;
- Recouvrir la plaque avec du parafilm puis incubé pendant 60 min à température ambiante ;
- Laver les puits de la microplaque 2 fois avec 300 µl de la solution de lavage ;
- Le tampon restant dans les puits doit être retiré en tapotant la plaque sur du papier absorbant ;
- Ajouter 100 µl de la solution substrat dans chaque puits ;
- Recouvrir avec du parafilm puis incubé pendant 30 min à température ambiante.
- Ajouter 100 µl de la solution stop ;
- Lire l'absorbance à une longueur d'onde $\lambda = 450$ nm à l'aide d'un lecteur de microplaque (Mindray MW-12A) ;
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon chacun des échantillons est alors déduit. La concentration en nonylphénol est exprimée en µg/L.

II.1.4.4. Glyphosate

Pour le dosage du glyphosate nous avons utilisé le kit Abraxis (Référence N° : 1500086), ce dernier est réservé pour le dosage du glyphosate dans les échantillons d'eau,

le contenu du kit est représenté dans le **tableau 11**, la limite de détection du kit est de l'ordre de 0,05 µg/L.

Tableau 11 : Composant du kit glyphosate – Elisa.

01	Microplaque à 96 puits.
02	Anticorps antiglyphosate.
03	Enzyme conjuguée.
04	Cinq standards à différentes concentrations de glyphosate (0,075 ; 0,02 ; 0,5 ; 1 et 4 µg/L).
05	Contrôle positif à 0,75 µg de glyphosate /L
06	Tampon diluant.
07	Solution tampon.
08	Solution de lavage concentré 5 fois.
09	Solution substrat.
10	Solution stop.
11	Réactif de dérivation.
12	Diluant de dérivation.

Le principe de la technique est basé sur la compétition d'un anticorps fixé sur une phase solide, entre l'antigène recherché dans l'échantillon et un conjugué fourni par le kit, les étapes du dosage sont comme suit :

- Retirez le contenu du kit du réfrigérateur et les laisser à température ambiante avant utilisation ;
- Définir le plan de la plaque avec standards, contrôles et échantillons ;
- Diluer le tampon de lavage avec de l'eau distillée ;
- Diluer le réactif de la dérivation avec le diluant de dérivation puis vortexer ;
- Préparer une série de tubes avec 250 µl de standard, contrôle et échantillon à analyser ;
- Ajouter 1 ml de la solution tampon dans à chaque tube ;
- Mélanger puis ajouter 100 µl de solution de dérivation préparée ci-dessous ;
- Mélanger immédiatement dès l'ajout de la solution de dérivation ;
- Incuber 10 minutes à température ambiante ;
- Déposer 50 µl de solution standard, contrôle et échantillon dérivés dans chaque puits de la microplaque ;
- Déposer 50 µl d'anticorps antiglyphosate ;

- Recouvrir la plaque avec du parafilm, agiter par un mouvement circulaire puis incubé durant 30 min à température ambiante ;
- Ajouter 50 µl de l'enzyme conjuguée ;
- Recouvrir avec du parafilm puis agiter par un mouvement circulaire ;
- Incuber durant 60 min à température ambiante ;
- Laver les puits de la microplaque 3 fois avec 250 µl de la solution de lavage ;
- Le tampon restant dans les puits doit être retiré en tapotant la plaque sur du papier absorbant ;
- Ajouter 150 µl de la solution substrat, puis incubé durant 20 à 30 min à température ambiante ;
- Ajouter 100 µl de la solution stop ;
- Lire l'absorbance à une longueur d'onde $\lambda = 450$ nm à l'aide d'un lecteur de microplaque (Mindray MW-12A) ;
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon chacun des échantillons est alors déduit. La concentration en glyphosate est exprimée en µg/L.

II.1.5. Détermination du risque quotient

Le risque écotoxicologique pour les organismes aquatiques a été évalué pour chaque substance en calculant le risque quotient (RQ), toutefois les organismes aquatiques ne sont généralement pas exposés à des substances individuelles mais à un mélange de produits chimiques simultanément, en raison de la variabilité temporelle et spatiale de leur composition, une évaluation des effets directs n'est bien que souhaitable par le calcul du risque quotient du mélangé (RQm) (**Berenbaum, 1989**). Le calcul du RQ a été réalisé en divisant la concentration du pesticide mesurée dans le milieu (C_m) à la concentration sans effet observé correspondant (CSEO), alors que le RQm s'exprime comme étant le cumule des RQk calculé pour chaque pesticide dosé.

$$RQ = \frac{C_m}{CSEO}$$

RQ : Risque quotient.

C_m : Concentration du pesticide dosé dans le milieu.

CSEO : Concentration sans effets observé correspondante du pesticide.

$$RQm = \sum_{k=0}^n RQk$$

RQm : Risque quotient pour un mélange de pesticides.

RQk : Risque quotient de chaque pesticide.

L'échelle d'appréciation de **Götz *et al.* (2011)** du risque écotoxicologique lié à une seule substance et au mélange de substances chimiques est représentée dans le **tableau 12**.

Tableau 12 : Echelle d'appréciation du risque écotoxicologique du RQ et RQm.

Echelle d'appréciation	RQ		RQm
	Appréciation de l'environnement		Respect du critère de la qualité (CQC)
$RQ < 0,1$	Très bon		CQC respecté
$0,1 \leq RQ < 1$	Bon		
$1 \leq RQ < 2$	Moyen		CQC non respecté
$2 \leq RQ < 10$	Médiocre		
$RQ \geq 10$	Mauvais		

II.1.6. Analyse statistique

L'analyse statistique des données a été réalisée avec le logiciel XL STAT 2014, l'état de distribution normale a été vérifié précédemment en appliquant le test de Shapiro-Wilk, ce qui a permis de choisir des méthodes non paramétriques pour l'analyse statistique. L'analyse de variance (test de Kruskal-Wallis) a été utilisée pour comparer la variation intersaisons et interstations. Le test a été réalisé à un niveau de signification de $\alpha = 0,05$.

II.2. Résultats

II.2.1. Pesticides

Les résultats obtenus du dosage des pesticides dans les stations d'échantillonnage sont comme suit :

III.2.1.1. Diuron

La variation de la concentration du diuron dans les stations d'étude est très variable, elle est comprise entre $0,06 \pm 0,01$ et $1,42 \pm 00 \mu\text{g/L}$ (**Fig.18**). Les teneurs les plus élevées ont été retrouvées à la saison automnale ($1,4 \pm 00 \mu\text{g/L}$) et estivale ($1,00 \pm 0,01 \mu\text{g/L}$) au niveau de la station S.3 et S.1 respectivement. Les concentrations du diuron dosées au niveau des stations d'échantillonnages sont au-dessous de la norme fixée par Environmental quality Standard (EQS) qui est de l'ordre de $1,8 \mu\text{g/L}$ durant toute la période d'étude.

L'application du test non paramétrique de Krustal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration du diuron des eaux des stations d'échantillonnage, a révélé la présence de différences significatives entre les saisons ($p = 0,03$) et l'absence de différences significatives entre les stations ($p = 0,69$).

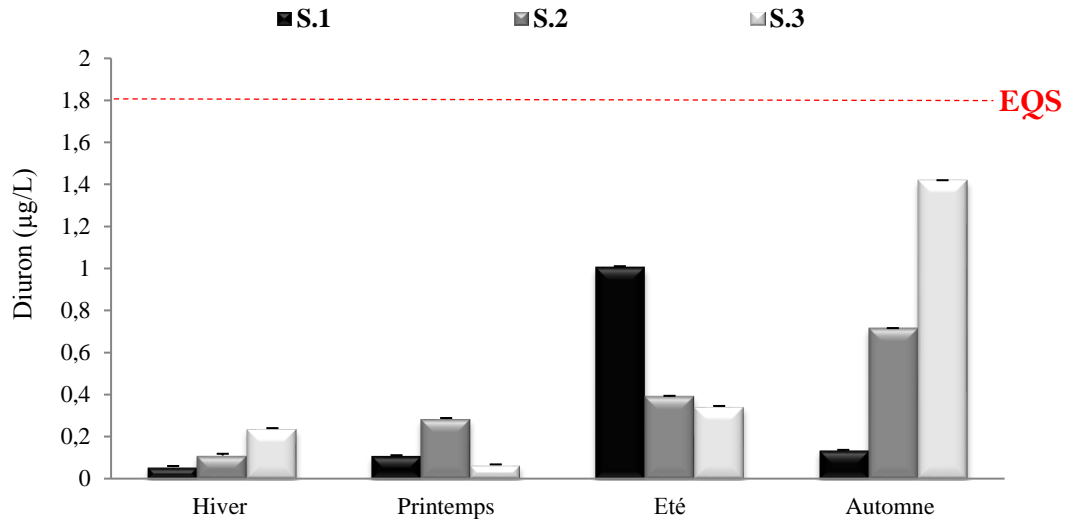


Figure 18 : Variation spatiotemporelle de la concentration du diuron de l'eau (µg/L) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; $n = 3$).

II.2.1.2. Atrazine

Les concentrations de l'atrazine au niveau des stations d'études ont été toujours inférieur à la limite de détection (40 ng/L) sauf au printemps où de très faibles concentrations ont été retrouvé au niveau de la station S.2 et S.3 (**Fig.19**). Les concentrations de l'atrazine dans l'eau restent inférieur à la norme proposée par EQS qui est de l'ordre de 2 µg /L.

L'application du test non paramétrique de Krustal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration de l'atrazine des eaux des stations d'échantillonnage, a révélé l'absence de différences significatives entre les saisons ($p = 0,08$) et les stations ($p = 0,57$).

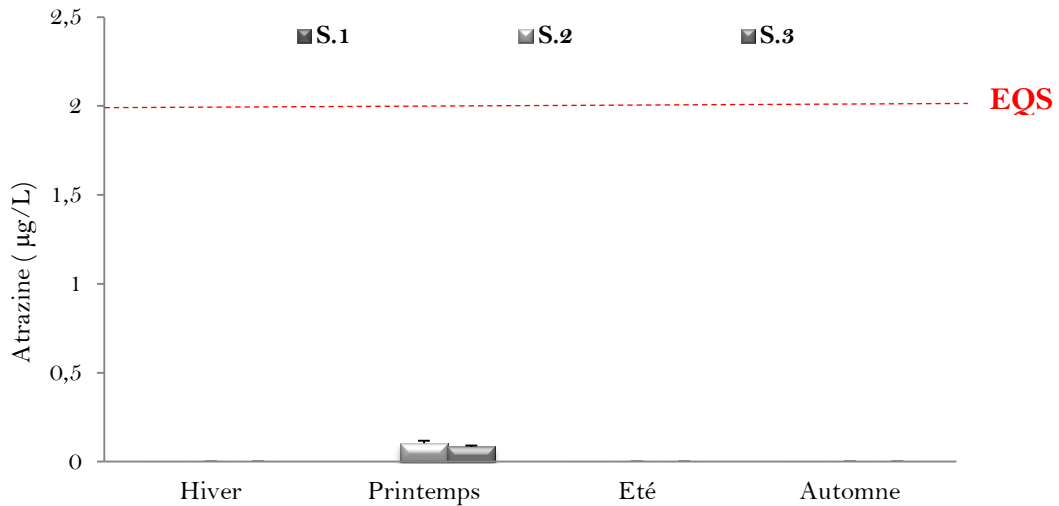


Figure 19 : Variation spatiotemporelle de la concentration de l'atrazine de l'eau ($\mu\text{g/L}$) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; $n = 3$).

II.2.1.3. Nonylphénol

La variation de la concentration du nonylphénol est représentée dans la **figure 20**. Les concentrations les plus élevées ont été retrouvées à la saison printanière et automnale, le maximum a été signalé dans la station S.1 ($2,11 \pm 0,01 \mu\text{g/L}$). Les concentrations en nonylphénol dans l'eau restent inférieures ou égales à la norme proposée par EQS qui est de l'ordre de $2 \mu\text{g/L}$.

L'application du test non paramétrique de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration du nonylphénol des eaux des stations d'échantillonnage, a révélé l'absence de différences significatives entre les saisons ($p=0,05$) et les stations ($p = 0,05$).

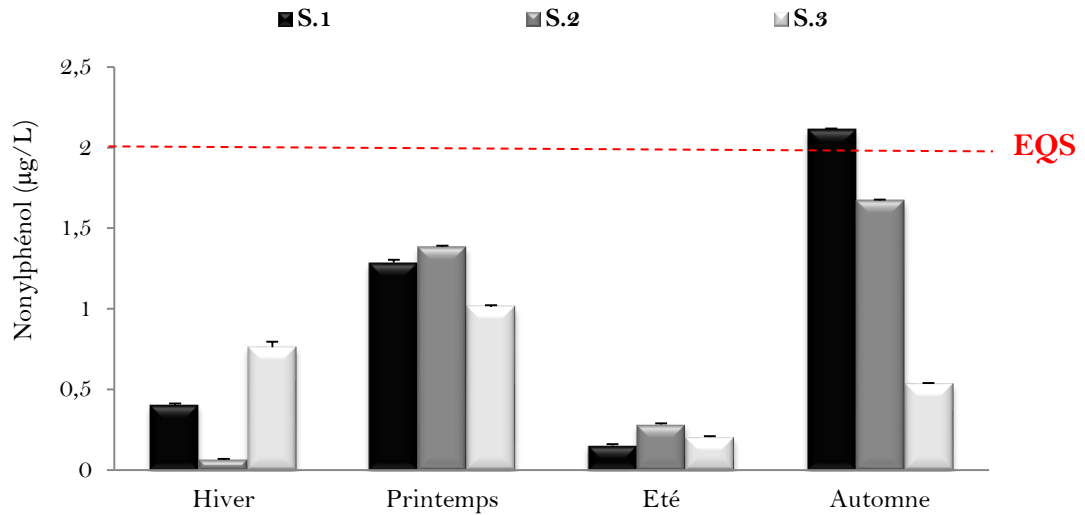


Figure 20 : Variation spatiotemporelle de la concentration du nonylphénol de l'eau (µg/L) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).

II.2.1.4. Glyphosate

La variation de la concentration du glyphosate dans les stations d'études est représentée dans la **figure 21**. Les concentrations les plus élevées ont été retrouvées en hiver au niveau des stations S.2 et S.3 avec des concentrations de l'ordre de $15,83 \pm 0,06$ et $16,23 \pm 0,11$ µg/L respectivement. En absence d'une norme proposée par EQS pour les eaux de mer ; nous avons comparé nos résultats aux valeurs guides d'Australian Guideline qui sont comprises entre 370 et 2000 µg /L destinés pour les eaux douces et qui peut être appliqué aux eaux marines. Les concentrations en glyphosate dans l'eau du golfe d'Annaba ont été inférieures à la valeur norme proposée par Australian Guideline.

L'application du test non paramétrique de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration du glyphosate des eaux des stations d'échantillonnage, a révélé l'absence de différences significatives entre les saisons ($p = 0,29$) et les stations ($p = 0,38$).

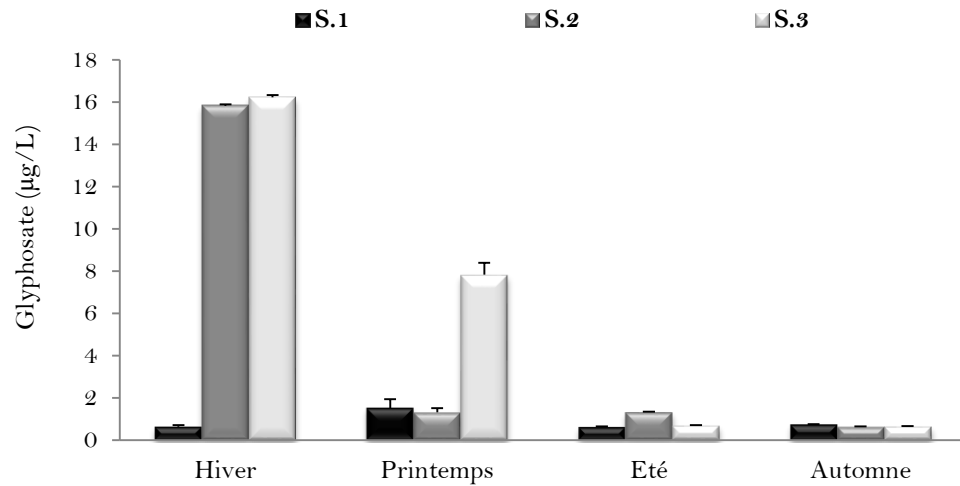


Figure 21 : Variation spatiotemporelle de la concentration du glyphosate de l'eau ($\mu\text{g/L}$) des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; $n = 3$).

II.2.2. Risque quotient

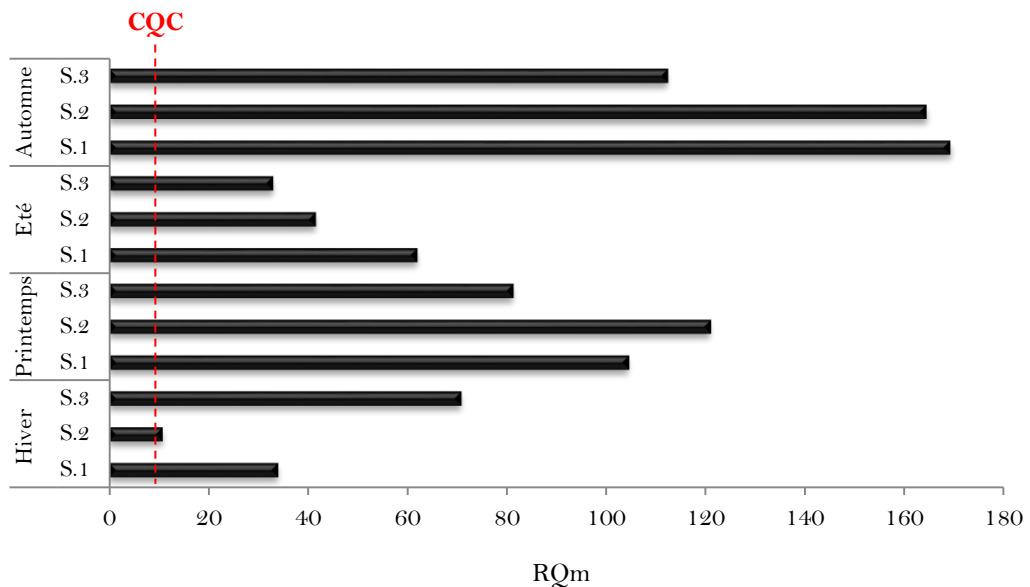
Les résultats obtenus du calcul du risque quotient sont représentés dans le **tableau 13**. Le nonylphénol et le diuron ont indiqué les plus grandes valeurs du RQ, les valeurs correspondantes étaient toujours supérieures à 2 avec une valeur maximale de 128,75 et de 70,95 enregistré en automne pour le diuron et le nonylphénol respectivement. Ce qui nous permet de qualifier les stations d'échantillonnages entre médiocre et mauvaise.

Les valeurs du RQ du glyphosate étaient toujours inférieures ou égales à 0,1 en raison de leur haute valeur de NOEC, cela nous permet de qualifier les stations d'échantillonnages entre très bonne et bonne. En ce qui concerne l'atrazine, les valeurs de RQ étaient toujours inférieure 0,1 ; cela nous permet de qualifier les stations d'échantillonnages de très bonne.

Les résultats obtenus du calcul du risque quotient du mélange sont représentés dans la **figure 22**. Toutes les valeurs du RQm sont supérieures à 1 au niveau des trois stations d'échantillonnage, les valeurs les plus élevées ont été observées en automne au niveau des stations S.2 et S.3. Cela nous permet de déduire que les eaux de ces deux stations ne respectent pas les critères de qualité vis-à-vis des pesticides étudiés.

Tableau 13 : Variation du RQ de l'eau des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012.

Saison	Station	Atrazine	Diuron	Glyphosate	Nonylphénol
		NOEC = 21,2µg/L	NOE = 0,02 µg/L	NOEC = 108 µg/L	NOEC = 0,013 µg/L
Hiver	S.1	0	02,751	0,005	31,239
	S.2	0	05,509	0,146	05,110
	S.3	0	11,909	0,150	58,658
Printemps	S.1	0	05,509	0,013	98,8630
	S.2	0,004	14,166	0,012	106,6140
	S.3	0,004	03,250	0,072	77,847
Eté	S.1	0	50,139	0,005	11,723
	S.2	0	19,634	0,012	21,852
	S.3	0	17,207	0,006	15,756
Automne	S.1	0	6,7855	0,006	162,487
	S.2	0	35,677	0,005	128,752
	S.3	0	70,953	0,006	41,244

**Figure 22 :** Variation spatiotemporelle du RQm de l'eau des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012.

II.2.3. Analyse statistique

La variation intersaisons et interstations des pesticides ont déjà été mentionnées précédemment (chapitre.II, §.II.2.1), la comparaison non paramétrique entre les saisons

par l'application du test de Kruskal-Wallis, révèle des différences significatives ($p < 0,05$) seulement pour le diuron. Toutefois la comparaison interstations ne révèle aucune différence significative ($p > 0,05$) pour l'ensemble des pesticides dosés. Cela peut être expliqué par d'autres facteurs hors les saisons et les stations.

II.3. Discussion

II.3.1. Pesticides

Le diuron est un antifouling dérivé de l'urée, c'est le biocide le plus largement utilisé (Thomas *et al.*, 2002) comme peintures antifouling dans le monde (Yonehara, 2000 ; Thomas, 2001). Il est classé parmi les 33 substances prioritaires conformément à l'annexe II de la directive 2013/39/UE (Commission Européenne, 2013) dont l'utilisation a été complètement interdite en 2004, il a été reconnu par la commission européenne comme une substance prioritaire dangereuse (Malato *et al.*, 2002). Certains pays de l'Europe ont restreint son utilisation comme peinture antifouling sur les petits bateaux (Giacomazzi et Cochet, 2004 ; Konstantinou et Albanis 2004). Bien qu'il ait été interdit, il est couramment retrouvé à de fortes concentrations au niveau des eaux côtières marines (Munaron *et al.*, 2012 ; Caquet *et al.*, 2013).

Selon les résultats obtenus, la concentration du diuron a été toujours inférieure à la valeur norme proposée par EQS (Commission Européenne, 2008), nous pouvons déduire que les eaux côtières du golfe d'Annaba ne semblent pas être à un stade alarmant à l'heure actuelle comparé aux eaux côtières de différents pays à travers le monde (Tableau 14), telle que la mer de la Manche, la mer Adriatique, la mer du Nord, la mer intérieure de Seto et la mer du Japon. Cependant elles sont supérieures à celles retrouvées au niveau des zones côtières de la mer Celtique, la mer d'Andaman, la mer de Chine et l'océan Atlantique. Au niveau du golfe d'Annaba, les concentrations retrouvées paraissent plus ou moins égales à celles retrouvées au Nord de la Méditerranée.

La présence du diuron dans le golfe d'Annaba était inattendue compte tenu des restrictions sur son utilisation. L'augmentation de sa concentration en été et en automne serait due probablement à l'augmentation saisonnière des activités de plaisance (Biselli *et al.*, 2000 ; Lambropoulou *et al.*, 2002 ; Mezuca *et al.*, 2002 ; Thomas *et al.*, 2003) et en particulier le nettoyage et la peinture des coques des bateaux avant le début de la saison hivernale. Une tendance saisonnière similaire avec des valeurs importantes à la saison estivale ont été rapportées dans un port de plaisance suédois (KEMI, 2006). Aussi,

cela peut être due aux activités maritimes (**Martínez *et al.*, 2001 ; Sakkas *et al.*, 2002**) et urbaines qui peuvent aussi être source d'une contamination (**Gerecke *et al.*, 2002**). Il est également utilisé comme pesticide à usage agricole, conduisant à une éventuelle confusion dans l'identification des sources de contamination (**Di Landa *et al.*, 2009**).

Tableau 14 : Étude comparative de la variation de la concentration du diuron au niveau des zones côtières marines.

Sites	Concentration ($\mu\text{g/l}$)	Références
Mer Méditerranée	0,01-1,38	Landa <i>et al.</i> (2009)
	2	Martínez <i>et al.</i> (2000)
	0,33	Munaron <i>et al.</i> (2012)
	0,06- 1,42	Présent travail
Mer de la Manche	0,01- 6,74	Thomas <i>et al.</i> (2001)
	0,0597- 0,0664	Gatidou <i>et al.</i> (2007)
	0,02 - 0,254	Buisson <i>et al.</i> (2008)
Mer Adriatique	42	Gennaro <i>et al.</i> (1995)
	0,401-1,957	Loos <i>et al.</i> (2013)
Mer Celtique	0,44 - 0,78	Caquet <i>et al.</i> (2013)
Mer du Nord	6,742	Thomas (2001)
	0,768	Boxall <i>et al.</i> (2000)
	1,130	Lamoree <i>et al.</i> (2002)
Mer de Chine	0,753	Sheikh <i>et al.</i> (2009)
	0,0978 – 0,0332	Ali <i>et al.</i> (2014)
Mer d'Andaman	0,00626 – 0,0717	Ali <i>et al.</i> (2014)
Mer intérieure de Seto	3,05	Okamura <i>et al.</i> (2003)
Mer du Japon	0,03 – 3,05	Okamura <i>et al.</i> (2003)
Océan Atlantique	0,02 - 0,20	Sánchez-Rodríguez <i>et al.</i> (2011)

Les études écotoxicologiques ont démontré que le diuron est hautement toxique pour les organismes d'eau douce et marin (**Okamura *et al.*, 2003 ; Konstantinou et Albanis 2004 ; Jones, 2005**), telle que le corail (**Jones et Heyward, 2003 ; Jones et Kerswell, 2003 ; Jones *et al.*, 2003 ; Owen *et al.*, 2003**), les herbiers marins (**Macinnis-Ng et Ralph, 2003 ; Chesworth *et al.*, 2004**) ; les huîtres (**Mai *et al.*, 2013 ; Barranger *et al.*, 2014**) ; les embryons et les larves d'oursin (**Marin *et al.*, 2000 ; Kobayashi et Okamura, 2002 ; Manzo, 2004 ; Bellas *et al.*, 2005**). L'effet toxique du diuron sur

l'oursin *Paracentrotus lividus* a déjà été étudiée par **Kobayashi (1977, 1980, 1981, 1994)** ; **Warnau et al. (1996)** ; **Rumbold et Snedaker (1997)** ; **Fernández et Beiras (2001)** ; **Radenac et al. (2001)** ; **Lorenzo et al. (2002)** ; **Phillips et al. (2003)** ; **Manzo (2004)** et **Manzo et al. (2006)**. Ces derniers ont démontré qu'il pourrait provoquer l'arrêt du stade larvaire chez les embryons.

L'atrazine est l'herbicide le plus connu du groupe des triazines (**Pick et al., 1992** ; **Sene et al., 2010**), il fait partie des herbicides les plus largement et fréquemment utilisés (**US EPA, 2006**). Il est à la fois efficace et peu coûteux, c'est un composé modérément toxique (**Moaweda et al., 2015**) classé par l'agence de protection de l'environnement des États-Unis comme produit chimique cancérigène et perturbateur endocrinien (**US EPA, 1990**). Il a été interdit en 2004 par l'union européenne (**Commission Européenne, 2004c**), toutefois il est utilisé par d'autres pays (**Dong et al., 2009** ; **Sass et Colanero, 2006**). En raison de sa persistance, sa solubilité élevée et son aptitude à s'adsorber sur les sols (**Francioso et al., 1992**) il est facilement lessivé à partir des sites d'application (**Williams et al., 1991**), il a été détecté dans l'eau de ruissellement des terres agricoles à des concentrations qui varient entre 3 et 275 µg/L (**Southwick et al., 1990**).

Bien que son utilisation dans l'agriculture ait été interdite, l'atrazine et ses produits de dégradation sont encore fréquemment détectés dans les plans d'eau (**Loos et al., 2010** ; **Jablonowski et al., 2011** ; **Munaron et al., 2012** ; **Reh et al., 2013**), c'est la conséquence du transfert à long terme des résidus des zones agricoles où l'herbicide a été utilisé précédemment (**Caquet et al., 2013**). Au niveau de nos stations d'échantillonnage, la teneur de l'atrazine a été toujours inférieure à la norme proposée par EQS (**Commission Européenne, 2008**), nous pouvons affirmer que les eaux côtières du golfe d'Annaba ne semblent pas être à un stade alarmant à l'heure actuelle, toutefois une concentration de l'ordre de 0,1 µg/L peut causer des effets néfastes chez les organismes aquatiques (**Tillitt et al., 2010**).

Étant donné que l'atrazine a été détecté uniquement dans un petit nombre d'échantillons au niveau du golfe d'Annaba, il est difficile de donner une explication à propos de ses tendances temporelles et spatiales. Il serait nécessaire de procéder au dosage des principaux produits de dégradation : déséthylatrazine et desisopropylatrazine. La contamination des eaux côtières par l'atrazine et ses produits de dégradation est un phénomène fréquemment rapporté par **Carafa et al. (2007)**, la comparaison de nos résultats avec d'autres zones côtières à travers le monde (**Tableau 15**), nous a permis de constater que les concentrations retrouvées ont été plus ou moins égales à d'autres zones côtières de la mer Méditerranéenne

et la mer du Nord. Cependant, ces concentrations sont très importantes par rapport à celle retrouvées au niveau de la mer Adriatique, la mer Baltique, la mer d'Irlande, la mer de Marmara et la mer Celtique.

Tableau 15 : Étude comparative de la variation de la concentration de l'atrazine au niveau des zones côtières marines.

Sites	Concentration (ng/l)	Références
Mer Méditerranée	0 - 800	Readman <i>et al.</i> (1993)
	0	Ferrer <i>et al.</i> (1997)
	0	Pérez - Carrera <i>et al.</i> (2007)
	0,2 - 1,5	Bueno <i>et al.</i> (2009)
	1,6 - 15	Nödler <i>et al.</i> (2013)
	0 - 103,64	Présent travail
Mer Adriatique	0 - 18	Readman <i>et al.</i> (1993)
	1,3 - 5,9	Carafa <i>et al.</i> (2007)
	0,589 - 1,522	Loos <i>et al.</i> (2013)
Mer Baltique	2 - 8	Bester et Hühnerfuss (1993)
	1,8 - 9	Pempkowiak <i>et al.</i> (2000)
	0,2 - 1	Nödler <i>et al.</i> (2013)
Mer du Nord	0 - 110	Bester et Hühnerfuss (1993)
	3,3 - 37	Hühnerfuss <i>et al.</i> (1997)
Mer Celtique	0 - 0,625	Caquet <i>et al.</i> (2013)
Mer de Marmara	31 - 32	Nödler <i>et al.</i> (2013)
Mer d'Irlande	0 - 8,3	Law <i>et al.</i> (1994)

Une partie importante de la pollution du golfe provient de l'amont de l'estuaire, mais les relations entre les sources terrestres et la contamination côtière sont souvent négligée (Chapman et Wang 2001). Maintenant il y a plus de preuves que les apports fluviaux contribuent en grande partie à la présence des pesticides dans les zones côtières (Lewis *et al.*, 2009 ; Shaw et Müller, 2005). De tels composés peuvent être présents en quantités importantes à une certaine période, les tendances temporelles de leur présence peuvent être liées à la période d'application. On suggère que les concentrations en aval dans l'estuaire d'El Mafrag seraient généralement plus importantes qu'en amont en raison de la dilution provoquée par le mélange d'eau douce avec l'eau de mer qui est relativement non contaminée. La dégradation microbienne pourrait également expliquer une partie de

cette transformation. Certains genres bactériens sont capables de dégrader l'atrazine (Sene *et al.*, 2010), tels que : *Pseudomonas* (Shapir *et al.*, 2007), *Arthrobacter* (Sajjaphan *et al.*, 2004 ; Qingyan, 2008) et *Chelatobacter* (Rousseaux *et al.*, 2003).

La présence de l'atrazine dans le golfe d'Annaba, conduit aux préoccupations concernant les effets délétères sur les organismes aquatiques (Akkanen *et al.*, 2001 ; Nikkila *et al.*, 2001 ; Phyu *et al.*, 2004). Bien qu'il soit habituellement dit tout à fait inoffensif pour les vertébrés (Hayes *et al.*, 2011), chez les invertébrés aquatiques l'atrazine est capable d'affecter l'équilibre hydrominéral, la fonction des branchies (Silvestre *et al.*, 2002), le métabolisme (Prasad *et al.*, 1995), le comportement de la nage (Saglio et Trijasse, 1998 ; Alvarez et Fuiman, 2005), la réduction de la croissance (Nieves-Puigdoller *et al.*, 2007) ainsi que la perturbation du système endocrinien (Fan *et al.*, 2007 ; Rohr et McCoy, 2010) qui se manifeste par l'altération de la morphologie, la fonction et le développement des gonades (Hayes *et al.*, 2002 ; Tavera-Mendoza *et al.*, 2002a, 2002b ; Carr *et al.*, 2003 ; Spano *et al.*, 2004), déséquilibre du rapport sex-ratio aux faveurs des femelles (Oka *et al.*, 2008 ; Langlois *et al.*, 2010) et une diminution du taux de la reproduction (Bringolf *et al.*, 2004 ; Tillitt *et al.*, 2010). Cependant Storrs et Semlitsch (2008) ; Kloas *et al.* (2009) ; Williams et Semlitsch (2010) ; Spolyarich *et al.* (2010) et Choung *et al.* (2011) n'ont pas signalé un effet néfaste de l'atrazine. Bien qu'il y ait sans doute des raisons diverses pour ces résultats antithétiques, la concentration réponse reste probablement un facteur important (Brodeur *et al.*, 2009 ; Rohr et McCoy, 2010).

Les nonylphénol (NP) est l'un des produits de biodégradation des Alkylphénols, il est employés dans la synthèse : des huiles lubrifiantes, des cosmétiques, des émulsifiants, des plastiques, des peintures au latex, les détergents industriels et ménagers, le papier, les textiles, les adhésifs ainsi que la formulation des pesticides (Priac *et al.*, 2014). Le NP n'est pas un produit naturel, les concentrations environnementales résultent d'une activité anthropique (Colborn *et al.*, 1993 ; Maguire, 1999), il a été détecté dans tous les milieux aquatiques à savoir l'eau douce, les zones côtières, les océans, les lagunes, les estuaires, les lacs, les rivières, les eaux souterraines et même dans de l'eau potable (Hale *et al.*, 2000 ; Corsi *et al.*, 2003).

L'union européenne a inclus le nonylphénol dans la liste des substances dangereuses prioritaires pour les eaux de surface dans le cadre de la directive 2000/60/CE (Commission Européenne, 2000) pour laquelle une politique de réduction drastique est mise en œuvre (Commission Européenne, 2003). Du point de vue écotoxicologique, le NP

est persistant, modérément bioaccumulable et extrêmement toxique (**Severin *et al.*, 2003 ; Brian *et al.*, 2005 ; Ishibashi *et al.*, 2006 ; Soares *et al.*, 2008 ; David *et al.*, 2009 ; Lozano *et al.*, 2012**). Il peut imiter les effets des hormones naturels (du 17 β -oestradiol) en se liant aux récepteurs oestrogéniques (**White *et al.*, 1994 ; Jobling *et al.*, 1996**). Le potentiel oestrogénique a été largement étudié chez les vertébrés mais ses effets envers les invertébrés sont encore mal connus (**Pachura-Bouchet, 2005**).

Au niveau des stations d'échantillonnage, la teneur du NP a été toujours inférieure à la norme proposée par EQS (**Commission Européenne, 2008**). Toutefois en automne une valeur de 2,11 $\mu\text{g/L}$ a été retrouvée. Cette concentration était suffisamment élevée pour susciter des inquiétudes à propos de son impact potentiel sur les organismes aquatiques. La présence des NP dans le golfe d'Annaba peut être expliquée par les rejets urbains et l'activité anthropique. Selon **Soares *et al.* (2008)**, la présence du NP dans les milieux aquatiques est principalement corrélée aux effluents des eaux usées industrialisées et urbaines ainsi que d'autres sources anthropiques tel que l'utilisation de détergents et des produits d'activités maritimes, la formulation des pesticides. Après l'émission du NP dans l'environnement marin, il est affecté par divers processus (dilution, dégradation et partition), la température, la salinité et la diversité microbienne peuvent affecter la concentration des NP et de modeler leur composition (**Ying et Kookana, 2003 ; Jonkers *et al.*, 2005 ; Li *et al.*, 2008**).

Bien que ce composé a été interdit dans la plupart des pays, cependant il est encore retrouvé dans différentes zones côtières marines (**Tableau 16**). Selon les résultats obtenus, nous pouvons suggérer que les eaux côtières du golfe d'Annaba semblent être à un stade alarmant comparé avec d'autres zones côtières de la mer Méditerranée, la mer Adriatique, la mer Baltique et la mer du Japon. Quoique nos résultats sont très faibles comparées à la mer du Nord, la mer Jaune, la mer de Chine, ainsi que les zones côtières de l'océan atlantique, l'océan Pacifique et l'océan Atlantique.

Les études écotoxicologiques de **Baldwin *et al.* (1997) ; LeBlanc *et al.* (2000) ; Nice *et al.* (2000) ; Hill *et al.* (2002) et Zhang *et al.* (2003)** ont révélé que le NP pouvait perturber la reproduction et le développement chez les invertébrés marins. Toutefois, les travaux de **Janer et Porte (2007) ; Lafont et Mathieu (2007) et Porte *et al.* (2006)** ont indiqué que son effet n'est pas entièrement élucidé, il est encore peu clair et en débat. Cela est due à la présence de stéroïdes du type vertébré tel que le 17 β -estradiol dans divers invertébrés (**Reis-Henriques *et al.*, 1990 ; Stefano *et al.*, 2003**). Ces derniers pourraient

affecter certaine fonction physiologique chez les invertébrés comme chez les vertébrés (Schoenmakers et Dieleman, 1981).

Chez l'oursin *Paracentrotus lividus*, le NP est génotoxique à des concentrations comprises entre 0,937 et 18,74 µg/L (Cakal-Arslan *et al.*, 2007). Aussi Roepke *et al.* (2005) ont rapporté une altération du développement des embryons et un blocage de la capacité régénératrice, ainsi que l'induction d'anomalie de la croissance (Candia-Carnevali, 2005).

Tableau 16 : Étude comparative de la variation de la concentration du nonylphénol au niveau des zones côtières marines.

Sites	Concentration (µg/L)	Références
Mer Méditerranée	0,3 - 4,1	Petrovic <i>et al.</i> (2002)
	0,210	González <i>et al.</i> (2004)
	0,112	Arditsoglou et Voutsas (2008)
	0,022 - 0,201	Arditsoglou et Voutsas (2012)
	0,0012 - 0,689	Sánchez-Avila <i>et al.</i> (2012)
	0,07 – 2,11	Présent travail
Mer Adriatique	0,004 - 0,211	Pojana <i>et al.</i> (2007)
Mer Baltique	0,0013- 0,0213	Beck <i>et al.</i> (2006)
Mer du Nord	0,006 - 0,033	Bester <i>et al.</i> (2001)
	0,3-221	Heemken <i>et al.</i> (2001)
	0,0017	Jonkers <i>et al.</i> (2005)
	0,00009 – 0,0014	Xie <i>et al.</i> (2006)
Mer de Chine	280 - 2760	Basheer <i>et al.</i> (2004)
	270 - 370	Cheng <i>et al.</i> (2006)
	0,5 –755	Santiago et Kwan (2007)
	9,7 - 928	Li <i>et al.</i> (2008)
	8,3 - 405,8	Xu <i>et al.</i> (2015)
Mer Jaune	298	Li <i>et al.</i> (2005)
Mer du Japon	0,002 - 0,093	Kannan <i>et al.</i> (1998)
Océan Atlantique	29-78	Jonkers <i>et al.</i> (2010)
Océan Pacifique	24 - 6250	Jackson et Sutton (2011)
Océan Atlantique	201	Ferguson <i>et al.</i> (2000)
	77 - 614	Ferguson <i>et al.</i> (2001)

Le glyphosate est un herbicide organophosphoré couramment utilisé dans l'agriculture en raison de sa faible toxicité, son efficacité (**Kolpin *et al.*, 2006**) ainsi que sa biodégradation par les bactéries (**Benslama et Boulahrouf, 2016**) ; il est à large spectre et non sélectif (**Baylis, 2000 ; Woodburn, 2000**). Il est inclus dans la liste des substances autorisées selon l'annexe I de la directive 91/414/CEE (**Commission Européenne, 1991**).

Australian Guideline a proposé une valeur norme comprise entre 370 et 2000 µg /L en eau douce (**Anzecc et Armcanz, 2000**) qui peut être appliquée en absence d'une norme marine (**Mercurio *et al.*, 2014**). Les résultats obtenus sont largement inférieurs, toutefois cela ne veut pas dire que la situation est moins préoccupante. Il serait nécessaire de procéder au dosage de l'acide aminométhylphosphonique (AMPA) produit de dégradation microbienne du glyphosate (**Forlani *et al.*, 1999**), il est considéré comme étant égal ou de moindre toxicité que le glyphosate (**Giesy *et al.*, 2000**). L'explication la plus probable à la présence de cet pesticide au niveau du golfe d'Annaba, serait une utilisation de ce pesticide juste avant l'inondation de la région, cela a été déjà observé dans une rivière Espagnole où une concentration de l'ordre de 137 µg/L a été signalé trois jours après l'application du glyphosate pour le contrôle de la végétation riveraine (**Puértolas *et al.*, 2010**).

Les propriétés toxicologiques de glyphosate semblent être bien documenté (**Carlisle et Trevors, 1988 ; Malik *et al.*, 1989 ; Tate *et al.*, 1997 ; Giesy *et al.*, 2000**), il est de faible toxicité (**Solomon et Thompson, 2003**), cependant de multiples études ont indiqué que les dérivés à base de glyphosate sont plus toxiques pour les organismes aquatiques que le glyphosate en raison d'agents tensio-actifs présents dans les dérivés (**Folmar *et al.*, 1979 ; Mann et Bidwell, 1999 ; Servizi *et al.*, 1987 ; Tsui et Chu, 2003, 2004**). L'exposition des invertébrées au glyphosate peut induire des altérations tissulaires au niveau hépatique (**Szarek *et al.*, 2000 ; Langiano et Martinez, 2008**), altération des paramètres hématologiques et métaboliques (**Çavas et Könen, 2007 ; Glusczak *et al.*, 2007**), induction de la production de la vitellogénine chez les mâles (**Denslow *et al.*, 1999 ; Gercken et Sordyl, 2002 ; Hahlbeck *et al.*, 2004 a, 2004b**) ainsi que l'altération de l'expression génique des activités des enzymes antioxydantes (**Le *et al.*, 2010 ; Modesto et Martinez, 2010 ; Zomer-Sandrini *et al.*, 2013**). Récemment les travaux de **Portier *et al.* (2016)** ont indiqué que le glyphosate est considéré comme un cancérigène probable pour l'homme et les animaux. Chez l'oursin *Paracentrotus lividus*, le glyphosate peut affecter le mécanisme de la division cellulaire (**Robin, 2010**).

Le glyphosate peut être retrouvé dans différents milieux aquatiques (**Tableau 17**), les eaux marines, les eaux douces, les eaux usées et même dans les urines des travailleurs agricoles (**Acquavella et al., 2004**). Cependant ces concentrations restent largement inférieures à celles retrouvées sur le terrain agricole où des concentrations de l'ordre de 1700 µg/L ont été retrouvées par **Mensink et Janssen (1994)** et **NHMRC (2011)**. En environnement marin, le glyphosate reste particulièrement mal documenté (**Munaron, 2004**), généralement il n'est pas pris en considération dans la plupart des programmes de surveillance marine sachant qu'il est l'un des herbicides les plus utilisés dans le monde (**Stachowski- Haberkorn et al., 2008**).

Tableau 17 : Étude comparative de la variation de la concentration du glyphosate dans milieux aquatiques.

Sites	Concentration (µg/L)	Références
Zone côtière de l'océan Atlantique	1,2	Samain et McCombie (2008)
Rivières et eaux de ruissellement	nd - 0,59	Skark et al. (1998)
	nd - 4,5	Scribner et al. (2003)
	nd - 0,74	Pesce et al. (2008)
	nd - 40,8	Struger et al. (2008)
	54	Davis et al. (2013)
Zone côtière de la mer Méditerranée	0,63 - 16,23	Présent travail

nd : Inférieur à la limite de détection

II.4.2. Risque quotient

L'appréciation de la qualité des eaux des stations d'échantillonnage varie fortement d'une substance à l'autre du fait notamment des critères de qualité qui diffèrent d'une substance à l'autre; les résultats obtenus du calcul du RQ soutiennent la nécessité d'une plus grande prise de conscience sur la qualité des eaux du golfe d'Annaba, quoique les valeurs obtenues aient été inférieures aux normes proposées par EQS.

Lorsque les organismes aquatiques sont exposés à un mélange des pesticides un effet significatif pourrait se produire même si la concentration de chaque composé individuel est inférieure à la concentration sans effets observés correspondants (**Backhaus et al., 2000**). Les effets toxiques de plusieurs produits chimiques ont été reconnue comme un

facteur important en écotoxicologie parce que le mélange des constituants chimiques peut avoir un impact négatif sur les organismes aquatiques (**Hernando *et al.*, 2003**). Les valeurs du RQm calculées étaient toujours supérieures à 1, ce qui suggère que les risques associés à ces composés étaient très élevés, ce qui nous laisse à penser que les critères de qualité sont non respectés. Les travaux de **Kobayashi (1984, 1990)** ; **Pagano *et al.* (1986)** et **Cakal-Arslan *et al.* (2007)** ont indiqué que les embryons et les gamètes de l'oursin *Paracentrotus lividus* sont sensibles aux mélanges des produits chimiques où des effets sur la reproduction, le développement et la cytogénétique ont été mis en évidence.

La concentration de ces composés en question dans le golfe d'Annaba présente alors un potentiel nuisible pour l'écosystème, cependant il faut d'autres données toxicologiques pour clarifier les effets néfastes sur la communauté marine et si des effets synergiques pourrait se produire (**Graumann *et al.*, 1999**). La comparaison des résultats obtenus avec une étude réalisée précédemment au Nord-Ouest Méditerranéen, a montré l'existence d'un risque plus élevé compte tenu des concentrations élevées en polychlorobiphényles et dichlorodiphényltrichloréthane dans les échantillons (**Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2007b**).

Chapitre III

**Evaluation du niveau de la pollution
par le dosage des biomarqueurs**

III.1. Matériel et méthodes

III.1.1. Description du site d'étude

La description du site et des stations d'échantillonnage a été déjà décrite précédemment (chapitre. I, §. I.1.1 et I.1.2), les campagnes d'échantillonnage ont été effectuées à la même période que celle des paramètres physicochimiques à raison d'une fois par saison.

III.1.2. Matériel biologique

Au niveau de chaque station, trois oursins ont été récoltés en plongée et manuellement à l'aide d'un couteau, les oursins récoltés ont été triés à l'aide d'un pied à coulisse, seuls les individus ayant une taille de 50 mm (taille minimale marchande de l'oursin) sont prélevés, rincés délicatement à l'eau de mer puis transporter au laboratoire dans des bidons remplis d'eau de mer oxygénée. Arrivée au laboratoire, les oursins sont disséqués le jour même.

III.1.3. Détermination des indices physiologiques

Pour déterminer le degré de remplissage et la période de reproduction, nous avons déterminé l'indice de condition (IC) et l'indice gonadique (IG) respectivement, pour cela une série de mesures et de pesées ont été réalisées sur chaque individu à l'aide d'un pied à coulisse et d'une balance. Ces deux indices ont été calculés de différentes manières selon les auteurs, le calcul de l'IC a été réalisé selon la formule proposée par **AFNOR (1985)**, elle s'exprime comme étant le poids de la chair molle sur le poids total. Le calcul d'IG s'exprime comme étant le rapport entre le poids sec des gonades (mg) sur le diamètre horizontal du test au cube (cm³) (**Semroud et Kada, 1987**).

$$\text{IC} = (\text{Poids de la chair molle} / \text{Poids total}) * 100$$

$$\text{IG (mg/cm}^3\text{)} = \text{Poids des gonades secs} / (\text{Diamètre})^3$$

III.1.4. Dosage des biomarqueurs

II.1.4.1. Préparation des surnageants

Pour la préparation des surnageants nous avons préparé quatre tampons, le tampon Tris à 20 mM pour le dosage des protéines, du GSH, du GST et la CAT (**Bainy *et al.*, 1996**) ; le tampon phosphate de sodium à 0,1 % de Triton pour le dosage de l'AChE (**Ellman *et al.*, 1961**) ; le tampon chlorure de potassium à 1,15 % pour le dosage de l'MDA (**Uchiyama et Mihara, 1978**) et le tampon d'homogénéisation à base de Tris et de saccharose pour le dosage de la MT (**Viarengo *et al.*, 1997**). La composition et la préparation des tampons sont représentées dans l'**annexe 5**.

Le dosage des protéines, du GSH, du GST, de la CAT, de l'AChE et de l'MDA a été réalisé dans la fraction S9, pour cela nous avons broyé 1 g de la gonade dans 3 ml de tampon approprié. Après broyage, l'homogénat a été centrifugé à 9000 g pendant 20 min à 4 °C, les surnageants obtenus ont été aliquotés dans des tubes Eppendorf et conservés à - 25 °C jusqu'au moment de l'analyse (**Bainy *et al.*, 1996**).

Pour la réalisation du dosage de la métallothionéine, il est nécessaire de récupérer la fraction cytosolique riche en MT, pour cela nous avons broyé 1 g de la chair des gonades dans 3 ml du tampon d'homogénéisation. Après broyage, l'homogénat a été centrifugé à 30000 g pendant 20 min à 4 °C (**Viarengo *et al.*, 1997**). Les surnageants obtenus ont directement été utilisés pour le dosage de la MT.

III.1.4.2. Protéines

Les protéines ne sont pas un biomarqueur, leur dosage a été réalisé selon la méthode de **Bradford (1976)**, il s'agit d'une méthode de mesure très sensible basée sur une réaction colorimétrique entre les protéines et un colorant : le bleu brillant de Coomassie (G250). Ce réactif rouge/brun à l'état libre, prend une couleur bleue quand il est lié aux protéines. La composition et la préparation du réactif nécessaire au dosage des protéines sont représentées dans l'**annexe 6**.

La réalisation de ce dosage nécessite l'élaboration d'une gamme étalon de protéines standard sous forme d'albumine de sérum bovin (BSA), cette gamme comprend sept concentrations (0 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1 mg /ml). Des dilutions préalables peuvent s'avérer nécessaires afin que les valeurs d'absorbance des échantillons soient comprises

dans l'intervalle des valeurs d'absorbance de la gamme étalon. Le dosage s'applique aux échantillons et à la gamme étalon dont les étapes sont comme suit :

- Prélever 100 μ l de l'échantillon à doser ;
- Ajouter 5 ml du réactif protéique ;
- Mélanger au vortex puis laisser reposer 5 min ;
- Mesurer l'absorbance à une longueur d'onde $\lambda = 595$ nm ;
- Tracer la droite étalon : Absorbance = f (concentration en protéines) ;
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon de BSA, chacun des échantillons est alors déduit en tenant compte du facteur de dilution initial.
- La quantité en protéines obtenues est exprimée mg/ml. La représentation graphique de la courbe d'étalonnage est représentée dans l'**annexe 6**.

III.1.4.3. Glutathion réduit

Le glutathion réduit a été dosé selon la méthode décrite par **Weckbecker et Cory (1988)**, la méthode de dosage est basée sur l'évaluation de la réduction de l'acide 5,5' - dithiobis - 2 - nitrobenzoïque (DTNB) par les groupes thiols (SH) du glutathion en formant l'acide 5 - thio - 2 - nitrobenzoïque (TNB) ; ce dernier est caractérisé par une coloration jaune intense qui peut être mesurée au spectrophotomètre (**Vandeputte et al., 1994**). La composition et la préparation des produits nécessaires au dosage sont représentées dans l'**annexe 7**.

La réalisation du dosage nécessite l'élaboration d'une gamme étalon de standards sous forme de glutathion réduit, cette gamme comprend 6 concentrations (0 ; 20 ; 40 ; 60 ; 80 et 100 μ mol/ml). Des dilutions préalables peuvent s'avérer nécessaires afin que les valeurs d'absorbance des échantillons soient comprises dans l'intervalle des valeurs d'absorbance de la gamme étalon. Le dosage s'applique aux échantillons et à la gamme étalon dont les étapes sont comme suit :

- Prélever 0,8 ml de l'échantillon à doser ;
- Ajouter 0,2 ml de la solution d'acide sulfosalicylique à 4 % ;
- Homogénéiser puis laisser reposer dans de la glace pendant 15 min ;
- Centrifuger à 10000 tours /min pendant 5 min à 0 °C ;
- Prélever 0,5 ml du surnageant ;
- Ajouter 1 ml du tampon Tris-HCl à l'EDTA ;
- Mélanger, puis ajouter 25 μ l du réactif d'Ellman ;

- Laisser agir 5 min, puis mesurer l'absorbance à une longueur d'onde $\lambda = 412$ nm ;
- La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec du tampon Tris-HCl à l'EDTA remplaçant le surnageant ;
- Tracer la droite étalon : Absorbance = f (concentration en GSH) ;
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon du GSH, chacun des échantillons est alors déduit en tenant compte du facteur de dilution initial.
- La quantité en GSH est exprimée en fonction de la concentration protéique de l'échantillon ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéines). La représentation graphique de la courbe d'étalonnage est représentée dans l'**annexe 7**.

III.1.4.4. Glutathion - S transférase

L'activité spécifique du glutathion - S transférase a été dosée selon la méthode décrite par **Habig *et al.* (1974)**, cette méthode est basée sur la réaction de conjugaison entre le GST et un substrat le 1 - Chloro 2,4 dinitrobenzène (CDNB) en présence d'un cofacteur le glutathion réduit ; leur conjugaison entraîne la formation d'une nouvelle molécule le 1- (S - Glutathionyl) - 2,4 - dinitrobenzene qui absorbe la lumière à une longueur d'onde de 340 nm. La composition et la préparation des produits nécessaires au dosage sont représentées dans l'**annexe 08**. Les étapes du dosage de l'activité spécifique du GST sont comme suit :

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

$$AS = \frac{(\Delta DO/min) \times Vt \times F}{\epsilon \times L \times Vs \times C \text{ protéines}}$$

AS : Activité spécifique (nmol de CDNB conjugué formé/minute/mg de protéines).

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

Vt : Volume total où est réalisée la mesure.

Vs : Volume du surnageant.

F : Facteur de dilution.

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

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

C protéines : Concentration des protéines (mg/L).

II.1.4.5. Catalase

Le dosage de l'activité spécifique de la catalase a été réalisé selon la méthode décrite par **Saint-Denis *et al.* (1998)**, cette enzyme permet la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire, l'activité de la CAT est mesurée par le suivi de la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (**Baumard *et al.*, 1999**). La composition et la préparation des produits nécessaires au dosage sont représentées dans l'**annexe 09**. Les étapes du dosage de l'activité spécifique de la CAT sont comme suit :

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

$$AS = \frac{(\Delta DO/min) \times Vt \times F}{\epsilon \times L \times Vs \times C \text{ protéines}}$$

AS : Activité spécifique ($\mu\text{mol d'H}_2\text{O}_2$ réduit /minute/mg de protéines).

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

Vt : Volume total où est réalisée la mesure.

Vs : Volume du surnageant.

F : Facteur de dilution.

ϵ : Coefficient d'extinction molaire de l' H_2O_2 ($\epsilon = -0,04 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

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

C protéines : Concentration des protéines (mg/L).

III.1.4.6. Acétylcholinestérase

L'activité spécifique de l'acétylcholinestérase a été dosée selon la méthode décrite par **Ellman *et al.* (1961)**, c'est la méthode de dosage la plus courante, elle consiste à fournir à l'enzyme un substrat l'acétylméthionine (ASCh) dont l'hydrolyse catalysée libération de la thiocholine (SCh), la révélation de l'activité fait intervenir de l'acide 5, 5'-dithiobis - 2 - nitrobenzoïque qui se lie avec les groupements thiols de la SCh, provoquant l'apparition d'une couleur jaune dont l'intensité est fonction de l'activité spécifique de l'AChE (**Bocquené et Galgani, 2004**). La composition et la préparation des produits nécessaires au dosage sont représentées dans l'**annexe 10**. Les étapes du dosage de l'activité spécifique de l'AChE sont comme suit :

- Prélever 680 μl du tampon phosphate de sodium à 0,1 % de triton X 100 ;
- Ajouter 40 μl du réactif d'Ellman ;
- Prélever 20 μl du surnageant;
- Ajouter 20 μl de l'acétylthiocoline ;
- La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec du tampon phosphate de sodium à 0,1 % de triton X 100 remplaçant le surnageant, la densité optique est mesurée toutes les minutes durant 5 minutes à une longueur d'onde $\lambda = 412 \text{ nm}$;
- L'activité spécifique de l'AChE est exprimée en fonction de la concentration protéique de l'échantillon (nmol/min/mg de protéines). Elle est déterminée à l'aide de la formule suivante :

$$AS = \frac{(\Delta DO/min) \times Vt \times F}{\epsilon \times L \times Vs \times C \text{ protéines}}$$

AS : Activité spécifique (nmol d'ASCh hydrolysé /minute/mg de protéines).
 $\Delta DO/min$: Différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.
Vt : Volume total où est réalisée la mesure.
Vs : Volume du surnageant.
F : Facteur de dilution.
 ϵ : Coefficient d'extinction molaire du DTNB ($\epsilon = 1,36 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).
L : Longueur de la cuve utilisée ($L = 1 \text{ cm}$).
C protéines : Concentration des protéines (mg/L).

III.1.4.7. Malondialdéhyde

Le malondialdéhyde a été dosé selon la méthode décrite par **Uchiyama et Mihara (1978)**, le principe de ce dosage est basé sur la condensation de l'MDA en milieu acide et chaud avec de l'acide thiobarbiturique pour former un pigment de couleur rose qui peut être mesuré par spectrophotométrie (**Esterbauer *et al.*, 1992**). La composition et la préparation des produits nécessaires au dosage sont représentées dans l'**annexe 11**.

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

- Prélever 3 ml de l'acide phosphorique à 1 % ;
- Ajouter 1 ml de l'acide thiobarbiturique à 0,6 % ;
- Ajouter 0,5 ml de l'échantillon à doser ;
- Mélanger puis porter à ébullition à 100°C dans un bain-marie pendant 45 min ;
- Faire refroidir, puis ajouter 4 ml de butanol ;
- Mélanger puis centrifuger à 1000 g pendant 10 min ;
- Mesurer l'absorbance a une longueur d'onde de $\lambda = 532 \text{ nm}$;
- Tracer la droite étalon : Absorbance = $f(\text{concentration de l'MDA})$;
- La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec du tampon KCl à 1,15 % remplaçant le surnageant ;
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon, la concentration en MDA de chacun des échantillons est alors déduite ;

- La quantité en MDA est exprimée en fonction de la quantité du tissu gonadique homogénéisée (nmol/mg de tissu). La représentation graphique de la courbe d'étalonnage est représentée dans l'**annexe 11**.

III.1.4.8. Métallothionéine

Chez les organismes aquatiques, un grand nombre de protocoles différents ont été utilisés pour le dosage de la métallothionéine ce qui rend très difficile la comparaison des résultats (**Bragigand et Berthet, 2003**), le dosage de la MT a été réalisé selon la méthode spectrophotométrie de **Viarengo *et al.* (1997)**. La composition et la préparation des produits nécessaires au dosage sont représentées dans l'**annexe 12**.

La réalisation du dosage nécessite l'élaboration d'une gamme étalon de standards sous forme de GSH, cette gamme comprend 6 concentrations (0 ; 14,4 ; 28,8 ; 43,2 ; 57,6 et 72 nmol/ml). Le dosage s'applique aux échantillons et à la gamme étalon dont les étapes sont comme suit :

- Prélever 1 ml de l'échantillon à doser ;
- Ajouter 1,05 ml d'éthanol absolu froid (- 20 °C) et 80 µl de chloroforme ;
- Mélanger au vortex pendant quelques secondes ;
- Centrifuger à 6000 g pendant 10 min à 4 °C ;
- Récupérer le surnageant et lui ajouter 3 volumes d'éthanol absolu froid (- 20 °C) ;
- Ajouter 1 mg d'ARN et 40 µl d'HCl à 37 % ;
- Mélanger au vortex pendant quelques secondes ;
- Conserver le mélange à - 20 °C pendant une 1 heure ;
- Centrifuger à 6000 g pendant 10 min à 4 °C ;
- Éliminer le surnageant ;
- Laver le culot avec 3 ml de la solution de lavage ;
- Centrifuger à 6000 g pendant 10 min à 4 °C ;
- Éliminer le surnageant et faire sécher le culot ;
- Ajouter au culot 150 µl de la solution de NaCl et 150 µl de la solution d'HCl qui contient de l'EDTA ;
- Agiter au vortex pendant quelques secondes jusqu'à la remise en suspension complète du culot ;
- Ajouter 4,2 ml du réactif d'Ellman ;
- Centrifuger à 3000 g pendant 5 min ;
- Prélever le surnageant ;

- Mesurer l'absorbance à une longueur d'onde $\lambda = 412 \text{ nm}$;
- La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec du tampon d'homogénéisation remplaçant le surnageant ;
- Tracer la droite étalon : Absorbance = $f(\text{concentration en GSH})$;
- À partir des résultats obtenus sur la gamme étalon, chacun des échantillons est alors déduit ;
- La concentration en MT est déduite à partir de la quantité de GSH (1 mol de MT-SH = 20 mol de GSH).
- La quantité en MT est exprimée en fonction de la quantité du tissu gonadique homogénéisée (nmol /mg de tissu). La représentation graphique de la courbe d'étalonnage est représentée dans l'**annexe 12**.

III.1.5. Détermination du niveau de pollution

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

- Amplitude de réponse (RR) = Valeur maximale – valeur minimale.
- Intervalle de confiance (IC) à $\alpha = 0,05$.
- Facteur de discrimination (DF) = (RR + IC) / IC.
- Niveau de discrimination (DL) = $DF \pm 1$.






Une fois les niveaux de discrimination déterminés pour chacun des biomarqueurs, des indices de réponse (IR) sont attribués pour chaque biomarqueur selon le tableau (**Tableau 18**) de discrimination de **Narbonne *et al.* (1999)**.

Tableau 18 : Indice de réponse des biomarqueurs en fonction du niveau de discrimination.

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

Le calcul de l'MPI consiste alors à effectuer la somme des indices de réponse pour les différents biomarqueurs, ensuite une couleur représentative d'un niveau de pollution lui est associée. Les cinq niveaux de pollution proposés par **Narbonne *et al.* (1999)** sont représentés dans le **tableau 19**.

Tableau 19 : Niveau de pollution.

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

III.1.6. Analyse statistique

L'analyse statistique des données a été effectuée avec le logiciel XL STAT 2014, l'état de la distribution normale a été vérifié préalablement en appliquant le test Shapiro-Wilk, les distributions étant la plupart du temps asymétrique ce qui nous oblige à choisir des alternatives non paramétriques pour notre analyse statistique. Des comparaisons interstations et intersaisons ont été effectuées à l'aide du test de Kruskal-Wallis. De plus, l'analyse en composantes principales (ACP) a été utilisée également dont l'objectif est de caractériser par une approche multivariée la structure des stations et des saisons d'échantillonnage au niveau du golfe d'Annaba. Par la suite, des classifications ascendantes hiérarchiques (CAH) ont été tracées afin de mieux visualiser

les similitudes entre les saisons et les stations d'échantillonnage. Le niveau de signification a été fixé à $\alpha = 0,05$.

III.2. Résultats

III.2.1. Indices physiologiques

La variation spatiotemporelle des indices physiologiques de l'oursin *Paracentrotus lividus* est comme suit :

III.2.1.1. Indice de condition

L'indice de condition reflète l'état physiologique des organismes vivants, son évolution chez l'oursin *Paracentrotus lividus* est représentée au niveau de la **figure 23**. Les valeurs les plus élevées de l'IC ont été enregistrées à la saison printanière, alors que les valeurs les plus faibles ont été retrouvées en été et en automne.

L'application du test non paramétrique de Krustal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de l'IC de l'oursin *Paracentrotus lividus* peuplant le golfe d'Annaba, a révélé la présence de différences significatives entre les saisons ($p = 0,0001$) et les stations ($p = 0,0001$).

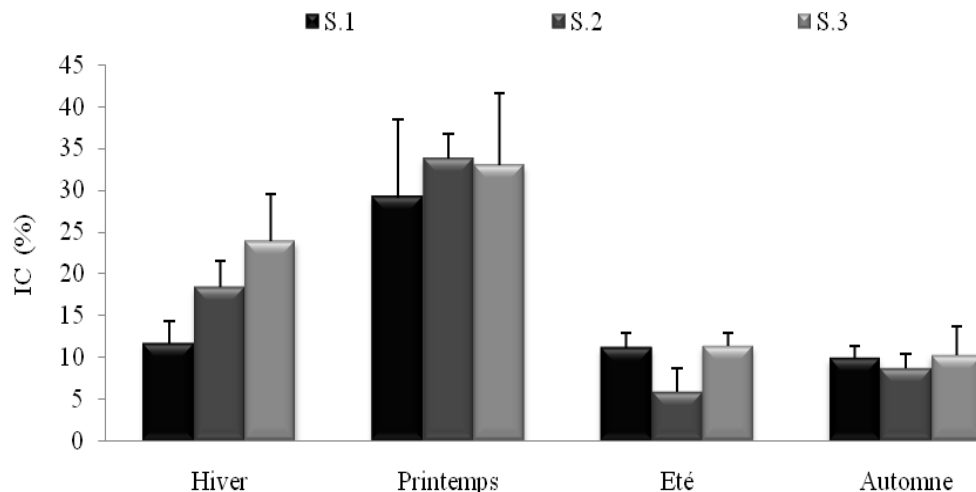


Figure 23 : Variation spatiotemporelle de l'IC (%) de l'oursin *Paracentrotus lividus* prélevé dans les trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; $n = 3$).

III.2.1.2. Indice gonadique

La variation de l'indice gonadique est représentée dans la **figure 24**, son évolution chez l'oursin *Paracentrotus lividus* au niveau des stations d'échantillonnage a indiqué que les valeurs les plus élevées ont été enregistrées au printemps et les valeurs les plus faibles ont marqué la période automnale.

L'application du test non paramétrique de Krustal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de l'IG de l'oursin *Paracentrotus lividus* peuplant le golfe d'Annaba, a révélé la présence de différences significatives entre les saisons ($p = 0,033$) et l'absence de différence significative entre les stations ($p = 0,472$).

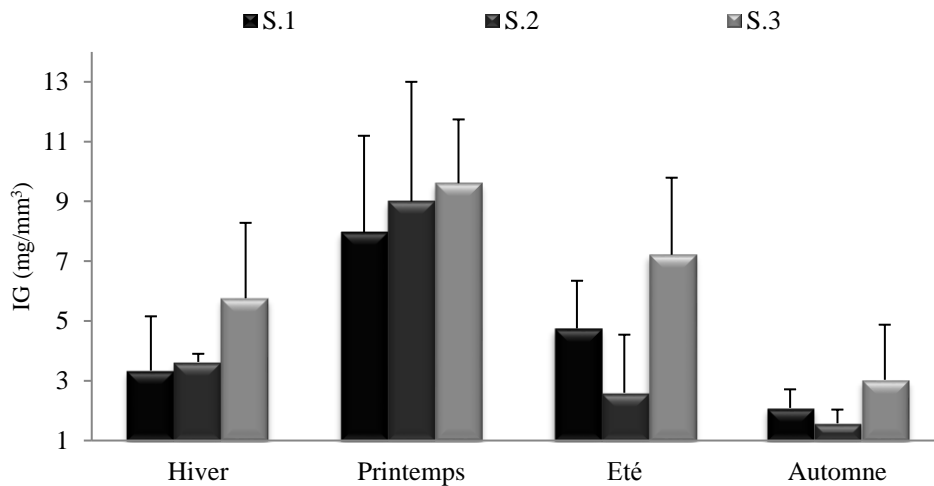


Figure 24 : Variation spatiotemporelle de l'IG (mg/cm^3) de l'oursin *Paracentrotus lividus* prélevé dans les trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; $n = 3$).

III.2.2. Biomarqueurs

III.2.2.1. Glutathion réduit

La variation de la concentration du glutathion réduit dans les gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* est indiquée au niveau de la **figure 25**. La concentration du GSH a été comprise entre $08,52 \pm 0,61$ et $191,32 \pm 3,41$ $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéines, les teneurs les plus faibles ont été retrouvées à la saison hivernale. À la saison printanière, nous avons remarqué que les teneurs ont atteint leur maximum.

L'application du test non paramétrique de Krustal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration du GSH dans les gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* peuplant le golfe d'Annaba, a révélé la présence de différences significatives entre les saisons ($p = 0,026$) et l'absence de différence significative entre les stations ($p = 0,437$).

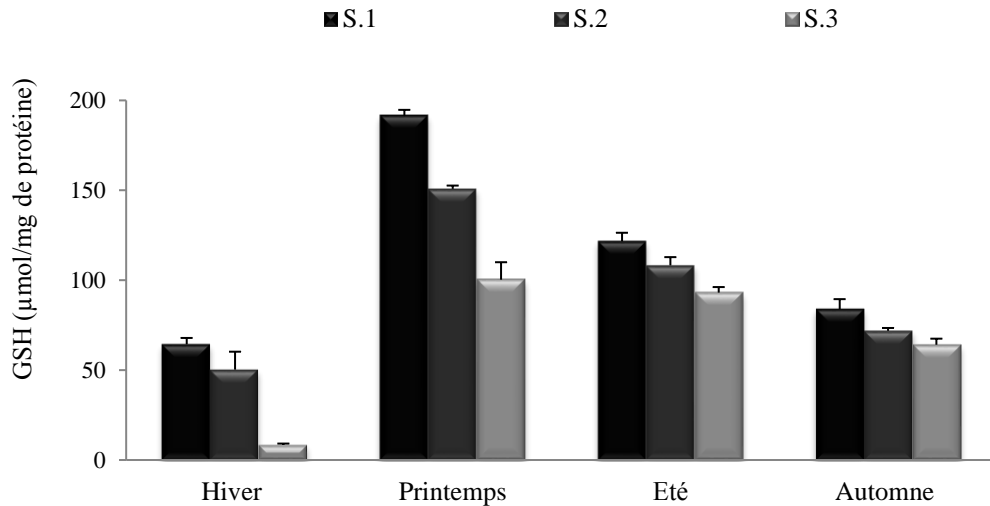


Figure 25 : Variation spatiotemporelle de la concentration du GSH ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine) au niveau des gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* prélevé les trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; $n = 3$).

III.2.2.2. Glutathion -S Transférase

La variation de l'activité spécifique de la GST des gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* est représentée dans la **figure 26**. Les activités les plus faibles ont été retrouvées en été au niveau de la station S.1 ($108,39 \pm 29,52 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), en revanche les valeurs les plus élevées ont été retrouvées en printemps ou le maximum a été noté au niveau de la station S.3 ($543,95 \pm 40,46 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

L'application du test non paramétrique de Krustal-Wallis relatif à la comparaison de la variation saisonnière de l'activité spécifique du GST dans les gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* peuplant le golfe d'Annaba, a révélé la présence de différences significatives entre les saisons ($p = 0,040$) et l'absence de différence significative entre les stations ($p = 0,334$).

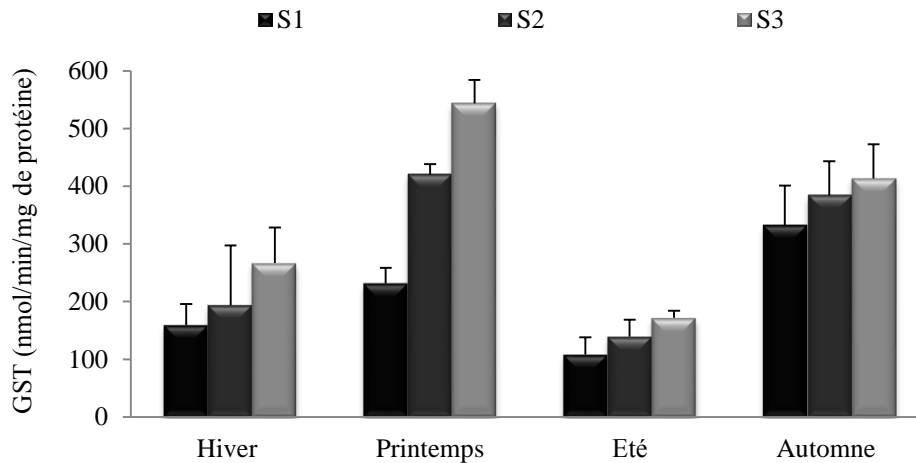


Figure 26 : Variation spatiotemporelle de l'activité spécifique du GST (nmol/min/mg de protéine) au niveau des gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* prélevé dans les trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).

III.2.2.3. Catalase

L'évolution de l'activité spécifique de la catalase lors de la période d'étude est représentée dans la **figure 27**, les valeurs les plus faibles ont été retrouvées en hiver au niveau de la station S.1 ($44,18 \pm 13,12$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), alors que la valeur maximale a été signalée à la saison printanière au niveau de la station S.3 ($460,65 \pm 52,77$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$).

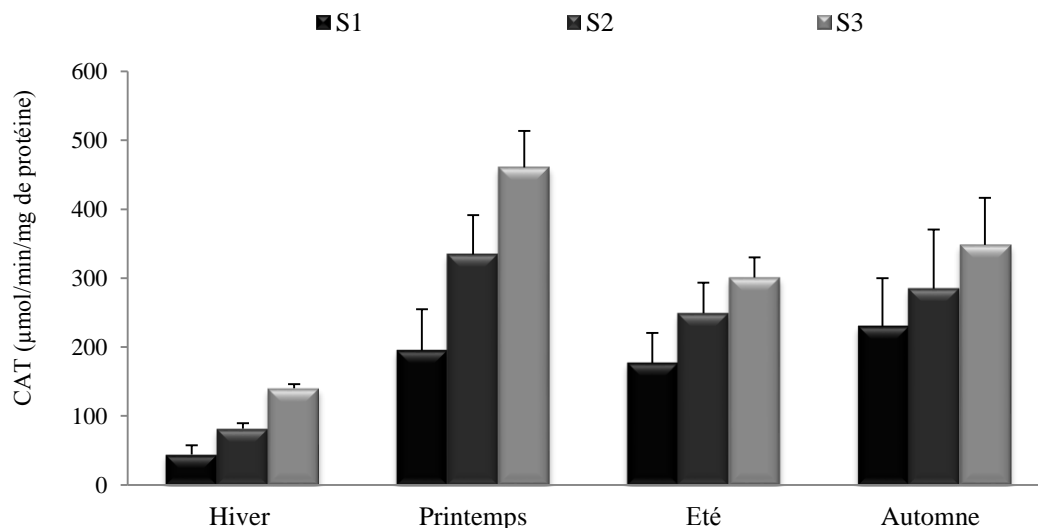


Figure 27 : Variation spatiotemporelle de l'activité spécifique de la CAT ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) au niveau des gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* prélevé dans les trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; n = 3).

L'application du test non paramétrique de Krustal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de l'activité spécifique de la catalase dans les gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* peuplant le golfe d'Annaba, a révélé l'absence de différences significatives entre les saisons ($p = 0,075$) et les stations ($p = 0,173$).

III.2.2.4. Acétylcholinestérase

L'évolution de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase dans les gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* est représentée dans la **figure 28**, l'AChE a indiqué une variation considérable au niveau des saisons, les valeurs les plus faibles ont été retrouvées durant la saison hivernale avec des valeurs de l'ordre de $13,77 \pm 2,27$; $9,74 \pm 6,98$ et $6,36 \pm 2,07$ nmol/min/mg de protéines au niveau des stations S.1, S.2 et S.3 respectivement. Quant au reste des saisons les activités ont été plus ou moins proches.

L'application du test non paramétrique de Krustal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de l'activité spécifique de l'AChE dans les gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* peuplant le golfe d'Annaba, a révélé l'absence de différences significatives entre les saisons ($p = 0,065$) et les stations ($p = 0,595$).

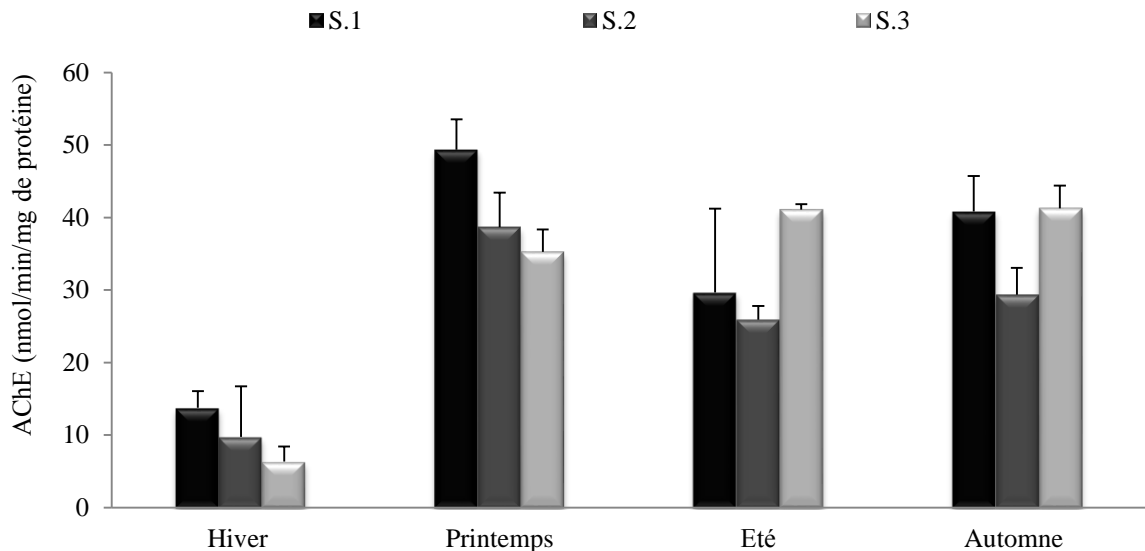


Figure 28: Variation spatiotemporelle de l'activité spécifique de l'AChE (nmol/min/mg de protéine) au niveau des gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* prélevé dans les trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; $n = 3$).

III.2.2.5. Malondialdéhyde

La variation de la concentration du malonedialdéhyde au niveau des gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* est comprise $24,59 \pm 3,35$ et $112,62 \pm 8,48$ mol/g de tissu (**Fig.29**). Les valeurs le plus élevées ont été retrouvées durant la saison hivernale synonyme d'une peroxydation lipidique intense. Toutefois, ce phénomène s'atténue au printemps avec des valeurs comprises de $24,59 \pm 3,35$ et $56,16 \pm 3,32$ mol/g de tissu

L'application du test non paramétrique de Krustal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de l'MDA dans les gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* peuplant le golfe d'Annaba, a révélé l'absence de différence significative entre les saisons ($p = 0,183$) et les stations ($p = 0,062$).

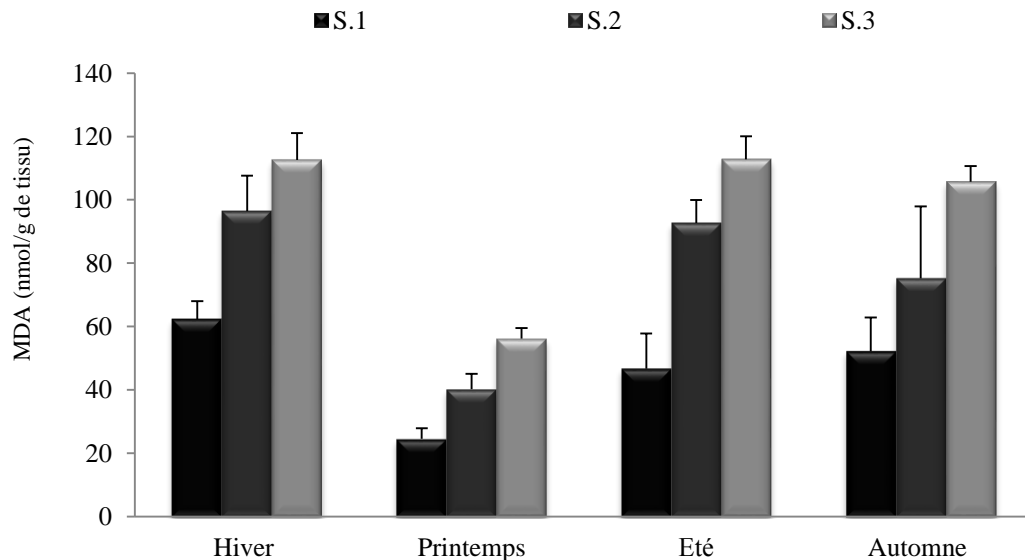


Figure 29 : Variation spatiotemporelle de la concentration du MDA (nmol/g de tissu) au niveau des gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* prélevé dans les trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; $n = 3$).

III.2.2.6. Méthallothionéine

La variation de la concentration de la méthallothionéine dans les gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* est représentée dans la **figure 30**. Des concentrations très élevées ont été retrouvées à la saison hivernale au niveau des stations S.2 ($938,43 \pm 14,16$ mol/g de tissu) et S.3 ($750,49 \pm 70,48$ mol/g de tissu), Toutefois à partir de la saison printanière nous avons remarqué une diminution considérable suivie d'une légère augmentation en automne.

L'application du test non paramétrique de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la MT dans les gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* peuplant le golfe d'Annaba, a révélé l'absence de différence significative entre les saisons ($p = 0,441$) et les stations ($p = 0,231$).

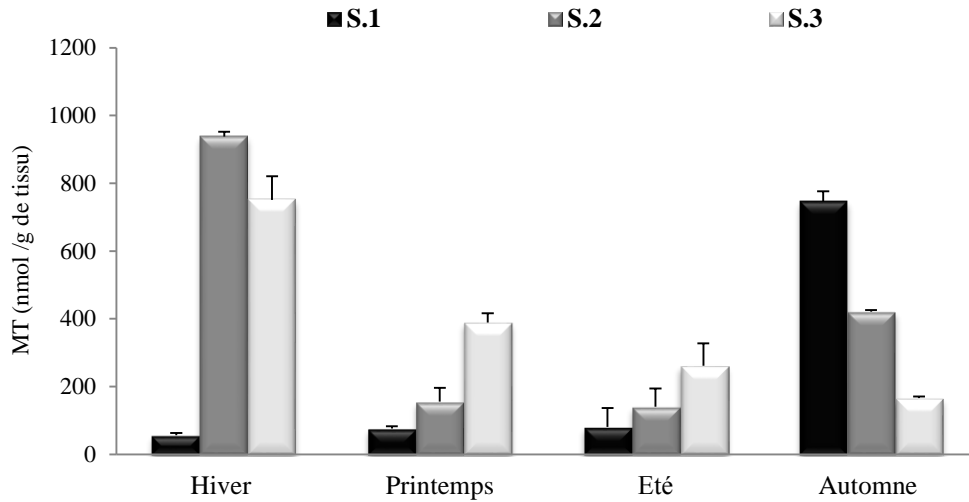


Figure 30 : Variation spatiotemporelle de la concentration de la MT (nmol/g de tissu) au niveau des gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* prélevé dans les trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012 (Moyenne \pm SD ; $n = 3$).

III.2.3. Niveau de pollution

La variation spatiotemporelle de l'indice de pollution multibiomarqueurs est indiquée dans le **tableau 20**. Les résultats obtenus ont indiqué que les valeurs les plus élevées ont été retrouvées au niveau de la station S.3 (MPI = 58) et les valeurs les plus faibles ont été retrouvées au niveau de la station S.1 (MPI = 14). La station S.2 a indiqué des MPI intermédiaires entre les deux stations précédentes. Pour la tendance temporelle, la saison hivernale et printanière ont eu les valeurs les plus élevées en MPI comparé à la saison automnale et estivale.

Le MPI est converti en cinq niveaux de pollution qui sont représentés sous forme de couleurs. Ces dernières sont rapportées respectivement dans la **figure 31**. Au cours de la période d'étude, le MPI est apparu relativement faible au niveau de la station S.1 avec une légère variation saisonnière (une couleur qui varie entre le bleu et le vert) ce qui permet de la classer entre non et peu pollué. Quant à la station S.2, la couleur a varié entre le jaune et l'orangé ce qui nous permet de la classer entre modérément et sensiblement pollué. Par

contre la station S.3, elle a présenté une couleur qui varie entre l'orangé et le rouge, ce qui nous permet de la classer entre sensiblement et fortement pollué.

Tableau 20 : Variation spatiotemporelle du MPI des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012.

Saison	Stations	Niveau de discrimination					MPI
		GST	CAT	MDA	MT	AchE	
Hiver	S.1	04	02	02	03	03	14
	S.2	04	07	07	12	12	42
	S.3	10	12	12	12	12	58
Printemps	S.1	04	03	03	03	03	16
	S.2	10	06	06	06	12	40
	S.3	10	12	12	12	12	58
Eté	S.1	03	03	03	03	12	24
	S.2	06	06	12	06	12	42
	S.3	12	12	12	12	03	51
Automne	S.1	03	03	03	12	04	25
	S.2	06	06	06	06	10	34
	S.3	10	12	12	03	04	41

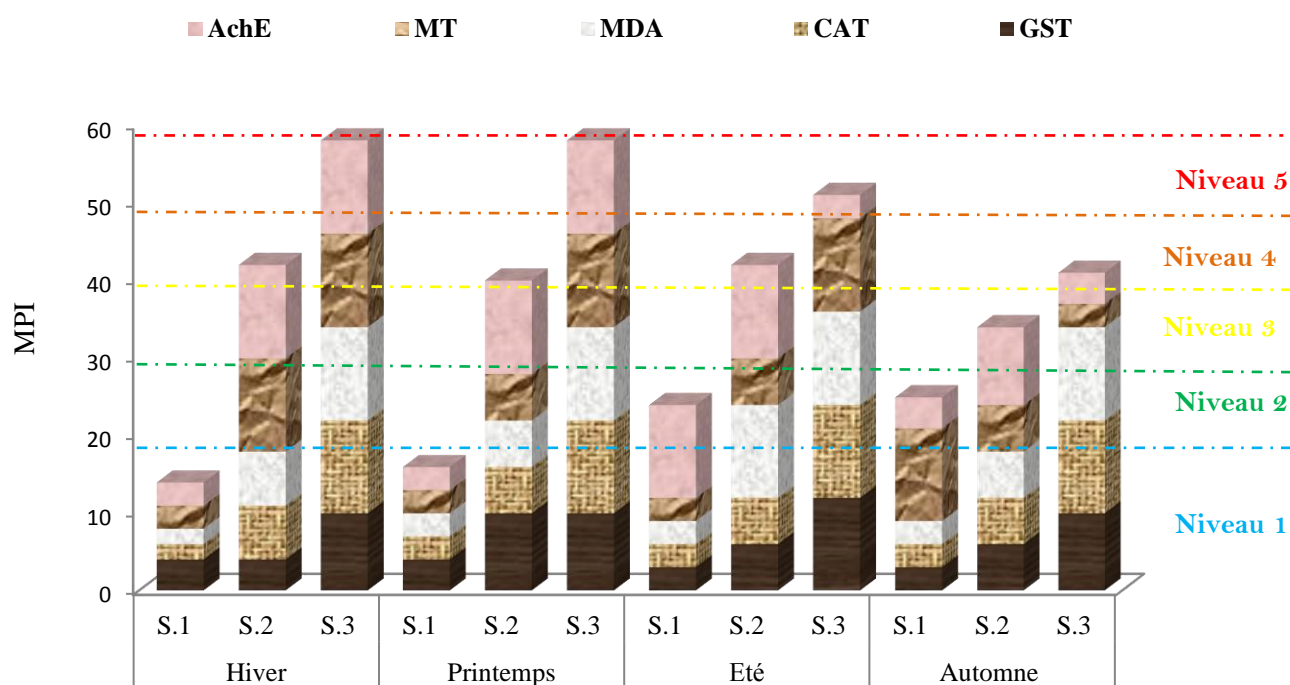


Figure 31 : Niveau de pollution des trois stations du golfe d'Annaba durant l'année 2012.

III.2.4. Analyse statistique

L'analyse statistique fera intervenir une synthèse de nombreuses données biotiques (le GSH, le GST, la CAT, l'AChE, le MDA, la MT et l'IG) et abiotiques (la température, le pH, l'oxygène dissous, la salinité, la turbidité, les nitrates, les nitrites, l'azote ammoniacal, les orthophosphates, le diuron, le nonylphénol, l'atrazine et le glyphosate). Le choix de ces paramètres est basé sur la littérature où plusieurs auteurs ont souligné l'influence de ces paramètres sur la variation des biomarqueurs au niveau des organismes aquatiques.

III.3.4.1. Variation intersaisons et interstations des paramètres biotiques

Cela a déjà été mentionné précédemment (chapitre III, §.III.2.), la comparaison non paramétrique entre les saisons, par l'application du test de Kruskal-Wallis, a révélé des différences significatives ($p < 0,05$) pour le GSH, le GST et l'IG. Ces résultats justifient la variation significative de ces paramètres biotiques d'une saison à l'autre au niveau du golfe d'Annaba. Toutefois la comparaison interstations n'a révélé aucune différence significative ($p > 0,05$) pour l'ensemble des paramètres.

III.2.4.2. Analyse en composantes principales

L'utilisation de l'analyse en composantes principales (ACP) comme une approche descriptive préliminaire et exploratoire a permis de visualiser la structuration de la variation temporelle et spatiale au niveau du golfe d'Annaba en fonction de vingt variables biotiques et abiotiques (la température, le pH, la salinité, l'oxygène dissous, la turbidité, les nitrates, les nitrites, l'azote ammoniacal, l'orthophosphate, le diuron, l'atrazine, le nonylphénol, le glyphosate, le GSH, le GST, la CAT, l'AChE, le MDA, la MT et l'IG). L'ACP nous a permis aussi de rechercher l'existence d'éventuelles similitudes entre les différentes saisons et stations. Elle a été réalisée sur des données centrées réduites (ACP normée).

III.2.4.2.1. Variation intersaisons des paramètres biotiques et abiotiques

Les deux premières composantes principales (plan : 1 et 2) de l'ACP réalisée sur vingt variables biotiques et abiotiques a restitué près 82,96 % de l'information (**Fig.32**), afin de faciliter la lecture nous avons utilisé des abréviations pour certains paramètres (T : température, S : salinité, Atz : atrazine, Gly : glyphosate, Di : diuron, Tu : turbidité et OD : oxygène dissous).

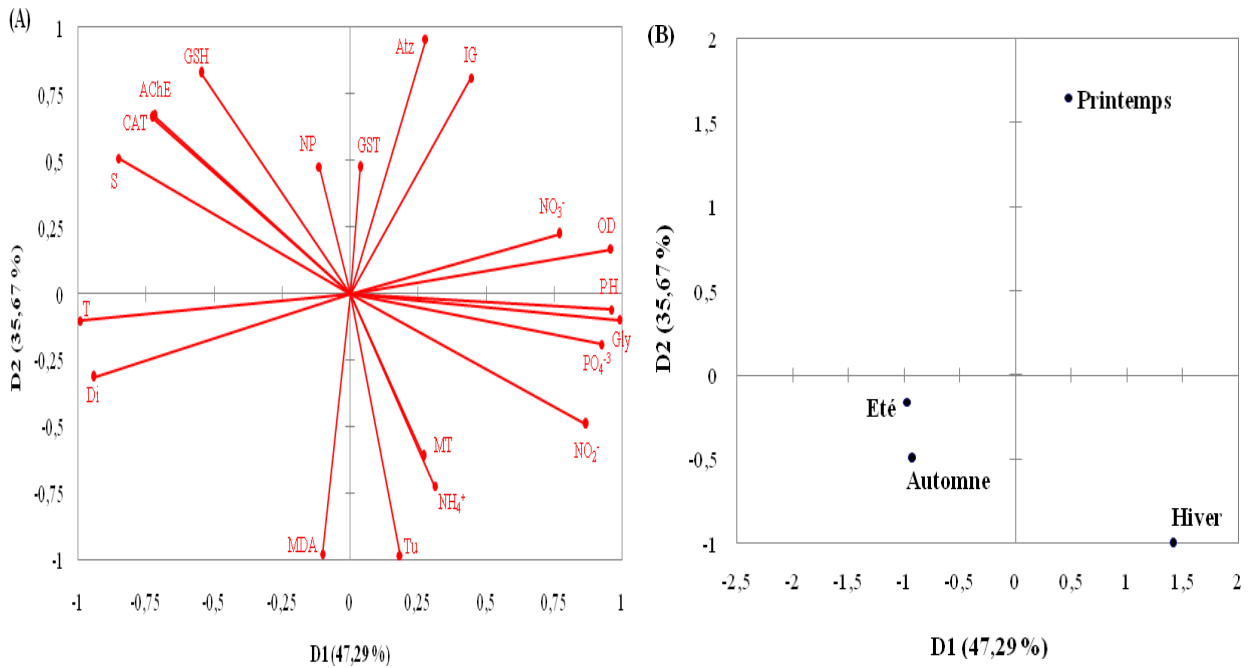


Figure 32 : Analyse en composantes principales basée sur la variation saisonnière au niveau du golfe d'Annaba (2012). (Plan factoriel (1,2), axe 1 : 82,96 %, axe 2 : 35,67 %). (A) : Cercle de corrélation des variables biotiques et abiotiques avec les deux premiers axes principaux. (B) : Projection des saisons sur les 2 premiers axes principaux).

L'axe 1 a permis d'expliquer 47,29 % de la variabilité totale; cet axe est corrélé avec les variables glyphosate ($r = 0,99$; $\cos^2 = 0,98$) et température ($r = -0,99$; $\cos^2 = 0,98$) qui ont contribué d'une façon importante à sa construction, sans oublier les autres corrélations notées avec les variables : pH ($r = 0,96$; $\cos^2 = 0,92$), oxygène dissous ($r = 0,95$; $\cos^2 = 0,91$), diuron ($r = -0,94$; $\cos^2 = 0,88$), orthophosphate ($r = 0,92$; $\cos^2 = 0,85$), nitrite ($r = 0,86$; $\cos^2 = 0,75$), salinité ($r = -0,85$; $\cos^2 = 0,72$), nitrate ($r = 0,76$; $\cos^2 = 0,59$), AchE ($r = -0,72$; $\cos^2 = 0,52$) et catalase ($r = -0,71$; $\cos^2 = 0,51$) qui ont contribué eux aussi d'une façon moins importante à la construction de cet axe. Donc l'axe 1, permet de visualiser une nette différence entre le groupe des saisons chaudes (été et automne) et celle des saisons froides (hiver et printemps), cette structuration plus ou moins saisonnière pourrait être expliquée par les fortes corrélations positives citées précédemment.

Par ailleurs, l'axe 2 a expliqué 35,67 % de la variation totale, cet axe nous a permis de dégager la spécificité de la saison printanière par rapport aux autres saisons, du fait qu'il est construit essentiellement par les variables : turbidité ($r = -0,98$; $\cos^2 = 0,96$), le MDA ($r = -0,97$; $\cos^2 = 0,59$), l'atrazine ($r = 0,95$; $\cos^2 = 0,91$), le GSH ($r = 0,82$; $\cos^2 = 0,68$), l'IG ($r = 0,81$; $\cos^2 = 0,65$) et à un moindre degré avec l'azote ammoniacal

($r = -0,72$; $\cos^2 = 0,52$), la MT ($r = -0,61$; $\cos^2 = 0,37$), le nonylphénol ($r = 0,47$; $\cos^2 = 0,22$) et le GST ($r = 0,47$; $\cos^2 = 0,22$). Donc l'axe 2, a permis de distinguer une nette différence entre la saison de reproduction (printemps) et les autres saisons, cette structuration plus ou moins saisonnière pourrait être expliquée par les fortes corrélations positives citées précédemment.

III.2.4.2.2. Variation interstations des paramètres biotiques et abiotiques

Les résultats de l'ACP réalisée sur les mêmes variables biotiques et abiotiques ont indiqué une variation interstations au niveau du golfe d'Annaba (**Fig.33**), afin de faciliter la lecture nous avons utilisé des abréviations pour certains paramètres (T : température, S : salinité, Atz : atrazine, Gly : glyphosate, Di : diuron, Tu : turbidité et OD : oxygène dissous).

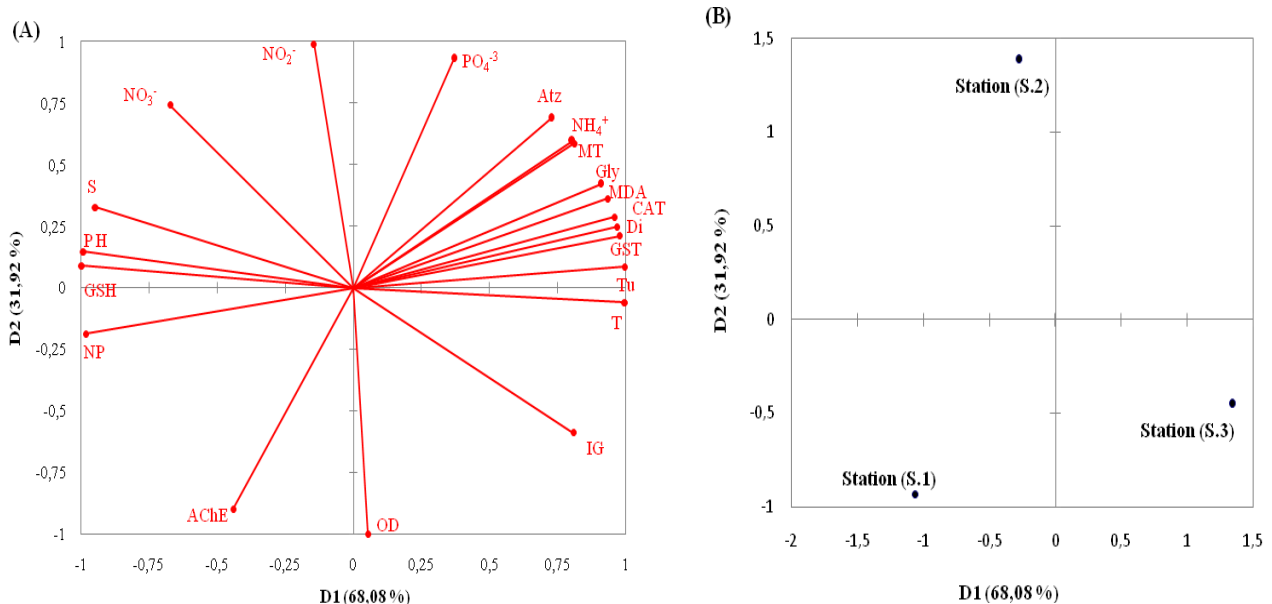


Figure 33 : Analyse en composantes principales basée sur la variation spatiale au niveau du golfe d'Annaba (2012). (Plan factoriel (1,2), axe 1 : 68,08 %, axe 2 : 31,92 %. (A) : Cercle de corrélation des variables biotiques et abiotiques avec les deux premiers axes principaux. (B) : Projection des saisons sur les 2 premiers axes principaux).

Le plan factoriel des deux premiers axes principaux présente clairement une variation interstations, dont les deux axes ont expliqué ensemble 100 % de cette variation totale. Le premier axe a expliqué 68,08 % de la variation totale; il est corrélé positivement avec la température ($r = 0,99$; $\cos^2 = 0,99$), la turbidité ($r = 0,99$; $\cos^2 = 0,99$), le diuron ($r = 0,97$; $\cos^2 = 0,95$), le GST ($r = 0,96$; $\cos^2 = 0,93$), la CAT ($r = 0,95$; $\cos^2 = 0,91$),

l'MDA ($r = 0,93$; $\cos^2 = 0,87$), la MT ($r = 0,81$; $\cos^2 = 0,65$), l'AChE ($r = 0,80$; $\cos^2 = 0,65$), NH_4^+ ($r = 0,80$; $\cos^2 = 0,64$) et négativement avec le GSH ($r = -0,99$; $\cos^2 = 0,99$), le pH ($r = -0,98$; $\cos^2 = 0,97$), le nonylphénol ($r = -0,98$; $\cos^2 = 0,96$), la salinité ($r = -0,94$; $\cos^2 = 0,89$). Ce premier axe a permis de séparer les 3 stations.

Quant au deuxième axe, il a expliqué juste 31,92 % de la variation totale ; cet axe est construit essentiellement par les variables : l'oxygène dissous ($r = -0,99$; $\cos^2 = 0,99$), les nitrites ($r = 0,98$; $\cos^2 = 0,97$), l'orthophosphate ($r = 0,92$; $\cos^2 = 0,86$), l'AChE ($r = -0,89$; $\cos^2 = 0,80$) et le nitrate ($r = -0,74$; $\cos^2 = 0,54$) ; de même cet axe nous a permis de distinguer entre les 3 stations.

III.2.4.3. Classification ascendante hiérarchique de la variation intersaisons et interstations

L'analyse du dendrogramme basée sur les distances euclidiennes entre les saisons au niveau du golfe d'Annaba est représentée dans la **figure 34**.

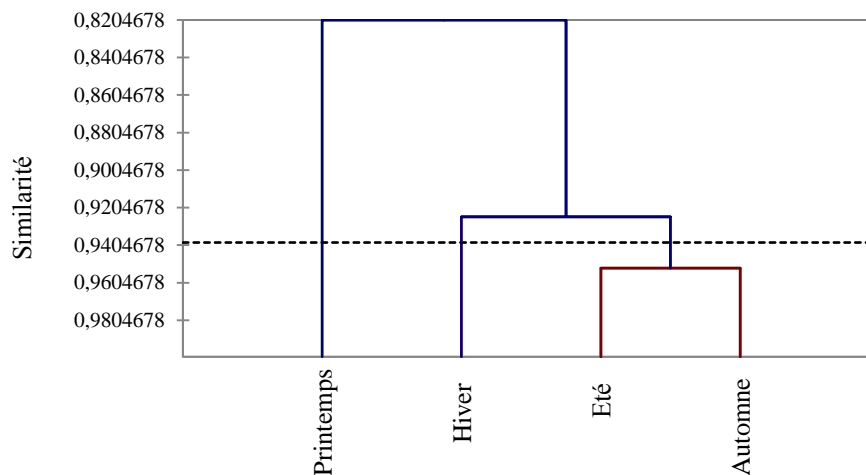


Figure 34 : Classification ascendante hiérarchique de la variabilité intersaisons selon la variation des paramètres biotiques et abiotiques du golfe d'Annaba durant l'année 2012.

En général, la typologie des dendrogrammes obtenus par l'CAH concorde avec les plans factoriels des ACP sur la variation des paramètres biotiques et abiotiques et sur la structuration de la variation intersaisons et interstations au niveau du golfe d'Annaba. L'CAH de la variabilité intersaison montre qu'il existe des divergences entre les saisons par rapport à la variation de l'ensemble des paramètres biotiques et abiotiques mesurés et dosés. Nous pouvons discriminer 3 clusters plus ou moins homogènes. Le 1^{er} cluster

regroupe les saisons chaudes (l'été et l'automne), il se caractérise par les plus faibles teneurs en biomarqueurs. Le 2^{èmes} cluster est composé par la saison hivernale, il se caractérise par une forte expression des paramètres du stress oxydatif et enfin le 3^{èmes} cluster regroupe la saison printanière caractérisée par la période de gamétogenèse de l'oursin *Paracentrotus lividus*.

La **figure 35** montre le dendrogramme issu de la CAH basée sur la variation interstations des paramètres biotiques et abiotiques. L'examen de ce dendrogramme indique l'existence de 3 clusters. Le premier cluster englobe la station S.1 caractérisée par une qualité biologique et physicochimique très différente de celle des eaux des autres stations, ces eaux sont moins chargées et moins polluées que celles des autres stations. Le deuxième cluster est constitué de la station S.2 qui se situe à proximité des rejets urbains, le troisième cluster est constitué par la station S.3 qui se situe à proximité des rejets urbains et industriels ainsi que les rejets des oueds.

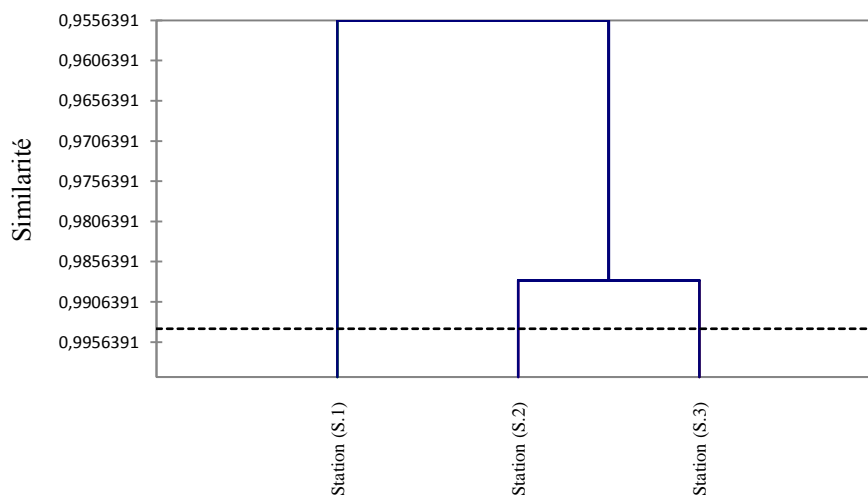


Figure 35 : Classification ascendante hiérarchique de la variabilité interstations selon la variation des paramètres biotiques et abiotiques du golfe d'Annaba durant l'année 2012.

III.3. Discussion

III.3.1. Indices physiologiques

L'indice de condition est un indicateur de l'état physiologique des individus (**Bodoy et al., 1980 ; Lucas et Beninger, 1985**) il donne une idée sur la santé des individus (**Ansell et Lagardere, 1980**). Au niveau des stations d'échantillonnage, l'indice de condition a

indiqué un changement saisonnier assez prononcé, son augmentation à la saison printanière peut être expliquée par l'hypertrophie des gonades et le stockage des nutriments. Les résultats de **Lawrence et Guille (1982)** ; **Fernandez (1998)** ; **McClintock et Pearse (1987)** ont indiqué que la composition biochimique des gonades varie selon les saisons. Aussi **McQuaid et Lawrie (2005)** ont expliqué l'augmentation de l'indice de condition par la maturation des gonades et l'accumulation de réserves. De même **Spirlet et al. (1998)** ont démontré l'existence d'une relation entre la période de reproduction chez les échinoïdes et la période de stockage des éléments nutritifs. Cependant sa diminution indiquerait l'émission des gamètes (**Lasiak et Barnard, 1995**) et l'atrophie des gonades (**Byrne, 1990**).

Nos résultats ont également révélé que la densité des individus diffère d'une station à l'autre, certainement cela est étroitement liée à la qualité des eaux des stations d'échantillonnage, cela a aussi été démontré dans les travaux de **Epherra et al. (2015)**. Toutefois si la pollution n'a aucun effet sur la densité des individus, on ne peut pas négliger son effet sur la qualité des gamètes et l'apparition des anomalies larvaires dans les populations d'oursins comme l'ont précédemment démontrées **Soualili et al. (2008)** ; **Soualili et Guillou (2009)**.

L'étude du cycle de reproduction de l'oursin *Paracentrotus lividus* peut être étudiée via la détermination de l'indice gonadique, ce dernier permet d'indiquer des fluctuations de la taille des gonades et la période de ponte (**Shpigel et al., 2004** ; **Gianguzza et al., 2013**), il se rapporte au potentiel de reproduction de l'individu (**Brewin et al., 2000**). Les résultats obtenus démontrent une variation temporelle considérable d'IG au niveau des stations d'échantillonnage, cette dernière est en raison des facteurs extrinsèques de l'environnement (**Sellem et Guillou, 2007**), telle que le changement saisonnier, la température de l'eau, la floraison phytoplanctonique (**Ouréns et al., 2011** ; **Zhadan et al., 2015**), la disponibilité alimentaire (**Brady et Scheibling, 2006**) ainsi que les conditions hydrodynamiques qui peuvent influencer le cycle de reproduction et la fécondité des populations (**Guettaf et al., 2000** ; **Gianguzza et al., 2013**). D'après **Régis (1979)** ; **Byrne (1990)** le développement des organes reproducteurs peut aussi être influencé par des facteurs abiotiques tel que la profondeur et la photopériode.

La variation de l'IG est en relation avec le taux de maturation des gonades, les valeurs élevées indiquent que les gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* sont au stade de maturation génitale et les valeurs les plus faibles représentent la période de ponte (**Schmidt et al., 2013**). En méditerranée le déclenchement de l'émission des gamètes dans le milieu est déterminé par la température de l'eau, **Fenaux (1968)** a signalé que les températures des mois les plus froids de l'hiver exercent un effet inhibiteur sur le déclenchement de l'émissions des gamètes, ce constat nous a permis de déduire suite aux résultats obtenus que l'oursin *Paracentrotus lividus* peuplant le golfe d'Annaba se reproduit à la saison printanière. Nos résultats sont cohérents avec ceux déjà retrouvés par **Amri et al. (2017)** dans le Sud-Est de la mer Méditerranée ; **Guettaf et al. (2000)** dans le Sud-Ouest de la mer Méditerranée ; **Lozano et al. (1995)** dans le Nord-Ouest de la mer Méditerranée et **Bayed et al. (2005)** au Nord de la côte Atlantique marocaine.

III.3.2. Biomarqueurs

Le glutathion réduit est impliqué dans le métabolisme de la phase II, il joue un rôle crucial dans la protection des cellules contre les espèces réactives de l'oxygène principalement par le biais de la GST et la GPx (**Anderson, 1997**), une déficience en GSH expose les cellules à un risque de dommage oxydatif (**Droge, 2002**). La faible quantité de GSH retrouvé en hiver peut être expliquée par l'effet combiné des pesticides et autres des paramètres environnementaux. Ces observations en adéquation avec les études antérieures réalisées par **Benali et al. (2015)** ; **Contardo-Jara et al. (2009)** ; **Gluszczak et al. (2007)** ; **Leiniö et Lehtonen (2005)** qui ont indiqué que ces derniers peuvent stimuler l'expression des différents biomarqueurs.

En effet, le GSH est un antioxydant dont le rôle devrait contribuer à la protection de l'animal, la conjugaison des polluants aux groupements thiols du GSH permettrait éventuellement de prévenir des dommages cellulaires (**Bourbia-Ait Hamlet, 2013**). Les travaux de **Suteau et al. (1988)** ; **Regoli et Principato (1995)** ont indiqué une diminution du taux du GSH comme réponse générale des mollusques bivalves exposés aux contaminants. Pareillement **Salama et al. (2005)** ont observé une diminution significative de ce tripeptide chez les gastéropodes après traitement aux pesticides.

L'augmentation significative du GSH à la saison printanière coïncide avec la période de reproduction, ces données soulignent l'importance du glutathion dans le processus de défense antioxydant, le métabolisme du glutathion a pour rôle de protéger les gonades

contre le stress oxydatif ciblant la gamétogenèse (**Cantú-Medellín et al., 2009**). Il semblerait que l'état physiologique de l'oursin *Paracentrotus lividus* soit fortement perturbé et vulnérable pendant la période de reproduction. En effet le cycle de reproduction semble avoir une incidence sur leur capacité défensive. **Delaporte et al. (2006)** ont démontré que la concentration des hémocytes en circulation diminue pendant la gamétogenèse. En outre, leur activité phagocytaire et leur capacité d'adhérence sont inhibées pendant cette période avec l'implication possible des enzymes de reproduction dans ces phénomènes. Ainsi, pour faire face aux conditions de stress, les organismes aquatiques ont développé un processus adaptatif en maintenant leurs systèmes antioxydants à des niveaux élevés (**Wilhelm-Filho et al., 2005**). Ces résultats corroborent les travaux de **Solé et al. (1995)** chez la moule *Mytilus galloprovincialis* où la ponte a entraîné une augmentation du système antioxydant suivie d'une diminution progressive malgré la disponibilité de la nourriture et l'augmentation de la température.

Les résultats obtenus ont indiqué que l'état de stress oxydatif est également un phénomène saisonnier ; l'impact des facteurs environnementaux sur l'activité enzymatique a été rapporté dans de nombreuses études (**Barda et al., 2014 ; Madeira et al., 2015**). L'hiver est une période où le stress oxydatif est important (**Manduzio et al., 2004**) puisque les pluies intenses peuvent augmenter le drainage des sols agricole, ce qui augmente l'impact des pesticides et des engrais (**Caricato et al., 2010**), qui ont une incidence majeure sur la physiologie des animaux. Cependant, les niveaux élevés des enzymes antioxydantes observés au printemps peuvent être expliqués par la période de reproduction, cette dernière est une fonction essentielle qui nécessite une importante demande en énergie, et qui sera satisfaite par une augmentation globale du métabolisme (**Angilletta et Sears, 2000 ; Zera et Harshman, 2001 ; Nilsson, 2002**), l'augmentation du métabolisme est associée à une augmentation de la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (**Moore et Jessop, 2003**). De ce fait, le coût de la reproduction pourrait être associé à une susceptibilité au stress oxydant, toutefois très peu d'études ont été menées à ce sujet et ont mis en relation le stress oxydant et la reproduction (**Salmon et al., 2001 ; Wang et al., 2001 ; Wiersma et al., 2004 ; Alonso-Alvarez et al., 2006**).

Aussi **Lemée et al. (1996) ; Box et al. (2008)** ont expliqué l'augmentation des enzymes antioxydantes au printemps par l'apparition concurrente d'algues qui synthétisent des métabolites secondaires toxiques ou répulsifs considérés comme une source possible des ROS chez les organismes marins. De même **Tejada et al. (2013)** ont indiqué que

les activités enzymatiques antioxydantes ont considérablement augmenté chez l'oursin *Paracentrotus lividus* nourri avec ces algues.

La glutathion - S transférase est une enzyme intracellulaire à large spécificité de substrat (Adewale et Afolayan, 2005), elle joue un rôle crucial dans la protection cellulaire contre les composés toxiques. Elle a été utilisée comme biomarqueur d'exposition à des composés anthropiques (Di Giulio *et al.*, 1993 ; Fitzpatrick *et al.*, 1997 ; Park *et al.*, 2009), catalysant l'addition de nucléophiles de la fonction thiol du glutathion réduit à une large gamme de composés électrophiles comme les pesticides et les métaux lourds (Hazarika et Sarkar, 2001 ; Callaghan *et al.*, 2002). Le produit conjugué peut ensuite être excrété directement, ou subir d'autres réactions de métabolisation pour être transformé en acide mercapturique (Habig *et al.*, 1974). Cette enzyme est très sensible aux variations de l'environnement (Gravato *et al.*, 2005 ; Pinho *et al.*, 2005 ; Yin *et al.*, 2007 ; Bouzenda *et al.*, 2017), elle peut être induite par différents xénobiotiques (Buhler et Williams, 1988 ; Zhang *et al.*, 1990 ; Pinkus *et al.*, 1993), chez les invertébrés, l'induction de l'activité de la GST est dépendante de la concentration et de la nature des xénobiotiques dans l'eau de mer (LeBlanc et Cochrane, 1985 ; Stein *et al.*, 1998 ; Boutet *et al.*, 2004). Toutefois cette induction est souvent faible et les résultats contradictoires ou négatifs n'étant pas rares.

L'augmentation de l'activité enzymatique de la GST observée suggère une activation du processus de détoxification qui reflète probablement l'état de stress élevé (Louiz *et al.*, 2016), des résultats similaires ont été retrouvés chez l'oursin *Paracentrotus lividus* exposé à des hydrocarbures aromatiques polycycliques (Cunha *et al.*, 2005). L'induction de cette enzyme indiquerait une conjugaison des xénobiotiques avec le GSH et de ce fait, une activation possible du système de défenses antioxydants. De plus, nous constatons que les niveaux d'activité enzymatique ont diminué en été. Une faible réponse de la GST peut être due aux conditions d'acclimatation à l'habitat ou bien les niveaux de toxicité auxquels l'oursin est exposé ne sont pas suffisamment élevés pour obtenir une réponse significative (Wepender *et al.*, 2008).

Aussi Tejada *et al.* (2013) ont indiqué que l'exposition de l'oursin *Paracentrotus lividus* aux algues exotiques productrices de métabolites toxiques induits une augmentation significative de la GST par rapport aux oursins nourris avec *Posidonia oceanica*.

De nombreux scientifiques considèrent la catalase comme un biomarqueur sensible et important du stress oxydatif, elle révèle les effets biologiques de l'état redox des organismes

marins (**Regoli et al., 2002a**). Son importance biologique est plus évidente à partir de diverses études en raison du fait que l' H_2O_2 est le principal précurseur cellulaire du HO^\bullet qui est une forme hautement réactive et toxique des ROS; l'élimination du H_2O_2 est une stratégie clé des organismes marins contre le stress oxydatif (**Regoli et al., 2002b**).

L'activité enzymatique de la catalase serait très sensible aux facteurs environnementaux d'origine anthropique ou naturelle (**Pellerin-Massicotte, 1994**), elle est sensible à certains contaminants inducteurs de stress oxydatif comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les polychlorobiphényles, les pesticides (**Livingstone, 1993**) et les métaux lourds (**Labrot et al., 1996**). Cependant, les résultats sont parfois contradictoires *in vivo*, certains auteurs montrent une induction de l'activité (**Di Giulio et al., 1993, 1989**), d'autres une inhibition (**Labrot et al., 1996**). Nos résultats obtenus ont indiqué une faible activité de la CAT à la saison hivernale malgré les conditions défavorables, ce qui peut être expliqué comme une réponse transitoire contre la pollution (**Regoli et Principato, 1995**) avant l'apparition d'un effet compensatoire (**Regoli et al., 1998**).

L'augmentation de l'activité de la CAT a été signalée dans plusieurs espèces d'invertébrés (**Stephensen et al., 2000**) exposés à des polluants organiques (**Rodriguez-Ariza et al., 1993 ; Cossu et al., 1997b**). Cependant **Pellerin-Massicotte et al. (1997)** ont observé une induction de l'activité catalase dans un endroit non pollué qui pourrait être dû à un stress physiologique relatif à la répétition de la ponte. Selon ces auteurs, la catalase pourrait être sensible à des variations subtiles des conditions environnementales. Chez *Paracentrotus lividus* l'induction de l'activité de la CAT est obtenue à partir de la saison printanière, il semblerait que l'activité des enzymes antioxydantes s'intensifie dans les gonades de l'oursin *Paracentrotus lividus* probablement due à une réponse à la production élevée des ROS en raison d'une forte demande énergétique associée à un investissement reproductif élevé (**Kraffe et al., 2008 ; Gonzalez et al., 2005**).

L'acétylcholinestérase est un biomarqueur enzymatique de neurotoxicité (**Mora et al., 1999**), elle est utilisée comme biomarqueurs spécifiques d'exposition aux pesticides (**Romero et al., 1989 ; McHenery et al., 1997 ; Lundebye et al., 1997 ; Hamza-Chaffai et al., 1998 ; Owen et al., 2002 ; Laguerre et al., 2009 ; Mazzia et al., 2011**), aux métaux lourds (**Dethloff et al., 1999 ; Brown et al., 2004**), aux hydrocarbures aromatiques polycycliques et leurs dérivés (**Den Besten et al., 2001 ; Moreira et al., 2004**). L'ACHé a été utilisée comme indicateur de la réponse biologique suite à une exposition à la pollution (**Bocquené**

et Galgani, 1998 ; Kawashima et Fujii, 2000) chez des invertébrés marins (Carpenter *et al.*, 1977 ; Weiss *et al.*, 1993 ; Balint *et al.*, 1997 ; Den Besten *et al.*, 2001).

La variation de l'ACHé au niveau des stations d'échantillonnage reflètent une exposition environnementale aux pesticides, ainsi qu'aux changements biochimiques ou physiologiques associés à la maturation des gonades et la ponte (Manuel, 2001) de cette espèce qui se produit au printemps selon les résultats d'Amri *et al.* (2017) réalisé dans la même période d'étude. Selon les résultats obtenus de l'ACHé, les valeurs les plus élevées ont été observées au printemps, ces observations sont en accord avec ceux rapportés par Bensouda et Soltani-Mazouni (2014) ; Boumazza (2014) réalisé dans la même zone d'étude sur un bivalve (*Donax trunculus*) et un gastéropode (*Patella caerulea*). Cependant une inhibition de l'activité a été retrouvée en hiver pour les 3 stations, cette inhibition provoque un affaiblissement physiologique important chez les organismes marins (Dauberschmidt *et al.*, 1997 ; Ozmen *et al.*, 1998).

Des expériences menées au laboratoire et sur terrain chez l'oursin *Paracentrotus lividus* ont indiqué la sensibilité de l'ACHé à la pollution (Matranga *et al.*, 2000). Alors que Angelini *et al.* (2003) ont indiqué que l'activité de l'ACHé dépend de la température environnementale, une baisse de cette dernière induit une inhibition de l'ACHé chez les invertébrés (Hogan, 1970 ; Bocquené et Galgani, 1998). Cependant Scaps et Borot (2000) ont démontré que l'activité de l'ACHé a tendance à diminuer quand la température augmente chez les invertébrés marins. Au contraire les résultats obtenus sur l'oursin *Paracentrotus lividus* ont démontré que lors des températures froides, on assiste à une baisse de l'activité de l'ACHé sont les plus faibles. À cela s'ajoute le facteur de la salinité, d'après les travaux de Stein *et al.* (1998) ; Roméo *et al.* (2003), la salinité a un plus grand effet sur l'activité d'ACHé comparativement à la température (Damiens *et al.*, 2004).

L'inhibition de l'ACHé peut être à l'origine de la présence de pesticides et /ou de métaux lourds dans l'eau (Aarab, 2004). D'après les résultats obtenus par le dosage de l'ACHé, les stations S.3 et S.2 ont présenté les plus faibles valeurs, ceci est probablement lié à la location de ces stations à proximité des sources polluantes.

Le déséquilibre entre la production et l'élimination des ROS peut donner lieu à un stress oxydant et par la suite conduire à une lipoperoxydation (Sun *et al.*, 2008), le MDA est le produit final de la LPO (Pompella *et al.*, 1987) qui est souvent utilisé comme un biomarqueur pour évaluer le degré du stress oxydatif résultant des xénobiotiques organiques et inorganiques. L'MDA est un agent alkylant puissant capable de réagir avec

les macromolécules biologiques, le dosage de ce composé présente un intérêt chez les animaux soumis à des contaminations multiples (**Viarengo et al., 1990 ; Narbonne et al., 1991 ; Pellerin-Massicotte, 1994**), son accumulation est étroitement liée au stress oxydatif (**Shi et al., 2005**).

Dans la présente étude, l'oursin a indiqué une réponse considérable des biomarqueurs de défense antioxydant, mais sans effets significatifs sur la peroxydation lipidique pendant la période d'étude. Des résultats similaires ont été obtenus par **Freitas et al. (2012)** ou les activités enzymatiques et les niveaux de la peroxydation lipidique de *Diopatra neapolitana* ne reflétait pas la contamination métallique du sédiment, car d'autres facteurs tels que la disponibilité alimentaire, l'état de reproduction et l'intensité respiratoire pourraient également modifier l'état de la peroxydation lipidique (**Geracitano et al., 2004**). Au printemps, les faibles teneurs en MDA peuvent refléter une activité réduite ou une action plus efficace du système antioxydant, en particulier des enzymes antioxydantes (**Braghirolli et al., 2016**). De nombreuses études ont rapporté que les oursins possèdent une activité antioxydante significative (**Sheean et al., 2007 ; Qin et al., 2011**), ce qui indique que la capacité antioxydante des gonades de l'oursin était suffisante pour faire face à la production potentielle de ROS induite par une forte demande énergétique au cours de la reproduction. Ces résultats corroborent ceux obtenus par (**Béguel et al., 2013**) chez *Crassostrea gigas* ou l'investissement reproducteur n'est pas suffisant à lui seul pour induire un stress oxydant dans la gonade.

Il a été démontré que la métallothionéine participe directement aux défenses antioxydantes et peut être induite par certaines espèces réactives d'oxygène (**Davies et Cousins, 2000**). Selon **Mosleh et al. (2007)** elle peut agir comme piègeurs de radicaux libres dans la cellule. L'exposition des organismes aquatiques aux métaux lourds peut induire la synthèse de cette protéine, de nombreuses études ont démontré une forte expression de la MT lorsque les organismes étaient exposés à une contamination métallique (**Linde-Arias et al., 2008 ; Maria et al., 2009**). L'induction de la synthèse de la MT et sa capacité à séquestrer les métaux lourds sont deux paramètres qui ont acquiescé son utilisation en tant que biomarqueur (**Davies et Cousins, 2000 ; Barka et al., 2001**) pour la surveillance de la pollution (**Mourgaud et al., 2002 ; Amiard et al., 2006 ; Kalman et al., 2006**). Toutefois **Eck et Pallauf (1999) ; Paris-Palacios et al. (2003) ; Mosleh et al. (2004)** ont démontré que l'exposition aux polluants non métalliques peut aussi induire une augmentation de la synthèse de la MT. **Mosleh et al. (2005a, 2005b)** ont constaté que l'exposition à quelques pesticides peut également augmenter la concentration de la MT.

Cependant les mécanismes de l'induction après l'exposition aux pesticides ne sont pas encore bien connus (**Davies et Cousins, 2000**).

Au niveau du golfe d'Annaba aucune différence spatiale ou temporelle dans les teneurs de la MT n'a été observée chez l'oursin *Paracentrotus lividus*, la variation de la MT est sous la dépendance des plusieurs facteurs, la variation saisonnière a une influence notable sur les teneurs en MT qui pourrait être expliqué au moins en partie par la fluctuation du poids, le statut reproducteur et les changements dans la disponibilité des aliments (**Amiard et al., 1987**). Également **Geffard et al. (2001a, 2001b)** ; **Leung et al. (2005)** ont démontré que le niveau d'induction de la MT chez les invertébrés marins peut être influencé par la température, la salinité, la taille, l'âge et l'exposition à des polluants autres que les métaux lourds.

Les concentrations les plus élevées de la MT ont été retrouvées au niveau de la saison hivernale, ce résultat trouve une explication dans les données présentées au niveau du chapitre I et II qui ont indiqué que les concentrations le plus élevées en sels nutritifs et en pesticides étaient retrouvées en hiver. Cette forte concentration en MT est due à une forte induction de sa synthèse. La présence de métaux lourds au niveau du golfe d'Annaba a déjà fait l'objet des travaux réalisés par **Belabed et al. (2010)** et **Boutabia-Trea et al. (2017)** qui ont démontré une forte accumulation des métaux lourds à la saison hivernale chez *Perna perna* et *Posidonia oceanica* respectivement.

A la saison printanière et estivale nous avons remarqué une diminution de la concentration de la MT au niveau des 3 stations, il semblerait que ces changements de la concentration soient liés d'une part à l'affinité particulière de la MT à certains métaux lourds (**Roesijadi, 1996**). Ou bien cela peut être dû indirectement à la reproduction en et principalement à la libération des gamètes durant la période de ponte (**Langston et Spence, 1995**). Le changement pondéral a aussi été rapporté comme un critère important qui peut justifier la fluctuation de la concentration des métaux lourds et l'expression de la MT chez les organismes aquatiques (**Phelps et Hetzel, 1987** ; **Amiard-Triquet et al., 1998** ; **Mouneyrac et al., 1998, 2000**). De même **Bebianno et Serafin (1998)** ont montré que le degré d'induction de la MT pourrait fortement varier selon l'organe cible, aussi **Baudrimont et al. (1997)** ont démontré que les gonades sont le compartiment tissulaire qui présente les variations saisonnières les plus importantes en MT.

III.3.3. Niveau de pollution

Afin de déterminer le niveau de la pollution du golfe d'Annaba, nous avons utilisé une approche globale fondée sur la mesure des biomarqueurs, cette approche pratique est basée sur la détermination MPI en tenant compte des critères biologiques pour classer les stations surveillées sur une échelle de 5 niveaux de pollution (**Banni *et al.*, 2005**). L'analyse discriminante n'a indiqué aucune différence significative interstation, l'utilisation d'un indice de biomarqueur a facilité la comparaison entre les stations. Les résultats obtenus confirment le statut de la pollution de la ville d'Annaba, principalement en raison des rejets de métaux lourds et de composés organiques provenant des activités industrielles comme cela a déjà été indiqué par **Chaoui *et al.* (2013)** ; **Bougherira *et al.* (2015)** ; **Keblouti *et al.* (2015)**.

La tendance spatiale du MPI a été très variable, cela peut être expliqué par le fait que la station S.1 est la plus éloignée des sources de pollution, la station S.2 et S.3 sont situés à proximité des rejets urbains et industriels, aussi les apports des oueds peuvent être considérés comme une source d'apport de métaux lourds, de pesticides et de sels nutritifs. Ces stations sont suspectées d'être des points chauds à partir des données recueillies au cours des études de surveillance réalisées précédentes au niveau des mêmes stations ou à proximité de nos stations d'échantillonnages **Beldi *et al.* (2006)** ; **Sifi *et al.* (2007)** ; **Amira *et al.* (2011)** ; **Bensouda et Soltani-Mazouni (2014)** ; **Boucetta *et al.* (2016)** ; **Boutabia-Trea *et al.* (2016)**.

En ce qui concerne les tendances temporelles, le profil de contribution des biomarqueurs suggère une pollution mixte pour la saison hivernale et printanière. Cependant à la saison estivale, la station S.1 et S.2 ont subi une pollution par les herbicides et la station S.3 par les métaux lourds. En automne la station S.1 se caractérise par une forte induction de la MT, toutefois la station S.2 et S.3 se caractérise par une pollution mixte qui peut être expliquée par les rejets agricoles, industriels et aux apports des oueds. Les rejets de métaux lourds ont été déjà rapportés **Boutabia-Trea *et al.* (2015, 2016)** et **Belabed *et al.* (2008, 2013)**. La présence de pesticides dans les stations d'échantillonnages est très variable au cours de l'année et une meilleure connaissance des pratiques agricoles serait utile pour soutenir les données biochimiques.

Les stations d'échantillonnage au niveau du golfe d'Annaba peuvent être classées en utilisant la moyenne des MPI des 4 saisons comme suite : la station S.1 (MPI = 9,75), la station S.2 (MPI = 39,5) et la station S.3 (MPI=52). Cela confirme les résultats obtenus

précédemment dans le chapitre I et II, que la station S.1 est la moins contaminée, la station S.3 est la plus contaminée alors que la station S.2 est intermédiaire entre les deux.

Néanmoins il est à noter que d'autres facteurs doivent être pris en compte dans l'interprétation telle que le statut reproductif, le sexe, l'âge, l'état nutritionnel, l'activité métabolique et la variation saisonnière (**Altenburger *et al.*, 2003**) qui induit des changements dans les propriétés des paramètres biochimiques (**Andersson et Förlin, 1992**). Il est très difficile de retrouver des exemples spécifiques dans la littérature sur les échecs des programmes de biomarqueurs, sans aucun doute des échecs se sont produits, mais ceux-ci restent non signalés (**Handy *et al.*, 2003**). Bien que l'indice MPI apparait bien adapté pour détecter les gradients de pollution, les tendances mesurées dans les points chauds (station S.2 et S.3) indiquant une augmentation transitoire de l'indice de pollution en printemps suggèrent une réponse faussement positive dans les stations fortement polluées. Dans ce cas, la forte activité enzymatique ne serait pas liée à l'augmentation du niveau de pollution seulement, mais à la période de reproduction qui induisent une augmentation du métabolisme cellulaire et l'augmentation du taux des biomarqueurs (**Narbonne *et al.*, 2005**).

La comparaison des résultats obtenus des MPI avec d'autres études réalisées précédemment en Méditerranée (**Tableau 21**) nous indique que nos résultats sont supérieurs à ceux déjà retrouvés dans les zones côtières Françaises, Italiennes, Espagnoles et Tunisiennes. Il en est de même pour les zones côtières Allemandes et Polonaises de la mer Baltique, ainsi que les zones côtières Grecques et Italiennes de la mer Adriatique.

L'analyse des corrélations entre MPI et les différents indices calculés précédemment dans le chapitre I et II (NID, PID et RQm), n'a indiqué aucune corrélation significative ($p > 0,05$) entre les indices, il en est de même pour travaux de **Narbonne *et al.* (2001)** qui n'ont indiqué aucune corrélation significative entre MPI et les contaminants mesurés dans les sites méditerranéens, toutefois en mer Baltique une corrélation significative positive a été retrouvée entre la teneur en HAP et l'indice MPI (**Garrigues *et al.*, 1990 ; Narbonne *et al.*, 2001**). L'absence de corrélation peut être expliquée par le fait que les contaminants potentiellement présents dans les milieux côtiers n'ont pas été mesurés et les MPI semblaient répondre à des produits chimiques autres que les pesticides et les sels nutritifs tels que les métaux lourds, les hydrocarbures... ex.

Tableau 21 : Étude comparative de la variation du MPI au niveau des zones côtières marine.

Site	MPI	Références
Mer Méditerranée		
○ 1995		
Zone côtière Française	19-50	Narbonne <i>et al.</i> (1999)
Zone côtière Italienne	41	
Ile Françaises		
Planier	37	
Sanguinaires	26	
Toro	37	
Corse	20 - 35	
Ile Italienne		
Sardaigne	29	
○ 1996		
Zone côtière Française	24 - 28	Narbonne <i>et al.</i> (1999)
Zone côtière Espagnole	18- 42	
Ile Françaises		
Planier	35	
○ 2001 - 2003		
Zone côtière Française	15 - 48	Narbonne <i>et al.</i> (2005)
Zone côtière Italienne	12 - 49	
Zone côtière Espagnole	15 - 45	
○ 2003		
Zone côtière Tunisienne	29 - 52	Banni <i>et al.</i> (2005)
○ 2006		
Zone côtière Tunisienne	10-54	Bouraoui <i>et al.</i> (2010)
○ 2012		
Zone côtière Algérienne	14 - 58	Présent travail
Mer Baltique		
○ 1995		
Zone côtière Allemande	28 - 56	Narbonne <i>et al.</i> (1999)
Zone côtière Pologne	19 - 42	
○ 1996		
Zone côtière Allemagne	28 - 46	
Zone côtière Pologne	27 - 37	
Mer Adriatique		
○ 1998		
Zone côtière Grecque	21 - 54	Narbonne <i>et al.</i> (2001)
Zone côtière Italienne	31 - 41	
Ile Grecque : Salamina	21 - 38	

Conclusion générale

A cours des résultats obtenus, il ressort que :

- Les paramètres physicochimiques mesurés semblent être satisfaisants permettant ainsi un développement normal de l'oursin *Paracentrotus lividus*. Les variations de la température des eaux font ressortir deux grandes périodes thermiques, une période froide et une période chaude, le pH de l'eau est alcalin, la forte oxygénation est notée en période hivernale alors qu'en période estivale le taux d'oxygène dissous baisse et la salinité est plus moins stable.
- Le niveau trophique est plus marqué à la saison hivernale, la station S.3 paraît être soumise à une grande influence continentale.
- L'évaluation des paramètres environnementaux souligne la présence de divers contaminants qui interfèrent de façon complexe, en ce qui concerne les pesticides, cette étude reste à un stade préliminaire, mais sera approfondie au courant des recherches ultérieures dans la même direction. Toutefois, Les teneurs du milieu en pesticides ont été plus ou moins égales aux normes proposées par EQS.
- Le golfe d'Annaba se révèle contaminer, la nature de cette contamination varie de façon temporelle et elle a souvent atteint des niveaux de préoccupation vis-à-vis les organismes aquatiques.
- Le calcul du RQ et du RQm est en faveur d'une plus grande prise de conscience de la qualité écotoxicologique des eaux du golfe d'Annaba Il nous permet d'indiquer que les risques associés aux pesticides sont élevées et les critères de qualité sont non respectés.
- La période de reproduction de l'oursin *Paracentrotus lividus* dans le golfe d'Annaba se situe au cours de la période le printanière.
- Outre la pollution, le changement saisonnier semble être un facteur important qui module l'activité des biomarqueurs chez l'oursin *Paracentrotus lividus*, cette variabilité saisonnière est vraisemblablement liée aux fluctuations des facteurs environnementaux et notamment au cours de la gamétogenèse ou d'autres facteurs entrent en jeux, ce qui rend compliqué l'interprétation cette hypothèse s'accorde bien avec les résultats obtenus et confirmés bien l'influence de la variation saisonnière sur les paramètres biochimiques.
- L'expression des différents biomarqueurs se montrent comme un outil biologique exhortant qui pourrait nous rendre compte sur les niveaux de contamination du golfe, l'ensemble des résultats obtenus au cours de ce travail mettent clairement en évidence l'utilité de cette approche multibiomarqueurs pour la surveillance de la

qualité de l'environnement. Les différentes stations ont pu être classées selon leurs niveaux de polluants. Les stations S.2 et S.3 représentent les points chauds les plus touchés par la pollution.

En perspectives, il serait judicieux de :

- Étendre ce biomonitoring sur l'ensemble du littoral Algérien.
- Déterminer l'impact de la pollution sur le cycle de reproduction de cette espèce.
- Explorer d'autres polluants tels que les éléments métaux lourds et les hydrocarbures.

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. Option : ecotoxicologie des milieux aquatiques. Université de bordeaux 1. France. p.276. Disponible sur : <https://www.grenet.drimm.u-bordeaux1.fr>.
- Aarab, N., Champeau, O., Mora, P., Daubeze, M., Garrigues, P., Narbonne, J.F., 2004.** Scoring approach based on fish biomarkers applied to French river monitoring. *Biomark.*, 9 : 258 - 270.
- Abdullah, M.D.P., 1997.** Hydrocarbon pollution in the sediment of some Malaysian coastal areas. *Environ. Monit. Assess.*, 44 : 443 - 454.
- ABH, 2002.** Agence de Bassins hydrographiques : Constantinois-Seybouse-Mellegue. Bassin de la seybouse. Actualisation. Les cahiers de l'agence N° 7, p.32. *In* : Ziouch, O. R., 2014. Nutrient distribution in the bay of Annaba under the influence of the Seybouse and the Mafragh estuaries inputs (South-western Mediterranean). Thèse de doctorat. Option : environnement littoral. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.117.
- Acquavella, J.F., Alexanders, B.H., Mandel, J.S., Gustin, C., Baker, B., Chapman, P., Bleeke, M., 2004.** Glyphosate biomonitoring for farmers and their families : results from the farm family exposure study. *Env. Health Perspect.*, 112 : 321- 326.
- Adams, S.M., 2005.** Assessing cause and effect of multiple stressors on marine systems. *Mar. Pollut. Bull.*, 51 : 649 - 657.
- Adedeji, O.B., Okocha, R.O., 2012.** Overview of pesticide toxicity in fish. *Adv. Environ. Biol.*, 6 : 2344 - 2351.
- Adewale, I.O., Afolayan, A., 2005.** Organ distribution and kinetics of glutathione transferase from African river Prawn, *Macrobrachium vollehovenii* (Herklots). *Aquat. Toxicol.*, 71 : 193 - 202.
- AFNOR, 1985.** NF V 45056. *In* : Amiard, J.C., GEFARD, A., Amiard-Triquet, C., 1998. La métallothionéine chez la moule *Mytilus edulis* comme biomarqueur de pollution métallique: variabilité entre sites, saisons et organes. *J. Rech. Océanogr.*, 23 : 25 - 30.
- Ahmad, I., Hamid, T., Fatima, M., Chand, H.S., Jain, S.K., Altran, M., Raisuddin, S., 2000.** Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure. *Biochem. Biophys. Acta*, 1523 : 37 - 48.
- Akkanen, J., Penttinen, S., Haitzer, M., Kukkonen, J.V.K., 2001.** Bioavailability of atrazine, pyrene and benzo [a] pyrene in European river waters. *Chemosphere*, 45 : 453 - 462.

- Ali, H.R., Arifin, M.M., Sheikh, M.A., Shazili, N.A.M., Bakari, S.S., Zainudin Bachok, Z., 2014. Contamination of diuron in coastal waters around Malaysian Peninsular. Mar. Pollut. Bull., 85 : 287 - 291.
- Allain, J.Y., 1975. Structure des populations de *Paracentrotus lividus* (Lmk) (*Echinodermata* : *Echinoïdea*) soumise à la pêche sur les cotes nord de Bretagne. Rev. Trav. Inst. Peches Mar. Fr., 39 : 171 - 172.
- Allain, J.Y., 1978. Âge et croissance de *Paracentrotus lividus* (Lamarck) et de *Psammechinus miliaris* (Gmelin) des côtes nord de Bretagne (*Echinoïdea*). Cah. Biol. Mar., XIX : 11 - 21.
- Allen, Y., Scott, A.P., Matthiessen, P., Haworth, S., Thain, J.E., Feist, S., 1999. Survey of estrogenic activity in United Kingdom estuarine and coastal waters and its effects on gonadal development of the flounder *Platichthys flesus*. Environ. Toxicol. Chem., 18 : 1791 - 1800.
- Almeida, E., Diaz-Bainy A.C., Loureiro, A.P., Martinez, G.R., Miyamoto, S., Onuki, J., Livea-Barbosa, L., Garcia, C., Prado, F., Ronsein, G.E., Sigolo, C.A., Brochini, C.B., Martins, A.M., Medeiros, M.H., Mascio, P., 2007. Oxidative stress in *Perna perna* and other bivalves as indicators of environmental stress in the Brazilian marine environment : antioxydants, lipid peroxidation and DNA damage. Comp. Biochem. Physiol., A 146 : 588 - 600.
- Alonso-Alvarez, C., Bertrand, S., Devevey, G., Prost, J., Faivre, B., Chastel, O., Sorci, G., 2006. An experimental manipulation of life-history trajectories and resistance to oxidative stress. Evol., 60 : 1913 -1924.
- Altenburger, R., Segner, H., Van Der Oost, R., 2003. Biomarkers and PAHs: prospects for the assessment of exposure and effects in aquatic systems. In : Douben, P.E.T. (Ed.), PAHs : an Ecotoxicological perspective. Douben unilever colworth R & D. Safety and environmental assurance center. United Kingdom. pp. 298 - 328.
- Alvarez, M.d.C., Fuiman, L.A., 2005. Environmental levels of atrazine and its degradation products impair survival skills and growth of red drum larvae. Aquat. Toxicol., 74 : 229 - 241.
- Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., Barka, S., Pellerin, J., Rainbow, P.S., 2006. Metallothioneins in aquatic invertebrates : their role in metal detoxification and their use as biomarkers. Aquat. Toxicol., 76 : 160 - 202.
- Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., Berthet, B., Metayer, C., 1987. Comparative study of the patterns of bioaccumulation of essential (Cu, Zn) and non-essential (Cd, Pb)

- trace metals in various estuarine and coastal organisms. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 106 : 73 - 89.
- Amiard-Triquet, C., Rainglet, F., Larroux, C., Regoli, F., Hummel, H., 1998.** Metallothioneins in Arctic bivalves. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 41 : 96 - 102.
- Aminot, A., Kérouel, R., 1997.** Reference material for nutrients for the quasimeme laboratory performance studies 1993 - 1996. *Mar. Pollut. Bull.*, 35 : 78 - 83.
- Aminot, A., Kérouel, R., 2004a.** Nutriments minéraux dissous (nitrite, nitrate, ammonium, phosphate, silicate). *In*: Aminot, A., Kérouel, R. (Eds.), hydrobiologie des écosystèmes marins : paramètres et analyses. Edition Ifremer. Brest. pp. 217 - 283.
- Aminot, A., Kérouel, R., 2004b.** Caractéristiques physicochimiques majeures. *In*: Aminot, A., Kérouel, R. (Eds.), hydrobiologie des écosystèmes marins : paramètres et analyses. Edition Ifremer. Brest. pp. 41 - 137.
- Amira, A., Sifi, K., Soltani, N., 2011.** Measure of environmental stress biomarkers in *Donax trunculus* (*Mollusca, Bivalvia*) from the Gulf of Annaba (Algeria). *Eur. J. Exp. Biol.*, 1 : 7 - 16.
- Amri, S., Bensouilah, M., Ouali, K., 2017.** Variation of the condition index and sex-ratio of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in the southeast Mediterranean. *J. Biol. Sci.*, 17 : 76 - 83.
- Andersen, J., Pelaez, M., Guay, L., Zhang, Z., O'Shea, K.N., Dionysiou, D.D., 2013.** NF-TiO₂ photocatalysis of amitrole and atrazine with addition of oxidants under simulated solar light: emerging synergies, degradation intermediates, and reusable attributes. *J. Hazard. Mater.*, 260 : 569 - 575.
- Anderson, M.E., 1997.** Glutathione and glutathione delivery compounds. *Adv. Pharmacol.*, 38 : 65 - 78.
- Andersson, T., Förlin, L., 1992.** Regulation of the cytochrome P450 enzyme system in fish. *Aquat.Toxicol.*, 24 : 1 - 20.
- Angelini, C., Amaroli, A., Falugi, C., Di Bella, G., Matranga, V., 2003.** Acetylcholinesterase activity is affected by stress conditions in *Paracentrotus lividus* coelomocytes. *Mar. Biol.*, 143 : 623 - 628.
- Angilletta, M.J., Sears, M.W., 2000.** The metabolic cost of reproduction in an oviparous lizard. *Funct. Ecol.*, 14 : 39 - 45.
- Angioni, A., Cau, A., Secci, M., Addis, P., 2014.** GC-ITMS analysis of PAH contamination levels in the marine sea urchin *Paracentrotus lividus* in Sardinia. *Mar. Pollut. Bull.*, 82 : 201 - 207.

- Ansell, A.D., Lagardere, F., 1980.** Observation on the biology of *Donax trunculus* and *D. vittatus* at ile d'Oleron (French Atlantic Coast). Mar. biol., 57 : 287 - 300.
- Anzecc, Armcanz, 2000.** Australian and New Zealand guidelines for fresh and marine water quality. Australian and New Zealand environment and conservation council and agriculture and resource management council of Australia and New Zealand. In : Mercurio, P., Flores, F., Mueller, J.F., Carter, S., Negri, A.P., 2014. Glyphosate persistence in seawater. Mar. Pollut. Bull., 85 : 385 - 390.
- Arditsoglou, A., Voutsas, D., 2008.** Determination of phenolic and steroid endocrine disrupting compounds in environmental matrices. Environ. Sci. Pollut. Res., 3 : 228 - 236.
- Arditsoglou, A., Voutsas, D., 2012.** Occurrence and partitioning of endocrine-disrupting compounds in the marine environment of Thermaikos Gulf, Northern Aegean sea, Greece. Mar. Pollut. Bull., 64 : 2443 - 2452.
- Arora, A., Sairam, R.K., Srivastava, C., 2002.** Oxidative stress and antioxidative system in plants. Curr. Sci., 82 : 1227 - 1238.
- Azzolina, J.F., Boudouresque, C.F., Nedelec, H., 1985.** Dynamique des populations de *Paracentrotus lividus* dans la baie de Port-Cros (Var) : données préliminaires. Sci. Rep. Port-Cros natl. Park, 11: 61 - 81.
- Bachari Houma, F., 2009.** Modélisation et cartographie de la pollution marine et de la bathymétrie à partir de l'imagerie satellitaire. Thèse de doctorat. Option : sciences de l'univers et environnement. Université du Val de Marne Paris XII. France. p.275. Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr>.
- Backhaus, T., Altenburger, R., Boedeker, W., Faust, M., Scholze, M., Grimme, L.H., 2000.** Predictability of the toxicity of multiple mixture of dissimilarly acting chemicals to *Vibrio fischeri*. Environ. Toxicol. Chem., 19 : 2348 - 2356.
- Bainy, A.C.D., Saito, E., Carvalho, P.S.M., Junqueira, V.B.C., 1996.** Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. Aquat. Toxicol., 34 :151 - 162.
- Baldwin, W.S., Graham, S.E., Shea, D., Le Blanc, G.A., 1997.** Metabolic androgenization of female *Daphnia magna* by the xenoestrogen 4-nonylphenol. Environ. Toxicol. Chem., 16 : 1905 -1911.
- Balint, T., Ferenczy, J., Katai, F., Kiss, I., Kraczer, L., Kufcsak, O., Lang, G., Polyhos, C., Szabo, I., Szegletes, T., Nemcsok, J., 1997.** Similarities and differences between the massive eel (*Anguilla anguilla*) devastations that occurred in lake Balaton in 1991 and 1995. Ecotoxicol. Environ. Saf., 37 : 17 - 23.

- Ballesteros, E., Garcia-Rubies, T., 1987.** La pêche aux oursin en Espagne et plus particulièrement en Catalogne. *In* : Boudouresque, C.F., (Ed.), colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. GIS Posidonie. Publ., France. pp. 335 - 362.
- Banni, M., Jebali, J., Daubeze, M., Clerandau, C., Guerbej, H., Narbonne, J. F., Boussetta, H., 2005.** Monitoring pollution in Tunisian coasts : application of a classification scale based on biochemical markers. *Biomark.*, 10 : 105 -116.
- Barda, I., Purina, I., Rimsa, E., Balode, M., 2014.** Seasonal dynamics of biomarkers in infaunal clam *Macoma balthica* from the Gulf of Riga (Baltic Sea). *J. Mar. Syst.*, 129 : 150 - 156.
- Barhoumi, R., Bowen, J.A., Stein, L.S., Echols, J., Burghardt, R.C. 1993.** Concurrent analysis of intracellular GSH content and gap junctional intercellular communication. *Cytom.*, 14 : 747 - 756.
- Barka, S., Pavillon, J.F., Amiard, J.C., 2001.** Influence of different essential and non essential metals on MTLP levels in the copepod *Tigriopus brevicornis*. *Comp. Biochem. Physiol., C* 128 : 479 - 493.
- Barnabé, G., 1989.** Aquaculture. 2^{ème} édition. Vol. 1. Technique et documentation. Edition Lavoisier. France. p.1308.
- Barnabé, G., 1991.** Bases biologiques et écologiques de l'aquaculture. Edition Lavoisier. France. p.489.
- Barranger, A., Akcha, F., Rouxel, J., Brizard, R., Maurouard, E., Pallud, M., Menard, D., Tapie, N., Budzinski, H., Burgeot, T., Benabdelmoun, A., 2014.** Study of genetic damage in the Japanese oyster induced by an environmentally-relevant exposure to diuron : evidence of vertical transmission of DNA damage. *Aquat. Toxicol.*, 146 : 93 - 104.
- Bartsch, H., Nair, J., 2000.** Ultra sensitive and specific detection methods for egzocyclic DNA adducts : marker for lipid peroxidation and oxidative stress. *Toxicol.*, 153 : 105 - 114.
- Basheer, C., Lee, H.K., Tan, K.S., 2004.** Endocrine disrupting alkylphenols and bisphenol A in coastal waters and supermarket seafood from Singapore. *Mar. Pollut. Bull.*, 48 : 1161 - 1167.
- Basuyaux, O., Mathieu, M., 1999.** Inorganic nitrogen and its effect on growth of the abalone *Haliotis tuberculata* Linnaeus and the sea urchin *Paracentrotus lividus* Lamarck. *Aquac.*, 174 : 95 - 107.

- Basuyaux, O., Mathieu, M., Day, C., 1998.** Effet de la salinité sur la consommation alimentaire et sur la croissance de l'oursin *Paracentrotus lividus* et de l'ormeau *Haliotis tuberculata* en élevage en circuit fermé. Bull. Soc. Zool. Fr., 123 : 141 - 150.
- Baudrimont, M., Lemaire-Gony, S., Ribeyre, F., Métivaud, J., Boudou, A., 1997.** Seasonal variations of metallothionein concentrations in the Asiatic clam (*Corbicula fluminea*). Comp. Biochem. Physiol., C 118 : 361 - 367.
- Baumard, HP., Budzinski, P., Garrigues, H.D., Hansen, P.D., 1999.** Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments and mussels (*Mytilus edulis*) from the Western Baltic sea : occurrence, bioavailability and seasonal variations. Mar. Environ. Res., 1 : 17 - 47.
- Baustian, M.M., Rabalais, N.N., 2009.** Seasonal composition of benthic macroinfauna exposed to hypoxia in the Northern Gulf of Mexico. Estuar. Coasts, 32 : 975 - 983.
- Bayed, A., Quiniou, F., Benrha, A., Guillou, M., 2005.** The *Paracentrotus lividus* populations from the Northern Moroccan Atlantic coast : growth, reproduction and health condition. J. Mar. Biol. Assoc. UK., 85 : 999 - 1007.
- Baylis, AD., 2000.** Why glyphosate is a global herbicide : strengths, weaknesses and prospects. Pest. Manag. Sci., 56 : 299 - 308.
- Beaudeau, J.L., Vasson, M.P., 2005.** Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène. In : Delattre, J., Beaudeau, J.L., Bonnefont-Rousselot, D., (Eds.), radicaux libres et stress oxydant : aspect biologiques et pathologiques. Edition TEC & DOC. Paris. pp. 45 - 80.
- Beaumont, A., Cassier, P., 1973.** Biologie animale des protozoaires aux métazoaires épithélioneuriens. Tome I. 2^{ème} édition Dunod. Paris. p.447.
- Bebiano, M.J., Serafin, M.A., 1998.** Comparison of metallothionein induction in response to cadmium in gills of the bivalve mollusks *Mytilus galloprovincialis* and *Ruditapes decussates*. Sci. Total. Environ., 214 : 123 - 131.
- Beck, I.C., Bruhn, R., Gandrass, J., 2006.** Analysis of estrogenic activity in coastal surface waters of the Baltic sea using the yeast estrogen screen. Chemosphere, 63 : 1870 -1878.
- Bécuwe, P., Bianchi, A., Didelot, C., Barberi-Heyob, M., Dauça, M., 2003.** Arachidonic acid activates a functional AP-1 and an inactive NF-kappaB complex in human HepG2 hepatoma cells. Free Radic. Biol. Med., 35 : 636 - 647.
- Béguel, J.P., Huvet, A., Quillien, V., Lambert, C., Fabioux, C., 2013.** Study of the antioxidant capacity in gills of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in link with its reproductive investment. Comp. Biochem. Physiol., C 157 : 63 - 71.

- Belabed, B.E., 2010.** La pollution par les métaux lourds dans la région d'Annaba « sources de contamination des écosystèmes aquatiques». Thèse de doctorat. Option : biologie et physiologie des organismes marins. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.199. Disponible sur : <http://biblio.univ-annaba.dz>.
- Belabed, B.E., Djabourabi, A., Bensouilah, M., 2008.** Teneurs en plomb, cadmium, mercure et zinc relevées dans la chair de la moule, *Perna perna* dans le littoral d'Annaba. Rev. Sci. Technol., 18 : 12 - 22.
- Belabed, B.E., Laffray, X., Dhib, D., Fertouna-Belakhal, M., Turki, S., Aleya, L., 2013.** Factors contributing to heavy metal accumulation in sediments and in the intertidal mussel *Perna perna* in the Gulf of Annaba (Algeria). Mar. Pollut. Bull., 74 : 477 - 489.
- Belaud, A., 1996.** Oxygénation de l'eau en aquaculture intensive. Edition Cépaduès. France. p.207.
- Beldi, H., Gimbert, F., Maas, S., Scheifler, R., Soltani, N., 2006.** Seasonal variations of Cd, Cu, Pb and Zn in the edible mollusc *Donax trunculus* (*Mollusca, Bivalvia*) from the Gulf of Annaba, Algeria. Afr. J. Agric. Res., 1 : 85 - 90.
- Belias, C., Dassenakis, M., Scoullou, M., 2007.** Study of the N, P and Si fluxes between fish farm sediment and seawater. Results of simulation experiments employing a benthic chamber under various redox conditions. Mar. Chem., 103 : 266 - 275.
- Bellas, J., Beiras, R., Mariño-Balsa, J.C., Fernández, N., 2005.** Toxicity of organic compounds to marine invertebrate embryos and larvae : a comparison between the sea urchin embryogenesis bioassay and alternative test species. Ecotoxicol., 14 : 335 - 351.
- Bellas, J., Paredes, E., 2001.** Advances in the cryopreservation of sea urchin embryos : potential application in marine quality assessment. Cryobiol., 62 : 174 - 180.
- Benali, I., Boutiba, Z., Merabet, A., Chèvre, N., 2015.** Integrated use of biomarkers and condition indices in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) for monitoring pollution and development of biomarker index to assess the potential toxic of coastal sites. Mar. Pollut. Bull., 95 : 385 - 394.
- Bendschneider, K., Robinson, R.J., 1952.** A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. J. Mar. Res., 11 : 87 - 96.
- Benítez, F.J., Real, F.J., Acero, J.L., Garcia, C., 2007.** Kinetics of the transformation of phenyl-urea herbicides during ozonation of natural waters: rate constants and model predictions. Water Res., 41 : 4073 - 4084.

- Benslama, O., Boulahrouf, A., 2016.** High quality draft genome sequence of *Enterobacter sp.* BispH 2, a glyphosate degrading bacterium isolated from a sandy soil of Biskra, Algeria. *Genom. Data*, 8 : 61 - 66.
- Bensouda, L., Soltani-Mazouni, N., 2014.** Measure of oxidative stress and neurotoxicity biomarkers in *Donax trunculus* from the Gulf of Annaba (Algeria) : case of the year 2012. *Annu. Res. Review Biol.*, 4 : 1902 - 1914.
- Berenbaum, M., 1989.** What is synergy ?. *Pharmacol. Rev.*, 41 : 93 - 141.
- Berthet, B., 2008.** Les espèces sentinelles. *In* : Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., (Eds.), les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques. Edition TEC & DOC. Paris. pp.121 - 148.
- Bester, K., Hühnerfuss, H., 1993.** Triazines in the Baltic and North Sea. *Mar. Pollut. Bull.*, 26 : 423 - 427.
- Bester, K., Theobald, N., Schroder, H.F., 2001.** Nonylphenols, nonylphenol-ethoxylates, linear alkylbenzenesulfonates (LAS) and bis (4 - chlorophenyl)-sulfone in the German bight of the North sea. *Chemosphere*, 45 : 817 - 826.
- Bianchi, A., Becuwe, P., Franck, P., Dauca, M., 2002.** Induction of MnSOD gene by arachidonic acid is mediated by reactive oxygen species and p38 MAPK signaling pathway in human HepG2 hepatoma cells. *Free Radic. Biol. Med.*, 32 : 1132 - 1142.
- Binyon, J., 1966.** Salinity tolerance and ionic regulation. *In* : Boolootian, R.A., (Ed.), physiology of *Echinodermata*. Interscience publishers. New York. pp. 359 - 377.
- Biselli, S., Bester, K., Huhnerfuss, H., Fent, K., 2000.** Concentrations of the antifouling compound Irgarol 1051 and of organotins in water and sediments of German North and Baltic sea marinas. *Mar. Poll. Bull.*, 40 : 233 - 243.
- Bocquené, G., Galgani, F., 1998.** Cholinesterase inhibition by organophosphorous and carbamate compounds. *Tech. Mar. Environ. Sci.*, 22 : 1 - 12.
- Bocquené, G., Galgani, F., 2004.** Les marqueurs biologiques des effets de effets des polluants : l'acétylcholinestérase. Edition Ifremer. France. p.27.
- Bodoy, A., 1980.** Croissance et variation de la composition biochimique du bivalve *Spisula subtruncata* (Da Costa) dans le golfe de Marseille (Méditerranée occidentale). *Tethys*, 11 : 57 - 66.
- Boily, M., Bisson, M., Spear, P.A., 2004.** Rétinoïdes : Biomarqueurs et base moléculaire d'effets de substances toxiques. *In* : Pelletier, E., Campbell, P.G.C., Denizeau, F., (Eds.), écotoxicologie moléculaire : principe fondamentaux et perspectives de développement. Presses de l'université du Québec. Canada. pp.197 - 256.

- Bonaviri, C., Gianguzza, P., Pipitone, C., Hereu, B., 2012.** Micropredation on sea urchins as a potential stabilizing process for rocky reefs. *J. Sea Res.*, 73 : 18 - 23.
- Bonizzi, G., Piette, J., Merville, M.P., Bours, V., 2000.** Cell type specific role for reactive oxygen species in nuclear factor kB activation by interleukine 1. *Biochem. Pharmacol.*, 59 : 7 -11.
- Bonnefont-Rousselot, D., Thérond, P., Beaudoux, J.L., Peynet, J., Legrand, A., Delattre, J., 2001.** Vieillesse et stress oxydant. Quels marqueurs potentiels ?. *Ann. Biol. Clin.*, 59 : 453 - 459.
- Boucetta, S., Beldi, H., Draredja, B., 2016.** Effects of metal pollution on the activities of acetylcholinesterase and glutathione - S transferase in *Phorcus (Osilinus) turbinatus* (*Gastropoda, Trochidae*) of the coast East-Algerian. *Adv. Environ. Biol.*, 10 : 46 - 60.
- Bouchareb, N., 2013.** Transferts et géochimie de l'azote, du phosphore et du silicium des bassins des oueds Kebir-Rhumel, Kebir ouest et Saf-Saf au littoral. Thèse de doctorat. Option : environnement littoral. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.117. Disponible sur : <http://biblio.univ-annaba.dz>.
- Boudinar, A.S., 2016.** Recherches sur la morphologie et la génétique du complexe *Atherina boyeri* en Méditerranée occidentale et biologie de l'espèce dans la lagune Mellah. Thèse de doctorat. Option : bioressources marines. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.182. Disponible sur : <http://biblio.univ-annaba.dz>.
- Boué, H., Chanton, R., 1978.** Zoologie I : invertébrées. Edition Doin. Paris. p.713.
- Bougherira, N., B., Aoun-Sebaiti, B., 2012.** Impact of urban and industrial wastes on superficial and groundwater in the plain of Annaba (Algeria). *Courr. Savoir*, 13 : 63 - 69.
- Bougherira, N., Hani, A., Djabri, L., Chouchane, S., 2015.** Assessment of contaminant migration in groundwater from an industrial development area, Annaba District NE Algeria. *Eng. Geol. Soc. Territ.*, DOI :10.1007/978-3-319-09054-2_80.
- Bouhayene, S., 2015.** Evaluation bactériologique des zones de baignade de la baie de Skikda (N.E Algérien). Thèse de doctorat. Option : biologie marine. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.123. Disponible sur : <http://biblio.univ-annaba.dz>.
- Boumaza, A., 2017.** Etude toxicologique et épidémiologique de certains pesticides utilisés en Algérie. Thèse de doctorat. Option : toxicologie cellulaire. Université des frères Mentouri. Constantine. Algérie. p.150.
- Boumaza, F.Z., 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. Option : physiotoxicologie. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.194. Disponible sur : <http://biblio.univ-annaba.dz>.
- Bouraoui, Z., Banni,M., Chouba, L., Ghedira, J., Clerandau, C., Jebali, J., Narbonne, J.F., Boussetta, H., 2010.** Monitoring pollution in Tunisian coasts using a scale of classification based on biochemical markers in worms *Nereis (Hediste) diversicolor*. Environ. Monit. Assess., 164 : 691 - 700.
- Bourbia-Ait Hamlet S., 2013.** Évaluation de la toxicité de mixtures de pesticides sur un bioindicateur de la pollution des sols *Helix aspersa*. Thèse de doctorat. Option : biologie animale. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p: 177. Disponible sur : <http://biblio.univ-annaba.dz>.
- Boutabia-Trea, S., 2016.** *Posidonia oceanica* (L) Delile, bioindicateur de la pollution métallique du golfe d'Annaba (Nord-Est Algerien). Thèse de doctorat. Option : biologie végétale. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.246. Disponible sur : <http://biblio.univ-annaba.dz>.
- Boutabia-Trea, S., Habachi, W., Bensouilah, M., 2017.** Assessment of metallic trace elements using the seagrass *Posidonia oceanica* and the surface sediment from North-eastern of Algeria. Asian J. Biol. Sci., 10 : 17 - 26.
- Boutabia-Trea, S., Habbachi, W., Bensouilah, M., 2015.** Evaluation of the metallic contamination level in the Gulf of Annaba (Northeastern Algeria) using a *Posidonia oceanica* (L) Delile. Adv. Environ. Biol., 9 : 75 - 81.
- Boutet, I., Tanguy, A., Moraga, D., 2004.** Response of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to hydrocarbon contamination under experimental conditions. Gene, 329 : 147 -157.
- Bouzenda, R., Soltani, N., Khebbeb, M.E.H., 2017.** Assessment of pollution in the Gulf of Annaba (Algeria) by monthly measurements of two biomarkers in a fish species *Liza aurata*. J. Entomol. Zool. Stud.5 : 366 - 372.
- Bouziani, M., 2007.** L'usage immodéré des pesticides : de graves conséquences sanitaires. Le guide de la médecine et de la santé en Algérie. Disponible sur : <http://www.santetropicale.com>. Consulté le : 12/07/2017.
- Bowen, J.L., Valiela, I., 2001.** The ecological effects of urbanization of coastal watersheds: historical increases in nitrogen loads and eutrophication of Waquoit Bay estuaries. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 58 : 1489 - 1500.
- Box, A., Sureda, A., Terrados, J., Pons, A., Deudero, S., 2008.** Antioxidant response and caulerpene production of the alien *Caulerpa taxifolia* (Vahl) epiphytized by

- the invasive algae *Lophocladia lallemandii* (Montagne). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 364 : 24 - 28.
- Boxall, A.B.A., Comber, S.D., Conrad, A.U., Howcroft, J., Zaman, N., 2000.** Inputs, monitoring and fate modelling of antifouling biocides in UK estuaries. *Mar. Pollut. Bull.*, 40 : 898 - 905.
- Boynton, W.R., Kemp, W.M., Keefe, C.W., 1982.** A comparative analysis of nutrients and other factors influencing estuarine phytoplankton production. *In* : Kennedy, V.S., (Ed.), estuarine comparisons. Academic press. New York. pp. 69 - 90.
- Bradford, M.M., 1976.** A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72 : 248 - 254 .
- Brady, S.M., Scheibling, R.E., 2006.** Changes in growth and reproduction of green sea urchins, *Strongylocentrotus droebachiensis* (Müller), during repopulation of the shallow subtidal zone after mass mortality. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 335 : 277 - 291.
- Braghirolli, F.M., Oliveira, M.R., Oliveira, G.T., 2016.** Seasonal variability of metabolic markers and oxidative balance in fresh water amphipod *Hyaella kaingang* (Crustacea, Amphipoda). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 130 : 177 - 184.
- Bragigand, V., Berthet, B., 2003.** Some methodological aspects of metallothionein evaluation. *Comp. Biochem. Physiol.*, A 134 : 55 - 61.
- Bremond, R., Perrodon, C., 1979.** Paramètres de la qualité des eaux. 2^{ème} édition du ministère de l'environnement et cadre de vie. France. p. 259.
- Brewin, P.E., Lamare, M.D., Keogh, J.A., Mladenov, P.V., 2000.** Reproductive variability over a four year period in the sea urchin *Evechinus chloroticus* (Echinoidea : Echinodermata) from differing habitats in New Zealand. *Mar. Biol.*, 137 : 543 - 557.
- Brian, J.V., Harris, C.A., Scholze, M., Backhaus, T., Booy, P., Lamoree, M., Pojana, G., Jonkers, N., Runnalls, T., Bonfà, A., Marcomini, A., Sumpter, J.P., 2005.** Accurate prediction of the response of freshwater fish to a mixture of estrogenic chemicals. *Environ. Health Perspect.*, 113 : 721 - 728.
- Bringolf, R.B., Belden, J.B., Summerfelt, R.C., 2004.** Effects of atrazine on fathead minnow in a short-term reproduction assay. *Environ. Toxicol. Chem.*, 23 : 1019 - 1025.
- Brodeur, J.C., Svartz, G., Perez-Coll, C.S., Marino, D.J.G., Herkovits, J., 2009.** Comparative susceptibility to atrazine of three developmental stages of *Rhinella arenarum* and influence on metamorphosis : non-monotonous acceleration of the time to climax and delayed tail resorption. *Aquat. Toxicol.*, 91 : 161 - 170.

- Broeg, K., Lehtonen, K.K., 2006.** Indices for the assessment of environmental pollution of the Baltic sea coasts : integrated assessment of a multibiomarker approach. *Mar. Pollut. Bull.*, 53 : 508 - 522.
- Brown, R., Galloway, T., Lowe, D., Browne, A., Dissanayake, A., Jones, M., Depledge, M., 2004.** Differential sensitivity of three marine invertebrates to copper assessed using multiple biomarkers. *Aquat. Toxicol.*, 66 : 267 - 278.
- Bueno, M.J.M., Hernando, M.D., Agürea, A., Fernández-Alba, A.R., 2009.** Application of passive sampling devices for screening of micro-pollutants in marine aquaculture using LC/MS. *Talanta*, 77 : 1518 - 1527.
- Buhler, D.R., Williams, D.W., 1988.** The role of biotransformation in the toxicity of chemicals. *Aquat. Toxicol.*, 11 : 19 - 28.
- Buisson, S., Bouchart, V., Guerlet, E., Malas, J.P., Costil, K., 2008.** Level of contamination and impact of pesticides in cupped oyster, *Crassostrea gigas*, reared in ashellfish production area in Normandy (France). *J. Environ. Sci. Health, B 43* : 655 - 664.
- Byrne, M., 1990.** Annual reproductive cycles of the commercial sea urchin *Paracentrotus lividus* from an exposed intertidal and sheltered subtidal habitat on the west coast of Ireland. *Mar. Biol.*, 104 : 275 - 289.
- Cakal-Arslan, O., Parlak, H., Oral, R., Katalay, S., 2007.** The effects of nonylphenol and octylphenol on embryonic development of sea urchin (*Paracentrotus lividus*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 53 : 214 - 219.
- Callaghan, A., Fisher, T.C., Grosso, A., Holloway, G.J., Crane, M., 2002.** Effect of temperature and pirimiphos methyl on biochemical markers in *Chironomus riparius* Meigen. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 52 : 128 - 133.
- Calvet, R., Barriuso, E., Benoit, P., Bedos, C., Charnay, M.P., Coquet, Y., 2005.** Les pesticides dans le sol. Conséquences agronomiques et environnementales. Edition France agricole. Paris. p.637.
- Camus, L., Pampanin, D.M., Volpato, E., Delaney, E., Sanni, S., Nasci, C., 2004.** Total oxyradical scavenging capacity responses in *Mytilus galloprovincialis* transplanted into the Venice lagoon (Italy) to measure the biological impact of anthropogenic activities. *Mar. Pollut. Bull.*, 49 : 801 - 808.
- Candia-Carnevali, M.D., 2005.** Regenerative response and endocrine disrupters in Crinoid echinoderms : an old experimental model, a new ecotoxicological test. *In* : Matranga, V., (Ed.), *Echinodermata*. Progress in molecular and subcellular biology, subseries marine molecular biotechnology. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. pp.167-199.

- Cantú-Medellín, N., Olguín-Monroy, N.O., Méndez-Rodríguez, L.C., Zenteno-Savín, T., 2009.** Antioxidant enzymes and heavy metal levels in tissues of the black chocolate clam *Megapitaria squalida* in Bahía de La Paz, Mexico. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 56 : 60 - 66.
- Caquet, T., Roucaute, M., Mazzella, N., Delmas, F., Madigou, C., Farcy, E., Burgeot, T., Allenou, J.P., Gabellec, R., 2013.** Risk assessment of herbicides and booster biocides along estuarine continuums in the bay of Vilaine area (Brittany France). *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 20 : 651 - 666.
- Carafa, R., Wollgast, J., Canuti, E., Ligthart, J., Dueri, S., Hanke, G., Eisenreich, S.J., Viaroli, P., Zaldívar, J.M., 2007.** Seasonal variations of selected herbicides and related metabolites in water, sediment, seaweed and clams in the Sacca di Goro coastal lagoon (Northern Adriatic). *Chemosphere*, 69 : 1625 - 1637.
- Caricato, R., Lionetto, M.G., Dondero, F., Viarengo, A., Schettino, T., 2010.** Carbonic anhydrase activity in *Mytilus galloprovincialis* digestive gland : sensitivity to heavy metal exposure. *Comp. Biochem. Physiol., C* 152 : 241 - 247.
- Carlisle, S.M., Trevors, J.T., 1988.** Glyphosate in the environment. *Water, Air and Soil Pollut.*, 39 : 409 - 420.
- Carpenter, D.O., Swann, J.W., Yarowsky, P.J., 1977.** Effect of curare on responses to different putative transmitters in *Aplysia* neurons. *J. Neurobiol.*, 8 : 119 -132.
- Carr, J.A., Gentles, A., Smith, E.E., Goleman, W.L., Urquidi, L.J., Thuett, K., Kendall, R.J., Giesy, J.P., Gross, T.S., Solomon, K.R., Van Der Kraak, G., 2003.** Response of larval *Xenopus laevis* to atrazine : assessment of growth, metamorphosis and gonadal and laryngeal morphology. *Environ. Toxicol. Chem.*, 22 : 396 - 405.
- Catarino, A.I., Bauwens, M., Dubois, P., 2012.** Acid–base balance and metabolic response of the sea urchin *Paracentrotus lividus* to different seawater pH and temperatures. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 19 : 2344 - 2353.
- Çavas, T., Könen, S., 2007.** Detection of cytogenetic and DNA damage in peripheral erythrocytes of goldfish (*Carassius auratus*) exposed to a glyphosate formulation using the micronucleus test and the comet assay. *Mutagenesis*, 22 : 263 - 268.
- Chabaud, M., 2007.** Utilisation des antioxydants en hépatologie chez les carnivores domestiques. Thèse de doctorat. Option : vétérinaire. Université de Claude Bernard Lyon. France. p.126. Disponible sur : <http://www.vetagro-sup.fr>.
- Chaoui, W., Bousnoubra, H., Chaoui, K., 2013.** Étude de la vulnérabilité à la pollution des eaux superficielles et souterraines de la région de Boucheougouf (Nord-Est Algérien). *Nat. Technol. C*, 8 : 33 - 40.

- Chapman, P.M., Wang, F., 2001.** Assessing sediment contamination in estuaries. *Environ. Toxicol. Chem.*, 20 : 3 - 22.
- Cheng, C.Y., Liu, L.L., Ding, W.H., 2006.** Occurrence and seasonal variation of alkylphenols in marine organisms from the coast of Taiwan. *Chemosphere*, 65 : 2152 - 2159.
- Cherbonnier, G., 1956.** Les échinodermes de Tunisie. *Bull. Inst. Nat. Sci. Tech. Océanogr. Peche Salammbô*, 53 : 1 - 23.
- Chesworth, J.C., Donkin, M.E., Brown, M.T., 2004.** The interactive effects of the antifouling herbicides Irgarol 1051 and diuron on the seagrass *Zostera marina* (L.). *Aquat. Toxicol.*, 66 : 293 - 305.
- Choung, C.B., Hyne, R.V., Mann, R.M., Stevens, M.M., Hose, G.C., 2011.** Developmental toxicity of two common corn pesticides to the endangered southern bell frog (*Litoria raniformis*). *Environ. Pollut.*, 159 : 2648 - 2655.
- Colborn, T., SaaL, F., Soto A., 1993.** Developmental effects of endocrine disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ. Health Perspect.*, 101 : 378 - 384.
- Commission Européen, 1998.** Directive 98/8/CE du parlement européen et du conseil du 16 février 1998 concernant la mise sur le marché des produits biocides. *Journal officiel de l'union européenne* : L 123/1-61. Disponible sur : <http://eur-lex.europa.eu>. Consulté le : 11/19/ 2017.
- Commission Européen, 2000.** Directive 2000/60/CE du parlement européen et du conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. *Journal officiel de l'union européenne* : L 327/1-73. Disponible sur : <http://eur-lex.europa.eu>. Consulté le : 12/11/ 2016.
- Commission Européen, 2004a.** Directive 2004/28/CE du parlement européen et du conseil du 31 mars 2004 modifiant la directive 2001/82/CE instituant un code communautaire relatif aux médicaments vétérinaires. *Journal officiel de l'union européenne* : L 136/58 - 84. Disponible sur : <http://eur-lex.europa.eu>. Consulté le : 11/19/ 2017.
- Commission Européen, 2004b.** Directive 2004/27/CE du parlement européen et du conseil du 31 mars 2004 modifiant la directive 2001/83/CE instituant un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain. *Journal officiel de l'union européenne* : L 136/34- 57. Disponible sur : <http://eur-lex.europa.eu>. Consulté le : 11/19/ 2017.
- Commission Européen, 2004c.** Décision de la commission du 10 mars 2004 concernant la non inscription de l'atrazine à l'annexe I de la directive 91/414/CEE du conseil et

le retrait des autorisations accordées aux produits phytopharmaceutiques contenant cette substance active, notifiée sous le numéro C (2004) 731. Journal officiel de l'union européenne : L78/53-55. Disponible sur : <http://eur-lex.europa.eu>. Consulté le : 11/11/2016.

Commission Européen, 2009. Directive 1107/2009/CE du parlement européen et du conseil du 21 octobre 2009 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques et abrogeant les directives 79/117/CEE et 91/414/CEE du conseil. Journal officiel de l'union européenne : L 309/1-50. Disponible sur : <http://eur-lex.europa.eu>. Consulté le : 11/19/ 2017.

Commission Européen, 2013. Directive 2013/39/UE du parlement européen et du conseil du 12 août 2013 modifiant les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE en ce qui concerne les substances prioritaires pour la politique dans le domaine de l'eau. Journal officiel de l'union européenne. Journal officiel de l'union européenne : L 226/1-17. Disponible sur : <http://eur-lex.europa.eu>. Consulté le : 05/11/2016.

Commission Européenne, 1991. Directive 91/414/CEE du conseil du 15 juillet 1991 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques (remplacé maintenant par la directive 1107/2009/CE). Journal officiel de l'union européenne : L 230/1- 32. Disponible sur : <http://eur-lex.europa.eu>. Consulté le : 11/11/1206.

Commission Européenne, 2003. Directive 2003/53/CE du parlement européen et du conseil du 18 juin 2003 portant vingt-sixième modification de la directive 76/769/CEE du conseil concernant la limitation de la mise sur le marché et de l'emploi de certaines substances et préparations dangereuses (nonylphénol, éthoxylate de nonylphénol et ciment). Journal officiel de l'union européenne : L178/24-27. Disponible sur : <http://eur-lex.europa.eu>. Consulté le : 11/11/1206.

Commission Européenne, 2008. Directive 2008/105/CE du parlement européen et du conseil du 16 décembre 2008. Normes de qualité environnementale dans le domaine de l'eau, modifiant et abrogeant les directives du conseil 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE, 86/280/CEE et modifiant la directive 2000/60/CE du parlement européen et du conseil. Journal officiel de l'union européenne : L 348/84 -97. Disponible sur : <http://eur-lex.europa.eu>. Consulté le : 20/11/ 2015.

Contardo-Jara, V., Klingelmann, E., Wiegand, C., 2009. Bioaccumulation of glyphosate and its formulation roundup ultra in *Lumbricus variegatus* and its effects on biotransformation and antioxidant enzymes. Environ. Pollut., 157 : 57 - 63.

Cook, E.J., Kelly, M.S., 2007. Effect of variation in the protein value of the red macroalga *Palmaria palmata* on the feeding, growth and gonad composition of the sea

- urchins *Psammechinus miliaris* and *Paracentrotus lividus* (Echinodermata). *Aquac.*, 270 : 207 - 217.
- Corsi, S.R., Zitomer, D.H., Field, J.A., Cancilla, D.A., 2003.** Nonylphenol ethoxylates and other additives in aircraft deicers, antiicers and waters receiving airport runoff. *Environ. Sci. Technol.*, 37 : 4031 - 4037.
- Cossu, C., Doyotte, A., Jacquin, M. C., Babut, M., Exinger, A., Vasseur, P., 1997b.** Glutathione reductase, selenium dependent glutathione peroxidase, glutathione levels and lipid peroxidation in freshwater bivalves *Unio tumidus* as biomarkers of aquatic contamination in field studies. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 38 : 122 - 131.
- Cossu, C., Doyottr, A., Jacquin, M.C., Vasseur, P., 1997a.** Mécanisme de formation et d'effet des espèces réactives de l'oxygène . *In* : Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., Ramade, F., (Eds.), biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux. Edition Masson. Paris. pp.125 - 145.
- Coteur, G., Gosselin, P., Wantier, P., Chambost-Manciet, Y., Danis, B., Pernet, P., Warnau, M., 2003.** Echinoderms as bioindicators, bioassays and impact assessment tools of sediment associated metals and PCBs in the North sea. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 45 : 190 - 202.
- Crapp, G.B., Willis, M.E., 1975.** Age determination of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lmk) with notes on the reproductive cycle. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 20 : 385 - 407.
- Cunha, I., Garcia, L.M., Guilhermino, L., 2005.** Sea urchin (*Paracentrotus lividus*) glutathione - S transferases and cholinesterase activities as biomarkers of environmental contamination. *J. environ. Monit.*, 7 : 288 - 294.
- D'Ascenzo, G., Di Corcia, A., Gentili, A., Mancini, R., Mastropasqua, R., Nazzari, M., Samperi, R., 2003.** Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. *Sci. Total Environ.*, 302 : 199 - 209.
- Daby, D., 2006.** Coastal pollution and potential biomonitors of metals in Mauritius. *Water, Air and Soil Pollut.*, 174 : 63 - 91.
- Damiens, G., His, E., Gnassia-Barelli, M., Quiniou, F., Roméo, M., 2004.** Evaluation of biomarkers in oyster larvae in natural and polluted conditions. *Comp. Biochem. Physiol.*, C 138 : 121-128.
- Daniel, M.H.B., Montebelo, A.A., Bernardes, M.C., Ometto, J.P.H.B., De Camargo, P.B., Krusche, A.V., Ballester, M.V., Victoria, R.L., Martinelli, L.A., 2002.** Effects of urban sewage undissolved oxygen, dissolved inorganic and organic carbon and electrical conductivity of small streams along a gradient of urbanization in the Piracicaba river basin. *Water, Air and Soil Pollut.*, 136 :189 - 206.

- Dauberschmidt, C., Dietrich, D.R., Schlatter, C., 1997.** Organophosphates in the zebra mussel *Dreissena polymorpha* : subacute exposure body burdens and organ concentration. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 33 : 42 - 46.
- David, A., Fenet, H., Gomez, E., 2009.** Alkylphenols in marine environments : distribution monitoring strategies and detection considerations. Mar. Pollut. Bull., 58 : 953 - 960.
- Davidson, A., 1981.** Poisson de la Méditerranée. Edition Edisud. France. p.318.
- Davies, S.R., Cousins, R., 2000.** Metallothionein expression in animal: a physiological perspective and function. J. Nutr., 130 : 1085 - 1088.
- Davis, A.M., Thorburn, P.J., Lewis, S.E., Bainbridge, Z.T., Attard, S.J., Milla, R., Brodie, J.E., 2013.** Environmental impacts of irrigated sugarcane production : herbicide run-off dynamics from farms and associated drainage systems. Agric. Ecosyst. Environ., 180 : 123 - 135.
- Davis, G.E., Foster, J., Warren, C.E., Doudoroff, P., 1963.** The influence of oxygen concentration on the swimming performance of juvenile Pacific salmon at various temperatures. Trans. Am. Fish. Soc., 92 : 111 - 124.
- Davis, J.C., 1975.** Minimal dissolved oxygen requirements of aquatic life with emphasis on Canadian species : a review. J. Fish. Res. Board Can., 32 : 2295 - 2332.
- Day, K.E., Scott, I.M., 1990.** Use of acetylcholinesterase activity to detect sublethal toxicity in stream invertebrates exposed to low concentrations of organophosphate insecticide. Aquat.Toxicol., 18 : 101 - 114.
- De Casamajor, M.N., 2004.** Baie de Biscaye. Richesse méconnue et diversité. Edition Alexandre Dewez. Ascain. France. p.263.
- De Vittor, C., Faganeli, J., Emili, A., Covelli, S., Predonzani, S., Acquavita, A., 2012.** Benthic fluxes of oxygen, carbon and nutrients in the Marano and Grado lagoon (Northern Adriatic sea, Italy). Estuar. Coast Shelf Sci., 113 : 57 - 70.
- Del Río, L.A., Sandalio, L.M., Corpas, F.J., Palma, J.M., Barroso, J.B., 2006.** Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling. Plant Physiol., 141 : 330 - 335.
- Delaporte, M., Soudant, P., Lambert, C., Moal, J., Pouvreau, S., Samain, J.F., 2006.** Impact of food availability on energy storage and defense related hemocyte parameters of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* during an experimental reproductive cycle. Aquac., 254 : 571 - 582.
- Deme, P., Azmeera, T., Devi, B.L.A.P., Jonnalagadda, P.R., Prasad, R.B.N., Sarathi, U.V.R.V., 2014.** An improved dispersive solid-phase extraction clean-up method for the gas chromatography negative chemical ionisation tandem mass spectrometric

- determination of multiclass pesticide residues in edible oils. *Food Chem.*, 142 : 144 -151.
- Demnati, S., Chafi, A., Attarassi, B., Maamri, A., Haloui, B., Kharboua, M., Ramdani, M., 2002.** Bioaccumulation des métaux lourds chez l'oursin *Paracentrotus lividus* (Lamarck) sur la côte Est de la Méditerranée marocaine. *Actes Inst. Agron. Vét. Maroc*, 22 : 79 - 84.
- Den Besten, P.J., Valks, S., Van-Weerle, E., Nolting, R.F., Postma, J.F., Everaarts, J.M., 2001.** Bioaccumulation and biomarkers in the sea star *Asterias rubens* (*Echinodermata, Asteroidea*) : a North sea field study. *Mar. Environ. Res.*, 51 : 365 - 387.
- Deng, X., Guo, Q., Chen, X., Xue, T., Wang, H., Yao, P., 2014.** Rapid and effective sample clean-up based on magnetic multiwalled carbon nanotubes for the determination of pesticide residues in tea by gas chromatography–mass spectrometry. *Food Chem.*, 145 : 853 - 858.
- Denslow, N.D., Chow, M.C., Kroll, K.J., Green, L., 1999.** Vitellogenin as a biomarker of exposure for estrogen or estrogen mimics. *Ecotoxicol.*, 8 : 385 - 398.
- Derbal, F., 2007.** L'ichtyofaune des côtes de l'est algérien: écologie de quatre téléostéens (*diplodus cervinus cervinus*, *D. Puntazzo*, *Sciaena umbra*, *Epinephelus costae*) et contribution à la biologie du sar tambour *Diplodus cervinus cervinus* (LOWE, 1838). Thèse de Doctorat. Option : biologie et écologie des populations. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p. 213. Disponible sur : <http://biblio.univ-annaba.dz>.
- Dermeche, S.F., Chahrour, F., Boutiba, Z., 2009.** Contribution à l'étude des variations des indices physiologiques (indice de réplétion, indice gonadique et le sex-ratio) chez la population d'oursin comestibles *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) du littoral occidental Algérien. *Eur. J. Sci. Res.*, 30 : 153 - 163.
- Despreaux, M. 1990.** Le phosphore et l'azote dans les sédiments du fleuve Charente, variabilité potentielle. Thèse de Doctorat. Université de Lyon I. p.199. In : Boutabia-Trea, S., 2016. *Posidonia oceanica* (L) Delile, bioindicateur de la pollution métallique du golfe d'Annaba (Nord-est Algérien). Thèse de doctorat. Option : biologie végétale. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.246.
- Dethloff, G.M., Schlenk, D., Hamm, J.T., Bailey, H.C., 1999.** Alterations in physiological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with exposure to copper and copper/zinc mixtures. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 42 : 253 - 264.

- Di Giulio, R. T., Washburn, P. C., Wenning, R. J., Winston, G.W. and Jewell, C. S., 1989.** Biochemical responses in aquatic animals : a review of determinants of oxidative stress. *Environ. Toxicol. Chem.*, 8 : 1103 - 1123.
- Di Giulio, R.T., Habig, C., Gallagher, E.P., 1993.** Effects of black rock harbor sediments on indices of biotransformation, oxidative stress and DNA integrity in channel catfish. *Aquat. Toxicol.*, 26 : 1 - 22.
- Di Landa, G., Parrella, L., Avagliano, S., Ansanelli, G., Maiello, E., Cremisini, C., 2009.** Assessment of the potential ecological risks posed by antifouling booster biocides to the marine ecosystem of the Gulf of Napoli (Italy). *Water, Air and Soil Pollut.*, 200 : 305 - 321.
- Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J.P., Giudice, L.C., Hauser, R., Prins, G.S., Soto, A.M., Zoeller, R.T., Gore, A.C., 2009.** Endocrine disrupting chemicals : an endocrine society scientific statement. *Endocrinol. Rev.*, 30 : 293 - 342.
- Diaz, R.J., Rosenberg, R., Ansell, A.D., Gibson, R.N., Barnes, M., 1995.** Marine benthic hypoxia : a review of its ecological effects and the behavioural responses of benthic macrofauna. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.*, 33 : 245 - 303.
- Dissanayake, A., Clough, R., Spicer, J.I., Jones, M.B., 2010.** Effects of hypercapnia on acid-base balance and osmo-iono-regulation in prawns (*Decapoda : Palaemonidae*). *Bull. Aquat. Biol.*, 11 : 27 - 36.
- Dix, T.G., 1970.** Biology of *Erechinus chloroticus* (*Echinoidea : Echinodermata*) from different localities. *General N.Z. Mari. Freshw. Res.*, 4 : 91-116.
- Djabri, L., 1992.** Mécanismes de la pollution et vulnérabilité des eaux de la Seybouse. Origines géologiques, industrielles, agricoles et urbaines. Thèse de Doctorat d'état sciences. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.261. *In* : Derbal, F., 2007. L'ichtyofaune des côtes de l'est algérien: écologie de quatre téléostéens (*diplodus cervinus cervinus*, *D. Puntazzo*, *Sciaena umbra*, *Epinephelus costae*) et contribution à la biologie du sar tambour *Diplodus cervinus cervinus* (LOWE, 1838). Thèse de Doctorat. Option : Biologie et écologie des populations. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p. 213.
- Djabri, L., Mania, D., Messadi, A., Hani, R., Djaffer, S., Dffer, S., Benharket, S., Djabri, A., Aidaoui, K., Boukhmis, A., 1998.** Pollution des eaux de l'oued Seybouse et des nappes de Guelma, Bouchegouf et Annaba (Est Algérien) par les nutriments. *Bull. Intern. Eau Environ.*, 20 : 16 - 25.
- Dong, X., Zhu, L., Wang, J., Wang, J., Xie, H., Hou, X., Jia, W., 2009.** Effects of atrazine on cytochrome P450 enzymes of zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 77 : 404 - 412.

- Draredja, B., 2007.** Structure et fonctionnement d'un milieu lagunaire Méditerranéen : Lagune Mellah (El-Kala, Algérie Nord-est). Thèse de doctorat d'état : sciences de la Mer. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p. 204. Disponible sur : <http://biblio.univ-annaba.dz>.
- Droge, W., 2002.** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.*, 82 : 47 - 95.
- Durackova, Z., Djrolo, F., Houngbe, H., Avode, G., Attoulou, V., Addra, B., Kodjoh, N., Avimadj, M., 2008.** Oxidants, antioxidants and oxidative stress. *In* : Gvozđjakova, A., (Ed.), mitochondrial médecine. Springer science. Slovakia. pp.19 - 43.
- Dussart, B.H., 1966.** Limnologie. L'étude des eaux continentales. Edition Gauthier-Villars. Paris. p.678.
- Ebert, T.A., 1968.** Growth rates of the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus* related to food availability and spine abration. *Ecol.*, 49 : 1075 - 1091.
- Eck, P., Pallauf, J., 1999.** Induction of metallothionein by paraquat injection in zinc deficient rats. *J. Anim. Physiol. An. N.*, 81 : 203 - 211.
- EEA, 1999.** European Environment Agency : state and pressures of the marine and coastal Mediterranean environment. Environmental issues series No : 5, Copenhagen, Denmark. *In* : Mandalakis, M., Polymenakou, P.N., Tselepides, A., Lampadariou, N., 2014. Distribution of aliphatic hydrocarbons, polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorinated pollutants in deep sea sediments of the Southern Cretan margin, eastern Mediterranean sea : a baseline assessment. *Chemosphere*, 106 : 28 - 35.
- El Morhit, M., 2009.** Hydrochimie éléments traces métalliques et indices écotoxicologiques sur les différentes composantes d'un écosystème estuarien (Bas Loukkos). Thèse de doctorat. Option : toxicologie. Université de Mohammed V - Agdal. Rabat. Maroc. p.260. Disponible sur : <http://toubkal.imist.ma>.
- Elliott, M., Quintino, V., 2007.** The estuarine quality paradox, environmental homeostasis and the difficulty of detecting anthropogenic stress in naturally stressed areas. *Mar. Pollut. Bull.*, 54 : 640 - 645.
- Ellman, G.L, Courtney, O.K, Andrres, V., Featherstone, R.M., 1961.** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, 7 : 88 - 95.
- Epherra, L., Gil, D.G., Rubilar, T., Perez-Gallo, S., Reartes, M.B., Tolosano, J.A., 2015.** Temporal and spatial differences in the reproductive biology of the sea urchin *Arbacia dufresnei*. *Mar. Freshw. Res.*, 66 : 329 - 342.

- Espinosa, F., Guerra-García, J.M., García-Gómez, J.C., 2007. Sewage pollution and extinction risk : an endangered limpet as bioindicator ?. *Biodivers. Conser.*, 16 : 377 - 397.
- Estabrook, R.W., Cooper, D.Y., Rosenthal, O., 1963. The light reversible carbon monoxide inhibition of steroid C-21 hydroxylase system of the adrenal cortex. *Biochem. Zeit.*, 338 : 741 - 755.
- Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., Jungens, G., 1992. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic. Biol. Med.*, 13 : 341 - 390.
- Fabbrocini, A., Di Stasio, M., D'Adamo, R., 2010. Computerized sperm motility analysis in toxicity bioassays : a new approach to pore water quality assessment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 73 : 1588 - 1595.
- Fan, W., Yanase, T., Morinaga, H., Gondo, S., Okabe, T., Nomura, M., Hayes, T.B., Takayanagi, R., Nawata, H., 2007. Herbicide atrazine activates SF-1 by direct affinity and concomitant co-activators recruitments to induce aromatase expression via promoter II. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 355 : 1012 - 1018.
- Fang, H., Tong, W., Shi, L.M., Blair, R., Perkins, R., Branham, W., Hass, B.S., Xie, Q., Dial, S.L., Moland, C.L., Sheehan, D.M., 2001. Structure activity relationships for a large diverse set of natural, synthetic and environmental estrogens. *Chem. Res. Toxicol.*, 14 : 280 - 294.
- Faurie, C., Erra, C., Médorie, P., Devane, J., Remptie, J.L., 2003. *Ecologie approche scientifique et pratique*. 5^{ème} édition Lavoisier. France. p.823.
- Favier, A., 1997. Le stress oxydant: interet de sa mise en evidence en biologie medicale et problemes poses par le choix d'un marqueur. *Ann. Biol. Clin.*, 55 : 9 - 16.
- Favier, A., 2006. Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.*, 64 : 390 - 396.
- Fenaux, L., 1968. Maturation des gonades et cycle saisonier des larves chez *Arabacia lixula*, *Paracentrotus lividus* et *Psammechinus microtuberculatus* (Echinides) a Villeranches sur Mer. *Vie et Milieu Série A : Biol. Mar.*, 19 : 1 - 52.
- Fenaux, L., 1994. Five tests of food limited growth of larvae in coastal waters by comparisons of rates of development and form of echinoplutei. *Limnol. Oceanogr.*, 39 : 84 - 98.
- Fenaux, L., Cellario, C., Etienne, M., 1985. Croissance de la larve de l'oursin *Paracentrotus lividus*. *Mar. Biol.*, 86 : 151 - 157.

- Fénichel, P., Brucker-Davis, F., 2008.** Perturbateurs endocriniens environnementaux et cancer du sein : de nouveaux facteurs de risque ? *Gynécol. Obstét. Fertil.*, 36 : 969 - 977.
- Ferguson, P.L., Iden, C.R., Brownawell, B.J., 2000.** Analysis of alkylphenol ethoxylate metabolites in the aquatic environment using liquid chromatography – electrospray mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 72 : 4322 - 4330.
- Ferguson, P.L., Iden, C.R., Brownawell, B.J., 2001.** Distribution and fate of neutral alkylphenol ethoxylate metabolites in a sewage-impacted urban estuary. *Environ. Sci. Technol.*, 35 : 2428 - 2435.
- Fernandez, C., 1998.** Seasonal changes in the biochemical composition of the edible sea urchin *Paracentrotus lividus*, *Echinodermata : Echinoidea* in a lagoonal environment. *Mar. Ecol.*, 19 : 1-11.
- Fernandez, C., Pasqualin, V., Caltagirone, A., Mouillot, D., Jonhson, M., Ferrat, L., Boudouresque, C.F., 2002.** Evolution a long terme d'un stock d'oursin en milieu lagunaire. *In*: Actes du congrès international : environnement et identité en Méditerranée . Université de Corse Pascal Paoli. France. pp.177 - 183.
- Fernández, N., Beiras, R., 2001.** Combined toxicity of dissolved mercury with copper, lead and cadmium on embryogenesis and early larval growth of the *Paracentrotus lividus* sea urchin. *Ecotoxicol.*, 5 : 263 - 271.
- Fernández-Boán, M., Freire, J., Parma, A.M., Fernández, L., Orensanz, J.M., 2013.** Monitoring the fishing process in the sea urchin diving fishery of Galicia. *ICES J. Mar. Sci.*, 70 : 604 - 617.
- Ferrer, I., Hennion, M.C., Barceló, D., 1997.** Immunosorbents coupled on-line with liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization/mass spectrometry for the part per trillion level determination of pesticides in sediments and natural waters using low preconcentration volumes. *Anal. Chem.*, 69 : 4508 - 4514.
- Fischer, W., Schneider, M., Bauchot, M.L., 1987.** Fiche FAO d'identification des espèces pour des besoins de la pêche. Méditerranée et mer Noir. Zone de pêche 37. Révision 1. Vol. I. Végétaux et Invertébrée. Publication préparée par la FAO, résultat d'un accord entre la FAO et la commission des communautés européennes (projet GCP/INT/422/EEC) financée conjointement par ces deux organisations. Rome. FAO. p.760.
- Fitzpatrick, P.J., O'Halloran, J., Sheehan, D, Walsh, A.R., 1997.** Assessment of a glutathione S-transferase and related proteins in the gill and digestive gland of *Mytilus edulis* (L) as potential organic pollution biomarkers. *Biomark.*, 2 : 51 - 56.

- Folmar, L.C., Sanders, H.O., Julin, A.M., 1979.** Toxicity of the herbicide glyphosate and several of its formulations to fish and aquatic invertebrates. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 8 : 269 - 278.
- Fontecha-Cámara, M.A., Álvarez-Merino, M.A., Carrasco-Marín, F., López-Ramón, M.V., Moreno-Castilla, C., 2011.** Heterogeneous and homogeneous Fenton process using activated carbon for the removal of the herbicide amitrole from water. *Appl. Catal. B : Environ.*, 101 : 425 - 430.
- Fontecha-Cámara, M.A., López-Ramón, M.V., Pastrana-Martínez, L.M., Moreno-Castilla, C., 2008.** Kinetics of diuron and amitrole adsorption from aqueous solution on activated carbons. *J. Hazard. Mater.*, 156 : 472 - 477.
- Forlani, G, Mangiacalli, A., Nielsen, E., Suardi, C.M., 1999.** Degradation of the phosphonate herbicide glyphosate in soil : evidence for a possible involvement of unculturable microorganism. *Soil Biol. Biochem.*, 31 : 991 - 997.
- Förlin, L, Haux, C, Karlsson-Norrgrén, L, Runn, P., Larsson, Å., 1986.** Biotransformation enzyme activities and histopathology in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, treated with cadmium. *Aquat. Toxicol.*, 8 : 51 - 64.
- Fossi, M.C., Casini, S., Marsili, L., Neri, G., Mori, G., Ancora, S., Moscatelli, A., Ausili, A., Notarbartolo-di-Sciara, G., 2002.** Biomarkers for endocrine disruptors in three species of Mediterranean large pelagic fish. *Mar. Environ. Res.*, 54 : 667 - 671.
- Foureman, G.L., 1989.** Enzymes involved in metabolism of PAH by fishes and other aquatic animals : hydrolysis and conjugation enzymes (or phase II enzymes). *In* : Varanasi, U., (Ed.), *metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment*. CRC Press. Boca Raton. Florida. pp.185 - 202.
- Francioso, O., Bak, E., Rossi, N., Sequi, P., 1992.** Sorption of atrazine and trifluralin in relation to the physico-chemical characteristics of selected soils. *Sci. Total Environ.*, 123 - 124 : 503 - 512.
- Frehi, H., Couté, A., Mascarell, G., Perrette-Gallet, C., Ayada, M., Kara, M.H., 2007.** Dinoflagellés toxiques et/ou responsables de blooms dans la baie d'Annaba (Algérie). *Comptes Rendus Biol.*, 330 : 615 - 628.
- Freitas, R., Costa, E., Velez, C., Santos, J., Lima, A., Oliveira, C., Rodrigues, A.M., Quintino, V., Figueira, E., 2012.** Looking for suitable biomarkers in benthic macro-invertebrates in habiting coastal areas with low metal contamination : comparison between the bivalve *Cerastoderma edule* and the Polychaete *Diopatra neapolitana*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 75 : 109 - 118.

- Fréry, N., Fillol, C., Garnier, R., Falq, G., Bidondo, M.L., Guldner, L., Zeghnoun, A., 2017. Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement - Étude ENNS 2006 - 2007. *In Press* : DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxac.2017.06.002>.
- Gadjev, I., Vanderauwera, S., Gechev, T.S., Laloi, C., Minkov, I.N., Shulaev, V., Apel, K., Inze, D., Mittler, R., Van Breusegem, F., 2006. Transcriptomic footprints disclose specificity of reactive oxygen species signalling in Arabidopsis. *Plant Physiol.*, 141 : 436 - 445.
- Gagne, F., Blaise, C., Salazar, M., Salazar, S., Hansen, P.D., 2001. Evaluation of estrogenic effects of municipal effluents to the freshwater mussel *Elliptio complanata*. *Comput. Biochem. Physiol.*, C 128 : 213 - 225.
- Gaïd, A., 1986. L'eutrophisation des lacs et barrages. *Rev. Eaux et Sols d'Algérie.* 2 - 92 : 72 - 82.
- Gales, M., E., 1974. Determination of nitrate using copper cadmium. Inorganic Analyses section physical and chemical methods Branch. United States environmental protection agency. National environmental research center. *In* : Aminot, A., Kérouel, R., 2004. Hydrobiologie des écosystèmes marins : paramètres et analyses. Edition Ifremer. Brest. p.335.
- Galgani, F., Bocquené, G., 1989. A method for routine detection of organophosphorus and carbamates in sea water. *Enviro. Technol. Lett.*, 10 : 311 - 322.
- Galgani, F., Bocquené, G., 1998. Biomarqueurs moléculaires d'exposition des organismes marins aux pesticides organophosphorés et carbamates. *In* : Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., Ramade, F., (Eds.), utilisation des biomarqueurs pour la biosurveillance de la qualité de l'environnement. Edition TEC & DOC. Paris. p.111-134.
- Gapper, C., Dolan, L., 2006. Control of plant development by reactive oxygen species. *Plant Physiol.*, 141 : 341 - 345.
- Garcia-Reyero, N., Grau, E., Castillo, M., Lopez de Alda, M.J., Barcelo, D., Pina, B., 2001. Monitoring of endocrine disruptors in surface waters by the yeast recombinant assay. *Environ. Toxicol. Chem.*, 20 : 1152 -1158.
- Gardés-Albert, J.L., Vasson, M.P., 2005. Aspect physico-chimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène. *In* : Delattre, J., Beaudoux, J.L., Bonnefont-Rousselot, D., (Eds.), radicaux libres et stress oxydant : aspect biologiques et pathologiques. Edition TEC & DOC. Paris. pp.1 - 22.
- Garrigues, P., Raoux, C., Lemaire, P., Ribera, D., Mathieu, A., Narbonne, J.F., Lafaurie, M., 1990. In situ correlations between polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and

- PAH metabolizing system activities in mussels and fish in the Mediterranean sea : preliminary results. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 38 : 379 - 387.
- Gatidou, G., Thomaidis, N.S., Zhou, J.L., 2007.** Fate of irgarol 1051, diuron and their main metabolites in two UK marine systems after restrictions in antifouling paints. *Environ. Int.*, 33 : 70 - 77.
- Gatignol, C., Étienne, J.C., 2010.** Pesticide et santé. Rapport d'office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. Assemblée nationale : constitution du 4 octobre 1958. Treizième législature. p.262. Disponible sur : <http://www.senat.fr>.
- Gaujous, D., 1995.** La pollution des milieux aquatiques : aide mémoire. 2^{ème} édition TEC & DOC . Paris. p.220.
- Geffard, O., Budzinski, H., Augagneur, S., Seaman, M.N.L., His, E., 2001a.** Assessment of sediment contamination by spermiotoxicity and embryotoxicity bioassays with sea urchins (*Paracentrotus lividus*) and oysters (*Crassostrea gigas*). *Environ. Toxicol. Chem.*, 20 : 1606 - 1611.
- Geffard, O., His, E., Budzinski, H., Seaman, M., Garrigues, P., 2001b.** Qualité biologique de l'eau de mer évaluée *in situ* par le test embryo-larvaire de *Crassostrea gigas* et *Mytilus galloprovincialis*. *Comptes Rendus Acad. Sci. Series III : Sci. Vie*, 324 : 1149 - 1155.
- Gennaro, M.C., Abrigo, C., Giacosa, D., Rigotti, L., Liberatori, A., 1995.** Separation of phenyl urea pesticides by ion-interaction reversed phase high performance liquid chromatography : diuron determination in lagoon water. *J. Chromatogr. A*, 718 : 81 - 88.
- Geracitano, L.A., Bocchetti, R., Monserrat, J.M., Regoli, F., Bianchini, A., 2004.** Oxidative stress responses in two population of *Laeonereis acuta* (*Polychaete, Nereididae*) after acute and chronic exposure to copper. *Mar. Environ. Res.*, 58 : 1 - 17.
- Gercken, J., Sordyl, H., 2002.** Intersex in feral marine and freshwater fish from northeastern Germany. *Mar. Environ. Res.*, 54 : 651 - 655.
- Gerecke, A.C., Scharer, M., Singer, H.P., Muller, S.R., Schwarzenbach, R.P., Sagesser, M., Ochsenein, U., Popow, G., 2002.** Sources of pesticides in surface waters in Switzerland : pesticide load through waste water treatment plants - current situation and reduction potential. *Chemosphere*, 48 : 307 - 315.
- Gerstl, Z., 1990.** Estimation of organic chemical sorption by soils. *J. Contam. Hydrol.*, 6 : 357 - 375.

- Getzin, L.W., 1985.** Factors influencing the persistence and effectiveness of chlorpyrifos in soil. *J. Econ. Entomol.*, 78 : 412 - 418.
- Giacomazzi, S., Cochet, N., 2004.** Environmental impact of diuron transformation : a review. *Chemosphere*, 56 : 1021 - 1032.
- Gianguzza, P., Bonaviri, C., Prato, E., Fanelli, G., Chiantore, M., Privitera, D., Luzzu, F., Agnetta, D., 2013.** Hydrodynamism and its influence on the reproductive condition of the edible sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Marine Environ. Res.*, 85 : 29 - 33.
- Giesy, J.P., Dobson, S., Solomon, K.R., 2000.** Ecotoxicological risk assessment for roundup herbicide. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 167 : 35 - 120.
- Glasgow, H.B., Burkholder, J.M., 2000.** Water quality trends and management implications from a five year study of a eutrophic estuary. *Ecol. Appl.*, 10 : 1024 - 1046.
- Gluszczak, L., Miron, D., Moraes, B.S., Simões, R.R., Schetinger, M.R.C., Morsch, V.M., Loro, V.L., 2007.** Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Comp. Biochem. Physiol.*, C 146 : 519 - 524.
- Goldman, L.R., Koduru, S., 2000.** Chemicals in the environment and developmental toxicity to children : a public health and policy perspective. *Environ. Health Perspect.*, 108 : 443 - 448.
- Gomes, R.L., Scrimshaw, M.D., Lester, J.N., 2003.** Determination of endocrine disruptors in sewage treatment and receiving waters. *TrAC Trend Anal. Chem.*, 22 : 697 - 707.
- Gómez-Gutiérrez, A., Garnacho, E., Bayona, J.M., Albaigés, J., 2007a.** Assessment of the Mediterranean sediments contamination by persistent organic pollutants. *Environ. Pollut.*, 148 : 396 - 408.
- Gómez-Gutiérrez, A., Garnacho, E., Bayona, J.M., Albaigés, J., 2007b.** Screening ecological risk assessment of persistent organic pollutants in Mediterranean sea sediments. *Environ. Int.*, 33 : 867 - 76.
- Gong, Y., Chin, H.S., Lim, L.S., Loy, C.J., Obbard, J.P., Yong, E.L., 2003.** Clustering of sex hormone disruptors in Singapore's marine environment. *Environ. Health Perspect.*, 111 : 1448 - 1453.
- Gonor, J.J., 1973.** Reproduction cycles in oregon populations of the echinoid *Strongylocentrotus purpuratus* (Stompson). Annual gonad growth and ovarian gametogenic cycles. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 12 : 45 - 64.

- Gonzalez, M., Romestand, B., Fievet, J., Huvet, A., Lebart, M.C., Gueguen, Y., Bachère, E., 2005.** Evidence in oyster of a plasma extracellular superoxide dismutase which binds LPS. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 338 : 1089 - 1097.
- González, S., Petrovic, M., Barceló, D., 2004.** Simultaneous extraction and fate of linear alkylbenzene sulfonates coconut diethanol amides, nonylphenol ethoxylates and their degradation products in wastewater treatment plants, receiving coastal water and sediments in the Catalanian area (NE Spain). *J. Chromatogr. A*, 1052 : 111 - 120.
- Google Earth, 2017.** Google Earth. Disponible sur : <https://earth.google.com>. Consulté le : 17/07/2017.
- Götz, C., Kase, R., Hollender, J., 2011.** Micropolluants système d'évaluation de la qualité des eaux au vu des composés traces organiques de l'assainissement communal. Eawag, Dübendorf : OFEV. *In* : Mettler, S., Götz, C., 2013. Modélisation du flux de micropolluants issus des rejets des stations d'épurations dans le territoire de la CIPEL (bassins du Léman et Rhône aval). *Rapp. Comm. int. prot. eaux Léman contre pollut. Campagne 2013 - 2014*. pp.175 - 197. Disponible sur : <http://www.cipel.org>. Consulté le : 26/11/2016.
- Grandjean, D., 2005.** Comprendre le stress oxydatif cellulaire chez le chien. *Nouv. Prat. Vet.*, 22 : 11 - 15.
- Graumann K, Breithofer A, Jungbauer A. 1999.** Monitoring of estrogen mimics by a recombinant yeast assay : synergy between natural and synthetic compounds ?. *Sci. Total Environ.*, 225 : 69 - 79.
- Gravato, C., Oliveira, M., Santos, M.A., 2005.** Oxidative stress and genotoxic responses to resin acids in Mediterranean mussels. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 61 : 221 - 229.
- Griendling, K.K., Minieri, C.A., Ollerenshaw, J.D., Alexander, R.W., 1994.** Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.*, 74 : 1141 - 1148.
- Griendling, K.K., Sorescu, D., Ushio-Fukai, M., 2000.** NAD(P)H oxidase : role in cardiovascular biology and disease. *Circ. Res.*, 86 : 494 - 501.
- Grimes, S., 2010.** Peuplements benthiques des substrats meubles de la côte Algérienne : taxonomie, structure et statut écologique. Thèse de doctorat. Option : biologie et pollution marines. Université d'Ahmed Ben Bella. Oran. Algérie. p. 362. Disponible sur : <http://www.unicaen.fr>.
- Guettaf, M., Maoui, A., Ihdene, Z., 2014.** Assessment of water quality : a case study of the Seybouse river (North-east of Algeria). *Appl. Water Sci.*, DOI : [10.1007/s13201-014-0245-z](https://doi.org/10.1007/s13201-014-0245-z).

- Guettaf, M., San Martin, G.A., Francour, P., 2000.** Interpopulation variability of the reproductive cycle of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in the southwestern Mediterranean. *J. Mar. Biol. Assoc. UK.*, 80 : 899 - 907.
- Guppy, M., Withers, P., 1999.** Metabolic depression in animals : physiological perspectives and biochemical generalizations. *Biol. Rev.*, 74 : 1 - 40.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W., 1974.** Glutathione - S transferase : The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 249 : 7130 - 7139.
- Hadfield, S.T., Sadler, J.K., Bolygo, E., Hill, S., Hill, I.R., 1993.** Pyrethroid residues in sediment and water samples from mesocosm and farm pond studies of simulated accidental aquatic exposure. *Pestic. Sci.*, 38 : 283 - 294.
- Hadjadji, I., Frehi, H., Ayada, L., Abadie, E., Collos, Y., 2014.** A comparative analysis of *Alexandrium catenella* /tamarensis blooms in Annaba bay (Algeria) and Thau lagoon (France) ; phosphorus limitation as a trigger. *Comptes Rendus Biol.*, 337 : 117 - 122.
- Hafsaoui, I., Draredja, B., Lasota, R., Como, S., Magni, P., 2016.** Population dynamics and secondary production of *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) in the Gulf of Annaba (Northeast Algeria). *Medit. Mar. Sci.*, 17 : 738 - 750.
- Hahlbeck, E., Griffiths, R., Bengtsson, B.E., 2004a.** The juvenile three spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) as a model organism for endocrine disruption I. Sexual differentiation. *Aquat. Toxicol.*, 70 : 287 - 310.
- Hahlbeck, E., Katsiadaki, I., Mayer, I., Adolfsson-Erici, M., James, J., Bengtsson, B.E., 2004b.** The juvenile three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) as a model organism for endocrine disruption. II. Kidney hypertrophy, vitellogenin and spiggin induction. *Aquat. Toxicol.*, 70 : 311 - 326.
- Hajime, O., Katsuhisa, O., Hiroshi, Y., 2005.** Identification of cytochrome P450 and glutathione -S transferase genes preferentially expressed in chemosensory organs of the swallowtail butterfly, *Papilio xuthus* L. *Insect. Biochem. Mol. Biol.*, 35 : 837 - 846.
- Hale, R.C., Smith, C.L., De Fur, P.O., Harvey, E., Bush, E.O., 2000.** Nonylphenols in sediments and effluents associated with diverse wastewater outfalls. *Environ. Toxicol. Chem.*, 19 : 946 - 952.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P., 2007.** Le stress oxydant. *Rev. Méd. Liège*, 62 : 628 - 638.
- Halliwell, B., 1987.** Oxidants and human disease : some new concepts. *Fed. Am. Soc. Exp. Biol. J.*, 1 : 358 - 364.

- Halliwell, B., Gutteridge, J.M., 1986.** Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine : some problems and concepts. Arch. Biochem. Biophys., 246 : 501 - 514.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M., 1988.** Free radicals and antioxidant protection: mechanisms and significance in toxicology and disease. Hum. Toxicol., 7 : 7 - 13.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M., 1999.** Free radicals in biology and medicine. 3rd edition. Oxford science publications. Oxford. In : Delattre, J., Beaudeau, J.L., Bonnefont-Rousselot, D., (Eds.), radicaux libres et stress oxydant : aspect biologiques et pathologiques. Edition TEC & DOC. Paris. pp.45 - 80.
- Hamanaka, R.B., Chandel, N.S., 2010.** Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. Trends Biochem. Sci., 35 : 505 - 513.
- Hamdani, A., Soltani-Mazouni, N., 2011.** Changes in biochemical composition of the gonads of *Donax trunculus* L. (Mollusca, Bivalvia) from the Gulf of Annaba (Algeria) in relation to reproductive events and pollution. Jordan J. Biol. Sci. 4 : 149 - 155.
- Hamid-Öğüş, I., Mevhile, B., Aksoy, Y., Müftüoğlu, M., Özer, N., 1997.** The effects of oxidative stress on the redox system of the human erythrocyte. In : Özben, T., (Ed.), free radicals, oxidative stress and antioxidants : pathological and physiological significance. Plenum Edition. New York. pp. 25 - 39.
- 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*. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 61 : 397 - 404.
- Handy, R.D., Galloway, T.S., Depledge, M.H., 2003.** A proposal for the use of biomarkers for the assessment of chronic pollution and in regulatory toxicology. Biomark., 12 : 331 - 343.
- Hansen, A.L., Robinson, R.J., 1953.** The determination of organic phosphorus in sea water with perchloric acid oxidation. J. Mar. Res., 12 : 31 - 42.
- Haridi, A., Ziouch, O.R., Abdennour, C., hadef, H., Bendjedid, R., Tazir, K., Diaf, A., Ounissi, M., 2006.** Caractérisation hydrologique des masses d'eaux dans le système Estuarien du Mafrag (Algérie). Actes des 8^{èmes} journées Tunisiennes des sciences de la mer Hammamet. Bulletin de l'INSTM N°11. pp.14 -18.
- Harmelin, J.C., Bouchon, C., Hong, J.S., 1981.** Impact de la pollution sur la distribution des échinodermes des substrats durs en Provence (Méditerranée Nord occidentale). Téthys, 10 : 13 - 36.

- Harmelin, J.G., Bouchon, C., Duval, C., Hong, J.S., 1980.** Les échinodermes des substrats durs de l'île de port-Corse, parc national (Méditerranée Nord occidental). Elément pour un inventaire quantitatif. Trav. Sci. Parc Nation. Port-Corse Fr., 6 : 25 - 38.
- Harrison, P.K., Falugi, C., Angelini, C., Whitaker, M.J., 2002.** Muscarinic signalling affects intracellular calcium concentration during the first cell cycle of sea urchin embryos. Cell. Calcium, 31 : 289 - 297.
- Hayes, T.B., Anderson, L.L., Beasley, V.R., De Solla, S.R., Iguchi, T., Ingraham, H., Kestemont, P., Kniewald, J., Kniewald, Z., Langlois, V.S., Luque, E.H., McCoy, K.A., Munoz de Toro, M., Oka, T., Oliveira, C.A., Orton, F., Ruby, S., Suzawa, M., Tavera-Mendoza, L.E., Trudeau, V.L., Victor-Costa, A.B., Willingham, E., 2011.** Demasculinization and feminization of male gonads by atrazine: consistent effects across vertebrate classes. J. Steroid Biochem. Mol. Biol., 127 : 64 - 73.
- Hayes, T.B., Collins, A., Lee, M., Mendoza, M., Noriega, N., Stuart, A.A., 2002.** Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 99 : 5476 - 5480.
- Hazarika, A., Sarkar, S.N., 2001.** Effect of isoproturon pretreatment on the biochemical toxicodynamics of anilofos in male rats. Toxicol., 165 : 87 - 95.
- Hazen, S.L., Zhang, R., Shen, Z., Wu, W., Podrer, E.A., Mac Pherson, J.C., Schmitt, D., Mitra, S.M., Mukhopadhyay, C., Chen, Y., Cohen, P.A., Hoff, H.F., Abu-Soud, H.M., 1999.** Formation of nitric oxide derived oxidants by myeloperoxidase in monocytes. Circ. Res., 85 : 950 - 958.
- He, Z.L., Yanga, X.E., Stoffellab, P.J., 2005.** Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. J. Trace Elem. Med. Biol., 19 : 125 - 140.
- Heemken, O.P., Reincke, H., Stachel, B., Theobald, N., 2001.** The occurrence of xenoestrogens in Elbe River and North sea. Chemosphere, 45 : 245 - 259.
- Heppell, S. A., Denslow, N. D., Folmar, L. C., Sullivan, C. V., 1995.** Universal assay for vitellogenin as a biomarker for environmental estrogens. Environ. Health Perspect., 103 : 9 - 15.
- Hernando, M.D., Ejerhoon, M., Fernandez-Alba, A.R., Chisti, Y. 2003.** Combined toxicity effects of MTBE and pesticides measured with *Vibrio fischeri* and *Daphnia magna* bioassays. Water Res., 37 : 4091 - 4098.
- Hidouci, S., 2015.** Impact des rejets urbains et industriels sur la qualité environnementale du littoral d'Annaba. Thèse de doctorat. Option : sciences de la mer. Université Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.124. Disponible sur : <http://biblio.univ-annaba.dz>.

- Hildebrandt, A., Guillamon, M., Lacorte, S., Tauler, R., Barcelo, D., 2008. Impact of pesticides used in agriculture and vineyards to surface and groundwater quality (North Spain). *Water Res.*, 42 : 3315 - 3326.
- Hill, M., Stabile, C., Steffen, L.K., Hill, A. 2002. Toxic effects of endocrine disrupters on freshwater sponges : common developmental abnormalities. *Environ. Pollut.*, 117 : 295 - 300.
- Himmelman, J.H., Guderley, H., Vignault, G., Drouin, G., Wells, P.G. 1984. Response of the sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*, to reduced salinities : importance of size, acclimation, and interpopulation differences. *Can. J. Zool.*, 62 : 1015 - 1021.
- Hinga, K.R., 2002. Effects of pH on coastal marine phytoplankton. *Mari. Ecol. Prog. Ser.*, 238 : 281 - 300.
- Hogan, J.W., 1970. Water temperature as a source of variation in specific activity of brain acetylcholinesterase of bluegills. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 5 : 347 - 353.
- Huggett, D.B., Foran, C.M., Brooks, B.W., Weston, J., Peterson, B., Marsh, K.E., La Point, T.W., Schlenk, D., 2003. Comparison of in vitro and in vivo bioassays for estrogenicity in effluent from North American municipal wastewater facilities. *Toxicol. Sci.*, 72 : 77 - 83.
- Hühnerfuss, H., Bester, K., Landgraff, O., Pohlmann, T., Selke, K., 1997. Annual balances of hexachlorocyclohexanes, polychlorinated biphenyls and triazines in the German Bight. *Mar. Pollut. Bull.*, 34 : 419 - 426.
- Humphrey, C.A., King, S.C., Klumpp, D.W., 2007. A multibiomarker approach in barramundi (*Lates calcarifer*) to measure exposure to contaminants in estuaries of tropical North Queensland. *Mar. Pollut. Bull.*, 54 : 1569 - 1581.
- Hwang, I., Lee, J., Huh, J.Y., Park, J., Lee, H.B., Ho, Y.S., Ha, H., 2012. Catalase deficiency accelerates diabetic renal injury through peroxisomal dysfunction. *Diabetes*, 61 : 728 - 738.
- Hyman, L.H., 1955. The invertebrate. Vol.4. *Echinodermata* : the coelomate Bilateria. Mc Craw-Hill Edition. New-York. p.763.
- Ishibashi, H., Hirano, M., Matsumura, N., Watanabe, N., Takao, Y., Arizono, K., 2006. Reproductive effects and bioconcentration of 4-nonylphenol in medaka fish (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*, 65 : 1019 - 1026.
- Jablonowski, N.D., Schäffer, A., Burauel, P., 2011. Still present after all these years: persistence plus potential toxicity raise questions about the use of atrazine. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 18 : 328 - 331.

- Jackson, J., Sutton, R., 2011.** Sources of endocrine disrupting chemicals in urban wastewater, Oakland. *Sci. Total Environ.*, 405 : 153 - 160.
- Janer, G., Porte, C., 2007.** Sex steroids and potential mechanisms of non-genomic endocrine disruption in invertebrates. *Ecotoxicol.*, 16 : 145 - 160.
- Jenssen, B.M., 2006.** Endocrine disrupting chemicals and climate change : a worstcase combination for Arctic marine mammals and sea birds ?. *Environ. Health Perspect.*, 114 : 76 - 80.
- Jobling, S., Nolan, M., Tyler, C.R., Brighty, G.C., Sumpter, J.P., 1998.** Widespread sexual disruption in wild fish. *Environ. Sci. Technol.*, 32 : 2498 - 2506.
- Jobling, S., Sheahan, D., Osborne, J.A., Matthiessen, P., Sumpter, J.P., 1996.** Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.*, 15 : 194 - 202.
- Johansen, K., Vadas, R.L., 1967.** Oxygen uptake and response to respiratory stress in sea urchins. *Biol. Bull.*, 132 : 16 - 22.
- Joint, I., Lewis, J., Aiken, J., Proctor, R., Moore, G., Higman, W., Donald, M., 1997.** Interannual variability of PSP (paralytic shellfish poisoning) out breaks on the North-east UK coast. *J. Plankton Res.*, 19 : 937 - 956.
- Jones, R., 2005.** The ecotoxicological effects of photosystem II herbicides on corals. *Mar. Pollut. Bull.*, 51 : 495 - 506.
- Jones, R.J., Heyward, A.J., 2003.** The effects of produced formation water (PFW) on coral and isolated symbiotic dinoflagellates of coral. *Mar. Freshw. Res.*, 54 : 1 - 10.
- Jones, R.J., Kerswell, A.P., 2003.** Phytotoxicity of photosystem II (PSII) herbicides to coral. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 261 : 149 - 159.
- Jones, R.J., Muller, J., Haynes, D., Schreiber, U., 2003.** Effects of herbicides diuron and atrazine on corals of the great barrier reef, Australia. *Mar. Ecol. prog. Ser.*, 251 : 153 - 167.
- Jonkers, N., Laane, R.W.P.M., De Voogt, P., 2005.** Sources and fate of nonylphenol ethoxylates and their metabolites in the Dutch coastal zone of the North sea. *Mar. Chem.*, 96 : 115 - 135.
- Jonkers, N., Sousa, A., Galante-Oliveira, S., Barosso, C.M., Kohler, H.P., Giger, W., 2010.** Occurrence and sources of selected phenolic endocrine disruptors in Ria de Aveiro. Portugal. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 17 : 834 - 843.
- JORA, 2003.** Journal officiel de la republique Algérienne démocratique et populaire N° 9. Disponible sur : <http://www.douane.gov.dz>. Consulté le : 13/08/2017.

- JORA., 1987.** Journal officiel de la république Algérienne. Loi N°87-17 du 1^{er} août 1987 relative à la protection phytosanitaire. Recueil OEPP de réglementation phytosanitaire d'Algérie. 98/6927. Disponible sur : <https://www.eppo.int>. Consulté le : 05/08/2017.
- Kadri, S., Dahel, A., Djebbari, N., Barour, C., Bensouilah, M., 2015.** Environmental Parameters Influence on the Bacteriological Water Quality of the Algerian North East Coast. *Adv. Environ. Biol.*, 9: 180 - 189.
- Kadri, S.E.H., 2015.** Qualité bacteriologique des eaux du littoral Nord Est Algerien. Thèse de Doctorat. Option : biologie et physiologie des organismes marins. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.191. Disponible sur : <http://biblio.univ-annaba.dz>.
- Kaiser, J., 2001.** Bioindicators and biomarkers of environmental pollution and risk assessment. Science publ. edition. Michigan. p.204.
- Kalman, J., Riba, I., Martin-Diaz, M.L., Blasco, J., Delvalls, T.A., 2006.** Metallothionein levels in the liver and blood of *Sparus aurata* as biomarker to cadmium intoxication. *Mar. Environ. Res.*, 62 : 390 - 391.
- Kamat, J.P., Devasagayam, T.P., Priyadarsini, K.I., Mohan, H., 2000.** Reactive oxygen species mediated membrane damage induced by fullerene derivatives and its possible biological implications. *Toxicol.*, 155 : 55 - 61.
- Kannan, N., Yamashita, N., Petrick, G., Duinker, J.C., 1998.** Polychlorinated biphenyls and nonylphenols in the Sea of Japan. *Environ. Sci. Technol.*, 32 : 1747 - 1753.
- Kawashima, K., Fujii, T., 2000.** Extraneuronal cholinergic system in lymphocytes. *Pharmacol. Ther.*, 86 : 29 - 48.
- Keblouti, K., Ouerdachi, K., Berhail, S., 2015.** The use of weather radar for rainfall runoff modeling, case of Seybouse watershed (Algeria). *Arab. J. Geosci.*, 8 : 1 - 11.
- KEMI, 2006.** Rapport 2/06 Kemiska ämnen i båtbottnfärgeren undersökning av koppar, zink och Irgarol 1051 runt Bullandö marina 2004. Disponible sur : <http://www.kemi.se>. Consulté le : 9 /11/ 2016.
- Kempf, M.,1962.** Recherche d'écologie comparée sur *Paracentrotus lividus* (Lmk) et *Arbacia lixula*. *Rec. Trav. Stn. Mar. Endoume Fr.*, 25 : 47 - 116.
- Kenaga, E.D.,1972.** Factors related to bioconcentration of pesticides. *In* : Matsumura, F., (Ed.), environmental toxicology of pesticides. Academic press edition. New York. p.193 - 228.
- Key, P.B., Wirth, E.F., Fulton, M.H., 2006.** A review of grass shrimp, *Palaemonetes* spp., as a bioindicator of anthropogenic impacts. *Environ. bioindic.*, 1 : 115 - 128.

- Khélifi-Touhami, M., Ounissi, M., Saker, I., Haridi, A., Djorfi, S., Abdenour, C., 2006.** The hydrology of the Mafrag estuary (Algeria) : Transport of inorganic nitrogen and phosphorus to the adjacent coast. *J. Food Agric. Environ.*, 4 : 340 - 346.
- Kloas, W., Lutz, I., Springer, T., Krueger, H., Wolf, J., Holden, L., Hosmer, A., 2009.** Does atrazine influence larval development and sexual differentiation in *Xenopus laevis*? *Toxicol. Sci.*, 107 : 376 - 384.
- Kloeppe, H., Koerdel, W., Stein, B., 1997.** Herbicide transport by surface runoff and herbicide retention in a filter strip rainfall and runoff simulation studies. *Chemosphere*, 35 : 129 - 141.
- Knutzen, J., 1981.** Effects of decreased pH on marine organism. *Mar. Pollut. Bull.*, 12 : 25 - 29.
- Ko, T.Z., Safo, M.K., Musayev, F.N., Di Salvo, M.L., Wang, C., Wu, S.H., Abraham, D.J., 2000.** Structure of human erythrocyte catalase. *Acta Cryst.*, D 56 : 241 - 246.
- Kobayashi, N., 1977.** Preliminary experiments with sea urchin pluteus and metamorphosis in marine pollution bioassay. *Publ. Seto. Mar. Biol. Lab.*, 24 : 9 - 21.
- Kobayashi, N., 1980.** Comparative sensitivity of various developmental stages of sea urchins to some chemicals. *Mar. Biol.*, 58 : 163 - 171.
- Kobayashi, N., 1981.** Comparative toxicity of various chemicals, oil extracts and oil dispersant extracts to Canadian and Japanese sea urchin eggs. *Publ. Seto. Mar. Biol. Lab.*, 26 : 123 - 133.
- Kobayashi, N., 1984.** Marine ecotoxicological testing with echinoderms. *In* : Persoone, G., Jaspers, E., Claus, C., (Eds.), *ecotoxicological testing for the marine environment*. State university of Ghent and Institute Marine Scientific Research. Belgium. pp. 34 - 405.
- Kobayashi, N., 1990.** Marine pollution bioassay by sea urchin eggs, attempt to enhance sensitivity. *Publ. Seto. Mar. Biol. Lab.*, 34 : 225 - 237.
- Kobayashi, N., 1994.** Application of eggs of the sea urchin *Diadema setosum* in marine pollution bioassay. *Phuket Mar. Biol. Cent. Res. Bull.*, 59 : 91 - 94.
- Kobayashi, N., Okamura, H., 2002.** Effects of new antifouling compounds on the development of sea urchin. *Mar. Pollut. Bull.*, 44 : 748 - 751.
- Koelle, G.B., 1994.** Pharmacology of organophosphates. *J. Appl. Toxicol.*, 14 : 105 - 109.
- Kolpin, D.W., Thurman, E.M., Lee, E.A., Meyer, M.T., Furlong, E.T., Glassmeyer, S.T., 2006.** Urban contributions of glyphosate and its degradate AMPA to streams in the United States. *Sci. Total Environ.*, 354 : 191 - 197.

- Konovalove, S.M., 1995.** Anthropogenic impact and ecosystems of the Black sea. Bull. Inst. Oceanog. Monaco, 15 : 53 - 83.
- Konstantinou, I.K., Albanis, T.A., 2004.** Worldwide occurrence and effects of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment : a review. Environ. Intern., 30 : 235 - 248.
- Kormas, K.A., Nicolaidou, A., Reizopoulou, S., 2001.** Temporal variations of nutrients, chlorophyll a and particulate matter in three coastal lagoons of Amvrakikos Gulf (Ionian sea, Greece). Mar. Ecol., 22 : 201 - 213.
- Kowaltowski, A.J., De Souza-Pinto, N.C., Castilho, R.F., Vercesi, A.E., 2009.** Mitochondria and reactive oxygen species. Free Radic. Biol. Med., 47 : 333 - 343.
- Kraffe, E., Tremblay, R., Belvin, S., Le Coz, J.R., Marty, Y., Guderley, H., 2008.** Effect of reproduction on escape responses, metabolic rates and muscle mitochondrial properties in the scallop *Placopecten magellanicus*. Mar. Biol., 156 : 25 - 38.
- Kuch, H.M., Ballschmiter, K., 2000.** Determination of endogenous and exogenous estrogens in effluents from sewage treatment plants at the ng/L level. Environ. Sci. Technol., 366 : 392 - 395.
- Kuiper, G.G., Enmark, E., Pelto-Huikko, M., Nilsson, S., Gustafsson, J.A., 1996.** Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 93 : 5925 - 5930.
- Labrot, F.R.D., Tisnerat, G., Cabridenc, R., Narbonne, J.F., 1996.** Le plomb dans l'environnement : sources, mécanismes de transfert et effets biologiques. In : Morlot, M. (Ed.), aspects analytiques du plomb dans l'environnement. Edition Tec & Doc. France, pp. 3 - 15.
- Lacaze, J.C., 1996.** L'eutrophisation des eaux marines et continentales : causes, manifestations, conséquences et moyens de lutte. Edition Ellipses. Paris. p.191.
- Lacaze, J.C., Ramade, F., 1993.** La dégradation de l'environnement côtier, conséquences écologique. Science de l'environnement 8. Edition Masson. Paris. p.149.
- Lafont, R., Mathieu, M., 2007.** Steroids in aquatic invertebrates. Ecotoxicol., 16 : 109 - 130.
- Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., 1997.** Biomarqueurs en écotoxicologie : principe et définition. In : Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., Ramade, F., (Eds.), biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux. Edition Masson. Paris. pp.125 - 145.
- Laguerre, C., Sanchez-Hernandez, J.C., Köhler, H.R., Triebkorn, R., Capowiez, Y., Rault, M., Mazzia, C., 2009.** B-type esterases in the snail *Xeropicta derbentina* : An

- enzymological analysis to evaluate their use as biomarkers of pesticide exposure. *Environ. Pollut.*, 157 : 199 - 207.
- Lambropolou, A., Sakkas, V.A., Albanis, T.A., 2002.** Analysis of antifouling biocides irgarol 1051 and sea-Nine 211 in environmental water samples using solid phase microextraction and gas chromatography. *J. Chromatogr. A*, 952 : 215 - 227.
- Lamoree, M.H., Swart, S.P., Van Der Horst, A., Van Hattum, B., 2002.** Determination of diuron and the antifouling paint biocide irgarol 1051 in Dutch marinas and coastal waters. *J. Chromatogr. A*, 970 : 183 - 190.
- Landa, G., Parrella, L., Avagliano, S., Ansanelli, G., Maiello, E., Cremisini, C., 2009.** Assessment of the potential ecological risks posed by antifouling booster biocides to the marine ecosystem of the Gulf of Napoli (Italy). *Water, Air and Soil Pollut.*, 200 : 305 - 321.
- Landgraf, M.D., Da Silva, S.C., DeRezende, M.O., 1998.** Mechanism of metribuzin herbicide sorption by humic acid simples from peat and vermicompost. *Anal. Chim. Acta*, 368 : 155 - 164.
- Landrigan, P.J., Schechter, C.B., Lipton, J.M., Fahs, M.C., Schwartz, J., 2002.** Environmental pollutants and disease in american children : estimates of morbidity, mortality, and costs for lead poisoning, asthma, cancer and developmental disabilities. *Environ. Health Perspect.*, 10 : 721 - 728.
- Langiano, V.D., Martinez, C.B.R., 2008.** Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, C 147 : 222 - 231.
- Langlois, V.S., Carew, A.C., Pauli, B., Wade, M.G., Cooke, G.M., Trudeau, V.L., 2010.** Low levels of the herbicide atrazine alter sex ratios and reduce metamorphic success in *Rana pipienstadpoles* raised in outdoor mesocosms. *Environ. Health Perspect.*, 118 : 552 - 557.
- Langston, W.J., Spence, S.K., 1995.** Biological factors involved in metal concentrations observed in aquatic organisms. *In* : Tessier, A., Turner, D.R., (Eds.), metal speciation and bioavailability in aquatic systems. John Wiley & Sons edition. New York. pp. 407 - 478.
- Lasiak, T.A., Barnard, T.C.E., 1995.** Recruitment of the brown mussel *Perna perna* onto natural substrata : a refutation of the primary/secondary settlement hypothesis. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 12 : 147 - 153.

- Law, R.J., Waldock, M.J., Allchin, C.R., Laslett, R.E., Bailey, K.J., 1994.** Contaminants in seawater around England and Wales : results from monitoring surveys, 1990 - 1992. *Mar. Pollut. Bull.*, 28 : 668 - 675.
- Lawrence, J.M., 2013.** Sea urchins : biology and ecology. 3rd edition, *Dev. Fish. Sci.*, 38 : 297 - 319.
- Lawrence, J.M., Guille, A., 1982.** Organic composition of tropical polar and temperate water echinoderms. *Comp. Biochem. Physiol.*, B 72 : 283 - 287.
- Lawrence, J.M., Lane, J.M., 1982.** The utilisation of nutrients by postmetamorphic echinoderms. *In* : Jangous, M., Lawrence, J.M., (Eds.), echinoderm nutrition. Balkema CRC Press. Rotterdam. pp. 331 - 371.
- LCHF, 1976.** Extension du port d'Annaba. Etude générale des conditions naturelles dans le golfe (synthèse finale du LCHF), p : 50. *In* : Derbal, F., 2007. L'ichtyofaune des côtes de l'est algérien: écologie de quatre téléostéens (*diplodus cervinus cervinus*, *D. Puntazzo*, *Sciaena umbra*, *Epinephelus costae*) et contribution à la biologie du sar tambour *Diplodus cervinus cervinus* (LOWE, 1838). Thèse de Doctorat. Option : biologie et écologie des populations. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.213.
- Le Direac'H, J.P., Boudouresque, C.F., Antolic, B., Kocatas, A., Panayotidis, P., Pancucci, A., Semroud, R., Spain, A., Zaouali, J., Zavodnik, D., 1987.** Rapport sur la pêche des oursins en méditerranée. *In* : Boudouresque, C.F., (Ed.), colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. GIS Posidonie. Publ., France. pp. 335 - 362.
- Le Gall, P., Bucaille, D., Dutot, P., 1989.** Resistance aux variations de salinité chez *Paracentrotus* et *Psammechinus*. *Vie Mar. H.S.*, 10 : 83 - 84.
- Le Pape O., Del Amo, Y., Ménesguen, A., Aminot, A., Quéguiner, B., Tréguer, P., 1996.** Resistance of a coastal ecosystem to increasing eutrophic condition the bay of Brest (France), a semi enclosed zone of Western Europe. *Cont. Shelf. Res.*, 16 : 1885 - 1907.
- Le, T.H., Lim, E.S., Lee, S.K., Choi, Y.W., Kim, Y.H., Min, J., 2010.** Effects of glyphosate and methidation on the expression of the Dhb, Vtg, Arnt, CYP4 and CYP314 in *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 79 : 67 - 71.
- LeBlanc, G.A., Cochrane, B.J., 1985.** Modulation of substrate specific glutathione - S transferase activity in *Daphnia Magna* with concomitat effects on toxicity tolerance. *Comp. Bioch. Physiol.*, C 82 : 37 - 42.

- LeBlanc, G.A., Mu, X., Rider, C.V., 2000.** Embryotoxicity of alkylphenol degradation product 4 nonylphenol to the crustacean *Daphnia magna*. Environ. Health Perspect., 108 : 1133 - 1138.
- Lecchini, D., Lenfant, P., Planes, S., 2002.** Variation in abundance and population dynamics of the sea urchin *Paracentrotus lividus* on the catalan coast (North-western Mediterranean sea) in relation to habitat and marine reserve. Vie et Milieu, 52 : 111- 118.
- Ledireach, J.P., 1987.** La pêche des oursins en méditerranée : histoire, techniques, législation et production. In : Boudouresque, C.F., (Ed.), colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. GIS Posidonie. Publ., France. pp. 335 - 362.
- Legube, B., Merlet, N., Brunet, R., Mialocq, J.C., Leroy, P., Houssin, M., Lavison, G., Bechemin, C., Vincent, M., 2009.** L'Analyse de l'eau. 9^{ème} édition Dunod. Paris. p.1579.
- Lehtonen, K.K., Schiedek, D., Köhler, A., Lang, T., Vuorinen, P.J., Förlin, L., Baršienė, J., Pempkowiak, J., Gercken, J., 2006.** The BEEP project in the Baltic sea : overview of results and outline for a regional biological effects monitoring strategy. Mar. Pollut. Bull. 53 : 523 - 537.
- Leiniö, S., Lehtonen, K.K., 2005.** Seasonal variability in biomarkers in the bivalves *Macoma balthica* and *Mytilus edulis* from the Northern Baltic sea. Comp. Biochem. Physiol., C 140 : 408 - 421.
- Lemée, R., Boudouresque, C.F., Gobert, J., Malestroit, P., Mari, X., Meinesz, A., Menager, V., Ruitton, S., 1996.** Feeding behaviour of *Paracentrotus lividus* in the presence of *Caulerpa taxifolia* introduced in the Mediterranean sea. Oceanol. Acta, 19 : 245 - 253.
- Leung, K. M.Y., Dewhurst, R.E., Halldórsson, H., Svavarsson, J., 2005.** Metallothioneins and trace metals in the dogwhelk *Nucella lapillus* (L.) collected from Icelandic coasts. Mar. Pollut. Bull., 51 : 729 - 737.
- Leveau, M., Maestrini, S.Y., Marchand, M., Martin, J.L., 1988.** Le milieu marin côtier : Milieu spécifique, récepteur d'apports polluants multiples. Océan., 14 : 639 - 650.
- Lewis, S.E., Brodie, J.E., Bainbridge, Z.T., Rohde, K.W., Davis, A.M., Masters, B.L., Maughan, M., Devlin, M.J., Mueller, J.F., Schaffelke, B., 2009.** Herbicides : a new threat to the Great Barrier Reef. Environ. Pollut., 157 : 2470 - 2484.

- Li, D., Dong, M., Shim, W.J., Hong, S.H., Oh, J.R., Yim, U.H., Jeung, J.H., Kanan, N., Kim, E.S., Cho, S.R. 2005. Seasonal and spatial distribution of nonylphenol and IBP in Saemangeum bay, Korea. *Mar. Pollut. Bull.*, 51 : 966 - 974.
- Li, D., Dong, M., Shim, W.J., Yim, U.H., Hong, S.H., Kannan, N., 2008. Distribution characteristics of nonylphenolic chemicals in Masan Bay environments, Korea. *Chemosphere*, 71 : 1162 -1172.
- Linde-Arias, A.R., Inacio, A.F., Novo, L.A., De Albuquerque, C., Moreira, J.C., 2008. Multibiomarker approach in fish to assess the impact of pollution in a large Brazilian river, Paraíba do Sul. *Environ. Pollut.*, 156 : 974 - 979.
- Lipok, J., Studnik, H., Gruyaert, S., 2010. The toxicity of Roundup® 360 SL formulation and its main constituents : Glyphosate and isopropylamine towards non target water photoautotrophs. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 73 : 1681 - 1688.
- Livingstone, D., 1993. Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarkers in the aquatic environment. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 57 : 195 - 211.
- Logan, T.J., Davidson, J.M., Baker, J.L., Overcash, M.R., 1987. Effects of conservation tillage on groundwater quality. Lewis publications edition. United States. p.292.
- Loos, R., Locoro, G., Comero, S., Contini, S., Schwesig, D., Werres, F., Balsaa, P., Gans, O., Weiss, S., Blaha, L., Bolchi, M., Gawlik, B.M., 2010. Pan-European survey on the occurrence of selected polar organic persistent pollutants in ground water. *Water Res.*, 44 : 4115 - 4126.
- Loos, R., Tavazzi, S., Paracchini, B., Canuti, E., Weissteiner, C., 2013. Analysis of polar organic contaminants in surface water of the northern Adriatic Sea by solid-phase extraction followed by ultrahigh-pressure liquid chromatography-QTRAP® MS using a hybrid triple - quadrupole linear ion trap instrument. *Anal. Bioanal. Chem.*, 405 : 5875 - 5885.
- Lopez de Alda, M.J., Barceló, D., 2001. Review of analytical methods for the determination of estrogens and progestogens in waste water. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 371 : 437 - 447.
- López, B., Gómez, Á.S., Rey, G.M., Cancho, G.B., Simal, G.J., 2005. Determination of carbamates and organophosphorus pesticides by SDME-GC in natural water. *Anal. Bioanal. Chem.*, 383 : 557 - 561.
- Lorenzo, J.I., Nieto, O., Beiras, R., 2002. Effect of humic acids on speciation and toxicity of copper to *Paracentrotus lividus* larvae in seawater. *Aquat. Toxicol.*, 58 : 27 - 41.
- Louiz, I., Ben Hassine, O.K., Palluel, O., Ben-Attia, M., Aït-Aïssa, S., 2016. Spatial and temporal variation of biochemical biomarkers in *Gobius niger* (Gobiidae) from

- a Southern Mediterranean lagoon (Bizerta lagoon, Tunisia) : influence of biotic and abiotic factors. *Mar. Pollut. Bull.*, 107 : 305 - 314.
- Lozano, J., Galera, J., Lopez, S., Turon, X., Palacin, C., Morera, G., 1995.** Biological cycles and recruitment of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata : Echinoidea) in two contrasting habitats. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 122 : 179 - 191.
- Lozano, N., Rice, C.P., Pagano, J., Zintek, L., Barber, L.B., Murphy, E.W., Nettesheim, T., Minarik, T., Schoenfuss, H.L., 2012.** Concentration of organic contaminants in fish and their biological effects in a wastewater dominated urban stream. *Sci. Total Environ.*, 420 : 191 - 201.
- Lucas, A., Beninger, P.G., 1985.** The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquac.*, 44 : 187 - 200.
- Luis, O., Delgado, F., Gago, J., 2005.** Year round captive spawning performance of the sea urchin *Paracentrotus lividus* : relevance for the use of its larvae as live feed. *Aquat. Living Resour.*, 18 : 45 - 54.
- Lundebye, A., Curtis, T., Braven, J., Depledge, M., 1997.** Effects of the organophosphorous pesticide, dimethoate, on cardiac and acetylcholinesterase (AChE) activity in the shore crab *Carcinus maenas*. *Aquat. Toxicol.*, 40 : 23 - 36.
- Macinnis-Ng, C.M.O., Ralph, P.J., 2003.** Short term response and recovery of *Zostera capricorni* photosynthesis after herbicide exposure. *Aquat. Bot.*, 76 : 1 - 15.
- Madeira, C., Madeira, D., Vinagre, C., Diniz, M., 2015.** Octocorals in a changing environment : Seasonal response of stress biomarkers in natural populations of *Veretillum cynomorium*. *J. Sea Res.*, 103 : 120 - 128.
- Maguire, R.J., 1999.** Review of persistence of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in aquatic environments. *Water Qual. Res. J. Canada*, 34 : 37 - 78.
- Mai, H., Morin, B., Budzinski, H., Cachot, J., 2013.** Environmental concentrations of irgarol, diuron and S-metolachlor induce deleterious effects on gametes and embryos of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Mar. Environ. Res.*, 89 : 1 - 8.
- Malato, S., Blanco, J., Caceres, J., Fernandez-Alba, A.R., Aguera, A., Rodriguez, A., 2002.** Photocatalytic treatment of water soluble pesticides by photo Fenton and TiO₂ using solar energy. *Catal. Today*, 76 : 209 - 220.
- Malik, J., Barry G., Kishore, G., 1989.** The herbicide glyphosate. *Bio. Factors*, 2 : 17 - 25.
- Manduzio, H., Monsinjon, T., Galap, C., Leboulenger, F., Rocher, B., 2004.** Seasonal variations in antioxidant defenses in blue mussels *Mytilus edulis* collected from a polluted area : major contributions in gills of an inducible isoform of Cu/Zn superoxide dismutase and glutathione-S transferase. *Aquat. Toxicol.*, 70 : 83 - 93.

- Mann, R.M., Bidwell, J.R., 1999.** The toxicity of glyphosate and several glyphosate formulations to four species of southwestern Australian frogs. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 36 : 193 - 199.
- Manuel, S.A., 2001.** Reproduction and spat settlement of *Euvola ziczac* around Bermuda. Ph.D. Thesis. University of Liverpool. In : Owen, R., Buxton, L., Sarkis, S., Toaspern, M., Knap, A., Depledge, M., 2002. An evaluation of hemolymph cholinesterase activities in the tropical scallop, *Euvola (Pecten) ziczac*, for the rapid assessment of pesticide exposure. Mar. Pollut. Bull., 44 : 1010 - 1017.
- Manzo, S., 2004.** Sea urchin embryotoxicity test : proposal for a simplified bioassay. Ecotoxicol. Environ. Saf., 57 : 123 - 128.
- Manzo, S., Buono, S., Cremisini, C., 2006.** Toxic effects of irgarol and diuron on sea urchin *Paracentrotus lividus* early development, fertilization, and offspring quality. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 51 : 61 - 68.
- Marc, J., 2004.** Effets toxiques d'herbicides à base de glyphosate sur la régulation du cycle cellulaire et le développement précoce en utilisant l'embryon d'oursin. Thèse de doctorat. Option : vie, agronomie et santé. Université de Rennes 1. France. p.164. Disponible sur : <http://hal.archives-ouvertes.fr>.
- Marcotrigiano, G.O., Storelli, M.M., 2003.** Heavy metal, polychlorinated biphenyl and organochlorine pesticide residues in marine organisms : risk evaluation for consumers. Vét. Res. Commu., 27 : 183 - 195.
- Margoshes, M., Vallee, B.L., 1957.** A cadmium protein from aquatic kidney cortex. J. Am. Chem. Soc., 79 : 4813 - 4814.
- Maria, V., Ahmad, I., Oliveira, M., Serafim, A., Bebianno, M., Pacheco, M., Santos, M., 2009.** Wild juvenile *Dicentrarchus labrax* L. liver antioxidant and damage responses at Aveiro Lagoon, Portugal. Ecotoxicol. Environ. Saf., 72 : 1861 - 1870.
- Marin, M.G., Moschino, V., Cima, F., Celli, C., 2000.** Embryotoxicity of butyltin compounds to the sea urchin *Paracentrotus lividus*. Mar. Environ. Res., 50 : 231 - 235.
- Markaki, Z., Loye-Pilot, M.D., Violaki, K., Benyahya, L., Mihapoulous, N., 2010.** Variability of atmospheric deposition of dissolved nitrogen and phosphorus in the Mediterranean and possible link to the anomalous seawater N/P ratio. Mar. Chem., 120 : 187 - 194.
- Märkel, K., 1969.** Morphologie der Seeigelzähne II. Die gebielten Zähne der *Echinacea* (*Echinoidea*). J. Morph. Tiere, 66 : 1 - 50.

- Maroni, M., Colosio, C., Ferioli, A., Fait, A., 2000.** Biological monitoring of pesticide exposure : a review. *Int. Toxicol.*, 143 : 1 - 118.
- Martínez, K., Ferrer, I., Barcelo, D., 2000.** Part-per-trillion level determination of antifouling pesticides and their byproducts in seawater samples by offline solid phase extraction followed by high-performance liquid chromatography atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 879 : 27 - 37.
- Martínez, K., Ferrer, I., Fernandez-Alba, A.R., Marce, R.M., Borrull, F., Barceló, D., 2001.** Occurrence of antifouling biocides in the Spanish Mediterranean marine environment. *Environ. Toxicol.*, 22 : 543 - 552.
- Massoulié, J., Pezzementi, L., Bon, S., Krejci, E., Vallette, F.M., 1993.** Molecular and cellular biology of cholinesterases. *Prog. Neurobiol.*, 41 : 31 - 91.
- Matranga, V., Toia, G., Bonaventura, R., Muller, W.E., 2000.** Cellular and biochemical responses to environmental and experimentally induced stress in sea urchin coelomocytes. *Cell. Stress Chaperones*, 5 : 113 - 120.
- Maud, S.T., Sherratt, T.N., Stickland, T., Biggs, J., Williams, P., Shillabeer, N., Jepson, P.C., 1997.** Ecological considerations in pesticide risk assessment for aquatic ecosystems. *Pestic. Sci.*, 49 : 185 - 190.
- Mazzia, C., Capowiez, Y., Sanchez-Hernandez, J.C., Köhler, H.R., Tribskorn, R., Rault, M., 2011.** Acetylcholinesterase activity in the terrestrial snail *Xeropicta derbentina* transplanted in apple orchards with different pesticide management strategies. *Environ Pollut.*, 159 : 319 - 323.
- McClanahan, T.R., Steneck, R.S., Pietri, D., Cokos, B., Jones, S., 2005.** Interaction between inorganic nutrients and organic matter in controlling coral reef communities in glovers reef Belize. *Mar. Pollut. Bull.*, 50 : 566 - 575.
- McClintock, J.B., Pearse, J.S., 1987.** Biochemical composition of Antarctic echinoderms. *Comp. Biochem. Physiol.*, B 86 : 683 - 687.
- McCord, J.M., Fridovich, I., 1969.** Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, 25 : 6049 - 6055.
- McGlathery, K.J., 2001.** Macroalgal blooms contribute to the decline of seagrass in nutrient enriched coastal waters. *J. Phycol.*, 37 : 453 - 456.
- McHenery, J., Linley-Adams, G., Moore, D., Rodger, G., Davies, I., 1997.** Experimental and field studies of effects of dichlorvos exposure on acetylcholinesterase activity in the gills of the mussel, *Mytilus edulis* L. *Aquat. Toxicol.*, 38 : 125 - 143.

- McKelvey, R.A., Wrigh, J.P., Honegger, J., 2002.** A comparison of crop and non crop plants as sensitive indicator species of regulatory testing. *Pest. Manag. Sci.*, 58 : 1161 - 1174.
- McNeely, R.N., Neimainis, V.P., Dwyer, L., 1980.** Référence sur la qualité des eaux : guide des paramètres de la qualité des eaux environnements. Direction de la qualité des eaux, Ottawa, Canada. pp.17-20. *In* : El Morhit, M., 2009. Hydrochime éléments traces métalliques et indices écotoxicologiques sur les différentes composantes d'un écosystème estuarien (Bas Loukkos). Thèse de doctorat. Option : toxicologie. Université Mohammed V - Agdal. Rabat. Maroc. p.260. Disponible sur : <http://toubkal.imist.ma>.
- McQuaid, C.D., Lawrie, S.M., 2005.** Supply side ecology of the brown mussel *Perna perna* : An investigation od spatial and temporel variation in and coupling between gamete release and larval supply. *Mar. Biol.*, 149 : 955 - 963.
- Mensink, H., Janssen, P., 1994.** Glyphosate : world health organization programme on chemical safety, environmental health criteria p.159. *In* : Mercurio, P., Flores, F., Mueller, J.F., Carter, S., Negri, A.P., 2014. Glyphosate persistence in seawater. *Mar. Pollut. Bull.*, 85 : 385 - 390.
- Mercurio, P., Flores, F., Mueller, J.F., Carter, S., Negri, A.P., 2014.** Glyphosate persistence in seawater. *Mar. Pollut.Bull.*, 85 : 385 - 390.
- Mezuca, M., Hernando, M.D., Piedra, L., Aguera, A., Fernandez-Alba, A.R., 2002.** Chromatography mass spectrometry and toxicity evaluation of selected contaminants in seawater. *Chromatogr.*, 56 : 199 - 206.
- Mhlanga, A.T., Madziva, T.J., 1990.** Pesticide residues in lake Mcllwaine, Zimbabwe. *J. Hum. Environ.*, 19 : 368 - 372.
- Mittler, R.,Vanderauwera, S., Gollery, M., Van Breusegem, F., 2004.** Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci.*, 9 : 490 - 498.
- Moaweda, E.A., Abulkibash, A.B., El-Shahat, M.F., 2015.** Synthesis of tannic acid azo polyurethane sorbent and its applicationfor extraction and determination of atrazine and prometrynpesticides in foods and water samples. *Environ. Nanotechnol. Monit Manag.*, 3 : 61 - 66.
- Modesto, K.A., Martinez, C.B.R., 2010.** Effects of Roundup Transorb on fish: hematology, antioxidant defenses and acetylcholinesterase activity. *Chemosphere*, 81 : 781 - 787.
- Moore, I.T., Jessop, T.S., 2003.** Stress, reproduction and adrenocortical modulation in amphibians and reptiles. *Horm. Behav.*, 43 : 39 - 47.

- Mora, P., Fournier, D., Narbonne, J.F., 1999.** Cholinesterases from the marine mussels *Mytillus galloprovincialis* Lmk and *Mytillus edulis* from the freshwater bivalve *Corbicula fluminea* Muller. Comp. Biochem. Physiol., C 122 : 353 - 361.
- Moreira, S.M., Moreira-Santos, M., Riberio, R., Guilhermino, L., 2004.** The "Coral Bulker" fuel oil spill on the north coast of Portugal : spatial and temporal biomarker responses in *Mytilus galloprovincialis*. Ecotoxicol., 13 : 619 - 630.
- Moreno-González, R., Campillo, J.A., García, V., León, V.M., 2013.** Seasonal input of regulated and emerging organic pollutants through surface watercourses to a Mediterranean coastal lagoon. Chemosphere, 92 : 247 - 257.
- Mosleh, Y.Y., Paris-Palacios, S., Ahmed, M.T., Mahmoud, F.M., Osman, M.A., Biagianti-Risbourg, S., 2007.** Effects of chitosan on oxidative stress and metallothioneins in aquatic worm *Tubifex tubifex* (*Oligochaeta, Tubificidae*). Chemosphere, 67 : 167 - 175.
- Mosleh, Y.Y., Paris-Palacios, S., Arnoult, F., Couderchet, M., Vernet, G., 2004.** Metallothionein induction in the aquatic oligochaere *Tubifex tubifex* exposed to the herbicide isoproturon. Environ. Toxicol., 19 : 88 - 93.
- Mosleh, Y.Y., Paris-Palacios, S., Couderchet, M., Biagianti-Risbourg, S., Vernet, G., 2005a.** Metallothionein induction, antioxidative responses, glycogen and growth changes in *Tubifex tubifex* (*oligochaete*) exposed to the fungicide, fenhexamid. Environ. Pollut., 135 : 73 - 82.
- Mosleh, Y.Y., Paris-Palacios, S., Couderchet, M., Biagianti-Risbourg, S., Vernet, G., 2005b.** Effects of the herbicide isoproturon on metallothioneins, growth and antioxidative defenses in the aquatic worm *Tubifex tubifex* (*Oligochaeta, Tubificidae*). Ecotoxicol., 14 : 1 - 13.
- Mouneyrac, C., Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., 1998.** Effects of natural factors (salinity and body weight) on cadmium, copper, zinc and metallothionein like protein levels in resident populations of oysters *Crassostrea gigas* from a polluted estuary. Mar. Ecol. Prog. Ser., 162 : 125 - 135.
- Mouneyrac, C., Geffard, A., Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., 2000.** Metallothionein like proteins in *Macoma balthica* : effects of metal exposure and natural factors. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 57 : 34 - 42.
- Mourgaud, Y., Martinez, E., Geffard, A., Andral, B., Stanisiere, J.Y., Amiard, J.C., 2002.** Metallothionein concentration in the mussel *Mytilus galloprovincialis* as a biomarker of response to metal contamination : validation in the field. Biomark., 7 : 479 - 490.

- Munaron, D., 2004.** Etude des apports en herbicides et en nutriments par la Charente : modelisation de la dispersion de l'atrazine dans le bassin de Marennes-Oleron. Thèse de doctorat : océanologie chimique et environnement. Université de Pierre et Marie Curie - Paris V. pp.340. *In* : Mottier, A., Kientz-Bouchart, V., Serpentine, A., Lebel, J.M., Jha, A.N., Costil, K., 2013. Effects of glyphosate based herbicides on embryo larval development and metamorphosis in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquat. Toxicol.*, 128 - 129 : 67 - 78.
- Munaron, D., Tapie, N., Budzinski, H., Andral, B., Gonzalez, J.L., 2012.** Pharmaceuticals, alkylphenols and pesticides in Mediterranean coastal waters: results from a pilot survey using passive samplers. *Estuar. Coast. Shelf. Sci.*, 114 : 82 - 92.
- Murati, M., 2012.** Etude d'élimination de trois herbicides : Atrazine, Sulcotrione et Méso-trione, en milieu aqueux par les procédés électrochimiques d'oxydation avancée. Thèse de doctorat. Option : sciences et techniques de l'environnement. Université de Paris - Est. France. p.140. Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr>.
- Murphy, M.P., 2009.** How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem. J.*, 417 : 1 - 13.
- Nadji, S., 2016.** Effets de quelques facteurs environnementaux sur la reproduction et la valeur nutritionnelle de deux bivalves pêchés dans le golfe d'Annaba. Thèse de doctorat. Option: biologie animale. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.138. Disponible sur : <http://biblio.univ-annaba.dz>.
- Nahrgang, J., Brooks, S.J., Evenset, A., Camus, L., Jonsson, M., Smith, T.J., Lukina, J., Frantzen, M., Giarratano, E., Renaud, P.E., 2013.** Seasonal variation in biomarkers in blue mussel (*Mytilus edulis*), Icelandic scallop (*Chlamys islandica*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*) implications for environmental monitoring in the Barents Sea. *Aquat. Toxicol.*, 127 : 21 - 35.
- Najdek, M., Bazulic, D., 1988.** Chlorinated hydrocarbons in mussels and some benthic organisms from the northern Adriatic sea. *Mar. Pollut. Bull.*, 19 : 37 - 38.
- Narbonne, J. F., Aarab, N., Clérandeau, C., Daubéze, M., Narbonne, J., Champeau, O., Garrigues, P., 2005.** Scale of classification based on biochemical markers in mussels: application to pollution monitoring in Mediterranean coasts and temporal trends. *Biomark.*, 10 : 58 -71.
- Narbonne, J.F., Daubeze, M., Baumard, P., Budzinski, H., Clérandeau, C., Akcha, F., Mora, P., Garrigues, P., 2001.** Biochemical markers in mussel, *Mytilus sp.* and pollution monitoring in European coasts: data analysis. *In* : Garrigues, P., Barth, H.,

- Walker, C.H., Narbonne, J.F. Biomarkers in marine organisms : A practical approach. Edition Elsevier Science B.V. pp.216 - 236.
- Narbonne, J.F., Daubeze, M., Clérandeau, C., Garrigues, P. 1999.** Scale of classification based on biochemical markers in mussels: application to pollution monitoring in European coasts. *Biomark.*, 4 : 415 - 424.
- Narbonne, J.F., Garrigues, P., Ribera, D., Raoux, C., Mathieu, A., Lemaire, P., Salaün, J.P., Lafaurie, M., 1991.** Mixed-function oxygenase enzymes as tools for pollution monitoring : field studies on the French coast of the Mediterranean sea. *Comp. Biochem. Physiol.*, C 100 : 37 - 42.
- Navarro, S., Vela, N., Giménez, M.J., Navarro, G., 2004.** Persistence of four s-triazine herbicides in river sea and groundwater samples exposed to sunlight and darkness under laboratory conditions. *Sci. Total Environ.*, 329 : 87 - 97.
- Navrot, N., Rouhier, N., Gelhaye, E., Jacquot, J.P., 2007.** Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria. *Physiol. Plant*, 129 : 185 - 195.
- Nedelec, H., Verlaque, M., 1984.** Alimentation de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Lamarck) dans un herbier à *Posidonia oceanica* (L.) Delile en Corse (Méditerranée, France). *In* : Boudouresque, C.F., Jeudy De Grissac, A., Olivier, J., (Eds.), international workshop *Posidonia oceanica* Beds. GIS Posidonie. Pub., France. pp. 349 - 364.
- Neill, J., Larkum, H., 1965.** Ecology of some echinoderms in maltese waters. *Symo. Under Water Ass. Malta*, 1965 : 51 - 55.
- NHMRC, 2011.** National health and medical research council. Australian drinking water guidelines paper 6 national water qualitymanagement strategy. National resource management ministerial council, common wealth of Australia. Canberra. p.1126. *In* : Mercurio, P., Flores, F., Mueller, J.F., Carter, S., Negri, A.P., 2014. Glyphosate persistence in seawater. *Mar. Pollut. Bull.*, 85 : 385 - 390.
- Nice, H.E., Thorndyke, M.C., Morrith, D., Steele, S., Crane, M., 2000.** Development of *Crassostrea gigas* larvae is affected by 4-nonylphenol. *Mar. pollut. Bull.*, 40 : 491 - 496.
- Nieves-Puigdoller, K., Bjornsson, B.T., McCormick, S.D., 2007.** Effects of hexazinone and atrazine on the physiology and endocrinology of smolt development in Atlantic salmon. *Aquat. Toxicol.*, 84 : 27 - 37.
- Nikkila, A., Paulasson, M., Almgren, K., Blankck, H., Kukkonen, J.V.K., 2001.** Atrazine uptake, elimination, and bio-concentration by periphyton communities and

- Daphnia magna : effects of dissolved organic carbon. Environ. Toxicol. Chem., 20 : 1003 - 1011.
- Nilsson, J.A., 2002.** Metabolic consequences of hard work. Proc. R. Soc. Lond. B : Biol. Sci., 269 : 1735 - 1739.
- Nödler, K., Licha, T., Voutsas, D., 2013.** Twenty years later Atrazine concentrations in selected coastal waters of the Mediterranean and the Baltic sea. Mar. Pollut. Bull., 70 : 112 - 118.
- Novelli, G.P., 1997.** Role of free radicals in septic shock. J. Physiol. Pharmacol., 48 : 517 - 527.
- Oka, T., Tooi, O., Mitsui, N., Miyahara, M., Ohnishi, Y., Takase, M., Kashiwagi, A., Shinkai, T., Santo, N., Iguchi, T., 2008.** Effect of atrazine on metamorphosis and sexual differentiation in *Xenopus laevis*. Aquat. Toxicol., 87 : 215 - 226.
- Okamura, H., Aoyama, I., Ono, Y., Nishida, T., 2003.** Antifouling herbicides in the coastal waters of western Japan. Mar. Pollut. Bull., 47 : 59 - 67.
- Ounissi, M., Frehi, H., 1999.** Variabilité du microphytoplancton et des tintinnides d'un secteur hautement eutrophe du golfe d'Annaba (Algérie). Cah. Biol. Mar., 40 : 141 - 153.
- Ounissi, M., Frehi, H., Khelifi, M., Touhami, M., 1998.** Composition et abondance du zooplancton en situation d'eutrophisation dans un secteur côtier du golfe d'Annaba (Algérie). Ann. Ins. Oceanog. Paris, 74 : 13 - 28.
- Ounissi, M., Khaled-Khodja, M., Khelifi-Touhami, M., Hallal, S., Ayad, M., 2002.** Flux de matières minérales et organiques de l'oued Seybouse au littoral d'Annaba (Algérie) en hiver et au printemps 2002. Actes des 5^{èmes} journées Tunisiennes des sciences de la mer Aïn-Draham. Bulletin de l'INSTM N°07 pp. 21 - 24.
- Ounissi, M., Khammar, H., Ziouch, O., Saker, I., Haridi, A., Khelifi-Touhami, M., Abdenour, C., 2008.** Apports d'azote et de phosphate au littoral d'Annaba par les effluents urbains, industriels et par la rivière Seybouse (Algérie). In : Chouikhi, A., Zibdah, A., Khalaf, A. (Eds.), rapid urbanisation and land use conflicts in coastal cities. International conference INOC 13. Izmir. Turkey. pp.181 - 186.
- Ounissi, M., Ziouch, O.R., Aounallah, O., 2014.** Variability of the dissolved nutrient (N, P, Si) concentrations in the bay of Annaba in relation to the inputs of the Seybouse and Mafragh estuaries. Mar. Pollut. Bull., 80 : 234 - 244.
- Ouréns, R., Fernández, L., Freire, J., 2011.** Geographic, population and seasonal patterns in the reproductive parameters of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. Mar. Biol., 158 : 793 - 804.

- Owen, R., Buxton, L., Sarkis, S., Toaspern, M., Knap, A., Depledge, M., 2002. An evaluation of hemolymph cholinesterase activities in the tropical scallop, *Evula* (*Pecten*) *ziczac*, for the rapid assessment of pesticide exposure. Mar. Pollut. Bull., 44 : 1010 - 1017.
- Owen, R., Knap, A.H., Ostrander, N., Carbery, K., 2003. Comparative acute toxicity of herbicides to photosynthesis of coral zooxanthellae. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 70 : 541 - 548.
- Ozmen, M., Sener, S., Mete, A., Kucukbay, H., 1998. *In vitro* and *in vivo* acetylcholinesterase inhibiting effect of new classes of organophosphorus compounds. Environ. Toxicol. Chem., 18 : 241 - 246.
- Pachura-Bouchet, S., 2005. Toxicité et effets sur le développement d'*Hydra attenuata* des polluants hydriques et du nonylphénol (NP). Thèse de doctorat. Option : toxicologie de l'environnement. Université de Metz – UFR Sci F.A. Lorraine. France. p.169. Disponible sur : <http://docnum.univ-lorraine.fr>.
- Pagano, G., Cipollaro, M., Corsale, G., Esposito, A., Ragucci, E., Giordino, G.G., Trief, N.M., 1986. The sea urchin: Bioassay for the assessment of damage from environmental contaminants, community toxicity testing. In : Cairns, J.J., (Ed.), community toxicity testing, ASTM STP 920. American society for testing and materials. Philadelphia. pp.66 - 92.
- Palacin, C., Giribert, G., Carner, S., Dantart, L., Turon, X., 1998. Low densities of sea urchins influence the structure of algal assemblages in the western Mediterranean. J. Sea Res., 39 : 281 - 290.
- Pane, E., Barry, J., 2007. Extracellular acid base regulation during shortterm hypercapnia is effective in a shallow water crab, but ineffective in a deep sea crab. Mar. Ecol. Prog. Ser., 334 : 1 - 9.
- Paris-Palacios, S., Biagianti-Risbourg, S., Vernet, G., 2003. Metallothionein induction related to structural perturbations and antioxidative defences in liver of roach (*Rutilus rutilus*) exposed to the fungicide procymidone. Biomark., 8 : 128 - 141.
- Park, H., Ahn, I., Kim, H., Lee, J., Shin, S.C., 2009. Glutathione S-transferase as a biomarker in the Antarctic bivalve *Laternula elliptica* after exposure to the polychlorinated biphenyl mixture Aroclor 1254. Comp. Biochem. Physiol., C 150 : 528 - 536.
- Parvez, S., Raisuddin, S., 2005. Protein carbonyls : novel biomarkers of exposure to oxidative stress inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctata* (Bloch). Environ. Toxicol. Pharmacol., 20 : 112 - 117.

- Pedrotti, M.L., Fenaux, L., 1992.** Dispersal of echinoderm larvae in a geographical area marked by upwelling (Ligurian Sea, NW Mediterranean). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 86 : 217 - 227.
- Pellerin-Massicotte, J., 1994.** Oxidative processes as indicators of chemical stress in marine bivalves. *J. Aquat. Ecosyst. Health*, 3 : 101 - 111.
- Pellerin-Massicotte, J., 1997.** Influence of elevated temperature and air exposure on MDA levels and catalase activities in digestive glands of the blue mussel (*Mytilus edulis* L.). *J. Rech. Océanog.*, 22 : 91 - 98.
- Pempkowiak, J., Tronczyński, J., Pazdro, K., 2000.** Spatial and temporal gradients of triazines in the Baltic sea off Poland. *Mar. Pollut. Bull.*, 40 : 1082 -1089.
- Pérez-Carrera, E., León, V.M., Gómez-Parra, A., Gonzáles-Mazo, E., 2007.** Simultaneous determination of pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in seawater and interstitial marine water samples, using stir bar sorptive extraction thermal desorption gas chromatography mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1170 : 82 - 90.
- Pergent, G., Semroud, R., Baba-Ahmed, R., Derbal, F., Khtal, Y., Remili, A., Robert, P., Boudouresque, C.F., 1993.** Données préliminaires sur la répartition et l'état de l'herbier à *Posidonia océanica* de la région d'El- Kala (Algérie). *Sci. Rep. Port-Cros Natl. Park*, 15 : 253 - 263.
- Pesce, S., Fajon, C., Bardot, C., Bonnemoy, F., Portelli, C., Bohatier, J., 2008.** Longitudinal changes in microbial planktonic communities of a French riverin relation to pesticide and nutrient inputs. *Aquat. Toxicol.*, 86 : 352 - 360.
- Petrovic, M., Fernandez-Alba, A.R., Borrull, F., Marce, R.M., Gonzalez, M.E., Barcelo, D., 2002.** Occurrence and distribution of nonionic surfactants, their degradation products, and linear alkylbenzene sulfonates in coastal waters and sediments in Spain. *Environ Toxicol. Chem.*, 21 : 37 - 46.
- Phelps, H.L., Hetzel, E.W., 1987.** Oysters size, age, and copper and zinc accumulation. *J. Shellfish Res.*, 6 : 67 - 70.
- Phillips, B.M., Nicely, P.A., Hunt, J.W., Anderson, B.S., Tjeerdema, R.S., Palmer, S.E., Palmer, F.H., Puckett, H.M., 2003.** Toxicity of cadmium, copper, nickel and zinc mixtures to larval purple sea urchins. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 70 : 592 - 599.
- Phyu, Y.L., Warne, M.S., Lim, R.P., 2004.** Toxicity of atrazine and molinate to the cladoceran *Daphnia carinata* and the effect of river water and bottom sediment on their bioavailability. *Arch. Environ. Toxicol. Chem.*, 46 : 308 - 315.

- Pick, F.E., Van Dyk, L.P., Bothan, E., 1992. Atrazine in ground and surface water in maize production areas of the Transval, South Africa, *Chemosphere*, 25 : 335 - 341.
- Pijanowski, B.S., 1975. The meaning of measurement of turbidity. *Int. Conf. Environ. Sens. Assess.*, 21 : 1 - 5.
- Pina, J.A., Perez, I.M., Ros, J., 1984. Influencia de la alimentacion de *Paracentrotus lividus* (Lamarck,1816) sobre las comunidas de algas fotofilas en el litoral de Mazarron (*Murcia*) : resultados preliminares. *Actas IV Symo. Iberico Est. Benthos Mar.*, 1 : 261 - 270.
- Pinho, G.L., Da Rosa, C.M., Maciel, F.E., Bianchini, A., Yunes, J.S., Proenca, L.A., Monserrat, J.M., 2005. Antioxidant responses after microcystin exposure in gills of an estuarine crab species pre-treated with vitamin E. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 61 : 361 - 365.
- Pinkus, R., Bergelson, S., Daniel, V., Biochem, J., 1993. Phenobarbital induction of AP-1 binding activity mediates activation of glutathione S-transferase and quinone reductase gene expression. *Biochem. J.*, 290 : 637 - 640.
- Pojana, G., Gomiero, A., Jonkers, N., Marcomini, A., 2007. Natural and synthetic endocrine disrupting compounds (EDCs) in water, sediment and biota of a coastal lagoon. *Environ. Int.*, 33 : 929 - 936.
- Pompella, A., Maelloaro, E., Casini, A.A., Farrali, M., Ciccoli, J.M., 1987. Measurement of lipid peroxydation *in vivo* : a comparaiso of different procedures. *Lipids*, 22 : 206 - 211.
- Porte, C., Janer, G., Lorusso, L.C., Ortiz-Zarragoitia, M., Cajaraville, M.P., Fossi, M.C., Canesi, L., 2006. Endocrine disruptors in marine organisms : approaches and perspectives. *Comp. Biochem. Physiol.*, C 143 : 303 - 315.
- Portier, C.J., Armstrong, B.K., Baguley, C.B., Baur, X., Belyaev, I., Bellé, R., Belpoggi, F., Biggeri, A., Bosland, M.C., Bruzzi, P., Budnik, L.T., Bugge, M.D., Burns, K., Calaf, G.M., Carpenter, D.O., Carpenter, H.M., López Carrillo, L., Clapp, R., Cocco, P., Consonni, D., Comba, D., Craft, E., Dalvie, M.A., Davis, D., Demers, P.A., De Roos, A.J., DeWitt, J., Forastiere, F., Freedman, J.H., Fritschi, L., Gaus, C., Gohlke, J.M., Goldberg, M., Greiser, E., Hansen, J., Hardell, L., Hauptmann, M., Huang, W., Huff, J., James, M.O., Jameson, C.W., Kortenkamp, A., Kopp-Schneider, A., Kromhout, H., Larramendy, M.L., Landrigan, P.J., Lash, L.H., Leszczynski, D., Lynch, C.F., Magnani, C., Mandrioli, D., Martin, F.L., Merler, E., Michelozzi, P., Miligi, L., Miller, A.B., Mirabelli, D., Mirer, F.E., Naidoo, S., Perry, M.J., Grazia Petronio, M.,

- Pirastu, R., Portier, R.J., Ramos, K.S., Robertson, L.W., Rodriguez, T., Rösli, M., Ross, M.K., Roy, D., Rusyn, I., Saldiva, P., Sass, J., Savolainen, K., Scheepers, P.T.J., Consolato Sergi, C., Silbergeld, E.K., Smith, M.T., Stewart, B.W., Sutton, P., Tateo, F., Terracini, B., Thielmann, H.W., Thomas, D.B., Vainio, H., Vena, J.E., Vineis, P., Weiderpass, E., Weisenburger, D.D., Woodruff, T.J., Yorifuji, T., Yu, I.J., Zambon, P., Zeeb, H., Zhou, S.F., 2016. Differences in the carcinogenic evaluation of glyphosate between the International Agency for Research on Cancer (IARC) and the European Food Safety Authority (EFSA). *J. Epidemiol. Community Health*, 70 : 741 - 745.
- Pörtner, H.O., 2008. Ecosystem effects of ocean acidification in times of ocean warming : a physiologist's view. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 373 : 203 - 217.
- Powell, C., Hughes, A.D., Kelly, M.S., Conner, S., McDougall, G.J., 2014. Extraction and identification of antioxidant poly hydroxynaphthoquinone pigments from the sea urchin, *Psammechinus miliaris*. *LWT- Food Sci. Technol.*, 59 : 455 - 460.
- Prasad, T.A.V., Srinivas, T., Reddy, J.S., Reddy, D.C., 1995. Atrazine toxicity on transport properties of hemocyanin in the crab (*Oziotelphusa senex*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 30 : 124 - 126.
- Priac, A., Morin-Crini, N., Druart, C., Gavaille, S., Bradu, C., Lagarrigue, C., Torrie, G., Peter Winterton, P., Crini, G., 2014. Alkylphenol and alkylphenol polyethoxylates in water and wastewater : a review of options for their elimination. *Arab. J. Chem.*, 10 : 3749 - 3773.
- Prosser, P., Hart, A.D.M., 2005. Assessing potential exposure of birds to pesticide treated seeds. *Ecotoxicol.*, 14 : 679 - 691.
- Puértolas, L., Damasio, J., Barata, C., Soares, A.M.V.M., Prat, N. 2010. Evaluation of side effects of glyphosate mediated control of giant reed (*Arundo donax*) on the structure and function of a nearby Mediterranean river ecosystem. *Environ. Res.*, 110 : 556 - 564.
- Qin, L., Zhu, B.W., Zhou, D.Y., Wu, H.T., Tan, H., Yang, J.F., Li, D.M., Dong, X.P., Murata, Y., 2011. Preparation and antioxidant activity of enzymatic hydrolysates from purple sea urchin (*Strongylocentrotus nudus*) gonad. *LWT- Food Sci. Tech.*, 44 : 1113 - 1118.
- Qingyan, L., Ying, L., Xikun, Z., Baoli, C., 2008. Isolation and characterization of atrazine degrading *Arthrobacter* sp. AD26 and use of this strain in bioremediation of contaminated soil. *J. Environ. Sci.*, 20 : 1226 - 1230.

- Radenac, G., Fichet, D., Miramand, P., 2001.** Bioaccumulation and toxicity of four dissolved metals in *Paracentrotus lividus* sea urchin embryo. Mar. Environ. Res., 51 : 151 - 166.
- Ramade, F., 1992.** Précis d'écotoxicologie. Edition Masson. Paris. p.281.
- Ramesh, A., Tanabe, S., Iwata, H., Tatsukawa, R., Subramanian, A.N., Mohan, D., Venugopalan, V.K., 1990.** Seasonal variation of persistent organochlorine insecticide residues in Vellar River waters in Tamil Nadu, South India. Environ. Pollut., 67 : 289 - 304.
- Rao, J.V., Kavitha, P., Srikanth, K., Usman, P.K., Rao, T.G., 2007.** Environmental contamination using accumulation of metals in marine sponges, *Sigmadocia fibulata* inhabiting the coastal waters of Gulf of Mannar, India. Toxicol. Environ. Chem., 89 : 487 - 498.
- Raoul, C., Barriuso, E., Bedos, C., Benoit, P., Charnay, M.P., Coquet, Y., 2005.** Les pesticides dans le sol : conséquences agronomiques et environnementales. Edition France agricole. p.637.
- Raven, P.H., Berg, L.R., Hassenzahl, D.M., 2009.** Environment. 1^{er} édition Boeck. France p.687.
- Readman, J.W., Albanis, T.A., Barceló, D., Galassi, S., Tronczynski, J., Gabrielides, G.P., 1993.** Herbicide contamination of Mediterranean estuarine waters : results from a MED POL pilot survey. Mar. Pollut. Bull., 26 : 613 - 619.
- Reggam, A., Bouchelaghem, H., Houhamdi, M., 2015.** Qualité physicochimique des eaux de l'oued Seybouse (Nord-est de l'Algérie) : caractérisation et analyse en composantes principales. J. Mater. Environ. Sci., 6 : 1417 - 1425.
- Régis, M.B., 1979.** Analyse des indices physiologiques chez deux échinoides *Paracentrotus lividus* (Lmk) et *Arbacia lixula* (L.) du golfe de Marseille. Téthys, 9 : 167 - 181.
- Régis, M.B., 1986.** Microstructure adaptative des radioles de *Paracentrotus lividus* (Echinodermata : Echinoidea) en milieu eutrophisé par les eaux usées. Mar. Biol. Deutsch, 90 : 271 - 278.
- Regnault-Roger, C., Fabres, G., Philogène, B.J., 2005.** Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Edition TEC & DOC. Paris. p.977.
- Regoli, F., Gorbi, S., Frenzilli, G., Nigro, M., Corsi, I., Focardi, S., Winston, G.W., 2002a.** Oxidative stress in ecotoxicology : from the analysis of individual antioxidants to a more integrated approach. Mar. Environ. Res., 54 : 419 - 423.
- Regoli, F., Nigro, M., Orlando, E., 1998.** Lysosomal and antioxidant responses to metals in the Antarctic scallop *Adamussium colbecki*. Aquat. Toxicol., 40 : 375 - 392.

- Regoli, F., Pellegrini, D., Winston, G.W., Gorbi, S., Giuliani, S., Virno-Lamberti, C., Bompadre, S., 2002b.** Application of biomarkers for assessing the biological impact of dredged materials in the Mediterranean : the relationship between antioxidant responses and susceptibility to oxidative stress in the red mullet (*Mullus barbatus*). Mar. Pollut. Bull., 44 : 912 - 922.
- Regoli, F., Principato, G., 1995.** Glutathione, glutathione dependent and antioxidant enzymes in mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to metals under field and laboratory conditions : implications for the use of biochemical biomarkers. Aquat. Toxicol., 31 : 143 - 164.
- Reh, R., Licha, T., Geyer, T., Nödler, K., Sauter, M., 2013.** Occurrence and spatial distribution of organic micropollutants in a complex hydrogeological karst system during low flow and high flow periods, results of a two year study. Sci. Total Environ., 443 : 438 - 445.
- Reis-Henriques, M.A., Le Guellec, D., Remy-Martin, J.P., Adessi, G.L., 1990.** Studies of endogenous steroids from the marine mollusc *Mytilus edulis* L. By gas chromatography and mass spectrometry. Comp. Biochem. Physiol., B 95 : 303 - 309.
- Rejsek, F., 2002.** Analyse des eaux : aspects réglementaires et techniques. Collection : biologie technique. Edition Canopé - CRDP de Bordeaux. France. p.360.
- Remon, E., 2006.** Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques : vers de nouvelles méthodes de biodépollution. Thèse de doctorat. Option : biologie végétal. Université de Jean Monnet de Saint Etienne. France. p.166. Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr>.
- Rico, M.C., Hernández, L., Fernández, M., González, M.J., Montero, M., 1989.** Organochlorine contamination in water of the Doñana National Park. Water Res., 23 : 57 - 60.
- Rivera, J., Caixach, J., De Torres, M., 1986.** Fate of atrazine and trifluralin from an industrial waste dumping at the Lobregat River. Presence in fish raw and finished water. Int. J. Environ. Anal. Chem., 24 : 183 - 191.
- Robin, M.M., 2010.** The world according : pollution, corruption and the control of the world's food supply. 8^{eme} Edition. The New press. Unite States. p.384.
- Rodgers, K., 2010.** Immunotoxicity of pesticides. In : Krieger, R., (Ed.), hayes' handbook of pesticides toxicology. Academic press 3rd edition. Riverside. Unite States. pp.769 - 782.
- Rodier, J., Geoffray, C., Kovacsik, G., Laporte, G., Plissier, M., Scheidhauer, J., Verneaux, J., Vial, J., Rodi, L., 1978.** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux

- résiduaire, eau de mer : chimie, physicochimie, bactériologie, biologie. 6^{ème} édition Dunod. Paris. p.1135.
- Rodriguez-Ariza, A., Martinez-Lara, E., Pascual, P., Pedrajas, J.R., Abril, N., Dorato, G., Toribio, F., Bárcena, J.A., Peinado, J., Pueyo, C., López-Barea, J., 1993.** Biochemical and genetic indices of marine pollution in Spanish littoral. *Sci. Total Environ.*, 134 : 109 - 116.
- Roepke, T.A., Snyder, M.J., Cherr, G.N., 2005.** Estradiol and endocrine disrupting compounds adversely affect development of sea urchin embryos at environmentally relevant concentrations. *Aquat. Toxicol.*, 71 : 155 - 173.
- Roesijadi, G., 1996.** Metallothionein and its role in toxic metal regulation. *Comp. Biochem. Physiol.*, C 113 : 117 - 123.
- Rohr, J.R., McCoy, K.A., 2010.** A qualitative meta-analysis reveals consistent effects of atrazine on freshwater fish and amphibians. *Environ. Health Perspect.*, 118 : 20 - 32.
- Roller, R.A., Stickle, W.B., 1993.** Effect of temperature and salinity acclimation of adults on larval survival, physiology and early development of *Lytechinus variegatus* (*Echinodermata : Echinoidea*). *Mar. Bio.*, 113 : 583 - 591.
- Roméo, M., Giambérini, L., 2008.** Historique. *In* : Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., (Eds.), les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques. Edition TEC & DOC. Paris. pp.17 - 41.
- Roméo, M., Hoarau, P., Garello, G., Gnassia-Barelli, M., Girard, J.P., 2003.** Mussel transplantation and biomarkers as useful tools for assessing water quality in the NW Mediterranean. *Environ. Pollut.*, 122 : 369 - 378.
- Romero, P., Barnett, P.G., Midtling, J.E., 1989.** Congenital anomalies associated with maternal exposure to oxydemeton-methyl. *Environ. Res.*, 50 : 256 - 261.
- Roselli, L., Fabbrocini, A., Manzo, C., D'Adamo, R., 2009.** Hydrological heterogeneity, nutrient dynamics and water quality of a nontidal lentic ecosystem (Lesina Lagoon, Italy). *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 84 : 539 - 552.
- Rouane-Hacene, O., 2013.** Biosurveillance de la qualité des eaux côtières du littoral occidental Algérien par la suivi des indices biologiques et la biodisponibilité et la bioaccumulation des métaux lourds (Zn, Cu, Pd, Cd) chez la moule *Mytillus galloprovincialis* et l'oursin *Paracentrotus lividus*. Thèse de doctorat, Option : science de l'environnement. Université d'Ahmed Ben Bella. Oran. Algérie. p.295. Disponible sur : <http://labos.univ-oran1.dz>.
- Rouane-Hacene, O., Boutiba, Z., Benaissa, M., Belhaouari, B., Francour, P., Guibbolini-Sabatier, M.E., Risso-De Faverney, C., 2017.** Seasonal assessment of biological

- indices, bioaccumulation and bioavailability of heavy metals in sea urchins *Paracentrotus lividus* from Algerian west coast, applied to environmental monitoring. Environ. Sci. Pollut. Res., DOI: [10.1007/s11356-017-8946-0](https://doi.org/10.1007/s11356-017-8946-0).
- Roule, L., Suis, M.A., Moquin-Tandon, M.G., 1889.** Cours de zoologie médicale. Edition Privat. France. p.662.
- Rousseaux, S., Hartmann, A., Lagacherie, B., Piutti, S., Andreux, F., Soulas, G., 2003.** Inoculation of an atrazine degrading strain, *Chelatobacter heintzii* Cit1, in four different soils : effects of different inoculum densities, Chemosphere, 51 : 569 - 576.
- Roy-Barman, M., Jeandel, C., 2011.** Géochimie marine : circulation océanique, cycle du carbone et changement climatique. Société géologique de France. Edition Vuibert. Paris. p. 362.
- Rumbold, D.G., Snedaker, S.C., 1997.** Evaluation of bioassays to monitor surface microlayer toxicity in tropical marine waters. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 32 : 135 - 140.
- Rumrill, S.S., 1990.** Natural mortality of marine invertebrate larvae. Ophelia, 32 : 163 - 198.
- Ruppert, E.E., Barnes, R.D., 1994.** Invertebrate zoology. 6th edition. Saunders college publishers. Philadelphia. p.592. In : Grosjean, P., 2001. Growth model of the reared sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816). Doctoral thesis. Option : agronomic sciences and biological engineering. Free university of Brussels. Belgium. p. 272.
- Saccon, P., Leis, A., Marca, A., Kaiser, J., Campisi, L., Böttcher, M.E., Savarino, J., Escher, P., Eisenhauer, A., Erbland, J., 2013.** Multi-isotope approach for the identification and characterisation of nitrate pollution sources in the Marano lagoon (Italy) and parts of its catchment area. Appl. Geochem., 34 : 75 - 89.
- Saglio, P., Trijasse, S., 1998.** Behavioral responses to atrazine and diuron in goldfish. Archiv. Environ. Contam. Toxicol., 35 : 484 - 491.
- Saint-Denis, M., Labrot, F., Narbonne, J.F., Ribera, D., 1998.** Glutathione, glutathione related enzymes and catalase activities in the worm *Eisenia fetida*. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 35 : 594 - 606.
- Sajjaphan, K., Shapir, N., Wackett, L.P., Palmer, M., Blackmon, B., Tomkins, J., Sadowsky, M.J., 2004.** *Arthrobacter aurescens* TC1 atrazine catabolism genes *trzN*, *atzB* and *atzC* are linked on a 160 kilobase region and are functional in *Escherichia coli*. Appl. Environ. Microbiol., 70 : 4402 - 4407.
- Sakkas, V.A., Konstantinou, I.K., Albanis, T.A., 2002.** Aquatic phototransformation study of the antifouling agent Sea-Nine 211 : identification of byproducts and the

- reaction pathway by gas chromatography mass spectroscopy. *J. Chromatogr. A*, 959 : 215 - 227.
- Salama, A.K., Osman, K.A., Saber, N.A., Soliman, S.A., 2005.** Oxidative stress induced by different pesticides in the land snail, *Helix aspersa*. *Pak. J. Biol. Sci.*, 8 : 92 - 96.
- Salmon, A.B., Marx, D.B., Harshman, L.G., 2001.** A cost of reproduction in *Drosophila melanogaster* : stress susceptibility. *Evol.*, 55 : 1600 - 1608.
- Salvayre, A.N., Salvayre, R., 2005.** Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif : implication en physiopathologie vasculaire. *Oilseeds and fats. Crops Lipids OCL*, 12 : 433 - 438.
- Samain, J.F., McCombie, H., 2008.** Summer mortality Pacific oyster *Crassostrea gigas*: The morest project. Synthèses. Quae edition. Paris. p 379. *In* : Mercurio, P., Flores, F., Mueller, J.F., Carter, S., Negri, A.P., 2014. Glyphosate persistence in seawater. *Mar. Pollut. Bull.*, 85 : 385 - 390.
- Sánchez-Avila, J., Tauler, R., Lacorte, S., 2012.** Organic micropollutants in coastal waters from NW Mediterranean sea : sources distribution and potential risk. *Environ. Int.*, 46 : 50 - 62.
- Sánchez-Rodríguez, A., Sosa-Ferrera, Z., Santana-Del Pino, A., Santana-Rodríguez, J.J., 2011.** Probabilistic risk assessment of common booster biocides in surfacewaters of the harbours of gran Canaria (Spain). *Mar. Poll. Bull.*, 62 : 985 - 991.
- Sani, A., Idris, M.K., 2016.** Acute toxicity of herbicide (glyphosate) in *Clarias gariepinus* juveniles. *Toxicol. Rep.*, 3 : 513 -515.
- Sanità Di Toppi, L., Gabbrielli, R., 1999.** Response to cadmium in higher plants. *Environ. Exp. Bot.*, 41 : 105 - 130.
- Santiago, E.C., Kwan, C.S., 2007.** Endocrine disrupting phenols in selected rivers and bays in the Philippines. *Mar. Pollut. Bull.*, 54 : 1031 - 1071.
- Sass, J.B., Colanero, A., 2006.** European Union bans atrazine, while the United States negotiates continued use. *Int. J. Occup. Environ. Health*, 12 : 260 - 267.
- Scaps, P., Borot, O., 2000.** Acetylcholinesterase activity of the polychaete *Nereis diversicolor* : effects of temperature and salinity. *Comp. Biochem. Physiol. C* 125 : 377 - 383.
- Schmidt, W., Power, E., Quinn, B., 2013.** Seasonal variations of biomarker responses in the marine blue mussel (*Mytilus spp*). *Mar. Pollut. Bull.*, 74 : 50 - 55.
- Schneider, J., Torun-Ski, H., 1983.** Biokarst on limonestone coasts, morphogenesis and sediment production. *Mar. Ecol. Deutsch*, 4 : 45 - 63.

- Schoenmakers, H.J.N., Dieleman, S.J., 1981.** Progesterone and estrone levels in the ovaries, pyloric ceca and perivisceral fluid during the annual reproductive cycle of starfish, *Asterias rubens*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 43 : 63 - 70.
- Scribner, E.A., Battaglin, W.A., Dietze, J.E., Thurman, E.M., 2003.** Reconnaissance data for glyphosate, other selected herbicides, their degradation products and antibiotics in 51 streams in nine Midwestern states, 2002. United States department of the interior, US geological survey. Prepared in cooperation with the United States. Geological survey toxic substances hydrology program. Open file report 03 - 217. Disponible sur : <https://ks.water.usgs.gov>. Consulté le : 22/11/2016.
- Seibel, B.A., Walsh, P.J., 2003.** Biological impacts of deep-sea carbon dioxide injection inferred from indices of physiological performance. *J. Exp. Biol.*, 206 : 641 - 650.
- Sellem, F., Guillou, M., 2007.** Reproductive biology of *Paracentrotus lividus* (*Echinodermata : Echinoidea*) in two contrasting habitats of northern Tunisia (South-east Mediterranean). *J. Mar. Biol. Assoc.*, 87 : 763 - 767.
- Semroud, R., Kada, H., 1987.** Contribution à l'étude de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Lamarck) dans la région d'Alger (Algérie) : indice de réplétion et indice gonadique. *In* : Boudouresque, C.F., (Ed.), colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. GIS Posidonie. Publ., France. pp.117 - 124.
- Sene, L., Converti, A., Secchi, G.A.R., Simão, R.D.C.G., 2010.** New aspects on atrazine biodegradation. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 53 : 487 - 496.
- Sensi, S.L., Jeng, J.M., 2004.** Rethinking the excitotoxic ionic milieu : the emerging role of Zn^{+2} in ischemic neuronal injury. *Curr. Mol. Med.*, 4 : 87 - 111.
- Serteyn, D., Mouithys-Mickalad, A., Franck, T., Grulke, S., Lamy, M., Deby, C., Deby-Dupont, G., 2002.** La nature chimique et la réactivité de l'oxygène. *Ann. Méd. Vét.*, 146 : 137 - 153.
- Servizi, J.A., Gordon, R.W., Martens, D.W., 1987.** Acute toxicity of garlon 4 and roundup herbicides to salmon, *Daphnia*, and trout. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 39 : 15 - 22.
- Severin, G.F., Welzl, G., Jüttner, I., Pfister, G., Schramm, K.W., 2003.** Effects of nonylphenol on zooplankton in aquatic microcosms. *Environ. Toxicol. Chem.*, 22 : 2733 - 2738.
- Shapir, N., Mongodin, E.F., Sadowsky, M.J., Daugherty, S.C., Nelson, K.E., Wackett, L.P., 2007.** Evolution of catabolic pathways: genomic insights into microbial-triazine metabolism. *J. Bacteriol.*, 189 : 674 - 682.

- Shaw, M., Müller, J.F., 2005.** Preliminary evaluation of the occurrence of herbicides and PAHs in the wet tropics region of the great barrier reef, Australia, using passive samplers. *Mar. Pollut. Bull.*, 51 : 876 - 881.
- Sheean, P.D., Hodges, L.D., Kalafatis, N., Wright, P.F.A., Wynne, P.M., Whitehouse, M.W., Macrides, T.A., 2007.** Bioactivity of extracts from gonadal tissue of the edible Australian purple sea urchin *Heliocidaris erythrogramma*. *J. Sci. Food Agric.*, 87 : 694 - 701.
- Sheehan, D., Power, A., 1999.** Effects of seasonality on xenobiotic and antioxidant defence mechanisms of bivalve molluscs. *Comp. Biochem. Physiol.*, C 123 : 193 - 199.
- Sheikh, M.A., Fujimura, H., Miyagi, T., Uechi, Y., Yokota, T., Yasumura, S., Oomori, T., 2009.** Detection and ecological threats of PSII herbicide diuron on coral reefs around the Ryukyu Archipelago, Japan. *Mar. Pollut. Bull.*, 58 : 1922 - 1952.
- Shi, H.H., Sui, Y.X., Wang, X.R., Luo, Y., Ji, L.L., 2005.** Hydroxyl radical production and oxidative damage induced by cadmium and naphthalene in liver of *Carassius auratus*. *Comp. Biochem. Physiol.* C 140 : 115 - 121.
- Shick, J.M., 1983.** Respiratory gas exchange *in* echinoderms. *In* : Jangoux, M., Lawrence, J.M. (Eds.), echinoderm studies. Vol 1. Balkema CRC Press. Rotterdam. pp.67 - 110.
- Shpigel, M., Mc Bride, S.C., Marciano, S., Lupatsch, I., 2004.** The effect of photoperiod and temperature on the reproduction of the European sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Aquac.*, 232 : 343 - 355.
- Sies, H., 1997.** Oxidative stress : oxidants and antioxidants. *Exp. Physiol.*, 82 : 291 - 295.
- Sifi, K., Chouahda, S., Soltani, N., 2007.** Biosurveillance de l'environnement par la mesure de biomarqueurs chez *Donax trunculus* dans le golfe d'Annaba (Algerie). *Mésogée*, 63 : 11 - 18.
- Silvestre, F., Trausch, G., Spanò, L., Devos, P., 2002.** Effects of atrazine on osmoregulation in the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 132 C : 385 - 390.
- Siung-Chang, A., 1997.** A review of marine pollution issues in the Caribbean. *Environ. Geochem. Health*, 19 : 45 - 55.
- Skark, C., Zullei-Seibert, N., Schöttler, U., Schlett, C., 1998.** The occurrence of glyphosate in surface water. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 70 : 93 - 104.
- Smayda, T.J., 2008.** Complexity in the eutrophication-harmful algal bloom relationship, with comment on the importance of grazing. *Harmful Algae*, 8 : 140 - 151.

- Snyder, S.A., Villeneuve, D.L., Snyder, E.M., Giesy, J.P., 2001. Identification and quantification of estrogen receptor agonists in wastewater effluents. *Environ. Sci. Technol.*, 35 : 3620 - 3625.
- Soares, A., Guieysse, B., Jefferson, B., Cartmell, E., Lester, J.N., 2008. Nonylphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. *Environ. Int.*, 34 : 1033 - 1049.
- SOES, 2011. Service de l'observation et des statistiques. Environnement littoral et marin. *In* : Barranger, A., Akcha, F., Rouxel, J., Brizard, R., Maurouard, E., Pallud, M., Menard, D., Tapie, N., Budzinski, H., Burgeot, T., Benabdelmoun, A., 2014. Study of genetic damage in the Japanese oyster induced by an environmentally relevant exposure to diuron : evidence of vertical transmission of DNA damage. *Aquat. Toxicol.*, 146 : 93 - 104.
- Solé, M., Porte, C., Albaiges, J., 1995. Seasonal variation in the mixed-function oxygenase system and antioxidant enzymes of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 14 : 157 - 164.
- Solomon, K.R., Thompson, D.G., 2003. Ecological risk assessment for aquatic organisms from over water uses of glyphosate. *J. Toxicol. Environ. Health*, B 6 : 289 - 324.
- Solorzano, L., 1969. Determination of ammonia in natural water by the phenolhypochlorite method. *Limnol. Oceanog.*, 14 : 799 - 801.
- Soualili, D., Dubois, P., Gosselin, P., Pernet, P., Guillou, M., 2008. Assessment of seawater pollution by heavy metals in the neighbourhood of Algiers : use of the sea urchin, *Paracentrotus lividus* as a bioindicator. *ICES J. Mar. Sci.*, 65 : 132 - 139.
- Soualili, D., Guillou, M., 2009. Variation in the reproductive cycle of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in three differently polluted locations near Algiers (Algeria). *Mar. Biodivers. Rec.*, 2 : 1 - 6.
- Southwick, L.M., Willis, G.H., Bengtson, R.L., Lormand, T.J., 1990. Effect of subsurface drainage on run-off losses of atrazine and metalochlor in Southern Louisiana. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 45 : 113 - 119.
- Spano, L., Tyler, C.R., Van Aerle, R., Devos, P., Mandiki, S.N., Silvestre, F., Thome, J.P., Kestemont, P., 2004. Effects of atrazine on sex steroid dynamics, plasma vitellogenin concentration and gonad development in adult goldfish (*Carassius auratus*). *Aquat. Toxicol.*, 66 : 369 - 379.
- Spirlet, C., Grosjean, P., Jangoux, M., 1994. Differentiation of the genital apparatus in a juvenile echinoid (*Paracentrotus lividus*). *In* : David, B., Guille, A., Féral, J.P., Roux, M., (Eds.), echinoderms through time. Balkema CRC Press. Rotterdam. pp.881 - 886.

- Spirlet, C., Grosjean, P., Jangoux, M., 1998.** Reproductive cycle of the echinoid *Paracentrotus lividus* : analysis by means of the maturity index. *Invert. Deprod. Develop.*, 34 : 69 - 81.
- Splittgerber, A.G., Tappel, A.L., 1979.** Inhibition of glutathione peroxidase by cadmium and other metals. *Arch. Biochem. Biophys.*, 197 : 534 - 542.
- Spolyarich, N., Hyne, R., Wilson, S., Palmer, C., Byrne, M., 2010.** Growth, development and sex ratios of Spotted Mars Frog (*Limnodynastes tasmaniensis*) larvae exposed to atrazine and a herbicide mixture. *Chemosphere*, 78 : 807 - 813.
- Stachowski-Haberkorn, S., Becker, B., Marie, D., Haberkorn, H., Coroller, L., De La Broise, D., 2008.** Impact of Roundup on the marine microbial community, as shown by an in situ microcosm experiment. *Aquat. Toxicol.*, 89 : 232 - 241.
- Station météorologique 603600.** Station météorologique d'Annaba. Disponible sur : <http://en.tutiempo.net/climate/02-2012/ws-603600.html>. Consulté le : 18/10/2015.
- Station météorologique 603670.** Station météorologique d'El-Kala. Disponible sur : <http://en.tutiempo.net/climate/02-2012/ws-603600.html>. Consulté le : 18/10/2015.
- Stefano, A., Cadet, P., Mantione, K., Cho, J.J., Jones, D., Zhu, W., 2003.** Estrogen signalling at the cell surface coupled to the nitric oxide release in *Mytilus edulis* nervous system. *Endocrinol.*, 144 : 1234 - 1240.
- Stein, X., Percic, P., Gnassia-Barelli, M., Roméo, M., Lafaurie, M., 1998.** Evaluation of biomarkers in caged fishes and mussels to assess the quality water in a bay of the NW Mediterranean sea. *Environ. Pollut.*, 99 : 339 - 345.
- Stephensen, E., Svavarsson, J., Sturve, J., Ericson, G., Adolfsson-Erici, M., Forlin, L., 2000.** Biochemical indicators of pollution exposure in shorthorn sculpin (*Myoxocephalus scorpius*), caught in four harbours on the southwest coast of Iceland. *Aquat. Toxicol.*, 48 : 431 - 442.
- Stickle, W.B., Diehl, W.J., 1987.** Effects of salinity on echinoderms. *In* : Jangoux, M., Lawrence, J. M., (Eds.), *echinoderm studies. Vol 2.* Balkema CRC Press. Rotterdam. pp. 235 - 285.
- Storrs, S.I., Semlitsch, R.D., 2008.** Variation in somatic and ovarian development: predicting susceptibility of amphibians to estrogenic contaminants. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 156 : 524 - 530.
- Struger, J., Thompson, D., Staznik, B., Martin, P., McDaniel, T., Marvin, C., 2008.** Occurrence of glyphosate in surface waters of Southern Ontario. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 80 : 378 - 384.

- Sumpter, J.P., Jobling, S., 1995.** Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment. *Environ. Health Perspect.*, 103 : 173 - 178.
- Sun, Y.Y., Yin, Y., Zhang, J.F., Yu, H.X., Wang, X.R., Wu, J.C., Xue, Y.Q., 2008.** Hydroxyl radical generation and oxidative stress in *Carassius auratus* liver, exposed to pyrene. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 71 : 446 - 453.
- Sundaram, K.M.S., 1997.** Persistence of tebufenozide in aquatic ecosystems under laboratory and field conditions. *Pestic. Sci.*, 51 : 7 - 20.
- Suteau, P., Daubeze, M., Migaud, M.L., Narbonne, J.F., 1988.** PAH metabolizing enzymes in whole mussels as biochemical tests for chemical pollution monitoring. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 46 : 45 - 49.
- Szarek, J., Siwicki, A., Andrzejewska, A., Terech-Majewska, E., Banaszkiwicz, T., 2000.** Effects of the herbicide Roundups on the ultrastructural pattern of hepatocytes in carp (*Cyprinus carpio*). *Mar. Environ. Res.*, 50 : 263 - 266.
- Tate, T.M., Spurlock, J.O., Christian, F.A., 1997.** Effect of glyphosate on the development of *Pseudosuccinea columella* snails. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 33 : 286 - 289.
- Tavera-Mendoza, L., Ruby, S., Brousseau, P., Fournier, M., Cyr, D., Marcogliese, D., 2002a.** Response of the amphibian tadpole (*Xenopus laevis*) to atrazine during sexual differentiation of the testis. *Environ. Toxicol. Chem.*, 21 : 527 - 531.
- Tavera-Mendoza, L., Ruby, S., Brousseau, P., Fournier, M., Cyr, D., Marcogliese, D., 2002b.** Response of the amphibian tadpole *Xenopus laevis* to atrazine during sexual differentiation of the ovary. *Environ. Toxicol. Chem.*, 21 : 1264 - 1267.
- Tayeb, A., Chellali, M.R., Hamou, A., Debbah, S., 2015.** Impact of urban and industrial effluents on the coastal marine environment in Oran, Algeria. *Mar. Pollut. Bull.*, 98 : 281 - 288.
- Tejada, S., Deudero, S., Box, A., Sureda, A., 2013.** Physiological response of the sea urchin *Paracentrotus lividus* fed with the sea grass *Posidonia oceanica* and the alien algae *Caulerpa racemosa* and *Lophocladia lallemandii*. *Mar. Environ. Res.*, 83 : 48 - 53.
- Thomas, K.V., 2001.** The environmental fate and behavior of antifouling paint booster biocides : a review. *Biofouling*, 17 : 73 - 86.
- Thomas, K.V., Fileman, T.W., Readman, J.W., Waldock, M.J., 2001.** Antifouling Paint Booster Biocides in the UK coastal environment and potential risks of biological effects. *Mar. Pollut. Bull.*, 42 : 677 - 688.
- Thomas, K.V., Mc Hugh, M., Hilton, M., Waldock, M., 2002.** Antifouling paint booster biocides in UK coastal waters: inputs, occurrence and environmental fate. *Sci. Total Environ.*, 293 : 117 - 127.

- Thomas, K.V., Mc Hugh, M., Hilton, M., Waldock, M., 2003.** Increased persistence of antifouling paint biocides when associated with paint particles. *Environ. Pollut.*, 123 : 153 - 161.
- Tillitt, D.E., Papoulias, D.M., Whyte, J.J., Richter, C.A., 2010.** Atrazine reduces reproduction in fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Aquat. Toxicol.*, 99 : 149 - 159.
- Tilton, F., Benson, W.H., Schlenk, D., 2002.** Evaluation of estrogenic activity from a municipal wastewater treatment plant with predominantly domestic input. *Aquat. Toxicol.*, 61 : 211 - 224.
- Tortonese, E., Vadon C., 1987.** Oursins et holothuries. *In* : Fischer W., Bouchon, M.L., Scneider, M., (Eds.), Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. révision 1. Zone de pêche 37. Mer Méditerranée et Mer Noire. Publication préparée par la FAO, résultat d'un accord entre la FAO et la commission des communautés européennes (projet GCP/INT/422/EEC) financée conjointement par ces deux organisations. Rome. FAO., pp. 743–760.
- Tortonese, E., 1965.** Fauna d'Italie. *Echinodemata*. Vol. I. Edizioni Calderini. Bologna. p.422.
- Traer, K., 1980.** The consumption of *Posidonia oceanica* Delile by echinoide at the isle of Ischia. *In* : Jangous, M., (Ed.), echinoderms : present and past. Balkma pub. Rotterdam. p.241 - 244.
- Tsangaris, C., Vergolyas, M., Fountoulaki, E., Nizheradze, K., 2011.** Oxidative stress and genotoxicity biomarker responses in grey mullet (*Mugil cephalus*) from a polluted environment in Saronikos Gulf, Greece. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 61 : 482 - 490.
- Tsui, M.T.K, Chu, L.M., 2004.** Comparative toxicity of glyphosate-based herbicides: aqueous and sediment porewater exposures. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 46 : 316 - 323.
- Tsui, M.T.K., Chu, L.M., 2003.** Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere*, 52 : 1189 - 1197.
- Tyler, A.C., McGlatery, K.J., 2003.** Benthic algae control sediment–water column fluxes of inorganic nitrogen compounds in a temperate lagoon. *Limnol. Oceanogr.*, 48 : 2125 - 2137.
- Uchiyama, M., Mihara, M., 1978.** Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.*, 86 : 271 - 280.
- UNEP, 2013.** United nations environment programme. *In* : Barranger, A., Akcha, F., Rouxel, J., Brizard, R., Maurouard, E., Pallud, M., Menard, D., Tapie, N., Budzinski,

- H., Burgeot, T., Benabdelmoun, A., 2014. Study of genetic damage in the Japanese oyster induced by an environmentally relevant exposure to diuron : evidence of vertical transmission of DNA damage. *Aquat. Toxicol.*, 146 : 93 - 104.
- UNEP/MAP, 2012.** United nations environment programme / Mediterranean action plan report Barcelona convention, Athens. *In* : Mandalakis, M., Polymenakou, P.N., Tselepidis, A., Lampadariou, N., 2014. Distribution of aliphatic hydrocarbons, polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorinated pollutants in deep-sea sediments of the Southern Cretan margin, eastern Mediterranean sea : a baseline assessment. *Chemosphere*, 106 : 28 - 35.
- Uner, N., Oruc, E.O., Sevgiler, Y., Sahin, N., Durmaz, H., Usta, D., 2006.** Effects of diazinon on acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation in the brain of *Oreochromis niloticus*. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 21 : 241 - 245.
- Ursini, F., Maiorino, M., Brigelius-Floche, R., Aumann, K.D., Riveri, A., Schomburg, D., Floche, L., 1995.** Diversity of glutathione peroxidases. *Methods Enzymol.*, 252 : 38 - 53.
- US EPA, 1990.** Agence de protection de l'environnement des Etats-Unis, office of prevention pesticides and toxic substances. Disponible sur : <https://www.epa.gov>. Consulté le : 10/11/2016.
- US EPA, 2006.** Agence de protection de l'environnement des Etats-Unis, decision documents for atrazine. Disponible sur : <http://www.epa.gov>. Consulté le : 10/11/2016.
- Vaissière, R., Fredj, G., 1963.** Contribution à l'étude de la faune benthique du plateau continental d'Algérie. *Bull. Inst. Océanogr. Monaco*, 60 : 5 - 83.
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullou, M., 2006.** Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotox. Environ. Saf.*, 64 : 178 - 189.
- Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E., 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment : a review. *Envir Toxicol. Pharmacol.*, 13 : 57 - 149.
- Vandeputte, C., Guizon, I., Genestie-Denis, I., Vannier, B., Lorenzon, G., 1994.** A microtiter plate assay for total glutathione and glutathione disulfide contents in cultured/isolated cells : performance study of a new miniaturized protocol. *Cell. Biol. Toxicol.*, 10 : 415 - 421.
- Vangriesheim, A., Guillou, A.P., Prieur, L., 1992.** A deep ocean nephelometer to detect bottom and intermediate nepheloid layer. *Deep-Sea Res.*, 39 : 1403 - 1416.
- Verlaque, M., 1984.** Biologie des juvéniles de l'oursin herbivore *Paracentrotus lividus* (Lamarck) : sélectivité du broutage et impact de l'espèce sur les communautés

- algales de substrat rocheux en Corse (Méditerranée, France). *Bot. Mar.*, 27 : 401 - 424.
- Verlaque, M., 1987.** Contribution à l'étude du phytobenthos d'un écosystème photophile thermophile marin Méditerranée occidentale. Etude structurale et dynamique du phytobenthos et analyse des relations faune flore. Thèse de doctorat. Option : science de la nature. Université Aix - Marseille II. France. p.359. *In* : Boudouresque, C.F., (Ed.), colloque international sur *Paracentrotus lividus* et les oursins comestibles. GIS Posidonie. Publ., France. pp.5 - 36.
- Verlaque, M., Nedelec, H., 1983.** Note préliminaire sur les relations biotiques de *Paracentrotus lividus* et l'herbier de Posidonides. *Rapp. Comm. Int. Mer Méditer.*, 28 : 157 - 158.
- Viarengo, A., Canesi, L., Pertica, M., Poli, G., Moore, M.N., Orunesu, M., 1990.** Heavy metal effects on lipid peroxidation in the tissues of *Mytilus galloprovincialis* Lam. *Comp. Biochem. Physiol.*, C 97 : 37 - 42.
- Viarengo, A., Ponzano, E., Dondero, F., Fabbri, R., 1997.** A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: an application in Mediterranean and Atlantic molluscs. *Mar. Environ. Res.*, 44 : 69 - 84.
- Vidolin, D., Santos-Gouvea, I.A., Freire, C.A., 2007.** Differences in ion regulation in the sea urchins *Lytechinus variegatus* and *Arbacia lixula* (Echinodermata: Echinoidea). *J. Mar. Biol. Ass. UK.*, 87 : 769 - 775.
- Vollenweider, R.A., Giovanardi, F., Montanari, G., Rinaldi, A., 1998.** Characterization of the trophic conditions of marine coastal waters with special reference to the NW Adriatic sea : proposal for a trophic scale, turbidity and generalized water quality index. *Environ.*, 9 : 329 - 357.
- Vollenweider, R.A., Rinaldi, A., Montanari, G., 1992.** Eutrophication, structure and dynamics of a marine coastal system : results of ten years monitoring along the Emilia-Romagna coast (Northwest Adriatic sea). *In* : Vollenweider, R.A., Marchetti, R., Viviani, R. (Eds.), marine coastal eutrophication. Elsevier edition. Amsterdam. pp.63 - 106.
- Wang, Y., Salmon, A.B., Harshman, L.G., 2001.** A cost of reproduction : oxidative stress susceptibility is associated with increased egg production in *Drosophila melanogaster*. *Exp. Gerontol.*, 36 : 1349 - 1359.
- Ward, J.F., Evans, J.W., Calabro-Jones, P.M., 1987.** Radiation and hydrogen peroxide induced free radical damage to DNA. *Br. J. Cancer*, 55 : 105 - 112.

- Warnau, M., Iaccarino, M., De Biase, A., Temara, A., Jangoux, M., Dubois, P., Pagano, G., 1996.** Spermiotoxicity and embryotoxicity of heavy metals in the Echinoid *Paracentrotus lividus*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 15 :1931 - 1936.
- Wasmund, N., Andrushaitis, A., Łysiak-Pastuszek, E., Müller-Karulis, B., Nausch, G., Neumann, T., Ojaveer, H., Olenina, I., Postel, L., Witek, Z., 2001.** Trophic Status of the South-eastern Baltic sea : a comparison of coastal and open areas. *Estuar. Coast. Shelf. Sci.*, 53 : 849 - 864.
- Watanabe, H., Nguyen, M.H.T., Souphasay, K., Vu, S.H., Phong, T.K., Tournebize, J., Ishihara, S., 2007.** Effect of water management practice on pesticide behavior in paddy water. *Agric. Water Manag.*, 88 : 32 - 40.
- Weckbecker, W., Cory, J.G., 1988.** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Lett.*, 40 : 267 - 264.
- Weiss, K.R., Brezina, V., Cropper, E.C., Heierhorst, J., Hooper, S.L., Probst, W.C., Rosen, S.C., Vilim, F.S., Kupfermann, I., 1993.** Physiology and biochemistry of peptidergic cotransmission in : *Aplysia*. *J. Physiol.*, 87 : 141 - 151.
- Wepender, V., Bervoets, L., Mubiana, V., Blust, R., 2008.** Metal exposure and biological responses in resident and transplanted blue mussels (*Mytilus edulis*) from the Scheldt estuary. *Mar. Pollut. Bull.*, 57 : 624 - 631.
- White, R., Jobling, S., Hoate, S.A., Sumpter, J.P., Parker, M.G., 1994.** Environmentally persistent alkylphenol compound are estrogenic. *Endocrinol.*, 135 : 175 - 182.
- Whiteley, N.M., Scott, J.L., Breeze, S.J., McCann, L., 2001.** Effects of water salinity on acid-base balance in decapod crustaceans. *J. Exp. Biol.*, 204 : 1003 - 1011.
- Wiersma, P., Selman, C., Speakman, J.R., Verhulst, S., 2004.** Birds sacrifice oxidative protection for reproduction. *Proc. R. Soc. Lond. B : Biol. Sci.*, 271: 360 - 363.
- Wilhelm-Filho, D., Torres, M.A., Zaniboni Filho, E., Pedrosa, R.C., 2005.** Effet of differet oxygen tensions on weight gain, feed conversion, and antioxidant status in piapara, *Leporinus elongates* (Valenciennes, 1847). *Aquac.*, 244 : 349 - 357.
- Williams, B.K., Semlitsch, R.D., 2010.** Larval responses of three Midwestern anurans to chronic, low dose exposures of four herbicides. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 58 : 819 - 827.
- Williams, R.J., Bird, S.C., Clare, R.W., 1991.** Simazine concentrations in a stream draining on agricultural catchment. *J. Inst. Water Environ. Manag.*, 5 : 80 - 84.

- Wols, B.A., Hofman-Caris, C.H.M., 2012.** Review of photochemical reaction constants of organic micropollutants required for UV advanced oxidation processes in water. *Water Res.*, 46 : 2815 - 2827.
- Woodburn, A.T., 2000.** Glyphosate : production, pricing and use worldwide. *Pest. Manag. Sci.*, 56 : 309 - 312.
- Xie, Z., Lakaschus, S., Ebinghaus, R., Caba, A., Ruck, W., 2006.** Atmospheric concentrations and air sea exchanges of nonylphenol, tertiary octylphenol and nonylphenol monoethoxylate in the North sea. *Environ. Pollut.*, 142 : 170 - 180.
- Xu, E.G.B., Morton, B., Lee, J.H.W., Leung, K.M.Y., 2015.** Environmental fate and ecological risks of nonylphenols and bisphenol A in the Cape D'Aguliar marine reserve, Hong Kong. *Mar. Pollut. Bull.*, 91 : 128 - 138.
- Xu, L., Tian, H., Wang, W., Ru, S., 2012.** Effects of monocrotophos pesticide on serotonin metabolism during early development in the sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 34 : 537 - 547.
- Yin, Y., Jia, H., Sun, Y., Yu, H., Wang, X., Wu, J., Xue, Y., 2007.** Bioaccumulation and ROS generation in liver of *Carassius auratus*, exposed to phenanthrene. *Biochem. Physiol.*, C 145 : 288 - 293.
- Ying, G.G., Kookana, R.S., 2003.** Degradation of five selected endocrine disrupting chemicals in seawater and marine sediments. *Environ. Sci. Technol.*, 37 : 1256 - 1260.
- Yonehara, Y., 2000.** Recent topics on marine antifouling coatings (in Japanese). *Bull. Soc. Sea Water Sci. Jpn.*, 54 : 7 - 12.
- Zera, A.J., Harshman, L.G., 2001.** The physiology of life history trade-offs in animals. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 32 : 95 - 126.
- Zhadan, P.M., Vaschenko, M.A., Almyashova, T.N., 2015.** Spawning failure in the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius* in the Northwestern sea of Japan : potential environmental causes. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 465 : 11 - 23.
- Zhang, L., Gibbler, R., Baer, K.N., 2003.** The effects of 4-nonylphenol and ethanol on acute toxicity, embryo development and reproduction in *Daphnia magna*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 55 : 330 - 337.
- Zhang, Y. S., Andersson, T., Förlin, L., 1990.** Induction of hepatic xenobiotic biotransformation enzymes in rainbow trout by β -naphthoflavone (Time course studies). *Comp. Biochem. Physiol.*, B 95 : 247 - 253.
- Ziouch, O.R., 2014.** Nutrient distribution in the bay of Annaba under the influence of the Seybouse and the Mafragh estuaries inputs (South-western Mediterranean). Thèse

de doctorat. Option : environnement littoral. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.117. Disponible sur : <http://biblio.univ-annaba.dz>.

- Zomer-Sandrini, J., Coimbra-Rola, R., Moreira-Lopes, F., Buffon, H.F., Freitas, M.M., Gaspar-Martins, C.M., Da Rosa, C.E., 2013.** Effects of glyphosate on cholinesterase activity of the mussel *Perna perna* and the fish *Danio rerio* and *Jenynsia multidentata* : In vitro studies. *Aquat. Toxicol.*, 130 - 131 : 171- 173.
- Zupi, V., Fresi, E., 1984.** A study on the food web of the *Posidonia oceanica* (L.) Delile ecosystem : analyse of the gut contents of echinoderms. *In* : Boudouresque, C.F., Jeudy DeGrissac, A., Olivier, J., (Eds.), international workshop *Posidonia oceanica* Beds. GIS Posidonie. Pub., France. pp. 373 - 379.

Annexes

Azote ammoniacal

o Composition et préparation des produits nécessaires aux dosages

Solution de phénol - nitroprussiate

Produits utilisés

- Phénol (C_6H_5OH).
- Nitroprussiate de sodium dihydraté ($Na_2 Fe(CN)_5NO, 2H_2O$).

Préparation

- Dissoudre 65 g de phénol dans 800 ml d'eau distillée ;
- Ajouter 1,5 g du Nitroprussiate de sodium dihydraté ;
- Mélanger puis compléter à 1000 ml ;
- Conserver la solution au réfrigérateur.
- Solution stable entre 2 à 3 semaines.

Solution alcaline complexante

Produits utilisés

- Citrate trisodique dihydraté ($Na_3C_6H_5O_7, 2H_2O$).
- Hydroxyde de sodium (NaOH).

Préparation

- Dissoudre 375 g de citrate trisodique et 30 g de NaOH dans 800 ml d'eau distillée ;
- Mélanger puis compléter à 1000 ml.
- Solution stable pendant plusieurs mois à température ambiante.

Solution complexante au chlore

Produits utilisés

- Solution alcaline complexante.
- Dichloroisocyanurate de sodium dihydraté ($C_3Cl_2N_3NaO_3, 2H_2O$).

Préparation

- A la solution alcaline complexante, ajouter 8 g de dichloroisocyanurate de sodium dihydraté par litre ;
- Solution instable, à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

○ **Composition et préparation de la solution étalon diluée d'ammonium**

Solution étalon concentrée d'ammonium à 10000 $\mu\text{mol/L}$

Produits utilisés

- Sulfate d'ammonium ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$).

Préparation

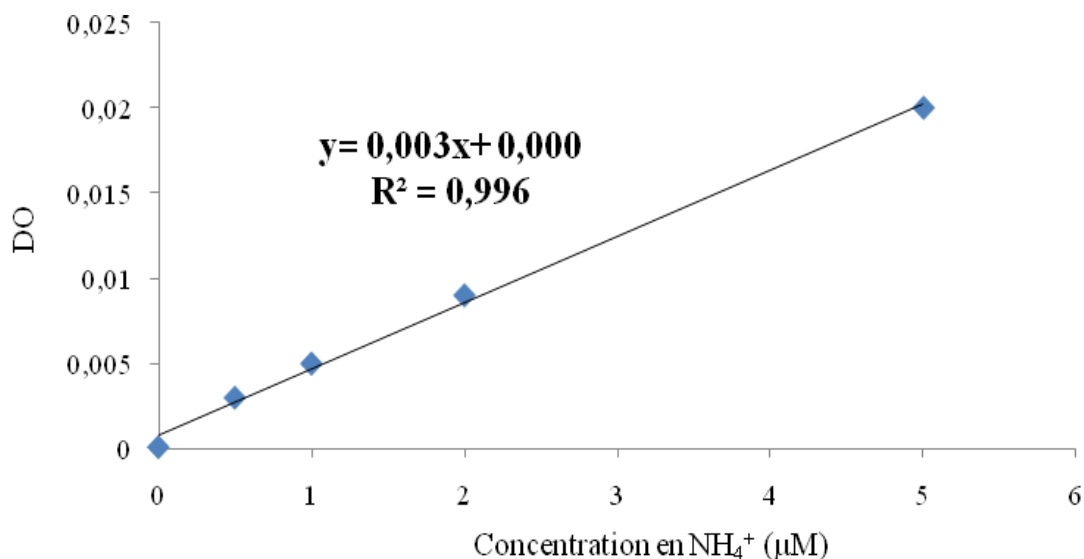
- Sécher du sulfate d'ammonium à 105 °C pendant 1 heure ;
- Peser 0,661 g de sulfate d'ammonium pour 1000 ml de solution préparée en fiole jaugée, avec de l'eau distillée ;
- Conserver à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- Solution stable pendant une année.

Solution étalon diluée d'ammonium à 500 $\mu\text{mol/L}$

Préparation

- Diluer 20 fois la solution étalon concentrée (10000 $\mu\text{mol/L}$) pour obtenir la solution étalon diluée (500 $\mu\text{mol/L}$) ;
 - Solution ne se conserve que quelques heures.
-

○ **Représentation graphique de la courbe d'étalonnage de l' NH_4^+**



Nitrite

○ Composition et préparation des réactifs nécessaires au dosage

Solution de sulfanilamide

Produits utilisés

- Acide chlorhydrique (HCl).....37 %
- Sulfanilamide ($C_6H_8N_2O_2S$).

Préparation

- Diluer 50 ml d'HCl dans 250 ml d'eau distillée ;
- Ajouter 5 g de sulfanilamide, puis compléter à 500 ml ;
- Conserver la solution à l'abri de la lumière.
- Solution stable pendant plusieurs mois.

Solution de N-naphtyl-éthylènediamine

Produits utilisés

- Dichlorohydrate de N- (1-naphtyl)-éthylènediamine (NED) ($C_{12}H_{14}N_2, 2HCl$).

Préparation

- Dissoudre 0,5 g de NES dans 500 ml d'eau distillée ;
- Conserver la solution à 4 °C et à l'abri de la lumière.
- Solution à renouveler dès qu'elle prend une coloration brune.

○ Composition et préparation de la solution étalon de NO_2^-

Solution étalon concentrée de nitrite à 5000 $\mu\text{mol/L}$

Produits utilisés

- Nitrite de sodium anhydre ($NaNO_2$).

Préparation

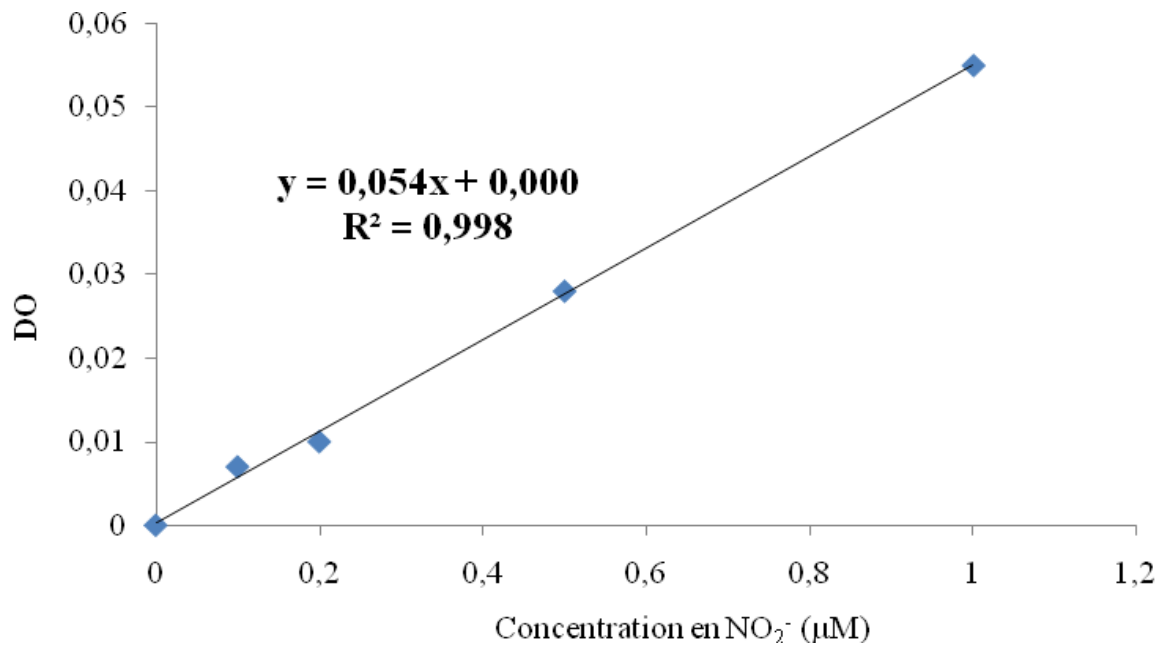
- Sécher le nitrite de sodium à 100 °C pendant 1 heure ;
- Dissoudre 0,345 g dans 1000 ml d'eau distillée ;
- Conserver la solution à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- Solution stable pendant une année.

Solution étalon diluée de nitrite à 50 $\mu\text{mol/L}$

Préparation

- Diluer 100 fois la solution étalon concentrée avec de l'eau distillée ;
- Cette solution ne se conserve que quelques heures.

○ Représentation graphique de la courbe d'étalonnage des NO_2^-



Nitrate

- Composition et préparation des réactifs nécessaires au dosage des NO_3^-

Solution de chlorure d'ammonium

Produits utilisés

- Chlorure d'ammonium (NH_4Cl).

Préparation

- Dissoudre 240 g de NH_4Cl dans 700 ml d'eau distillée ;
- Mélanger puis compléter à 1000 ml ;
- Conserver la solution dans un flacon en plastique à température ambiante.
- Solution stable indéfiniment à température ambiante.

Solution d'hydroxyde de sodium

Produits utilisés

- Hydroxyde de sodium (NaOH).

Préparation

- Dissoudre 17 g de NaOH dans 800 ml d'eau distillée ;
 - Mélanger puis compléter à 1000 ml ;
 - Conserver la solution dans un flacon en plastique à température ambiante.
 - Solution stable indéfiniment à température ambiante.
-

Orthophosphate

- **Composition et préparation des réactifs nécessaires au dosage**

Solution d'acide ascorbique

Produits utilisés

- Acide ascorbique ($C_6H_8O_6$).
- Acide sulfurique.....95 – 97 %

Préparation

- Pour la préparation de l'acide sulfurique à 2,9 mol/L.
 - Ajouter 160 ml d'acide sulfurique dans 800 ml d'eau distillée ;
 - Mélanger puis compléter à 1000 ml ;
 - Solution stable indéfiniment à température ambiante.
- Pour la préparation de la solution d'acide ascorbique.
 - Dans 100 ml d'acide sulfurique (2,9 mol/L), dissoudre 5 g d'acide ascorbique ;
 - Conserver la solution à 4 °C et à l'abri de la lumière ;
 - Solution stable pendant quelques semaines.

Solution acide de molybdène et d'antimoine

Produits utilisés

- Heptamolybdate d'ammonium tétrahydraté ($(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4 H_2O$).
- Oxytartrate d'antimoine (III) et de potassium ($K_2Sb_2 (C_8H_4O_{12}), 3H_2O$).

Préparation

- Dans 450 ml d'acide sulfurique (2,9 mol/L), dissoudre 13 g d'héptamolybdate d'ammonium tétrahydraté ;
- Dissoudre 0,3 g d'oxytartrate d'antimoine (III) et de potassium dans 50 ml d'eau distillée, mélanger puis l'ajouter à la solution d'héptamolybdate d'ammonium tétrahydraté ;
- Conserver la solution à température ambiante.
- Solution stable pendant plusieurs mois.

○ **Composition et préparation de la solution étalon d' PO_4^{3-}**

Solution étalon concentrée d'orthophosphate à 5 000 $\mu\text{mol/L}$

Produits utilisés

- Dihydrogénophosphate de potassium anhydre (KH_2PO_4).

Préparation

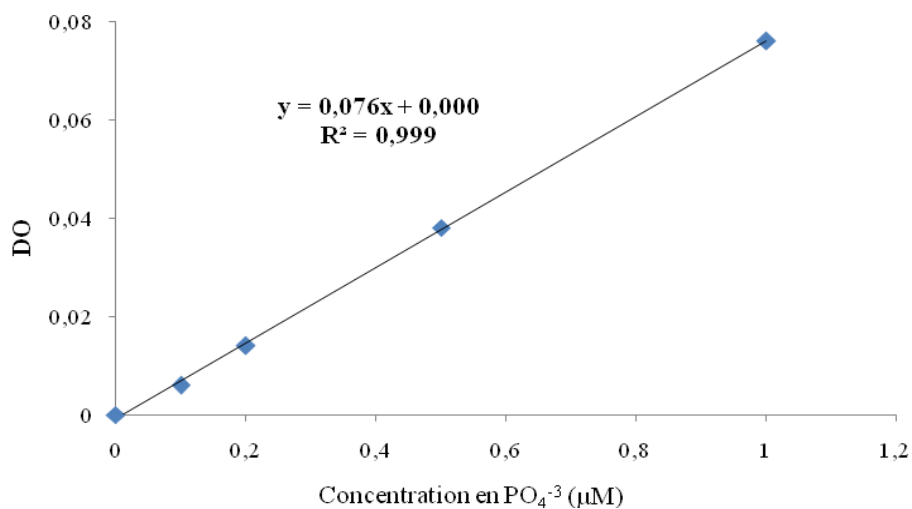
- Sécher le dihydrogénophosphate de potassium à 105 °C pendant 1 heure ;
- Dissoudre 0,6805 g dans 1000 ml d'eau distillée ;
- Conserver à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- Solution stable pendant une année.

Solution étalon diluée d'orthophosphate à 50 $\mu\text{mol/L}$

Préparation

- Diluer 100 fois la solution étalon concentrée pour obtenir la solution étalon diluée ;
 - Solution se conserve quelques jours au réfrigérateur.
-

○ **Représentation graphique de la courbe d'étalonnage des PO_4^{3-}**



Tampons d'homogénéisation

Tampon Tris à 20 mM (pH = 7,6)

Produits utilisés

- Hydroxyméthyl aminométhane (Tris).....20 mM
- Acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA).....1 mM
- Saccharose.....0,5 M
- Chlorure de potassium (KCl).....0,15 M
- Dithiothréitol (DTT).....1 mM
- Fluorure de phénylméthylsulfonyl (PMSF).....0,1mM
 - o Solubiliser le PMSF dans de l'isopropanol à raison 200 mM ;
 - o Aliquoter dans des tubes Eppendorf à raison 50 µl ;
 - o Solution stable pendant 6 mois à - 20 °C.

Préparation

- Pour la préparation de 100 ml de tampon Tris, dissoudre dans 80 ml d'eau distillée 24 g de Tris ; 0,029 g d'EDTA ; 17,11 g de saccharose ; 1,11 g KCl ; 0,015 g DTT et le contenu d'un tube Eppendorf de PMSF ;
- Mélanger puis compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.
- Tampon à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Tampon phosphate de sodium à 0,1 % de Triton

Produits utilisés

- Hydrogénophosphate de sodium (Na_2HPO_4).
- Dihydrogénophosphate de sodium (NaH_2PO_4).
- Triton X 100.

Préparation

- Pour la préparation du tampon phosphate de sodium à 0,02 M (pH = 7).
 - o Dissoudre 2,83 g de Na_2HPO_4 dans 1000 ml d'eau distillée (Solution A) ;
 - o Dissoudre 2,39 g de NaH_2PO_4 dans 1000 ml d'eau distillée (Solution B) ;
 - o Ajuster le pH de la solution (A) à l'aide de la solution (B).
- Pour la préparation de tampon phosphate de sodium à 0,1 % de Triton.
 - o Ajouter 0,1 ml de Triton X 100 à 99,9 ml tampon phosphate 0,02 M (pH = 7) ;
 - o Solution stable pendant plusieurs semaines à 4 °C ;

Tampon chlorure de potassium à 1,15 %

Produits utilisés

- Chlorure de potassium (KCl).

Préparation

- Dissoudre 1,15 g de KCl dans 80 ml d'eau distillée ;
 - Mélanger puis compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.
 - Solution stable pendant plusieurs semaines à 4 °C.
-

Tampon d'homogénéisation de la MT

Produits utilisés

- Saccharose.....0,5 M
- β - mercaptoéthanol.....0,01 %
- Tampon Tris-HCl (pH = 8,6).....20 mM
 - Dissoudre 1,21 g du Tris dans 500 ml d'eau distillée ;
 - Mélanger puis ajuster le pH à 8,6 avec quelques gouttes d'HCl ;
 - Solution stable pendant plusieurs semaines à 4 °C.
- Leupeptine0,006 mM
 - Solubiliser la leupeptine dans de l'eau distillée à raison 8,9 mM ;
 - Aliquoter dans des tubes Eppendorf à raison 101 μ l.
 - Solution stable durant 6 mois à - 25 °C.
- Phenyl methyl sulphonyl fluoride (PMSF)0,5 mM
 - Solubiliser le PMSF dans de l'isopropanol à raison 200 mM ;
 - Aliquoter dans des tubes Eppendorf à raison 375 μ l.
 - Solution stable durant 6 mois à - 20 °C.

Préparation

- Pour la préparation de 150 ml de tampon d'homogénéisation, dissoudre dans 150 ml du tampon Tris : 25,67 g de saccharose, 15 μ l de β -mercaptoéthanol, un tube Eppendorf de leupeptine et de PMSF.
 - Solution à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.
-

Protéines

○ Composition et préparation du réactif nécessaire au dosage

Réactif protéique

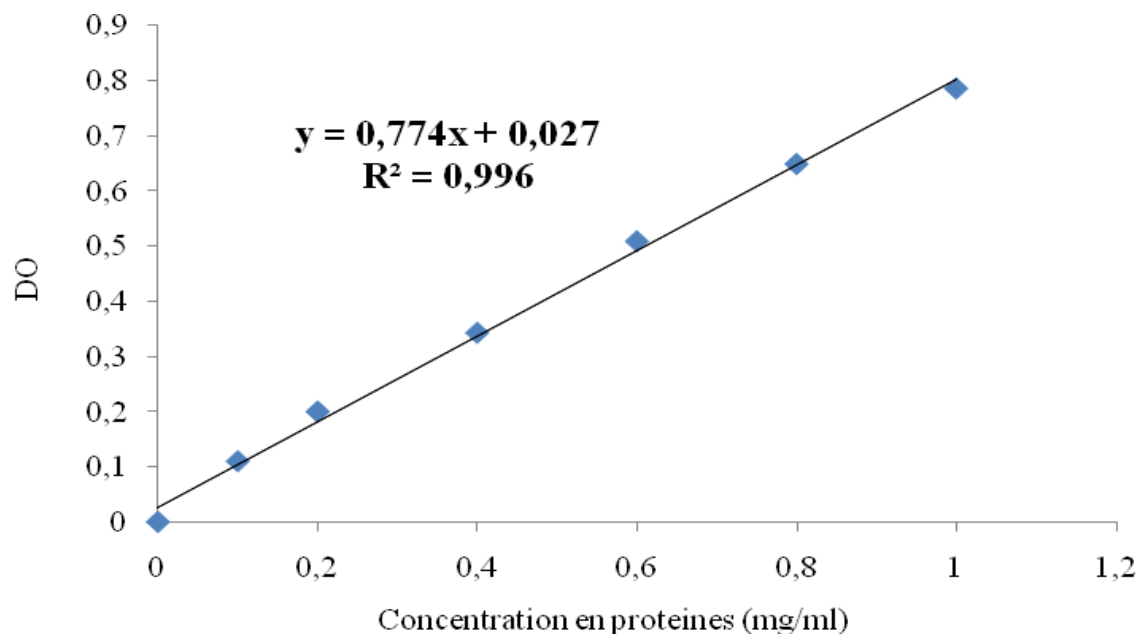
Produits utilisés

- Bleu brillant de Coomassie (G250).
- Éthanol.....95 %
- Acide phosphorique.....85 %

Préparation

- Dissoudre 100 mg du bleu brillant de Coomassie dans 50 ml d'éthanol ;
- Agiter 2 heures puis ajouter 100 ml d'acide phosphorique ;
- Mélanger puis ajuster avec de l'eau distillée jusqu'à 1000 ml ;
- Agiter puis filtrer sur papier filtre Whatman N°1.
- Solution stable pendant plusieurs semaines à l'obscurité et à 4 °C.

○ Représentation graphique de la courbe d'étalonnage des protéines



Glutathion réduit

○ Composition et la préparation des produits nécessaires au dosage

Solution d'acide sulfosalicylique à 4 %

Produit utilisé

- Acide sulfosalicylique.

Préparation

- Dissoudre 4 g de l'acide sulfosalicylique dans 80 ml d'eau distillée ;
- Mélanger puis ajuster avec de l'eau distillée jusqu'à 100 ml.
- Solution à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Réactif d'Ellman à 10 mM

Produits utilisés

- Acide 5, 5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB).
- Méthanol absolu.

Préparation

- Dissoudre 0,0396 g de DTNB dans 10 ml de méthanol absolu.
- Solution instable à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Tampon Tris-HCl à l'EDTA (pH = 9,6)

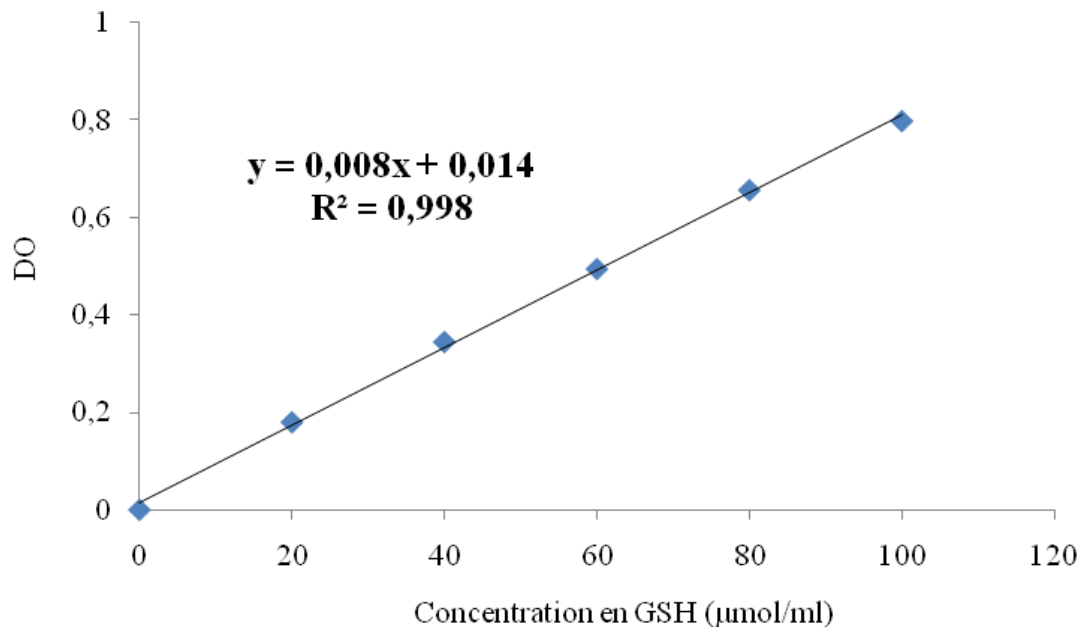
Produits utilisés

- Tris.....0,4 M
- EDTA.....20 mM
- Acide chlorhydrique (HCl).....37 %

Préparation

- Pour la préparation de 500 ml de tampon, dissoudre 24,22 g de Tris dans 400 ml d'eau distillée ;
- Ajouter 2,92 g d'EDTA ;
- Mélanger puis compléter à 500 ml avec de l'eau distillée ;
- Ajuster le pH à 9,6 avec quelques gouttes d'HCl.
- Solution à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

○ Représentation graphiques de la courbe d'étalonnage du GSH



Glutathion - S transférase

○ Composition et préparation des produits nécessaires au dosage

Tampon phosphate à 0,1 M (pH = 6,5)

Produits utilisés

- Dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4).
- Hydrogénophosphate de potassium (K_2HPO_4).

Préparation

- Dissoudre 13,6 g de KH_2PO_4 dans 1000 ml d'eau distillée (Solution A) ;
- Dissoudre 17,4 g de K_2HPO_4 dans 1000 ml d'eau distillée (Solution B) ;
- Ajuster le pH de la solution (A) à l'aide de la solution (B).
- Solution stable pendant plusieurs semaines à 4 °C.

Solution 1-chloro -2,4 - dinitrobenzene à 20 mM

Produits utilisés

- 1- Chloro - 2,4 - dinitrobenzene (CDNB).
- Éthanol absolu.

Préparation

- Dissoudre 0,04 g de CDNB dans 10 ml d'éthanol absolu.
- Solution instable à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Solution de glutathion réduit à 20 mM

Produits utilisés

- Glutathion réduit (GSH).

Préparation

- Dissoudre 0,06 g de GSH dans 10 ml d'eau distillée.
- Solution instable à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Catalase

○ Composition et la préparation des produits nécessaires au dosage

Tampon phosphate à 0,1 M (pH = 7,5)

Produits utilisés

- Dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4).
- Hydrogénophosphate de potassium (K_2HPO_4).

Préparation

- Dissoudre 13,60 g de KH_2PO_4 dans 1000 ml d'eau distillée (solution A) ;
- Dissoudre 17,40 g de K_2HPO_4 dans 1000 ml d'eau distillée (solution B) ;
- Ajuster le pH de la solution (B) à l'aide de la solution (A).
- Solution stable pendant plusieurs semaines à 4 °C.

Peroxyde d'hydrogène à 5 %

Produits utilisés

- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).....30 %
- Tampon phosphate (pH = 7,5).....0,1 M

Préparation

- Pour la préparation de 100 ml de peroxyde d'hydrogène à 5 %, ajouter 16,66 ml d' H_2O_2 à 83,34 ml de tampon phosphate.
- Solution instable à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Acétylcholinestérase

○ Composition et la préparation des produits nécessaires au dosage

Tampon phosphate de sodium à 0,1 % de Triton

Produits utilisés

- Dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4).
- Hydrogénophosphate de potassium (K_2HPO_4).
- Triton X100.

Préparation

- Pour la préparation du tampon phosphate de sodium à 0,02 M (pH= 7).
 - Dissoudre 2,83 g de Na_2HPO_4 dans 1000 ml d'eau distillée (Solution A) ;
 - Dissoudre 2,39 g de NaH_2PO_4 dans 1000 ml d'eau distillée (Solution B) ;
 - Ajuster le pH de la solution A à l'aide de la solution B.
 - Solution stable pendant plusieurs semaines à 4 °C.
- Pour la préparation du tampon phosphate de sodium à 0,1 % de Triton.
 - Ajouter 0,1 ml de Triton X 100 à 99,9 ml tampon phosphate 0,02 M (pH = 7).
 - Solution à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Réactif d'Ellman à 0,01 M

Produits à utiliser

- Acide 5, 5'- dithiobis - 2 - nitrobenzoïque (DTNB).
- Tampon phosphate (pH = 7).....0,02 M

Préparation

- Dissoudre 0,0396 g de DTNB dans 10 ml de tampon phosphate à 0,02 M.
- Solution instable à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Solution d'acétylthiocoline à 0,1 M

Produits à utiliser

- Acétylthiocoline iodide.
- Eau distillée.

Préparation

- Dissoudre 0,144 g d'acétylthiocoline dans 10 ml d'eau distillée.
- Solution à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Malondialdéhyde

○ Composition et préparation des produits nécessaires au dosage

Solution d'acide phosphorique à 1 %

Produits utilisés

- Acide phosphorique (H_3PO_4).....98 %

Mode opératoire

- Ajouter 1,02 ml de l'acide phosphorique à 98,98 ml d'eau distillée.
- Solution stable à température ambiante.

Solution d'acide thiobarbiturique à 0,6 %

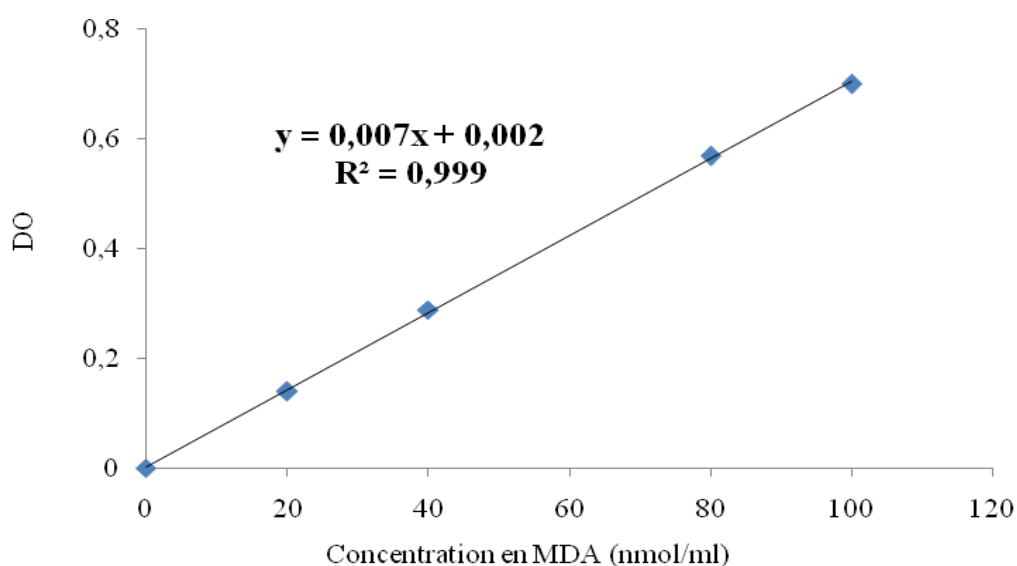
Produits utilisés

- Acide thiobarbiturique (TBA).

Mode opératoire

- Dissoudre 0,6 g du TBA dans 80 ml d'eau distillée ;
- Mélanger puis titrer avec une solution de NaOH (2N) jusqu'à la dissolution complète du TBA ;
- Compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.
- Solution instable à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

○ Représentation graphique de la courbe d'étalonnage du MDA



Métallothionéine

o Composition et préparation des produits nécessaires au dosage

Solution de lavage

Produits utilisés

- Éthanol.....87 %
- Chloroforme.
- Tampon d'homogénéisation sans leupeptine, β -mercaptoéthanol et PMSF.

Préparation

- Pour la préparation de 100 ml de tampon de lavage, ajouter à 87 ml d'éthanol, 1 ml de chloroforme et 12 ml tampon d'homogénéisation ;
- Conserver le flacon à - 20 °C.
- Solution stable pendant plusieurs mois.

Solution de chlorure de sodium à 0,25 M

Produits utilisés

- Chlorure de sodium (NaCl).

Préparation

- Dissoudre 1,46 g de NaCl dans 80 ml d'eau distillée ;
- Mélanger, puis compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.
- Solution stable durant plusieurs mois à 4 °C.

Solution d'acide chlorhydrique (1 N) contenant 4 mM d'EDTA

Produits utilisés

- Acide chlorhydrique (HCl)..... 37 %
- Acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA).....4 mM

Préparation

- Pour la préparation d'une solution d'HCl (1N), diluer 7,66 ml d'HCl dans 250 ml d'eau distillée ;
- Dissoudre 0,292 g d'EDTA dans la solution HCl (1N), puis agiter au vortex pendant quelques secondes jusqu'à la dissolution complète de l'EDTA.
- Solution à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Réactif d'Ellman à 0,43 mM

Produits utilisés

- Chlorure de sodium (NaCl).....2 M

- Acide 5, 5'- dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB).....0,43 mM
- Tampon phosphate (pH = 8).....0,2 M
 - o Dissoudre 27,21 g de KH_2PO_4 dans 1000 ml d'eau distillée (Solution A) ;
 - o Dissoudre 34,82 g de K_2HPO_4 dans 1000 ml d'eau distillée (Solution B) ;
 - o Ajuster le pH de la solution (B) à l'aide de la solution (A).
 - o Solution stable pendant plusieurs semaines à 4 °C.

Préparation

- Pour la préparation de 100 ml du réactif d'Ellman, dissoudre dans 80 ml du tampon phosphate à 0,2 M (pH = 8) ; 11,65 g de NaCl et 17,04 mg de DTNB ;
- Mélanger, puis compléter à 100 ml avec du tampon phosphate ;
- Agiter au vortex pendant quelques secondes jusqu'à la dissolution complète du DNTB.
- Solution instable à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

o Représentation graphique de la courbe d'étalonnage de la MT

