

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITE BADJI-MOKHTAR ANNABA

Faculté des sciences

Département des sciences de la mer



جامعة باجي مختار عنابة

Laboratoire d'Ecobiologie des
Milieux Marins et Littoraux



THESE

En Vue de l'Obtention du Doctorat en Sciences de la Mer

Thème

« Etat des moulières naturelles du littoral extrême Nord-Est
Algérien »

Présentée par : Kerdoussi Asma

Après avis de

BENSOUILAH Mourad

Pr. Université Annaba

Rapporteur

Devant le jury

OUAKID Mohamed laid

Pr. Université Annaba

Président

OUZROUT Rachid

Pr. Université El Tarf

Examinateur

DRAREDJA Brahim

Pr. Université Annaba

Examinateur

DJEBBARI Naouele

M.C.A. Université El Tarf

Examinatrice

KAOUACHI Nouha

Pr. Université Souk Ahras

Examinatrice

Au terme de cette recherche, je suis heureuse de pouvoir remercier tous ceux et celles qui m'ont accompagné et soutenu tout au long de cette aventure ou qui ont croisé ma route et grâce à qui j'ai pu avancer.

Tout d'abord, un énorme merci à tous les membres de jury qui ont accepté d'évaluer ce travail et de participer à la soutenance. J'exprime toute ma gratitude à mon Directeur de Thèse, Professeur Bensouilah Mourad, directeur du laboratoire d'Ecobiologie des Milieux Marins et Littoraux (EMMAL). Je tiens à vous remercier pour la confiance, le soutien et pour la grande liberté que vous m'avez accordée dans mes recherches, et qui m'ont permis d'acquérir l'autonomie nécessaire pour arriver à ce stade merci encore pour cette confiance.

Je remercie l'ensemble des membres du jury pour leurs conseils avisés et leurs corrections : OUAKID Mohamed laid (Professeur à l'Université d'Annaba) et OUZROUT Rachid (Professeur à l'Université El Tarf), DRAREDJA Brahim (Professeur de l'Université Annaba), DJEBBARI Naouele (M.C.A. à l'Université El Tarf), KAOUACHI Nouha (Professeur de l'Université Souk Ahras).

Un très grand merci à Mr Bensouilah Mourad et Mr Kadri Skander (M.C. à l'Université d'Annaba) pour leurs précieuses aide sur le terrain comme au laboratoire.

Un grand merci à Sandra Amri pour son humeur joyeuse et chacun de ses bons conseils techniques qui font le grand plus. Merci aussi pour cette disponibilité à me soutenir tout au long de ces années. Je pense aussi aux doctorants Belhaouas Saber, Touati Hassan ainsi que Med Dhya qui m'ont aidé à la réalisation de l'étude statistique. Mes pensées vont aussi pour tous les membres du laboratoire EMMAL (Fatma, Amel, Saliha, Imen, Lamia, Nadira, Salah, Yousra) pour leur complicité de tous les instants ainsi qu'aux bons moments qu'on a passé ensemble dans le travail.

Enfin un merci tout spécial à ma famille qui a toujours fait bien plus que me soutenir et m'encourager. A mon Père pour tout ce qu'il m'a enseigné, pour la valeur du travail bien fait que j'ai tenté de concrétiser dans cette thèse. A ma Mère qui est presque toujours parvenue à me faire croire que le bonheur de me voir réaliser mes désirs l'emportait sur la peine de l'absence.

Un big big merci à mon mari Nazim et son cousin Tahar qui, sans leurs aides, j'aurais jamais pu terminer ce travail.

Un merci particulier à ma petite sœur Assya, mes Frères Hychem et Billel. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance et le témoignage de mon amour.

Merci aux personnes qui m'ont suivi ou que j'ai rencontré dans ce voyage et qui ont contribué à faire de cette aventure une expérience humaine enrichissante ; et qui, au mieux de leur talent, ont contribué à faire de cette thèse ce qu'elle est. Je remercie également mon amie, qui malgré mes longues périodes de silence, ne m'a jamais abandonné, je tiens énormément à citer Naïma Bouhouche mon ange gardien et sa sœur Saliha. Merci à tous pour votre soutien : Laila, Naïma, Fouzia, Didi, Souhila, Djennet. Merci infiniment Nassima pour ton aide et ton soutien que je n'oublierais jamais

Je m'excuse auprès de tous ceux que j'aurais pu oublier et je les remercie quand même de ne pas trop m'en vouloir...

*Je dédie ce travail aux êtres
les plus chers dans ma vie*

Mes parents, Mon mari Nazim

*Mes deux petites fleurs Sylia Loua
et Meriem Marya Joury*

*Ma petite sœur Assya Et mes deux
chères frères Hlychem et Billel*

Mon amie Nâima Bouhouche

*Thank
you!*



Dans le but d'évaluer les performances de croissance de la moule *Perna perna* peuplant le littoral nord est algérien et l'impact des paramètres physico-chimiques du milieu sur cette dernière, une étude biométrique (paramètres de croissance linéaire et pondérale et relations allométriques entre ces derniers) a été réalisée au niveau de cinq moulières naturelles, deux dans le golfe d'Annaba (cap de garde et Lehnaya) et trois dans le littoral d'El Kala (Laouinate, El mellah et la Messida). Un suivi de l'IC appuyé par l'étude histologique de la gonade de la moule, a été établi afin de suivre le cycle sexuel de cette espèce.

Pour évaluer la variation des réponses biochimiques chez la moule *P. perna* un suivi mensuel de l'activité de la glutathion S-transférase (GST), du taux de glutathion réduit (GSH) et des facteurs physico-chimiques du milieu, a été réalisé *in situ* pendant 12 mois. Le stress métallique évalué par la mesure des métallothionéines (MTs) a été réalisé *in vivo* sur des moules exposées au laboratoire, à différentes doses de Cd : 50, 100, 200 µg/l ; Cu : 10, 15, 30 µg/l et Pb : 0.25, 0.5, 1 µg de Pb/l.

L'évaluation des paramètres de croissance, par l'application de l'équation de Von Bertalanfy, nous a permis de déterminer que le coefficient de croissance le plus élevé est relevé chez les moules de Laouinate (1.82 ans^{-1}) ; ce coefficient est de l'ordre de 0.85 ans^{-1} 0.59 ans^{-1} , 0.48 ans^{-1} et 0.32 ans^{-1} respectivement chez les moules du Cap de Garde, de la Messida, de Lehnaya et de l'embouchure d'El Mellah.

Chez la moule *P. perna* une allométrie négative ($b < 1$) entre les paramètres linéaires (Lt, La et Ep), comparés deux à deux, témoigne d'une augmentation de la taille des individus plus rapide que celle de la largeur et l'épaisseur. L'évaluation de l'intensité de la relation entre la longueur totale et le poids total provenant des cinq sites, révèle l'existence d'une allométrie minorante entre ces deux paramètres ($b < 3$) témoignant de l'augmentation de la taille des individus plus rapide que celle du poids.

L'analyse de la variance relative aux paramètres linéaire (Lt, La et Ep) et pondéral (Wt) de la moule du littoral nord-est algérien montre l'existence d'une différence très hautement significative de chaque paramètre linéaire et pondéral aussi bien entre les sites qu'entre les mois. Ces différences seraient liées aux paramètres physico chimiques (température, MES, Chlorophylle a).

Les résultats de l'évaluation de l'indice de condition des moules *Perna perna* montrent que cet indice est bien meilleur en période printanière et que sa chute, en période automnale, correspondrait à une phase de ponte des moules que l'étude histologique de la gonade a confirmé. Le cycle sexuel de cette espèce serait influencé par la température et la chlorophylle « a ».

Les résultats des dosages biochimiques ont révélés l'existence de différences de sensibilité des systèmes antioxydants entre la glande digestive et les branchies. Cette réponse pourrait être en rapport avec les paramètres physico-chimiques (température, salinité) et les paramètres physiologique du modèle biologique étudié (évolution temporelle, état nutritionnelle) qui s'avèrent être des facteurs prépondérants dans la modulation des réponses enzymatiques.

Le stress métallique évalué par la mesure des MTs dans trois organes différents de la moule *P. perna* exposée à différentes doses de Cu, Cd et Pb a fait ressortir que les différentes doses de Cu et de Pb n'influent pas sur la concentration des métallothionéines dans les trois organes étudiés ; en revanche, la concentration en métallothionéines dans les trois organes est fonction de la dose du cadmium.

Mots clés : Moule *Perna perna*; Golfe d'Annaba; littoral d'El Kala ; croissance ; reproduction ; biomarqueurs ; MTs.

In order to assess the growth performance of the mussel *Perna perna* inhabiting the Algerian northern coast and the impact of physico-chemical parameters of the Environment on this last, a biometric study (linear growth parameters, weight and allométriques relations between these latest) has been carried out at the level of the five natural mussel beds, two in the Gulf of Annaba (cape de garde and Lehnaya) and three in the coastline of El Kala (Laouinate, El Mellah and the Messida). A follow-up of the IC supported by the gonad histological study, has been established in order to follow the sexual cycle of this species.

To assess the variation of biochemical responses in the Mussel *P. Perna*, a monthly tracking of biomarkers (*in situ*) Namely: enzymatic activity of glutathione S-transferase (GST) and rates of reduced glutathione (GSH), and the physicochemical factors acting on these biomarkers, has been done during an annual cycle of 12months. The metal stress assessed by the measurement of metallothionein (MT) has been achieved *in vivo*, on mussels exposed in the laboratory, to different doses of Cd: 50, 100, 200 µg/L; Cu: 10, 15, 30 µg/L and Pb: 0.25, 0.5, 1µg Pb/l.

The evaluation of growth (by the application of the equation of Von Bertallanfy) has allowed us to determine that the higher growth coefficient is raised in mussels of Laouinate (1.82 years⁻¹), This coefficient is of the order of 0.85 years⁻¹ 0.59 years⁻¹, 0.48 years⁻¹ and 0.32 years⁻¹ respectively in mussels of Cap de garde, Messida, Lehnaya and El Mellah.

A negative allometry ($b < 1$) between the linear parameters (Lt, La and Ep), compared two by two, reflects an increase in the size of individuals faster than the width and thickness. The assessment of the relationship intensity between the total length and weight in the Mussel *P. Perna* from the five sites, reveals the existence of a minorante allometry between these two parameters ($b < 3$) reflecting the increase in the size of individuals more rapid than that of the weight.

The variance analysis of the Linear settings (Lt, Wid and Th) and weight (Wt) from the Algerian northern coastline mussel *P. Perna*, shows the existence of a difference very highly significant for each parameter linear and body weight as well between the sites that between the months. These differences would be related to the parameters Physico-chemical (temperature, SM, chlorophyll *a*).

The results of *Perna perna* CI evaluation show that this index is much better in the spring period; the fall of the values of the index in autumn period would correspond to a

spawning phase that the histological study of the gonad confirms. The sexual cycle of this species is found under the influence of physico-chemical parameters of the environment as the temperature and chlorophyll *a*.

The results of biochemical assays have revealed the existence of differences in sensitivity of antioxidant systems between the digestive gland and gills. This response could be in relation with the physico-chemical parameters (temperature, salinity) and the physiological settings of the biological model studied (temporal evolution, nutritional state), which proved to be dominant factors in the modulation of enzyme responses.

The metal stress assessed by the measurement of MTs in three different organs of *P. Perna* mussel exposed to different doses of Cu, Cd, and Pb has highlighted the fact that the different doses of Cu and Pb, do not affect the concentration of metallothionein in the three organs studied and that the concentration of metallothionein in the three organs depends on the dose of cadmium.

Key words: mussel *Perna perna*; Gulf of Annaba; coastline of El Kala; growth; reproduction; biomarkers; MTs.

بهدف تقييم اداء نمو ثنايات الصدف بلح البحر *Perna perna* المتواجدة على الساحل الشمالي الشرقي الجزائري وتأثير المتغيرات الفيزيوكيميائية للبيئة على هذه الاخيرة اجريت دراسة لمعايير النمو (معايير زيادة الطول، الوزن، والعلاقة الخطية بين هاتين الاخيرتين) على مستوى خمس مواقع طبيعية، اثنين على مستوى خليج مدينة عنابة (المنارة وشاطئ لخانيا)، وثلاثة على مستوى ساحل مدينة القالة (شاطئ لعوبنات، مصب بحيرة الملاح ومصب واد ميسيدا). متابعة مؤشر الحالة الفيزيولوجية (IC) مدعا بالدراسة النسيجية لجهاز التكاثر لدى الحيوان، اعد من اجل تتبع دورة التكاثر.

وأخيراً، من اجل تقييم التغيرات في الردود الكيميوحيوية لدى بلح البحر *Perna perna* قمنا بالمتابعة الشهرية لمؤشرین حیوینین: نشاط إنزيم glutathion S-transférase (GST) ومعدل GSH المرجع (GSH) والعامل الفيزيوكيميائيّة التي تؤثّر على هذه المؤشرات وذلك خلال دورة سنوية من 12 شهراً.

قياس مؤشر الميتالوتينين (MTs) métallothionéines لتقدير التلوّث بالمعادن الثقيلة تم في المختبر بعد تعريض الحيوانات لتراسيز مختلفة لثلاث معادن ثقيلة : الكادميوم (50، 100، 200 ميكروغرام/لتر)، النحاس (10، 15، 30 ميكروغرام/لتر)، الرصاص (0.25، 0.5، 1 ميكروغرام/لتر).

تقدير معايير النمو (بتطبيق معادلة Von Bertallanfy) بينت ان حيوانات شاطئ لعوبنات تمتلك اعلى معدل نمو (1.82 عام⁻¹) تتبّعه حيوانات المنارة (0.85 عام⁻¹) ثم شاطئ لخانيا وميسيدا (0.59 عام⁻¹ و 0.48 عام⁻¹، على التوالى)، واخيراً حيوانات بحيرة الملاح (0.32 عام⁻¹).

تناسب خطى سلبي ($b < 1$) بين المعالم الخطية (الطول، العرض والسمك) مقارنة مثلى مثلى، يشهد زيادة في طول الحيوانات اسرع من العرض والسمك. تقييم شدة العلاقة بين طول الوزن الاجمالى لبلح البحر المأكولة من خمسة مواقع، يكشف عن وجود تناسب سلبي بين هذين المعلمين ($b > 3$) يعبر عن الزيادة في حجم الحيوانات اسرع من الوزن.

ان التحليل الاحصائي للمعالم الخطية (الطول، العرض والسمك) والوزن (Wt) لبلح البحر *Perna perna* في الساحل الشمالي الشرقي الجزائري تدل على وجود اختلافاً كبيراً على درجة عالية بين كل من المعايير الخطية أو الوزن سواء ما بين المواقع أو ما بين الأشهر. وهذه الاختلافات مرتبطة بالعامل الفيزيوكيميائي لماء البحر (درجة الحرارة، المواد العالقة واليختصور)

نتائج تقييم مؤشر الحالة الفيزيولوجية لـ *Perna perna* تبيّن ان هذا المؤشر يكون مرتفع في فصل الربيع؛ وأن انخفاض قيم المؤشر في فصل الخريف يقابل مرحلة التبويب وهو ما تؤكده الدراسة النسيجية للمبيض. في هذا العمل تبيّن أن دورة التكاثر عند هذا النوع تخضع لتأثير العوامل الطبيعية الفيزيوكيميائية للمحيط.

نتائج الاختبارات التحليلية الكيميوحيوية قد كشفت عن وجود اختلاف في نظم الحساسية بين العضويين المدروسين (الغدة الهضمية والخياشم). هذا النوع من الاستجابة يمكن أن يكون تحت تأثير العوامل الفيزيوكيميائية (درجة الحرارة، ملوحة المياه)، والعوامل الفيزيولوجية للنموذج الحي المدروس (التطور الزمني، حالة التغذية) والتي تبيّن أنها من العوامل المتحكمة في صياغة الاستجابة بالنسبة للأنزيمات.

قياس الميatalوتينيين MTs لتقدير تأثير التلوث بالمعادن الثقيلة على مستوى ثلاثة أعضاء لبلح البحر *Perna perna* بعد تعريضه لتركيزات مختلفة من Cu, Cd, Pb قد أظهرت أن مختلف جراثيم Cu, Pb لا تؤثر على تركيز métallothioneines في الأعضاء الثلاثة التي نوقشت وإن تركيز métallothioneines المدروسة يعتمد على تركيز الكادميوم.

المفاتيح: بلح البحر *Perna perna*, خليج عنابة، ساحل الفالة، النمو، التكاثر، المؤشرات الكيميائية، الميatalوتينيين MTs

Liste des figures	Page
Figure 1 : Disposition des insertions musculaires sur la coquille de <i>Perna perna</i> (A) et <i>Mytilus galloprovincialis</i> (B) ; Charnière de la valve gauche 1- <i>Perna perna</i> . 2- <i>Mytilus galloprovincialis</i> . 3- <i>Mytilus edulis</i> .	6
Figure 2 : situation géographique du golfe d'Annaba et localisation des sites de prélèvements (Google Maps, 2018 modifiée)	39
Figure 3 : Situation géographique du site 1, Cap de Garde au niveau du golfe d'Annaba (Google Maps, 2018 modifiée)	40
Figure 4 : situation géographique du site Lehnaya au niveau du golfe Annaba (Google Maps, 2018 modifiée)	41
Figure 5: situation géographique du littoral d'El-Kala et localisation des sites de prélèvements (Google Maps, 2018 modifiée)	42
Figure 6 : situation géographique du site1, l'Aouinate (Google Earth, 2018 modifiée).	42
Figure 7 : situation géographique du site 2 à l'embouchure d'El Mellah (Google Earth, 2018 modifiée).	43
Figure 8 : situation géographique du site 3 à l'est du canal Messida (Google Earth, 2018 modifiée).	43
Figure 9 : Les différents paramètres linéaires mesurés	44
Figure 10 : Différenciation des gonades mâles et femelles chez la moule <i>Perna perna</i> .	49
Figure 11 : Fluctuations de la température des eaux du Golfe d'Annaba (a-campagne I ; b-campagne II)	54
Figure 12 : Fluctuations de la salinité des eaux du Golfe d'Annaba (c-campagne I ; d-campagne II)	55
Figure 13: Fluctuations des teneurs en oxygène dissous dans les eaux du Golfe d'Annaba (e-campagne I ; f-campagne II)	56
Figure 14: Fluctuations des teneurs en MES dans les eaux du Golfe d'Annaba (g-campagne I ; h-campagne II)	57
Figure 15 : Fluctuations des teneurs en chlorophylle a dans les eaux du Golfe d'Annaba (i-campagne I ; k-campagne II)	58
Figure 16 : Fréquences de taille des moules récoltées dans le Cap de Garde	60
Figure 17 : Fréquences de taille des moules récoltées à Lehnaya	62
Figure 18: Fréquences de taille et de sexe des moules récoltées à Laouinate	63
Figure 19: Fréquences de taille et de sexe des moules récoltées à l'embouchure d'El Mellah	64
Figure 20: Fréquences de taille des moules récoltées à l'embouchure de Messida	64
Figure 21 : Distribution des fréquences de longueur restructurées et courbe de croissance chez <i>P. perna</i> provenant du Cap de Garde : données obtenues à l'aide du logiciel ELEFEN-I pour ($L_{\infty}=91,82$ mm et $K=0,61$ ans $^{-1}$) en 2011 et ($L_{\infty}= 80.33$ mm et $K= 0.85$ ans $^{-1}$) en 2012.	65
Figure 22: Tracé de la courbe de croissance de <i>P. perna</i> du Cap de Garde réalisé à partir des paramètres de croissance calculés durant les deux campagnes de prélèvement.	66
Figure 23 : Distribution des fréquences de longueur restructurées et courbe de croissance chez <i>P.perna</i> provenant de Lehnaya: données obtenues à l'aide du logiciel ELEFEN-I pour ($L_{\infty}=123.27$ mm et $K=0,35$ ans $^{-1}$) en 2011 et pour ($L_{\infty}=127.58$ mm et $K=0.480$ ans $^{-1}$) en 2012	67
Figure 24 : Tracé de la courbe de croissance de <i>P. perna</i> de Lehnaya réalisé à partir des paramètres de croissance calculés durant les deux campagnes de prélèvement.	68
Figure 25: Distribution des fréquences de longueur restructurées et courbe de	69

croissance chez <i>P. perna</i> provenant de Laouinate (données obtenues à l'aide du logiciel ELEFEN-I pour $L_{\infty}=105.33$ mm et $K=1.8$ ans $^{-1}$).	
Figure 26 : Courbe de croissance de <i>P. perna</i> récoltée à Laouinate (Tracé réalisé à partir des paramètres de croissance calculés).	69
Figure 27 : Distribution des fréquences de longueur restructurées et courbe de croissance chez <i>P. perna</i> provenant de l'embouchure d'El Mellah (données obtenues à l'aide du logiciel ELEFEN-I pour $L_{\infty}=123.4$ mm et $K=0.32$ ans $^{-1}$).	70
Figure 28: Courbe de croissance de <i>P. perna</i> récoltée à l'embouchure du lac El Mellah (Tracé réalisé à partir des paramètres de croissance calculés).	70
Figure 29: Distribution des fréquences de longueur restructurées et courbe de croissance chez <i>P. perna</i> provenant de l'embouchure de Messida (données obtenues à l'aide du logiciel ELEFEN-I pour $L_{\infty}=91.9$ mm et $K=0.59$ ans $^{-1}$).	71
Figure 30: Courbe de croissance de <i>P. perna</i> récoltée à l'Embouchure de la Messida (Tracé réalisé à partir des paramètres de croissance calculés).	72
Figure 31 : Variations spatiotemporelles des valeurs de l'indice de condition des moules du Golfe d'Annaba	78
Figure 32 : Graphe GLM représentant les variations saisonnières de l'indice de condition des moules récoltées dans les deux sites du Golfe d'Annaba durant les deux campagnes I et II (graphe GLM).	79
Figure 33 : Variations spatiotemporelles des valeurs de l'indice de condition des moules récoltées dans le littoral d'El Kala	81
Figure 34 : Coupe histologiques montrant les différents stades du développement de la gonade mâle chez la moule <i>Perna perna</i> .	84
Figure 35 : Coupe histologiques montrant les différents stades du développement de la gonade femelle chez la moule <i>Perna perna</i> .	85
Figure 36 : Distributions spatio-temporelles des valeurs du sexe ratio des moules récoltées dans le Golfe d'Annaba	89
Figure 37 : Variations spatio-temporelles des valeurs du sexe ratio des moules récoltées dans le littoral d'El Kala	90
Figure III-1 : Positionnement des sites d'étude (Google earth, 2018 modifiée).	107
Figure III-2: Situation géographique du site 1, Cap de Garde au niveau du golfe d'Annaba (Google Maps, 2018 modifiée)	108
Figure III-3: Situation géographique du site 2, Fellah Rachid au niveau du golfe d'Annaba (Google Maps, 2018 modifiée)	108
Figure III-4: Situation géographique du site 3, Sidi Salem au niveau du golfe d'Annaba (Google Maps, 2018 modifiée)	109
Figure III-5: Situation géographique du site 4, Lehnaya au niveau du golfe d'Annaba (Google Maps, 2018 modifiée)	109
Figure III-6 : Représentation graphique de la courbe d'étalonnage des MTs	119
Figure III-7 : Variations mensuelles de la température de l'eau du littoral d'Annaba	121
Figure III-8 : Variations mensuelles de la Chlorophylle « a » de l'eau du littoral d'Annaba	122
Figure III-9 : Variations mensuelles de la matière en suspension de l'eau du littoral d'Annaba	123
Figure III-10 : Variations mensuelles de l'oxygène dissous de l'eau du littoral d'Annaba	124
Figure III-11 : Variations mensuelles de la salinité de l'eau du littoral d'Annaba	125
Figure III-12 : Taux de glutathion (μ M GSH/mg de protéines) dans les Branchies et les glandes digestives de <i>Perna perna</i> collectée au Cap de Garde	127

Figure III-13 : Activité de la GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) dans les branchies (Br) et la glande digestive (GD) de <i>Perna perna</i> peuplant le Cap de Garde	128
Figure III-14 : Taux de glutathion ($\mu\text{M GSH}/\text{mg}$ de protéines) dans les Branchies et les glandes digestives de <i>Perna perna</i> collectée à Saint Cloud	129
Figure III-15 : Activité de la GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) dans les branchies (Br) et la glande digestive (GD) de <i>Perna perna</i> peuplant la plage Fellah Rachid.	129
Figure III-16 : Taux de glutathion ($\mu\text{M GSH}/\text{mg}$ de protéines) dans les Branchies et les glandes digestives de <i>Perna perna</i> collectée à Sidi Salem	130
Figure III-17 : Activité de la GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) dans les branchies (Br) et la glande digestive (GD) de <i>Perna perna</i> prélevée a Sidi Salem	131
Figure III-18 : Taux de glutathion ($\mu\text{M GSH}/\text{mg}$ de protéines) dans les Branchies et les glandes digestives de <i>Perna perna</i> collectée à Lehnaya	132
Figure III-19 : Activité de la GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) dans les branchies (Br) et la glande digestive (GD) de <i>Perna perna</i> prélevée a Lehnaya	132
Figure III-20 : Teneurs en métallothionéines (MTs) relevées chez des moules exposées, pendant 7j, à différentes concentrations de cuivre, par rapport à un lot témoin et un autre fraîchement cueillis	135
Figure III-21 : Teneurs en métallothionéines (MTs) relevées chez des moules exposées, pendant 7j, à différentes concentrations de cadmium par rapport à un lot témoin et un autre fraîchement cueillis	137
Figure III-22 : Teneurs en métallothionéines (MTs) relevées chez des moules exposées, pendant 7j, à différentes concentrations de plomb par rapport à un lot témoin et un autre fraîchement cueillis	138
Figure III-22 : Teneurs en métallothionéines (MTs) relevées chez des moules exposées, pendant 7j, à différentes concentrations de plomb par rapport à un lot témoin et un autre fraîchement cueillis	140

Liste des tableaux	page
Tableau 1: Caractères distinctifs entre la musculature de <i>M. galloprovincialis</i> et de <i>Perna perna</i> (Linneaus,1758)	6
Tableau 2 : Paramètres de croissance de la moule <i>Perna perna</i> provenant du Cap de Garde et de Lehnaya	65
Tableau 3 : Paramètres de croissance de la moule <i>Perna perna</i> provenant de Laouinate, des embouchures d'El Mellah et de Messida (2011)	68
Tableau 4 : Équation de régressions reliant, deux à deux longueur totale (Lt), largeur (La) et épaisseur (Ep), chez la moule <i>P. perna</i> récoltée dans le Golfe d'Annaba.	72
Tableau 5 : Équations de régression reliant, deux à deux longueur totale (Lt), largeur (La) et épaisseur (Ep), chez la moule <i>P. perna</i> récoltée dans le littoral d'El Kala.	73
Tableau 6 : Équation de régression reliant la longueur totale (Lt) et le poids total (Pt), chez <i>P. perna</i> provenant du Golfe d'Annaba	74
Tableau 7 : Résultats de la MANOVA appliquée dans la comparaison de la longueur totale et le poids total en fonction de sites, saisons, années et leurs interactions (moule <i>P. perna</i> du Golfe d'Annaba).	75
Tableau 8: Équation de régression reliant la longueur totale (Lt) et le poids total (Pt), chez <i>P. perna</i> provenant du littoral d'El Kala.	76
Tableau 9 : Variations mensuelles de l'indice de condition ($m \pm s$, n=10) chez <i>P. perna</i> récoltée dans le Golfe d'Annaba	77
Tableau 10 : Variations mensuelles de l'indice de condition chez <i>P. perna</i> provenant du littoral d'El Kala	80
Tableau 11 : Etats des gonades de la moule <i>Perna perna</i> collectée dans le Golfe d'Annaba.	81
Tableau 12 : Etats des gonades de la moule <i>Perna perna</i> collectée dans le littoral d'El Kala	86
Tableau 13 : Comparaison des paramètres de croissance enregistrés dans le présent travail avec ceux de la littérature.	93
Tableau III-1 : réalisation de la gamme étalon du BSA	111
Tableau III-2: Préparation pour l'analyse de l'activité du glutathion S-transférase	113
Tableau III-3 : Gamme étalon du glutathion réduit (GSH).	119
Tableau III-4 : Modèle linéaire généralisé appliquée pour l'ensemble des sites en fonction de facteurs physicochimique (O_2 dissous, MES, chlorophylle a, température, salinité) chez la moule <i>P. perna</i> du littoral d'Annaba.	126
Tableaux III-5 : ANOVA pour l'analyse l'évaluation des paramètres physico-chimiques : par saison	126
Tableau III-6 : Modèle linéaire généralisé appliquée pour les biomarqueurs mesurés en fonction des sites chez la moule <i>P. perna</i> du littoral d'Annaba.	133
Tableau III-7 : Modèle linéaire généralisé appliquée pour les biomarqueurs mesurés en fonction des saisons chez la moule <i>P. perna</i> du littoral d'Annaba.	133
Tableau III-8 : Teneurs en métallothionéines (MTs) relevées chez des moules exposées pendant 7j à différentes concentrations de cuivre, par rapport à un lot témoin et un autre fraîchement cueillis	134
Tableau III-9 : Teneurs en métallothionéines (MTs) relevées chez des moules exposées pendant 7j à différentes concentrations de cadmium, par rapport à un lot témoin et un autre fraîchement cueillis	136
Tableau III-10 : Teneurs en métallothionéines (MTs) relevées chez des moules exposées pendant 7j à différentes concentrations de plomb, par rapport à un lot témoin et un autre fraîchement cueillis	138

SOMMAIRE :

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	5
I- Généralités sur la moule	5
1. Critères De Distinction	5
1.1. Difficultés	7
2. Répartition Géographique	7
3. Biologie	8
3.1. Cycle de reproduction	8
3.2. Eléments de dynamique des populations.....	8
3.3. Régime alimentaire.....	8
4. Ecologie	10
4.1. Espèce tropicale tempérée	10
5. Ecotoxicologie	10
II- Biomarqueurs	12
1. Les systèmes antioxydants	13
1.1. Le glutathion réduit (GSH)	13
1.2. Le glutathion S-Transférase (GSTs).....	13
III- Généralités sur la bioaccumulation des métaux traces (Cd, Pb, Cu) chez la moule	14
1. Les métaux en milieu marin.....	15
2. Situation générale des métaux en Méditerranée.....	16
3. Le cadmium.....	17
4. Le plomb	18
5. Le cuivre	20
IV- Processus physiologiques de bioaccumulation des métaux: exemple de la moule.....	22
1. Définitions.....	22
2. Mécanisme de capture des métaux.....	23
3. Mécanisme d'excration des métaux.....	26
4. Mécanisme de stockage des métaux (organotropisme et amplification).....	27
5. Bioaccumulation et bioamplification dans les réseaux trophiques.....	28
5.1. Bioaccumulation du cadmium.....	29
5.2. Bioaccumulation du plomb.....	29
5.3. Bioaccumulation du cuivre et du zinc.....	30
6. Interactions multi-factorielles.....	30
V- Les métallothionéines.....	31
1. Classification et Nomenclature.....	31
2. Propriétés biochimiques.....	32
2.1. Composition en acides aminés.....	32
2.2. Fixation des ions métalliques.....	32
3. Structure primaire et spatiale.....	32
4. Rôle des métallothionéines.....	33
4.1. L'homéostasie du zinc et du cuivre.....	33

4.2.	Détoxication des métaux.....	34
4.3.	Protection contre le stress oxydant.....	34
5.	Mécanisme d'induction des métallothionéines.....	34
6.	Dégénération des métallothionéines.....	35
7.	Mécanismes moléculaires de l'induction.....	35
7.1.	Les promoteurs des gènes MTs.....	35
7.2.	Contrôle transcriptionnel.....	36
8.	Les métallothionéines comme biomarqueur.....	36
CHAPITRE II : Croissance et reproduction de la moule <i>Perna perna</i> du littoral extrême nord est algérien.....		37
I.	INTRODUCTION	37
II.	MATERIEL ET METHODES	39
1.	Zones d'étude	39
1.1.	Le golfe d'Annaba.....	39
1.2.	Le littoral d'El kala.....	41
2.	Échantillonnage	44
3.	Croissance.....	46
3.1.	Distribution des fréquences de taille.....	46
3.2.	Croissance linéaire.....	46
3.3.	Croissance relative	47
4.	Reproduction	47
4.1.	Indice de condition	47
4.2.	Sex- ratio.....	48
4.3.	Cycle de reproduction	49
5.	Analyse statistique.....	52
III.	RESULTATS	54
1.	Paramètres physico-chimiques des eaux du golfe d'Annaba	54
2.	Croissance	60
2.1.	Fréquences de taille des moules du Golfe d'Annaba.....	60
2.2.	Fréquences de taille des moules du littoral d'El Kala.....	63
2.3.	Croissance linéaire	65
2.3.1.	Paramètres de croissance des moules du Golfe d'Annaba	65
2.3.2.	Paramètres de croissance des moules du littoral d'El Kala.....	68
2.4.	Croissance relative	72
2.4.1.	Croissance relative à caractère métrique	72
2.4.2.	Croissance relative (taille-poids)	74
3.	Reproduction	76
3.1.	Indice de condition et ponte.....	76
3.2.	Cycle de reproduction	81
3.3.	Sex- ratio	88
IV-	DISCUSSION.....	91
CHAPITRE III : biomonitoring du golfe d'Annaba à travers l'utilisation de la moule <i>Perna perna</i>.....		105
I.	INTRODUCTION.....	105

II.	MATÉRIEL ET MÉTHODES	107
1.	Biomarqueurs de biotransformation.....	107
1.1.	Sites de prélèvements	107
1.2.	Échantillonnage et traitement	110
1.2.1.	Préparation de la fraction post-mitochondriale (S9)	110
1.2.2.	Dosage des protéines	111
1.2.3.	Dosage de l'activité du Glutathion-S-Transférase (GST)	112
1.2.4.	Dosage de l'activité du Glutathion réduit (GSH)	114
2.	Biomarqueur de stress métallique.....	115
2.1.	Expérience de contamination <i>in vivo</i>	115
2.1.1.	Objectif et stratégie.....	115
2.1.2.	Protocole de contamination des moules	115
2.1.3.	Dosage des métallothionéines.....	116
3.	Analyse Statistique.....	120
III-	RESULTATS	121
1.	Paramètres physico-chimiques de l'eau	121
2.	Variation de la concentration en GSH et en GST.....	127
2.1.	Cap de Garde.....	127
2.2.	Fellah Rachid (ex-Saint Cloud)	128
2.3.	Sidi Salem	130
2.4.	Lehnaya.....	131
3.	Teneurs en métallothionéines dans les différents organes étudiés.....	133
3.1.	Effet du cuivre sur le taux des métallothionéines	133
3.2.	Effet du cadmium sur le taux des métallothionéines.....	135
3.3.	Effet du plomb sur le taux des métallothionéines.....	137
IV-	DISCUSSION	141
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....		150
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		152
ANNEXES.....		180

INTRODUCTION GENERALE

Les bivalves sont un composant principal de la faune benthique ou vivant en estran dans les eaux marines, saumâtres et douces ; ils sont une source de nourriture pour les autres espèces tels que les oiseaux de rivage, les poissons et les crustacés (Braber and De Groot 1973 ; Mascaro and Seed 2000 ; Fox 2003 ; Beukema and Dekker 2005) ainsi que l'Homme, vue leur abondance (Dame 1996 ; Gosling 2003).

Les bivalves sont des espèces qu'on peut trouver dans toutes les régions du globe allant des pôles jusqu'aux tropiques (Tebble 1966 ; Dance and Ward 2002). Cette large répartition est régie par une grande variation des conditions du milieu d'une zone à l'autre, influençant ainsi la croissance, la vitalité et la reproduction de ces bivalves.

Comme tous les bivalves, la moule *Perna perna* est une espèce qu'on trouve un peu partout dans le monde. Elle est depuis longtemps signalée sur les côtes d'Afrique du Nord, sous les noms de *Mytilus africanus* (Chemnitz) ou *Mytilus pictus* (Born). Lubet (1973) n'a pu trouver de différences entre les espèces *Perna perna* d'Amérique du sud et *Mytilus Africanus* d'Afrique. Ces populations semblent donc appartenir à une seule espèce *Perna perna* (Linneaus, 1758) ; cette espèce est largement répandue dans le monde puisqu'on la rencontre sur les côtes Est et Ouest de l'Atlantique tropical et subtropical : Mauritanie, Sénégal, Congo, Angola, Amérique du Sud (Antilles, Guyanne, Brésil) et sur les bords de la Méditerranée (côtes d'Afrique du Nord : Tunisie, Maroc, Algérie).

Les moulières naturelles d'Algérie comportent fréquemment deux espèces de moules, *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck) et *Perna perna* (Linné). «Ces deux espèces si distinctes peuvent se cueillir ensemble attachées sur le même support » (Pallary, 1921). Il ne semble pas qu'il s'agisse d'une particularité des moulières d'Algérie, puisque Zaouali (1973) signale que ces deux espèces coexistent dans les moulières de la région sud de Bizerte (Tunisie).

L'étude de la biologie et de la dynamique des populations de bivalves de cette espèce présente un intérêt scientifique indéniable ; d'une part, les connaissances de leur cycle de reproduction et des paramètres environnementaux pouvant l'influencer peuvent constituer des données de base nécessaires pour toute exploitation commerciale de ce mollusque. Selon Lubet (1959), La comparaison des cycles biologiques de différentes populations d'une même espèce, dans son aire de répartition, implique la connaissance précise des variations des principaux facteurs biotiques régnant dans les stations étudiées. Les variations de ces incidences externes, entre les divers biotopes peuvent alors expliquer certaines différences dans la vitesse et la durée des phénomènes sexuels. Toutefois, il est impossible d'aborder,

même de façon succincte, l'aspect physiologique sans se baser sur des données morphologiques et anatomiques élémentaires.

D'autre part, les caractéristiques spécifiques des moules à savoir, leur mode de vie sessile et euryhalin, leur pouvoir accumulateur des polluants présents dans l'environnement, la stabilité de leur population et la facilité de collecte à un coût modeste, leur tolérance à différents stress, et la possibilité de les transplanter et d'utiliser des individus de même cohorte leur confèrent l'aspect idéal d'un bioindicateur de pollution et leur fait acquérir un large spectre de sensibilités à cette dernière ([Carpenter, 1924](#)).

Située entre l'Europe, l'Afrique et l'Asie, la mer méditerranée est une mer semi fermée qui couvre 0.8% de l'océan mondial et renferme 10% de la biodiversité marine. Malgré sa superficie restreinte la mer méditerranéenne constitue un pôle économique mondial soumis à une surexploitation humaine. En effet, une soixantaine de plates-formes côtières d'exploitation pétrolières sont implantées en méditerranée, 30% des navires marchands du monde y circulent, s'ajoutant à ceci toutes les perturbations d'origine terrigène tels que la forte croissance de l'urbanisme littoral, les rejets domestiques et industriels contenant tous les types de polluants (PCBs, POP, HAPs, métaux lourds, détergents...).

Le golfe d'Annaba connaît au même titre que le reste du littoral Algérien, les mêmes problèmes environnementaux; Il est exposé aux risques des différents types de pollutions d'origine anthropique qui ont un impact sur les organismes qui y vivent et sur l'homme.

Dans ce contexte, les impacts croissants des activités humaines sur la mer Méditerranée ont incité les pays méditerranéens et l'Union Européenne à établir le Plan d'Action pour la Méditerranée (PAM) sous les auspices du Programme des Nations Unies pour l'Environnement (PNUE). La Convention de mer régionale de Barcelone pour la Protection de la Mer Méditerranée contre la Pollution (MEDPOL), adoptée en 1976, soutient les efforts collectifs des Etats méditerranéens et de l'Union Européenne contre la pollution marine. Le programme MEDPOL permet de quantifier et qualifier la pollution marine, préserver la diversité biologique, et promouvoir la gestion des zones côtières ([MEDPOL 2006](#)).

Les activités de surveillance menées dans le cadre du MEDPOL se sont déroulées sur différentes phases (Phase I, II, III et IV) du MEDPOL, et avaient comme principaux objectifs : i) entreprendre des évaluations périodiques de l'état du milieu marin méditerranéen pour donner des renseignements sur l'état fondamental des zones soumises à des pressions anthropiques, ii) lutter contre la pollution d'origine terrestre au moyen du respect des limites

réglementaires nationales et internationales et iii) contribuer en coopération avec d'autres composantes du PAM, à l'application de l'approche écosystémique à la gestion des activités humaines dans le cadre du PAM. Le MEDPOL constitue le volet « surveillance continue » et « évaluation ». Avec la mise en œuvre de la directive européenne sur le milieu marin, il apparaît aujourd’hui nécessaire d’harmoniser les démarches de surveillance et méthodologies en Atlantique Nord Est (convention OSPAR), en Baltique (convention Helcom) et en Méditerranée (convention Barcelone).

Le suivi de la contamination chimique et de ses effets sur l’ensemble des composantes d’un écosystème marin côtier est aujourd’hui recommandé en partant d’une échelle individuelle jusqu’à une échelle populationnelle ([Roose et al., 2011](#)). Cette démarche écotoxicologique a été agréée depuis une dizaine d’années. Dans le but de protéger les écosystèmes marins contre les effets contraignants de la pollution, des programmes de surveillance environnementale à long terme ont été mis en œuvre dès le début des années 70 ([Goldberg, 1975](#)) afin d’évaluer l’exposition des organismes marins. La stratégie était basée sur l’analyse des contaminants chimiques majeurs (hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), polychlorobiphényles (PCB), métaux lourds et pesticides organocholororés...) dans les différents compartiments de l’écosystème (eau, sédiment, organismes).

Parmi les contaminants chimiques les plus communément mesurés dans le cadre de la surveillance environnementale des écosystèmes aquatiques, les HAPs, les PCBs, les pesticides organochlorés et les métaux traces. Leurs caractères persistants dans l’environnement, les compétences analytiques et les tonnages d’utilisation constituaient les critères principaux de sélection.

Dans le littoral Nord Est algérien, les moulières naturelles n’ont pas fait l’objet d’un suivi régulier. Le présent travail entre dans le cadre d’un projet national de recherche sur les moulières naturelles du Nord Est algérien. Les objectifs visés sont, d’une part, l’évaluation de l’effet des conditions du milieu (température, salinité, oxygène dissous, chlorophylle *a* et MES) sur les performances de croissance et de reproduction de la moule *Perna perna* peuplant le littoral Nord Est algérien (golfe d’Annaba et le littoral d’El Kala) et d’autre part, l’utilisation de ce bivalve comme bioindicateur de la pollution de l’écosystème côtier.

Pour ce faire, plusieurs volets ont été proposés dans le cadre du présent travail :

- ❖ Un suivi mensuel de l’évolution des paramètres physico-chimiques (Température, Oxygène dissous, salinité, matières en suspensions et Chlorophylle *a*) de l’eau de mer.

- ❖ Un suivi de l'indice de condition et de la sex-ratio de la moule *Perna perna* provenant de cinq moulières naturelles du littoral nord est algérien.
- ❖ Une étude de la croissance linéaire et pondérale (individus standard) des moules de l'espèce *Perna perna* provenant de cinq moulières naturelles du littoral nord est algérien ;
- ❖ Une étude histologique des gonades des moules *Perna perna* et l'impact des paramètres physico chimiques sur le cycle de la reproduction.
- ❖ Un suivi de l'évolution *in situ* de la teneur de la GSH et de l'activité de la GST chez l'espèce étudiée au niveau de quatre sites du golfe d'Annaba.
- ❖ Une évaluation du stress métallique par la mesure des métallothionéines *in vivo* chez la moule *P. perna* exposées à différentes doses de cuivre, cadmium et plomb au laboratoire.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I- Généralités sur la moule :

Position systématique:

Embranchement:	mollusque
Classe:	bivalve ou lamellibranche
Ordre:	filibranche
Famille:	Mytilidae
Genre:	<i>Perna</i>
Espèce:	<i>Perna perna</i> (linne, 1758)

Autres synonymes: *Africains* ([Favart, d'Herdingsy, 1775](#)); *Mytilus leavigattus* ([Gmelin, 1789](#)); *Mytilus afer* ([Gmelin, 1789](#)) ; *Perna algerica* ([Schumacher, 1817](#)); *Perna picta* ([Born, 1780](#)); *mya perna* ; *Mytilus pictus* ([Soutenu, 1780](#)); *Mytilus africanus* ([Chemnitz, 1785](#)); *Mytilus elongatus* ([Lamarck, 1817](#)); *Mytilus perna*, *Chloromya perna*, *Mytillus venezolanus* ([Andreu, 1965](#));

1. CRITERES DE DISTINCTION

Perna perna est un bivalve relativement allongé qui se développe normalement dans les régions tropicales et subtropicales. Le meilleur caractère d'identification morphologique de cette moule est une cicatrice divisée du muscle rétracteur postérieur. Elle est également souvent reconnaissable extérieurement grâce à sa couleur brune ([Schurink et Griffiths, 1990](#)). Pour les individus adultes, la coquille de forme oblongue, trigone et solide. Son sommet antérieur est pointu et sa région postérieure est arrondie. Le bord dorsal de la coquille est très légèrement arqué alors que le bord ventral est long et droit. On note la présence de stries d'accroissement sur la coquille. L'intérieur de la coquille a une coloration blanche, nacrée plus ou moins violacée. Le péricardium y est brun-fauve avec, souvent, des lignes onduleuses vertes ([Pasteur-Humbert, 1962](#)). Les muscles rétracteurs du pied et ceux du byssus forment une empreinte médio-dorsale sur la coquille. Le muscle rétracteur postérieur du byssus a une empreinte plus visible que celle du muscle adducteur postérieur. La charnière est formée par trois ou quatre petites dents. On note également l'absence d'un muscle adducteur antérieur (fig. 1; tab. 1).

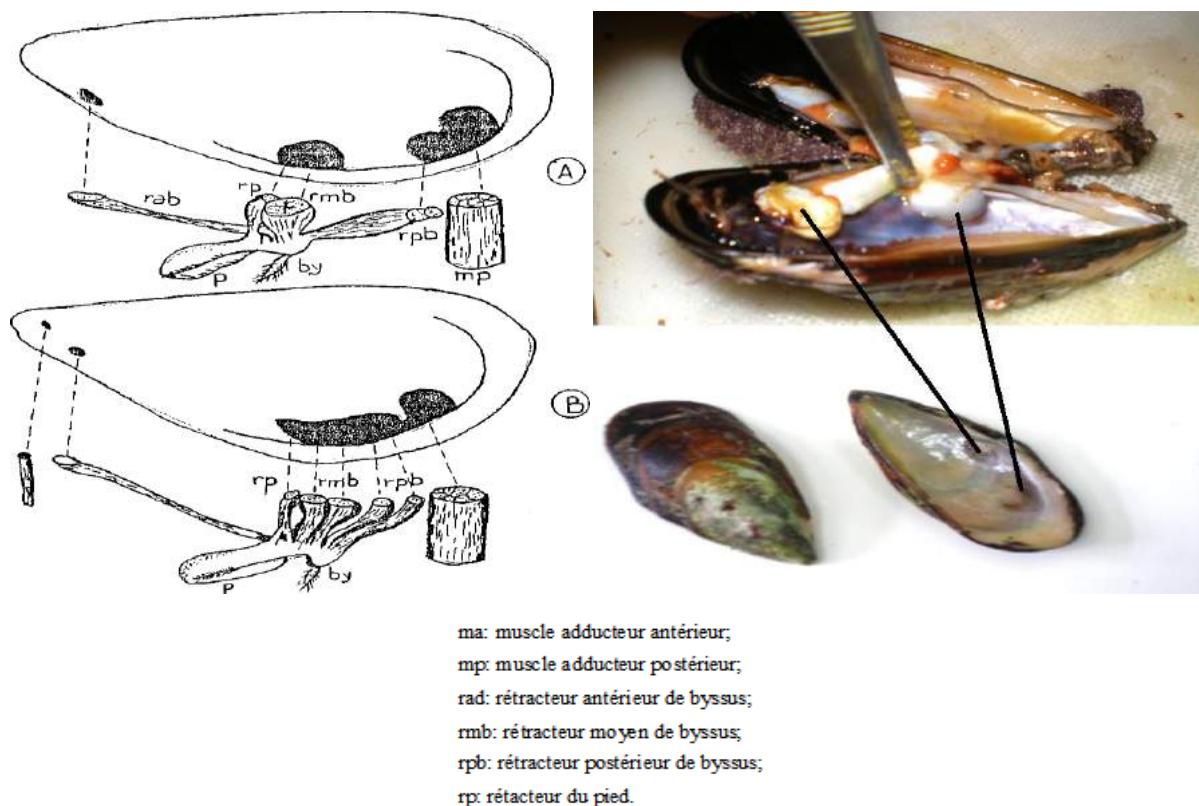


Figure 1: Disposition des insertions musculaires sur la coquille de *Perna perna* (A) et *Mytilus galloprovincialis* (B) ; Charnière de la valve gauche 1-*Perna perna*. 2- *Mytilus galloprovincialis*. 3- *Mytilus edulis*.

Tableau 1: Caractères distinctifs entre la musculature de *M. galloprovincialis* et de *Perna perna* (Linneaus, 1758)

Muscles	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	<i>Perna perna</i>
Muscle adducteur antérieur	petits ou grands 1 paire s'insérant dorsalement dans la région postérieure	absence des grands
Muscle adducteur postérieur		
Muscles rétracteurs du pied		
Muscles rétracteurs de byssus (3 paires)	rétracteurs antérieurs : 1 paire s'insérant antérieurement	rétracteurs antérieurs : 1 paire s'insérant antérieurement
	rétracteurs moyens : 1 paire formée de deux faisceaux s'insérant dorsalement dans la région moyenne contre les rétracteurs postérieurs	rétracteurs moyens : 1 paire de muscles très épais formée de nombreux faisceaux empreinte distincte
	Rétracteurs postérieurs : 1 paire de deux faisceaux s'insérant postérieurement entre les précédents et l'adducteur postérieur.	Rétracteurs postérieurs : 1 paire formée de deux faisceaux à insertion distincte contre l'adducteur postérieur.

1.1. Difficultés

La systématique des Mytilidés pose un problème de détermination des espèces à l'échelle mondiale, à cause d'une forte plasticité phénotypique qui génère une grande variabilité des caractères morphologiques (Seed, 1968) à cause aussi de la possibilité d'hybridation à l'état naturel des taxons d'un même genre ce qui complique davantage la situation par l'apparition de formes intermédiaires. Les caractères les plus utilisés sont la forme de la coquille, la forme de l'empreinte du muscle adducteur antérieur et le nombre de dents cardinales. La majorité des auteurs reconnaissent que la coquille est sujette à de fortes variations en fonction des facteurs du milieu (Lubet, 1973). Ce qui rend délicat la détermination des individus sur la seule base de la morphométrie qui peut constituer une source d'erreurs. En revanche, la génétique, notamment grâce aux données de l'électrophorèse a fourni une issue de secours et constitue un outil performant dans la diagnose des taxons.

2. REPARTITION GEOGRAPHIQUE

La moule brune est largement distribuée en Méditerranée (côtes de l'Afrique du Nord ; de Gibraltar au golfe de Tunis) et dans les régions tropicales et subtropicales de l'océan Atlantique (Siddall, 1990) ; en Afrique de l'ouest (Maroc, Mauritanie, Sénégal...) et sur les côtes est de l'Amérique du Sud. En Afrique, *Perna perna* est distribuée du Mozambique au Cap. Rare le long de la côte occidentale du Cap, elle réapparaît dans le nord de Nambia-Diddo (Schurink et Griffiths, 1991). Des colonies de moules brunes sont signalées sur les côtes méditerranéennes du Maroc (Shaffee, 1992 ; Chraibi, 2000), de l'Algérie (Abada-Boudjemaa, 1983) et de la Tunisie (Zaouali, 1973). En Algérie, les moulières naturelles comportent fréquemment deux espèces de moules, *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck) et *Perna perna* (Linné)=*Mytilus africanus* (Chemnitz) « ... ces deux espèces si distinctes peuvent se recueillir ensemble attachées sur le même support » (Pallary, 1921). Elles sont caractérisées par des faciès de peuplement algaux à *Cystoseira fimbriata*, *Jania rubens*, *Sargassum vulgare*, *Gelidium* et *Corallina officinalis*. La faune associée à ces populations de Mytilidés est richement diversifiée mais peu abondante. On y recense des Crustacés Isopodes, Amphipodes et Décapodes (Pachygrapsus), des Cirripèdes (Polycipes et Balanus), des Chitons et surtout des Annélides Polychètes errantes. On la trouve également le long des littoraux atlantiques de l'Amérique du Sud de l'Uruguay aux Caraïbes (Acuna, 1976). Elle est aussi distribuée dans les régions côtières rocheuses du Venezuela oriental (Mandelli et Acuna, 1975). Des espèces

de moules brunes non indigènes se produisent sur une grande partie des côtes du Texas, dans le golfe du Mexique ([Hicks et Tunnell, 1993](#)). Dans le Golfe du Mexique, ces moules brunes ont colonisé, jusqu'à une profondeur de 9 mètres, les plates-formes pétrolières ([Hicks et Tunnell, 1995](#)). La dispersion au sud, de cette espèce envahissante, est probablement due aux courants côtiers ; ce qui pourrait expliquer la présence de colonies de moules brunes dans le canal de Brazos Santiago ([Davenport, 1993](#)).

3. BIOLOGIE

3.1.Cycle de reproduction

Le cycle de reproduction de *Perna perna* est étendu sur toute l'année avec trois périodes caractéristiques de ponte : deux facultatives (hivernale et estivale) et une principale (automnale). Dans les sites pollués, le cycle de reproduction des moules connaît un déphasage des activités génitales et l'effort de reproduction est plus important ([Idhalla et al., 1997](#)). Le cycle sexuel comporte sept stades (classification de [Lubet en 1959](#) reprise par [Wilson et Seed en 1974](#)).

3.2.Éléments de dynamique des populations

La mytiliculture étant absente le long des aires de répartition de *Perna perna* : côtes est et ouest de l'Atlantique tropical et subtropical : Maroc, Mauritanie, Sénégal, Angola, Congo, Amériques du sud, Antilles, Brésil, Guyane et sur les bords de la Méditerranée occidentale ([Lubet 1973](#)), le phénomène de la croissance chez cette espèce est étudié uniquement par des suivis sur le terrain (études de recrutement) qui donnent une idée à la fois sur le cycle biologique et sur la croissance ([Abada-Boudjema, 1983](#) ; [Abada-Boudjema et al., 1984](#) ; [Shafee, 1989](#)). Sur le plan démographique, *P. perna* est caractérisée par une énorme mortalité aux stades larvaire et juvénile compensée par une forte fécondité, allant de quelques centaines de milliers à quelques millions d'œufs par femelle et par saison de ponte.

3.3.Régime alimentaire

Les mytilidés appartenant aux genres *Perna* et *Mytilus* font partie de l'Ordre des Filibranches c'est à dire des Bivalves caractérisés par des branchies constituées de filaments réfléchis et unis par des touffes de cils. Ce sont des organismes filtreurs, très bons « bioindicateurs », la filtration de l'eau de mer se faisant à une vitesse définie comme étant le volume d'eau exprimé en litre « épuré » à 100%, par heure. Cependant, le volume d'eau filtré varie avec l'âge de l'individu ainsi que son état physiologique mais il dépend aussi des

facteurs environnementaux : température de l'eau, salinité, éclairement, matières en suspensions.... On estime néanmoins, que le volume filtré par une moule serait de l'ordre de 1.8 litre/heure. Ce pouvoir de filtration fait que les Bivalves tels que les Mytilidés, entre autres, absorbent régulièrement de grandes quantités de polluants chimiques particulièrement des métaux lourds et des hydrocarbures ; cette capacité de bioaccumulation fait des moules de très bons indicateurs de pollution (bioindicateurs) et le suivi annuel de moulières naturelles entre dans les études de « monitoring ». Il faut signaler que le phénomène d'épuration propre aux Bivalves est exploité en mytiliculture pour la décontamination bactérienne : ainsi, les moules provenant de gisements suspects sont transportées vers des établissements spécialement aménagés dits « établissements d'épuration ». Ces moules sont plongées durant vingt-quatre heures dans des bassins renfermant de l'eau stérilisée. Ainsi, du fait de leur forte capacité de filtration, il se produit un véritable lavage de tout leur organisme, particulièrement de leurs branchies et de leur appareil digestif au niveau desquels se développent les microbes.

Etant des invertébrés marins à régime microphage, les moules, selon [Lubet \(1959\)](#) et [Dardignac-Corbeil \(1986\)](#), prolifèrent dans les zones riches en phytoplancton et/ou en matières organiques dissoutes et/ou en bactéries. L'analyse des contenus stomacaux montre, suivant les régions côtières, une prédominance des Diatomées et des Périnidiens ([Furnestin, 1966 in Lubet 1973](#)). Certaines Diatomées peuvent, par phénomène de bioaccumulation, rendre les moules toxiques (cas du phénomène des marées rouges se produisant parfois dans le milieu marin). De même, l'importance de la biomasse de la matière organique explique la forte densité des moulières naturelles à proximité des décharges d'eaux usées (sorties d'égouts). Cette prolifération est signalée par [Lubet \(1959\)](#) dans certains étangs littoraux méditerranéens, au niveau de certaines baies profondes en Adriatique (Yougoslavie) et dans les rias de Galicie espagnole où la forte densité des moulières est due essentiellement à une reproduction intense avec apparition constante de juvéniles. Ce phénomène amène l'auteur à émettre l'hypothèse suivante : « il est vraisemblable que beaucoup de moulières situées en mode battu ne doivent leur existence et leur maintien qu'à la présence dans un secteur assez proche de moulières plus importantes, mieux établies dans des zones favorables ; le renouvellement du stock se faisant grâce à la dissémination pélagique des larves véligères. »

4. ECOLOGIE

4.1.Espèce tropicale tempérée

• Tolérance à la salinité

[Salomao et al. \(1980\)](#) ont observé, pour les individus adultes, une tolérance à la salinité dans la gamme 19-44 ppt. Les larves végétaires ont une gamme semblable de tolérance à la salinité ; soit 15-55 ppt. ([Romero et Moreira, 1980](#)). En 1995, Hicks, dans une communication personnelle sur les populations non indigènes de moules *Perna perna* du Texas, a constaté, une gamme de tolérance à la salinité de 15-50 ppt.

• Tolérance à la température :

En dehors des limites de tolérance, la température a des effets plus néfastes sur la survie des moules que la salinité. D'après [Siddall \(1979\)](#), la métamorphose des larves de moules n'est possible qu'aux températures comprises entre 18°C et 30°C.

*• Compétition avec *Mytilus**

L'existence du détroit de Gibraltar favorise l'élargissement des aires de répartition géographiques de nombreux taxons, en particulier celles des Mytilidés où deux genres *Perna* et *Mytilus* cohabitent très souvent dans leurs sites naturels d'origine à des niveaux d'abondance très divers, entrant ainsi en compétition au niveau de certaines zones intertidales des côtes Algériennes. Ainsi, la moule africaine *Perna perna* est signalée en Méditerranée dans la baie d'Alger par [Asso \(1980\)](#) et en Tunisie dans la région de Bizerte par [Zaouali \(1973\)](#) alors que ce genre d'origine afro-tropicale est nettement abondant dans la partie méridionale du littoral atlantique marocain. De même, la moule méditerranéenne *Mytilus galloprovincialis*, est très abondante en Méditerranée et sur les côtes atlantiques du Maroc au moins jusqu'à Dakhla voir même jusqu'au nord de la Mauritanie ([Daguin et Borsa, 1999](#)).

5. ECOTOXICOLOGIE

Dans tous les écosystèmes marins, les mollusques bivalves constituent un matériel de choix pour diagnostiquer, par analyse des métaux lourds, toute pollution des eaux côtières ([PNUE / FAO / COI- AIEA, 1994](#)). De ce fait, les Mytilidés sont considérés, du fait de leur mode de vie fixé et sédentaire, comme des espèces « sentinelles » fiables dans les études de monitoring. Selon [Serbanescu et al. \(1980\)](#), les mollusques possèdent un mécanisme de

filtration très perfectionné leur permettant de filtrer quotidiennement de grandes quantités d'eau de mer en retenant les particules en suspension et donc d'accumuler les ions métalliques. Pour [Regoli et Orlando \(1994\)](#), les moules sont capables de tolérer des concentrations très élevées en métaux lourds toxiques.

Si la moule *Mytilus galloprovincialis* a fait l'objet de nombreux travaux éco-toxicologiques, en revanche, la moule brune a été peu étudiée. [Khati \(2009\)](#), dans une étude de la contamination du golfe d'Annaba par les métaux lourds à travers l'utilisation de la moule *Perna perna* a évalué, *in toto*, les concentrations en métaux lourds (Cu, Zn et Cd). Les concentrations mesurées varient suivant la saison de prélèvement avec une accumulation plus forte en hiver et au printemps. Ceci pourrait être relativement influencé par les changements de poids probablement liés à la physiologie de reproduction de l'espèce, sans toutefois négliger l'effet de certains facteurs environnementaux. Les valeurs moyennes enregistrées révèlent un ordre décroissant Zn< Cu< Cd. La variation des concentrations des métaux, analysés dans cette étude, semble dépendre de deux facteurs : la saison et le site de prélèvement. En 2013 Belabed rapporte que les teneurs en métaux relevées dans la chair de la moule *Perna perna* du golfe d'Annaba, sont dominées le plus souvent par les métaux toxiques tels que le plomb (1.67–2.68) mg.kg, le mercure (0.16–0.20) mg.kg, le cadmium (0.25-0.90) mg.kg et le chrome (2.24–2.80) mg.kg comparées aux médianes Françaises.

Signalons les travaux de [Chraïbi et al. \(2000\)](#), qui portent sur une étude comparée de l'accumulation des métaux lourds chez les deux espèces *Mytilus galloprovincialis* et *Perna perna* prélevées sur les côtes atlantique et méditerranéenne marocaines. Ces auteurs ont montré que, les jeunes individus sont plus sensibles à la bioaccumulation que les adultes. Les résultats obtenus montrent que les deux espèces de Mytilidés réagissent de la même manière vis à vis des métaux lourds étudiés. Elles concentrent préférentiellement, au niveau de leurs byssus, certains ions métalliques étudiés tels que Zn, Fe, Al et Cr ; leurs chairs renfermant des concentrations plus basses. On peut penser qu'il s'agit là, probablement, d'un mécanisme intrinsèque de défense face à l'agression provoquée par la présence, en grandes quantités, de substances toxiques dans leur milieu naturel. Cette forte tolérance à la contamination métallique accumulée au niveau du byssus épargne sans doute aux organes vitaux une toxicité aiguë susceptible d'altérer la croissance, de déformer la coquille ou d'induire un retard dans la maturité sexuelle ([Martin et al. 1981 ; Ramade, 1992](#)).

Il apparaît que les organes vitaux des populations de *Perna perna* tolèrent une bioaccumulation en métaux lourds sensiblement plus importante que celle observée chez les populations de *Mytilus galloprovincialis* en Atlantique et sur la côte ouest méditerranéenne (Chraïbi et al., 2000). D'après certains auteurs (Widdows et Donkin, 1992 ; Phillips, 1976 ; Wang et al., 1996 ; Ozdemir et al., 1998 ; Sabhi, 1997) cette bioaccumulation en métaux dépend du métabolisme, du cycle de reproduction et des relations avec les paramètres environnementaux tels que la salinité, la température, le mouvement des marées, le courant marin et la pollution qui sont différents sur les côtes atlantiques et méditerranéennes. Pour la moule *Perna perna*, les concentrations globales des cinq métaux lourds étudiés peuvent être classées selon l'ordre croissant suivant : Zn , Cu , Pb , Ni et Hg. Les populations de *Perna perna* apparaissent comme un meilleur bioindicateur de pollution en raison de leur plus haute capacité d'accumulation des métaux lourds (Chraibi et al., 2000).

II. BIOMARQUEURS :

Les biomarqueurs sont des variations biochimiques, physiologiques, histologiques ou morphologiques, mesurées chez des organismes exposés à des conditions de stress liées à la présence de substances chimiques dans l'environnement (Huggett et al., 1992). Ils représentent la réponse biologique initiale des organismes face à des perturbations ou des contaminations du milieu dans lequel ils vivent ; en conséquence, ils sont en général plus sensibles que les paramètres mesurés à un niveau supérieur d'organisation biologique tel que l'organe, l'individu ou la population (Stegeman et al., 1992). Un biomarqueur représente une signature biologique de l'impact ou de la présence du xénobiotique dans l'organisme et non la mise en évidence directe de celui-ci. On distingue trois types de biomarqueurs :

Biomarqueurs d'exposition : c'est la réponse à une interaction entre un agent xénobiotique et une molécule ou cellule cible. Cette réponse rend compte de la pénétration du polluant dans l'organisme, ex : induction des protéines de stress.

Biomarqueurs d'effet : ils donnent des informations sur l'état de santé de l'organisme, ex : réserves énergétiques.

Biomarqueurs de sensibilité : ces types de biomarqueurs indiquent que l'organisme a déjà été soumis au même polluant et qu'il s'y est adapté. On peut citer par exemple la résistance à un insecticide chez les insectes. Il s'agit surtout de modifications génétiques.

Ces trois types de biomarqueurs peuvent être soit non spécifiques, soit spécifiques à un type de polluant (ex : à une exposition à des métaux ou des pesticides organohalogénés) (Depledge et Fossi, 1994). Cependant, pour pouvoir prédire les conséquences d'un polluant

sur l'organisme ou la population, à partir d'un effet sur un biomarqueur, il est nécessaire de mettre en relation trois paramètres : biomarqueurs, concentration du polluant dans le milieu et l'organisme.

1. Les systèmes antioxydants :

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre, entre les systèmes antioxydant et les systèmes pro-oxydants, en faveur de ces derniers impliquant la production d'espèces réactives de l'oxygène, source d'effet toxique potentiel ([Halliwell and Gutteridge, 1999](#)).

1.1. Le glutathion réduit (GSH):

Le glutathion est largement distribué dans le milieu intracellulaire des animaux, des plantes et des micro-organismes. C'est le système de conjugaison le plus important. C'est un tripeptide qui joue un rôle central dans les processus de défense antioxydant intracellulaire ([Arrigo 1999 ; Sies 1999](#)). Le GSH forme des acides mercapturiques, qui sont très solubles, souvent plus que les composés simplement polarisés par la phase I . C'est un antioxydant non enzymatique qui va, en piégeant les radicaux libres, intervenir à divers degrés en complément des enzymes antioxydantes. Ce thiol non protéique, abondant chez les organismes vivants dans sa forme réduite (GSH), va agir dans la cellule comme un donneur d'électron. Le glutathion est composé de trois acides aminés (Glu-Cyst-Gly). Il comporte donc en son centre un groupe -SH (cystéine). L'enzyme qui catalyse la réaction est la glutathion-S-transférase (GST). Il constitue environ 10% des protéines du cytoplasme. Le système est très impliqué dans la détoxicification des radicaux libres et des époxy, mais aussi des halogénés.

1.2.Le glutathion S-Transférase (GSTs) :

Les glutathion S-transférases enzymes de la phase II représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles essentiellement cytosoliques, impliquées dans des opérations diverses de transports et de biosynthèses intracellulaires ([George, 1990](#)). La fonction des GSTs la plus étudiée en ce qui concerne la prévention de la pollution dans l'environnement demeure leur propriété de catalyser des réactions de conjugaison entre un peptide, le glutathion, et des molécules réactives comportant des sites électrophiles, capables de réagir dangereusement avec des macromolécules comme les acides nucléiques (ARN, ADN). De fait, la conjugaison du glutathion avec certains substrats représente une étape dans la formation de composés moins toxiques et plus hydrosolubles que les molécules de départ ([Chatterjee et Bhattacharya, 1984](#)).

Une grande variété de composés chimiques induit les GSTs, dont certains inducteurs des cytochromes P450 tels que les hydrocarbures polyaromatiques et les PCB. L'utilisation des GST comme bioindicateur de pollution caractéristique d'un type de polluant dans l'environnement reste encore à définir et se rapproche encore aujourd'hui plus de celle d'un indicateur non spécifique, témoin de l'état de santé global des organismes qui peuplent les écosystèmes marins.

La mesure de l'activité des GSTs consiste à fournir à l'enzyme un substrat (en général du chlorodinitrobenzène (CDNB)(1-chloro,2, 4-dinitro Benzène), qui réagit facilement avec de nombreuses formes de GST et du glutathion. La réaction catalysée de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une molécule nouvelle qui absorbe la lumière à 340nm de longueur d'onde. Il est possible de quantifier cette absorption au moyen d'un spectrophotomètre et la valeur de la densité optique mesurée à 340nm est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formée, elle-même liée à l'intensité de l'activité GST (Habig et al., 1974).

III. Généralités sur la bioaccumulation des métaux traces (Cd, Pb, Cu) chez la moule

Le milieu marin, biotope particulièrement riche, est caractérisé à la fois par une remarquable stabilité de ses propriétés fondamentales et une grande variabilité de ses micro-constituants. L'eau de mer contient en solution des combinaisons de tous les éléments chimiques mais seulement certains d'entre eux, au nombre de douze, ont des concentrations égales ou supérieures au mg.L⁻¹. Ces douze éléments majeurs interviennent pour 99,4 % en masse du total de la croûte terrestre (O, Si, Al, Fe, Ca, Na, K, Mg, Ti, H, P et Mn par ordre d'abondance). Les éléments traces, au nombre de 68, ne représentent en masse que 0,6 % du total et sont à des concentrations inférieures à 10⁻⁶ M dans l'eau de mer ([Miquel, 2001; Neff, 2002](#)).

Ces éléments sont engagés dans des réactions biochimiques et contribuent à l'équilibre du milieu marin. Mais l'apport de contaminants métalliques par l'intermédiaire des effluents industriels et de l'atmosphère, des fleuves et de leur estuaire, peut modifier la composition de l'eau de mer qui peut devenir毒ique pour les plantes et les animaux.

L'étude de l'interaction entre les contaminants et les barrières biologiques est d'un intérêt considérable pour la compréhension des phénomènes écotoxicologiques, particulièrement la bioaccumulation et les transferts à travers les chaînes trophiques. Les processus impliqués sont très complexes et sont influencés par le contaminant (taille

molécule, spéciation chimique, etc.), l'organisme récepteur (propriétés membranaires, composition chimique, processus actifs, etc.) et l'environnement intra et extracellulaire (température, pH, etc.).

1. Les métaux en milieu marin

Un métal est un élément chimique, issu le plus souvent d'un minéral doté d'un éclat particulier, bon conducteur de chaleur et d'électricité, ayant des caractéristiques de dureté et de malléabilité, se combinant aisément avec d'autres éléments pour former des alliages utilisés par l'homme depuis l'Antiquité.

Si les métaux sont souvent indispensables au déroulement des processus biologiques (oligo-éléments), nombreux d'entre eux peuvent s'avérer contaminants pour diverses formes de vie, lorsque leur concentration dépasse un seuil, lui-même fonction de l'état physico-chimique (spéciation) de l'élément considéré. C'est le cas du fer (Fe), du cuivre (Cu), du zinc (Zn), du nickel (Ni), du cobalt (Co), du vanadium (V), du sélénium (Se), du molybdène (Mo), du manganèse (Mn), du chrome (Cr), de l'arsenic (As) et du titane (Ti) ([Miquel, 2001](#)). D'autres ne sont pas nécessaires à la vie et peuvent être même préjudiciables comme le mercure (Hg), le plomb (Pb), le cadmium (Cd) et l'antimoine (Sb) ([Chiffolleau et al., 2001](#)).

L'appellation « éléments en traces métalliques » (ETM) ou par extension « éléments traces » est communément utilisée pour désigner les éléments métalliques naturels, caractérisés par une masse volumique élevée, supérieure à 5 g.cm^{-3} .

Les utilisations des métaux sont multiples et très diversifiées, depuis les additifs de plomb dans les carburants jusqu'aux sels d'argent de l'industrie photographique, au nickel ou au cadmium des batteries d'accumulateurs, au zinc des gouttières ou au chrome des aciers inoxydables, au cuivre de l'industrie électrique ou à l'arsenic des produits phytosanitaires. Les sources de contamination le sont par conséquent aussi. Durant toutes les phases d'élaboration, d'utilisation et/ou de recyclage de ces produits, des métaux sont rejettés dans l'environnement, soit directement dans les eaux continentales ou marines, soit dans l'atmosphère transportés par les vents, associés aux aérosols avant de se déposer par voie sèche ou humide à la surface de la terre ou de l'océan.

Ainsi, les métaux traces sont présents dans tous les compartiments de l'environnement, à la fois parce qu'ils sont naturellement présents (sources naturelles) ou parce que certaines activités de l'homme favorisent leur dispersion (source anthropique). Enfin, ils présentent un danger potentiel pour le consommateur de produits marins du fait de

leur possibilité de concentration dans les espèces marines, de leur élimination difficile et de leur large répartition dans le milieu aquatique.

2. Situation générale des métaux en Méditerranée

Comme son nom l'indique, la Méditerranée est une mer semi-fermée, entourée de trois continents, les apports atmosphériques et telluriques sont donc importants. Sa superficie est de $2,5 \cdot 10^{12} \text{ m}^2$, alors que son bassin versant représente $1,8 \cdot 10^{12} \text{ m}^2$. Le rapport des surfaces bassin versant sur mer est donc de 0,7 alors qu'il est de 0,3 pour l'océan mondial. Cet effet du bassin versant reste toutefois inférieur à ce que subit la mer Noire où le rapport des surfaces respectives atteint 4,4. Dans la vingtaine de pays riverains de la Méditerranée sont hébergés près de 400 millions d'habitants, dont 100 millions de résidents sur la zone côtière, recevant 120 millions de visiteurs par an. En conséquence, au lessivage naturel des sols et à l'érosion éolienne, s'ajoutent les apports (ou rejets) liés aux activités industrielles, agricoles et urbaines du bassin versant. De plus, les apports atmosphériques, inclus dans la circulation atmosphérique, peuvent venir de régions extérieures au bassin versant: Europe du Nord et régions sahariennes.

Les premières mesures fiables d'éléments traces, réalisées en 1983, ont montré des profils verticaux très différents en Méditerranée de ceux mesurés dans les océans Atlantique et Pacifique ([Ruiz-Pino et al., 1990](#); [Ruiz-Pino et al., 1990](#); [Ruiz-Pino et al., 1991](#)). Dans ces deux océans, pour le zinc et le cadmium, par exemple, les profils verticaux s'apparentaient à ceux des éléments nutritifs, à savoir de très faibles concentrations en surface et une augmentation progressive en profondeur. En Méditerranée, ces métaux traces sont plus concentrés dans les couches supérieures que dans les couches inférieures où ils restent en quantité relativement stable. Ces profils particuliers en Méditerranée ont été interprétés par un état non stationnaire, les apports superficiels étant plus forts que le transfert vertical par l'activité biologique et les mouvements hydrologiques. Cette caractéristique a permis aux chercheurs d'analyser avec plus de facilité l'évolution de la concentration des métaux traces (mercure, cadmium, plomb, cuivre et zinc) provenant de l'atmosphère et des rivières: dus pour l'essentiel aux activités humaines.

Dans cette étude, trois métaux, suivis dans le cadre du RNO et de RINBIO seront étudiés en particulier: le cadmium, le plomb et le cuivre. Pourquoi distinguer ces trois métaux ? Pour les deux premiers, il y a d'une part une raison historique. Les premiers biochimistes ont distingué ces trois métaux en raison de leur affinité avec le soufre qui permettait d'identifier les protéines « qui précipitent lourdement » ou donnent facilement des sels (ex :

sels de plomb). De plus, ils se transportent et changent de forme chimique, ils ont une conductivité électrique élevée qui expliquent leur utilisation dans de nombreuses industries. Enfin, ils présentent une certaine toxicité pour l'homme, entraînant notamment des lésions neurologiques plus ou moins graves. Pour compléter l'étude, le Cu sera aussi évoqué. En effet, contrairement aux deux précédents, ce métal est indispensable au déroulement des processus biologiques et devient toxique qu'au-delà d'un certain seuil. Au niveau Méditerranéen, les teneurs de ces trois métaux demeurent importantes et varient de façon importante le long du littoral.

3. Le cadmium

Propriétés fondamentales

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

Le cadmium est un élément rencontré en milieu aquatique sous diverses formes physiques (dissoute, colloïdale, particulaire) et chimiques (minérale ou organique). Un ensemble de variables physicochimiques du milieu (salinité, pH, potentiel redox, caractéristiques sédimentologiques, nature géochimique des particules, concentration en chlorures) gouvernent les transformations du cadmium dans l'environnement ([Gonzalez *et al.*, 1999](#); [Chiffolleau *et al.*, 2001](#)). La distinction entre les trois formes dissoutes, colloïdales et particulières se fait par filtration et ultrafiltration, dont les seuils sont fixés arbitrairement en fonction de leur taille : les formes dissoutes (< 1 nm) ; les formes colloïdales (de 450 à 1 nm) ; les formes particulières (> 0,45 µm).

Utilisations

Le cadmium est naturellement présent à l'état de traces dans les roches superficielles de l'écorce terrestre, ce qui en fait un élément plus rare que le mercure et le zinc. Il y a deux origines principales de présence de cadmium :

- le cadmium primaire est principalement associé au zinc dans les minerais de zinc (blende) (0,01 à 0,05%) et donc sous-produit de la métallurgie du zinc qui donne en moyenne 3 kg de cadmium par tonne de zinc. Le cadmium est également présent dans des minerais de plomb et de cuivre ainsi que dans des phosphates naturels (Jordanie, Tunisie). Les usages de

cadmium se situent principalement en électricité (accumulateurs), en électronique, en métallurgie (traitement des surfaces par cadmiage) et dans l'industrie des matières plastiques (stabilisateur de polymères) ([Ramade, 1992](#)).

- le cadmium secondaire est produit par recyclage (accumulateurs Ni/Cd, alliages Cu/Cd, poussières d'aciéries, incinération d'ordures ménagères) représentant des causes de pollution de l'environnement. A l'image du mercure, les combustions des dérivés fossiles du carbone introduisent également ce métal dans l'atmosphère (combustion produits pétroliers et charbon). Aussi, le transport de ce polluant peut couvrir de grandes distances.

Propriétés biologiques et toxicité

Contrairement à de nombreux métaux, le cadmium n'a aucun rôle métabolique connu et ne semble pas biologiquement essentiel ou bénéfique au métabolisme des êtres vivants. Il remplace parfois le Zn dans des systèmes enzymatiques carencés en Zn chez le plancton ([Price et Morel, 1990; Lane et Morel, 2000](#)).

Le cadmium présente des risques chez le consommateur. Même à de faibles concentrations, il tend à s'accumuler dans le cortex rénal sur de très longues périodes (50 ans) où il entraîne une perte anormale de protéines par les urines (protéinurie) et provoque des dysfonctionnements urinaires chez les personnes âgées. Cependant, il ne présente pas de toxicité aiguë pour les organismes marins à des concentrations susceptibles d'être rencontrées dans le milieu. Au niveau subletal, des concentrations de 0,05 à 1,2 µg.L⁻¹ peuvent provoquer des effets physiologiques (anomalies dans le développement embryonnaire et larvaire chez mollusques bivalves) et des inhibitions de croissance ([Chiffolleau et al., 2001](#)).

4. Le plomb :

Propriétés fondamentales

Le plomb existe sous trois formes essentielles: le plomb dissous, le plomb colloïdal et le plomb particulaire:

- Sous forme dissoute, les espèces dominantes dans l'eau de mer sont PbCO₃, PbCl₂ ou PbCl⁺. Cette répartition ne prend pas en compte la matière organique dissoute et le fait que le plomb, dans l'eau de mer, se trouverait essentiellement sous forme de complexes organiques labiles. De même que pour le mercure, le plomb peut-être méthylé par les bactéries dans les sédiments, mais ce phénomène revêt une moindre importance.

- Aussi, le plomb présente une forte affinité pour la matière particulaire. A peine 10 % du plomb se trouve sous cette forme dans l'océan. L'adsorption du plomb sur la matière particulaire est fonction du pH et augmente avec ce dernier.

Utilisations

Le plomb est très souvent associé au zinc dans les minerais mais aussi à de nombreux autres éléments: Fe, Cu, Cd, Bi, Sb, Ge, As, Ag, Au qui sont en grande partie (sauf Fe) récupérés lors des opérations métallurgiques.

L'utilisation du plomb est directement liée à la métallurgie. Avec deux pics notables: sous l'empire romain pour la production de la monnaie, les canalisations et la vaisselle ; et pendant la révolution industrielle pour l'industrie, l'imprimerie, les peintures et les carburants automobiles. Cette dernière utilisation qui consistait à ajouter du plomb à l'essence comme antidétonant est aujourd'hui prohibée ([Miquel, 2001](#)). Depuis décembre 1991, il n'y a plus de production minière en France. Par contre, plus de 90 % du plomb utilisé dans les batteries sont récupérés. Dans l'air, les émissions de plomb provenant de poussières volcaniques véhiculées par le vent sont reconnues d'importance mineure. Les rejets atmosphériques sont principalement anthropiques.

Propriétés biologiques et toxicité

Les doses létales du plomb, sous la forme de sel minéral, sont souvent supérieures à sa limite de solubilité dans l'eau de mer, c'est à dire 4 mg.L^{-1} . Le plomb inorganique peut donc être considéré comme toxique (concentration létale de 1 à 10 mg.L^{-1}) ou modérément toxique (concentration létale de 10 à 100 mg.L^{-1}).

Les teneurs létales en plomb tétralkylé sont en revanche beaucoup plus faibles: les CL50 96 heures sont en effet généralement inférieures à 1 mg.L^{-1} , c'est à dire que cette forme va de très toxique à extrêmement toxique ([Marchand et Kantic, 1997](#)). Le seuil de qualité sanitaire réglementaire est de $1,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ (p.h) du règlement européen CE 221/2002.

Des effets sur la croissance de certaines espèces phytoplanctoniques ont été enregistrés à partir de $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$. Les invertébrés marins aux stades embryonnaires sont plus sensibles que les adultes. Ainsi, la concentration inhibitrice du développement embryonnaire de la moule (*Mytilus galloprovincialis*) est d'environ $500 \mu\text{g.L}^{-1}$; de plus, à cette concentration, un grand nombre de larves sont anormales. L'effet toxique du plomb peut se traduire par une compétition avec des métaux essentiels. Chez la moule, *Mytilus edulis*, en présence de plomb ($0,1 \text{ mg.L}^{-1}$), il y a perturbation du métabolisme des autres métaux divalents: notamment le calcium, le magnésium et le cuivre ([Marchand et Kantic, 1997](#)). Enfin, le saturnisme désigne l'ensemble des manifestations de l'intoxication humaine par le plomb. Ses principaux organes

cibles sont le système nerveux, les reins et le sang. Cette maladie se caractérise par une anémie et une perturbation du métabolisme par compétition avec les ions Ca^{2+} .

5. Le cuivre :

Propriétés fondamentales

Le cuivre est indispensable au métabolisme des êtres vivants (oligo-éléments). L'ion Cu^{2+} forme de nombreux complexes stables avec des ligands minéraux, comme les chlorures ou l'ammonium, ou avec des ligands organiques ([ATSDR, 1990; Dameron et Howe, 1998](#)). Dans les milieux aqueux, le comportement du cuivre est influencé par de nombreux processus:

- complexation avec des ligands organiques (surtout sur les groupes $-\text{NH}_2$ et $-\text{SH}$, et dans une moindre mesure sur le groupe $-\text{OH}$) ou minéraux,
- adsorption sur des oxydes métalliques, des argiles ou des matières organiques particulières,
- bioaccumulation, présence de cations de compétition (Ca^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+}), présence des sels (OH^- , S^{2-} , PO_4^{3-} , CO_3^{2-}),
- échange entre les sédiments et l'eau ([ATSDR, 1990; Dameron et Howe, 1998](#)).

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

Utilisations

Le cuivre existe à l'état natif et est extrait d'une grande variété de minerais. Il se rencontre surtout sous forme de sulfures CuS et Cu_2S dans la tétrahédrite et l'énaïrite, et sous forme d'oxydes. Le minerai le plus important est la chalcopyrite. La teneur en cuivre dans les minerais varie de 0,5 à 5 %. Elle est de 0,01 % dans les roches volcaniques et de 0,0055 % dans les roches cristallines. Le cuivre est principalement produit par broyage de minerais sulfurés, enrichissement par flottation ou par lessivage acide des minerais oxydés suivi d'une fusion et d'un raffinage électrolytique ou thermique.

Le cuivre est l'un des métaux les plus employés à cause de ses propriétés physiques et de sa conductibilité électrique et thermique. Il est utilisé dans la métallurgie, dans la fabrication des alliages de bronze (avec étain), de laiton (avec zinc) ou de joaillerie (avec or et

argent). Il est très largement employé dans la fabrication de matériels électriques (fils, enroulements de moteurs, transformateurs), dans la plomberie, dans les équipements industriels, dans l'automobile et en chaudronnerie. L'acétate de cuivre est utilisé comme catalyseur, notamment dans la fabrication de caoutchouc, comme pigments pour les céramiques et les teintures, comme fongicide et comme insecticide. Le chlorure cuivrique est employé comme catalyseur, agent désodorisant, désulfurant ou purifiant, fixateurs pour la photographie. Il est utilisé pour la production de couleurs dans les compositions pyrotechniques ou encore pour la conservation du bois et le raffinage des métaux. Aussi, le sulfate de cuivre anhydre est utilisé en analyse pour la détection et l'élimination de traces d'eau provenant des alcools. La forme hydratée est utilisée comme fongicide agricole, bactéricide et herbicides. Il entre dans la composition de la bouillie bordelaise utilisée pour le traitement des vignes.

Le cuivre est présent dans l'environnement de manière ubiquiste. Sa concentration dans l'écorce terrestre est estimée à environ 70 mg.kg^{-1} . Le transport par le vent des poussières de sol, les éruptions volcaniques, les décompositions végétales, les feux de forêts et les aérosols marins constituent les principales sources naturelles d'exposition. Les principales sources anthropiques sont l'industrie du cuivre et des métaux en général, l'industrie du bois, l'incinération des ordures ménagères, la combustion de charbon, d'huile et d'essence et la fabrication de fertilisants (phosphate). Le milieu environnemental le plus exposé au cuivre est le sol: 97 % du cuivre libéré dans l'environnement s'y retrouve contre seulement 3 % dans les eaux et 0,04 % dans l'air ([ATSDR, 1990](#)). La contamination des sols est due principalement aux scories d'extraction et de broyage des minerais de cuivre, les boues des usines de traitement des eaux usées, les déchets de la galvanoplastie, l'industrie du fer et de l'acier. Dans les eaux, le cuivre provient pour la majeure partie de l'érosion des sols par les cours d'eau (68 %), de la contamination par le sulfate de cuivre (13 %) et des rejets d'eaux usées qui contiennent encore du cuivre, même après traitement.

La viticulture, principale monoculture dans la région méditerranéenne constitue une source potentielle de pollution métallique. Divers fongicides à base de cuivre sont, par exemple, largement utilisés pour protéger la vigne. De surcroît, en zone Méditerranéenne, l'importance du ruissellement et de l'érosion sont susceptibles d'accroître les transferts vers les eaux superficielles des produits phytosanitaires issus du traitement de la vigne, le cuivre inclus. Par conséquent, ce métal, connu pour son effet fongicide sur les végétaux, se retrouve présent dans l'écosystème aquatique récepteur et peut être à l'origine de perturbations au niveau des populations phytoplanctoniques.

Propriétés biologiques et toxicité

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

La toxicité vis à vis des organismes marins dépend de la forme chimique du cuivre et de son état d'oxydation. En particulier, la concentration létale en 48 h pour 50 % des larves d'huîtres plates serait de 1 à 3 µg.L⁻¹ et des inhibitions de croissance du phytoplancton se produisent à partir de 4 µg.L⁻¹.

Les caractéristiques physico-chimiques du milieu (pH, dureté, teneurs en autres inorganiques) agissent sur le degré de dissociation entre les formes métalliques et ioniques. Le cuivre complexé est moins毒 que le cuivre à l'état ionique.

IV. Processus physiologiques de bioaccumulation des métaux: exemple de la moule.

1. Définitions

La **bioaccumulation** est le processus par lequel un organisme vivant absorbe une substance à une vitesse plus grande que celle avec laquelle il l'excrète ou la métabolise. Elle désigne donc la somme des absorptions d'un élément par voie directe et alimentaire par les espèces animales aquatiques ou terrestres ([Ramade, 1992](#)).

Face à la complexité et l'immensité des problèmes écotoxicologiques, il semble impératif de s'occuper séparément des mécanismes d'accumulation et du transfert des contaminants. Les termes de transfert et d'accumulation sont fortement liés. Le premier représente un changement d'état du second. Les transferts représentent le flux de contaminants entre les différents compartiments abiotiques et biotiques et l'accumulation représente la quantité stockée dans chacun des compartiments. La bioaccumulation est donc le résultat des processus par lesquels le contaminant entre dans l'organisme et des processus de décontamination, une combinaison des mécanismes d'excrétion vers l'environnement et de biotransformation endogène ([Ribeyre et Boudou, 1989](#)).

La **bioconcentration** est un cas particulier de bioaccumulation. Elle est définie comme le processus par lequel une substance (ou un élément) se trouve présent dans un organisme

vivant à une concentration supérieure à celle de son milieu environnant. C'est donc l'accroissement direct de la concentration d'un contaminant lorsqu'il passe de l'eau à un organisme aquatique. Le facteur de concentration (FBC) peut être défini comme une constante issue du rapport de la concentration d'un élément dans un organisme en état d'équilibre à sa concentration dans le biotope ([Veith et al., 1979; Ramade, 1992](#)).

La **bioamplification** est le processus par lequel le prédateur concentre une substance (ou un élément) à un niveau supérieur à celui où il se trouve dans la proie. Ainsi, le concept de bioaccumulation résulte de la balance nette des processus de capture, de stockage et d'excrétion d'une substance dans un organisme, due à une exposition dans l'eau, la nourriture, le sédiment et l'air ([Neff, 2002](#)). La bioaccumulation, phénomène capital au niveau de l'organisme, est exprimée par la différence entre la quantité de métaux qui pénètre au travers des barrières biologiques et celle qui est éliminée vers le milieu extérieur (processus d'excrétion). Pénétration, stockage dans les organes cibles et élimination seront sous la dépendance des facteurs abiotiques du milieu, de la nature du contaminant et des caractéristiques physiologiques et biochimiques de l'organisme ou de l'espèce considérée.

2. Mécanisme de capture des métaux

Pendant tout processus physiologique d'échange avec le milieu environnant, les molécules exogènes pénètrent à travers les barrières biologiques séparant l'environnement interne de l'organisme du milieu externe. Quand la contamination se fait, ces barrières (cutanées et respiratoires pour la contamination directe, et intestinale pour la contamination trophique) montrent des propriétés biologiques liées à leur structure et aux conditions physico-chimiques de l'environnement (température, pH, électrolytes, etc.). La membrane plasmique est la structure primaire impliquée dans ces processus ([Luoma, 1983](#)).

Les métaux traces sont piégés par les organismes aquatiques par deux voies principales, à partir de l'eau (voie directe) et à partir de la nourriture (voie trophique). La pénétration des métaux traces nécessite donc le franchissement de structures biologiques spécifiques comme le revêtement extérieur et surtout l'épithélium branchial pour les contaminants présents dans l'eau, et l'ensemble du tractus digestif pour les métaux associés aux particules ou contenus dans les proies ingérées. Toutes ces voies sont possibles pour un même métal et leur importance relative est fonction de la forme chimique sous laquelle le métal est dans le milieu. C'est la coexistence de ces mécanismes et la dynamique de la spéciation qui rend si complexe la notion de biodisponibilité.

Les caractéristiques de l'interface Environnement - Organisme ont une influence importante sur la forme métallique accumulée. Cette interface est une membrane lipidique,

non polaire, imprégnée de molécules qui vont intervenir dans le transport de substances polaires essentielles à travers la membrane.

Capture des métaux en solution

Les organismes aquatiques baignent dans des solutions où les concentrations en métaux traces varient du ng.L^{-1} dans l'océan ouvert, à des niveaux approchant le $\mu\text{g.L}^{-1}$ dans les zones côtières.

La capture, par la surface perméable, de beaucoup de ces métaux traces en solution se fait généralement par diffusion passive ne requérant aucune dépense d'énergie (Luoma, 1983; Phillips et Rainbow, 1994; Anandraj *et al.*, 2002). Ainsi, les formes métalliques liposolubles ou à polarité réduite (ex. HgCl_2 , CH_3HgCl , etc.), peuvent traverser la membrane *via* la diffusion. Cette diffusion passive peut être facilitée (diffusion par gradients de concentration, déplacement dans un champ électrique, présence de solvants, transport par canaux spécifiques aux cations essentiels) en utilisant des protéines de transports associées à la membrane. Les processus digestifs jouent aussi un rôle important dans la détermination de capture à partir de la nourriture et de l'eau ingérée (Tran *et al.*, 2002). Le clivage enzymatique des protéines pourrait faciliter l'assimilation si les métaux sont transportés avec les acides aminés. Le pH est probablement le facteur le plus important dans le tractus digestif.

La concentration de l'ion libre métallique a une grande importance dans le contrôle de la capture métallique à partir des solutions. Le métal sous forme d'ion libre a été proposé comme l'espèce métallique dissoute la plus biodisponible (Campbell, 1995). Ce modèle a été mis en place au début des années 80 par Morel et a été appliqué avec succès pour interpréter la toxicité du métal. Ainsi, le transport de Cd^{2+} et Pb^{2+} passerait par la voie d'un canal protéique non spécifique sur la membrane cellulaire.

Plusieurs études en laboratoire suggèrent que dans le milieu aquatique, l'assimilation est proportionnelle à la concentration en ion libre (M^{2+}) et non à la concentration totale du métal en solution. Ce modèle a été décrit en détail par Campbell, le validant par de nombreuses expériences en terrain. Chez les mollusques bivalves, le modèle de l'ion libre a été utilisé de façon très probante en particulier dans le cas du cadmium (Tessier *et al.*, 1993). La majorité des ions ne traversent les membranes plasmatiques hydrophobes que grâce à un ligand transporteur. Une fois dans la cellule, le métal sera capté par un autre ligand afin de prévenir sa diffusion vers l'extérieur. Ces différents ligands constituent un système de « piégeage cinétique » dont l'efficacité dépend de l'importance de leur synthèse et de la force de liaison avec le métal (Simkiss *et al.*, 1982; Simkiss et Taylor, 1995). Le transport dans la cellule et dans les organes de stockage se fait par déplacement, par affinités successives

(jusqu'au puits cinétique ou jusqu'à l'excrétion). La vitesse d'assimilation sera fonction de la réaction la plus lente (réaction limitante), qui est souvent le transfert intracellulaire. Ainsi, le modèle de l'ion libre (FIAM, Free Ion Activity Model) traduit l'interaction d'un métal (MeZ^+) chez un organisme en trois étapes successives: advection/diffusion du métal à l'équilibre dans la solution « baignant » l'interface entre la membrane biologique et le milieu d'exposition (1), réaction de complexation avec un site de surface (2), transport à travers la membrane (3).

La prise en compte d'hypothèses supplémentaires (modèles dérivés du modèle de l'ion libre comme le modèle du ligand biologique BLM- ou la théorie du récepteur biologique BRT) permet de prendre en compte le fait que la biodisponibilité du métal décroît selon deux processus: i) par diminution de l'activité de l'ion libre en solution induisant une diminution de la fixation de métal sur les sites biologiques récepteurs ; ii) par augmentation de la concentration en ions compétiteurs et donc en diminuant la quantité de métal lié aux sites récepteurs.

Limites d'application du modèle de l'ion libre

Une augmentation importante de la toxicité de certains métaux (Cd, Zn) en présence de métabolites de poids moléculaire faible (ex. le citrate), a été identifiée, ainsi que le mécanisme responsable de cette toxicité accrue (prise en charge "accidentelle"; "piggy-back" transport) (Campbell, 1995; Errecalde *et al.*, 1998).

De plus, la découverte de l'implication de complexes de surface ternaires ("mixed-ligand" ou "ternary" surface complexes) dans la réponse biologique à l'aluminium constitue une exception plutôt subtile au modèle de l'ion libre, mais il est potentiellement lourd de conséquences en écotoxicologie. En effet, s'il peut être généralisé à des métaux autres que l'Al, on ne pourra plus prétendre pouvoir prédire la réponse biologique à un métal en fonction uniquement de l'activité de l'ion métallique libre (Wilkinson *et al.*, 1990; Wilkinson *et al.*, 1993).

Aussi, le modèle de l'ion libre ne tient pas compte du rôle tensioactif de la matière organique dissoute naturelle. La matière organique naturelle des eaux naturelles peut se concentrer non seulement à des surfaces inorganiques (ex. argiles, oxydes de fer), mais également à des surfaces d'organismes vivants (ex. surfaces cellulaires). Le premier phénomène est reconnu depuis plus de 15 ans, mais le second, l'interaction des acides humiques et fulviques naturels avec des surfaces cellulaires, n'a pas été apprécié (Parent *et al.*, 1996; Campbell *et al.*, 1997; Roy et Campbell, 1997). Cette dernière interaction pourrait avoir

des conséquences importantes en écologie et toxicologie aquatiques (ex. une protection accrue vis-à vis des métaux toxiques).

Enfin, le potentiel de la métallothionéine a été évalué comme biomarqueur d'exposition à des métaux toxiques, notamment pour le Cd, et comme biomarqueur d'effets délétères provoqués par ces métaux.

Réalisées sur un mollusque d'eau douce choisi comme organisme biosentinelle prometteur, ces recherches montrent que la répartition subcellulaire des métaux est perturbée chez les animaux vivant dans les milieux les plus contaminés (Couillard *et al.*, 1993; Couillard *et al.*, 1995; Couillard *et al.*, 1995; Wang *et al.*, 1999). Ce signal biochimique pourrait s'avérer utile comme biomarqueur d'effets.

Capture des métaux associés aux particules

Les particules présentes dans les eaux naturelles peuvent être inorganiques ou organiques et les métaux se lient avec chacune de ces fractions par mécanismes variés. La capture directe des métaux à partir d'une particule nécessite toujours l'ingestion de celle-ci et son piégeage à partir du tractus alimentaire. D'autres cheminement ne nécessitant pas l'ingestion existent, comme la pinocytose dans les branchies (Phillips et Rainbow, 1994). Les processus de digestion qui relâchent les éléments de la particule matrice sont toujours nécessaires après l'entrée des métaux dans le tractus alimentaire. En effet, la biodisponibilité des métaux ingérés dans la nourriture solide dépend des processus de digestion du consommateur et de la concentration et nature chimique du métal dans la nourriture. Ceux-ci varient beaucoup selon le pH digestif et selon l'activité des enzymes digestives en relation avec les substrats présents dans la nourriture.

3. Mécanisme d'excrétion des métaux

Parallèlement aux étapes de pénétration et de répartition des contaminants au sein de l'organisme, de nombreux mécanismes physiologiques et biochimiques contribuent à les éliminer. Tous les organismes aquatiques piègent des métaux en quantités importantes mais pour beaucoup d'espèces, l'excrétion des métaux accumulés n'est pas négligeable. Les quatre processus principaux sont: la défécation, la perte *via* la surface perméable, la désorption passive et les granules d'expulsion (Phillips et Rainbow, 1994).

L'organe d'excrétion des métaux est le rein. Les métaux stockés dans les granules peuvent être perdus à travers le tractus alimentaire sous forme de fèces (Rainbow, 1990; Wang et Fisher, 1997). L'égestion par les fèces est le processus dominant pour la décontamination métallique (Simkiss *et al.*, 1982; Wang *et al.*, 1995). Ces métaux présents dans les lysosomes ou les sphérocristaux sont excrétés par exocytose du contenu vacuolaire,

par épanchement de podocytes rénaux ou encore par diapédèse de granules *in toto* dans le tractus urinaire. A cette voie principale *via* le rein s'ajoute la voie trans-tégumentaire, par synthèse du byssus ou de la coquille ou encore par les gamètes lors de la ponte (Cossa et Lassus, 1989; Wang et Fisher, 1998b). Certains de ces mécanismes d'excrétion ont un caractère nettement épisodique, ce qui est susceptible d'amplifier les variations temporelles des concentrations en métaux chez les bivalves.

4. Mécanisme de stockage des métaux (organotropisme et amplification)

Après la capture et l'excrétion des métaux, le troisième facteur déterminant l'accumulation des éléments traces est la séquestration des métaux absorbés dans les tissus. Plusieurs mécanismes existent incluant les piégeages des métaux et la séquestration d'éléments dans des granules ou dépôts insolubles qui peuvent être ou non associés à des lysosomes (George *et al.*, 1978; George, 1980; Amiard-Triquet et Caurant, 1994; Phillips et Rainbow, 1994). Après passage transmembranaire, les métaux se retrouvent dans l'hémolymphde des bivalves associés aux protéines circulantes et aux hématocytes. La présence du métal dans la phase dissoute traduit son absorption sous forme dissoute avec ou sans médiateur. Sa présence dans les éléments figurés résulte de la phagocytose de vésicules formées lors de l'absorption du métal particulaire par pinocytose et/ou de la phagocytose d'agrégats protéiniques riches en cations divalents (George, 1980).

Le cas des granules a été bien étudié en particulier par Martoja et Martoja (1982) qui les considère comme des sites d'accumulation pour les déchets métalliques de différents processus physiologiques, formés par la précipitation des métaux en phosphate, carbonate et sulfure (Martoja et Martoja, 1978; Martoja et Martoja, 1982).

Organotropisme

Après avoir franchi les structures biologiques, les contaminants, sous forme libre ou complexée, accèdent aux compartiments internes de l'organisme. Les processus d'accumulation dans les tissus sont extrêmement complexes. De nombreux facteurs vont intervenir tels que la stabilité des liaisons du produit chimique considéré avec les constituants sanguins, la vascularisation des organes, la structure et les propriétés des nombreuses barrières cellulaires (parois capillaires, membranes plasmiques, etc.), la densité et l'accessibilité des sites potentiels de fixation ou le turn-over des structures tissulaires (Maury et Engrand, 1986). La répartition du contaminant dans les différents organes, pour des conditions précises d'exposition, révèle une « typologie » plus ou moins spécifique, dont l'analyse fine permet d'expliquer, par exemple, les tendances d'évolution des phénomènes au niveau de l'organisme entier (Ribeyre et Boudou, 1980; Boudou, 1982). Les mollusques

accumulent principalement dans deux organes: l'hepatopancreas et le rein. Ces deux organes sont des sites d'accumulation de phosphates de Ca, Sr et Mg ou de protéines de la famille des métalloprotéines pour lesquelles les éléments des groupes IB et IIB ont beaucoup d'affinité.

Les métallothionéines

Les métallothionéines sont des protéines solubles trouvées dans le cytosol ([Cherian et Goyer, 1978](#)). Elles ont un taux de renouvellement rapide dans les tissus et peuvent être accumulées en grandes quantités dans les lysosomes tertiaires. Ces lysosomes sont des vésicules membranaires à temps de vie biologique variable et sont reconnus dans les tissus sous forme de granules riches en métaux. La séquestration des éléments traces accumulés est d'une importance majeure dans le mécanisme de détoxication. Ces métalloprotéines riches en groupes sulphydrils fixent principalement le zinc, le cuivre, le cadmium et le mercure ([Bouquegneaux et Noël-Lambot, 1978; Kohler et Riisgard, 1982; Depledge et Rainbow, 1990](#)).

5. Bioaccumulation et bioamplification dans les réseaux trophiques

Des études menées « *in situ* » ont révélé une augmentation des concentrations de certains polluants, au fur et à mesure des différents maillons de la chaîne trophique: la bioamplification. Le prédateur concentre une substance (ou un élément) à un niveau supérieur à celui où il se trouve dans sa proie.

Cette amplification a été constatée pour plusieurs contaminants organiques et dans le cas des métaux, pour la forme méthylée du mercure ([Fowler, 1982](#)). Quasi-unaniment reconnu par les scientifiques pour le mercure, plus particulièrement pour les dérivés organiques, ce concept est très discuté pour les autres contaminants métalliques, voire contesté. Pour [Ramade \(1977\)](#), la rémanence d'un contaminant associé à des transferts cumulatifs « proies contaminées - prédateurs » est à l'origine de ce processus. Au contraire, une dilution entre les échelons primaires et secondaires a été montrée à plusieurs reprises. La bioamplification des contaminants au sein des structures biocénotiques ne peut être abordée par une approche mono-factorielle. Ce processus est lié à une conjonction de facteurs favorables ([Boudou, 1982](#)): concentration du contaminant dans le milieu, stabilité des conditions, aptitude du contaminant à franchir les barrières biologiques, rémanence de la molécule à l'égard des mécanismes de dégradation (abiotiques et biotiques), transferts trophiques, types de réseaux alimentaires, durée de vie, etc. En fait, la bioamplification est due à une intégration de l'ensemble de la structure biologique des écosystèmes (réseaux alimentaires).

5.1.Bioaccumulation du cadmium

Dans les premiers temps de la cinétique de bioaccumulation, la pénétration du cadmium dans les cellules est linéaire en fonction du temps et directement proportionnelle à sa concentration dans l'eau (George *et al.*, 1978; Kohler et Riisgard, 1982; Poulsen *et al.*, 1982; Chong et Wang, 2001). Elle n'est pas affectée par la température.

Borchardt (1983 et 1985), en marquant les algues avec du Cd109 et l'eau avec du Cd115 met en évidence la prépondérance de la voie dissoute par rapport à la voie particulaire et montre que seulement 1% de la quantité de Cd dans la chair de moules a pour origine la voie particulaire. La principale entrée se fait donc par l'eau à travers les surfaces externes, principalement par les branchies qui représentent une surface considérable (Carpene et George, 1981; Borchardt, 1983; Borchardt, 1985; Riisgard *et al.*, 1987). En parallèle, il montre que l'absorption de Cd en solution est en corrélation linéaire avec la quantité de nourriture ingérée. Les branchies sont donc l'organe d'entrée principal.

La biodisponibilité des espèces de cadmium dissous dépend des mécanismes de capture. La diffusion passive ou facilitée *via* les canaux à Ca²⁺ à travers la bicoche lipidique semble être le processus de capture le plus fréquent (Simkiss et Taylor, 1995). Les formes ionisées avec des chlorures et des hydroxydes doivent être considérées principalement.

Après un passage transmembranaire médiatisé, le cadmium se retrouve associé aux protéines circulantes et aux hématocytes. Les bivalves accumulent le cadmium principalement dans l'hépatopancreas et dans le rein sous forme de dépôts dans les lysosomes. La voie majeure d'excrétion se fait *via* le rein (Cossa et Lassus, 1989), mécanisme d'immobilisation qui implique principalement la forme métallothionène et leur association dans les lysosomes (Serafim *et al.*, 2002).

Enfin, il est à noter qu'aucune donnée convaincante ne permet de constater une biomagnification du cadmium dans les réseaux trophiques. Au contraire, il semble qu'une diminution des concentrations avec l'augmentation du niveau trophique soit la situation la plus couramment observée (Amiard-Triquet *et al.*, 1982; Amiard-Triquet *et al.*, 1993).

5.2.Bioaccumulation du plomb

Dans les premiers temps de la cinétique de bioaccumulation, la pénétration du plomb dans les cellules est linéaire en fonction du temps et directement proportionnelle à sa concentration dans l'eau. L'excrétion du plomb est quant à elle proportionnelle à la concentration interne dans l'organisme (Schulz-Baldes, 1974). Il est bien connu sous quelles formes (ions, agents chelatants, complexes) le plomb est absorbé. Cependant, il est clair que

la forme dissoute du contaminant dans le milieu est primordiale et influence le taux de capture ([Mikac et al., 1996](#)).

Comme pour le cadmium, la pénétration du plomb dans les cellules est le résultat principalement du transport sous forme dissoute Pb^{2+} , bien que l'endocytose dans l'épithélium branchial ait été évoquée pour ce métal ([Coombs et George, 1978; Wang et Fisher, 1997a](#)). Le taux d'absorption du plomb est linéaire au cours du temps et fonction directe de la concentration en plomb dans le milieu ([Schulz-Baldes, 1974; Schulz-Baldes, 1977; Borgmann et al., 1993; Riget et al., 1997; Boisson et al., 1998](#)). Incorporés dans l'organisme, les ions Pb^{2+} entrent en compétition avec les ions Ca^{2+} . Les métallothionéines n'ont pas de rôle dans la séquestration et la détoxication du plomb ([Cossa et al., 1993](#)). Malgré l'existence de formes organiques du plomb en milieu marin, en particulier des composés méthylés, il n'y a pas d'évidence de bioamplification décrite dans la littérature ([Riisgard et Hansen, 1990; Fisher et Reinfelder, 1995; Zaranko et al., 1997](#)).

5.3.Bioaccumulation du cuivre et du zinc

Le cuivre et le zinc sont des métaux essentiels indispensables à la vie. Ils sont nécessaires en quantité généralement faible, à la vie d'un grand nombre d'organismes. L'accumulation du cuivre et du zinc est donc régulée pour de nombreuses espèces aquatiques, par exemple chez les mollusques, les crustacés, les poissons et les mammifères ([Chong et Wang, 2001](#)). Les entrées de cuivre et de zinc se font préférentiellement sous forme ionique (Cu^{2+} et Zn^{2+}) par des protéines de transport membranaire ([Sunda et Huntsman, 1998](#)). Les bivalves accumulent ces deux métaux principalement dans l'hépatopancreas, les gonades et les branchies ([Adami et al., 2002](#)).

6. Interactions multi-factorielles

La compréhension des mécanismes de transfert métallique et d'accumulation à différents niveaux de la pyramide trophique requiert des études concomitantes d'approches écologiques (production primaire, cinétique de sédimentation et de transport en matière organique en suspension), toxicologiques (biodisponibilité des métaux et bioaccumulation) et physiologiques (activité nutritive, ingestion et excrétion).

La recherche des phénomènes physico-chimiques au sein du système concerné permet une description des facteurs environnementaux de base qui gouvernent tant les processus physiologiques de l'organisme indicateur que la chimie du milieu. Les avancées de la physiologie animale permettent de comprendre les processus biologiques internes impliqués dans les transferts métalliques. La totalité de ces paramètres doit être prise en compte.

Trois groupes de facteurs, intimement liés, vont intervenir dans ces interactions entre les composés métalliques et les barrières biologiques:

- les caractéristiques physico-chimiques du milieu: température, pH, concentration en chlorures et en MES, nature et abondance des ligands organiques et inorganiques dans les phases dissoutes et particulaires, condition trophique, etc.

- les propriétés chimiques du contaminant qui correspondent à la nature du contaminant, aux formes chimiques dans le biotope (colonne d'eau, sédiments), à leur spéciation et biodisponibilité, à leur concentration, etc.

- les facteurs biologiques de l'organisme notamment les propriétés structurales et les fonctions des barrières biologiques: surface d'échange et accessibilité des sites de fixation, processus de transport et capacité d'absorption, mais aussi à une échelle plus importante les différentes étapes du cycle biologique tels que la croissance, la reproduction, la nutrition, l'excrétion, etc. L'étude de la contamination se heurte en permanence à cette extrême complexité des mécanismes mis en jeu, due à la diversité des facteurs écologiques (abiotiques et biotiques) et des caractéristiques de la contamination, à leurs variations et à leurs interactions dans l'espace et le temps. De plus, des compétitions entre ces différents facteurs peuvent exercer des effets synergiques ou antagonistes sur les voies de contamination.

V. Les métallothionéines

Les métallothionéines (MTs) appartiennent au groupe des biomarqueurs qui contribuent à limiter la toxicité des xénobiotiques. Historiquement, les premières MTs ont été isolées par [Margoshes et Vallee \(1957\)](#) dans le cortex rénal des chevaux. Les MTs sont des protéines stables à la chaleur, de faible poids moléculaire (6-7 KD chez les mammifères), ne possèdent aucun acide aminé aromatique, ni histidine, ni méthionine, mais elles ont, en revanche, une exceptionnelle richesse en résidus de cystéine (20 à 30% de la totalité des acides aminés) et de ce fait une importante capacité de liaison des métaux ([Kagi et Vallee, 1960](#)).

1. Classification et Nomenclature

Le critère retenu pour classer les différentes MTs est l'alignement des séquences Cys-Cys, Cys-X-Cys et Cys-X-Y-Cys, où X et Y représentent un acide aminé autre que la cystéine. Selon ce critère, trois classes de MTs ont été définies ([Fowler et al. 1987](#)). La classe I regroupe l'ensemble des MTs découvertes chez les vertébrés ainsi que celles appartenant à d'autre phyla mais qui présentent un alignement des résidus de cystéines très proche des MTs des vertébrés. La classe II comprend des protéines qui présentent plusieurs propriétés

communes avec les MTs mais pas d'homologie avec les MTs de mammifères. Parmi les MTs de la classe II figurent les MTs de drosophiles, d'oursins, de nématodes, de champignons et de cyanobactéries. La classe III regroupe des polypeptides qui sont très différents des MTs des deux premières classes. Ils sont organisés en motifs ayant pour structure (Glu-Cys) n-Gly où n varie de deux à dix.

2. Propriétés biochimiques

2.1. Composition en acides aminés

La caractéristique principale des MTs est leur forte teneur en résidus cystéines présents dans des motifs Cys-X-Cys décrits pour la première fois par [Kojima et al \(1976\)](#). Ce motif s'est révélé présent dans l'ensemble des MTs qui ont été décrites jusqu'à présent. La composition en acides aminés des MTs varie selon les espèces, la plupart des vertébrés présente des MTs contenant entre 60 et 63 résidus d'acides aminés ([Palmiter et al. 1992](#)). Seulement 25 acides aminés composant la MT du champignon filamenteux *Neurospora crassa* ([Munger et al. 1985](#)) alors que chez les mollusques bivalves les MTs présentent de 71 à 75 résidus d'acides aminés ([Mackay et al. 1993](#)).

2.2. Fixation des ions métalliques

La capacité des MTs à se lier à certains métaux par l'intermédiaire des groupements thiol, a été étudiée essentiellement chez les mammifères ([Braun et al. 1992](#)), quelques invertébrés tels que les crustacés ([Zhu et al. 1994](#)) et les échinodermes ([Riek et al, 1999](#)). La fixation des métaux s'effectue selon la valence des ions métalliques qui ne possèdent pas tous la même affinité pour les sites ligands des MTs, ainsi Hg et Ag ont une affinité plus grande que celle du Cu, elle-même 100 fois plus élevée que celle du Cd, elle-même 1000 fois plus forte que celle du Zn ([Cosson, 1992](#)).

3. Structure primaire et spatiale

Chez les mammifères, qui constituent le groupe le plus étudié, les MTs se présentent sous l'aspect d'une monocouche peptidique entourant deux noyaux métalliques ([Furey et al. 1987](#)). La disposition des résidus de cystéines dans la chaîne polypeptidique permet de distinguer deux domaines au niveau de la molécule. Le premier domaine, appelé domaine b, se caractérise par la présence de 9 résidus de cystéines et porte la terminaison amine. Ce domaine b est impliqué dans des liaisons avec 3 ions métalliques et fixe avec une plus forte affinité le cuivre et l'argent. Le deuxième domaine, appelé domaine a, comporte 11 résidus de cystéines dont certains forment des motifs Cys-Cys et se termine par la fonction carboxyle. Les deux domaines ne fixent pas le même nombre d'ions (4 pour le domaine a et 3 pour le domaine b), ne se remplissent pas simultanément et présentent des affinités respectives

différentes vis-à-vis des métaux. Le zinc et le cadmium se lient plus fermement au domaine a qu'au domaine b, alors que le cuivre et l'argent présentent une affinité inverse. Cependant, bien que fermement liés à l'apoprotéine, ces ions peuvent être déplacés de leur site de fixation par d'autres ions en solution. Ces derniers faciliteraient le relargage des métaux chélatisés en agissant au niveau des liaisons cystéinique des sites de fixation (Otvos et al. 1993). Cette propriété expliquerait la facilité avec laquelle les MTs peuvent échanger leur zinc avec d'autres ligands intracellulaires. En ce qui concerne la cinétique de cet échange, il a été montré que le domaine a était beaucoup plus réactif, bien qu'il lie plus fermement le zinc que le domaine b. De nombreuses études ont été menées pour mieux comprendre la sélectivité du mode de remplissage des deux domaines ou les échanges intermétalliques, en utilisant soit directement des MTs saturées en Zn (Zn7-MT) ou en cuivre (Cu12-MT), soit leurs analogues respectifs (109Cd7 et 111Ag12-MT). Elles ont mis en évidence que la structure des deux domaines est parfaitement adaptée à la fixation simultanée, mais séparée spatialement, du cuivre et du zinc, et que cette fixation particulière du cuivre n'interfère pas avec la fonction essentielle des MTs, c'est-à-dire, le transfert rapide de zinc aux autres ligands intracellulaires (Otvos et al. 1993).

Globalement, la métallothionéine mammalienne se présente sous la forme d'un haltère. Il n'y a aucun contact entre les deux domaines sinon la liaison entre deux lysines (30 et 31). L'indépendance des ensembles explique l'indépendance des modes de remplissage des deux domaines et leur différence d'affinité pour les métaux. L'absence des liaisons croisées multiples entre les deux domaines autorise une plus grande souplesse de la molécule lui permettant la fixation d'ions de tailles différentes sans grande perturbation stérique (Lagadic et al. 1998).

4. Rôle des métallothionéines

4.1.L'homéostasie du zinc et du cuivre

Kojima et Kagi (1978) ont montré que les MTs de mammifères jouent un rôle de réservoir de métaux intracellulaires capables de moduler l'homéostasie et de transférer les éléments essentiels (zinc et cuivre) à partir de et vers les métalloenzymes. Différentes études ont montré la capacité des MTs à donner ou à fixer le Zn au cours des interactions avec les Zn-métalloenzymes (Jacob et al. 1998 ; Jiang et al. 1998 ; Maret et Vallee, 1998).

Pour avoir une signification physiologique, le complexe MT-Zn doit avoir la capacité d'échange avec les autres structures Zn dépendantes, les MTs peuvent avoir le rôle de chaperonne pour le Zn (Suhy et al. 1999). Des cellules dépourvues d'un apport extracellulaire de Zn répondent avec un transfert de Zn des MTs vers les autres molécules (Krezoki et al.

1988), ce qui reflète le rôle donneur de Zn des MT. Deux modèles d'échange de Zn entre les MT et les autres Zn chélateurs ont été avancés : un échange direct entre les 2 types de molécules ou un transfert qui se fait avec la libération des ions Zn.

4.2.Détoxication des métaux

Les métallothionéines induites par le cadmium (Piscator, 1964) jouent un rôle fondamental dans la défense contre la toxicité de ce métal. En effet, les MTs agissent comme des agents de séquestration des métaux toxiques afin d'empêcher leur fixation sur les sites actifs d'autres protéines provoquant alors leur dénaturation ou leur inactivation. Le mécanisme de détoxication résulterait d'échanges entre les cations toxiques et le zinc sur la protéine.

Des études ultérieures ont montré que la perturbation du gène MT chez le rat et la levure élimine l'apparition du phénotype metal-résistant (Thiele et al. 1986 ; Michalska et choo, 1993 ; Masters et al. 1994). Une insertion du gène MT humain à la levure dépourvue de gène MT, confère à cette dernière une résistance contre le cuivre (Thiele et al. 1986).

4.3.Protection contre le stress oxydant

Il semble que les MTs soient impliquées dans la protection contre le stress oxydant (Fabisiak et al. 1999). Viarengo et ses collaborateurs (1999) ont montré que les moules (*M. edulis*) intoxiquées par le cadmium résistent mieux au stress oxydant que celles qui sont non exposées. Ces auteurs suggèrent que les métallothionéines sont capables de protéger les cellules vis-à-vis du stress oxydant. Si dans certaines conditions l'induction des MTs permet de séquestrer les radicaux hydroxyles (OH) et superoxydes (O₂⁻) et, de protéger contre la peroxydation lipidique, l'importance relative des MTs comparée à d'autres systèmes de défense (glutathion et superoxyde dismutase) n'est pas élucidée (Andrews, 2000).

5. Mécanisme d'induction des métallothionéines

La synthèse des MTs est inductible par différents facteurs dont les métaux lourds sont les plus répandus. Cette induction est d'autant plus forte que la concentration intracellulaire en Zn²⁺ ou en Cd²⁺ est importante (Amiard et Cosson, 1997). Pour connaître le mécanisme d'induction des MTs par les métaux, différentes études sur la localisation des MTs au niveau de la cellule ont été réalisées (Banerjee et al. 1982). Ces études ont montré la présence de MTs non seulement au niveau du cytoplasme mais aussi au niveau du noyau. Chez les individus témoins, les MTs sont présentes au niveau du cytoplasme d'une façon exclusive. Après une injection de métaux les MTs se trouvent aussi bien au niveau du cytoplasme qu'au niveau du noyau. Ce qui suggère que la faible quantité en thionéines présente dans le cytoplasme des cellules des individus témoins peut inhiber la traduction des ARNm en MTs.

Après injection de métaux lourds, les thionéines cytoplasmiques se lient aux métaux et vont être transportées au niveau du noyau où la transcription en ARNm codant pour la MT serait importante. Par conséquent, une traduction des ARNm et une synthèse active des thionéines. Dans les cas où l'apport en métaux s'arrête, les thioneines cytoplasmiques libres vont s'accumuler causant l'inactivation des ARNm (Cherian et Nordberg, 1983).

6. Dégradation des métallothionéines

Plusieurs études ont montré que les lysosomes étaient impliqués dans la dégradation des métallothionéines mais le rôle du cytosol ne peut être exclu (Steinebach et Wolterbeek, 1992). Curtis et ses collaborateurs (1994) ont montré une dégradation plus importante au niveau des lysosomes qu'au niveau du cytosol, ceci est probablement du au pH qui est nettement plus faible au niveau des lysosomes par rapport à celui du cytoplasme et au grand nombre d'enzymes tel que les cathepsines présentes dans les lysosomes. En présence de ces protéases et du pH acide, les métallothionéines ont tendance à libérer les ions métalliques qui les protégeaient contre la dégradation (Curtis et al. 1994). Cette protection varie en fonction de la nature du métal associé. En effet, la demi-vie biologique pour la Cd-thionéine et la Hg thionéine est beaucoup plus longue que pour la Zn-thionéine. La Cu-MT résiste à la dégradation lysosomale et des agrégats insolubles de Cu-MT se forment dans les lysosomes (Amiard et Cosson, 1997). Les métaux accumulés au niveau du système lysosomal sont stockés sous forme non toxique et excrétés par des vésicules d'exocytose contenant des granules où sont précipités les métaux (Viarengo et al. 1981 ; 1989).

7. Mécanismes moléculaires de l'induction

7.1.Les promoteurs des gènes MTs

La régulation de l'activité des gènes de métallothionéines est complexe. Elle est caractérisée par la présence dans la région située en amont du point d'initiation de la transcription de plusieurs éléments constitutifs capables d'initier de manière indépendante l'activation de la transcription du gène. Les séquences impliquées dans la régulation des gènes de métallothionéines sous l'effet d'ions métalliques sont appelées MRE pour « Metal Responsive Element » (Stuart et al. 1984 ; Carter et al. 1984). Ces séquences sont souvent localisées dans les 150 premières bases en amont du site de transcription (Fernando et Andrews, 1989). L'alignement des différents MRE isolés chez plusieurs organismes a permis de dégager une séquence consensus de huit nucléotides. CTCTGCRCNCGGCCC où R représente A ou G et N représente l'un des quatre nucléotides (Stuart et al. 1985 ; Serfling et al. 1985). Les séquences régulatrices des gènes de métallothionéines contiennent également une région de type « TATA Box » (TATAAAA) et une région de type « GC box »

(GGGGCGGGG) responsables de la fixation de l'ARN polymérase (Breathnach et al. 1981). En plus des MRE, les promoteurs des gènes de MTs possèdent d'autres sites de fixation de nombreux autres facteurs de transcription comme Nrf2, protéine activée par le stress oxydatif et dont l'interaction avec les ARE « Antioxydant Responsive Element » assure l'induction de protéines cytoprotectives comme la NAD(P)H: quinone oxidoreductase (NQO1) et de protéines anti oxydantes comme la heme oxygenase 1 (HO1) (He et al. 2008).

7.2. Contrôle transcriptionnel

L'existence de protéines capables de se lier aux MREs des gènes des MTs a été décrite. Ces protéines appelées MTF-1 (Metal transcription Factor) sont caractérisées par la présence de six doigts à zinc et sont indispensables à l'expression basale et jouent un rôle médiateur dans la réponse au stress métallique (Palmiter, 1994). L'activité de MTF-1 pourrait être régulée par un facteur d'inhibition sensible au Zn appelé Metal Transcription Inhibitor (MTI). En l'absence de zinc, le facteur MTF-1 est complexé avec MTI et en présence de zinc MTI se dissocie de MTF-1 ce qui permet à ce dernier d'interagir avec les séquences MRE du promoteur de MT et d'activer la transcription (Palmiter, 1994 ; Roesijadi, 1996). Le zinc intracellulaire est présent dans de nombreuses métalloprotéines.

Après une exposition à d'autres métaux tels que le cuivre, le cadmium et le mercure, qui ont une plus grande affinité pour ces ligands, le zinc va être remplacé par ces métaux et libéré pour être lié à l'inhibiteur. Le facteur MTF-1 actif permet alors l'expression des gènes de MT (Palmiter, 1994).

8. Les métallothionéines comme biomarqueur

L'induction de MTs est une réponse biologique à une exposition métallique dans l'environnement, cette caractéristique est typique de biomarqueurs tels qu'ils sont définis par Lagadic et ses collaborateurs (1997) : un biomarqueur est une modification d'un paramètre 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.

La synthèse de MTs suite à une contamination par les métaux (Ag, Cd, Cu, Hg etc) a été démontrée chez plusieurs espèces (annelides, mollusques, crustacés, les poissons etc), ce qui suggère la possibilité d'utiliser les MTs comme biomarqueur d'exposition métallique (Amiard et al. 2006). En effet, cette induction a été mise en évidence chez plusieurs mollusques bivalves exposés à une contamination métallique soit dans leur milieu naturel, soit au laboratoire. L'utilisation de MTs comme biomarqueur permet l'évaluation de l'état de «santé» des écosystèmes en permettant la détection de façon précoce les modifications biologiques qui pourraient intervenir à long terme (Hamza-Chaffai et al. 1998).

Chapitre II : Croissance et reproduction de la moule *Perna perna* du littoral extrême nord est algérien

INTRODUCTION

I. INTRODUCTION :

Chez la moule, la croissance des individus est un facteur biologique important à considérer dans tout élevage mytilicole. Cette croissance est définie d'une manière générale comme un changement, chez l'individu, de la forme du corps, de la biomasse ou du volume. Elle est particulièrement tributaire, chez les moules, des conditions environnementales du milieu dans lequel elles mènent une vie sédentaire, aussitôt après la fixation des larves planctoniques. Les individus répondent à ces conditions du milieu, mêmes locales au sein d'un même plan d'eau, par des adaptations aussi bien morphologiques que physiologiques. De ce fait, l'étude de la biologie de ces bivalves est utile à plus d'un titre du fait qu'elle représente le reflet d'une réponse plus globale de l'organisme et rendrait mieux compte des effets de la contamination sur l'organisme et potentiellement sur la population ([Amiard et Amiard-Triquet, 2008](#)).

Environnement optimal pour la gamétogénèse et la ponte, fécondité, nombre de pontes, vieillissement des reproducteurs, relations entre conditionnement et caractéristiques des parents et succès de l'élevage, tels sont les principaux sujets auxquels s'intéressent les éclosseries de bivalves à chaque fois que la reproduction d'une espèce doit être assurée. En effet, largement cultivés en mer, ces bivalves représentent un matériel expérimental de choix.

Dans le domaine de l'aquaculture comme dans celui de la pêche, les travaux relatifs à la reproduction visent essentiellement à répondre aux deux questions suivantes :

1. Dans quelles conditions générales la reproduction d'une espèce est-elle observée ? Quelles sont les performances en termes de fécondité ?
2. Dans quelle mesure la phase gamétogénétique conditionne-t-elle la survie ou la croissance des jeunes ?

La majorité des expériences porte sur la première question car, chronologiquement il n'est, bien sûr, pas possible d'en faire l'impasse. Aborder le second point est aussi beaucoup plus complexe, il faut le reconnaître: toute expérience menée dans ce sens doit, en effet, intégrer, d'une part, l'action des divers paramètres agissant sur les caractéristiques des géniteurs, la gamétogénèse et la ponte, et d'autre part, celle des facteurs susceptibles de modifier la survie des larves. Par conséquent, qu'il s'agisse des poissons, des crustacés ou des mollusques, peu de publications font état des relations Reproduction-Elevage de larves ou de juvéniles. On constate pourtant que la reproduction d'une espèce demeure avec l'élevage

larvaire un des principaux freins à l'interprétation des fluctuations de recrutement en mer ou au développement des élevages pour lesquels l'écloserie est indispensable. Les relations entre ces deux phases d'élevage soulèvent donc des interrogations auxquelles il faut répondre en partie par l'expérimentation en laboratoire.

C'est dans le cadre de la constitution d'une base de données scientifiques sur la croissance et la reproduction des moules du littoral nord est algérien ainsi que la connaissance de l'influence des conditions locales des facteurs du milieu sur ces deux processus biologiques que se situe le présent travail. Il a pour but d'établir les relations de croissance taille/âge et taille/poids des individus dans différentes moulières naturelles et d'évaluer ainsi les potentialités de croissance et de reproduction de ces bivalves.

Matériel et méthode

II. MATERIEL ET METHODES

1. Zones d'étude :

1.1.Le golfe d'Annaba :

Le golfe d'Annaba est limité à l'Est par le Cap Rosa ($8^{\circ} 14' 25.001''$ E $36^{\circ} 56' 53.002''$ N) et à l'Ouest par le Cap de Garde ($7^{\circ} 47' 17.002''$ E et $36^{\circ} 58' 0.998''$ N). La distance séparant les deux caps est d'environ 21.5 milles (40 Km) (fig. 1).

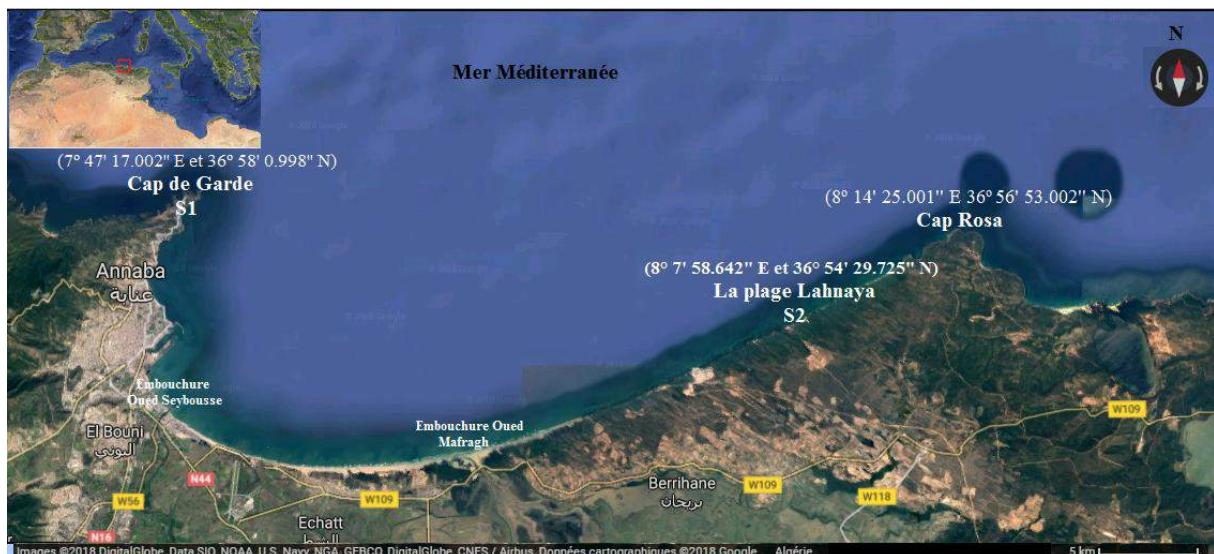


Figure 1 : situation géographique du golfe d'Annaba et localisation des sites de prélèvements (Google Maps, 2018 modifiée)

La profondeur maximale est de 65 m. Le plateau continental est accidenté et nettement restreint au nord du Cap de Garde (4.5 milles), puis s'élargit dans le golfe jusqu'à 1405 milles pour se rétrécir légèrement du côté du Cap Rosa ([Vaissiere et Fredj, 1963](#)).

Du point de vue sédimentologie, il débute par du sable fin auquel succède une chaîne d'herbiers de posidonies, installées sur des substrats rocheux qui se continuent par des vases terrigènes molles mêlées à du sable ou des débris coquilliers ([Maurin, 1961](#)).

Selon [Ghaiddalia et Bourgeois \(1961\)](#), la Méditerranée est une mer chaude où les écarts de la température entre les couches superficielles et les couches profondes sont relativement accentuées (jusqu'à moins de 400-500m). A cette profondeur la température se stabilise autour de 13°-14°C. Par ailleurs, [Ounissi et al., \(1998\)](#) rapportent que l'écart de la température, entre l'eau de surface et celle se trouvant à - 50 m, dépasse 4°C ; quant à la salinité, la différence entre l'eau de surface et celle des profondeurs n'excède pas 1‰.

Dans le golfe d'Annaba, il existe trois groupes de vents dominants: des vents de Nord-Ouest qui peuvent atteindre 9 nœuds et provoquer une hauteur de vague de l'ordre de 9 m ; des vents de Nord-Nord-Est, de 5 à 8 nœuds qui peuvent engendrer des tempêtes de courte durée ; Des vents d'Est, de 9 nœuds qui peuvent perturber la navigation et engendrer des avaries et des dégâts dans le port du fait de son ouverture orientée vers l'Est.

Le golfe d'Annaba reçoit des rejets de plusieurs industries installées sur le bassin versant de l'oued Seybouse en plus des rejets des produits phytosanitaires (FERTIAL) qui sont directement déversés dans le golfe ; Elle reçoit également les eaux usées urbaines drainées par l'oued Bedjima et d'autres effluents répartis tout le long du littoral (Fellah Rachid, Rizi Amor, Lever de l'Aurore...).

Les deux sites retenus dans le cadre de cette étude sont localisés au niveau du Cap de Garde (fig. 2) et de la plage Lehnaya (fig. 3).



Figure 2 : Situation géographique du site 1, Cap de Garde au niveau du golfe d'Annaba
(Google Maps, 2018 modifiée)



Figure 3 : Situation géographique du site Lehnaya au niveau du golfe Annaba (Google Maps, 2018 modifiée)

1.2.Le littoral d'El kala:

Le littoral d'El-Kala est situé à l'extrême Nord-Est de la côte algérienne; il s'étend du Cap Segleb ($8^{\circ} 36' 29.423''$ E $36^{\circ} 56' 27.053''$ N) à l'Est au cap Rosa à l'Ouest ($8^{\circ} 14' 25.001''$ E $36^{\circ} 56' 53.002''$ N); le plateau continental d'El-Kala est relativement étroit à l'Est et s'élargit à l'Ouest; les isobathes -20 et - 100 sont, en effet, situés à 7km et atteignent 30 km à l'Ouest (fig. 4).

Le littoral d'El kala est, selon [Manzella et la Violette \(1990\)](#), le siège d'intense transport de l'eau atlantique modifiée, coulant en surface vers l'Est et de l'eau levantine intermédiaire qui coule en profondeur vers l'Ouest ; le volume d'accumulation des eaux levantine intermédiaire et atlantique modifiée s'alterne durant les saisons; c'est, en effet, durant la période s'étalant de février à juin que le volume de l'eau levantine atteint son minimum pendant que celui de l'eau atlantique modifiée atteint son maximum.

Le littoral d'El-Kala reçoit très peu d'extrusions continentales en raison des faibles apports d'eau douce (rivières); toutefois, la lagune El Mellah évacue dans le littoral 180 millions de m^3 d'eau saumâtre d'une salinité comprise entre 25 et 35‰ ; de ce fait, ce plan d'eau, qui effectue des échanges hydrodynamiques avec le littoral, a tendance à fertiliser ce milieu en sels nutritifs tout en diminuant la salinité de la bande côtière ([Retima, 1998](#)).



Figure 4 : situation géographique du littoral d'El-Kala et localisation des sites de prélèvements (Google Maps, 2018 modifiée)

C'est à l'Est de la ville d'El-Kala et à l'Ouest de la plage de la Messida que se situe le premier site Aouinate (fig. 5).



Figure 5 : Situation géographique du site 1, l'Aouinate (Google Earth, 2018 modifiée).

Le deuxième site est localisé à l'Ouest de l'embouchure de la lagune El Mellah ; cette station est de ce fait sous l'influence des apports en eau saumâtre que le chenal draine lorsque les échanges se font dans le sens lagune – mer (fig. 6)



Figure 6 : Situation géographique du site 2 à la plage de l'embouchure d'El Mellah (Google Earth, 2018 modifiée).

Le troisième site d'étude se trouve du côté Est du canal de Messida qui représente l'exutoire d'un lac d'eau douce (le lac Tonga) vers la mer (fig. 7)



Figure 7 : Situation géographique du site 3 à l'est du canal Messida (Google Earth, 2018 modifiée).

NB : le choix des sites d'étude, dans le Golfe d'Annaba et le littoral d'El Kala, est basé sur leur accessibilité, la disponibilité du matériel biologique et aussi leur emplacement par rapport aux différents rejets et sources de pollution (rejets des Oueds et des zones industrielles).

2. Echantillonnage :

✚ Stratégie :

Pour la réalisation de cette étude nous avons effectué un échantillonnage aléatoire mensuel de janvier 2011 à janvier 2013 dans le golfe d'Annaba et de janvier 2011 à décembre 2011 dans le littoral d'El-Kala.

✚ Récolte et traitement des moules :

La récolte de la moule *P. perna* est faite d'une façon artisanale à la main à raison de 50 individus/site/mois dans le golfe d'Annaba et à raison de 30 individus/site/mois dans le littoral d'El-Kala du fait de la rareté du matériel biologique sauf pour le site de l'Aouinate.

Les moules sont transportées dans une glacière maintenue à basse température jusqu'au laboratoire où elles sont triées, nettoyées et débarrassées de leurs épibiontes. Ensuite, elles sont pesées et mesurées.

La mesure des paramètres linéaires est réalisée à l'aide d'un pied à coulisse à 1/20 mm de précision (fig. 8):

- La longueur totale (Lt) correspondant à la plus grande distance; séparant le bord antérieur du bord postérieur de la coquille;
- La largeur (La) qui va de la charnière dorsale au bord ventral;
- L'épaisseur maximale (Ep) qui est la largeur maximale de la convexité des deux valves réunies.



Figure 8 : Les différents paramètres linéaires mesurés

La pesée des moules a été effectuée à l'aide d'une balance de précision (KERN 440-33, précision 0.01gr) ; les paramètres pondéraux mesurés sont:

- Poids total (Pt): qui correspond au poids de la moule débarrassé de son épibiontes

- Poids de la chair (Ph): c'est le poids des parties molles de l'animal après les avoir détacher de la coquille et débarrasser de l'eau intervallaire subsistante ; l'ensemble de la masse viscérale fraîche égouttée est ensuite pesé.
- Poids sec de la chair (Psh) : il est obtenu après séchage de la masse molle à l'étuve pendant 24 heures à 100°C.
- Poids de la coquille fraîche (Pcoq) : correspond au poids de la coquille vide et égouttée.

Pour la réalisation de l'étude histologique des gonades nous avons prélevé, mensuellement et dans chaque site, les tissus ovariens de 5 à 6 moules de taille comprise entre 30 et 35 mm ; le tissu prélevé est conservé dans du Bouin alcoolique jusqu'à son traitement les jours qui suivent.

Mesure des paramètres physico-chimiques :

Les paramètres physico-chimiques étudiés sont : la température (Temp, T°C), la salinité (S‰, g/l), l'oxygène dissous (OD, mg/l), la matière en suspension (MES, mg/l) et la chlorophylle a (Chll-a, µg/l).

Les mesures de la température, la salinité et l'oxygène dissous ont été réalisés «*in situ*» mensuellement à l'aide de multiparamètres (Consort 535 pour le pH ; Radiomètre analytique (Pionneer 20) pour l'oxygène dissous et la température). Avant d'effectuer les mesures, l'appareil doit être calibré; L'utilisation de ces appareils consiste à : - Faire plonger la sonde dans l'eau ; - Attendre quelques secondes la stabilisation de l'affichage sur l'écran ; - Lire le résultat de la mesure sur l'écran avec son unité de mesure.

Le résultat affiché est reporté sur des fiches préalablement préparées. Dans le but d'éviter que les résultats ne soient erronés, les sondes sont rincées à l'eau distillée puis tamponnées avec du papier absorbant après chaque mesure et pour chaque échantillon.

Les prélèvements d'eau destinés à l'analyse de la chlorophylle a et à la matière en suspension seront effectués mensuellement durant la même période d'étude des moules, à l'aide d'une bouteille d'échantillonnage de 1,5 litres, conservées à l'abri de la lumière et à basse température dans une glacière.

La détermination de la matière en suspension dans l'eau a été réalisée par l'application de la méthode de pesée différentielle après filtration d'échantillon sur un filtre en fibre de verre WHATMAN GF/C 47µm de porosité. Le filtre est pesé avant et après filtration. La

différence de poids permet de connaître le poids sec total de la matière en suspension dans le volume filtré correspondant ([Aminot et Chaussepied, 1983](#)).

L'analyse des principaux pigments chlorophylliens (chlorophylles a, b, c et leurs phéopigments) et celle des caroténoïdes nécessite l'extraction. La chlorophylle « a » est facilement et rapidement transformée en phéophytine par acidification, ce qui entraîne une diminution de l'absorption alors qu'aucune modification n'intervient pour la phéophytine acidifiée. La différence d'absorbance avant et après acidification permet donc de déterminer la teneur en chlorophylle « a ». (Méthode monochromatique de [Lorenzen \(1967\)](#), solvant : acétone à 90%).

3. Croissance

3.1.Distribution des fréquences de taille :

Afin de déterminer la distribution des fréquences de taille par site, les moules récoltées et mesurées sont regroupées par classe de taille de 5 mm d'intervalle ; ceci a permis de déterminer le nombre d'individu de chaque sexe dans chaque classe de taille. Cette même distribution est utilisée pour l'étude des paramètres de croissance de [Von Bertallanfy \(1938\)](#).

3.2.Croissance linéaire:

Les paramètres de croissance ont été déterminés par le logiciel FISAT II qui est expliqué par [Gayanilo et al. \(1996\)](#). La longueur asymptotique L_∞ et le coefficient de croissance K de l'équation de [Von Bertalanffy \(1938\)](#) ont été estimés par le biais d'ELEFEN 1 ([Pauly et David 1981](#)).

Pour [Von Bertalanffy \(1938\)](#), la croissance est considérée comme étant l'action simultanée de facteurs anaboliques proportionnels à la surface et de facteurs cataboliques, proportionnels au niveau du volume du corps ; la loi de croissance linéaire s'exprime par la relation :

$$L_t = L_\infty (1 - e^{-K(t-t_0)})$$

L_t : longueur à l'instant t (mm);

L_∞ : longueur asymptotique (mm);

K : coefficient de croissance (an^{-1})

t_0 : âge que la moule aurait eu à la taille 0 (mm).

3.3.Croissance relative :

La relation d'allométrie qui permet d'interpréter les changements de la forme des moules en fonction de la taille est exprimée par la formule suivante:

$$Y = a \cdot X^b$$

Y: dimension de l'organe ou proportion du corps étudié

X: longueur de l'organe de référence

a: indice à l'origine

b: coefficient d'allométrie

Cette équation peut également être exprimée sous sa forme logarithmique après transformation:

$$\log Y = b \cdot \log X + \log a$$

A partir de cette équation les paramètres a et b sont déterminés, fixant, ainsi le type d'allométrie, à partir des relations entre:

- Deux variables de dimension différentes (poids-taille):

$b < 3$: l'allométrie est minorante, le poids croit moins vite que le cube de la longueur;

$b = 3$: la croissance est dite isométrique, le poids croit proportionnellement au cube de la longueur;

$b > 3$: l'allométrie est majorante, le poids croit plus vite que le cube de la longueur.

- Deux variables de même dimension (entre paramètres linéaire):

$b < 1$: l'allométrie est minorante, le poids croit moins vite que la longueur;

$b = 1$: la croissance est dite isométrique, le poids croit proportionnellement à la longueur

$b > 1$: l'allométrie est majorante, le poids croit plus vite que la longueur.

4. Reproduction

4.1.Indice de condition :

L'étude du cycle biologique d'une espèce a pour but de déterminer les phénomènes marquants qui surviennent au cours de ce cycle, telles que la croissance ou la reproduction.

L'indice de condition nous donne une idée de l'état physiologique des individus d'une population ([Bodoy et Massé, 1979](#); [Bodoy, 1980](#); [Lucas et Beninger, 1985](#)) et permet

d'estimer la part de la matière organique émise lors de la reproduction ([Bodoy et Massé, 1979](#)). Selon [Pellerin–Massicotte \(1994\)](#) il est aussi un indicateur général de stress et de la santé des organismes.

La diversité des objectifs poursuivis a entraîné une prolifération des indices de condition, puisque pas moins de douze indices différents ont été proposés, si l'on s'en tient aux travaux de [Lawrence et Scott \(1982\)](#), de [Phernambucq et Vroonland \(1983\)](#) et de [Lucas et Beninger \(1985\)](#).

La nécessité de l'usage du poids sec dans les indices physiologiques a été mise en évidence par de nombreux auteurs, parmi lesquels [Lucas et Beninger \(1985\)](#), [Mann \(1978\)](#), [Bodoy et al. \(1986\)](#). L'indice choisi dans le cadre de cette étude est celui proposé par [Phernambucq et Vroonland \(1983\)](#) et démontré par [Bodoy et al. \(1986\)](#) ; il va nous permettre de suivre les étapes de la gamétogénèse et les périodes d'émissions de gamètes ;

La formule de l'indice de condition en chair est la suivante :

$$IC = \frac{\text{Poids sec de la masse molle (Psh)}}{\text{Poids humide total (Pt)}} \times 100$$

4.2.Sex- ratio:

La sexualité est en fait très variable d'une famille à l'autre, d'une espèce à l'autre, voire d'un individu à l'autre, au sein d'une même espèce.

Le **sex-ratio** ou **sex-ratio** (souvent abrégé en “SR”), encore appelé **rapport des sexes** ou **rapport de masculinité**, est le rapport du nombre de mâles et de femelles au sein d'une espèce à reproduction sexuée, pour une génération, ou dans la descendance d'un individu. C'est un indice biologique important, car la proportion de mâles et de femelles peut affecter le succès reproductif. Chez certaines espèces, la sex-ratio peut être un indicateur de l'exposition à des polluants qui sont des perturbateurs endocriniens.

Chez la moule *Perna perna* qui est une espèce essentiellement gonochorique, la distinction des sexes est relativement aisée notamment durant la période de gamétogenèse avancée ; en effet, elle est basée sur la couleur du manteau qui est blanchâtre chez les mâles et rose-saumon à orangé chez les femelles (fig. II-1). Pour cela, les moules sont nettoyées, ouvertes et sexées d'après l'observation macroscopique de la coloration du manteau.

La sex-ratio est définie par le rapport suivant :

$$\text{SR} = (\text{nombre de mâle}/\text{nombre de femelle})$$

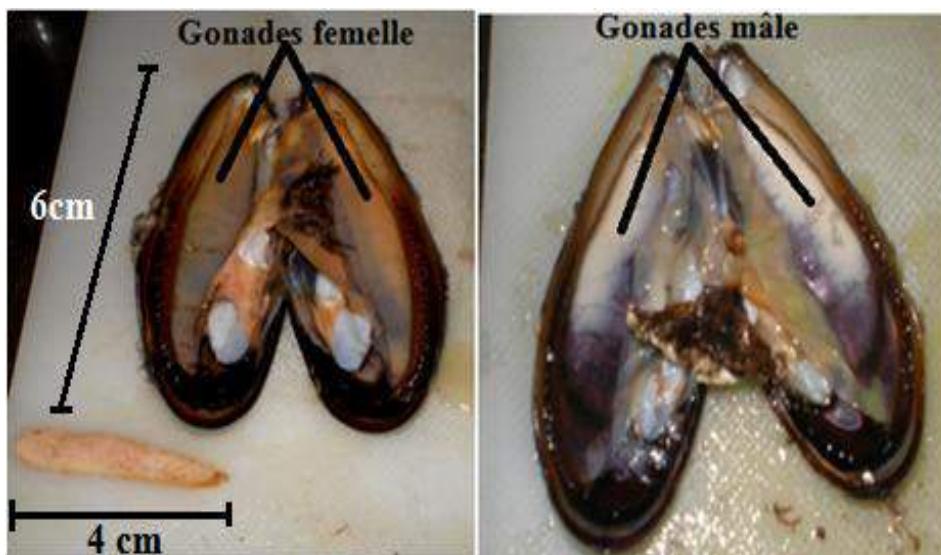


Figure II-1 : Différenciation des gonades mâles et femelles chez la moule *Perna perna*.

4.3.Cycle de reproduction :

✚ Maturation des gonades :

Chez les moules en générale, la gonade est un tissu diffus dans le manteau et la masse viscérale (fig. II-1) ; elle est formée par des acini qui aboutissent à des gonoductes constitués par un épithélium cilié unistratifié, à partir desquels de nombreux sacs appelés follicules, s'ouvrent. Les gonoductes issus des différents follicules forment dans le manteau trois troncs principaux qui confluent dans la région dorsale du corps, au niveau de la partie inférieure du péricarde. Ce tronc commun reçoit alors un canal qui draine le côté correspondant de la masse viscérale. Le gonoducte terminal suit la paroi latérale du corps et aboutit au processus génital qui débouche un peu au-dessus et en avant par rapport à l'orifice rénal.

Les gamètes se forment à partir des cellules germinales qui s'alignent le long des parois des follicules. La gonade continue à se développer jusqu'à ce qu'elle devienne entièrement mature mais ce développement a été divisé en plusieurs stades par convenance (stades de maturité sexuelle). Quand les gonades ou tissus gonadiques sont complètement matures elles sont visibles et représentent une partie assez significative du corps mou de l'animal. Les gonoductes qui vont transporter les gamètes jusqu'à la cavité palléale, se développent, s'élargissent et deviennent facilement visibles dans la gonade. A ce moment l'animal est alors considéré comme mature.

Stades de maturité sexuelle :

Chez la majorité des bivalves, la maturité sexuelle dépend beaucoup plus de la taille que de l'âge ; la taille atteinte à la maturité sexuelle dépend des espèces et de leur distribution géographique. La production des œufs et du sperme est appelée gamétogenèse et la taille du bivalve associée à la température, la quantité et la qualité de la nourriture sont sans doute des éléments importants pour l'initiation de ce processus.

Dans les sites pollués, le cycle de reproduction des moules connaît un déphasage des activités génitales et l'effort de reproduction est plus important ([Idhalla et al., 1997](#)).

Dans le cadre de cette étude les stades du cycle sexuel sont identifiés selon la classification de [Lubet \(1959\)](#) reprise par [Wilson et Seed \(1975\)](#), qui comporte 7 stades :

-Stade 0 (repos sexuel) : le sexe est indéterminé. Cette phase est caractérisée par l'accumulation de réserves constituées par des cellules adipogranuleuses et des cellules vésiculeuses. Le manteau est alors homogène et transparent.

-Stade I : (Reprise de l'activité génitale), le développement commence par les premiers stades de la gamétogenèse, les jeunes groupes de cellules germinales étant éparpillés dans le manteau. Une lignée de spermatogonies et d'ovogonies apparaît sur le mur folliculaire.

-Stade II (Gamétogenèse) : on y trouve tous les stades de la gamétogenèse. Une grande partie du manteau est occupée par des follicules. Dans ceux des femelles, les ovocytes continuent de croître en accumulant du vitellus. Dans les follicules males apparaît une large bande centripète de spermatogonie, spermatocytes et spermatides avec quelques spermatozoïdes libres dans le lumen.

-Stade IIIA (Maturité génitale) : le manteau est envahi par des follicules qui occupent presque toute la surface gonadique recouvrant ainsi le tissu conjonctif. Chez les mâles, une bande étroite des produits gamétogéniques apparaît du côté de l'ouverture des follicules ; les spermatozoïdes sont disposés en lamelles.

Chez les femelles, les ovocytes sont bien développés et présentent une forme polygonale due à leur forte densité dans le follicule. A ce stade, les animaux sont facilement "excitables" et libèrent leurs gamètes sous l'action des stimuli externes.

-Stade IIIB (Emission des gamètes) : la ponte et l'éjaculation peuvent être totales ou partielles ; un très grand nombre de follicules sont vidés et ne renferment que des gamètes

résiduels. L'arrangement laméllique des spermatozoïdes disparaît et la densité des follicules diminue ; on observe donc une réduction générale de la surface du manteau occupée par le tissu germinatif.

-Stade IIIC (Restauration de la gonade) : C'est le stade de redéveloppement ; le renouvellement gamétogénétique a lieu à partir de ce stade. La bande qui correspond aux premiers stades gamétiques est apparente dans les follicules mâles. Chez les femelles, les jeunes ovocytes attachés au pourtour folliculaire sont abondants. Ce stade pourrait être confondu avec le stade II puisque dans le même follicule on trouve des gamètes pondus et des gamètes en développement. Cependant, quand le redéveloppement est maximal (comme dans le stade IIIA), le paquet de follicules n'occupe plus toute la surface disponible du manteau, alors le tissu conjonctif devient plus évident qu'avant la ponte (stade IIIB).

- Stade IIID (Arrêt de l'activité génitale et reconstitution des réserves) : au cours de ce stade l'activité génitale s'arrête complètement. D'importants phénomènes ont lieu dans le manteau. Les follicules s'écroulent et dégénèrent. Les amoebocytes attaquent les gamètes non pondus. On observe souvent, dans la lumière, follicules et débris cellulaires. L'animal se retrouve de nouveau au stade de repos sexuel.

Etude histologique :

Différentes méthodes ont été utilisées pour déterminer si un bivalve est mature et prêt à pondre. La méthode la plus précise consiste en des coupes histologiques des gonades. Faire un frottis de gonades ou des biopsies de gonade sur quelques individus et les examiner au microscope constitue la technique la plus utilisée.

Les étapes de préparation histologiques faite au cours de cette étude restent, à la base, les mêmes que celles décrites par [Martoja et Martoja \(1967\)](#) ; mais notre choix s'est porté sur une technique utilisant un appareillage automatique "*Tissu Tech 11*" :

- ❖ les pièces subissent une déshydratation dans une série de six bains d'alcool de concentration croissante (80°-100°) dans un appareil automatique à rotation appelé AUTOMATE "*Tissu Tech Tissu Processor*"
- ❖ L'éclaircissement se fait par immersion dans trois bains de xylène afin de rendre les pièces transparentes ([Headden et Williams, 1968](#) ; [Buck, 1972](#)).
- ❖ Imprégnation et inclusion dans deux bains de paraffine à 60°C de température ;

- ❖ Les blocs obtenus sont découpés à l'aide d'un microtome ; les coupes de 2 à 3µm d'épaisseur sont posées dans une petite goutte de gélatine au préalablement déposée sur une lame ; cette dernière est mise sur une platine chauffante à une température de 60°C pour éliminer les plis.
- ❖ Les coupes sont déparaffinées ; pour hydrater les tissus, les coupes passent dans différents bains de xylène puis d'éthanol de degré décroissant (100°, 95 puis 70) et enfin d'eau distillée.
- ❖ Elles sont ensuite colorées par l'hématoxyline de Harris et l'éosine, avant d'être à nouveau déshydratées par des bains d'éthanol à degrés croissant et de xylène, cette coloration est reconnue comme standard chez les bivalves, car elle contraste clairement les différents tissus.
- ❖ Enfin les coupes ainsi traitées sont prêtes pour l'observation au microscope.

5. Analyse statistique :

Toute étude statistique peut être décomposée en deux phases : d'une part, par le rassemblement ou la collecte des données, et d'autre part, par leur analyse ou leur interprétation.

La collecte des données a été effectuée durant deux cycles de 12 mois pour le golfe d'Annaba et un cycle de 12 mois pour le littoral d'El Kala . Au niveau des deux sites du golfe d'Annaba, nous nous sommes intéressés aux paramètres physico-chimiques et l'étude biométrique des moules. En ce qui concerne les sites localisés sur le littoral d'El Kala, seules les données sur la biométrie des moules ont été collectées.

Tous les calculs ont été réalisés, pour chaque variable et pour chacune des stations choisies, à l'aide de logiciels d'analyse et de traitement statistique des données Minitab version 14.1 (X, 2003), XLSTAT, FiSAT.II et le logiciel R (pour Windows, Version 3.3.2).

La condition de la normalité des distributions a été vérifiée au préalable par l'application du test de Shapiro-Wilk. Du fait de l'asymétrie des distributions nous avons opté pour des alternatives non-paramétriques lors de notre analyse statistique.

Les corrélations entre les séries de paramètres sont évaluées par le coefficient de corrélation non-paramétrique de Spearman (r) pour analyser l'intensité des relations entre nos paramètres. Par ailleurs, des comparaisons inter-saisons et inter-mois ont été effectuées à l'aide du test de Kruskal-Wallis et les comparaisons inter-sites à l'aide du test non-paramétrique de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Le modèle linéaire généralisé (GLM) est une technique descriptive permettant d'analyser la variance, la covariance et la régression ; il repose sur la réponse et la comparaison des différents paramètres choisis au cours d'une expérimentation ([Dagneli, 2000](#)).

Les calculs sont réalisés à l'aide de la procédure GLM du logiciel Minitab 14 ([X, 2003](#)) pour chacune des variables des stations.

P : c'est la probabilité qui met en évidence les différences significatives entre la valeur du coefficient de corrélation « r » et la valeur zéro.

- Si $P \leq 0.05$: il y a une corrélation significative entre les deux caractères.
- Si $P \geq 0.05$: il n'y a pas de corrélation significative entre les deux caractères.

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne plus ou moins l'écart type ($m \pm s$).

L'analyse de variance multivariée (**MANOVA**) a été utilisée dans le présent chapitre afin de tester l'effet de plusieurs facteurs (mois, sites, saisons, années) sur deux variables biométriques (taille Lt et poids total Pt)

L'analyse de variance multivariée (**MANOVA**) utilise le même cadre conceptuel que l'**ANOVA**. Il s'agit d'une extension de l'ANOVA permettant de prendre en compte une **combinaison de variables dépendantes** plutôt qu'une variable dépendante unique. Dans le cadre de la MANOVA, les variables explicatives sont souvent appelées facteurs.

L'avantage de l'utilisation d'une MANOVA au lieu de plusieurs ANOVA simultanées réside dans le fait qu'elle prend en compte les corrélations entre les variables réponses et permet ainsi une meilleure utilisation des informations provenant des données. La combinaison des variables dépendantes peut représenter une variable non mesurable directement.

RESULTAT

III. RESULTATS

1. Paramètres physico-chimiques des eaux du golfe d'Annaba

Température

Les eaux du Cap de Garde montrent des températures comprises entre 12.5 et 28°C (T°C moyenne = $19.58^{\circ}\text{C} \pm 5.09$) durant la 1^{ère} campagne (fig. 11a) et 12 et 28°C (T°C moyenne= $19.16^{\circ}\text{C} \pm 6.32$) durant la 2^{ème} campagne (fig. 11b). Durant les deux campagnes, les températures moyennes saisonnières les plus élevées sont enregistrées en été. Nous notons toutefois des différences entre saisons d'une campagne à l'autre ; ces différences saisonnières sont illustrées par les ordres décroissants suivants été >automne > printemps > hiver lors de la campagne I et été > printemps > hiver > automne lors de la campagne II.

A Lehnaya, la température varie de 13 à 24°C (T°C moyenne = $18.91^{\circ}\text{C} \pm 4.40$) durant la 1^{ère} campagne (fig. 11a) et de 7 à 26°C (T°C moyenne = $16.75^{\circ}\text{C} \pm 6.40$) durant la 2^{ème} campagne (fig. 11b). La température moyenne annuelle montre une légère baisse lors de la deuxième campagne. Les températures moyennes saisonnières les plus basses et les plus élevées sont notées en hiver et en été respectivement ; l'évolution de la température se fait selon l'ordre décroissant suivant : été> automne> printemps> hiver durant la campagne I et été> printemps> automne> hiver durant la campagne II.

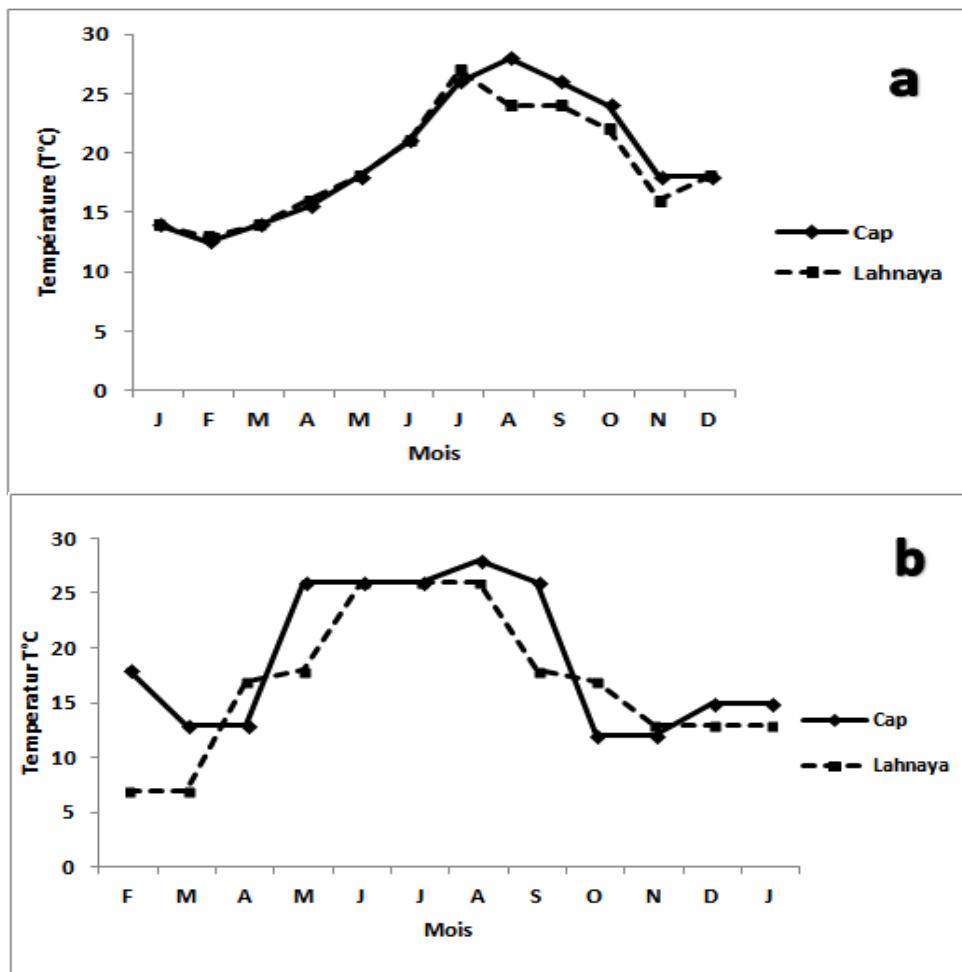


Figure 11 : Fluctuations de la température des eaux du Golfe d'Annaba (a-campagne I (2011) ; b-campagne II (2012-2013))

Salinité

Les eaux montrent, dans le Cap de Garde des salinités comprises entre 38 et 41.8 g/l (moyenne 39.73 g/l \pm 1.34) durant la campagne I (fig. 12c) et entre 35,6 et 40,4 g/l (moyenne 38.10 g/l \pm 1.63) durant la campagne II (fig. 12d). La salinité moyenne annuelle des eaux de la campagne I est plus élevée que celle de la campagne II. Les valeurs saisonnières de la salinité de la 1^{ère} campagne sont proches de 40 g/l en été et en automne et baissent pour se rapprocher de 38 g/l en hiver et au printemps. Durant la campagne II la salinité, en hiver, est proche de 39 g/l, puis au printemps et en été elle baisse à 37 g/l pour enfin atteindre, en automne, 36,43 g/l.

A Lehnaya, les salinités enregistrées sont comprises entre 37.8 et 41.5 g/l (moyenne 39.18 \pm 1.18) durant la campagne I (fig. 12c) et entre 36,4 et 39,8 g/l (moyenne 37.45 \pm 1.41) durant la campagne II (fig. 12d). La salinité moyenne annuelle des eaux de Lehnaya montre une baisse assez sensible durant la campagne II. Les salinités moyennes saisonnières évoluent selon l'ordre décroissant suivant : été > automne > printemps > hiver durant la campagne I et hiver > été > printemps > automne durant la campagne II

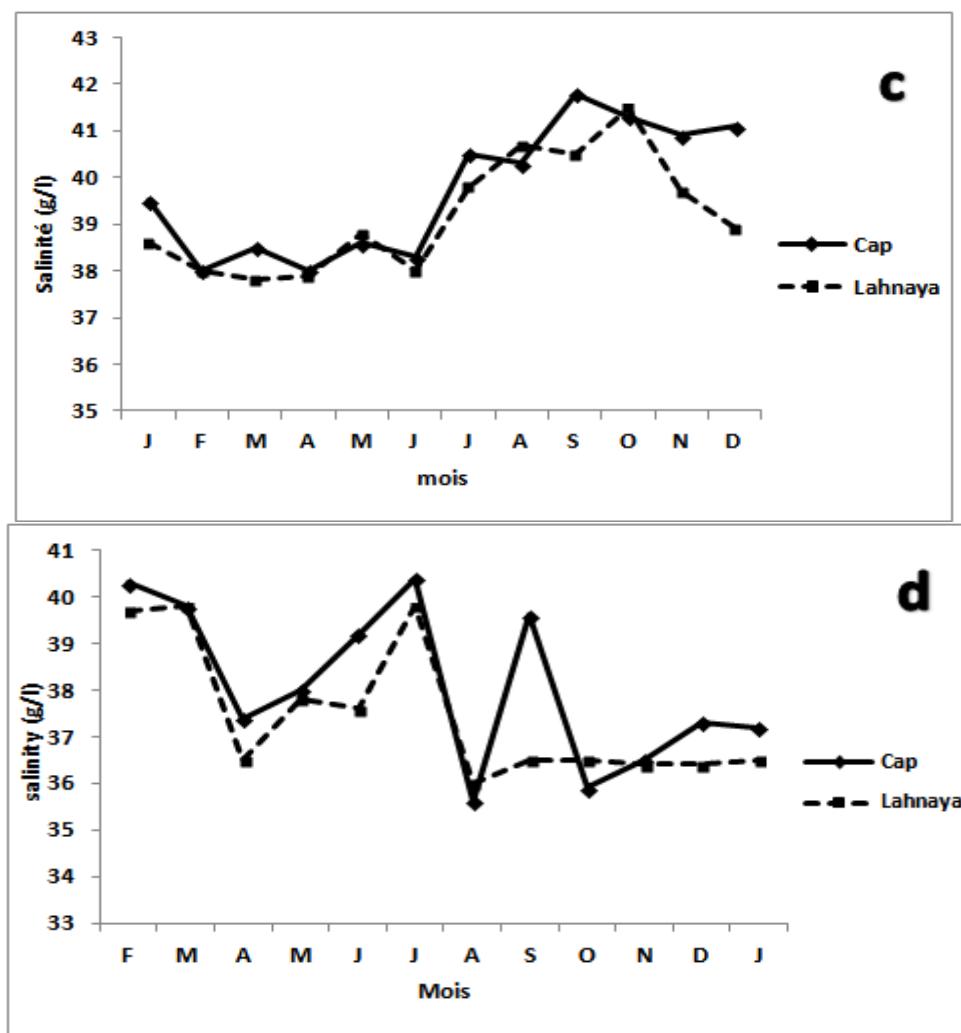


Figure 12 : Fluctuations de la salinité des eaux du Golfe d'Annaba (c-campagne I (2011) ; d-campagne II(2012-2013))

✚ Oxygène dissous

Les teneurs en oxygène dissous des eaux du Cap de Garde oscillent entre 1.9 et 9.5 mg/l (moyenne de $6.22 \text{ mg/l} \pm 2.03$) durant la 1^{ère} campagne (fig. 13e) et entre 5,04 et 10,2 mg/l (moyenne $6.77 \text{ mg/l} \pm 1.76$) durant la 2^{ème} campagne (fig. 13f). Les teneurs saisonnières en oxygène dissous les plus élevées sont enregistrées en hiver durant les deux campagnes ; toutefois l'évolution saisonnière des teneurs en oxygène dissous dans les eaux du cap de Garde diffère d'une campagne à l'autre ; nous notons l'ordre suivant hiver>printemps> automne> été lors de la campagne I et hiver>automne> été > printemps lors de la campagne II.

A Lehnaya, les teneurs en oxygène dissous oscillent entre 1.9 et 9.2 mg/l (teneur moyenne de $7.02 \text{ mg/l} \pm 2.37$) durant la 1^{ère} campagne (fig. 13e) et entre 4,96 et 11,7 mg/l (teneur moyenne de $6.7 \text{ mg/l} \pm 2.88$) durant la 2^{ème} campagne (fig. 13f). Les teneurs en oxygène dissous montrent des fluctuations saisonnières, durant la première campagne, illustrées par des valeurs assez élevées en période hivernale et printanière et des valeurs basses (proches de 5,5 g/l) en été et en automne (fig. 13e). Lors de la deuxième campagne, c'est l'hiver qui montre les valeurs les plus élevées et le printemps les valeurs les plus basses ; durant l'été et l'automne les valeurs sont assez proches (6,75 et 6,19 g/l respectivement).

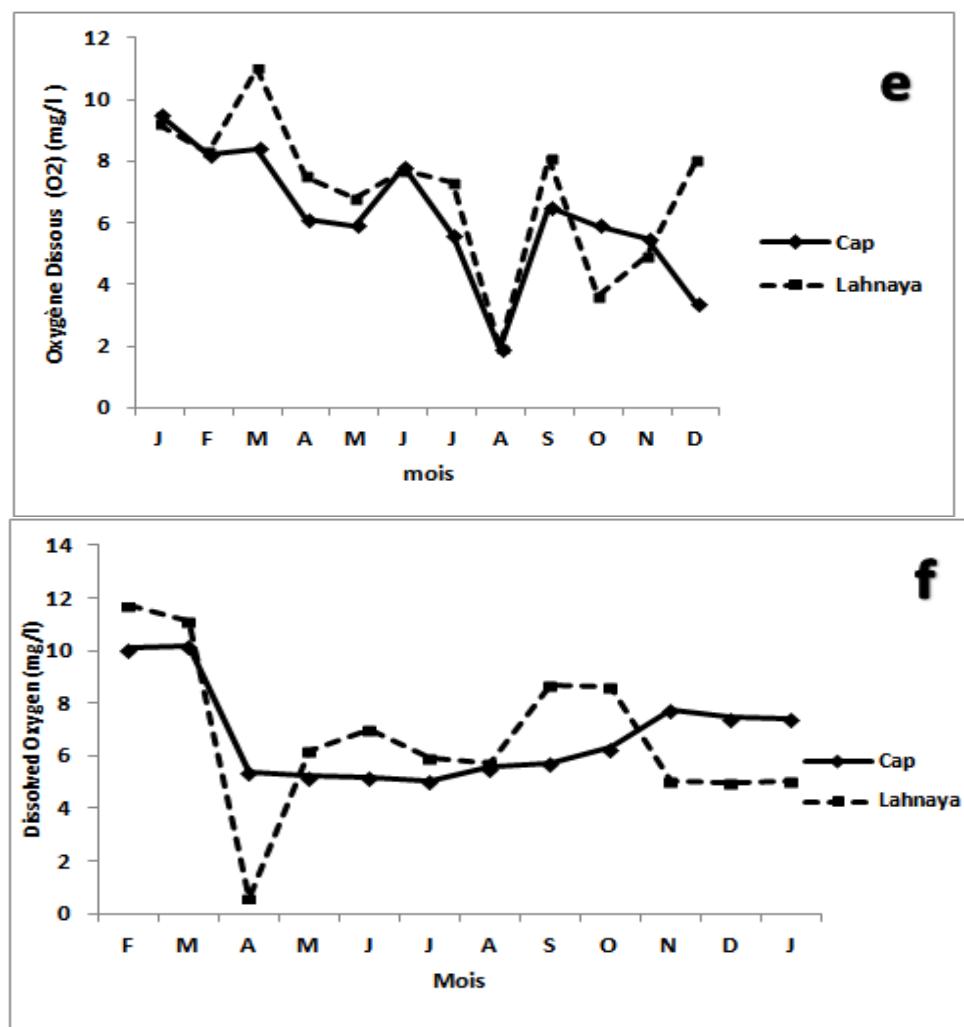


Figure 13: Fluctuations des teneurs en oxygène dissous dans les eaux du Golfe d'Annaba (e-campagne I (2011) ; f-campagne II(2012-2013))

✚ Matières en suspension (MES)

Dans les eaux du Cap de Garde, les teneurs en MES sont comprises entre 0,12 et 0,26 mg/l (une moyenne de $0,21 \text{ mg/l} \pm 0,036$) (fig. 14g) durant la campagne I et entre 0,02 et 0,24 mg/l (une moyenne de $0,14 \text{ mg/l} \pm 0,09$) dans la campagne II (fig. 14h). Lors de la campagne II, les teneurs moyennes annuelles en MES montrent une baisse de 30% par rapport à celles de la campagne I. A l'exception de la faible teneur enregistrée au printemps de la campagne I, les valeurs notées durant les autres saisons fluctuent entre 0,22 et 0,23mg/l. En revanche, lors de la campagne II les MES montrent d'importantes fluctuations illustrées par l'enregistrement de 0,08mg/l au printemps, 0,1 à 0,16mg/l en été et en automne respectivement et 0,22mg/l en hiver.

A Lehnaya, les teneurs en MES varient de 0,18 à 0,33 mg/l (moyenne de $0,23 \text{ mg/l} \pm 0,042$) durant la campagne I (fig. 14g) et de 0,02 à 0,27mg/l (moyenne de $0,14 \text{ mg/l} \pm 0,09$) durant la campagne II (fig. 14h). Les teneurs moyennes annuelles en MES montrent une baisse de l'ordre de 40% d'une campagne à l'autre. Lors de la campagne I, les teneurs moyennes saisonnières en MES sont élevées en automne ($0,3 \text{ mg/l}$), similaire en hiver et en été ($0,23 \text{ mg/l}$) et proche de $0,2 \text{ mg/l}$ au printemps. Lors de la campagne II les valeurs enregistrées sont élevées au printemps, similaires en hiver et en été et très basses en automne (fig. 14 g et h).

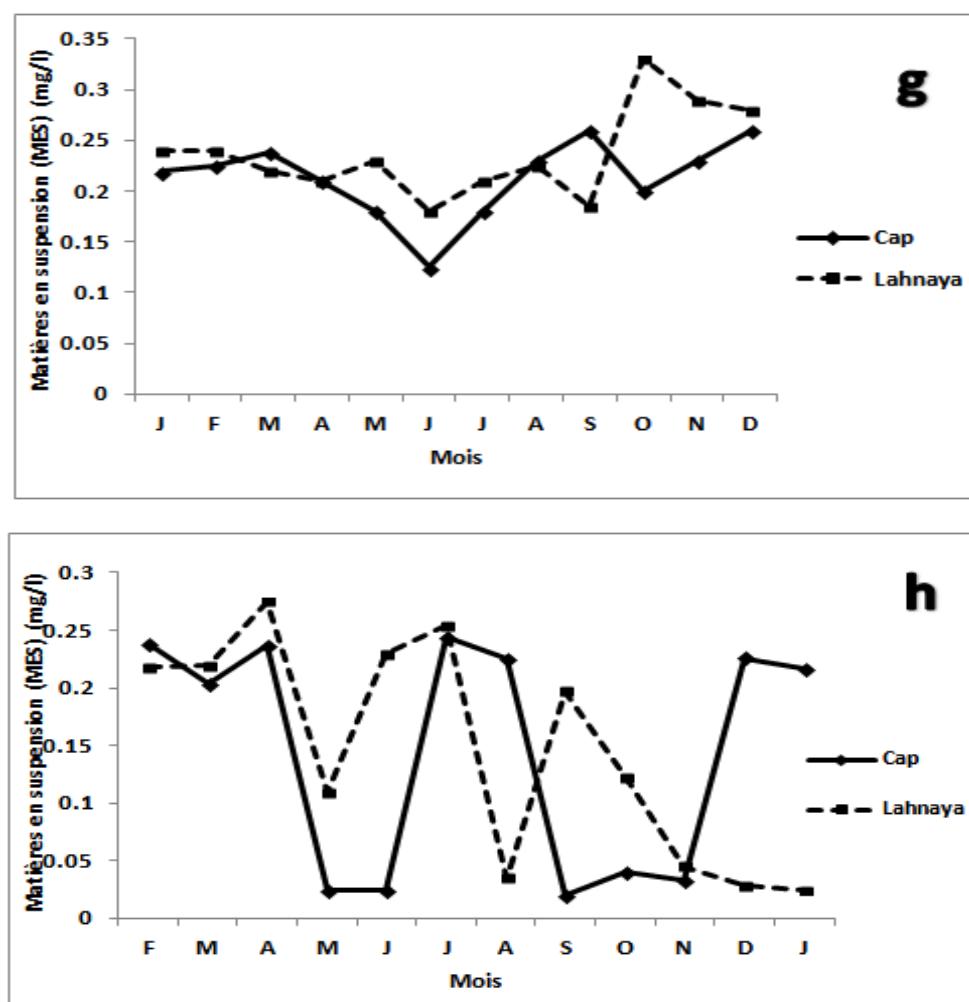


Figure 14: Fluctuations des teneurs en MES dans les eaux du Golfe d'Annaba (g-campagne I(2011) ; h-campagne II(2012-2013))

Chlorophylle a

La chlorophylle « a » montre, dans les eaux du Cap de Garde, des teneurs qui fluctuent entre 1,2 et 55 µg/l (teneur moyenne de $24,35 \mu\text{g/l} \pm 14.71$) durant la 1^{ère} campagne (fig. 15i) et entre 0 et 202,9 µg/l (teneur moyenne de $66.19 \mu\text{g/l} \pm 76.56$) durant la 2^{ème} campagne (fig. 15k). La teneur moyenne annuelle enregistrée lors de la campagne II est trois fois plus importante que celle de la campagne I. En ce qui concerne les teneurs saisonnières, elles sont élevées en été pour les deux campagnes. Cependant l'évolution des teneurs saisonnières ne suit pas le même ordre ; nous notons, en effet, l'ordre croissant suivant hiver < printemps < automne <été lors de la campagne I et automne <hiver < printemps < été lors de la campagne II.

Dans les eaux de Lehnaya, les teneurs en chlorophylle a fluctuent entre 5 et 85,44 µg/l (teneur moyenne de $35.03 \mu\text{g/l} \pm 27.95$) durant la 1^{ère} campagne (fig. 15i) et entre 0 et 72 µg/l (teneur moyenne de $18.69 \mu\text{g/l} \pm 23.22$) dans la 2^{ème} campagne (fig. 15k). Les teneurs moyennes annuelles en chlorophylle a montrent une baisse d'environ 50% lors de la campagne II. En ce qui concerne les teneurs saisonnières de la chlorophylle a, les valeurs les plus élevées sont enregistrées en été (plus de 59% et 54% de la teneur globale de la campagne I et II respectivement). Lors de la campagne I, ces dernières représentent 20%, 15% et 5% de la teneur globale respectivement en automne, au printemps et en hiver. Durant la campagne II, les teneurs relevées représentent plus de 28% et 16% de la teneur globale respectivement en automne et au printemps.

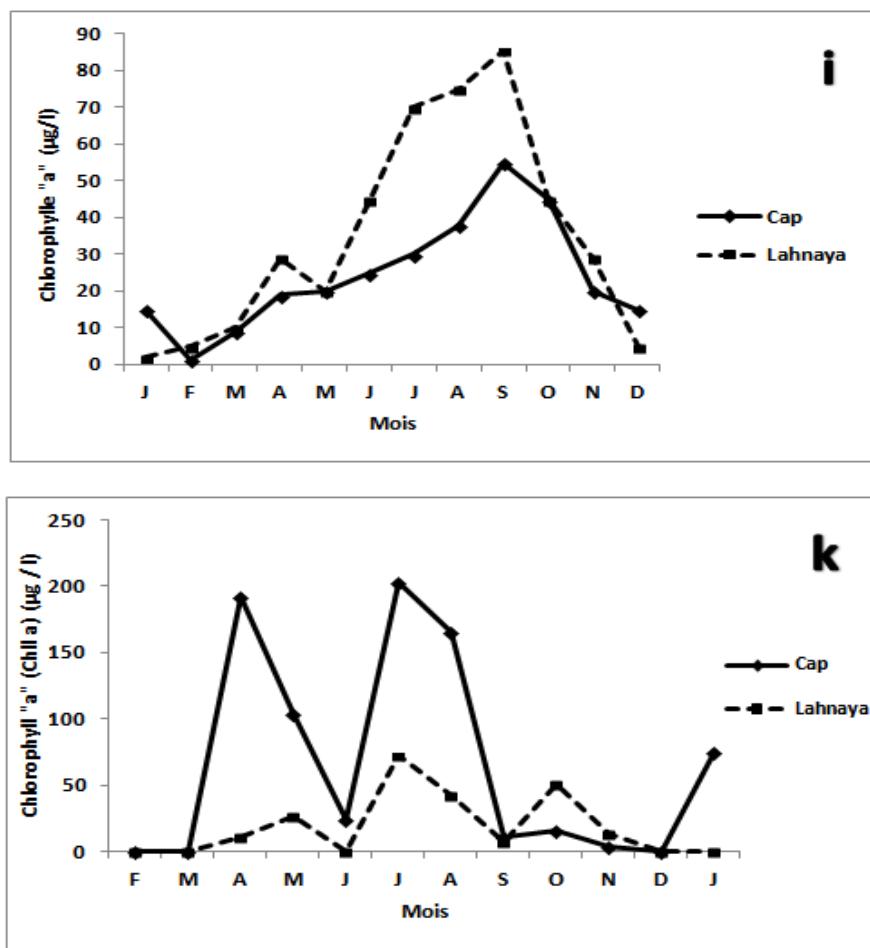


Figure 15 : Fluctuations des teneurs en chlorophylle a dans les eaux du Golfe d'Annaba (i-campagne I(2011) ; k-campagne II(2012-2013))

La comparaison des données obtenues sur les paramètres physico-chimiques par l’application du test Wilcoxon, fait apparaître l’existence de différences très hautement significative ($p=0.000$) pour tous les paramètres entre les deux campagnes et l’absence de différences significatives entre les deux sites sauf pour la salinité ($p< 0.05$) (Annexe).

Le test de Kruskal-Wallis appliqué pour comparer l’évolution mensuelle (comparaison inter-mois) des mêmes paramètres cités précédemment au niveau de chaque site durant les deux campagnes, montre une différence significative ($p= 0.043$) pour la température à Lehnaya et aucune différence significative pour le reste des paramètres mesurés dans les deux sites (Annexe).

L’application du test de Kruskal-Wallis sur les paramètres physico-chimiques dans chaque site durant les deux campagnes, révèle une variation saisonnière de la température avec une différence hautement significative au niveau du cap de garde ($p= 0.018$) et de la température et la chlorophylle « a » à Lehnaya (avec $p= 0.002$ et $p=0.007$ respectivement) (Annexe).

L’analyse statistique des données relatifs aux paramètres physico-chimiques de l’eau de la première campagne fait apparaître l’existence de corrélations négative hautement significative entre l’oxygène dissous et la chlorophylle « a » ($p=0.008$), entre l’oxygène dissous et la température ($p= 0.0016$) et très hautement significative entre l’oxygène dissous et la salinité ($p=0.000$). En revanche, la chlorophylle « a » et la salinité montrent une corrélation positive hautement significative ($p=0.005$) ; la température montre une corrélation positive très hautement significative d’une part avec la chlorophylle « a » ($p=0.000$) et d’autre part avec la salinité ($p=0.000$) (Annexe).

Durant la deuxième campagne, l’oxygène dissous de l’eau montre une corrélation négative très hautement significative avec la chlorophylle « a » ($p=0.000$) et la température ($p=0.000$) ; Quant à la température, elle présente une corrélation positive très hautement significative avec la chlorophylle « a » ($p=0.000$) (Annexe).

2. Croissance :

2.1. Fréquences de taille des moules du Golfe d'Annaba

Cap de Garde :

Les individus récoltés dans le cap de Garde durant la campagne I, montrent des tailles variant de 10 à 85 mm. La fraction de population de moules collectée est composée de 43.33% de mâles, 48.83% de femelles et 7.83% d'individus immatures.

Les effectifs de moins de 20 spécimens/classe de taille sont enregistrés dans les classes de taille inférieures à 35 mm et supérieures à 75 mm. Les individus dont la taille est comprise entre 40 et 55 mm représentent de 60 à 100 spécimens/classe de taille ; ce qui représente 58.83% de la fraction de population de moules récoltées, lors de la campagne I, dans le Cap de Garde (fig. 16).

En ce qui concerne le sexe des individus récoltés, nous notons une nette prédominance des femelles chez les moules de taille comprises entre 35 et 65 mm ; les individus de sexe male montrent une légère prédominance seulement chez les moules de taille variant de 70 à 80 mm. Les individus de sexe indéterminé sont rencontrés dans les classes de taille de moins de 35 mm.

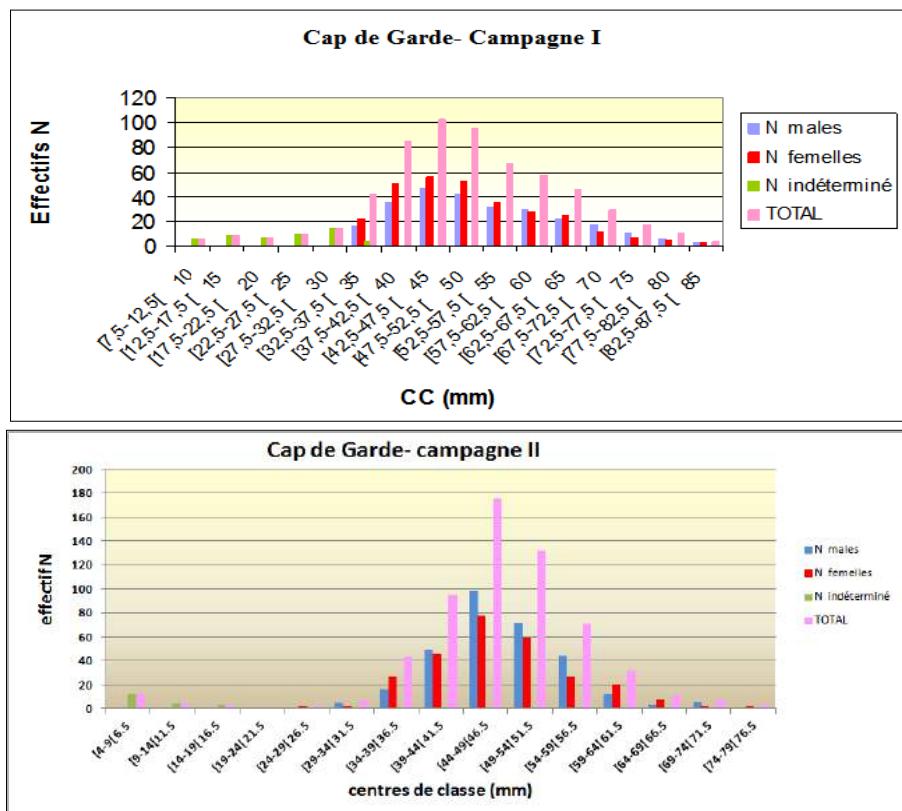


Figure 16 : Fréquences de taille des moules récoltées dans le Cap de Garde

Les moules collectées, dans le cap de Garde, durant la campagne II montrent des tailles variant de 6.5 à 76.5 mm. La fraction de population de moules collectées est composée de 3.33% d'individus immatures, 45.66% de femelles et 51% de mâles.

Des effectifs de moins de 10 spécimens/classe de taille sont enregistrés chez les moules de taille inférieures à 31,5 mm et supérieures à 66,5 mm ; Des effectifs de 30 à 176 spécimens/classe de taille sont notés chez les moules dont la taille est comprise entre 36,5 et 61,5 mm. Plus de 79% des moules montrent des tailles comprises entre 41,5 et 56,5 mm (fig. 16).

Une nette prédominance des males a été notée dans les classes de taille variant de 41,5 à 56,5 mm; en revanche, les individus de sexe femelle montrent une légère prédominance dans les classes de taille 26,5, 36,5, 61,5, et 66,5 mm. Les individus de sexe indéterminé sont rencontrés dans les classes de taille de moins de 26,5 mm.

◆ Lehnaya :

Les moules collectées à Lehnaya présentent des tailles comprises entre 15 et 120 mm et entre 6,5 et 121,5 mm (fig. 17) respectivement durant la 1ère et la seconde campagne.

A Lehnaya, la fraction de population collectée durant la campagne I comporte 8.16% d'individus immatures, 54.83% de spécimens de sexe mâle et 37% de spécimens de sexe femelle. Les individus immatures sont rencontrés dans les classes de tailles de moins de 35mm. Les moules de sexe mâles prédominent dans l'ensemble des classes de taille. Les effectifs de moins de 10 individus/classe de taille sont représentés par les moules de taille de moins de 35 mm ; les effectifs compris entre 10 et 20 spécimens/classe de taille concernent les moules de taille dépassant les 80 mm. En ce qui concerne les effectifs de plus de 40 spécimens/classes de taille, ce sont les moules de taille variant de 55 à 80mm qui les composent ; ces dernières représentent la fraction de 58.5% de la population collectée.

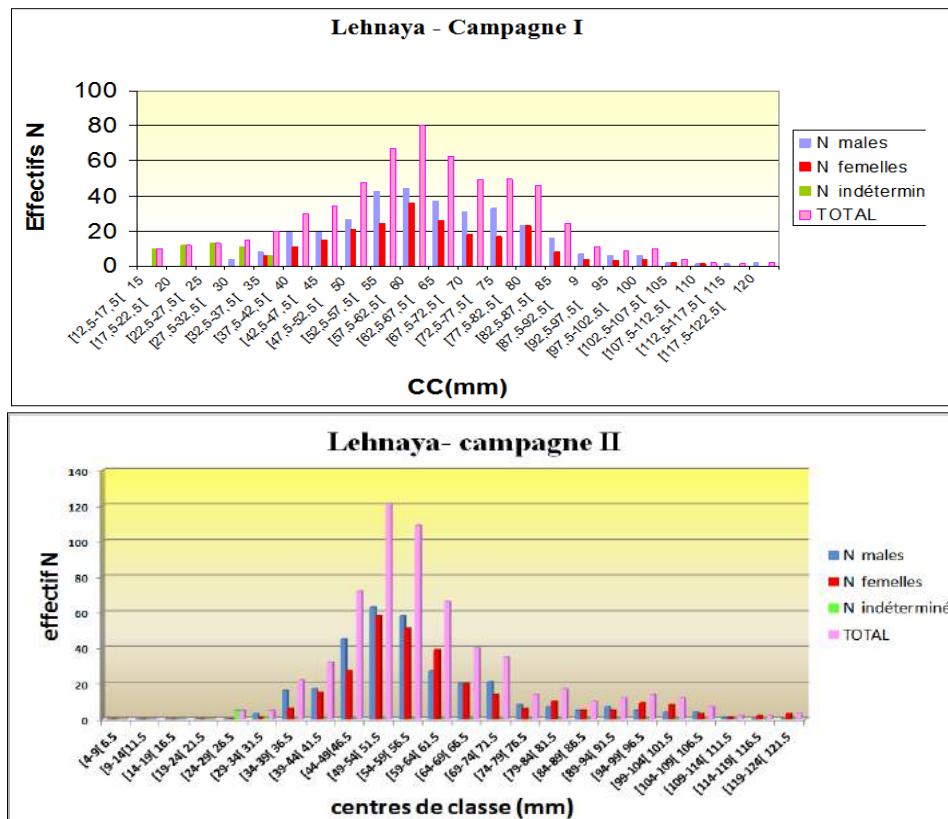


Figure 17 : Fréquences de taille des moules récoltées à Lehnaya

A Lehnaya, la fraction de population collectée durant la campagne II comporte 1% d'individus immatures, 47.16% de spécimens de sexe femelle et 51.83% de spécimens de sexe mâle (fig. 17).

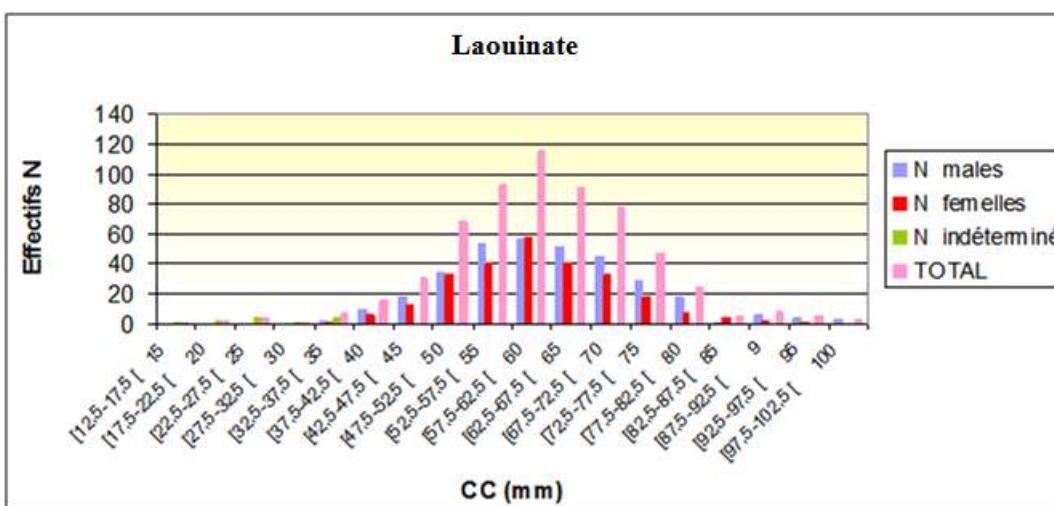
Les stades immatures sont rencontrés dans les classes de taille de moins de 26,5 mm, avec un effectif de moins de 10 spécimens/classe de taille. A partir de la classe de taille 29-34 mm nous notons l'apparition d'individus matures de sexe mâle et femelle (fig. 17). Une prédominance des mâles est relevée dans les classes de taille de 36,5 à 56,5 mm ; en revanche, dans les classes de taille de 61,5 et 66,5 mm nous notons respectivement une prédominance de femelles et une égalité entre les deux sexes. Des effectifs de plus de 20 spécimens sont enregistrés dans les classes de taille de 36,5 à 71,5 mm ; alors que les effectifs les plus élevés (plus de 60 spécimens) sont, surtout, rencontrés dans les classes de taille variant de 46,5 à 61,5 mm, ce qui représente une fraction de 61,33% de la population collectée au niveau du site Lehnaya.

2.2. Fréquences de taille des moules du littoral d'El Kala

Laouinate

La moulière de Laouinate héberge des moules dont les tailles sont comprises entre 15 et 100 mm (fig. 18).

Les effectifs de moins de 20 spécimens sont rencontrés dans les classes de taille de moins de 40 mm et de plus de 85 mm. Le plus gros des effectifs (plus de 90 spécimens) est représenté par les moules dont la taille est comprise entre 55 et 65 mm ; des effectifs proche de 120 individus sont enregistrés dans la classes de taille de 60 mm. Dans ce site les individus matures apparaissent dans la classe de taille 35 mm ; nous notons, par ailleurs, que ce sont les individus de sexe mâle qui prédominent le plus souvent (fig. 18).



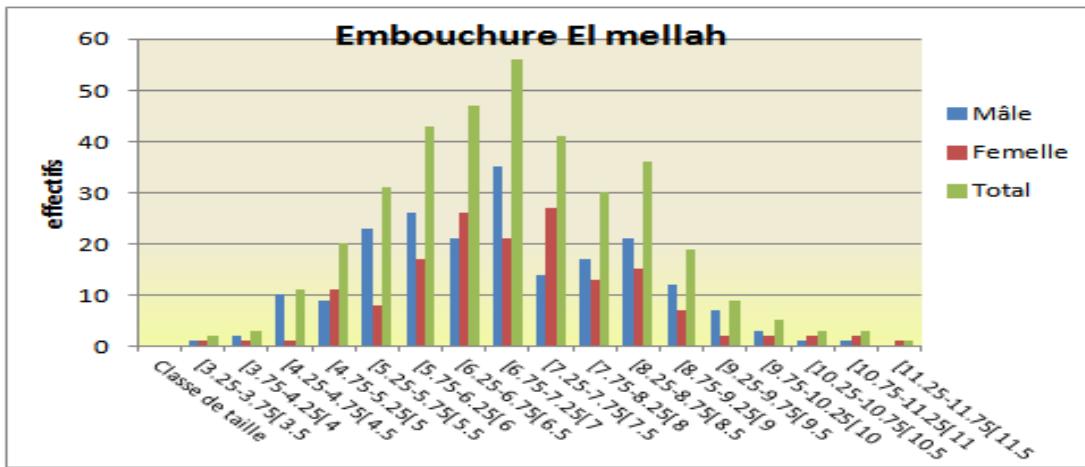


Figure 19: Fréquences de taille et de sexe des moules récoltées à l’embouchure d’El Mellah

Embouchure de Messida :

Les individus récoltés au niveau de l’embouchure de Messida montrent des tailles variant de 32.5 à 87.5 mm. Les effectifs les plus faibles (moins de 20 spécimens) sont enregistrés dans les classes de taille inférieures à 50 mm et supérieures à 75 mm. Les individus dont la taille est comprise entre 55 et 65 mm représentent le plus gros des effectifs (plus de 50 spécimens/classe = 56.11%) de la population de moule récoltée au niveau de l’embouchure (fig. 20).

En ce qui concerne le sexe des individus récoltés, nous notons une nette prédominance des mâles dans la plupart des classes de tailles, sauf pour la classe de taille de 55 mm où prédomine le sexe femelle et une égalité de sexe dans la classe de taille de 85 mm.

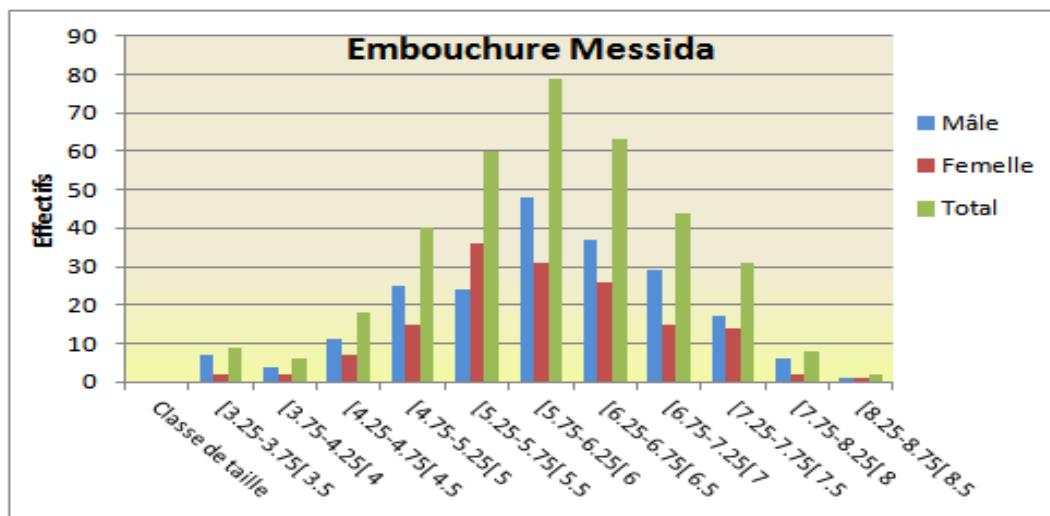


Figure 20: Fréquences de taille des moules récoltées à l’embouchure de Messida

2.3.La croissance linéaire :

2.3.1. Paramètres de croissance des moules du golfe d'Annaba :

L'analyse à l'aide du logiciel FiSAT II, des données relatives à la moule *P. perna* provenant des 2 sites sur 2 campagnes de prélèvement, nous a permis d'obtenir les valeurs des paramètres de croissance consignées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Paramètres de croissance de la moule *Perna perna* provenant du Cap de Garde et de Lehnaya

Paramètres de croissance Année	Cap de Garde		Lehnaya	
	2011	2012	2011	2012
La longueur asymptotique L_∞ (mm)	91.82	80.33	123.27	127.58
Le coefficient de croissance K (ans ⁻¹)	0.61	0.85	0.35	0.48
La longueur maximale (mm)	85	76.50	120	121.50
Intervalle de confiance à 95% (mm)	82.04 - 101.61	73.32 – 86.43	108.91-137.62	- 145.36 111.5

Cap de garde :

La longueur asymptotique L_∞ atteinte par les moules du Cap de Garde récoltées durant la campagne I est égale à 91,82 mm avec un coefficient de croissance de 0,61 ans⁻¹; durant la campagne II, la longueur asymptotique L_∞ est égale à 80.33mm avec un coefficient de croissance de 0.85 ans⁻¹ (tab. 2 ; fig. 21);

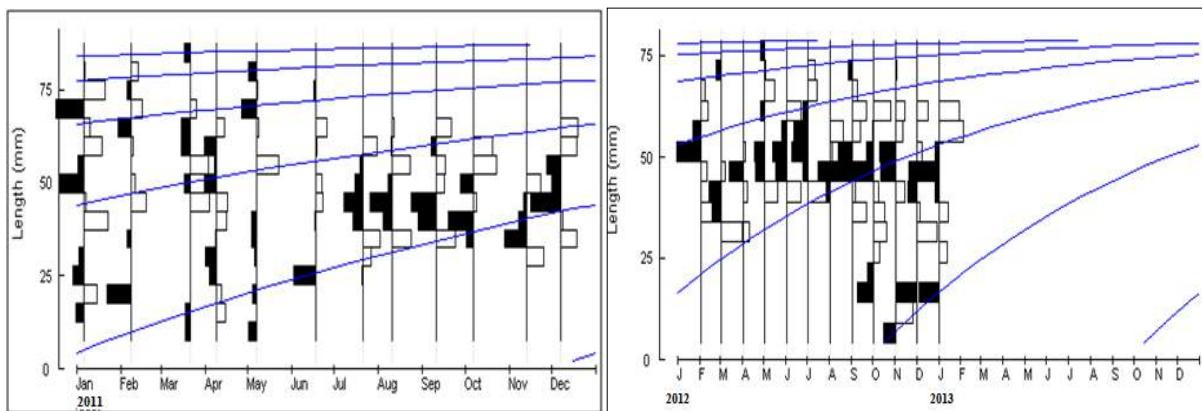


Figure 21 : Distribution des fréquences de longueur restructurées et courbe de croissance chez *P. perna* provenant du Cap de Garde : données obtenues à l'aide du logiciel ELEFEN-I pour ($L_\infty=91,82$ mm et $K=0,61$ ans⁻¹) en 2011 et ($L_\infty= 80.33$ mm et $K= 0.85$ ans⁻¹) en 2012.

La longueur maximale observée et la longueur maximale estimée sont respectivement de l'ordre de 85 mm et 91,82 mm avec un intervalle de confiance à 95% de 82,04-101,61

durant la campagne I et de l'ordre de 76.50 mm et de 79.87mm avec un intervalle de confiance à 95% de 73.32 – 86.43mm durant la campagne II (tab. 2).

La meilleure valeur estimée du coefficient de croissance (K) des moules du Cap de Garde pour la campagne I et II est respectivement de 0.61 ans^{-1} et de 0.85 ans^{-1} .

Pour une valeur de t_0 nulle, l'équation de croissance de Von Bertalanffy appliquée aux données relatives aux moules du Cap de Garde donne les tailles de 8.9 mm, 16.89 mm, 24.14 mm, 30.66 mm, 36.63 mm et 41.42 mm pour les mois 2, 4, 6, 8, 10 et 12 lors de la 1^{ère} campagne et les tailles de 10.60 mm, 19.64 mm, 27.81 mm, 34.49 mm, 40.65 mm et 45.99 mm pour les mois 2, 4, 6, 8, 10 et 12 lors de la 2^{ème} campagne (fig. 22).

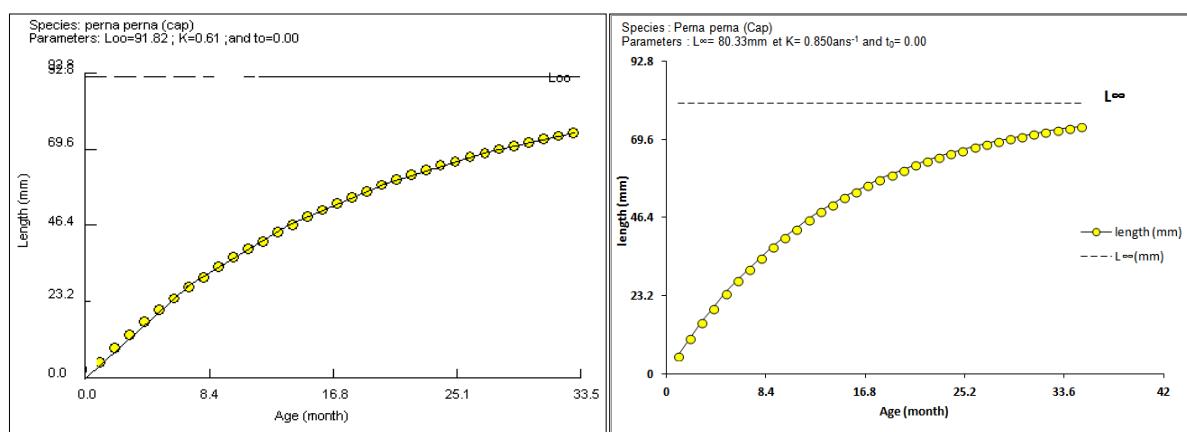


Figure 22: Tracé de la courbe de croissance de *P. perna* du Cap de Garde réalisé à partir des paramètres de croissance calculés durant les deux campagnes de prélèvement.

Lehnaya:

A Lehnaya la longueur asymptotique L_∞ atteint la valeur de 123.27 mm lors de la I^{ère} campagne et 127.58 mm durant la deuxième campagne. Le coefficient de croissance (K) est relativement faible mais affiche, tout de même, une amélioration en passant de 0.35 ans^{-1} à 0.48 ans^{-1} de la première à la deuxième campagne (tab. 2, fig. 23). Le tracé de la courbe de croissance réalisé à partir de ces paramètres est représenté à travers la distribution des longueurs restructurées dans la figure 23.

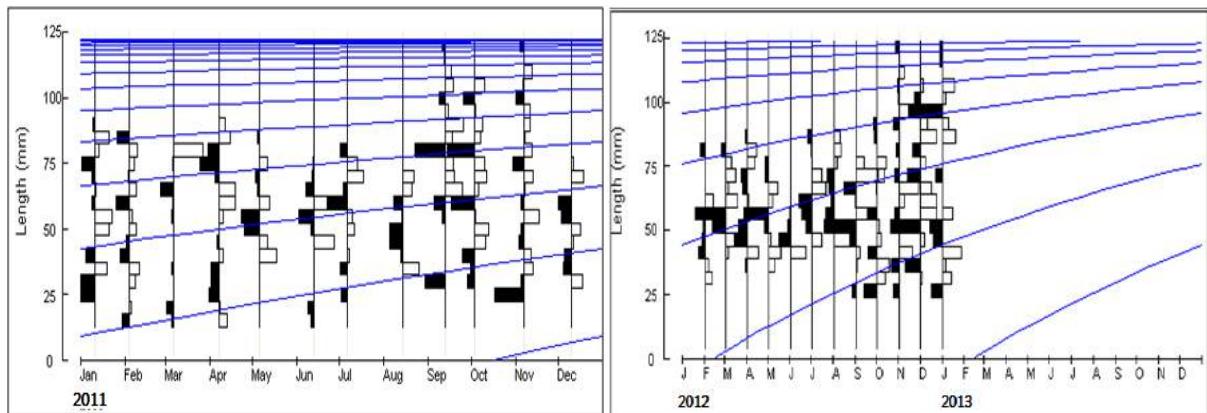


Figure 23 : Distribution des fréquences de longueur restructurées et courbe de croissance chez *P. perna* provenant de Lehnaya: données obtenues à l'aide du logiciel ELEFEN-I pour ($L_{\infty}=123.27$ mm et $K=0,35$ ans $^{-1}$) en 2011 et pour ($L_{\infty}=127.58$ mm et $K=0.480$ ans $^{-1}$) en 2012

Durant la 1^{ère} campagne, la longueur maximale observée et la longueur maximale estimée sont respectivement de l'ordre de 120 mm et 123,27 mm avec un intervalle de confiance à 95% de 108,91-137,62 ; Durant la 2^{ème} campagne, la longueur maximale observée et la longueur maximale estimée sont respectivement de l'ordre de 121,50 mm et 128,43 mm avec un intervalle de confiance à 95% de 111,5 – 145,36mm (tab. 2).

La meilleure valeur estimée du coefficient de croissance (K) des moules de Lehnaya durant les deux cycles d'étude est respectivement égale à 0,35 ans $^{-1}$ et 0.48 ans $^{-1}$.

Il est admis, dans l'analyse de l'âge et de la croissance, que la valeur du 3^{ème} paramètre de l'équation de croissance de Von Bertalanffy t_0 est nulle (Pauly et David, 1981). De ce fait, les tailles atteintes par les moules de Lehnaya seraient de 7.26 mm, 13.55 mm, 19.84 mm, 25.64 mm, 31.18 mm et 36.4 mm respectivement à la fin des mois de février, avril, juin, août, octobre et décembre de la campagne I (fig. 24), et de 9.8 mm, 18.86 mm, 27.22 mm, 34.93 mm, 42.06 mm et 48.63 mm respectivement à la fin des mois de février, avril, juin, août, octobre et décembre de la campagne II (Fig. 24)

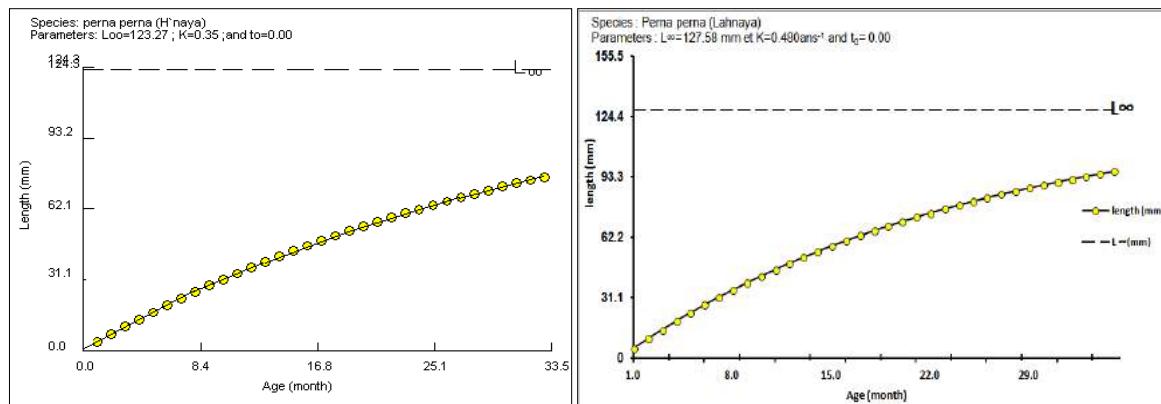


Figure 24 : Tracé de la courbe de croissance de *P. perna* de Lehnaya réalisé à partir des paramètres de croissance calculés durant les deux campagnes de prélèvement.

2.3.2. Paramètres de croissance des moules du littoral d'El Kala :

Laouinate.

La longueur asymptotique L_∞ atteinte par les moules de Laouinate est égale à 105,33 mm avec un coefficient de croissance (K) de $1,82 \text{ ans}^{-1}$ (tab. 3, fig. 25).

Tableau 3 : Paramètres de croissance de la moule *Perna perna* provenant de Laouinate, des embouchures d'El Mellah et de Messida (2011)

Paramètres de croissance	Laouinate	El Mellah	Messida
La longueur asymptotique L_∞ (mm)	105.33	123.4	91.9
Le coefficient de croissance K (ans^{-1})	1.82	0.32	0.59
La longueur maximale (mm)	100	117.5	86.8
Intervalle de confiance à 95% (mm)	99.18 - 120.19	105.9 – 129.1	82.3 – 91.4

Le tracé de la courbe de croissance effectué sur la base des paramètres calculés est représenté à travers la distribution des longueurs restructurées dans la figure 25.

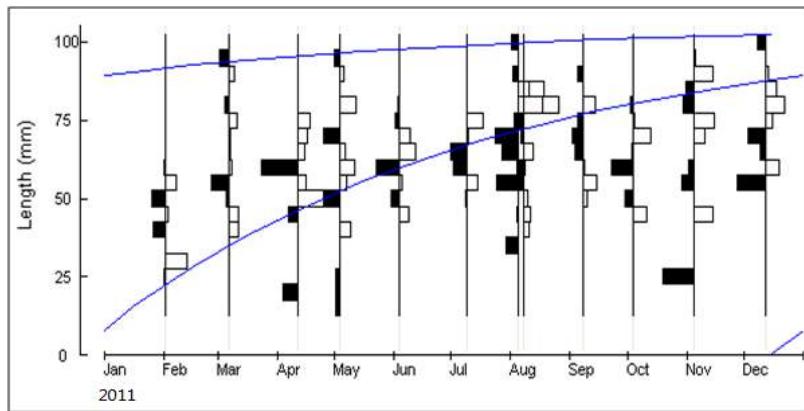


Figure 25: Distribution des fréquences de longueur restructurées et courbe de croissance chez *P. perna* provenant de Laouinate (données obtenues à l'aide du logiciel ELEFEN-I pour $L_{\infty}=105.33$ mm et $K=1.8$ ans $^{-1}$).

- Chez les moules de Laouinate, la longueur maximale observée est de 100 mm et la longueur maximale estimée est de 105,33 mm avec un intervalle de confiance à 95% de 99,18-120,19.
- Pour un t_0 nulle, l'équation de croissance de Von Bertalanffy, appliquée aux données relatives aux moules de Laouinate, donne les tailles de 27,38 mm, 47,6 mm, 62,56 mm, 73,62 mm, 81,84 mm et 87,9 mm pour, respectivement, les mois 2, 4, 6, 8, et 10 (fig. 26).

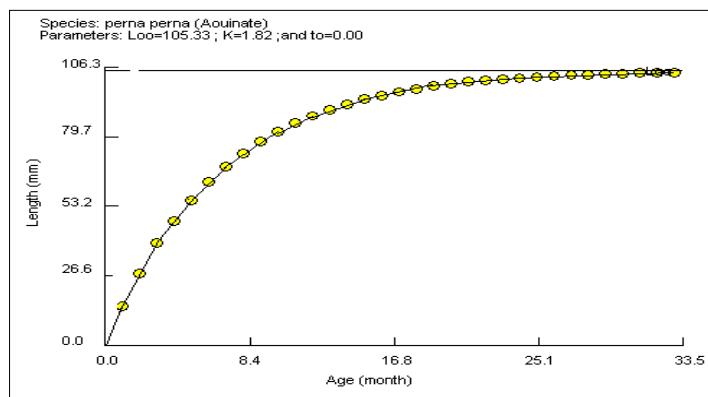


Figure 26 : Courbe de croissance de *P. perna* récoltée à Laouinate (Tracé réalisé à partir des paramètres de croissance calculés).

❖ Embouchure d'El Mellah :

La longueur asymptotique L_{∞} atteinte par les moules récoltées à l'embouchure d'El Mellah est égale à 123,4 mm avec un coefficient de croissance (K) de 0,32 ans $^{-1}$ (tab. 3, fig.

27) ; le tracé de la courbe de croissance, effectué à partir des paramètres calculés, est représenté à travers la distribution des longueurs restructurées dans la figure 27.

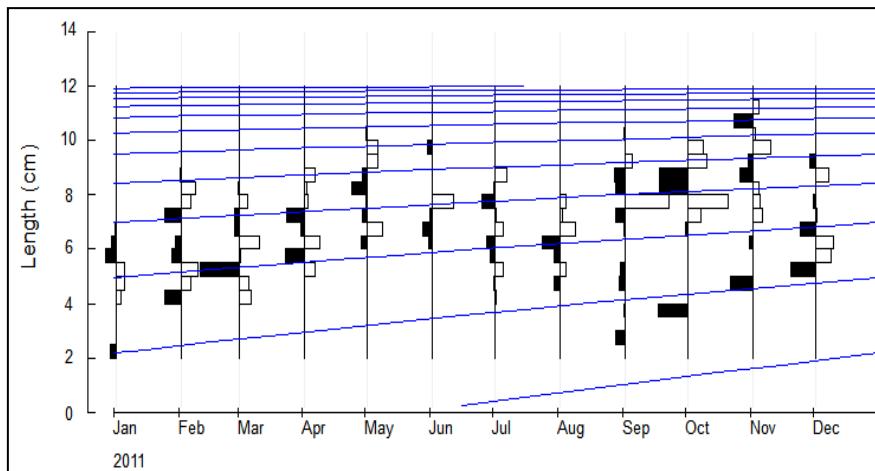


Figure 27 : Distribution des fréquences de longueur restructurées et courbe de croissance chez *P. perna* provenant de l'embouchure d'El Mellah (données obtenues à l'aide du logiciel ELEFEN-I pour $L_{\infty}=123.4$ mm et $K=0.32 \text{ ans}^{-1}$).

- Chez les moules de l'embouchure d'El Mellah, la longueur maximale observée est de 117,5mm et la longueur maximale estimée est de 117,5 mm avec un intervalle de confiance à 95% de 105.9-129.1mm.
- Pour un t_0 nulle, l'équation de croissance de Von Bertalanffy appliquée aux données relatives aux moules de l'embouchure d'El Mellah donne les tailles de 58,33 mm, 89,09 mm, 105,3 mm, 113,86 mm et 118,36 mm pour, respectivement, les mois 2, 4, 6, 8, et 10 (fig. 28).

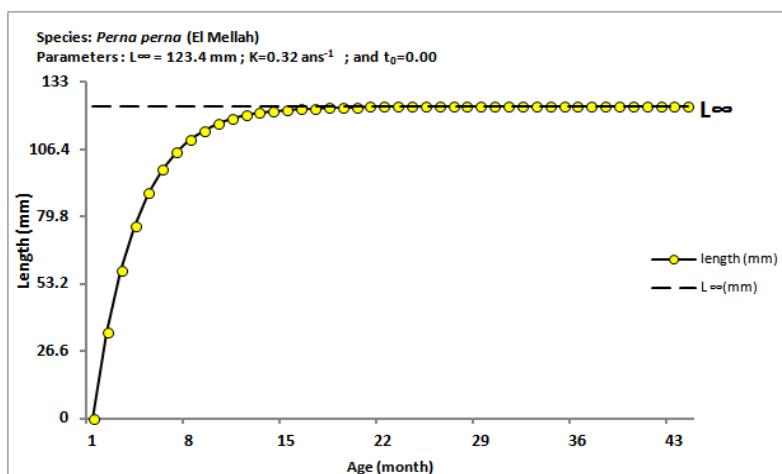


Figure 28: Courbe de croissance de *P. perna* récoltée à l'embouchure du lac El Mellah (Tracé réalisé à partir des paramètres de croissance calculés).

■ **Embouchure de la Messida :**

La longueur asymptotique L_∞ atteinte par les moules de l'embouchure de Messida est égale à 91,9mm avec un coefficient de croissance (K) de $0,59\text{ans}^{-1}$; le tracé de la courbe de croissance effectué sur la base des paramètres calculés est représenté à travers la distribution des longueurs restructurées dans la figure 29.

Chez les moules de l'embouchure de la Messida, la longueur maximale observée est de 87.5 mm et la longueur maximale estimée est de 86.8mm avec un intervalle de confiance à 95% de 82.3 – 91.4mm.

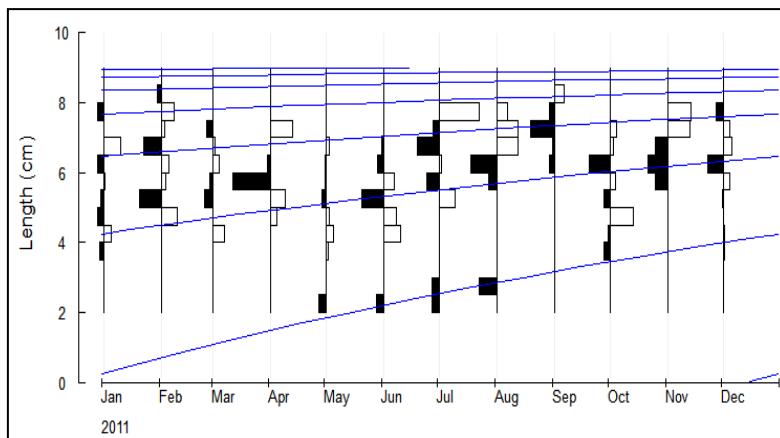


Figure 29: Distribution des fréquences de longueur restructurées et courbe de croissance chez *P. perna* provenant de l'embouchure de Messida (données obtenues à l'aide du logiciel ELEFEN-I pour $L_\infty=91.9\text{mm}$ et $K=0.59\text{ ans}^{-1}$).

Pour un t_0 nulle, l'équation de croissance de Von Bertalanffy appliquée aux données relatives aux moules de l'embouchure de la Messida donne les tailles de 63,66 mm, 83,22 mm, 89,23 mm, 91,08 mm et 91,64 mm pour, respectivement, les mois 2, 4, 6, 8, et 10 (fig. 30).

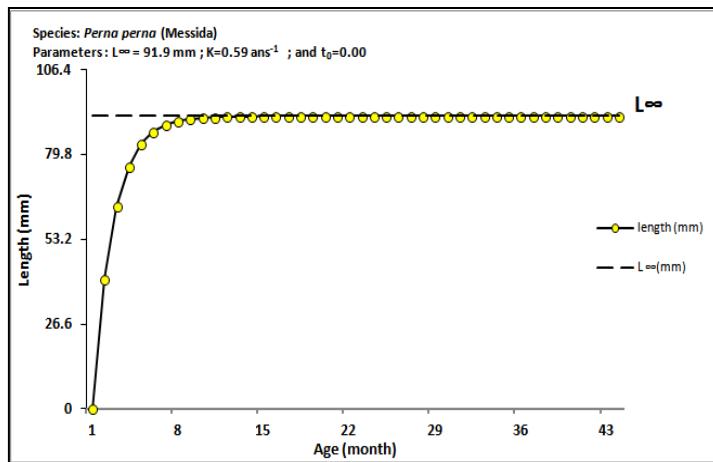


Figure 30: Courbe de croissance de *P. perna* récoltée à l'Embouchure de la Messida (Tracé réalisé à partir des paramètres de croissance calculés).

2.4.Croissance relative :

2.4.1. Croissance relative à caractère métrique :

✚ Le golfe d'Annaba :

Les résultats de l'équation de régression reliant les paramètres linéaires deux à deux (longueur totale (Lt) et largeur (La), longueur totale (Lt) et épaisseur (Ep), largeur (La) et épaisseur (Ep)) chez la moule *P. perna* récoltée dans le Golfe d'Annaba durant les deux campagnes, sont résumés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Équation de régressions reliant, deux à deux longueur totale (Lt), largeur (La) et épaisseur (Ep), chez la moule *P. perna* récoltée dans le Golfe d'Annaba.

Année	Sites	N	X	Y	Equation biométrique	R2	Relation biométrique	Seuil de significativité
2011	Lehnaya	600	Longueur	Largeur	$La = 0.424 Lt^{0.031}$	87.4	Allométrie négative	0.000 ***
			Longueur	Epaisseur	$Ep = 5.65E^{-02} Lt^{0.031}$	84	Allométrie négative	0.000***
			Largeur	Epaisseur	$Ep = -0.138 La^{0.089}$	78	Allométrie négative	0.000***
	Cap de Garde	600	Longueur	Largeur	$La = 0.582 Lt^{0.029}$	78	Allométrie négative	0.000***
			Longueur	Epaisseur	$Ep = -4.056E^{-02} Lt^{0.033}$	86	Allométrie négative	0.000***
			Largeur	Epaisseur	$Ep = -0.263 La^{0.091}$	72	Allométrie négative	0.000***
2012	Lehnaya	600	Longueur	Largeur	$La = 0.679 Lt^{0.030}$	85	Allométrie négative	0.000 ***
			Longueur	Epaisseur	$Ep = -0.116 Lt^{0.038}$	85.5	Allométrie négative	0.000***
			Largeur	Epaisseur	$Ep = -0.478 La^{0.105}$	72.1	Allométrie négative	0.000***
	Cap de Garde	600	Longueur	Largeur	$La = -0.263 Lt^{0.091}$	81.3	Allométrie négative	0.000***
	Longueur	Epaisseur	$Ep = 2.598E^{-02} Lt^{0.037}$	84	Allométrie négative	0.000***		
	Largeur	Epaisseur	$Ep = 0.141 La^{0.078}$	65.5	Allométrie négative	0.000***		

L'analyse des résultats obtenus après détermination des différentes droites de régression montre l'existence de bonnes corrélations entre la longueur totale et la largeur, entre la longueur totale et l'épaisseur et entre la largeur et l'épaisseur, avec de bons coefficients de détermination (R^2) témoignant de l'existence d'une différence très hautement

significative ($P < 0.001$) entre l'évolution de ces paramètres chez les moules des deux sites et durant toute la période de l'étude (Tab. 4).

Une allométrie négative fait ressortir chez les moules provenant des deux sites et durant les deux campagnes que l'épaisseur croît moins vite que la largeur, et que ces deux paramètres linéaires croient moins vite que la longueur (Tab. 4).

Le littoral d'El Kala :

Les résultats de l'équation de régression reliant les paramètres linéaires deux à deux (longueur totale (Lt) et largeur (La), longueur totale (Lt) et épaisseur (Ep), largeur (La) et épaisseur (Ep)) chez la moule *P. perna* peuplant le littoral d'El Kala, sont résumés dans le tableau 5 :

Tableau 5 : Équations de régression reliant, deux à deux longueur totale (Lt), largeur (La) et épaisseur (Ep), chez la moule *P. perna* récoltée dans le littoral d'El Kala.

Sites	N	X	Y	Equation biométrique	R2	Relation biométrique	Seuil de significativité
Laouinate	600	Longueur	Largeur	$La = 7.631 Lt^{0.285}$	72	Allométrie négative	0.000***
		Longueur	Epaisseur	$Ep = 2.638 Lt^{0.295}$	58	Allométrie négative	0.000***
		Largeur	Epaisseur	$Ep = 1.605 La^{0.762}$	43.4	Allométrie négative	0.000***
El Mellah	360	Longueur	Largeur	$La = 0.649 Lt^{0.321}$	68.3	Allométrie négative	0.000***
		Longueur	Epaisseur	$Ep = -0.243 Lt^{0.395}$	74	Allométrie négative	0.000***
		Largeur	Epaisseur	$Ep = -0.194 La^{0.938}$	63	Allométrie négative	0.000***
La Messida	360	Longueur	Largeur	$La = 0.29 Lt^{0.83}$	56	Allométrie négative	0.000***
		Longueur	Epaisseur	$Ep = 0.38 Lt^{-0.14}$	59	Allométrie négative	0.000***
		Largeur	Epaisseur	$Ep = 0.89 La^{-0.195}$	52	Allométrie négative	0.000***

Chez la moule *P. perna* prélevée dans les trois sites du littoral d'El Kala (à savoir Laouinate, El Mellah et la Messida), l'analyse des résultats obtenus après détermination des différentes droites de régression montre l'existence de bonnes corrélations entre la longueur totale et la largeur, la longueur totale et l'épaisseur et entre la largeur et l'épaisseur avec de bons coefficients de détermination R^2 témoignant de l'existence d'une différence très hautement significative ($P = 0.000$) entre l'évolution de ces paramètres chez les individus collectés. Cette allométrie négative fait ressortir que chez les moules provenant du littoral d'El Kala, la largeur et l'épaisseur croient moins vite que la longueur et que l'épaisseur croît moins vite que la longueur et la largeur (Tab. 5).

2.4.2. Croissance relative (taille-poids) :

Le golfe d'Annaba :

Les résultats de l'estimation de la croissance relative de la moule *P. perna* par l'application de l'équation allométrique reliant la longueur totale au poids total sont consignés dans le tableau 6 ci-dessous.

Tableau 6 : Équation de régression reliant la longueur totale (Lt) et le poids total (Pt), chez *P. perna* provenant du Golfe d'Annaba

Année	Sites	N	X	Y	Equation biométrique	R2	Relation biométrique	Seuil de significativité
2011	Lehnaya Cap de Garde	600	Longueur	Poids	$Pt = -18.321 Lt^{0.58}$	84.8	Allométrie minorante	0.000***
		600	Longueur	Poids	$Pt = -11.184 Lt^{0.45}$	85.1	Allométrie minorante	0.000***
2012	Lehnaya Cap de Garde	600	Longueur	Poids	$Pt = -30.39 Lt^{0.78}$	90.9	Allométrie minorante	0.000***
		600	Longueur	Poids	$Pt = -8.315 Lt^{0.37}$	78.5	Allométrie minorante	0.000***

Il ressort du tableau 6, l'existence d'une allométrie minorante avec un bon coefficient de détermination R^2 , témoignant d'une différence très hautement significative ($P = 0.000$) entre l'évolution du poids et la longueur totale des individus. Cette allométrie fait ressortir que chez ces bivalves le poids croît moins vite que la taille (Tab. 6).

Une différence très hautement significative ($P < 0.000$) a été enregistrée dans l'évolution de la longueur totale, la largeur, l'épaisseur et le poids total des moules entre les deux sites durant les deux campagnes d'étude (test Wilcoxon-Mann-Whitney).

L'application de la MANOVA a fait ressortir des différences allant de hautement significative à très hautement significative pour l'évolution du poids total ainsi que la longueur totale des moules en fonction des sites, saisons, années (tab. 7). Cette analyse montre que le Pt et la Lt diffèrent significativement:

- ✓ Entre les deux campagnes I et II (avec $p=0.000$ et 0.002 respectivement) et sont plus importants durant la 1^{ère} campagne.
- ✓ En fonction des saisons (avec $p=0.000$ et 0.004 respectivement) et sont plus importants en automne pour le Pt et en hiver pour la Lt.
- ✓ En fonction des sites (avec $p=0.000$ pour les deux paramètres) et sont plus importants chez les moules de Lahnaya.

Tableau 7 : Résultats de la MANOVA appliquée dans la comparaison de la longueur totale et le poids total en fonction de sites, saisons, années et leurs interactions (moule *P. perna* du Golfe d'Annaba).

Effet	Test	Valeur du test	F _{obs}	P
Intercept	Pillai's Trace	0.968	36494,564	0.000***
	Wilks' Lambda	0.032	36494,564	0.000***
	Hotelling's Trace	30.629	36494,564	0.000***
	Roy's Largest Root	30.629	36494,564	0.000***
Saison	Pillai's Trace	0.081	33.735	0.000***
	Wilks' Lambda	0.919	34,417	0.000***
	Hotelling's Trace	0.088	35.098	0.000***
	Roy's Largest Root	0.087	69,116	0.000***
Année	Pillai's Trace	0.177	255,981	0.000***
	Wilks' Lambda	0.823	255,981	0.000***
	Hotelling's Trace	0.215	255,981	0.000***
	Roy's Largest Root	0.215	255,981	0.000***
site	Pillai's Trace	0.225	346,763	0.000***
	Wilks' Lambda	0.775	346,763	0.000***
	Hotelling's Trace	0.291	346,763	0.000***
	Roy's Largest Root	0.291	346,763	0.000***
Saison * Année	Pillai's Trace	0.018	7.093	0.000***
	Wilks' Lambda	0.982	7,098	0.000***
	Hotelling's Trace	0.018	7.103	0.000***
	Roy's Largest Root	0.013	10,662	0.000***
Saison * site	Pillai's Trace	0.063	26.011	0.000***
	Wilks' Lambda	0.937	26,331	0.000***
	Hotelling's Trace	0.067	26.651	0.000***
	Roy's Largest Root	0.063	49,986	0.000***
Année * site	Pillai's Trace	0.128	174,253	0.000***
	Wilks' Lambda	0.872	174,253	0.000***
	Hotelling's Trace	0.146	174,253	0.000***
	Roy's Largest Root	0.146	174,253	0.000***
Saison * Année * site	Pillai's Trace	0.029	11.871	0.000***
	Wilks' Lambda	0.971	11,941	0.000***
	Hotelling's Trace	0.030	12.011	0.000***
	Roy's Largest Root	0.029	23,048	0.000***

 **Le littoral d'El Kala :**

Les résultats de l'estimation de la croissance relative de la moule *P. perna* par l'application de l'équation allométrique reliant la longueur totale au poids total sont consignés dans le tableau 8.

Tableau 8: Équation de régression reliant la longueur totale (Lt) et le poids total (Pt), chez *P. perna* provenant du littoral d'El Kala.

Sites	N	X	Y	Equation biométrique	R ²	Relation biométrique	Seuil de significativité
Laouinate	600	Longueur	Poids	Pt = 0.237 Lt ^{2.31}	81	Allométrie minorante	0.000***
El Mellah	360	Longueur	Poids	Pt = -0.325 Lt ^{2.13}	75.8	Allométrie minorante	0.000***
La Messida	360	Longueur	Poids	Pt = -0.61 Lt ^{2.46}	81.6	Allométrie minorante	0.000***

L'estimation de la croissance relative, de l'espèce *P. perna*, par l'équation reliant la longueur totale au poids total, à partir de 600 individus au niveau de Laouinate et 360 individus pour les sites El Mellah et la Messida, montre l'existence d'une allométrie minorante avec un très bon coefficient de détermination R² témoignant d'une différence très hautement significative (P = 0.000) entre l'évolution du poids et la longueur totale des individus (Tab.8). L'allométrie observée fait apparaître que le poids des moules des trois sites croît moins vite que leur taille.

3. Reproduction :

3.1.Indice de condition et ponte :

 **Le Golfe d'Annaba :**

Chez les moules du Cap de Garde, les valeurs de l'IC oscillent entre 3.10 et 4.83 durant la campagne I et entre 2.08 et 5.47 durant la campagne II (avec une moyenne $m \pm s = 4.13 \pm 0.5$ et 3.89 ± 0.98 respectivement) (tab. 9, fig. 31). A Lehnaya, ces valeurs varient de 2.9 à 4.56 ($m \pm s = 3.7 \pm 0.45$) durant la campagne I et de 2.43 à 5.87 ($m \pm s = 3.98 \pm 1.16$) durant la campagne II (tab. 9, fig. 31).

Tableau 9 : Variations mensuelles de l'indice de condition ($m \pm s$, $n=10$) chez *P. perna* récoltée dans le Golfe d'Annaba

Mois	Campagne I		Campagne II	
	Cap de Garde	Lehnaya	Cap de Garde	Lehnaya
Jan.	3.89±0.52	4.56±0.35	4.07±0.81	3.21±0.90
Fév.	4.16±0.41	3.63±0.80	3.25±0.80	4.19±0.66
Mar.	4.83±0.76	3.69±0.51	3.47±0.61	5.32±0.85
Avr.	3.77±0.66	3.51±0.53	4.04±0.69	5.87±0.70
Mai.	4.58±0.43	4.18±0.91	5.47±1.36	5.66±0.82
Juin.	3.94±0.48	4.05±0.68	4.78±1.20	4.41±0.84
Juill.	4.56±0.52	3.75±0.38	4.64±1.11	3.96±0.33
Aout.	4.74±0.88	3.97±0.62	4.55±1.26	3.84±0.53
Sept.	4.33±0.50	4.34±0.45	2.50±1.33	3.06±0.49
Oct.	3.66±0.47	3.22±0.46	3.34±1.10	2.55±0.41
Nov.	3.96±0.45	3.61±0.42	2.08±1.41	3.17±0.71
Dec.	3.10±0.45	2.90±0.36	4.38±1.05	2.42±0.29

Durant la campagne I, la valeur moyenne de l'indice de condition des moules du Cap de Garde est supérieure à celle de Lehnaya ; en revanche, lors de la campagne II les valeurs de l'indice de condition enregistrées dans les deux sites sont assez proches (tab. 9, fig. 31).

L'application du test de Wilcoxon révèle l'existence, entre les deux sites, d'une différence hautement significative ($p = 0,016$) lors de la campagne I et non significative ($p = 0,75$) lors de la campagne II.

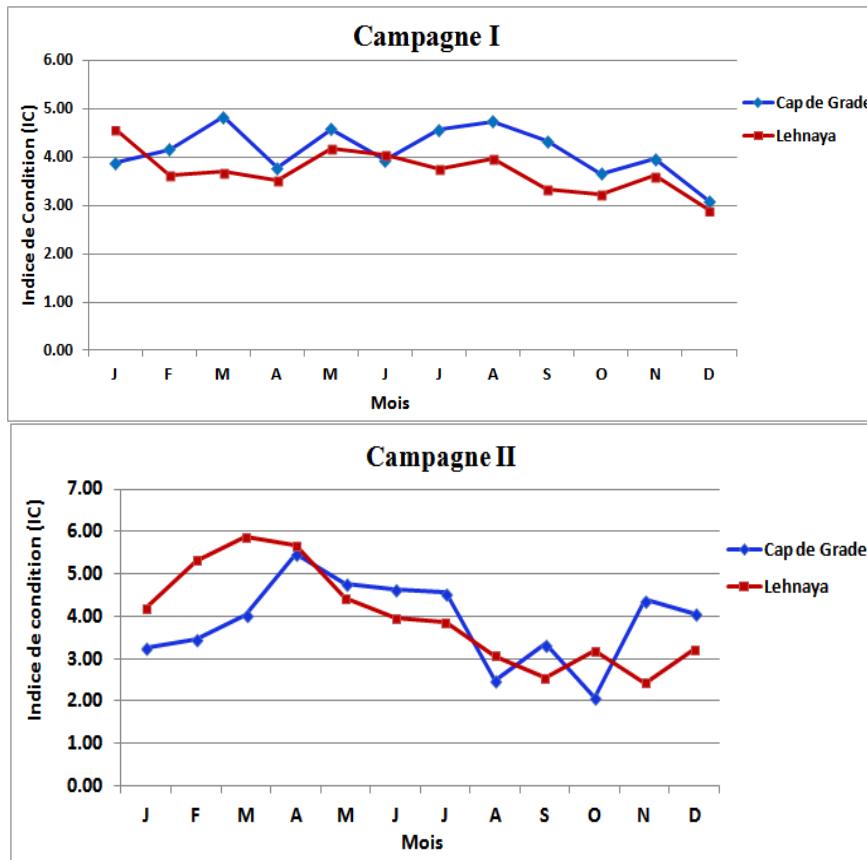


Figure 31 : Variations spatiotemporelles des valeurs de l'indice de condition des moules du Golfe d'Annaba

Durant la campagne I, les valeurs moyennes saisonnières de l'indice de condition des moules des deux sites montrent une évolution similaire ; cet indice atteint sa valeur la plus basse en automne puis augmente progressivement en hiver et au printemps pour atteindre sa valeur maximale en été. En revanche, lors de la campagne II, l'indice de condition des moules des deux sites atteint sa valeur maximale au printemps puis entame une baisse progressive en été pour atteindre sa valeur minimale en automne et ensuite augmenter en hiver (tab. 9, fig. 31).

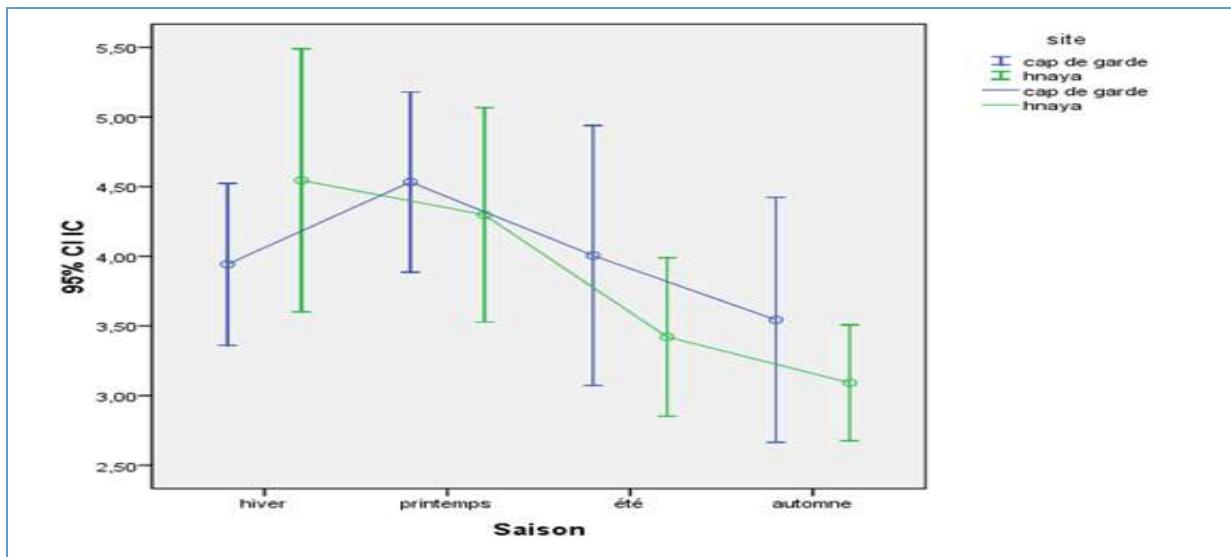


Figure 32 : Graphe GLM représentant les variations saisonnières de l’indice de condition des moules récoltées dans les deux sites du Golfe d’Annaba durant les deux campagnes I et II (graphe GLM).

La comparaison des valeurs saisonnières de l’indice de condition par l’application du modèle linéaire généralisé (GLM), fait apparaître l’existence d’une différence très hautement significative ($p = 0,001$) entre les saisons pour les deux sites et durant les deux campagnes (fig. 32).

Si nous considérons que la chute de l’indice de condition des moules correspond à la perte de matière relative à l’émission de gamètes, nous pouvons dire, compte tenu des résultats statistiques, que la phase de ponte se déroulerait principalement en période automnale dans les deux moulières échantillonnées (fig. 31, 32). En revanche, si nous tenons compte des variations mensuelles de l’IC ainsi que des résultats de l’étude histologique des gonades des moules collectées dans les deux sites et durant les deux campagnes, pour déterminer les phases du cycle de reproduction, nous pouvons dire qu’il existe un décalage entre les différentes phases du cycle aussi bien entre les sites qu’entre les sexes.

Le littoral d’El Kala :

Les valeurs de l’indice de condition des moules provenant des trois sites montrent des fluctuations similaires (tab. 10, fig. 33); elles sont faibles en période automnale et hivernale puis affichent une hausse progressive au printemps pour atteindre un maximum en avril pour Laouinate, en mai pour El Mellah et en juillet pour la Messida.

Nous notons toutefois, que les moules de Laouinate montrent les valeurs de l'indice de condition les plus élevées variant de 3.02 en octobre à 4.26 en avril (avec une moyenne $m \pm s$ de 3.69 ± 0.37) ; ces dernières sont suivies par les moules de l'embouchure d'El Mellah dont l'indice de condition est compris dans l'intervalle 2.17 (en décembre) – 4.74 (en mai) (avec $m \pm s = 3.36 \pm 0.74$). Ce sont, en revanche, les moules de l'embouchure de la Messida qui présentent les valeurs de l'indice de condition les plus faibles, variant de 1.93(en décembre) à 4.05 (en juillet) avec une moyenne $m \pm s = 3.06 \pm 0.73$ (tab. 10, fig. 33).

Tableau 10 : Variations mensuelles de l'indice de condition chez *P. perna* provenant du littoral d'El Kala

mois	Laouinate ($m \pm s$, $n=50$)	El Mellah ($m \pm s$, $n = 30$)	La Messida ($m \pm s$, $n = 30$)
janvier	3.14 ± 0.78	2.86±0.68	2.56±1.81
février	3.59 ± 0.39	2.74±0.32	2.46±0.47
mars	3.48 ± 0.65	3.6±2.36	3.92±0.76
avril	4.26 ± 0.56	4.19±1.83	3.88±0.53
mai	4.05 ± 0.78	4.74±4.98	2.88±0.56
juin	4.01 ± 0.36	3.45±0.75	3.66±0.72
juillet	3.83 ± 0.64	3.53±1.09	4.05±2.22
août	3.96 ± 0.62	3.63±0.89	3.71±1.65
septembre	3.88 ± 0.82	3.79±3.36	2.38±0.48
octobre	3.02 ± 0.62	3.27±0.81	2.67±1.27
novembre	3.61 ± 0.32	2.35±0.80	2.7±0.66
décembre	3.45 ± 0.47	2.17±0.35	1.93±0.37

Si nous considérons que la chute de l'indice de condition des moules correspond à la perte de matière relative à l'émission de gamètes, nous pouvons dire, compte tenu des

résultats obtenues, que la phase de ponte se déroulerait principalement en période automnale dans les trois moulières échantillonnées (tab. 10, fig. 33) avec des pontes partielles étalées tout au long de l'année avec un décalage entre les différentes phases du cycle entre sites et sexes.

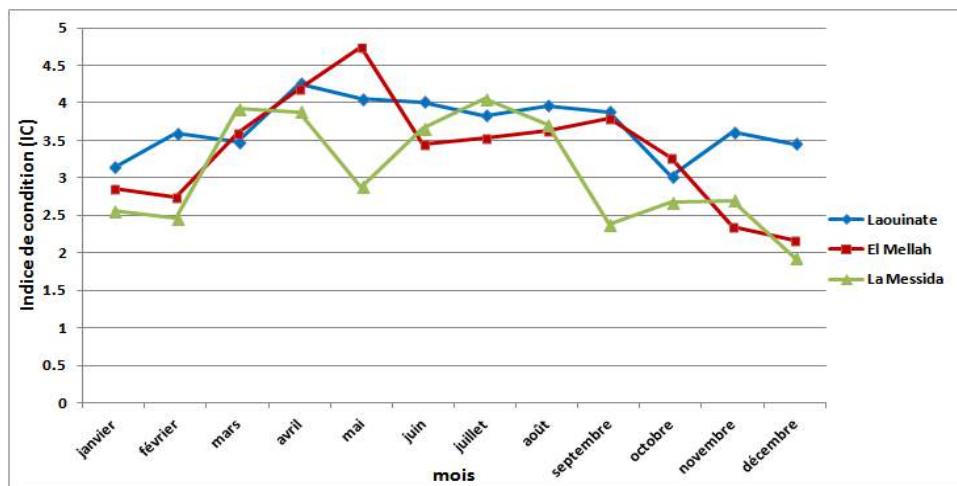


Figure 33 : Variations spatiotemporelles des valeurs de l'indice de condition des moules récoltées dans le littoral d'El Kala

3.2.Cycle de reproduction

✚ Le Golfe d'Annaba :

Les résultats de l'observation des coupes histologiques de gonades femelles et mâles de la moule *Perna perna* prélevée durant cette période d'étude sont consignés dans le tableau 11, figures 34 et 35 :

Tableau 11 : Etats des gonades de la moule *Perna perna* collectée dans le Golfe d'Annaba.

Mois	Campagne I				Campagne II			
	Cap de garde		Lehnaya		Cap de garde		Lehnaya	
	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle
janvier	St III C	St III C	St II, St III A	St II, St III A	St III A	St III A	St III C	St III C
février	St II	St II	St III B	St III B	St III B	St III B	St III C	St III C
mars	St III A	St III A	St III C	St III C	St III C	St III C	St II	St III C, St II
avril	St III B	St III B	St III C, St III A	St III B, St III C	St II	St II	St II	St II
mai	St III C, St II	St III C, St II	St II	St II	St II	St II	St III A	St III A
juin	St III D	St III D	St II	St II	St 0	St 0	St III B	St III B
juillet	St II, St III A	St II, St III A	St III A	St III A	St II, St III A	St II, St III A	St III B, St III D	St III D
août	St III A	St III A	St III A	St III A	St II, St III A	St III A	St II, St III A	St II, St III A
septembre	St III B	St III B	St III B	St III B	St III B, St III C	St III B, St III C	St III B	St III A
octobre	St III B	St III B	St III B	St III B	St III A	St II	St III B	St III B
novembre	St III C, St II	St III C, St II	St III C	St III C	St III B	St III B	St III C	St III C
décembre	St III B	St III B	St III D	St III D	St III C, St II	St III C, St II	St III B	St III B

A Lehnaya, les gonades femelles et mâles des moules de la campagne I, enregistrent une phase de gamétogénèse suivie d'une phase de maturité génitale au mois de janvier boostée par des valeurs relativement élevées en MES dans l'eau, engendant l'atteinte de la valeur maximale de l'IC (4.56 ± 0.35). En février, l'IC baisse et sa valeur se stabilise jusqu'au mois d'avril ; cette baisse correspondrait à une phase d'émission de gamètes chez les deux sexes à laquelle fait suite une phase de restauration des gonades en mars et en avril. Chez les mâles, une phase de maturité génitale est entamée en avril ; en revanche, chez les femelles nous notons une phase d'émission partielle de gamètes à l'origine d'une légère baisse de l'IC. Chez les deux sexes, une deuxième phase de gamétogénèse est déclenchée suite à une légère élévation de MES et l'augmentation progressive de la T°C de l'eau ; ces variations font monter les valeurs de l'IC de 3.51 ± 0.53 (avril) à 4.18 ± 0.91 (mai). De juillet à août, les gonades arrivent à maturité et une ponte a lieu en septembre et octobre ; cette phase est illustrée par la baisse des valeurs de l'IC. En novembre, une phase de restauration des gonades est notée, chez les deux sexes, menant à l'élévation des valeurs de l'IC qui chute, en décembre, pour atteindre sa valeur minimale (2.90 ± 0.36) illustrée par un arrêt de l'activité sexuelle et la constitution des réserves (tab. 11, fig. 31).

Au mois de janvier, les gonades des moules du Cap de Garde sont en phase de restauration à laquelle fait suite une phase de gamétogénèse en février. Les individus précoces entrent, en mars, en phase de maturité génitale et sont prêts à pondre en avril ; cette période est illustrée par la chute des valeurs de l'IC de 4.83 ± 0.76 (en mars) à 3.77 ± 0.66 (en avril). La gamétogénèse se poursuit en mai, chez les individus tardifs avec une phase de restauration des gonades chez les individus précoces. En juin, les moules du Cap de Garde sont en arrêt d'activité génitale et en phase de reconstitution des réserves qui les mènera, en juillet, vers une deuxième phase de gamétogénèse chez les individus tardifs et une maturité génitale chez les individus précoces. En août, la majorité des individus sont mûres et l'IC montre un maximum de 4.74 ± 0.88 suivi d'une baisse progressive en septembre et octobre correspondant à la phase d'émission de gamètes chez les deux sexes. Une restauration des gonades avec une phase de gamétogénèse est observée en novembre. Les individus précoces, boostés par la baisse de la T°C de l'eau et l'élévation de MES, atteignent leur maturité génitale et entament, en décembre, une nouvelle vague d'émission de gamètes menant à la baisse de l'IC à un minimum de 3.10 ± 0.45 (tab. 11, fig. 31).

Les gonades femelles et mâles provenant de la deuxième série de prélèvement (campagne II) au niveau du Cap de Garde, enregistrent, en février, une phase d'émission

partielle de gamètes, suivie, en mars, d'une restauration des gonades. Le pic d'avril, de la Chlorophylle « a », enclenche une phase de gamétogénèse qui dure jusqu'au mois de mai.

Durant la période s'étalant de février à mai l'IC enregistre une hausse progressive passant de 3.25 ± 0.80 (en février) à 5.47 ± 1.36 (en mai). En juin, les moules entrent en phase de repos ce qui fait baisser les valeurs de l'IC (4.78 ± 1.20) avec une élévation de la température et la chute des teneurs en MES et chlorophylle « a » ;

L'apparition du deuxième pic de la chlorophylle « a » et l'augmentation des teneurs en MES des eaux relevés en juillet favoriseraient la reprise d'activité sexuelle chez les moules illustrée par une phase de gamétogénèse et une maturité génitale qui se poursuivent jusqu'au mois d'août. La chute de l'IC, en septembre (2.50 ± 1.33), correspondrait à une phase d'émission de gamètes suivie d'une phase de restauration des gonades. En octobre, la légère hausse de l'IC serait engendrée par une gamétogénèse chez les femelles et une maturité génitale chez les mâles. Une deuxième vague d'émission de gamètes est enregistrée, en novembre, occasionnant une baisse de l'IC qui atteint sa valeur minimale (2.08 ± 1.41). Le deuxième pic de décembre et janvier enregistré par les MES et la chlorophylle « a » serait à l'origine du déclenchement de la phase de restauration des gonades et la gamétogénèse et un début de maturité génitale noté en janvier (tab. 11, fig. 31).

Les gonades femelles, de la campagne II de Lehnaya présentent, en février, une phase de restauration des gonades qui se poursuit jusqu'au mois de mars. En avril, les gonades montrent une phase de gamétogénèse illustrée par une augmentation progressive des valeurs de l'IC qui atteignent un maximum de 5.87 ± 0.70 (en avril). En mai, l'IC baisse légèrement et le début de la phase de maturité génitale enregistrée chez les deux sexes coïnciderait avec la chute des teneurs en MES et de la chlorophylle « a ». En juin, se déclenche une phase d'émission de gamètes qui se poursuit chez les mâles jusqu'au mois de juillet pour ensuite marquer une phase d'arrêt d'activité génitale chez les deux sexes. En août, une reprise de l'activité génitale, illustrée par une phase de gamétogénèse chez les individus tardifs et une maturité génitale chez les individus précoces, est suivie par une nouvelle phase d'émission de gamètes chez les mâles en septembre et chez les deux sexes en octobre ; durant cette phase une baisse progressive de l'IC est notée. La légère hausse de ce dernier, en novembre, correspond à une phase de restauration des gonades suivie, en décembre, par une deuxième vague d'émission de gamètes chez les deux sexes et en janvier d'une phase de restauration des gonades (tab. 11, fig. 31).

Coupes histologiques montrant les différents stades du développement de la gonade mâle chez la moule *Perna perna* (GR \times 40 ; coloration hématoxyline de Harris et l'éosine).

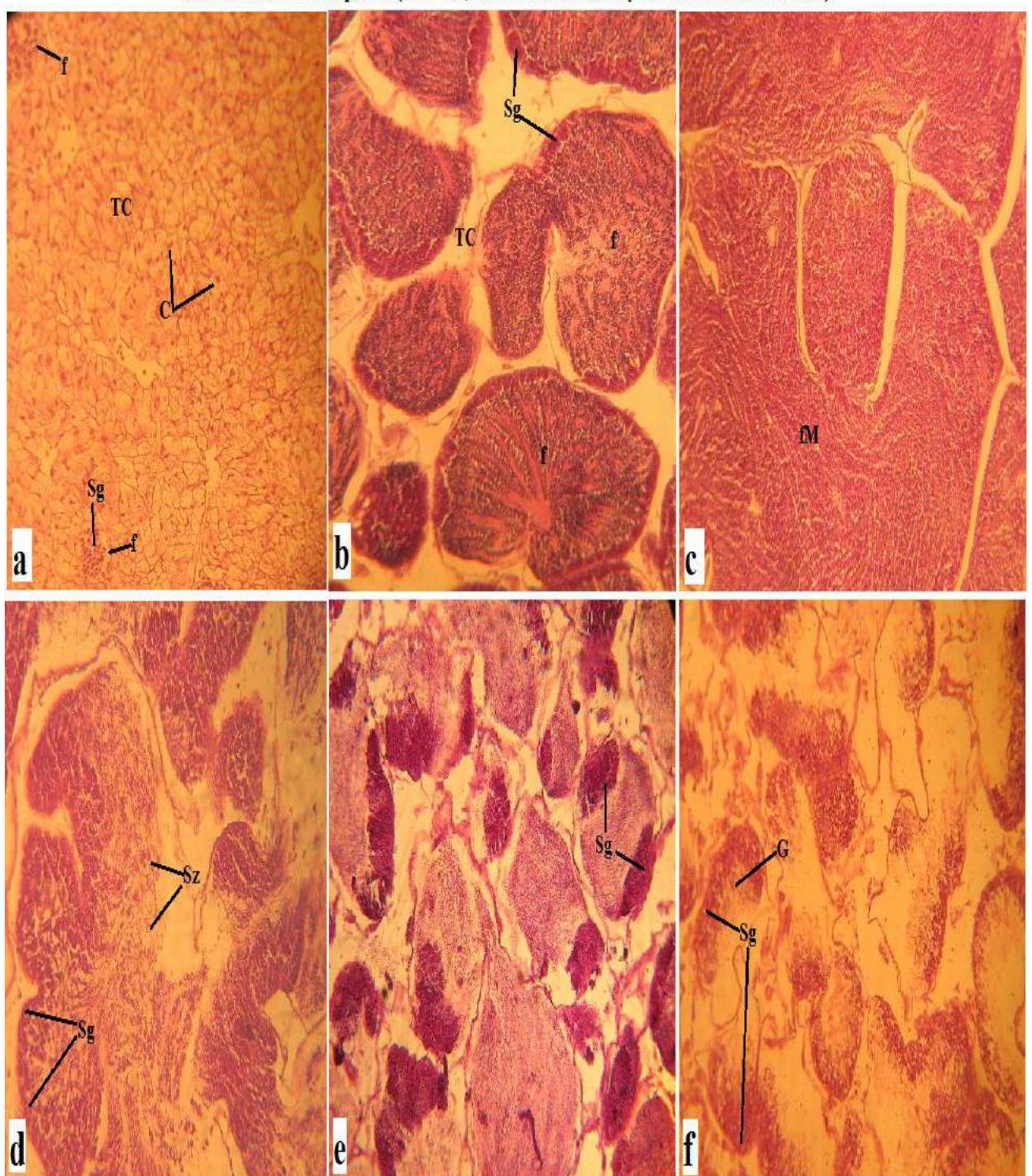


Figure 34 : Coupe histologiques montrant les différents stades du développement de la gonade mâle chez la moule *Perna perna*. a: stade I reprise de l'activité génitale, b : Stade II Gaméto-génèse, c : Stade IIIA Maturité sexuelle, d : Stade IIIB Emission des gamètes, e stade IIIC restructuration de la gonade, f : Stade IIID Arrêt de l'activité génitale et reconstitution des réserves. – f=follicule, fM=follicule en stade de maturité, TC=tissu conjonctif, Sg= spermatogonie, Sz=spermatozoïde, G=gonies de réserves, C=cellules adipo-granuleuse. (GR \times 40 ; coloration hématoxyline de Harris et l'éosine).

Coupes histologiques montrant les différents stades du développement de la gonade femelle chez la moule *Perna perna* (GR \times 40 ; coloration hématoxyline de Harris et l'éosine).

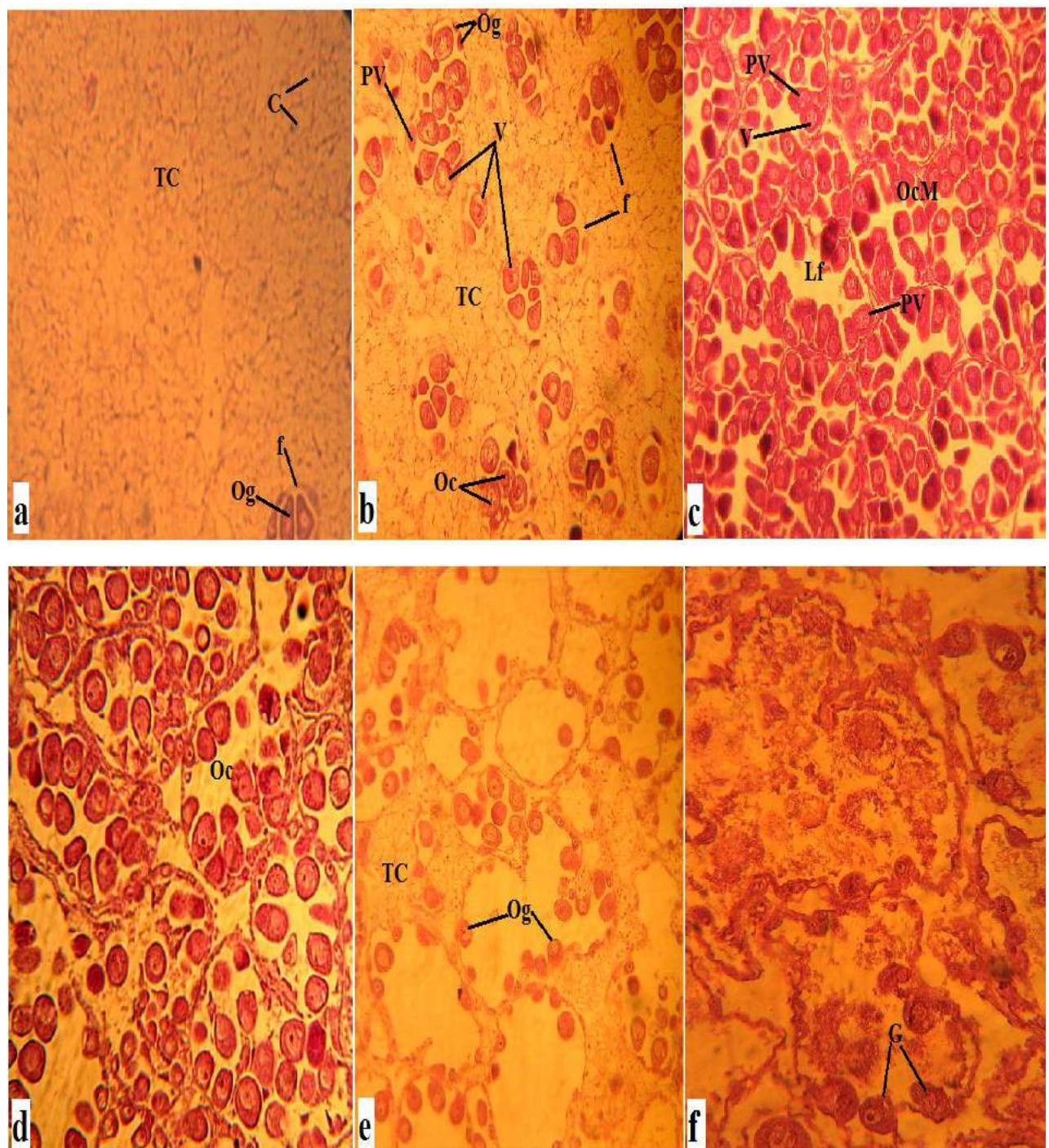


Figure 35 : Coupe histologiques montrant les différents stades du développement de la gonade femelle chez la moule *Perna perna*. a: stade I reprise de l'activité génitale, b : Stade II Gamétogenèse, c : Stade IIIA Maturité sexuelle, d : Stade IIIB Emission des gamètes, e : stade IIIC restructuration de la gonade, f : Stade IIID Arrêt de l'activité génitale et reconstitution des réserves. f : follicule, Og : oogonie, Oc : oocyte, TC : tissu conjonctif, G=gones de réserves, C=cellule adipo-granuleuse, Lf=lumière folliculaire, PV=oocyte en prévitellogénèse, V=oocyte en Vitellogénèse, OcM=oocyte mûre. (GR \times 40 ; coloration hématoxyline de Harris et l'éosine).

 **Le littoral d'El Kala :**

L'observation des coupes histologiques de gonades femelles et mâles de la moule *Perna perna* prélevée durant la période d'étude sont consignés dans le tableau 12 :

Tableau 12 : Etats des gonades de la moule *Perna perna* collectée dans le littoral d'El Kala

Mois	Laouinate		El Mellah		La Messida	
	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle
janvier	St II	St IIIB	St II, St IIIA			
février	St IIIA	St IIIC, St II	St IIIB	St IIIB	St IIIB	St IIIB
mars	St IIIB	St IIIA	St IIIC	St IIIC	St IIIC	St IIIC
avril	St IIIC	St IIIA	St II	St II	St II, St IIIA	St II, St IIIA
mai	St II	St IIIB	St II, St IIIA	St II, St IIIA	St IIIB	St IIIB
juin	St IIIA	St IIIC	St IIIB	St IIIB	St IIIC	St IIIC
juillet	St IIIB	St II	St IIIC	St IIIC	St II	St II
août	St IIIC, St II	St II	St II	St II	St IIIA	St IIIA
septembre	St IIIA	St IIIA	St IIIA	St IIIA	St IIIB	St IIIB
octobre	St IIIB	St IIIB	St IIIB	St IIIB	St IIIC	St IIIC
novembre	St IIIC	St IIIC	St IIIB	St IIIB	St II, St IIIA	St II, St IIIA
décembre	St II	St II	St IIIC	St IIIC	St IIIB	St IIIB

 **Laouinate :**

Un décalage d'un mois entre les différentes phases du cycle de reproduction des moules de Laouinate entre mâles et femelles est relevé de janvier jusqu'au mois d'août. Les gonades mâles présentent une phase de gamétogénèse en janvier suivie d'une phase de maturité génitale en février et une émission brève et partielle de gamètes en mars. En revanche, les gonades femelles, montrent une phase d'émission de gamètes en janvier suivie d'une phase de restauration et une gamétogénèse en février pour entrer en maturité génitale au mois de mars. Au mois d'avril, les gonades femelles sont matures et les gonades mâles sont en phase de restauration. Pendant ce temps, les valeurs de l'IC enregistrent une augmentation progressive, passant de 3.14 ± 0.78 (en janvier) à 4.26 ± 0.56 (en avril). Une phase de gamétogénèse chez les mâles et une phase d'émission de gamètes chez les femelles sont enregistrées en mai. Les gonades mâles arrivent à maturité génitale en juin pour émettre leurs gamètes en juillet et restaurer leur gonade en août ; les gonades femelles sont en phase de restauration suivie d'une gamétogénèse en juillet pour atteindre leur maturité génitale en septembre avec la deuxième phase de maturité chez les mâles. L'IC enregistre une très faible amplitude de variabilité durant toute cette période d'asynchronie de phases du développement gonadique entre mâles et femelles, ceci s'expliquerait par une sorte de compensation entre

perte et gain de poids entre les deux sexes. En octobre, les moules de Laouinate sont en phase de ponte synchrone entre mâles et femelles marquant la chute de la valeur de l'IC à un minimum de 3.02 ± 0.62 . Les moules de ce site restaurent leurs gonades en novembre et entrent en une nouvelle phase de gamétogénèse au mois de décembre (tab. 12, fig. 33).

✚ Embouchure d'El Mellah :

Les moules récoltées à l'embouchure de la lagune El Mellah montrent, selon les observations histologiques des gonades, un synchronisme de phases du cycle de développement gonadique entre mâles et femelles.

Une phase de gamétogénèse et une maturité génitale sont observées en mois de janvier suivies d'une émission très brève de gamètes en février illustrée par une légère baisse de la valeur de l'IC. De mars jusqu'au mois de mai les moules suivent la chronologie du cycle sexuel décrite par Lubet (1959), commençant par une phase de restauration de gonade en mars pour atteindre leur maturité génitale en mai. L'IC enregistre durant cette période du cycle sexuel, une augmentation progressive de ces valeurs avec un maximum de 4.74 ± 4.98 (en mai). Une deuxième phase d'émission de gamètes fait chuter la valeur de l'IC à 3.45 ± 0.75 (en juin) suivie d'une très légère augmentation durant la période allant de juillet à septembre pendant laquelle les moules du site entament un deuxième cycle de reproduction (restauration, gamétogénèse et maturité génitale). D'octobre à novembre, on assiste à une troisième phase de ponte marquée par une baisse progressive des valeurs de l'IC jusqu'à un minimum de 2.17 ± 0.35 (en décembre) correspondant à une phase de restauration de gonade (tab. 12, fig. 33).

✚ Embouchure de la Messida :

Selon les observations histologiques des gonades, les moules récoltées à l'embouchure de la Messida montrent un synchronisme de phases du cycle de développement gonadique entre mâles et femelles comme celles de l'embouchure de la lagune El Mellah.

Les coupes histologiques des gonades mâles et femelles des moules de la Messida montrent, en janvier, une phase de gamétogénèse avec une maturité génitale suivie, en février, d'une phase d'émission de gamètes accompagnée d'une très légère baisse de l'IC. En mars est enregistrée une phase de restauration des gonades accompagnée d'une augmentation importante de la valeur de l'IC passant de 2.46 ± 0.47 (en février) à 3.92 ± 0.76 (en mars). Une deuxième phase d'émission de gamètes est observée en mai, illustrée par la chute de l'IC qui

passe de 3.88 ± 0.53 (en avril) à 2.88 ± 0.56 (en mai). Une troisième phase d'émission de gamètes est enregistrée en septembre après une phase de restauration, gamétogénèse et maturité génitale ayant lieu durant les mois de juin, juillet et août illustrée par une augmentation progressive des valeurs de l'IC et l'atteinte d'un maximum en juillet (4.05 ± 2.22). Une nouvelle phase de restauration, gamétogénèse et maturité génitale a fait suite à la dernière émission de gamètes de septembre ; cette phase montre, toutefois, une amplitude plus faible que la précédente illustrée avec des valeurs relativement basses de l'IC. Les gonades enregistrent une quatrième phase d'émission de gamètes en décembre avec la diminution de la valeur de l'IC et l'atteinte d'un minimum (1.93 ± 0.37). Cette forte baisse de l'IC serait probablement dû à l'épuisant cycle sexuel subi par les moules peuplant ce site (tab. 12, fig. 33).

3.3. Sex- ratio :

✚ Le Golfe d'Annaba :

Durant la campagne I, sur les douze échantillons de moules prélevés à Lehnaya, huit présentent une prédominance des individus de sexe mâle et quatre présentent des valeurs du sexe ratio proche de 1 montrant ainsi une légère prédominance des individus de sexe femelle (fig. 36). En ce qui concerne les échantillons de moules récoltées dans le Cap de Garde, nous notons la prédominance des individus de sexe femelle pendant sept mois sur douze ; durant les cinq autres mois du cycle d'étude, les valeurs du sexe ratio varient de 1,1 à 1,3 et montrent ainsi une légère prédominance des mâles (fig. 36).

Durant la campagne II, sur les 12 échantillons de moules collectés à Lehnaya, quatre échantillons (avril, mai, novembre et janvier) présentent une prédominance des individus de sexe mâles, cinq (juin juillet, août septembre et octobre) montrent une légère prédominance des individus de sexe femelle (du fait que les valeurs du sexe ratio soient assez proche de 1) et trois échantillons (février, mars et décembre) présentent une égalité entre les deux sexes (fig. 36). Parmi les douze échantillons de moules collectées dans le Cap de Garde, nous enregistrons une prédominance des individus de sexe mâle pendant les mois de février, avril, août, octobre et décembre (soit cinq échantillons), une prédominance des individus de sexe femelle durant les mois de mai, novembre et janvier (soit trois prélèvements) et une égalité entre les deux sexes durant les mois de mars, juin, juillet et septembre (soit 4 prélèvements) (fig. 36).

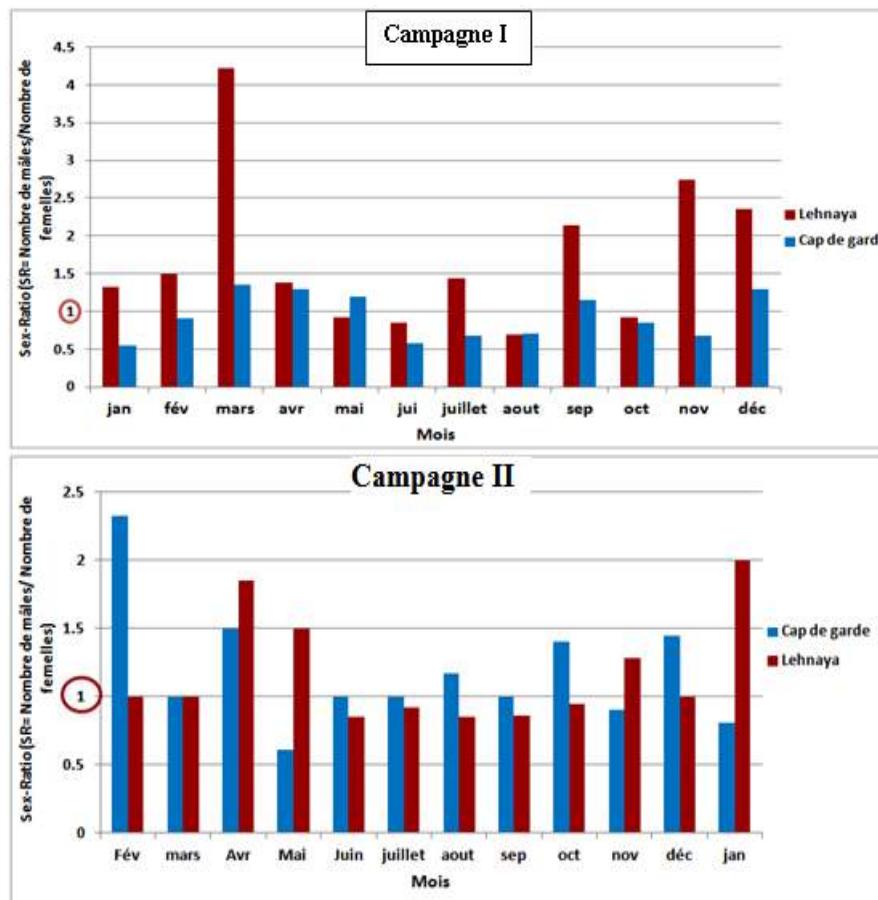


Figure 36 : Distributions spatio-temporelles des valeurs du sexe ratio des moules récoltées dans le Golfe d'Annaba

✚ Le littoral d'El Kala :

- **Laouinate :**

Les valeurs de la sex-ratio obtenues, à partir des échantillons de moules prélevés mensuellement à Laouinate, sont supérieures à la valeur 1 pendant onze mois sur 12 ; ces résultats mettent en évidence la nette prédominance des individus de sexe mâle dans l'ensemble des échantillons, à l'exception de celui de mai où $SR < 1$ (figure 37).

- **Embouchure d'El Mellah :**

Chez les moules provenant de l'embouchure du lac El Mellah, les valeurs mensuelle de la sex-ratio montrent une prédominance des males pendant sept mois ($SR > 1$), une égalité entre les deux sexes pendant deux mois ($SR = 1$) et une prédominance des individus de sexe femelle pendant trois mois ($SR < 1$) (figure 37)

- Embouchure de la Messida :**

Le sexe mâle prédomine chez les moules récoltées au niveau de l'embouchure de la Messida du fait que les valeurs mensuelles de la sex-ratio dépassent généralement la valeur 1 à l'exception du mois de novembre où une valeur de 0,76 est relevée (figure 37).

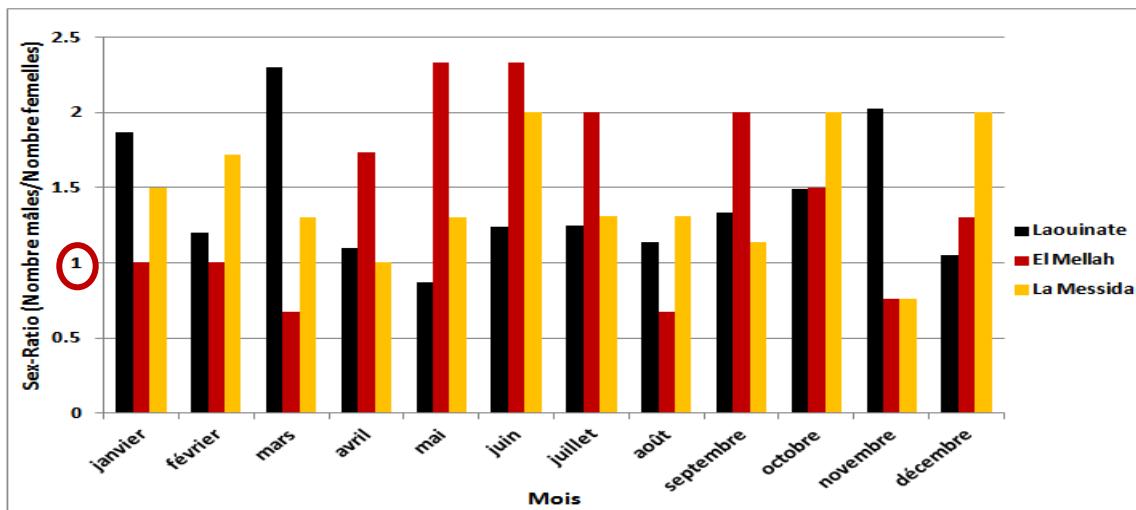


Figure 37 : Variations spatio-temporelles des valeurs du sexe ratio des moules récoltées dans le littoral d'El Kala

DISCUSSION

IV. DISCUSSION :

Croissance linéaire et relative :

Une prédominance du sexe mâle, a été observée dans la majorité des classes de taille (distribution des classes de taille) ainsi que dans la majorité des mois du cycle d'étude (sex-ratio) des 5 moulières étudiées dans le présent travail sauf dans le Cap de Garde durant la 1^{ère} campagne. Dans des conditions de culture, le sexe ratio des bivalves est influencé par la disponibilité de la nourriture ([Saucedo and Southgate, 2008](#)) et la différence dans le taux de mortalité entre les sexes ([Valenzuela et al., 2003](#)). L'appauvrissement de l'alimentation dans des densités de stockage de moules a été associée à la domination de la population masculine ([Saucedo et Southgate, 2008](#)). C'est parce que plus de gamètes avec le chromosome du sexe mâle ont été produites du fait qu'elles soient moins couteuses énergétiquement ([Saucedo et Southgate 2008](#)). Toutefois, [Lubet \(1959\)](#), dans un suivi du cycle sexuel de deux populations de moules *M. galloprovincialis* et *M. edulis*, provenant de cinq sites situés sur les côtes atlantiques du sud-ouest de la France, n'a jamais constaté de changement de sexe et que quel que soit l'âge des animaux, la proportion des sexes est en gros la même dans une même station.

Les résultats de la mesure de la longueur maximale des moules collectées dans le golfe d'Annaba (campagne I) et du littoral d'El Kala montrent que les valeurs les plus faibles sont notées dans les moulières du Cap de Garde (10-85mm) ; ces dernières sont, selon un ordre croissant, suivies par celles de la Messida (32,5-87,5mm), Laouinate (15-100mm), El Mellah (32,5-117,5mm) puis Lehnaya (15-120mm).

L'application de l'équation de Von Bertallanfy nous a permis de déterminer les caractéristiques de chaque site. Dans le Golfe d'Annaba, les moules collectées à Lehnaya, durant les deux campagnes, présentent une augmentation de la longueur maximale (de 120mm à 121.5mm) et de la longueur asymptotique L_{∞} (de 123.27mm à 127.58mm) ; en ce qui concerne les moules du Cap de Garde, elles montrent une baisse des deux paramètres, avec une longueur maximale de 85mm à la 1^{ère} campagne et de 76.5mm à la 2^{ème} campagne et une longueur asymptotique L_{∞} de 91.82m à la campagne I qui passe à 80.33mm à la campagne II. Il est toutefois noté une amélioration du coefficient de croissance k des moules collectées dans les deux sites durant la campagne II ; ce coefficient passe de 0.35ans^{-1} à 0.48ans^{-1} à Lehnaya et de 0.61ans^{-1} à 0.85ans^{-1} au Cap de Garde.

En revanche, le tracé de la courbe de croissance de *P. perna* réalisé à partir des paramètres de croissance calculés durant les deux campagnes de prélèvement montre une amélioration de la croissance passant de 41.42mm à 45.99mm au niveau du Cap de Garde et de 36.4mm à 48.63mm à Lehnaya (taille atteinte en 12 mois de croissance).

Dans le littoral d'El Kala, Les moules collectées au niveau de l'embouchure d'El Mellah montrent une meilleure croissance linéaire (atteignant une longueur maximale de 117.5mm) ; elles sont suivies par les moules de Laouinate (avec $L_{t_{\max}}=100\text{mm}$) et enfin celles de l'embouchure de la Messida (avec $L_{t_{\max}}=86.8\text{mm}$). En revanche, la valeur la plus élevée du coefficient de croissance « k » a été observée chez les moules de Laouinate (1.82 ans^{-1}) suivies de celles de la Messida (0.59 ans^{-1}) et puis celles d'El Mellah (0.32 ans^{-1}). Le tracé de la courbe de croissance de *P. perna* réalisé à partir des paramètres de croissance calculés durant la période de prélèvement montre des différences entre les trois sites. Chez les moules de l'embouchure d'El Mellah il est noté une croissance accélérée car ces dernières font 58.33mm au 2ème mois et 89.09mm au 4ème mois malgré le faible coefficient de croissance « k » qu'elles présentent. Les moules de la Messida avec un « k » relativement élevé, mais qui reste tout de même faible par rapport à celui rencontré chez les moules de Laouinate, montrent une croissance relativement lente par rapport aux deux autres sites du littoral. Ces différences entre site seraient liées aux paramètres abiotiques et biotiques.

L'amélioration du taux de croissance des moules des deux sites du Golfe d'Annaba durant la 2ème campagne et la différence du taux de croissance entre celles du littoral d'El Kala s'expliquerait par le grand nombre de moules de petite taille présentes dans les échantillons prélevés. [Toullec et al. \(1989\)](#), ont pu isoler, chez la moule, une substance apparentée à la somatostatine (hormone contrôlant la croissance) dont la concentration serait plus élevée chez les individus de petite taille qui présenteraient un taux de croissance important par rapport à ceux de grande taille qui montrent de plus faibles concentrations et taux de croissance.

Les taux de croissance obtenus dans la présente étude seraient relativement très élevés quand on les compare à ceux rapportés, pour la même espèce *P. perna*, par [Bouhaimi \(2000\)](#) au Maroc (41.97 en 12 mois), ou pour *M. edulis* par [Ghersen \(1968\)](#) au Danemark (50mm en 16 mois), par [Andreu \(1958\)](#) en Hollande (72mm en 36 mois), par [Brienne \(1955\)](#) en France (40mm en 30 mois).

La longueur asymptotique enregistrée chez les moules du cap de garde (golfe d'Annaba) et celles de la Messida (littoral d'El Kala) est comparable à celle rapportée par [Bouhaimi \(2000\)](#) chez *P. perna* de la baie d'Agadir au sud du Maroc, par [Marques et al. \(1998\)](#) chez *P. perna* en culture au Brésil et par [Choo and Speiser \(1979\)](#) chez *P. viridis* cultivée en Malaisie (Penang) ; mais largement inférieure à celle enregistrée durant la présente étude au niveau des autres sites (Laouinate, El Mellah et Lehnaya).

Les moules de Laouinate, El Mellah et Lehnaya enregistrent une longueur asymptotique comparable à celle signalée, par plusieurs auteurs, chez *P. perna* et *P. viridis* en milieu naturelle et en culture (tab.13).

Les résultats de cette étude font ressortir que la moule *Perna perna* peuplant le littoral Nord Est algérien peut atteindre des longueurs allant de 76.5mm jusqu'à plus de 120mm. Une taille de 120mm est signalée chez les moules *Perna perna* prélevées sur la jetée Nord du port d'Alger ([Asso, 1982](#)). En revanche, [Zaouali \(1973\)](#), rapporte que cette espèce atteint 100mm dans les moulières artificielles saumâtres de Tunisie et ne dépasse pas les 35mm en mer. Selon [Abada-Boudjemaa et Moueza \(1981\)](#), la taille maximale de *P. perna* récoltée au niveau de la baie d'Alger, ne dépasse pas 66 mm.

Les valeurs de « k » enregistrées dans le présent travail (compris entre 0.32 et 1.82) s'avèrent plus élevées que celles enregistrées chez la même espèce avec des tailles comparables (tab.13).

Tableau 13 : Comparaison des paramètres de croissance enregistrés dans le présent travail avec ceux de la littérature.

Pays	Espèce	L_∞ (mm)	k	Référence
Algérie, Annaba	<i>P. perna</i>	80.33	0.85	Présent travail
Algérie, Annaba	<i>P. perna</i>	127.58	0.48	Présent travail
Algérie, El Kala	<i>P. perna</i>	91.9	0.59	Présent travail
Algérie, El Kala	<i>P. perna</i>	105.33	1.82	Présent travail
Algérie, El Kala	<i>P. perna</i>	123.4	0.32	Présent travail
Malaisie	<i>P. viridis</i>	89.4	0.17	Choo and Speiser (1979)
Royaume-Uni	<i>M. edulis</i>	67.2	0.10	Dare and Davies (1975)
Italie	<i>M. galloprovincialis</i>	81.9	0.10	Fabi et al. (1985)
Brésil	<i>P. perna</i>	110.6	0.08	Fernandes (1981)
Brésil	<i>P. perna</i>	152.5	0.06	Idem.
Brésil	<i>P. perna</i>	115.0	0.06	Idem.
Inde	<i>P. viridis</i>	184.6	0.25	Narasimham (1981)
Espagne	<i>M. edulis</i>	90.7	0.11	Perez and Roman (1979)
Espagne	<i>M. edulis</i>	112.1	0.06	Idem.
Espagne	<i>M. edulis</i>	101.1	0.07	Pilar (1979)

Espagne	<i>M. edulis</i>	86.8	0.08	Idem.
Inde	<i>P. viridis</i>	85.0	-	Rivonker et al. (1993b)
Russie	<i>M. edulis</i>	144.0	0.09	Sukhotin and Kulakowski (1992)
Brésil	<i>P. perna</i>	73.9	0.13	Marques et al. (1998)
Brésil	<i>P. perna</i>	71.3	0.16	Idem.
Brésil	<i>P. perna</i>	72.7	0.19	Idem.
Brésil	<i>P. perna</i>	73.8	0.11	Idem.
Malaisie, Baie Marudu	<i>P. viridis</i>	117.0	0.97	Soon et al. (2016)
Malaisie, Malacca	<i>P. viridis</i>	102.38	1.50	Al-Barwani et al. (2007)
Bangladesh	<i>P. viridis</i>	136.5	1.30	Khan et al. (2010)
Hong Kong	<i>P. viridis</i>	101.90	0.30	Lee (1985)
Thaïlande	<i>P. viridis</i>	112.00	1.00	Tuaycharden et al. (1988)
Algérie, Alger	<i>P. perna</i>	120.00	-	Asso (1982)
Malaisie, baie Marudu	<i>P. viridis</i>	113.40	1.7	Mohd Taib et al. (2016)

Ces divergences seraient en rapport avec l'espèce et la méthode utilisée pour la détermination de l'âge ; mais elles pourraient, aussi, être causées, selon Curry et Fontana, (1988), par les différences des conditions du milieu relevé d'un secteur à l'autre et plus particulièrement la température et la richesse des eaux.

Selon Seed (1976) et Shafee (1992), le taux de croissance varie en fonction de la latitude et la température ; Gosling (1992) signale aussi que la croissance des moules varie en fonction de la température. Villela et al (1982) montrent qu'entre 3 et 20°C, la croissance linéaire augmente d'une manière logarithmique. D'après Wilson, (1977) et Thompson, (1984) l'effet de la température est généralement combiné avec la nourriture. Page et Hubbart (1987) signalent qu'en Californie la croissance de *M. edulis* est étroitement liée à la variation de la densité du phytoplancton. Loo et Rosenberg (1983) rapportent que les températures inférieures à 5°C ne limitent pas la croissance quand elles coïncident avec les blooms phytoplanctoniques au printemps.

La température est un facteur qui, pour tout être vivant, présente un optimum et des valeurs létales. Chez les ectothermes (poikilothermes), tels que les bivalves, la température corporelle correspond, à peu près, à celle de l'environnement. Ainsi, les variations de température ambiante influencent directement les processus biochimiques qui sont à la base du métabolisme. Il en résulte qu'une hausse de température entraîne généralement une hausse du métabolisme et qu'une baisse de température entraîne une baisse du métabolisme. Ces changements peuvent se produire jusqu'aux limites d'action des enzymes et des transporteurs

cellulaires. Lorsque ces limites sont dépassées, les enzymes sont inhibés et même dénaturés. En plus, certaines structures biologiques, telles que les membranes peuvent être modifiées par des températures extrêmes. Ces changements entraînent à leur tour des modifications dans les processus physiologiques. Dans ces conditions, la relation température-intensité métabolique peut être inversée et une hausse de température peut entraîner une baisse du métabolisme (Réjean Tremblay et al., 2004).

Dans ce sens, la différence de température décelée entre les deux sites du Golfe d'Annaba ainsi que la corrélation significative entre ce paramètre du milieu et la longueur totale des moules du Cap de garde peut –en partie- expliquer la différence entre les longueurs maximales obtenues dans les deux moulières ; malgré le taux d'accroissement presque similaire durant les premiers mois de croissance- obtenue par le calcul des paramètres de croissance durant les deux campagnes de prélèvement. Autrement dit, le coût énergétique du métabolisme est plus élevé chez les moules du cap de garde par rapport à celles de Lehnaya, ce qui permet peut être à ces dernières d'atteindre des longueurs plus élevées sans trop dépenser d'énergie. Toutefois, cela reste à confirmer.

Lubinsky (1958), trouve que les moules atteignent des longueurs élevées dans les zones tempérées plus que dans les zones tropicales en dépit d'une croissance lente. Selon Abada-Boudjema (1983) la croissance de *P. perna* est plus rapide dans les zones tropicales et en culture qu'en zone tempérée et dans les conditions naturelles ; ceci serait en rapport avec les conditions physico-chimiques, mécaniques et trophiques plus convenables en milieu protégé qu'en milieu naturel. Fernandes (1981), Narasimham (1981), Soon et al. (2016) et Mohd Taib et al. (2016) ont enregistré des longueurs asymptotiques élevées, allant de 110mm jusqu'à 184mm, chez des moules en culture dans des zones tropicales (Tabl. 13) ; ce qui suggèrerait que la température ne peut expliquer, à elle seule, les variations des taux de croissance chez les moules notées dans le cadre de cette étude et que d'autres facteurs lui sont associés.

Garcia et al. (2016) ont démontré que la croissance de *P. perna* serait influencée à la fois par l'upwelling et les périodes de stratification de l'eau qui sont caractéristiques de la zone nord-est du Venezuela. Cette période est critique dans le nord-est du Venezuela en raison de son influence négative sur le développement des organismes du fait de l'augmentation de leur métabolisme (haute température) combiné à une faible disponibilité de la nourriture qui les empêche de lutter contre leur demande métabolique (Lodeiros ; Himmelman, 2000 ; Freites et al., 2003).

De nombreux auteurs rapportent le niveau eutrophe des eaux du secteur Est du Golfe d'Annaba (Frehi, 1995; Ounissi *et al.*, 1998; Ounissi et Frehi, 1999; Ayada, 2003, Frehi *et al.*, 2004) et du littoral d'El-Kala (Khelifi-Touhami, 1998; Ounissi Et Khelifi-Touhami, 1999). Selon Ounissi *et al.*, (1998), le gradient spatial de la biomasse chlorophyllienne se superpose au gradient des sels nutritifs. Ces auteurs précisent que les teneurs anormalement élevées en sels nutritifs, relevées dans la baie d'Annaba, permettent d'entretenir toute l'année des situations de prolifération massive du micro-phytoplancton. Ils relèvent des teneurs en chlorophylle *a* d'origine phytoplanctonique toujours élevées même en période hivernale, variant en moyenne entre 3,61 et 10,50 mg/m⁻³.

En accord avec Soon *et al.* (2016) et selon les résultats de Ounissi *et al.*, (1998), la disponibilité de nourriture, mesurée en terme de teneurs en chlorophylle « *a* », relevées dans le golfe d'Annaba durant la présente étude est largement supérieure au niveau minimum de 1 µg.l⁻¹ suggéré par Saxy (2002) pour soutenir la croissance de *P. viridis*.

En revanche, plusieurs études ont montré que la survie et la performance de croissance de *P. viridis* ne sont pas influencées uniquement par les paramètres de l'environnement et l'abondance de nourriture, mais aussi par la composition de cette dernière (Mohd Taib *et al.*, 2016 ; Tan and Ransangan 2014, 2016; Rajagopal *et al.* 2006; Rouillon and Navarro 2003; Ren *et al.* 2000). L'espèce *P. viridis* est connue pour son rejet sélectif des espèces de diatomés rattachées à la famille « *Chaetoceraceae* » (Tan and Ransangan 2016) du fait de leur faible efficacité d'assimilation (Erika *et al.* 2006) ou aussi de leur enchevêtrement dans les branchies (Ochieng *et al.* 2015). Toutefois dans le golfe de Cariaco, Acosta *et al.* (2010), dans une étude comparative de la croissance de *P. viridis* et *P. perna* en culture en suspension, signalent que la croissance de *P. perna* est bien meilleure que celle de *P. viridis* ; ils expliquent cela par le fait que *P. perna* possède une plus grande capacité d'exploitation de la nourriture dans la colonne d'eau. Cela suggère que *P. perna* possède un système de collecte de denrées alimentaires plus efficace que celui de *P. viridis* dans des conditions de culture en suspension (Garcia *et al.*, 2016).

Selon Ounissi et Frehi (1999) la baie d'Annaba comprendrait deux zones présentant des différences fondamentales : (i) une zone d'interface recevant les apports continentaux et qui se distingue par ses eaux confinées, turbides, moins salées et hautement fertiles et (ii) une zone exposée directement aux intrusions des eaux marines. La première zone abrite des peuplements très denses mais faiblement diversifiés. Les populations de Diatomées y sont toujours abondantes et formées principalement par *Coscinodiscus radiatus*, *Chaetoceros* spp. et *Rhizosolenia* spp. Les Péridiniens prolifèrent surtout en saison chaude avec les Tintinnides,

représentés essentiellement par 4 à 5 espèces opportunistes. Dans la seconde zone où les eaux sont plus transparentes, moins fertiles et mieux renouvelées, les Dinoflagellés dominent par rapport aux peuplements de Diatomées et de Tintinnides (Derbal, 2007). Ces données suggèreraient que la composition du phytoplancton de la zone Est du Golfe d'Annaba ainsi que celle du littoral d'El Kala est meilleure pour la croissance des moules que celle de la zone ouest (proche du Cap de Garde).

La faible longueur enregistrée chez les moules de la Messida (littoral d'El Kala), serait liée au stress auquel les moules sont soumises du fait de la baisse de salinité engendrée par les apports en eau douce du canal de la Messida ; ce stress hyalin réduirait, selon Kautsky, (1982), l'efficacité métabolique des bivalves. Toutefois, cela reste à confirmer, car selon Seed et Suchanek (1992), la salinité ne peut avoir d'effet direct sur la croissance que dans le cas où les faibles salinités engendrent une pauvreté du milieu en matières nutritives. Arnaud (1966), remarque à ce propos que seules les salinités inférieures à 15 g/L ont un effet sur la croissance, en particulier linéaire, chez la moule. Les moules naines de *Mytilus edulis* (Lt < 25mm), peuplant la mer Baltique sont un exemple de l'effet de cette faible salinité (6.5 psu).

La salinité élevée enregistrée au niveau des deux sites du golfe d'Annaba durant les deux campagnes de prélèvement (oscillant entre 35,6 et 41.8 g/l), le changement brutal de cette dernière et sa corrélation négative avec le taux d'oxygène dissous peuvent engendrer une perturbation de la croissance chez les moules.

Au Congo, Cayré (1978) note que la croissance de *P. perna*, bien que très rapide dans les conditions naturelles (40 mm en 4 mois et demi), se trouve accélérée par la mise en culture. Selon IdHalla et al. (2017) la période de culture de *P. perna* et *Mytilus galloprovincialis* (au Maroc), peut être réduite de deux mois du fait que plus de 90% des moules des deux espèces atteignent la taille commerciale (> 60 mm) après 10 mois de culture au large des côtes ; cette technique permettrait d'augmenter la période d'immersion des substrats de culture. Ces auteurs, précisent, par ailleurs, que le meilleur moment de l'ensemencement des substrats était la période estivale.

Plusieurs autres facteurs biotiques et/ou abiotiques tels que la profondeur (Garcia et al., 2016), les courants, la densité des populations (Mohd Taib, 2016) et le taux d'oxygène dissous (Mohd Taib, 2016 ; Mamon et al., 2016) en plus des paramètres physiologiques (Bayne et al., 1999 ; Toullee et al., 1989) et génétiques (Riisgard et al., 2013) auraient une influence sur la vitesse de croissance linéaire et pondérale des bivalves.

Chez la moule *Perna perna* (Venezuela), [Garcia et al. \(2016\)](#), rapportent que la meilleure performance des paramètres de croissance étudiés (à savoir : la longueur et le poids de la coquille et la masse du tissu intervalvaire) était enregistrée à des profondeurs comprises entre 6 et 9 m.

Selon [Sato \(1994\)](#), la richesse nutritive du milieu favorise dans les tissus de l'huître, l'accumulation de réserves énergétiques nécessaires à la croissance du tissu somatique et à la synthèse de CaCO₃ pour la croissance coquillère. [Kim et al., \(2015\)](#) ont montré que l'élévation des concentrations de CO₂ dans l'eau de mer influence le processus de calcification responsable de la formation de la coquille chez les larves de la palourde *Mactra veneriformis*. Ainsi les organismes qui utilisent le CaCO₃ pour former leurs coquilles se trouvent sensibles aux concentrations de CO₂ dans l'eau.

[Mamon et al. \(2016\)](#), signalent que le facteur qui affecte le plus la croissance des moules et tous les bivalves était l'appauvrissement du milieu en oxygène dissous ; ces auteurs notent que la croissance en longueur et en poids de *P. viridis* se trouve affectée par la qualité des eaux de la baie de Manila et plus particulièrement par le très faible taux d'oxygène dissous.

L'évaluation de l'intensité de la liaison entre les mesures de la taille de la coquille a été employée pour déterminer les rapports morphométriques des axes de croissance en longueur, en largeur et en épaisseur de la moule *P. perna*.

Les valeurs de *b* obtenues aussi bien pour *P. perna* du golfe d'Annaba que pour celles du littoral d'El Kala montrent que la croissance est plus rapide en longueur qu'en largueur et en épaisseur. En ce qui concerne la relation entre la largeur et l'épaisseur, les moules des 5 sites montrent une allométrie minorante témoignant d'une croissance lente de l'épaisseur par rapport à celle de la largeur.

Ce même type de relation est signalé par [Bitar et El Hannach \(1987\)](#) chez les deux espèces *Mytilus galloprovincialis* et *Perna perna* de la région de Sidi R'bat (Maroc Atlantique) ; Ces derniers l'expliquent par l'hétérogénéité morphologique de la coquille de cette espèce. De nombreux auteurs signalent ce type de croissance chez des moules et des huîtres de culture ([Burgeot et Galgani, 1998](#) ; [Grangney, 2001](#) ; [Dridi et al. 2008](#)) ; ces derniers montrent que la croissance en longueur serait en relation avec les variations des facteurs abiotiques tels que la température, l'habitat pélagique et benthique et des facteurs

biotiques tels que l`âge, sexe ou encore le stade de maturité des gonades. Ce qui explique la forme allongée de la coquille selon l`axe antéropostérieur.

Il est généralement admis que la croissance est caractérisée par une augmentation de la taille et du poids en fonction du temps et des variables environnementales. Toutefois, chez les mollusques bivalves, et en particulier chez les moules, les processus liées à la reproduction perturbent ce schéma par une accumulation temporaire de réserves importantes qui sont par la suite converties en gamètes puis expulsées lors de la ponte, occasionnant une perte brutale de poids ([Lubet et al. 1981](#)).

L`évaluation de l`intensité de la relation entre la longueur totale et le poids total chez la moule *P. perna* provenant des cinq sites, révèle l`existence d`une allométrie minorante entre ces deux paramètres ($b<3$) témoignant de l`augmentation de la taille des individus plus rapide que celle du poids.

Selon [Romeo et al, \(1993\)](#), ceci serait en relation avec les fluctuations mensuelles de l`état physiologique de l`animal. Les valeurs relativement faibles du coefficient b (de l`ordre de 2.11, 2.38, 2.31, 2.13 et 2.46 respectivement au Cap de Garde, Lehnaya, Laouinate, El Mellah et la Messida) sont rapportées uniquement chez *P. viridis* cultivée à Hong Kong ([Lee, 1985](#)) dans un milieu très pollué ([Wong and Cheung, 1999](#)) et en Malaisie ([Soon et al. 2016](#)) dans un milieu pauvre en nourriture.

Quelque que soit la période de l`année considérée, les relations allométriques reliant la masse pondérale du bivalve à la longueur de la coquille se sont révélées significatives pour les cinq sites étudiés ; il est aussi noté, qu`au cours de la phase d`activité sexuelle, les variations interindividuelles sont importantes et seraient, selon [Dridi et al, \(2008\)](#) probablement générées par des changements d`ordre physiologique en rapport avec la gamétogenèse et l`émission des gamètes.

Indice de condition (IC):

Les résultats de l`évaluation de l`indice de condition des moules *Perna perna* montrent que cet indice est bien meilleur en période printanière et atteint son maximum en période estivale pour l`ensemble des sites du littoral d`El Kala et ceux du Golfe d`Annaba durant la 1^{ère} campagne ; toutefois l`atteinte de son maximum s`est faite en période printanière durant la 2^{ème} campagne. Ces valeurs s`expliqueraient non seulement par l`apparition probable de blooms phytoplanctoniques et de ce fait par l`abondance de la nourriture mais aussi par

L'atteinte fort probable de la température physiologique optimale qui permettrait ainsi une meilleure métabolisation des produits de la digestion.

Cette hausse de l'indice coïncide avec des teneurs élevées de la Chlorophylle « a » et des MES au niveau des sites du Golfe d'Annaba. Selon [Romeo et al., \(2001\)](#), l'indice de condition serait associé à la température de l'eau et correspondrait au taux de remplissage de la coquille par les tissus mous et informerait, de ce fait, sur l'état nutritionnel et physiologique de l'animal.

L'observation de valeurs assez élevées de l'indice en période hivernale s'expliquerait par l'accumulation de réserves dans les gonades qui entrent en phase de maturité sexuelle et que l'étude histologique confirme.

La diminution de l'indice de condition en période automnale correspondrait à une phase de ponte ; les observations histologiques ont permis de confirmer cela par l'existence d'une phase d'émission des gamètes suivie de la restauration des gonades. D'autres auteurs expliquent la baisse de cet indice suite à de mauvaises conditions trophiques ou suite à une ponte qui a engendré un amaigrissement ([Doange et al., 1989](#) ; [Paulet et al., 1992](#) ; [Barille, 1996](#)). [Soon et al. \(2016\)](#), rapportent que les valeurs faibles de l'IC, notées en période hivernale chez *P. viridis*, s'expliquent par la faible salinité qui est positivement associée au taux de filtration ([Rajesh et al. 2001](#)) et à l'IC chez les bivalves marins ([Navarro 1988](#)). Une corrélation positive significative a été décelée entre l'IC et la salinité au niveau de Lehnaya durant la campagne II. Certains auteurs signalent que, dans les zones tempérées, les faibles valeurs de l'IC des bivalves sont généralement associées aux périodes de ponte ([Myrand et al. 2000](#); [Nichols 1996](#); [Myint et al. 1982](#)).

[Cherifi et al. \(2015\)](#), observent, chez la moule *M. galloprovincialis* privée pendant 10 jours d'apport alimentaire, une diminution significative de l'IC. Ces mêmes auteurs expliquent la variation des valeurs de l'IC par la variation de la charge en matière organique contenue dans le mélange alimentaire ingéré par les moules.

[Soon et al. \(2016\)](#), expliquent le faible IC de *P. viridis* de la Baie de Marudu (Malaisie) par rapport à celui rapporté par d'autres auteurs pour la même espèce et dans la même région, par une probable altération de la composition des communautés phytoplanctoniques due à l'élevage intense de *P. viridis* pratiqué depuis 10 ans au niveau de la Baie.

On ne peut comparer nos résultats avec ceux de la littérature, du fait de la variété des méthodes de calcul de cet indice et de l'objectif visé.

Sex-ratio (SR) :

L'évaluation de la sex-ratio révèle, durant la campagne I, une prédominance des mâles à Lehnaya et l'inverse au Cap de Garde et durant la campagne II une prédominance des femelles à Lehnaya et l'inverse au Cap de Garde ; en revanche, dans les moulières naturelles du littoral d'El Kala, une nette prédominance des mâles a été notée.

Au Maroc, [Idhalla et al., \(1997\)](#), rapportent chez les deux espèces *P. perna* et *M. galloprovincialis* provenant d'Anza une prédominance des mâles. [Soon et al. \(2016\)](#), notent SR<1 chez *P. viridis* peuplant la baie de Marudu (Malaisie) ; en revanche, [Al-Barwani et al. \(2013\)](#) trouvent une SR=1 pour la même espèce et dans la même zone d'étude ; l'explication avancée se base sur le fait que lors de la première étude la moule provient d'un élevage et lors de la seconde étude elle fait partie d'une communauté naturelle.

Des observations similaires ont été signalées chez d'autres espèces montrant une égalité des sexes dans les conditions naturelles mais qui s'orientent vers l'un des deux sexes dans les conditions de culture ([Power et al. 2005; Sastry 1968](#)).

Cycle sexuel :

Les cycles sexuels sont sous l'influence de facteurs climatiques, hydrologiques et nutritionnels ; toutefois, des facteurs internes, génétiques, nerveux, endocriniens et métaboliques commandent ces phénomènes.

On distingue les espèces Bradyctiques, qui ont une saison de ponte très étalée dans l'année et les espèces Tachydictiques où la saison de ponte est plus courte.

Pour les bivalves des mers chaudes, le cycle sexuel est très étalé et souvent même continu toute l'année. Les espèces des mers tempérées et froides pondent le plus souvent pendant les mois de printemps et d'été. La période de repos sexuel pouvant se situer en hiver (Ostréidés, Pectinidés, Cardiidés, Vénéridés, Solénidés). Mais il reste des exceptions : les Mytilidés des mers tempérées ont un cycle très étalé dans l'année ; les moules présentent une activité génitale réduite pendant l'été et même l'automne ([Edouard HIS et Christian CANTIN, 1995](#)).

Dans l'ensemble de nos sites d'étude, l'étude histologique des gonades montre que la moule *P. perna* présente un cycle sexuel étalé sur toute l'année avec une période de ponte

principale, en automne et d'autres pontes facultatives fugitives et parfois asynchrones tout au long de l'année. Cette émission de gamètes coïncide avec la chute de l'indice de condition et la restauration des gonades.

L'influence de la latitude est interprétée par l'action thermique de l'eau. L'étude des espèces à large répartition géographique a permis de constater que le facteur thermique joue un rôle prépondérant ; chez ces espèces, il existe des "races physiologiques" caractérisées par une température minimale favorable au déroulement de la gamétogénèse et une température minimale critique au-dessous de laquelle les émissions de produits sexuels ne peuvent se produire. La durée de la gamétogénèse, pour les espèces à ponte printanière ou estivale, est conditionnée par les températures hivernales (pontes plus précoces à l'issue d'hivers peu rigoureux). Les basses salinités automnales et hivernales retardent la gamétogénèse des jeunes individus de *Mytilus edulis*. L'apport nutritionnel joue un rôle très important sur le commencement et la durée de la gamétogénèse. Le jeûne provoque l'arrêt des phénomènes sexuels et la lyse des gamètes. La période de reproduction augmente chez *Mytilus edulis* avec la durée d'immersion et donc d'alimentation. Les individus constamment immergés montrent un cycle sexuel presque continu ([Edouard HIS et Christian CANTIN, 1995](#)).

Au Congo, [Cayré \(1978\)](#) signale, pour *P. perna*, l'existence de deux périodes de ponte tout en précisant que la plus importante, se situe pendant la grande saison froide de juin à octobre et que la plus fugitive a lieu en décembre ; Cet auteur signale, par ailleurs, que les variations de salinité associées à des variations de température ainsi que la composition de la nourriture jouent un rôle de stimulus dans l'émission des produits génitaux.

Dans la moulière de Bordj el Kiffan, [Abada-Boudjema \(1983\)](#), signale l'existence d'une seule période de sédentarisation (en juin 1979) qu'il associe à une ponte printanière. [Zardi et al. \(2007\)](#) rapportent chez *P. perna* de l'Afrique du Sud, une ponte estivale et une ponte hivernale dans respectivement la première année et la deuxième année d'étude. Ceci diffère de la stratégie de reproduction qui prévaut, pour cette espèce, dans les eaux tropicales. [Lubet \(1970\)](#) estime que la reproduction de *P. perna* dans les eaux tropicales du Brésil a lieu tout au long de l'année avec un minimum en février. Selon [Zaouali \(1973\)](#), la reproduction de *P. perna* en mer se fait tout au long de l'année avec un maximum au début de l'automne et un minimum en été ; ce même auteur rapporte qu'en Tunisie *P. perna* ne peut se reproduire dans les eaux dont la salinité est plus faible que celle de l'eau de mer. Au Maroc, [Shafee \(1989\)](#) montre que chez la moule *P. picta* (*P. perna*) le stade de maturité sexuelle est observé de

janvier à février et le stade d'émission des gamètes et de reconstruction des gonades est noté de Février à mai.

Ces différences peuvent s'expliquer par le fait que *P. perna* est une moule à cycle sexuel long (avec ou non une courte période de repos sexuel), présentant un asynchronisme, des émissions intermittentes et une activité génitale qui varie selon les conditions climatiques et la latitude géographique ([Schurink et Griffiths, 1991](#)).

[Lasiak \(1986\)](#), attribue ces émissions asynchrones et intermittentes à une adaptation de l'espèce pour survivre aux caractéristiques imprévisibles des courants d'upwelling alors que les pontes principales seraient dues à une augmentation de la température (pour les espèces des mers froides) ou à une diminution pour celles qui vivent dans les mers tempérées et subtropicales. Dans la présente étude, la richesse du milieu en substances nutritives et la forte production primaire du phytoplancton appuient l'hypothèse émise pour expliquer les pontes successives et asynchrones observées chez la moule *P. perna* peuplant notre littoral.

[Mohd Taib et al. \(2016\)](#), signalent chez la moule asiatique *P. viridis*, l'existence d'un recrutement continu tout au long de l'année avec l'apparition de deux pics l'un en février et l'autre en juillet coïncidant avec les saisons de mousson. Des résultats similaires ont été rapportés par [Soon et al., \(2016\)](#) ; ces derniers notent que *P. viridis* peuplant la Baie de Marudu pond tout au long de l'année et montrent deux pics majeurs, l'un entre les mois d'avril et mai et l'autre entre octobre et décembre.

Selon [Tortel \(1978\)](#), *P. viridis* des Philippines présente deux périodes d'émission de gamètes, l'une intense en mars et avril et une seconde moins importante, en septembre. Au Brésil, [Lunetta \(1969\)](#) a mis aussi en évidence deux périodes de ponte pour *P. perna*, l'une en Avril-mai et juillet et l'autre en septembre.

Un recrutement continu durant toute l'année avec trois périodes de forte intensité qui succèdent aux périodes de pontes a été signalé chez *M. galloprovincialis* par [Naciri et al., \(1998\)](#) au Maroc et [Zaouali \(1973\)](#) en Tunisie.

Les études du cycle sexuel et de la reproduction de *M. galloprovincialis* montrent au moins deux périodes importantes d'émission de gamètes, l'une située au début du printemps et l'autre située en automne ([Boucart & Lubet, 1965](#)). Dans les régions où la température de l'eau ne descend pas au-dessous de 6°C les animaux matures sont susceptibles de pondre toute l'année ([Boucart & Lubet, 1965](#)).

Kaehler (1999) a montré chez *P. perna* de l'Afrique du sud, que les épibiontes endolithes phototrophes ont un effet sublétal (dégradation et déformation de la coquille) qui pourrait devenir létal par le forage de la coquille et l'altération du succès reproductif des grosses moules.

Chapitre III : Biomonitoring du golfe d'Annaba à travers l'utilisation de la moule *Perna perna*

INTRODUCTION

I. Introduction :

Le suivi de la contamination côtière, au moyen des bivalves, est très largement utilisé dans de nombreux programmes de surveillance à l'échelle mondiale. Dès 1975, [Goldberg](#) a proposé le concept “ Mussel Watch ”. L'utilisation des moules comme espèce sentinelle dans de tels programmes de surveillance est basée sur des caractéristiques spécifiques à savoir, leur mode de vie sessile et euryhalin, leur pouvoir accumulateur des polluants présents dans l'environnement, la stabilité de leur population et la facilité de collecte à un coût modeste, leur tolérance à différents stress, et la possibilité de les transplanter et d'utiliser des individus de la même cohorte. La répartition géographique de la moule *Perna perna*, fait d'elle un bon modèle biologique qui nous a incité à l'utiliser dans cette étude afin de suivre et d'évaluer les effets des polluants chimiques et la variation des facteurs environnementaux dans un écosystème méditerranéen soumis ou non à une influence continentale.

Les biomarqueurs sont des outils mis en œuvre pour établir un diagnostic du risque environnemental. Ils constituent un signal précoce de l'effet de la contamination sur les organismes. Leurs usages et leurs intérêts dans la détermination du risque environnemental sont devenus incontournables. Toutefois le manque de connaissance sur les mécanismes physiologiques et fonctionnels et le comportement de certains organismes aquatiques sentinelles utilisés limitent fortement l'utilisation optimale de ces outils.

Afin de prendre en compte la grande diversité des contaminants et la multiplicité de leurs effets, il est apparu nécessaire de recourir à une approche multi-biomarqueurs basée sur la mesure de plusieurs biomarqueurs complémentaires ([Blaise et al., 2002](#) ; [Galloway et al., 2004](#)).

L'étude de biomarqueurs précoces apporte l'avantage d'une évaluation intégrée dans le temps et dans l'espace des polluants biodisponibles. Combinés à des marqueurs physiologiques comme la performance de reproduction, la croissance et le comportement, les biomarqueurs apportent des informations utiles à l'évaluation des effets des contaminants à différents niveaux d'organisation biologiques. Une bonne évaluation de l'impact écotoxicologique des contaminants nécessite souvent une approche multifactorielle. Au niveau biochimique, il existe différents types de biomarqueurs regroupés selon leur fonction au niveau cellulaire. Les principaux biomarqueurs utilisés sont des marqueurs enzymatiques comme la catalase, la glutathion peroxydase, la glutathion S-transférase,

et l'acétylcholinestérase (Durou *et al.*, 2007). Les enzymes du système de détoxication sont aussi beaucoup étudiées puisque leurs activités sont susceptibles d'être fortement modifiées après une exposition. Ces enzymes sont généralement divisées en trois groupes (monooxygénases à cytochrome P450, glutathion-S-transférases et carboxylestérases) et constituent une voie de recherche importante. Certaines protéines, comme les métallothionéines, ont la propriété d'être induites par les métaux lourds et sont ainsi largement retenues comme indice de contamination métallique (Damiens *et al.*, 2006).

Le premier objectif de ce chapitre vise à étudier la variation des réponses biochimiques chez la moule *Perna perna* provenant de quatre sites situés dans le golfe d'Annaba pendant un cycle de 12 mois. Cette évaluation se base sur un suivi mensuel des facteurs physico-chimiques qui interagissent directement sur les biomarqueurs.

En ce qui concerne le deuxième objectif, il vise à étudier, au laboratoire, l'effet de certains métaux traces sur la teneur en MTs au niveau de différents organes de la moule *Perna perna* exposée à diverses doses de cuivre, cadmium et plomb.

Matériel et méthode

II. Matériel et méthodes :

1. Biomarqueurs de biotransformation :

1.1.Sites de prélèvements :

Les sites retenus dans le cadre de cette étude ont été choisis par rapport à leur proximité des différentes sources de pollution (rejets urbains, agricoles et industriels). Du fait de la difficulté d'accès à certaines zones du Golfe et aussi de l'absence de moules à certains endroits, nous avons retenu quatre sites de prélèvement de la moule *Perna perna* dans le golfe d'Annaba (figure III-1).

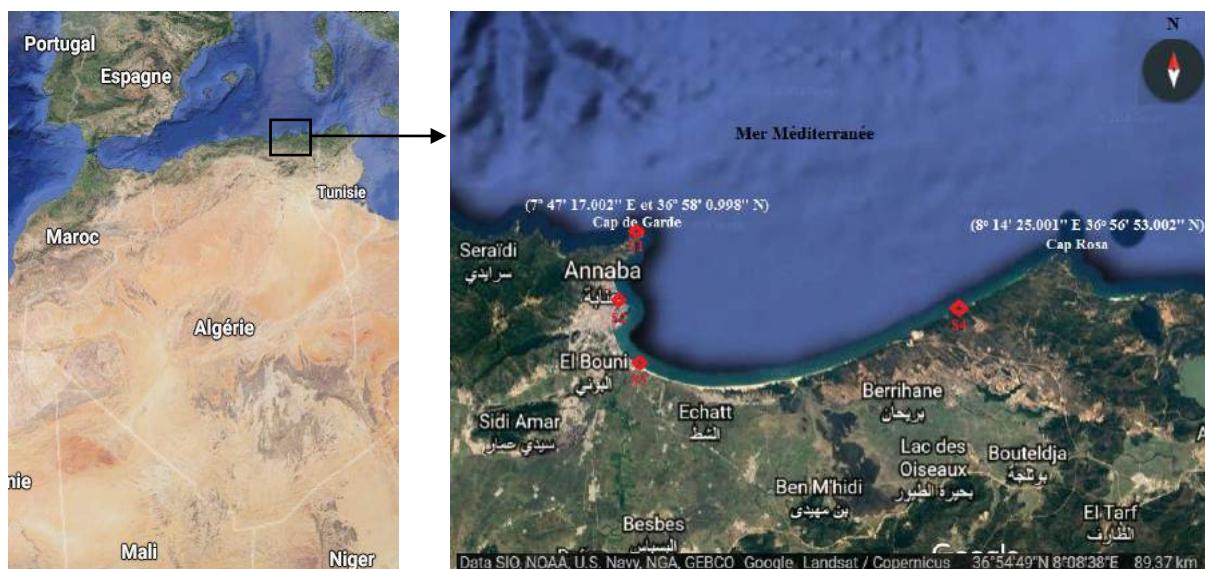


Figure III-1 : Positionnement des sites d'étude (Google earth, 2018 modifiée).

- **Site 1 : Cap de Garde :**

Il se situe dans la partie Ouest de la zone d'étude ($7^{\circ} 47' 17.002''$ E et $36^{\circ} 58' 0.998''$ N) ; il est supposé être le moins exposé à la pollution du fait de sa localisation. Il est situé dans une zone “périurbaine”, où se trouvent quelques habitations, non reliées au réseau d'assainissement ; il est, toutefois, fortement fréquenté en période estivale par les pêcheurs et baigneurs (fig. III-2).



Figure III-2: Situation géographique du site 1, Cap de Garde au niveau du golfe d'Annaba
(Google Maps, 2018 modifiée)

- **Site 2 : Fellah Rachid (Ex Saint Cloud) :**

Il est situé en zone urbaine ($36^{\circ} 55' 2.356''\text{N}$ $7^{\circ} 46' 4.642''\text{E}$). Il reçoit les rejets urbains des quartiers environnants, sans traitement préalable, ainsi que les eaux de pluie. Il est, par ailleurs, très fréquenté en période estivale (fig. III-3).

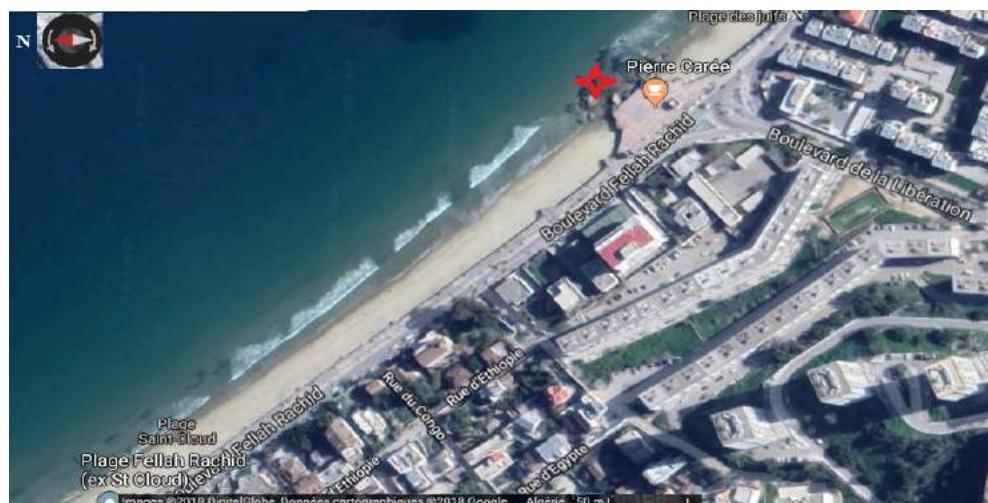


Figure III-3: Situation géographique du site 2, Fellah Rachid au niveau du golfe d'Annaba
(Google Maps, 2018 modifiée)

- **Site 3 : Sidi Salem :**

Il se situe à l'Est de la ville d'Annaba ($36^{\circ} 52' 21.227''\text{N}$ $7^{\circ} 46' 5.092''\text{E}$) en zone urbaine à proximité des oueds Seybouse et Bedjimâa et des rejets industriels du complexe d'engrais phosphatés de Fertial. Cette zone est aussi le réceptacle de rejets urbains d'une grande partie de la ville d'Annaba par le biais de l'oued Bedjimâa et des agglomérations

situées dans le bassin versant de l'oued Seybouse. Bien que non autorisé à la baignade, il est très fréquenté en période estivale (fig. III-4).



Figure III-4: Situation géographique du site 3, Sidi Salem au niveau du golfe d'Annaba
(Google Maps, 2018 modifiée)

- **Site 4 : Lehnaya :**

Il se situe dans la partie Est du Golfe d'Annaba ($36^{\circ}53'6.59''N$ $8^{\circ}4'8.70''E$), en zone rurale loin de sources polluantes urbaine ou industrielle. Il est fréquenté par les pêcheurs et les animaux ; mais en période estivale de nombreux estivants envahissent cette zone (fig. III-5).



Figure III-5: Situation géographique du site 4, Lehnaya au niveau du golfe d'Annaba
(Google Maps, 2018 modifiée)

1.2.Echantillonnage et traitement :

✚ Collecte du matériel biologique :

Afin d'étudier les variations mensuelles de deux biomarqueurs à savoir le GSH et les GST, des prélèvements mensuels de 5 individus/station/mois, ont été effectués durant la période allant de février 2012 à janvier 2013. Les bivalves ont été collectés au hasard sans tenir compte du sexe. [Serafim et al., \(2001\)](#) ayant démontré, chez la palourde, que la réponse d'un biomarqueur (comme les métallothionéines) ne varie pas avec le sexe.

✚ Mesure des paramètres physico-chimiques :

Un prélèvement mensuel des paramètres physico-chimiques (à savoir la température (Temp, T°C), la salinité (S‰, g/l), l'oxygène dissous (OD, mg/l), la matière en suspension (MES, mg/l) et la chlorophylle a (Chll-a, µg/l)) a été réalisé en parallèle avec les prélèvements de moules (stratégie et protocoles détaillés dans le chapitre I).

1.2.1. Préparation de la fraction post-mitochondriale (S9) :

- ✓ Les bivalves prélevés *in situ* ont été détachés de leurs coquilles.
- ✓ Mesurés et sexés puis égouttés sur papier absorbant.
- ✓ Les branchies et les glandes digestives sont prélevées et pesées séparément.
- ✓ Chaque organe est repris dans un volume trois fois son poids de tampon phosphate à pH 7.
- ✓ 50µl de DTT et 50µl de cocktail anti-protéase sont rajoutés.
- ✓ Le tout a été broyé et homogénéisé à l'aide d'un broyeur Ultra-Turrax.
- ✓ 1ml de l'homogénat de chaque organe est mis dans un tube Eppendorf et conserver dans un réfrigérateur à T°C (-20°C) pour un dosage ultérieur des GS_{Hs}[®].
- ✓ L'homogénat restant a été centrifugé à 9000g pendant 30mn à 4°C.
- ✓ Le surnageant (S9)[®] est ensuite récupéré {contenant le cytosol, le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi et les protéines cytosoliques} pour le dosage des protéines ou des activités enzymatiques recherchées.

- Toutes les opérations à savoir dissection des animaux, broyage et centrifugation se sont déroulées à 4°C (dans la glace). Il faut noter qu'un échantillon décongelé est utilisé le jour même ; il n'est jamais recongelé par la suite ([Najimi, 1997](#)).

1.2.2. Dosage des protéines :

La quantité de protéines présentes dans les fractions S9 a été déterminée avant la mesure des activités enzymatiques, grâce à la méthode de [Bradford \(1976\)](#), en utilisant le bleu Brillant de Coomasie (G 250, Merck®) comme réactif (50µl de la gamme étalon ou de l'échantillon avec 1.5ml du bleu de Coomasie). Ce dernier réagit avec les protéines en donnant des complexes de couleur bleu qui absorbent la lumière à une longueur d'onde de 595 nm ; l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité des protéines présente dans chaque échantillon (la couleur bleu résulte de l'interaction des groupements anioniques du colorant avec les groupements aminés des protéines). Le complexe ainsi formé est stable pendant environ 1 heure.

La gamme étalon a été réalisée avec de l'albumine bovine sérique (BSA, fraction V de Merck®) comme protéine standard (Tab. III-1) à des concentrations de 0 ; 5 ; 10 ; 15 ; 20 µg/ml ; ces dilutions ont été réalisées avec le tampon d'homogénéisation spécifique à chaque biomarqueur.

Chaque échantillon de (S9)^② a été dilué, au dixième, avec le tampon d'homogénéisation.

• Protocole expérimental :

1. Préparation de la solution mère à 1mg par ml de BSA (Bovine Serum Albumine) dans le tampon TBS pH 7.4. Préparer la gamme étalon (se conserve à 4°C)

Tableau III-1 : réalisation de la gamme étalon du BSA

Concentration BSA (µg/mL)	BSA (µl)	Tampon TBS (µl)
0	0	1000
5	5	995
10	10	990
15	15	985
20	20	980

2. Courbe d'étalonnage :

Récupérer 250 µl de chaque point de la gamme et y ajouter 750 µl de bleu de Coomasie et mesurer la densité optique au spectrophotomètre à 595 nm.

3. Mesure des échantillons :

Déterminer la quantité d'échantillon à prendre de manière à se trouver à l'intérieur de la courbe d'étalonnage

- a) Dilution au 1/100^{ème} : 10 µl d'échantillon dilué plus 990 µl de tampon TBS.
- b) Dilution globale de l'échantillon au 1/500^{ème} : 50 µl d'échantillon dilué + 200 µl de TBS (dilution au 1/5^{ème}) + 750 µl de Bleu de Coomasie

Lecture au spectrophotomètre à 595 nm.

4. Calcul :

Le calcul se fait à partir de la courbe d'étalonnage en tenant compte de la dilution de l'échantillon ; les résultats sont exprimés en mg de protéines/ml.

1.2.3. Dosage de l'activité du Glutathion-S-Transférase (GST) :

Les glutathions S-transférases représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles essentiellement cytosoliques, impliquées dans diverses opérations de transports et de biosynthèses intracellulaires ([George, 1990](#)). Les GSTs représentent une importante famille enzymatique dont la fonction est de conjuguer le glutathion réduit GSH en des composés électrophiles par formation d'un pont thioéther. Les produits sont ensuite métabolisés en mercaptures puis excrétés dans les déchets liquides (bile, urine).

Une grande variété de composés chimiques induisent l'activité des GSTs, dont certains sont inducteurs des cytochromes P450 comme les hydrocarbures poliaromatiques et les PCBs.

La méthode de dosage des GSTs utilisée dans le cadre de cette étude est celle de [Habig et al., \(1974\)](#) ; celle-ci consiste à faire agir les GSTs contenues dans le cytosol sur un mélange GSH (glutathion réduit)+CDNB (**chloro-2,4-dinitrobenzène**) à 37°C et à pH 6,5. La variation de la densité optique, due à l'apparition du complexe GSH-CDNB, est mesurée chaque 15 secondes pendant 1mn à 340nm. La vitesse initiale de la réaction est proportionnelle à la quantité d'enzyme introduite dans la cuve.

• Protocole expérimental :

1. Mettre au bain-marie à 37°C les solutions CDNB, Tampon phosphate et GSH.
2. Mesure au spectrophotomètre (si le spectrophotomètre est thermostaté mettre à 37°C)

3. Remplir les micro-cuves en quartz pour les blancs et les échantillons (qui seront décongelés dans la glace).

4. Lecture au spectrophotomètre à l'abri de la lumière, dans une micro-cuve en quartz.

5. Etablir un programme de lecture avec les caractéristiques suivantes :

- $\lambda = 340\text{nm}$
- délai (s) : 15 secondes entre chaque lecture.
- Mesure (min) : 1min

Tableau III-2 : Préparation pour l'analyse de l'activité du glutathion S-transférase

	Blanc (μl)	Essai (μl)
Tampon Phosphate (100mM) pH 6.5	850	840
CDNB (20mM)	50	50
Cytosol (S9 ou S100)	0	10
GSH (100mM)	100	100

Faire des allers retours avec la pipette après l'ajout du GSH, la réaction démarre.

Un blanc de réactifs est réalisé plusieurs fois, la moyenne de ces mesures permet d'évaluer la vitesse de la réaction spontanée qui n'est pas négligeable.

Les échantillons sont aussi mesurés plusieurs fois de façon à pouvoir établir une moyenne.

La valeur de la densité optique correspondant au blanc (conjugaison spontanée du substrat) a été ensuite retranchée à la valeur de chaque essai afin de mesurer la variation due uniquement à l'activité de l'enzyme.

Sachant que le coefficient d'extinction du GSH-CDNB est de $9.6\text{mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

$$\text{AV} = \frac{(\Delta\text{DO}_{\text{éch}} - \Delta\text{DO}_{\text{blanc}})}{\epsilon \times l} \times \frac{V_{\text{tot}}}{V_{\text{enz}}}$$

$\Delta\text{DO}_{\text{éch}} - \Delta\text{DO}_{\text{blanc}}$: moyenne des DO des échantillons par minute – moyenne des DO des blancs par minute.

ϵ : coefficient d'extinction moléculaire du CDNB.

L : trajet optique de la micro-cuve = 1cm.

V_{tot} : Volume total dans la cuve : 1000 µl (150 µl du mélange CDNB/GSH + 10 µl de surnageant + 840 µl Tampon Phosphate).

V_{enz} : c'est le volume du surnageant.

L'activité spécifique (AS) de l'enzyme se calcule en rapportant l'AV à la concentration de protéines contenues dans l'échantillon.

1.2.4. Dosage du Glutathion réduit (GSH) :

Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique (à l'aide d'un spectrophotomètre) de l'acide 2-nitro-5-mercapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) (réactif d'Ellman) par les groupements (-SH) du glutathion.

Une fois préparé, l'homogénat doit subir une déprotéinisation (par l'acide sulfosalicylique 0,25%) afin de protéger les groupements -SH du glutathion. Après centrifugation le surnageant est utilisé pour le dosage par spectrophotométrie avec le réactif DTNB à 0.01M, la lecture se fait à 412nm suivant la méthode simple de [Weeckbeker et Cory, \(1988\)](#).

- **Protocole expérimental :**

- ✓ Prélever 0.8 ml de l'homogénat①.
- ✓ Ajouter 0.2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) 0.25%.
- ✓ Agiter et laisser pendant 15min dans un bain de glace.
- ✓ Centrifuger à la vitesse de 1000g/min pendant 5minutes.
- ✓ Prélever 0.5ml du surnageant.
- ✓ Ajouter 1ml du tampon Tris E.D.T.A (contenant 0.02 M d'EDTA, pH 9.6)
- ✓ Mélanger et ajouter 0.025ml de l'acide 5-5'- dithio-bis-2-nitrobenzoïque à 0.01 M (dissous dans le méthanol absolu)
- ✓ Laisser pendant 5 minutes dans la température ambiante pour la stabilisation de la couleur. La réaction colorimétrique se développe instantanément.

- ✓ Mesurer l'absorbance optique à 412nm

La concentration du glutathion est obtenue après application de la formule suivante :

$$[\text{GSH}] = \frac{\text{DO} \times L \times 1.525}{5240 \times mg \text{ prt}} = \mu\text{M GSH/ mg prt}$$

DO : densité optique.

L : le volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8ml homogénat+0.2ml SSA).

1,525 : le volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5ml surnageant+ 1ml Tris EDTA+ 0.025ml DTNB à 0.01 M dissous dans le méthanol absolu).

0.8 : le volume de l'homogénat trouvé dans 1ml.

0.5 : le volume du surnageant trouvé dans 1.525ml.

mg prt : quantité de protéines dans l'échantillon.

NB : La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec 500 µl d'eau distillée remplaçant l'échantillon.

2. Biomarqueur de stress métallique :

2.1. Expérience de contamination *in vivo*

2.1.1. Objectif et stratégie:

Dans le but d'étudier l'effet de trois métaux lourds (à savoir : le Cadmium « Cd », le Cuivre « Cu » et le Plomb « Pb ») sur la moule *Perna perna*, une expérience de contamination par trois doses de chaque métal Cd : 50, 100, 200 µg/l ; Cu : 10, 15, 30 µg/l et Pb : 0.25, 0.5 et 1µg de Pb/l, a été réalisée au laboratoire. Les moules fraîchement récoltées du site de Cap de garde sont immédiatement transportées dans une glacière -contenant de l'eau provenant du site- jusqu'au laboratoire pour être acclimatées puis traitées. Un dosage des métallothionéines (MTs) a été effectué à la fin de l'expérience qui a duré 7 jours.

2.1.2. Protocole de contamination des moules :

- ✓ L'espèce utilisée dans cette expérience est la moule *Perna perna* collectée au niveau d'une moulière naturelle située au Cap de Garde ; les moules sont transportées jusqu'au laboratoire dans l'eau de mer du même site de prélèvement.

- ✓ Distribution des moules dans 10 bacs contenant de l'eau de mer provenant du site de prélèvement à raison de 3 individus par litre (ce qui revient à 10 individus par bac contenant 3,5litres).
- ✓ Les moules ont été acclimatées aux conditions du laboratoire pendant 48h (salinité 37psu, T°C 16°C ±1°C)
- ✓ 3 doses de chaque métal (à savoir : Cd : 50, 100, 200 µg/l ; Cu : 10, 15, 30 µg/l et Pb : 0.25, 0.5 et 1 µg/l) ont été rajoutées à 9 bacs en laissant le 10^{ème} comme témoin.
- ✓ Renouvellement de l'eau des bacs chaque 48h, durant 7 jours de l'expérience, étant donné que c'est la seule source de nourriture pour les organismes.
- ✓ 8^{ème} jour : fin de l'expérience ; Les animaux sont disséqués en trois groupes de tissus destinés aux dosages des MTs : les branchies, la glande digestive et les restes (manteau, pied, masse viscérale, palpes labiaux, reins, cœur, muscles) que nous nommerons "corps".

Afin de minimiser l'influence de la matière particulaire ingérée sur le contenu en contaminant du corps ([Hare et al., 1989](#)), les contenus des tractus digestifs sont évacués par un jet d'eau désionisée appliquée aux ouvertures.

2.1.3. Dosage des métallothionéines :

Les métallothionéines sont des protéines solubles trouvées dans le cytosol ([Cherian et Goyer, 1978](#)). Elles ont un taux de renouvellement rapide dans les tissus et peuvent être accumulées en grandes quantités dans les lysosomes tertiaires. Ces lysosomes sont des vésicules membranaires à temps de vie biologique variable et sont reconnus dans les tissus sous forme de granules riches en métaux. La séquestration des éléments traces accumulés est d'une importance majeure dans le mécanisme de détoxication. Ces métalloprotéines riches en groupes sulfhydryles fixent principalement le zinc, le cuivre, le cadmium, le mercure et le plomb ([Bouquegneaux et Noël-Lambot, 1978; Kohler et Riisgard, 1982; Depledge et Rainbow, 1990](#)).

Principe : Le dosage des métallothionéines se base sur l'évaluation du contenu en résidus -SH par une méthode spectrophotométrique utilisant le réactif d'Ellman (DTNB : 5,5dithiobis 2 acide nitro benzoïque) ([Ellman, 1959](#)). Une gamme étalon est préparée au préalable en utilisant comme référence plusieurs concentrations de la forme réduite de glutathion portant un groupement thiol –SH ([Viarengo et al., 1997](#)).

Etant donné que les métallothionéines contiennent un nombre important de cystéines (environ 20 à 30 %), la détermination des MTs est fondée sur la détection des groupements

SH permettant une évaluation plus sélective de ces métalloprotéines. La réaction entre le DTNB et les groupements -SH des protéines produit des quantités stœchiométriques de TNB (thionitrobenzoate), un composé de couleur jaune qui absorbe à 412 nm ; l'apparition de la coloration jaune est proportionnelle à la teneur en groupements SH contenu dans les MTs ([Viarengo et al. 1997](#)).

Protocole expérimental :

• Homogénéisation

- ✓ Prélever 1g d'échantillon (branchies, glande digestive et corps)
- ✓ Ajouter 3 volumes du tampon d'homogénéisation
- ✓ Mélanger à l'aide d'un broyeur

• Centrifugation

- ✓ Centrifuger l'homogénat à 30 000g pendant 20minutes à 4°C
- ✓ Récupérer 1ml du surnageant
- ✓ Mélanger au vortex

• Précipitation éthanolique

- ✓ Prélever 1ml du surnageant
- ✓ Ajouter au surnageant, 1.05ml d'éthanol absolu froid (-20°C)
- ✓ Et 80µl de chloroforme
- ✓ Mélanger au vortex pendant quelque secondes
- ✓ Centrifuger à 6000g pendant 10minutes à 4°C
- ✓ Récupérer le surnageant.

• Précipitation des métallothionéines

- ✓ Ajouter au surnageant 1mg d'ARN et 40µl d'HCl à 37%
- ✓ Ajouter 3 volumes d'éthanol froid (-20°C)
- ✓ Mélanger au vortex pendant quelque secondes
- ✓ Conserver le mélange à -20°C pendant une heure

- ✓ Centrifuger à 6000g pendant 10 minutes à 4°C
- ✓ Eliminer le surnageant
- ✓ Laver le culot avec 3 ml d'une solution de lavage (éthanol, chloroforme, tampon d'homogénéisation-déjà préparée et conserver à -20°C)

- **Purification et remise en suspension de la métallothionéine**

- ✓ Centrifuger à 6000g pendant 10minutes à 4°C
- ✓ Eliminer le surnageant et sécher le culot sous un flux d'azote pendant 10minutes
- ✓ Ajouter au culot 150µl d'une solution de NaCl 0.25M et 150µl d'une solution d'HCl 1N qui contiennent 4mM d'EDTA
- ✓ Agiter au vortex pendant quelque secondes, jusqu'à la remise en suspension complète de l'échantillon.

- **Analyse spectrophotométrique de la métallothionéine :**

- ✓ Ajouter au culot, 4.2ml du réactif d'Ellman
- ✓ Centrifuger à 3000g pendant 5minutes
- ✓ Prélever le surnageant
- ✓ Lire la densité optique à une longueur d'onde 412nm

- **Dosage spectrophotométrique des métallothionéines :**

Le contenu en groupements thiols (-SH) des métallothionéines est évalué en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme standard de référence.

Courbe standard de référence du glutathion :

- ✓ Préparer une solution mère de GSH à une concentration de 1mg/ml dans du NaCl 0.25M et la conserver dans de la glace.
- ✓ Préparer différentes concentrations, à partir de la solution mère selon le tableau III-3.
- ✓ Etablir le nuage de points, puis l'équation de régression $DO = f$ (concentration en GSH).

Tableau III-3 : Gamme étalon du glutathion réduit (GSH).

Concentration (nmol/ml)	Solution mère de GSH	NaCl 0.25 M	HCl 1N, EDTA 4 mM	Solution de DTNB (réactif d'Ellman)	Volume final
Echantillons à analyser	-	150 µl	150 µl	4.2 ml	4.5 ml
Blanc	-	150 µl	150 µl	4.2 ml	4.5 ml
Standard 1 0.00723 nmol/ml	10 µl	140 µl	150 µl	4.2 ml	4.5 ml
Standard 2 14.4 nmol/ml	20 µl	130 µl	150 µl	4.2 ml	4.5 ml
Standard 3 28.8 nmol/ml	30 µl	110 µl	150 µl	4.2 ml	4.5 ml
Standard 4 43.3 nmol/ml	40 µl	90 µl	150 µl	4.2 ml	4.5 ml
Standard 5 57.6 nmol/ml	50 µl	70 µl	150 µl	4.2 ml	4.5 ml
Standard 6 72 nmol/ml	60 µl	50 µl	150 µl	4.2 ml	4.5 ml
Incubation à température ambiante pendant 5 minutes Lecture de densité optique à 412 nm					

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 homogénéisé (nmol /mg de tissu) selon la représentation graphique de la courbe d'étalonnage suivante :

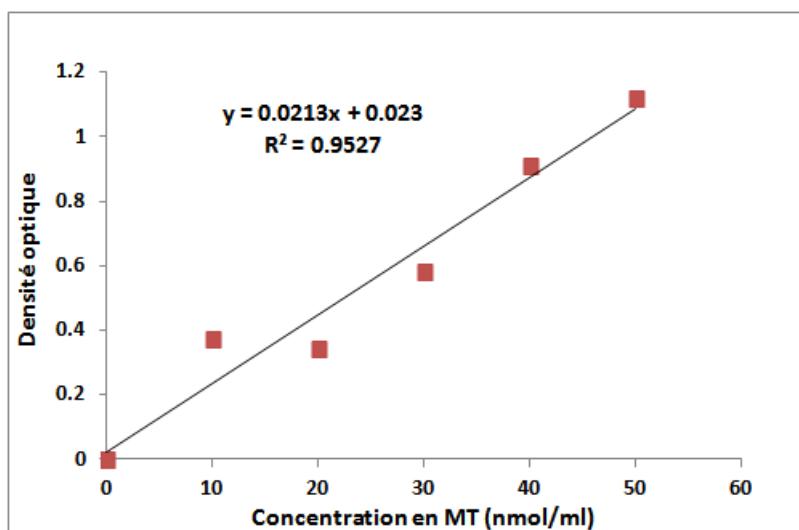


Figure III-6 : Représentation graphique de la courbe d'étalonnage des MTs

3. Analyse statistique :

Dans le présent chapitre, les calculs ont concerné chaque variable et chacune des stations choisies ; ces calculs ont été réalisés à l'aide de logiciels d'analyse et de traitement statistique des données Minitab version 14.1 ([X, 2003](#)) et XLSTAT.

L'application du modèle linéaire généralisé (GLM) a été effectuée sur les données relatives, d'une part, aux paramètres physico-chimiques de l'eau pour tester l'effet sites sur leurs variations et, d'autre part, aux biomarqueurs de biotransformation (GSH et GST) afin de tester les effets sites et saisons sur leurs variations.

Pour la comparaison des effets saisons, sites, paramètres physico-chimique ainsi que les biomarqueurs de biotransformation nous procédons à une analyse de la variance à deux critères de classification (ANOVA).

Le test χ^2 d'indépendance ainsi que le test de Kruskal Wallis ont été appliqués aux données relatives à la distribution des différentes doses par organe, des trois métaux utilisés dans le cadre de cette étude (test de l'effet dose de chaque métal).

L'analyse de l'intensité des relations entre nos paramètres est réalisée par la recherche des corrélations entre les séries de paramètres ; pour cela nous avons calculé le coefficient de corrélation paramétrique de Pearson (r).

RESULTAT

III. RESULTATS

1. Paramètres physico-chimiques de l'eau :

La Température :

La température des eaux du Golfe d'Annaba fluctue entre 7 et 29°C ; elle présente toutefois quelques particularités liées à chaque site (fig. III-7). Nous notons, en effet, que les eaux du Cap de Garde montrent des températures de plus de 25°C pendant plus de 5 mois (mai à septembre) alors que dans les autres sites de telles températures sont notées uniquement en période estivale. A Sidi Salem des températures inférieures à 15°C sont enregistrées seulement en décembre et janvier alors que dans les autres sites de telles températures sont notées pendant 5 mois (automne – hiver).

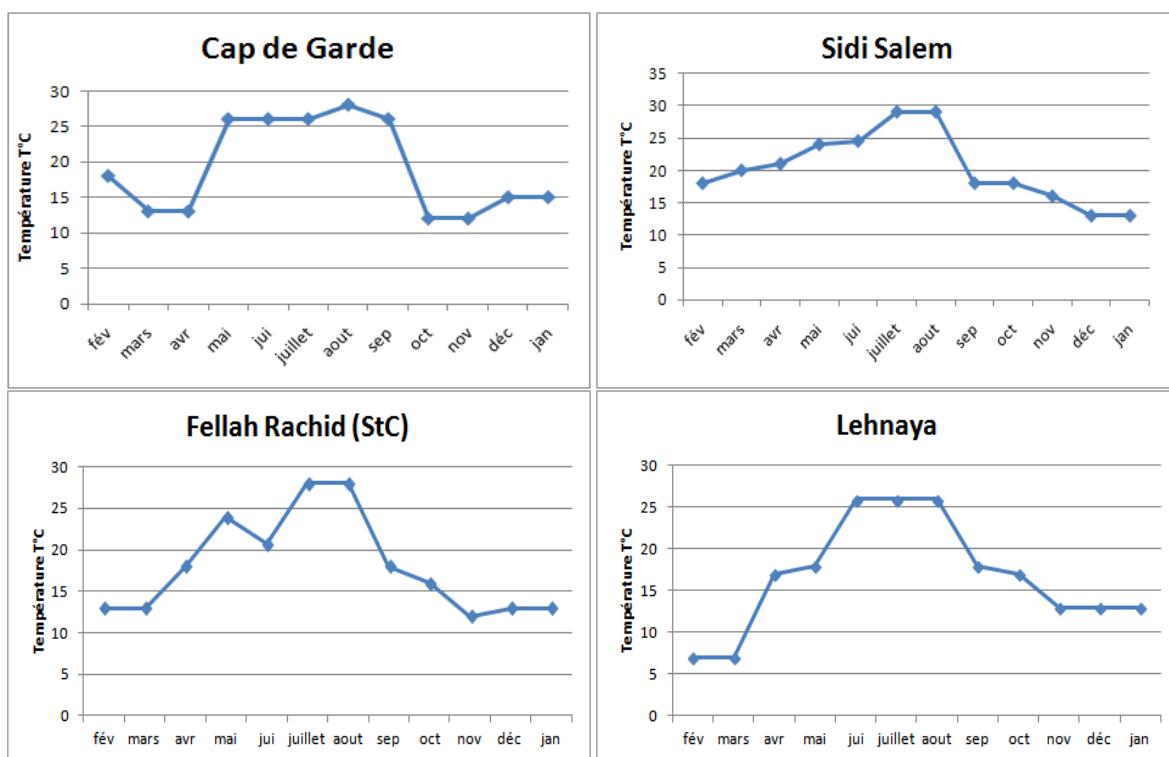


Figure III-7 : Variations mensuelles de la température de l'eau du littoral d'Annaba

La Chlorophylle *a* :

Les échantillons montrant des teneurs en chlorophylle *a* de plus de 50 µg/l représentent 41% au Cap de Garde, 33% à Saint Cloud, 25% à Sidi Salem et 16% à Lehnaya (fig. III-8). C'est dans les eaux du Cap de Garde que 4 pics de plus de 100 µg/l sont enregistrés contre seulement un à Saint Cloud et Sidi Salem. Dans l'ensemble des sites, les teneurs élevées en chlorophylle *a* sont le plus souvent rencontrées en période estivale ; en plus

de ce pic estivale nous notons la présence d'un pic printanier, automnal et hivernal respectivement au cap de Garde, à Sidi Salem et à Saint Cloud.

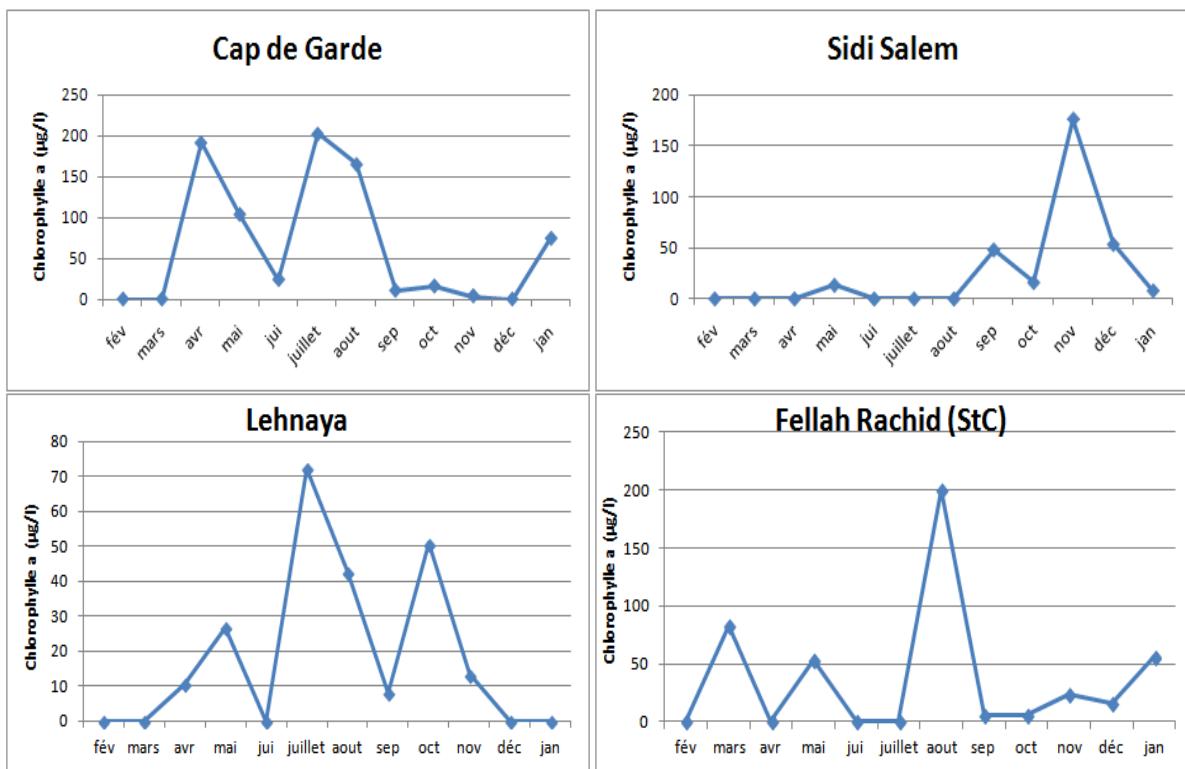


Figure III-8 : Variations mensuelles de la Chlorophylle « a » de l'eau du littoral d'Annaba

La matière en suspension :

Dans les eaux du Cap de Garde, 58% des échantillons montrent des teneurs en MES supérieures à 0,2 mg/l contre 42% enregistrant des teneurs de moins de 0,05 mg/l. A Sidi Salem, les échantillons dont les teneurs en MES dépassent 0,2 mg/l représentent 25%, ceux dont les teneurs sont comprises entre 0,1 et 0,2 représentent 41,66% et ceux dont les teneurs sont inférieures à 0,1mg/l représentent 33,33%. A Saint Cloud, 41% des échantillons montrent des teneurs comprises entre 0,23 et 0,30 mg/l et 50% des teneurs variant de 0,1 à 0,2 mg/l. En ce qui concerne Lehnaya, les teneurs de plus de 0,2mg/l représentent 42% et celles de moins de 0,05mg/l plus de 33% (fig. III-8). Par ailleurs, les teneurs les plus basses (inférieures à 0,05mg/l) sont notées au printemps et en automne au Cap de Garde, au mois d'août et en automne à Lehnaya, mais seulement au mois de juin à Saint Cloud et Sidi Salem (fig. III-8).

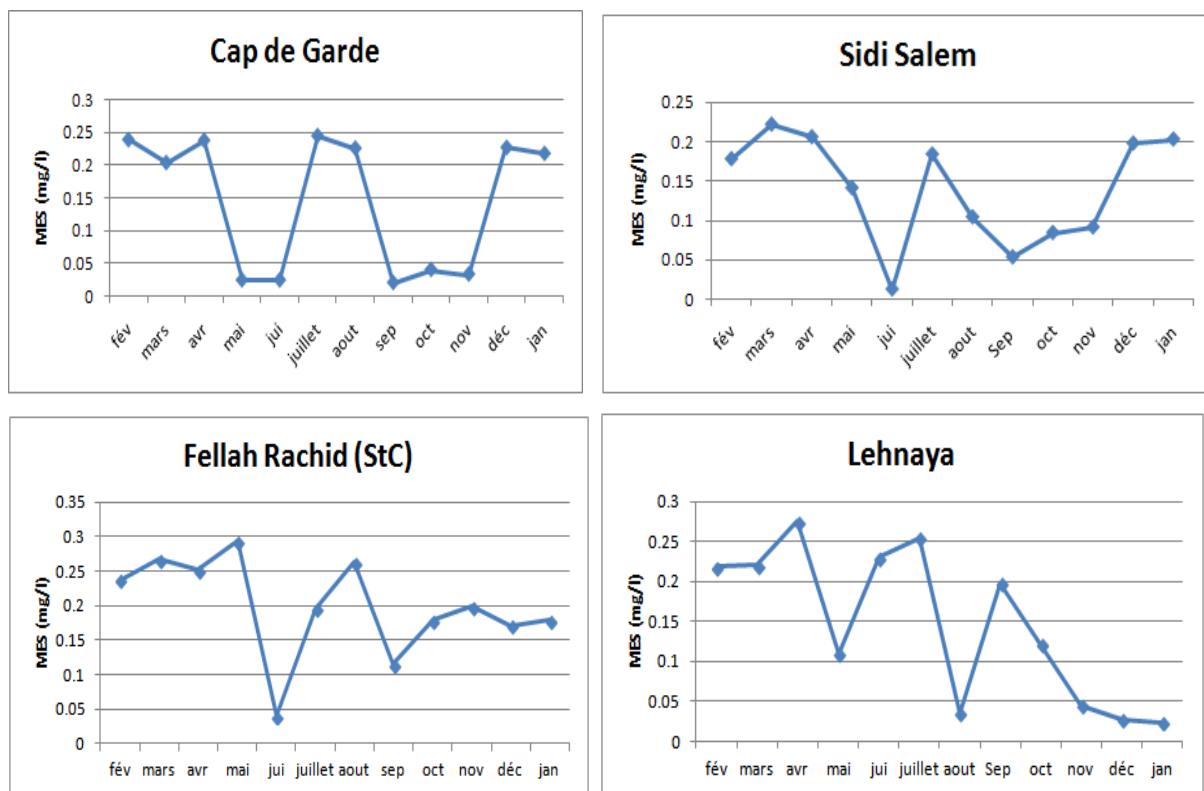


Figure III-9 : Variations mensuelles de la matière en suspension de l'eau du littoral d'Annaba

✚ L'oxygène dissous :

Dans l'ensemble des sites, les teneurs en oxygène dissous montrent des pics de plus de 10mg/l en février et en mars ; le mois d'avril se caractérise par une importante chute des valeurs de ce paramètre. Les teneurs en oxygène dissous relevées dans les eaux du Cap de Garde fluctuent entre 5 et 7 mg/l du mois de mai à août et se rapprochent de la valeur 8 mg/l de septembre à janvier. A Sidi Salem, les teneurs en oxygène dissous fluctuent entre 7 et 8 mg/l en période automnale et restent proches de 6mg/l en période printanière et estivale. A Saint Cloud nous notons, de mai à août un premier plateau où les teneurs sont comprises entre 5 et 7mg/l et de septembre à janvier un second plateau où les teneurs sont le plus souvent proches de 8mg/l. A Lehnaya, les teneurs en oxygène dissous restent comprises entre 5 et 7 mg/l de mai à août, ensuite passent à plus de 8mg/l en septembre-octobre pour enfin baisser à 5mg/l de novembre à janvier (fig. III-9).

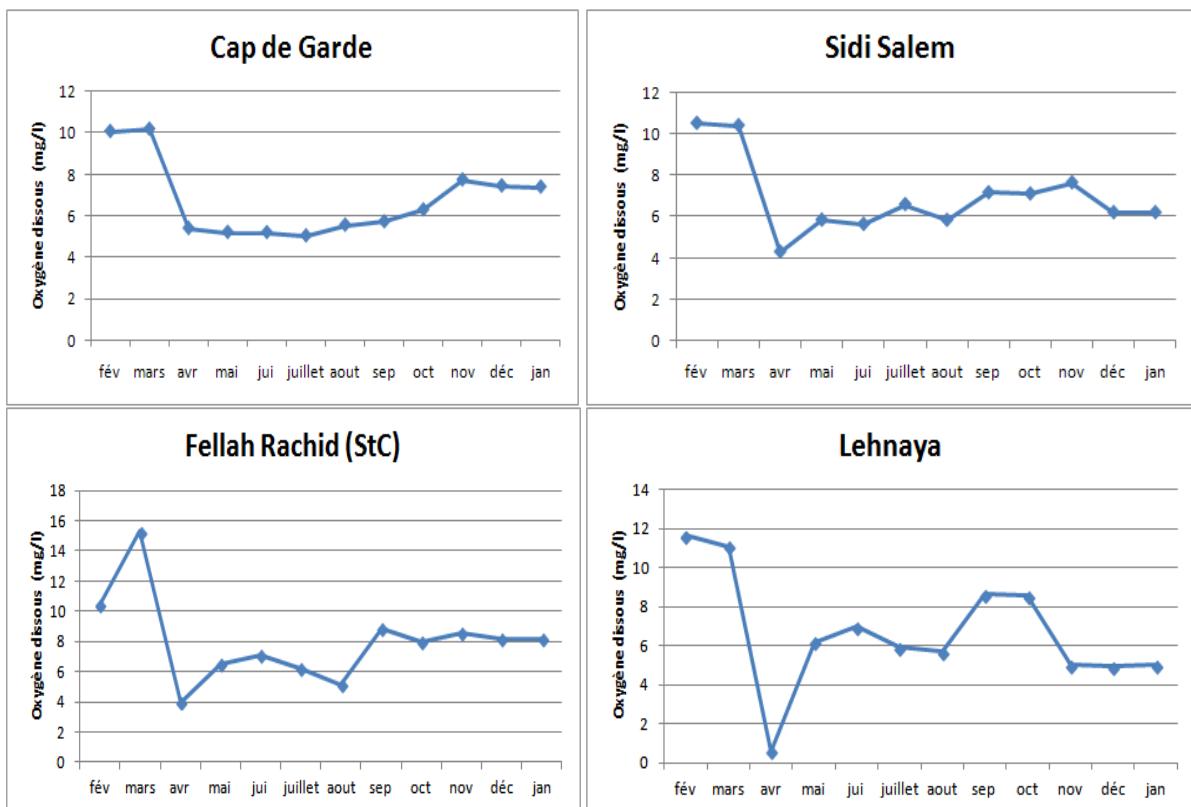


Figure III-10 : Variations mensuelles de l'oxygène dissous de l'eau du littoral d'Annaba

✚ La Salinité :

Dans l'ensemble des sites, ce paramètre montre des pics en juillet et en février (fig. III-10). Nous notons que 75% des échantillons prélevés dans le Cap de Garde et Sidi Salem montrent des salinités de plus de 37g/l ; toutefois les salinités les plus basses sont relevées en mars et en août respectivement à Sidi Salem et Cap de Garde. Des salinités comprises entre 36 et 37 g/l concernent 60% des échantillons prélevés à Saint Cloud et Lehnaya durant la période s'étalant d'août à janvier.

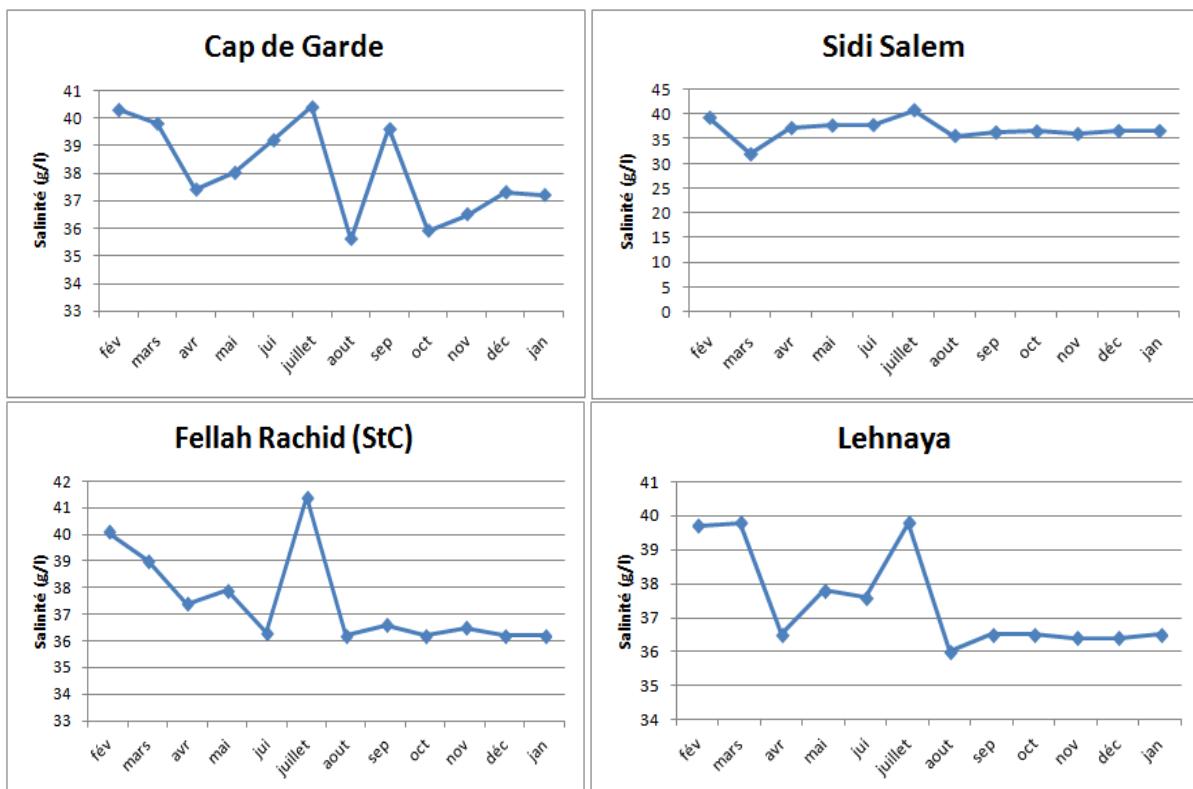


Figure III-11 : Variations mensuelles de la salinité de l'eau du littoral d'Annaba

Le modèle linéaire généralisé, sites en fonction des paramètres physicochimiques, montre l'existence d'une différence non significative pour tous les paramètres mesurés entre les quatre sites d'études (tab. III-4).

L'analyse de la variance (ANOVA) appliquée pour la comparaison de l'évolution saisonnière des paramètres physico-chimiques au niveau de chaque site, révèle une variation non significative pour tous les paramètres au niveau des sites d'étude sauf pour la température qui montre une variation significative ($p= 0.017$), hautement significative ($p=0.005$) et très hautement significative ($p=0.001$) au niveau de Fellah Rachid, Lehnaya et Sidi Salem respectivement (tab. III-5).

L'analyse statistique des données montre ainsi l'existence de corrélation négative hautement significative entre la température-oxygène dissous.

Tableau III-4 : Modèle linéaire généralisé appliquée pour l'ensemble des sites en fonction de facteurs physicochimique (O_2 dissous, MES, chlorophylle a, température, salinité) chez la moule *P. perna* du littoral d'Annaba.

Variables	variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
temp	sites	3	82.73	27.58	0.72	0.544 NS
S%	sites	3	7.873	2.624	0.82	0.491 NS
O_2	sites	3	13.725	4.575	0.76	0.523 NS
Chlr	sites	3	15636	5212	1.61	0.201 NS
MES	sites	3	0.028146	0.009382	1.26	0.299 NS

NS: non significatif ($p < 0.05$): hautement significatif ($p < 0.01$ **); très hautement significatif ($p < 0.001$ ***).

Tableaux III-5 : ANOVA pour l'analyse l'évaluation des paramètres physico-chimiques : par saison

SITE 1 CG

Variables	variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
temp	saison	3	227.667	75.889	2.409	0.142 NS
S%	saison	3	2.393	0.798	0.215	0.883 NS
pH	saison	3	0.446	0.149	1.072	0.413 NS
O_2	saison	3	14.136	4.712	1.636	0.256 NS
Chlr	saison	3	30226.353	10075.451	2.009	0.191 NS
MES	saison	3	0.061	0.020	2.866	0.103 NS

SITE 2 SS

Variables	variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
temp	saison	3	282.729	94.243	18.167	0.001 ***
S%	saison	3	11.416	3.805	0.775	0.539NS
pH	saison	3	0.544	0.181	1.856	0.215NS
O_2	saison	3	4.427	1.476	0.356	0.786NS
Chlr	saison	3	12292.600	4097.533	2.030	0.188NS
MES	saison	3	0.033	0.011	4.463	0.040NS

SITE 3 StC

Variables	variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
temp	saison	3	268.389	89.463	6.231	0.017 *
S%	saison	3	5.147	1.716	0.469	0.711NS
pH	saison	3	0.692	0.231	1.975	0.196NS
O_2	saison	3	14.739	4.913	0.518	0.681NS
Chlr	saison	3	5311.031	1770.344	0.440	0.730NS
MES	saison	3	0.022	0.007	1.791	0.226NS

SITE 4 H

Variables	variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
temp	saison	3	380.250	126.750	9.054	0.005**
S%	saison	3	4.309	1.436	0.579	0.645NS
pH	saison	3	1.042	0.347	4.519	0.039NS
O2	saison	3	4.825	1.608	0.136	0.935NS
Chlr	saison	3	2400.063	800.021	1.571	0.270NS
MES	saison	3	0.023	0.008	0.760	0.547NS

2. Variation de la concentration en GSH et en GST:

2.1.Cap de Garde

✚ Distribution des concentrations de GSH :

Dans le Cap de Garde, les teneurs en GSH relevées varient entre 0.00002 et 0.000893 μM GSH/mg prot (avec une moyenne de 0.000179 ± 0.000269) dans la glande digestive (GD) avec trois pics, le premier en février ($0.0009 \mu\text{M}$ GSH/mg de protéines), le second en juin ($0.0003 \mu\text{M}$ GSH/mg de protéines) et le troisième en août ($0.005 \mu\text{M}$ GSH/mg de protéines).

En revanche, dans les branchies (Brs), ces teneurs varient entre 0.000014 et 0.000472 μM GSH/mg prot ($m \pm s = 0.000117 \pm 0.000136$) et (fig.) et présentent des pics en février ($0.0003 \mu\text{M}$ GSH/mg de protéines), en mai ($0.00015 \mu\text{M}$ GSH/mg de protéines) et en août ($0.0005 \mu\text{M}$ GSH/mg de protéines). Les teneurs inférieures à $0.0001 \mu\text{M}$ GSH/mg de protéines sont rencontrées dans 66 et 75% des échantillons de branchies et de glandes respectivement (fig. III-12)

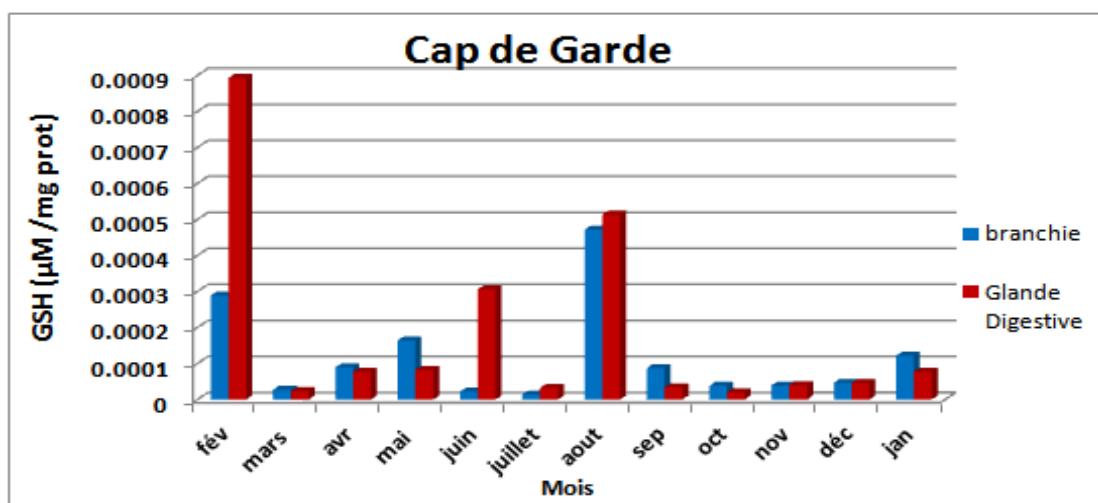


Figure III-12 : Taux de glutathion (μM GSH/mg de protéines) dans les Branchies et les glandes digestives de *Perna perna* collectée au Cap de Garde

✚ Variation de l'activité du Glutathion-S-transférase (GST) :

Dans le Cap de Garde, l'activité GST oscillent entre 0.0000566 et 0.00781 $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de prot (avec $m \pm s = 0.002004 \pm 0.002188$) dans la GD et entre 0.00007 et 0.004457 $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de prot (avec $m \pm s = 0.002059 \pm 0.001283$) dans les Brs. Au niveau des deux organes, les activités maximale et minimale sont relevées respectivement en août et en juillet. Des teneurs en GST de plus de 0,002 $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines concernent 42% des échantillons des deux organes. La GST montre une activité saisonnière décroissante établie comme suit printemps>hiver>été>automne au niveau branchial et printemps> été> hiver> automne au niveau de la glande (fig. III-13).

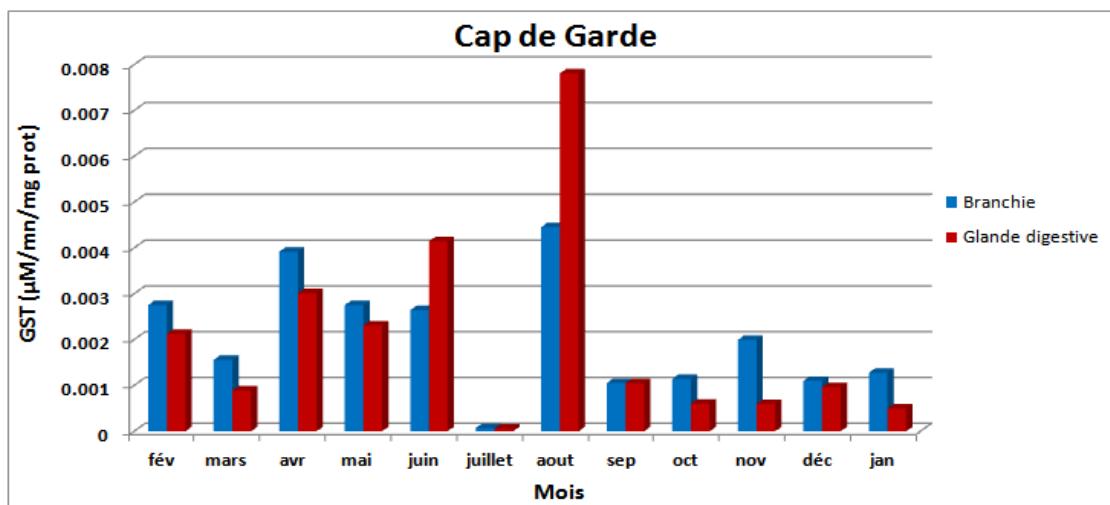


Figure III-13 : Activité de la GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) dans les branchies (Br) et la glande digestive (GD) de *Perna perna* peuplant le Cap de Garde

2.2.Fellah Rachid (ex-Saint Cloud) :

✚ Distribution des concentrations de GSH :

A Fellah Rachid, dans la GD, les teneurs en GSH varient entre 0.000011 et 0.000499 μM GSH/mg de prot ($m \pm s = 0.000124 \pm 0.000131$) et dans les branchies elles oscillent entre 0.000014 et 0.00019 μM GSH/mg de prot ($m \pm s = 0.000107 \pm 0.0000621$). Des teneurs de plus de 0,0001 μM GSH/mg de protéines sont notées dans 50 et 42% des échantillons de branchies et de glandes respectivement. Les teneurs en GSH sont maximales en août au niveau des deux organes et minimales en juin pour la glande et en octobre pour les branchies. Les teneurs en GSH suivent l'ordre été> hiver>printemps> automne aussi bien dans les branchies que dans la glande (fig. III-14).

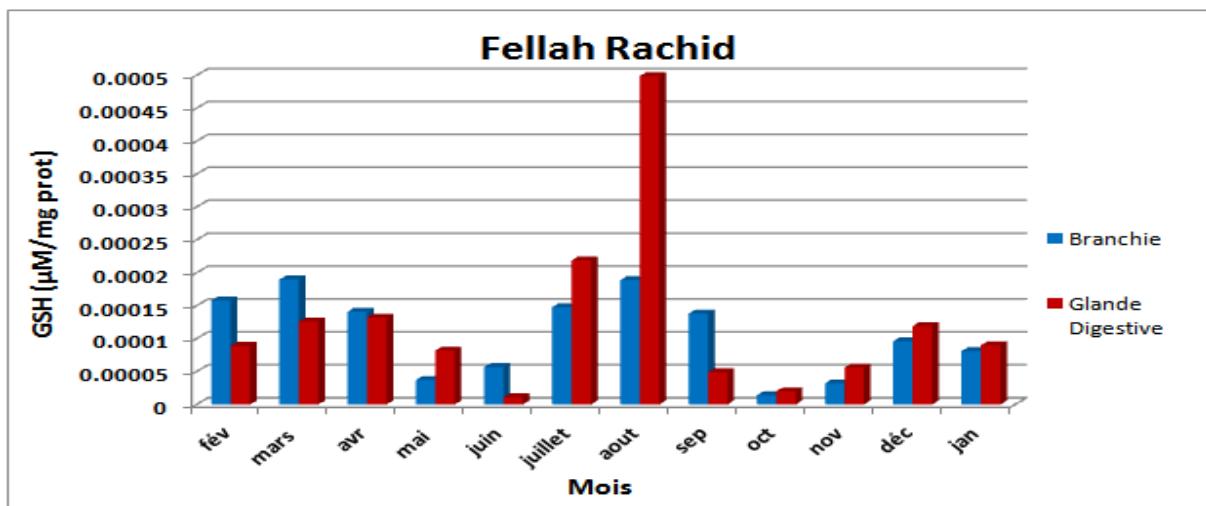


Figure III-14 : Taux de glutathion (μM GSH/mg de protéines) dans les Branchies et les glandes digestives de *Perna perna* collectée à Saint Cloud

✚ Variation de l'activité du Glutathion-S-transférase (GST) :

A Fellah Rachid, l'activité de la GST varie, dans la glande, de 0.000407 à 0.005026 $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines (avec $m \pm s = 0.001863 \pm 0.001313$) et dans les branchies, de 0.000159 à 0.004643 $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines (avec $m \pm s = 0.001878 \pm 0.001261$); elle présente un maximum en août (valeur proche de 0,005 $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) et un minimum en octobre (dans les branchies) et en novembre (dans la glande). Des teneurs en GST supérieures à 0,002005 $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines sont enregistrées dans plus de 41 et 33% des échantillons de branchies et de glandes respectivement. L'activité saisonnière de la GST varie d'un organe à l'autre ; elle suit l'ordre décroissant été > hiver > printemps > automne dans les branchies et été > printemps > hiver > automne dans la glande (fig. III-15).

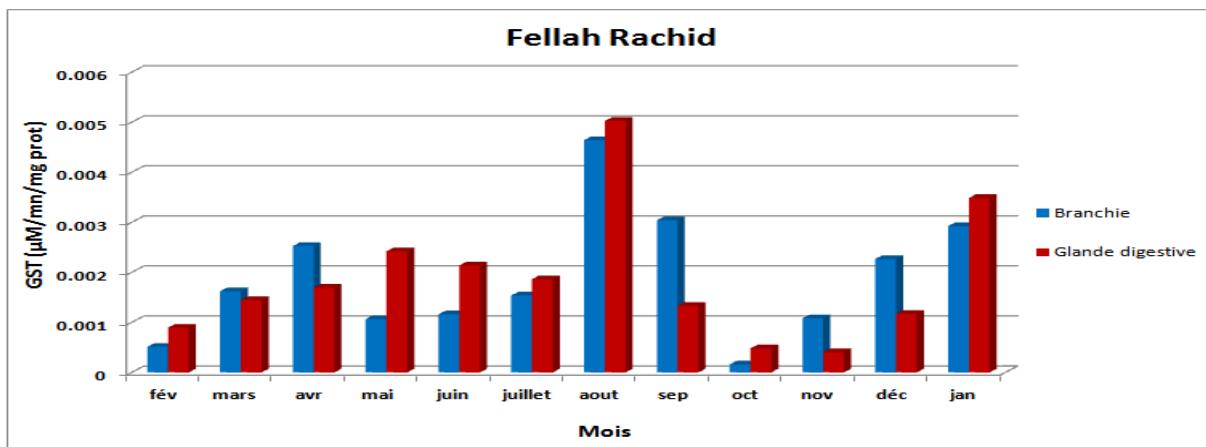


Figure III-15 : Activité de la GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) dans les branchies (Br) et la glande digestive (GD) de *Perna perna* peuplant la plage Fellah Rachid.

2.3.Sidi Salem :

✚ Distribution des concentrations de GSH :

A Sidi Salem, les variations des teneurs en GSH se font dans l'intervalle 0.000007-0.000595 μ M GSH/mg de protéine (avec $m\pm s=0.000126\pm 0.000156$) dans la glande digestive et 0.0000015- 0.000456 μ M GSH/mg de protéine (avec $m\pm s=0.000177\pm 0.000142$) dans les branchies.

Des teneurs de plus de 0,0001 μ M GSH/mg de protéines sont notées dans plus de 58 et 41% des échantillons de branchie et de glande respectivement. Au niveau des deux organes, nous notons une concentration minimale en juillet et maximale en août. Les concentrations saisonnières de la GSH évolue selon l'ordre printemps> été> automne> hiver dans les branchies et été> automne> printemps> hiver dans la glande (fig. III-16).

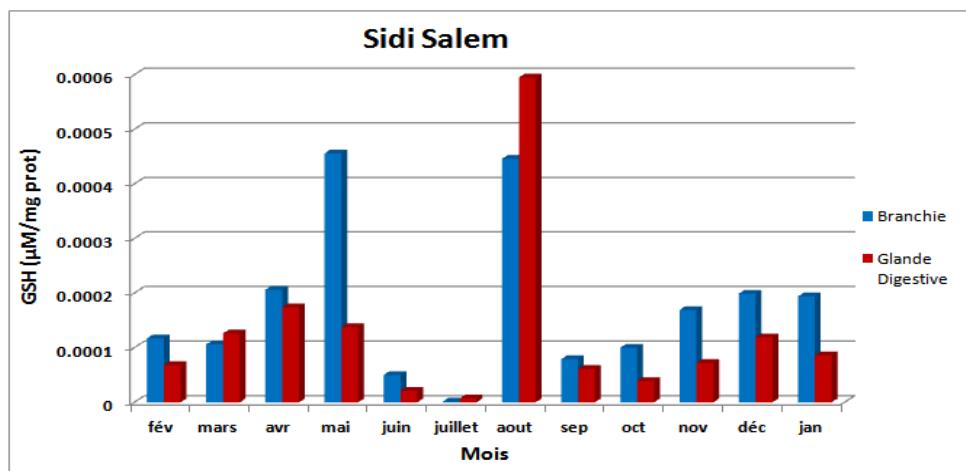


Figure III-16 : Taux de glutathion (μ M GSH/mg de protéines) dans les Branchies et les glandes digestives de *Perna perna* collectée à Sidi Salem

✚ Variation de l'activité du Glutathion-S-transférase (GST) :

A Sidi Salem, l'activité de la GST, dans les branchies, évolue dans l'intervalle 0.000223-0.006162 μ M/min/mg de protéines ($m\pm s=0.001815\pm 0.001791$) et montre trois pics, l'un en mars (>0,006 μ M/min/mg de protéines), l'autre en août (>0,004 μ M/min/mg de protéines) et le troisième en octobre (>0,002 μ M/min/mg de protéines). Dans la glande, l'activité de la GST oscille entre 0.0000739 et 0.005771 μ M/min/mg de protéines ($m\pm s=0.001568\pm 0.001815$) et montre trois pics de 0,0023, de 0,0044 et de 0,0057 μ M/min/mg de protéines respectivement en mars, juillet et août. Les activités les plus basses sont notées en mai au niveau branchial et en novembre dans la GD (fig. III-17). La GST

montre une activité saisonnière décroissante selon l'ordre été> hiver>automne> printemps dans les branchies et été> printemps > hiver > automne dans la glande (fig. III-17).

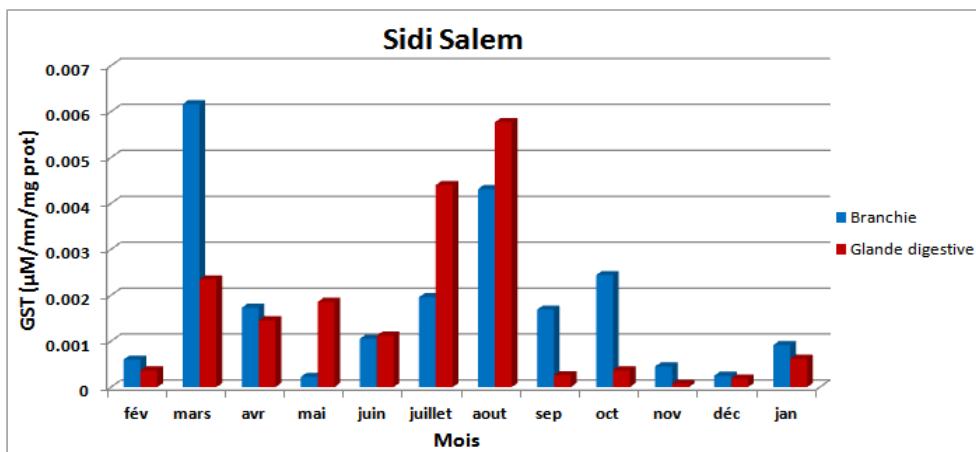


Figure III-17 : Activité de la GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg prot}$) dans les branchies (Br) et la glande digestive (GD) de *Perna perna* prélevée à Sidi Salem

2.4.Lehnaya

✚ Distribution des concentrations de GSH :

Le GSH dans la glande de moule de Lehnaya enregistre des teneurs comprises entre 0.000027 et 0.000319 μM GSH/mg de protéines (avec $m \pm s = 0.000102 \pm 0.000088$) et des pics en février, mars et août (respectivement 0,00032, 0,00017 et 0,0002 μM GSH/mg de protéines μM GSH/mg de protéines). Dans les Branchies, les teneurs en GSH varient de 0.000045 à 0.000462 μM GSH/mg de protéine (avec $m \pm s = 0.000136 \pm 0.000119$) et montrent des pics en février, avril et août respectivement de 0,00045, 0,00015 et 0,00027 μM GSH/mg de protéines. Des teneurs de moins de 0,0001 μM GSH/mg de protéines sont enregistrées dans plus de 58 et 66% des échantillons de branchies et de glandes respectivement. Le GSH montre des teneurs saisonnières décroissantes selon l'ordre hiver >été > printemps > automne dans les branchies et hiver>été> automne>printemps dans la glande (fig. III-18).

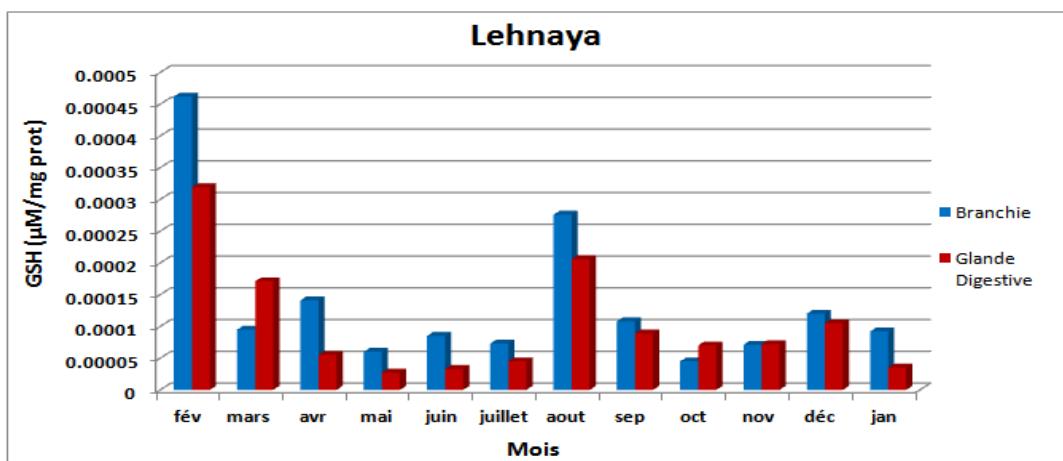


Figure III-18 : Taux de glutathion (μM GSH/mg de protéines) dans les Branchies et les glandes digestives de *Perna perna* collectée à Lehnaya

✚ Variation de l'activité du Glutathion-S-transférase (GST) :

A Lehnaya, l'activité GST est comprise dans l'intervalle $0.0000309-0.02096 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines ($m \pm s = 0.00301 \pm 0.00575$) au niveau de la GD et $0.000042-0.08368 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines ($m \pm s = 0.00877 \pm 0.02368$) au niveau des branchies et montre une activité maximale en avril ($0,08$ et $0,02 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines respectivement dans les branchies et la glande digestive) et minimale en novembre. Des activités de plus de $0,002 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines sont enregistrées dans la moitié et le tiers des échantillons de branchies et de la glande digestive de moules respectivement (fig. III-19).

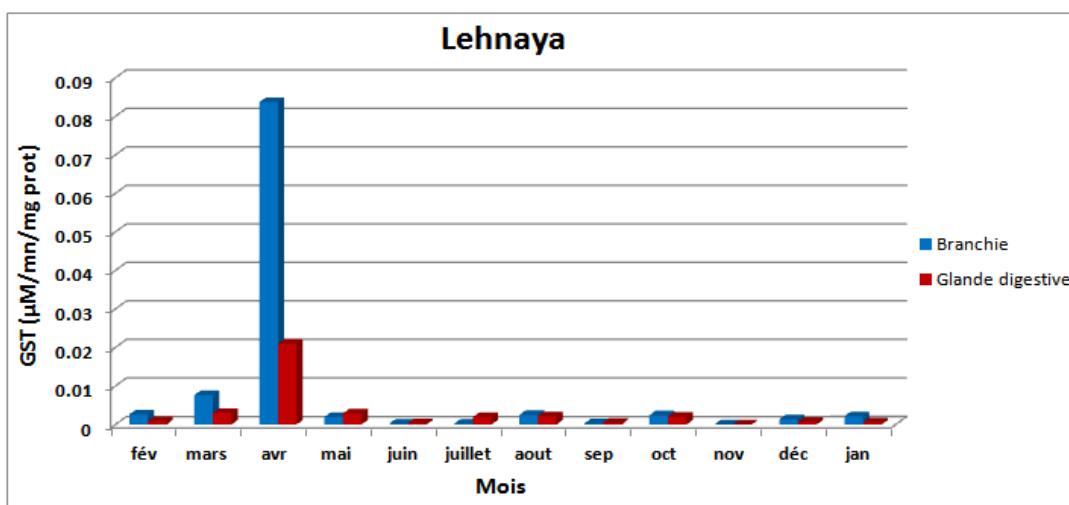


Figure III-19 : Activité de la GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) dans les branchies (Br) et la glande digestive (GD) de *Perna perna* prélevée a Lehnaya

✚ Le modèle linéaire généralisé, révèle l'existence d'une variation non significative des biomarqueurs mesurés (GSH et GST) entre les différents sites ainsi qu'entre

les différentes saisons à l'exception de l'activité de la GST au niveau de la glande digestive où on note une différence significative ($P=0.043$) (tab. III-6 et 7).

⊕ La matrice de corrélation appliquée sur les biomarqueurs mesurés au niveau des deux tissus (glande digestive et branchies) montre l'existence de corrélation positive très hautement significative entre glande digestive et branchies pour les deux biomarqueurs mesurés (GSH et GST) au niveau des quatre sites.

⊕ Aussi nous notons en ce qui concerne l'impact des paramètres physico-chimiques, une corrélation négative significative entre GST/GD (glande digestive) et oxygène dissous ($P=0.003$) et une corrélation négative hautement significative entre GST/Br (branchies) et oxygène dissous ($P=0.009$).

Tableau III-6 : Modèle linéaire généralisé appliquée pour les biomarqueurs mesurés en fonction des sites chez la moule *P. perna* du littoral d'Annaba.

Variables	variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
GSH Gd	sites	3	0.000	0.000	0.416	0.742 NS
GSH Br	sites	3	0.000	0.000	0.806	0.497 NS
GST Gd	sites	3	0.000	0.000	0.436	0.728 NS
GST Br	sites	3	0.000	0.000	0.996	0.403 NS

Tableau III-7 : Modèle linéaire généralisé appliquée pour les biomarqueurs mesurés en fonction des saisons chez la moule *P. perna* du littoral d'Annaba.

Variables	variation	ddl	CM	Fobs	P
GSH Gd	saison	3	0.0000002	2.13	0.110 NS
GSH Br	saison	3	0.0000001	1.36	0.268 NS
GST Gd	saison	3	0.0000810	2.94	0.043*
GST Br	saison	3	0.0005676	1.37	0.266 NS

3. Teneurs en métallothionéines dans les différents organes étudiés

3.1.Effet du cuivre sur le taux des métallothionéines :

Les résultats du dosage des métallothionéines chez des lots de moules non traitées et traitées à différentes doses de cuivre sont consignés dans le tableau III-8

⊕ **Teneurs en MTs dans chaque organe :**

- **Glande :**

Il ressort du tableau que la teneur en MTs contenue dans la glande digestive de moules témoins fait le double de celle des moules collectées. Dans la glande les teneurs en MTs

baisserent avec l'augmentation de la dose d'exposition de cuivre ; nous notons, en effet, par rapport au lot témoin, une baisse des teneurs en MTs de 45%, de 90% et de 86% chez les lots traités à 10, 15 et 30 µg/L respectivement (fig. III-20).

- **Branchies :**

Dans les branchies de moules témoins les teneurs en MTs sont légèrement plus élevées que celles des moules collectées. L'exposition des moules à différentes doses de cuivre fait varier la teneur des MTS au niveau des branchies. Les teneurs en MTs enregistrées dans les branchies de moules montrent, par rapport au lot témoin, une hausse de 7% dans le lot 1 suivie d'une baisse de 48 et 62% dans les lots 2 et 3 respectivement (fig. III-20).

- **Corps :**

Le corps des moules collectées montre des teneurs en MTs 4 fois plus élevées que celles du lot témoin. L'exposition des moules à différentes doses de cuivre fait augmenter les teneurs en MTs contenues dans le corps du bivalve de presque 3 fois aux doses de 10 µg/L et 15 µg/L et de plus de 17 fois à la dose de 30 µg/L (fig. III-20).

Tableau III-8 : Teneurs en métallothionéines (MTs) relevées chez des moules exposées pendant 7j à différentes concentrations de cuivre, par rapport à un lot témoin et un autre fraîchement cueillis

Lots de moules	Dose d'exposition au cuivre	Teneurs en MTs dans les organes (nmol/mg tissu)		
		Glande	Branchies	Corps
Lot témoin	Non traité	4.816	1.415	0.291
Lot de moules fraîchement cueillies	Non traité (PRLVMT)	2.012	1.068	1.110
Lot 1	10 µg/L	2.665	1.526	0.805
Lot 2	15 µg/L	0.499	0.735	0.902
Lot 3	30 µg/L	0.656	0.527	5.205

Distribution des teneurs en MTs dans les différents organes

- ❖ Chez les moules collectées ce sont les glandes qui montrent les teneurs en MTs les plus élevées ; Les proportions de MTs relevées chez les moules collectées représentent 48% dans la glande, 25% dans les branchies et 27% dans le corps (fig. III-20).
- ❖ Chez les moules témoins, c'est toujours la glande qui montre les teneurs en MTs les plus élevées ; la répartition se fait comme suit 73% dans la glande, 22% dans les branchies et 5% dans le corps (fig. III-20).
- ❖ Les moules du lot 1 (exposées à 10 µg/L de cuivre) montrent une distribution des teneurs en MTs similaire à celle des moules témoins ; Les teneurs relevées chez les moules du lot

1 montrent les proportions suivantes : 53% dans la glande, 31% dans les branchies et 16% dans le corps. Nous notons chez les moules du lot 1, une baisse des teneurs en MTs dans la glande et une hausse dans les branchies et le corps (fig. III-20).

- ❖ Chez les moules du lot 2, la teneur en MTs relevée montre une distribution différentes de celles notée dans le lot 1 ; nous notons, en effet, que la glande ne contient que 23% contre 35 et 42% dans les branchies et le corps respectivement (fig. III-20).
- ❖ Les proportions en MTs notées dans les différents organes des moules exposées à 30 µg/L de cuivre (lot 3) sont de 10% dans la glande, 8% dans les branchies et 82% dans le corps (fig. III-20).

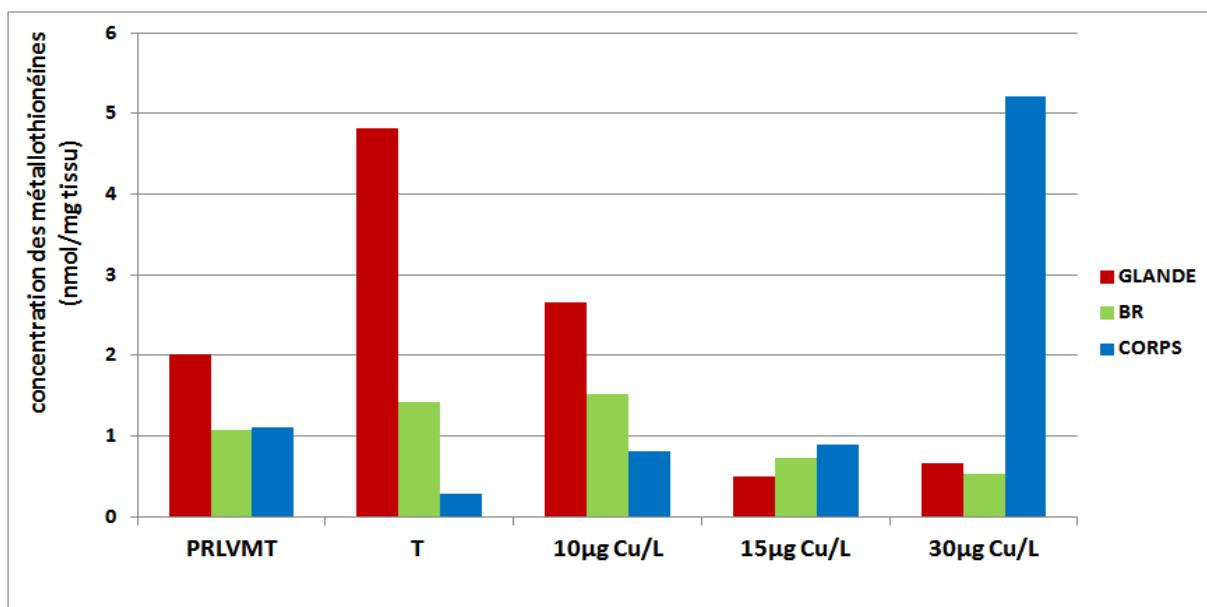


Figure III-20 : Teneurs en métallothionéines (MTs) relevées chez des moules exposées, pendant 7j, à différentes concentrations de cuivre, par rapport à un lot témoin et un autre fraîchement cueillis

3.2.Effet du cadmium sur le taux des métallothionéines :

Les résultats du dosage de la métallothionéine chez des lots de moules non traitées et traitées à différentes doses de cadmium sont collectés dans le tableau III-9.

❖ Teneurs en MTs dans chaque organe

- **Glande :**

Dans la glande les teneurs en MTs baissent avec l'augmentation de la dose d'exposition de cadmium ; Cette baisse des teneurs en MTs, par rapport à celles du lot témoin, est de l'ordre de 34%, de 44% et de 59% chez les moules exposées à 50, 100 et 200 µg de cadmium/L respectivement (fig. III-21).

- **Branchies :**

Au niveau branchial, l'exposition des moules à différentes doses de cadmium fait augmenter la teneur des MTS. Nous notons, en effet, que par rapport au lot témoin, les teneurs en MTs, sont multipliées par un facteur 3, 2 et 15 chez les moules exposées à 50, 100 et 200 µg de cadmium/L respectivement (fig. III-21).

- **Corps :**

L'exposition des moules à différentes doses de cadmium fait augmenter les teneurs en MTs contenues dans le corps du bivalve ; les teneurs notées chez les bivalves traités par rapport aux témoins sont multipliées par un facteur 12 à la dose de 50 µg/L, 6 à la dose de 100 µg/L et 9 à la dose de 200 µg/L (fig. III-21).

Tableau III-9 : Teneurs en métallothionéines (MTs) relevées chez des moules exposées pendant 7j à différentes concentrations de cadmium, par rapport à un lot témoin et un autre fraîchement cueillis

Lots de moules	Dose d'exposition au cadmium	Teneurs en MTs dans les organes (nmol/mg tissu)		
		Glande	Branchies	Corps
Lot témoin	Non traité	4.816	1.415	0.291
Lot de moules fraîchement cueillies	Non traité (PRLVMT)	2.012	1.068	1.110
Lot 1	50 µg/L	3.192	4.303	3.428
Lot 2	100 µg/L	2.693	3.053	1.846
Lot 3	200 µg/L	1.957	21.141	2.665

❖ Distribution des teneurs en MTs dans les différents organes

- ❖ Chez le lot de moules exposées à la plus faible dose de cadmium (50 µg Cd/L), la glande montre, par rapport au témoin, une baisse des teneurs en MTs ; mais au niveau des branchies et du corps les teneurs relevées sont en hausse. Les proportions en MTs rencontrées dans les glandes, les branchies et le corps des moules exposées à 50 µg Cd/L correspondent à 29, 40 et 31% respectivement. Ce sont les branchies qui présentent les plus fortes teneurs en MTs (fig. III-21).
- ❖ L'exposition des moules à la dose de 100 µg Cd/L fait baisser la teneur en MTs de 30% par rapport à la teneur en MTs relevées chez les moules du 1^{er} lot. Chez le lot de moules exposées à la dose intermédiaire de 100 µg de Cd/L, les teneurs en MTs montrent, par rapport aux moules exposées à la dose de 50 µg Cd/L, une légère hausse au niveau de la glande (passé de 29 à 36%), le maintien de la même teneur au niveau branchial et une

légère baisse au niveau du corps (passe de 31 à 24%). En comparaison avec les teneurs en MTs enregistrées dans la glande et le corps, c'est toujours au niveau branchial que les teneurs sont les plus élevées (fig. III-21).

- ❖ Les moules exposées à la forte dose de cadmium (200 µg Cd/L) répondent par une hausse importante des teneurs en MTs qui équivaut à presque 4 fois la valeur rencontrée chez les moules témoins. A cette forte dose de cadmium, les moules montrent, par rapport à la dose intermédiaire (100 µg Cd/L) une très forte augmentation des teneurs en MTs au niveau branchial (passe de 40 à 82%) accompagnée de fortes baisses au niveau de la glande (passe de 36 à 8%) et du corps (passe de 24 à 10%) (fig. III-21).

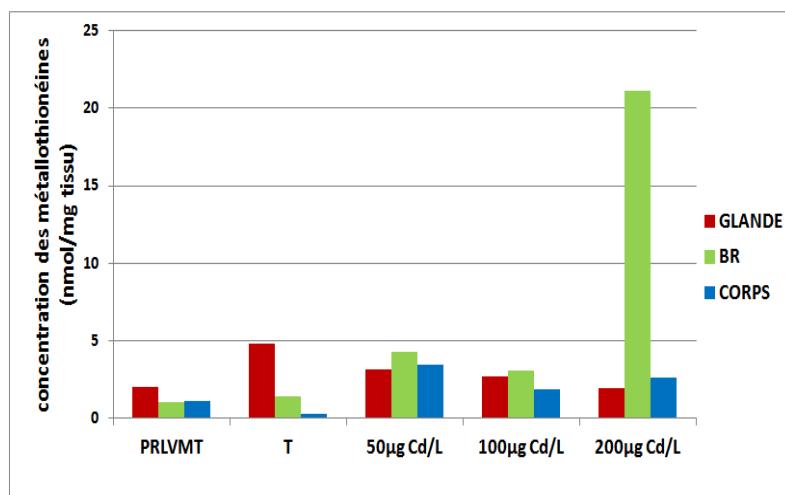


Figure III-21 : Teneurs en métallothionéines (MTs) relevées chez des moules exposées, pendant 7j, à différentes concentrations de cadmium par rapport à un lot témoin et un autre fraîchement cueillis

3.3.Effet du plomb sur le taux des métallothionéines :

Les résultats du dosage de la métallothionéine chez des lots de moules non traitées et traitées à différentes doses de plomb sont consignés dans le tableau III-10.

⊕ Teneurs en MTs dans chaque organe

- **Glande :**

Les teneurs en MTs rencontrées dans la glande de moule témoin sont plus élevées que celles de la moule collectée (plus du tiers). Les teneurs relevées dans la glande de moules exposées au plomb baissent en fonction de la dose de métal ; nous notons que, par rapport à la teneur en MTs de la glande témoin, la baisse est de moitié à faible dose (0,25 µg/L), de 7 fois à dose intermédiaire et de presque 2 fois à forte dose (1 µg/L) (fig. III-22).

- **Branchies :**

Les teneurs en MTs des branchies de moules collectées et témoins sont très proches. Chez les moules exposées à différentes doses de plomb les teneurs en MTs au niveau branchial montrent de légères fluctuations par rapport aux teneurs de moules témoins ; ces variations sont illustrées par une augmentation de 44% à dose faible, puis un retour à la teneur du témoin à dose intermédiaire et enfin une légère hausse de 13% à forte dose (fig. III-22).

- **Corps :**

Les teneurs en MTs enregistrées au niveau du corps ne montrent pas de grosses variations ; les mêmes valeurs sont rencontrées chez les moules collectées, témoins et exposées à la faible dose. Chez les moules exposées aux doses intermédiaire et forte les fluctuations sont très faibles (9 et 5% respectivement) (fig. III-22).

Tableau III-10 : Teneurs en métallothionéines (MTs) relevées chez des moules exposées pendant 7j à différentes concentrations de plomb, par rapport à un lot témoin et un autre fraîchement cueillis

Lots de moules	Dose d'exposition au plomb	Teneurs en MTs dans les organes (nmol/mg tissu)		
		Glande	Branchies	Corps
Lot témoin	Non traité	1,217	0,319	0,347
Lot de moules fraîchement cueillies	Non traité (PRLVMT)	0,776	0,291	0,347
Lot 1	0.25µg/L	0,563	0,458	0,347
Lot 2	0.50 µg/L	0,186	0,319	0,319
Lot 3	1.00µg/L	0,662	0,360	0,333

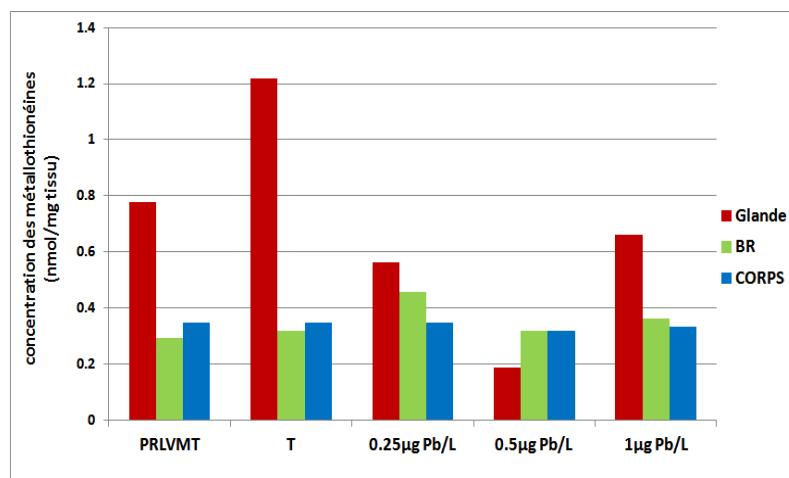


Figure III-22 : Teneurs en métallothionéines (MTs) relevées chez des moules exposées, pendant 7j, à différentes concentrations de plomb par rapport à un lot témoin et un autre fraîchement cueillis

✚ Distribution des teneurs en MTs dans les différents organes

- ❖ Chez le lot de moules provenant directement du site, c'est la glande qui montre les teneurs en MTs les plus élevées ; la teneur en MTs par organe est de 55% dans la glande, 21% dans les branchies et 24% dans le corps (fig. III-22).
- ❖ Chez les moules du lot témoin, c'est toujours la glande qui montre les teneurs en MTs les plus élevées ; les valeurs relevées sont 65% dans la glande, 17% dans les branchies et 18% dans le corps (fig. III-22).
- ❖ Chez le lot de moules exposées à la plus faible dose de plomb (0.25 μ g Pb/L), les teneurs en MTs montrent, par rapport aux teneurs du témoin, une baisse de 23% dans la glande et une hausse de 16% et de 7% respectivement dans les branchies et le corps (fig. III-22).
- ❖ Chez le lot de moules exposées à la dose de 0.50 μ g Pb/L, les teneurs en MTs montrent, par rapport aux teneurs du lot exposé à la faible dose (0,25 μ g Pb/L), une baisse de 20% dans la glande et une hausse de 6 et 14% respectivement dans les branchies et le corps (fig. III-22).
- ❖ A forte dose (1 μ g Pb/L), les teneurs en MTs présentent, par rapport aux moules exposées à la dose intermédiaire (0,50 μ g Pb/L), une augmentation de 27% dans la glande et une baisse de 12 et 15% dans les branchies et le corps respectivement (fig. III-22).

Le test χ^2 d'indépendance appliqué aux données relatives à la distribution des différentes doses des trois métaux utilisés dans cette étude (à savoir : Cu, Pb et Cd) par organe chez la moule montre pour les deux premiers métaux (Cu et Pb), qu'il n'existe pas de différence significative entre les concentrations relevées de métallothionéines au niveau des différents organes chez cette espèce. Il ressort donc de cette analyse que, chez cette espèce, les différentes doses de Cu et de Pb n'influent pas sur la concentration de métallothionéines dans les trois organes étudiés.

En revanche, le test χ^2 d'indépendance appliqué aux données relatives à la distribution des différentes doses de cadmium montre qu'il y a une différence significative entre les concentrations de métallothionéines relevées au niveau des différents organes de la moule; Ceci veut dire que la concentration des métallothionéines dans les trois organes dépend de la dose de cadmium utilisée.

Le test de Kruskal Wallis appliqué aux données relatives à la distribution des différentes doses des trois métaux utilisés dans cette étude (à savoir : Cu, Cd et Pb) par organe

chez la moule montre pour le plomb une différence significative ($p=0.01$) entre les concentrations relevées de métallothionéines au niveau des glandes.

Ces résultats sont bien illustrés dans les histogrammes réalisés après calcul de la médiane pour chaque dose et chaque organe (fig. III-23).

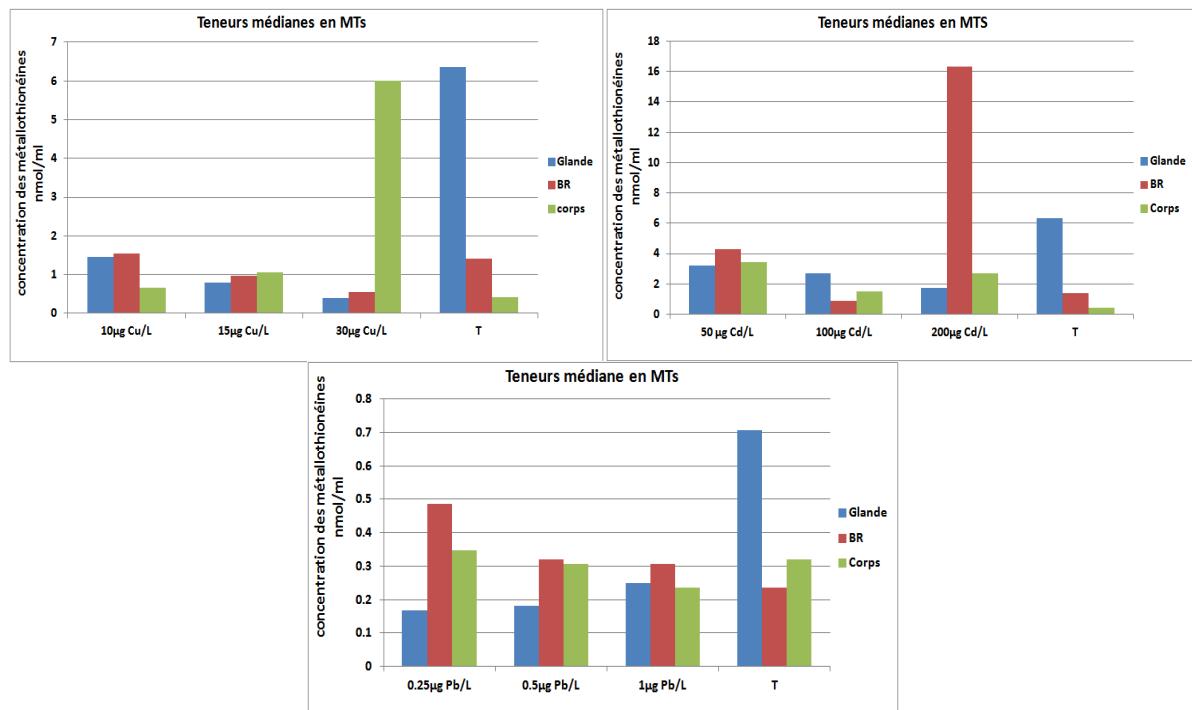


Figure III-23 : Teneurs médiennes en métallothionéines (MTs) relevées chez des moules traitées et non traitées.

DISCUSSION

IV. DISCUSSION :

Biomarqueurs (résultats de terrain) :

Teneurs en GSH et activités des GSTs :

Les résultats statistiques montrent que les effets des saisons et du site de prélèvement sont non significatifs sur les teneurs en GSH et les activités de GST enregistrées chez les moules, sauf pour l'activité des GSTs au niveau de la glande digestive, où une variation saisonnière significative ($p=0.043$) a été décelée.

En revanche, les résultats obtenus, montrent de légères variations saisonnières qui ont été non détectables par l'application du modèle linéaire généralisé (GLM) sauf pour l'activité des GSTs au niveau de la glande digestive. De nombreux travaux décrivent des modifications d'activités en liaison avec la saison, pour les mêmes enzymes antioxydantes (GST), chez *P. perna* (Khati, 2009) et *M. galloprovincialis* (Roméo *et al.*, 2003), ainsi que pour d'autres enzymes antioxydantes, chez les bivalves marins *M. galloprovincialis* (Viarengo *et al.*, 1991), *M. edulis* (Power et Sheehan, 1996) et le bivalve d'eau douce *C. fluminea* (Vidal *et al.*, 2002b).

D'autre part, Livingstone *et al.* (1993) ont observé que les enzymes de détoxication de la phase 1 de *Mytilus edulis*, sont induites par des paramètres saisonniers indépendants de la présence de contaminants dans leur milieu de vie. Dans ce sens, Cancio *et al.* (1999) rapportent une augmentation de l'activité du catalase (CAT) en fonction de la température de l'eau chez *M. galloprovincialis*. Le même résultat a été signalé pour les niveaux de TBARS (Thio Barbituric Acid Reactive Species) chez *M. edulis* par Pellerin-Massicotte (1997).

Les résultats de terrain révèlent des taux de glutathion réduit (GSH) qui décroissent surtout en automne ; Cette variation étant plus marquée dans la glande digestive que dans les branchies. Cette différence de réponse inter organes a déjà été rapportée par Cossu *et al.* (2000) et Khati (2009) ; ces auteurs notent des variations du taux de glutathion au niveau de la glande digestive ; ceci est dû au fait que la glande digestive est fortement impliquée dans le processus de détoxication des métaux (Marigomez *et al.*, 2002 ; Moore et Allen, 2002). Chez *Mytilus galloprovincialis*, Merzouki *et al.* (2009) signalent une accumulation préférentielle des métaux lourds dans la glande digestive par rapport au manteau. Cosson *et al.* (1998), rapportent que les réactions conduisant à la production d'oxyradicaux ainsi que d'anion superoxyde et peroxyde d'hydrogène induisant le stress oxydant ont été observées au niveau

du réticulum endoplasmique du foie chez les poissons et aussi au niveau des lysosomes de la glande digestive chez les mollusques bivalves.

Les faibles teneurs automnale en GSH enregistrées dans le présent travail, semblent être en discordance avec les résultats obtenus par [Khati \(2009\)](#) chez la même espèce *P. perna* provenant de la même zone d'étude ; cet auteur trouve des teneurs faibles en GSH en hiver et en été.

Nos résultats mettent bien en évidence un effet saison illustré par des taux de GSH élevés, au niveau branchial comme au niveau de la glande digestive, en été ; toutefois, ces variations ne sont pas statistiquement significatives.

Contrairement aux variations des teneurs en GSH, l'activité GST ne présente pas de différences significatives entre les deux organes étudiés ; nous notons, néanmoins, des valeurs élevées en été et printemps et basses en automne et hiver.

L'analyse statistique des biomarqueurs en fonction des saisons montre l'existence d'une différence significative entre les saisons pour la GST dans la glande digestive avec une activité maximale en août. L'activité élevée des GSTs en période estivale concordent avec les résultats obtenus par [Roméo et al. \(2003\)](#) chez *Mytilus galloprovincialis* dans le nord-ouest méditerranéen. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus chez *Mytilus galloprovincialis* de la lagune de Bizerte (Tunisie), qui révèlent des valeurs maximales en GST en printemps (mars) et des valeurs minimales en hiver (décembre) ([Kamel, 2014](#))

Dans une étude de biosurveillance, [Deviller et al., \(2005\)](#) montrent l'existence de différences d'activité de la GST en fonction de la saison ; Ces auteurs notent, en effet, une activité maximale de la GST en mars et en avril. Ces résultats confortent ceux que nous obtenons chez les moules du Cap de Garde, Sidi Salem et Lehnaya où cette enzyme enregistre, au niveau branchial, à cette même période, ses valeurs les plus élevées.

Les réponses antioxydantes observées chez les moules *Perna perna* peuplant le littoral d'Annaba, peuvent être engendrées par certains paramètres environnementaux ; Ces derniers peuvent être la cause de perturbations de l'état physiologique de la moule à l'origine de l'activation du système antioxydant. La corrélation négative significative notée, dans le présent travail, entre l'activité des GSTs et les teneurs en oxygène dissous pourrait conforter l'idée de l'impact que peut avoir les paramètres du milieu sur ces biomarqueurs.

Selon [Cossu et al. \(1997\)](#), chez *M. edulis* et *M. galloprovincialis*, les activités antioxydantes dans la glande digestive sont influencées par la teneur en oxygène et les facteurs climatiques et physiologiques ; dans ce sens, [Viarengo et al. \(1989\)](#) montrent qu'une anaérobiose temporaire provoquée expérimentalement entraîne une diminution des activités antioxydantes et de la lipoperoxydation, lesquelles retrouvent leurs valeurs initiales lorsque les conditions d'oxygénation sont rétablies. La ponte chez *M. galloprovincialis* entraîne une augmentation des activités antioxydantes en mars-avril, suivie d'une diminution progressive au printemps alors que la disponibilité en nourriture et la température augmentent ([Solé et al., 1995](#)). L'âge sensibilise aux effets oxydants ; ainsi, chez *M. edulis*, les individus âgés de plus de 10 ans ont des capacités antioxydantes (catalase, glutathion peroxydase, glutathion réduit, caroténoïdes et vitamine E) significativement plus faibles, ce qui explique un taux de lipoperoxydation plus élevé ([Viarengo et al., 1991](#)).

Les réponses enregistrées dans le présent travail pourraient aussi être en rapport avec l'évolution temporelle de l'état nutritionnel de l'animal, en relation, d'une part, avec la disponibilité des aliments dans le milieu et, d'autre part, avec le cycle reproducteur de la moule. En effet, il a été démontré que l'activité GST chez trois espèces de mollusque (*Mytilus galloprovincialis*, *Nucella lapillus* et *Monodonta lineata*) peuplant les côtes portugaises est influencée par la salinité et par des facteurs biotiques liés à l'état physiologique et aux réserves énergétiques des mollusques ([Tim Tim et al., 2009](#)). Aussi, la variation saisonnière de l'activité GST mesurée chez *M. galloprovincialis* de la lagune de Bizerte est supposée être liée à des fluctuations des paramètres de l'environnement ou à des facteurs biotiques, notamment le stade de reproduction et l'état physiologique de la moule ([Kamel, 2014](#)). [Djabourabi \(2014\)](#), signale que les variations saisonnières de l'activité GST concordent avec celles de la T° et de la salinité de l'eau chez deux espèces de bivalves de la lagune El Mellah (*R. decussatus* et *C. glaucum*) ; [Dellali et al., \(2001\)](#), explique que la température est un paramètre très limitant en milieu lagunaire. Par ailleurs, [Viarengo et al., \(1999\)](#), rapporte que l'élévation de ce paramètre stimulerait l'activité du glutathion dans la glande digestive de la moule ; ce qui pourrait expliquer les teneurs maximales en GSH et GST relevées en été dans la présente étude.

En revanche, les faibles teneurs en GSH et en GST enregistrées en période automnale, pourraient être dues au processus d'émission de gamètes chez la moule *P. perna* du golfe d'Annaba occasionnant la chute de l'IC. Selon [Halla et al., \(1997\)](#), les variations saisonnières de l'activité enzymatique peuvent être liées au cycle de la reproduction ; car, chez la moule, la

GST enregistre des valeurs élevées au cours de la phase de restauration des réserves et la gamétogénèse et des valeurs faibles lors de la ponte.

Les altérations du taux et/ou de l'activité des enzymes de biotransformation sont les biomarqueurs d'effet les plus sensibles ([Van der Oost et al., 2003](#)). Ces enzymes peuvent être inhibés ou activés lors d'une exposition à un xénobiotique et seraient selon [Cajaraville et al., \(2000\)](#) très fiables chez les mollusques.

Les GST sont des enzymes de métabolisation de phase II, dont la fonction est de conjuguer à une molécule de glutathion une grande variété de substrats pour permettre leur élimination. Parmi ceux-ci, se trouvent des molécules xénobiotiques d'intérêt écotoxicologique comme les PCB, les HAP et les pesticides. Ces enzymes sont généralement solubles et se présentent sous plusieurs isoformes dont certaines sont inducibles par les contaminants qu'elles détoxiquent. Cette particularité en a fait une activité intéressante en tant que marqueur biochimique. Bien que nos connaissances sur ces enzymes chez les mollusques soient encore assez restreintes, leur intérêt en tant que biomarqueur de contamination par les contaminants de type HAPS, PCB et pesticides dans les milieux marin et dulçaquicole a été démontré ([Boryslawskyj et al., 1988](#), [Narbonne et al., 1991](#)).

La GST se caractérise par une faible spécificité, en effet, plusieurs contaminants peuvent induire cette enzyme tels que le paraquat ([Stephensen et al., 2002](#)), le nonylphénol ([Uguz et al., 2003](#)), les HAPs, les PCBs ([Forlin et al., 1996](#)) et les organophosphorés ([Monteiro et al., 2006](#)).

Cependant, la non spécificité d'un biomarqueur comme la GST empêche d'identifier la véritable cause des réponses enzymatiques. Ces réponses résultent en partie d'une perturbation anthropique et industrielle, engendrée par les rejets domestiques et industriels mais il n'est pas impossible non plus qu'interviennent la position du site, son hydrodynamisme et leurs implications dans le processus de dilution des contaminants ([Kamel, 2014](#)). Les changements saisonniers déterminent en grande partie l'intensité des rapports avec le milieu ; de ce fait, [Devitt et al. \(1989\)](#) et [Moriaty \(1990\)](#), rapportent que lors d'une contamination modérée, il est souvent difficile de séparer les effets biologiques liés aux facteurs environnementaux de ceux qui sont dus aux polluants.

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.

Divers contaminants et à des niveaux différents peuvent être la cause de variabilité plus ou moins grande des biomarqueurs. Selon [Ross et al. \(2000\)](#) la combinaison d'approches multiples : biochimiques, physiologiques et génétiques est requise pour pouvoir expliquer les variations observées chez l'organisme vivant. Une telle approche pourrait être facilitée chez les invertébrés par l'utilisation de la technique d'encagement (caging) ; cette technique permet la sélection d'organismes génétiquement uniformes sur plusieurs générations en vue de leur transplantation dans des sites à contamination spécifique et pouvoir ainsi comparer les réponses de populations de différentes origines et sensibilités.

La connaissance de l'activité de l'ensemble des enzymes qui participent à la synthèse, à l'utilisation et à la régénération du glutathion est aussi indispensable pour interpréter les variations des concentrations de ce substrat.

Les métallothionéines (MTs) :

La synthèse de MTs suite à une contamination par les métaux (Ag, Cd, Cu, Hg etc.) a été démontrée chez plusieurs espèces (annelides, mollusques, crustacés, les poissons etc.), ce qui suggère la possibilité d'utiliser les MTs comme biomarqueurs d'exposition métallique ([Amiard et al., 2006](#)). En effet, cette induction a été mise en évidence chez plusieurs mollusques bivalves exposés à une contamination métallique soit dans leur milieu naturel, soit au laboratoire.

La présence de métaux lourds au niveau du golfe d'Annaba a déjà fait l'objet des travaux réalisés par [Belabed \(2010\)](#) et [Boutabia-Trea et al. \(2017\)](#) qui ont démontré une forte accumulation des métaux lourds chez *Perna perna* et *Posidonia oceanica* respectivement, ce qui pourrait expliquer les teneurs en MTs relativement élevées dans les organes des moules fraîchement collecté (PRLVMT) au niveau du site de prélèvement.

En revanche, pour les valeurs en MTs obtenues au niveau de la glande digestive chez les moules du lot témoin et qui sont plus élevées que celles du lot fraîchement collecté, une mauvaise acclimatation aux conditions du labo et/ou une accumulation préférentielle des métaux déjà existant dans l'eau provenant du site peuvent être à l'origine de cette réponse.

Dans le cadre de cette expérimentation, l'exposition de moules à différentes doses de cuivre et de cadmium est à l'origine de variations notables des teneurs en MTs au niveau des organes ; alors que l'exposition à diverses doses de plomb n'a pas eu d'effet notable sur les teneurs en MTs des différents organes étudiés.

En revanche, l'analyse statistique des résultats a fait ressortir que, chez cette espèce, les différentes doses de Cu et de Pb n'influent pas sur la concentration des métallothionéines dans les trois organes étudiés ; aussi, la différence significative entre les concentrations de métallothionéines relevées au niveau des différents organes des moules exposées à différentes doses de cadmium, montre que la concentration des métallothionéines dans les trois organes dépend de la dose de ce métal.

Comme pour le cadmium, la pénétration du plomb dans les cellules est le résultat principalement du transport sous forme dissoute Pb^{2+} , bien que l'endocytose dans l'épithélium branchial ait été évoquée pour ce métal (Coombs et George, 1978; Wang et Fisher, 1997a). Le taux d'absorption du plomb est linéaire au cours du temps ; il dépend de la concentration en plomb dans le milieu (Schulz-Baldes, 1974; Schulz-Baldes, 1977; Borgmann *et al.*, 1993; Riget *et al.*, 1997; Boisson *et al.*, 1998). Incorporés dans l'organisme, les ions Pb^{2+} entrent en compétition avec les ions Ca^{2+} . Selon Cossa *et al.* (1993), les métallothionéines n'ont pas de rôle dans la séquestration et la détoxication du plomb. Cela pourrait expliquer les faibles teneurs ainsi que la faible variation en MTs au niveau des organes des moules exposées aux différentes doses de plomb ;

Amiard *et al.* (1998) ont observé que la moule *M. edulis* exposée à une contamination par le plomb, montre durant un court-terme, une induction d'accumulation préférentielle du plomb au niveau de la masse viscérale (glande digestive), les branchies et les palpes labiaux, puis la répartition de ce métal est devenue relativement uniforme dans tous les organes. Ce qui pourrait expliquer les teneurs relativement élevées en MTs au niveau de la glande digestive des moules exposées à différentes doses de plomb qui, en entrant en compétition avec les ions Ca^{2+} , induit peut-être un stress oxydant qui va stimuler la synthèse des MTs.

Dans ce sens, Fabisiak *et al.* (1999) soupçonnent l'implication des MTs dans la protection contre le stress oxydant. Amiard et Cosson (1997), montrent que ces protéines peuvent être aussi induites par d'autres facteurs que la contamination par les métaux tels que le stress, les antibiotiques, les vitamines et les hormones. 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.

Viarengo *et al.* (1999) ont montré que les moules (*M. edulis*) intoxiquées par le cadmium résistent mieux au stress oxydant que celles qui sont non exposées. Ces auteurs

suggèrent que les métallothionéines sont capables de protéger les cellules vis-à-vis du stress oxydant. Si dans certaines conditions l'induction des MTs permet de séquestrer les radicaux hydroxyles (OH) et superoxydes (O₂-) et, de protéger contre la peroxydation lipidique, l'importance relative des MTs comparée à d'autres systèmes de défense (glutathion et superoxyde dismutase) n'est pas élucidée ([Andrews, 2000](#)).

Selon [Valavanidis et al. \(2006\)](#), la métallothionéine jouerait un rôle primordial dans le métabolisme de métaux essentiels présents en excès dans la cellule en bloquant la réaction de Fenton qui mènerait à la réduction du stress oxydatif par le captage de métaux de transition tels que le fer et le cuivre.

En effet, [Banni et al. \(2007\)](#) et [Dondero et al. \(2005\)](#) ont rapportés des augmentations significatives des isoformes de métallothionéines tant en terme de protéine qu'en terme de ARNm chez la moule *Mytilus galloprovincialis* non exposée aux métaux lourds mais présentant un état de déséquilibre de la balance oxydative. Ce qui suggère que l'accumulation des métallothionéines dans les tissus de moule pourrait aussi être due à un stress oxydatif indépendamment de la présence des métaux traces dans le milieu. 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](#)).

Une autre explication pour la faible réponse vis-à-vis des différentes doses de plomb est que ces dernières sont largement inférieures aux doses sublétale ou létales admissibles. Ainsi, la concentration inhibitrice du développement embryonnaire de la moule (*Mytilus galloprovincialis*) est d'environ 500 µg.L⁻¹ ; de plus, à cette concentration, un grand nombre de larves sont anormales. L'effet toxique du plomb peut se traduire par une compétition avec des métaux essentiels. Chez la moule *Mytilus edulis*, en présence de plomb (0,1 mg.L⁻¹), il y a perturbation du métabolisme des autres métaux divalents : notamment le calcium, le magnésium et le cuivre ([Marchand et Kantin, 1997](#)). Selon [Wepender et al. \(2008\)](#), la faible réponse peut être due aux conditions d'acclimatation à l'habitat ou bien les niveaux de toxicité auxquels la moule bleue *Mytilus edulis* provenant de l'estuaire de l'Escaut est exposée ne sont pas suffisamment élevés pour obtenir une réponse significative.

Nos résultats concernant l'exposition des moules à différentes doses de cuivre, montrent que plus la dose de cuivre augmente et plus les teneurs en MTs baissent au niveau de la glande digestive et des branchies. Des résultats similaires concernant la cinétique des MTs au niveau des branchies ont été signalés par [Amiard et al. \(1998\)](#) chez *M. edulis* provenant d'un site non pollué (baie de Bourgneuf) transplantée dans un site pollué (estuaire

de Gironde) ; ces auteurs l'expliquent par le fait que pour nombre de protéines inductibles, les cinétiques montrent que l'induction est très importante dans les premières heures ou premiers jours puis les niveaux décroissent régulièrement alors même que l'exposition perdure. Aussi, en cas de pollution modérée (Roesijadi et Fellingham, 1987) ou de faible bio-accumulation de Cu et de Zn (Cosson *et al.*, 1989), les concentrations en MP dans les glandes digestives des bivalves présentent une stabilité relative.

Contrairement à nos résultats, Khati *et al.* (2012) rapportent que plus la dose de cuivre est élevée et plus la teneur en MT est élevée, ceci aussi bien dans la glande digestive que dans les branchies. De nombreux auteurs s'accordent à dire que les fortes teneurs en MT sont généralement rencontrées dans la glande digestive des bivalves (Mouneyrac *et al.*, 1998 ; Raspor *et al.*, 1999a ; Geffard *et al.*, 2002a ; Geffard *et al.*, 2001). Par ailleurs, il semble que l'augmentation de la teneur en MT serait en relation avec celle de l'accumulation de cuivre dans l'organe.

Nous notons néanmoins une augmentation des teneurs en MTs avec l'augmentation de la dose en cuivre au niveau du corps des moules avec une très forte concentration chez celles exposées à la plus forte dose. Wlostowski (1992) a montré qu'une courte période d'exposition à de faibles concentrations du Cu et du Cd cause des changements significatifs des taux d'accumulations du Cu, du Zn et du Cd et de la concentration de MTs au niveau des tissus des organismes marins.

En revanche, nos résultats d'exposition des moules à différentes doses de cadmium, montrent une augmentation des teneurs en MTs branchiales et celles du corps et une diminution au niveau de la glande digestive.

La pénétration du cadmium dans les cellules est linéaire en fonction du temps et directement proportionnelle à sa concentration dans l'eau (George *et al.*, 1978; Kohler et Riisgard, 1982; Poulsen *et al.*, 1982; Chong et Wang, 2001). Elle n'est pas affectée par la température.

Borchardt (1983 et 1985), en marquant les algues avec du Cd109 et l'eau avec du Cd115 met en évidence la prépondérance de la voie dissoute par rapport à la voie particulaire et montre que seulement 1% de la quantité de Cd dans la chair de moules a pour origine la voie particulaire. La principale entrée se fait donc par l'eau à travers les surfaces externes, principalement par les branchies qui représentent une surface considérable (Carpene et George, 1981; Borchardt, 1983; Borchardt, 1985; Riisgard *et al.*, 1987). En parallèle, il montre que l'absorption de Cd en solution est en corrélation linéaire avec la quantité de

nourriture ingérée. Les branchies sont donc l'organe d'entrée principal ; ce qui pourrait expliquer les teneurs élevées en MTs au niveau branchial dans le présent travail et son augmentation avec l'augmentation de la dose en Cd.

Des résultats similaires ont été signalés chez *Crassostrea gigas* par [Geret et al. \(1999\)](#), qui rapportent une augmentation significative des teneurs en MTs dans les branchies des animaux provenant d'un site pollué par rapport à celles des animaux du site non pollué.

La biodisponibilité des espèces de cadmium dissous dépend des mécanismes de capture. La diffusion passive ou facilitée *via* les canaux à Ca^{2+} à travers la bicoche lipidique semble être le processus de capture le plus fréquent ([Simkiss et Taylor, 1995](#)). Les formes ionisées avec des chlorures et des hydroxydes doivent être considérées principalement.

Contrairement à nos résultats, [Khati et al. \(2012\)](#), rapportent que le cadmium n'a aucun effet sur les teneurs en MT des branchies ; mais en revanche les teneurs en MT relevées dans la glande sont élevées par rapport au témoin. Selon [Khati et al. \(2012\)](#), le cadmium induirait la synthèse de MT dans la glande digestive ; d'autres auteurs rapportent que l'accumulation de cadmium dans les branchies n'entraîne aucune variation des teneurs en MT par rapport au témoin ([Amiard et al., 2006](#)).

La concentration de l'ion libre métallique a une grande importance dans le contrôle de la capture métallique à partir des solutions. Le métal sous forme d'ion libre a été proposé comme l'espèce métallique dissoute la plus biodisponible ([Campbell, 1995](#)).

Plusieurs études en laboratoire suggèrent que dans le milieu aquatique, l'assimilation est proportionnelle à la concentration en ion libre (M^{2+}) et non à la concentration totale du métal en solution. Ce modèle a été décrit en détail par Campbell, le validant par de nombreuses expériences en terrain. Chez les mollusques bivalves, le modèle de l'ion libre a été utilisé de façon très probante en particulier dans le cas du cadmium ([Tessier et al., 1993](#)).

CONCLUSION

Conclusion générale :

Le présent travail a permis de démontrer que la taille maximale atteinte par les moules du littoral nord est algérien se révèle meilleure que celle obtenue par la même espèce en mers régionales de la Méditerranée (Tunisie, Maroc). Les relations allométriques révèlent une croissance en longueur plus rapide qu'en largeur et en épaisseur et que la croissance en longueur est plus rapide que celle en poids. Le coefficient de croissance k le plus élevé est relevé chez les moules de Laouinate (1.82 ans^{-1}), alors que la longueur asymptotique L_∞ la plus élevée a été relevée chez les moules de Lehnaya (127.58mm).

Le calcul de l'IC et l'étude histologique ont révélé l'existence de plusieurs pontes facultatives tout au long l'année avec un meilleur engrangement en période printanière et estivale. La moule *P. perna* du littoral nord est algérien présente un cycle sexuel étalé sur toute l'année avec ou non une période de repos.

La croissance et la reproduction se trouvent influencées par les paramètres physico-chimiques du milieu (température, salinité, oxygène dissous, MES et chlorophylle a) ; cela a été appuyé par les résultats de l'analyse statistique qui a fait ressortir des corrélations significatives entre les différents paramètres de croissance et les paramètres physico-chimiques de l'eau.

La sex-ratio fait ressortir une prédominance du sexe mâle au niveau des cinq moulières étudiées dans la majorité du temps.

La température, la salinité, l'oxygène dissous, et le pH présentent des fluctuations saisonnières ; la Chlorophylle a et les matières en suspension présentent des fluctuations mensuelles propres à chaque site ;

Des différences de sensibilité des systèmes antioxydants entre la glande digestive et les branchies ont été observées.

Le taux de GSH et l'activité des GSTs subissent des variations saisonnières avec un minimum enregistré en période automnale et un maximum en période estivale.

Les différentes doses de Cu et de Pb n'influent pas sur la concentration des métallothionéines dans les trois organes étudiés.

La concentration des métallothionéines dans les trois organes étudiés dépend de la dose du cadmium.

En perspectives :

- L'indice de condition permet, chez les bivalves, de déterminer principalement les périodes de ponte, mais la condition physiologique des individus n'est pas prise en

compte ; il est donc difficile d'interpréter le comportement réel des moules à partir de ce seul indice. L'analyse biochimique de la quantité de lipides, glucides et protéines est une approche qui permet d'évaluer le déroulement de la gamétogénèse d'une manière plus fiable.

- Constituer une base de données sur le cycle sexuel, la croissance, la dynamique des populations pour une meilleure gestion de la ressource.
- L'étude d'autres paramètres biotiques et abiotiques pouvant influencer la croissance et la reproduction chez cette espèce.
- Une démarche commune de pré-normalisation méthodologique de la surveillance doit être engagée entre les différentes conventions de mers régionales, visant à harmoniser les méthodes OSPAR (CIEM) et Barcelone (MEDPOL) en intégrant les méthodes jugées les plus pertinentes.
- Mettre en application l'engagement des moules et songer à une approche multi-marqueurs pour mieux comprendre la complexité du métabolisme des polluants chimiques et des mécanismes de détoxication chez les organismes afin de donner plus de considération à l'interface chimie/biologie comme une composante majeure de la surveillance des écosystèmes aquatiques.
- En matière d'évaluation des gisements coquillers et du développement de la conchyliculture, une orientation des recherches doit se faire vers :
 - ✓ La mise en place d'une base de données scientifiques et techniques nécessaires au développement de la conchyliculture en Algérie afin d'inciter les investisseurs à monter des projets conchyliques.
 - ✓ Le développement des techniques d'élevage en mer ouverte.
 - ✓ Le développement de la Mytiliculture en Algérie.
 - ✓ La diversification des activités conchyliques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-A-

Abada-Boudjema Y.M. & Mouëza M., 1981. Structure des populations d'une moulière naturelle en baie d'Alger. *Acta oecologica Ecologia Generalis*, 1, 2, pp. 183-194.

Abada-Boudjema Y.M., 1983. Etude dynamique de deux populations de moules *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) et *Perna perna* (L) de Bordj-El-Kiffan (Baie d'Alger). Thèse Doctorat 3^{ème} cycle, Univ. Sci. et Technol. Houari Boumediène, Alger, 115 p. Accessible à :[w.w.w.ho-int/water_sanitation_health/GDWQ/Summary_tables/](http://www.ho-int/water_sanitation_health/GDWQ/Summary_tables/).

Abada-Boudjema Y.M., Altes J. et Moueza M., 1984.- Croissance comparée de deux espèces de moules *Mytilus galloprovincialis* Lmk. et *Perna perna* L. dans une moulière naturelle de la baie d'Alger. *Haliotis* 14 : pp.33-38.

Acosta V., Natera Y., Lodeiros C., Freites L., Vásquez A., 2010. Componentes bioquímicos de los tejidos de *Perna perna* y *P. viridis* (Lineo, 1758) (Bivalvia: Mytilidae), en relación al crecimiento en condiciones de cultivo suspendido. *Lat. Amer. J. Aquat. Res.*, v. 38, n. 1, p. 37-46.

Acuna A., 1976.- Crecimiento e indice de engorde del mejillon, *Perna perna* (L.) cultivado en el golfo de Cariaca, Venezuela. F.A.O. Fish. Rep. N° 200, 19 p.

Adami G.P., Barbieri M., Fabiani S., Piselli S., Predonzani et E. Reisenhofer, 2002. "Levels of cadmium and zinc in hepatopancreas of reared *Mytilus galloprovincialis* from the Gulf of Trieste (Italy)." *Chemosphere* **48**: 671-677.

Afizah M.T., Madin J., Ransangan J., 2016. Density, recruitment and growth performance of Asian green mussel (*Perna viridis*) in Marudu Bay, Northeast Malaysian Borneo, three years after a massive mortality event. *Songklaakarin Journal of Science and Technology* 38 (6), p. 631-639.

Al-Barwani S.M., Arshad A., Amin S.M.N., Bujang J.S., 2013. Incidence of hermaphrodite in green mussel *Perna viridis* along the west coast of Peninsular Malaysia. *Asian J Anim Vet Adv* **8**:376–382

Al-Barwani S.M., Arshad A., Nurul Amin S.M., Japar S.B., Siraj S.S., Yap C.K., 2007. Population dynamics of green mussel *Perna viridis* from the high spat-fall coastal water of Malacca, Peninsular Malaysia. *Fish Res* **84**:147–152

Almada-Villela P.C., Davenport J. & Gruffydd L.I.D., 1982. The effects of temperature on the shell growth of young *Mytilus edulis* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 59: 275–288.

Amiard J-C., et Amiard-Triquet C., 2008. Les biomarqueurs dans l"évaluation de l"état écologique des milieux aquatiques. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 375p.

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., Cosson R.P., 1997. Les métallothionéines, pp. 53-66. In Lagadic L, Caquet T, Amiard J.C, Ramade F (eds), biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux. *Masson, Paris*, 419p.

Amiard J.C., Geffard A. & Amiard-Triquet C., 1998. La métallothionéine chez la moule *Mytilus edulis* comme biomarqueur de pollution métallique : variabilité entre sites, saisons et organes. *Journal de Recherche Océanographique (J. Rech. Océanogr.)* 1998, Volume **23**, fascicules 1, pp. 25-30.

Amiard-Triquet C. et Caurant F., 1994. "Les formes physicochimiques de stockage des métaux chez les organismes marins." *Analusis Magazine* **22**(1): 24-26.

Amiard-Triquet C., Amiard-Triquet C. et Metayer C., 1982. "Distribution de quelques métaux (Cd, Pb, Cu, Zn) chez les organismes vivants de l'estuaire de la Loire et des zones côtières adjacentes." *Bull. Soc. Sc. Nat. Ouest de la France* **4**: 153-168.

Amiard-Triquet C., Jeantet A.Y. et Berthet B., 1993. "Metal transfer in marine food chains: bioaccumulation and toxicity." *Acta. Biologica Hungarica* **44**(4): 387-409.

Aminot A., & Chaussepied M., 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin. CNEXO.Brest ,pp:395

Anandraj, A., Marshall D.J., Gregory A. et McClurg T.P., 2002. "Metal accumulation, filtration and O₂ uptake rates in the mussel *Perna perna* (Mollusca: Bivalvia) exposed to Hg²⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺." *Comp. Biochem. Physiol Part C: Toxicology & Pharmacology* **132**(3): 355-363.

Andreu B., 1958. Sobre et cultivo del mejillón en Galicia. *Biología, crecimiento y productación. Industrias Pesquerías*, Vigo, 745-746:44-47.

Andrews G.K., 2000. Regulation of metallothionein gene expression by oxidative stress and metal ions. *Biochem. Pharmacol.* 59: 95-104.

Arnaud P., 1966. Croissance comparée de *Mytilus galloprovincialis* LmK, de l'étang de Thau et de Salses – Leucate. *Revue des travaux de l'institut des pêches Maritime*, 30,357-374.

Arrigo A-P., 1999. Gene expression and the thiol redox state. *Free Rad. Biol. Med.* 27: 936-944.

Asso A., 1980.- Etude des métaux lourds chez *Perna* (*Mytilus*) *perna* L (*Mytilus africanus Chemnitz*) dans la région d'Alger. *V^o Journées d'Etudes sur les Pollutions, Cagliari, C.I.E.S.M.* : pp.163 – 168.

Asso A., 1982. Contribution à l'étude de polluants métalliques chez la moule *Perna perna* (L.) dans la région d'Alger. Thèse de 3ème cycle, Université. Sciences. Technologie. Languedoc- Monpellier. 316 pp.

ATSDR, 1990. "Toxicological profiles for copper. Agency for toxic substances and disease registry, atlanta, GA: US department of Health and Human Services, Public Health Services. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html>."

Ayada M., 2003. Caractères physico-chimiques et impact des apports terrigènes et anthropiques sur la biomasse phytoplanctonique dans la baie d'Annaba. Mémoire de Magister en science de la mer. Université Badji-Mokhtar, Annaba, Algérie, 71p (2003).

-B-

Banerjee D., Onosaka S., Cherian M.G., 1982. Immunohistochemical localization of metallothionein in cell nucleus cytoplasm of rat liver and kidney. *Toxicol.* 24. 80-95.

Banni, M., Dondero, F., Jebali, J., Guerbej, H., Boussetta, H., Viarengo, A., 2007. Assessment of heavy metal contamination using real-time PCR analysis of mussel metallothionein mt10 and mt20 expression: a validation along the Tunisian coast. *Biomarkers* 12, 369-383.<http://dx.doi.org/10.1080/13547500701217061>.

Barillé A.L., 1996. Contribution à l'étude des potentialités conchyliologiques de Perthuis Breton. Thèse de doctorat. Université d'Aix-Marseille II, 243 pp.

Bayne Bl., Svensson Svensson S. et Nellja, 1999. The physiological basis for faster growth in the sydney rock oyster, *Saccostrea commercialis*. *Boil.bull.*197 (3):377-387.

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. pp.199. Disponible sur : <http://biblio.univ-annaba.dz>.

Belabed B.E., Meddour A., Tata T. And Aleya L., 2013. Étude de la contamination par les métaux lourds de la zone industrialo-portuaire du golfe de Annaba, à l'aide de bio-indicateurs. *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, 40, 2013. 239

Bertalanffy Von L., 1938. A quantitative theory of organic growth. *Hum boil* .10(2) :181-213p.

Beukema J.J., Dekker R., 2005. Decline of recruitment success in cockles and other bivalves in the Wadden Sea: possible role of climate change, prediction on postlarvae and fisheries. *Mar.Ecol.Prog.Ser.*2087, 149-167.

Bitar G., & Hannach A., 1987. Morphométrie et relations pondérales d'une moulière (*M. galloprovincialis* et *P. perna*) dans la région de Sidi R'bat (Maroc Atlantique). *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat*, 11 :141 – 146.

Blaise C., Gagne F., Pellerin J., Hansen P.D., Trottier S., 2002. Molluscan shellfish biomarker study of the Quebec, Canada, Saguenay fjord with the soft-shell clam, *Mya arenaria*. *Environmental Toxicology* 17: 170-186

Bodgy Alain, Prou Jean Et Berthomeh Jean-Paul, 1986. Étude comparative de différents indices de condition chez l'huitre creuse (*Crassostrea gigas*). *Haliotis*, 15, P. 173 – 182

Bodoy A., & Massé H., 1979. Quelques paramètres permettant de suivre la production organique d'un Mollusque Bivalve au cours d'un cycle saisonnier. *Publ. Sci. Tech. CNEXO*, Actes Coll. 7, pp. 753-766.P17 – 23.

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** (1) : 57-66

Boisson F., Cotret O. et Fowler S.W., 1998. "Bioaccumulation and retention of lead in the mussel *Mytilus galloprovincialis* following uptake from seawater." *The Science of the Total Environment* **222**: 55-61.

Borchardt T., 1983. "Influence of food quantity on the kinetics of cadmium uptake and loss via food and seawater in *Mytilus edulis*." *Mar. Biol* **76**: 67-76.

Borchardt T., 1985. "Relationship between carbon and cadmium uptake in *Mytilus edulis*." *Mar. Biol* **85**: 233-244.

Borgmann U., Norwood W.P. et Clarke B.C., 1993. "Accumulation, regulation and toxicity of copper, zinc, lead and mercury in *Hyalella azteca*." *Hydrobiologia* **259**: 79-89.

Born I. 1780. Testacea Musei Cæsarei Vindobonensis, quæ jussu Mariæ Theresiæ Augustæ dispositi et descripti. - pp. I-XXXVI [1-36], 1-442, [1-17], Tab. 1-18. Vindobonæ.

Boryslawskyj M., Garrood A.C., Pearson J.t., Woodhead H., 1988. Elevation of glutathione S-transferase activity as a stress response to organochlorine compounds in the fresh water mussel *Sphaerium corneum*. *Mar Env. Res.*, **24**, p. 101-104.

Boudou A., 1982. Recherches en écotoxicologie expérimentale sur les processus de bioaccumulation et de transfert des dérivés du mercure. Thèse de doctorat d'Etat, Université de Bordeaux 1 : 297.

Bouhaimi A., 2000 .Etude de la biologie des moules *Mytilus galloprovincialis* et *Perna perna* et validation de certains biomarqueurs (acétylcholinestérase et peroxydation lipidique) pour l'évaluation de l'état de santé de la baie d'Agadir. Thèse d'Etat., Univ. Ibn Zohr, Faculté des Sciences, Agadir, 2002, 187 p.

Bouquegneaux J. H. et Noël-Lambot F., 1978. Les métallothionéines: structure, fonction et incidence dans les milieux marins pollués par les métaux lourds. Journées du GABIM, La Rochelle, 16-17 nov 1978.

Bourcart C. & Lubet P., 1965. Cycle sexuel et évolution des réserves chez *Mytilus galloprovincialis* LmK. (Mollusque Bivalve). Rapport de la commission internationale pour l'exploration scientifique de la mer méditerranée, 18, p : 155 – 156

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.

Boutet I., Tanguy A., Moraga D., 2004. Response of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to hydrocarbon contamination under experimental conditions. *Gene*, **329**: 147 -157.

Braber L., De Groot S.J., 1973. The food of five flatfish species (Pleuronectiformes) in the southern North Sea. *Neth. J. Sea Res.* **6**, 163-172.

Bradford M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of quantities of protein using the principle of protein-drye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.

Braun W., Vasak M., Robbins A.H., Stout C.D., Wagner G., Kagi J.H.R., Wüthrich K., 1992. Comparison of the NMR solution structure and the x-ray crystal structure of rat metallothionein. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America.* 21:10124-10128.

Breathnach R., Chambon P., 1981. Organization and expression of eukaryotic split genes coding for proteins. *Ann. Rev. Biochem.* 50: 349-383.

Brienne H., 1955. Les gisements de moules du boulonnaise Rev. Tran. off. Pêche Marit, 19(3) :389-414.

Bucke D., 1972. Some histological technique applicable to fish tissues. In: Diseases of fish, procceding of symposium. (L.E. Mawdesley – Thomas, ed). Acad. Press and Zool. Soc., New York and London, 30:135 – 189.

Burgeot et Galgani, 1998. Application de l'EROD chez les poissons marins dans un programme pluridisciplinaire : surveillance de la mer du Nord in : Lagadic., Carquet, T., Amiard, J C et Ramade, F.(Eds) *Tec et Doc Lavoisier*, Paris.

-C-

Cajaraville M-P., Bebianno M-J., Blasco J., Porte C., Sarasquete C., Viarengo A., 2000. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *Sci. of the Total Environ.* 247: 295-311.

Campbell P.G.C., 1995. Interactions between trace metals and organisms: critique of the free-ion activity model. Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. A. Tessier et D. R. Turner, J. Wiley & Sons, Chichester, UK: 45-97.

Campbell P.G.C., Twiss M.R. et Wilkinson K.J., 1997. "Accumulation of natural organic matter on the surfaces of living cells-implications for the interaction of toxic solutes with aquatic biota." *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54: 2543-2554.

Cancio I., Ibabe A., Cajaraville M.P., 1999. Seasonal variation of peroxisomal enzyme activities and peroxisomal structure in mussels *Mytilus galloprovincialis* and its relationship with the lipid content. *Comp. Biochem. Physiol.* 123C, 135–144.

Carpene E. et George S.G., 1981. "Absorption of cadmium by gills of *Mytilus edulis*." *Molecular Physiology* 1: 23-34.

Carpene S.G.E. et Coombs T.L., 1978. The effect of salinity on the uptake of cadmium by the common mussel, *Mytilus edulis* (L.). *Physiology and behaviour of marine organisms.* D. S. McLusky et A. J. Bary. Oxford, Pergamon Press: 189-193.

Carter A.D., Felber B.K., Walling M.J., Jubier M.F., Schmidt C.J., Hamer D.H., 1984. Duplicated heavy metal control sequences of the mouse metallothionein-I gene. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America.* 81:7392-7396.

Cayre P., 1978. Etude de la moule *Perna perna* (L) et des possibilités de mytiliculture en République populaire du Congo. Cahiers ORSTOM série océanographique, 16 (1), 9 – 17.

Chatterjee S., & Bhattacharya S., 1984. Detoxification of industrial pollutants by the glutathione S-transferase system in the liver of *Anabas testudineus* (bloch). *Toxicol. Lett.*, 22 : 187 -198.

Cherian M.G. et Goyer R.A., 1978. "Metallothioneins and their role in the metabolism and toxicity of metals." *Life. Sci.* 23: 1-10.

Cherian M.G., Nordberg M., 1983. Cellular adaptation in metal toxicology and metallothionein. *Toxicol.* 28: 1-15.

Cherifi H., Chebil Ajjabi L., Sadok S., 2015. Affiner pour mieux conserver : cas de la moule *Mytilus galloprovincialis*. Bulletin de l'Institut national scientifique et technique d'océanographie et de pêche, Salamboo, 42, 2015 (*Numéro Spécial*).

Chiffolleau J.F., Auger D., Chartier E., Michel P., Truquet I., Ficht A., Gonzalez J.L. et Romana L.A., 2001. "Spatiotemporal changes in Cadmium contamination in the Seine estuary (France)." *Estuaries* 24(6B): 1029-1040.

Chiffolleau J.F., Claisse D., Cossa D., Ficht A., Gonzalez G., Guyot T., Michel P., Miramand P., Oger C. et Petit F., 2001. La contamination métallique, Programme scientifique Seine-Aval : 39.

Chong K. et Wang W-X., 2001. "Comparative studies on the biokinetics of Cd, Cr and Zn in the green mussel *Perna viridis* and the Manila clam *Ruditapes philippinarum*." *Environ. Pollut.* 115(1): 107-121.

Choo P.S., Speiser G., 1979. An estimation of the growth parameters and mortality *Mytilus viridis* Linnaeus (Mollusca, Mytilidae) cultured in a suspended plastic cage in Jelutong, Penang. *Malays Agric J* 52(1) :9–16

Chraibi N., Gheit A., Benazzou L. et Sadak A., 2000.- Evaluation de la contamination par les métaux lourds chez les mytilidés : *Perna perna* (L.) et *Mytilus galloprovincialis* Lmk. des côtes marocaines. *Haliotis* 29: pp.11-26.

Coombs T.L. et George S.G., 1978. Mechanisms of immobilisation and detoxification of metals in marine organisms. Physiology and behaviour of marine organisms. D. S. McLusky et A. J. Berry. Oxford, Pergamon Press : 179-187.

Cossa D. et Lassus P., 1989. Le cadmium en milieu marin. Biogéochimie et écotoxicologie, Editions Ifremer, Plouzané, France. 16: 111.

Cossa D., Elbaz-Poulichet F., Gnassia-Barelli M. et Romeo M., 1993. Le plomb en milieu marin. Biogéochimie et écotoxicologie, Editions Ifremer, Plouzané, France. 3: 75.

Cosson R., Amiard-Triquet C. & Grandier-Vazeille X., 1989. Etude du métabolisme du cuivre, du zinc et de l'étain chez l'huître et la moule en relation avec les pollutions dues à l'activité d'un port de plaisance. *Océanis* 15(4): 411-418

Cosson R.P., 1992. Les métallothionéines. *Anal. Mag.* 20 :50-53.

Cosson R. et Amiard J.C., 1998. Utilisation des métallothionéines comme biomarqueurs d'exposition aux métaux. In Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.-C. et Ramade, F. (eds), Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement, Tec & Doc Lavoisier, Paris, pp. 77-103.

Cossu, C., Doyotte, A., Jacquin, M. C. et Vasseur, P., 1997. Biomarqueurs du stress oxydant chez les animaux aquatiques. In : Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux. Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.-C. et Ramade, F. (eds), 125-148, Masson, Paris.

Cossu C., Doyotte A., Babut M., Exinger A., et Vasseur P., 2000. Antioxidant biomarkers in the freshwater bivalves, *Unio tumidus*, in response to different contamination profiles of aquatic sediments. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 45 : 106-121.

Couillard Y., Campbell P.G.C. et Tessier A., 1993. "Response of metallothionein concentrations in a freshwater bivalve (*Anodonta grandis*) along an environmental cadmium gradient." *Limnol. Oceanogr.* 38: 299-313.

Couillard Y., Campbell P.G.C., Tessier A., Pellerin-Massicotte J. et Auclair J.C., 1995. "Field transplantation of a freshwater bivalve, *Pyganodon grandis*, across a metal contamination gradient. I. Temporal changes of metallothionein and metal (Cd, Cu, Zn) concentrations in soft tissues."; II. Metallothionein response to metal exposures, evidence for cytotoxicity, and links to effects at higher levels of biological organization." *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 52: 690-715.

Curtis D.K., Choudhuri S., McKim J.M., Lehman-McKeeman J.L.D., Kershaw W.C., 1994. *In Vitro* and *In Vivo* studies on the degradation of metallothionein. *Environ. Health. Perspect.* 102 : 141-146.

Cury P. et Fantana A., 1988. Compétition et stratégie démographiques comparées de deux espèces de sardinelle (*Sardinella aurita* et *Sardinella Mederensis*) des côtes ouest africaines. *Aqua living ressour*, 1988, 1pp 165-180.

-D-

Dagnelie P., 2000. *Statistique théorique et appliquée*. Tome 2 : Inférence statistique à une et deux dimensions. Bruxelles-Université de Boeck et Lancier-659p.

Daguin C. et Borsa P., 1999. Genetic characterisation of *Mytilus galloprovincialis* Lamark. In Northwest Africa using nuclear DNA markers. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 235 : pp.55-65.

Dame R.F., 1996. Bivalves as components of ecosystem health. In the Ecology of marine bivalves. An Ecosystem Approach, pp.213-226. Ed. by R.F.Dame. CRC Marine Science Series, CRC Press, Boca Raton, FA pp254.

Dameron C. et Howe P.D., 1998. Copper Environmental Health criteria n°200. Geneva, World Health Organization.

Damiens G., Gnassia-Barelli M., Loquès F., Roméo M. & Salbert V., 2007. Integrated biomarker response index as a useful tool for environmental assessment evaluated using transplanted mussels. *Chemosphere*, 66, 574-583

Dance S. P., Ward M., 2002. Shells: The Photographic Recognition Guide to Seashells of the World (Smithsonian Handbooks). DK Publishing, New York.

Dardignac-Corbeil M.J., 1986. -La mytiliculture traditionnelle. In. *Aquaculture*, vol. 1, Barnabé G. ed., *Techniques et Documentation*, Lavoisier, Paris : pp.286-329.

Dare P.J. and Davies G., 1975. Experimental Suspended Culture of Mussels, *Mytilus edulis* (L.) in Wales Using Spat Transplanted from Distant Settlement from Distant Settlement Ground. *Aquaculture*, 6: 257- 274.

Davenport R., 1993. - Additional records of *Perna perna* (Linné ,1758) on the Texas coast. *Tex. Conch.* , 30 : pp. 3-4.

Davies, S.R., Cousins, R., 2000. Metallothionein expression in animal: a physiological perspective and function. *J. Nutr.*, 130, p : 1085 - 1088.

Dellali M., 2001 – Utilisation d'indicateurs microbiologiques et biochimiques chez *Ruditapes decussatus* et *Mytilus galloprovincialis* dans la biosurveillance de la lagune de Bizerte : Validation de certains biomarqueurs. Thèse de doctorat, 218p. Fac. Sci. Bizerte.

Depledge M.H. et Rainbow P.S., 1990. Models of regulation and accumulation of trace metals in marine invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol. C* 97: 1-7.

Depledge M.H., Fossi M.C., 1994. The role of biomarkers in environmental assessment (2). Invertebrates Ecotoxicology, 3 (1994), pp. 161-172

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*. Univ. Badji Mokhtar, Fac. sci. Annaba. 132 p.

Deviller G., Palluel O., Aliaume C., Asanithi H., Sanchez W., Franco Nava M.A., Blancheton J.P., Casellas C., 2005. Impact assessment of various rearing systems on fish health using multibiomarker response and metal accumulation. *Ecotoxicol. Environ. Saf*; 61(1):89-97.

Devitt D.A., Morris R.L., and Bowman D.C., 1989. Evapotranspiration, crop coefficients, and leaching fractions of irrigated desert turf grass systems, *Agron. J.*, 84, 717-723,

Djabourabi A., 2014. Impact de facteurs environnementaux et de microalgues toxiques sur certains organismes aquatiques (bivalves). *Thèse de doctorat*. Univ. Badji Mokhtar–Annaba ; Laboratoire d'Ecobiologie des Milieux Marins et Littoraux, Faculté des sciences 156p.

Dondero F., Piacentini L., Banni M., Rebelo M., Burlando B., & Viarengo A., 2005. Quantitative PCR analysis of two molluscan metallothionein genes unveils differential expression and regulation. *Gene*. Vol (345) 259–270.

Dorange G., Paulet Y.M., Le Pennec M., et Cochard J.C., 1989. Critères histologiques de la qualité des ovocytes émis par *Pecten maximus*. *C.R. Acad. Sci. Paris* 309 série 3 :113-120.

Dridi S., Romdhane M.S. et El Cafsi M., 2008. Croissance et variations saisonnières de la composition en acides gras de l'huître *Crassostrea gigas* cultivée dans la lagune de Bizerte, Tunisie. *Belg. J. Zool.*, 138 (2) : 158-169.

Durou C., Poirier L., Amiard JC., Budzinski H., Gnassia-Barelli M., Lemenach K., Peluhet L., Mouneyrac C., Roméo M., Amiard-Triquet C., 2007. Biomonitoring in a clean and a multi contaminated estuary based on biomarkers and chemical analyses in the endobenthic worm *Nereis diversicolor*. *Environ. Pollut.* 148, 445-458

-E-

Edouard His et Christian Cantin, 1995. Biologie et physiologie des coquillages. *Rapport Interne DEL/95.06/ARCACHON*. 108p.

Ellman G.L., 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Archives in Biochemical Biophysics* 82, 70-77.

Erika M.F., Hector A.S., Paul C.S., 2006. The nutritional value of seven species of tropical microalgae for black-lip pearl oyster (*Pinctada margaritifera* L.) larvae. *Aquaculture* 257(1–4):491–503

Errecalde O., Seidl M. et Campbell P.G.C., 1998. "Influence of low molecular weight metabolite (citrate) on the toxicity of cadmium and zinc to the unicellular green alga *Selenastrum capricornutum*: an exception to the Free-Ion Model." *Wat. Res.* 32: 419-429.

-F-

Fabi G., Fiorentini L., Giannini S., 1985. Osservazioni sull'insediamento di *Mytilus galloprovincialis* LamK. Su di un modulo sperimentale per miticoltura immerso nella baia di Portonovo (Promontorio del Conero, Medio Adriatico). *Oebalia N.S.* 11(2), 681-692.

Fabisiak J.P., Pearce L.L., Borisenko G., Tyurina Y., Tyurin V.A., Razzak J., Lazo J.S., Pitt B.R., Kagan V.E., 1999. Bifunctional anti/ prooxidant potential of metallothionein: redox signaling of copper binding and release. *Antiox. Redox. Sign.* 1: 349-364.

Fernandes F-C., 1981. Ecologia e biologia do mexilhão *Perna perna* na região do Cabo Frio, Brasil. Phd Thesis. University of São Paulo. 145p.

Fernando L.P., Andrews G.K., 1989. Cloning and expression of an avian métallothionéine encoding gene. *Gene*. 81 : 177-183.

Fisher N.S. et Reinfeld J.R., 1995. The trophic transfer of metals in marine systems. In "Metal speciation and bioavailability in aquatic systems". A. Tessier et D. R. Turner. Wiley: 363-396.

Fowler B.A., Hildebrand C.E., Kojima Y., Webb M., 1987. Nomenclature of metallothionein. *Experientia Suppl.* 52:19-22.

Fowler S.W., 1982. Biological transfer and transport processes. Pollutant transfer and transport in the sea. G. Kullenberg, CRC press. Boca Raton: 2-65.

Fox A.D., 2003. Diet and habitat use of scoters *Melanitta* in the western Palearctic—a brief overview. *Wild fowl* 54, 163-182.

Frehi H., 1995. Etude de la structure et du fonctionnement du système phytoplanctonique dans un écosystème marin côtier. Eutrophisation de la baie d'Annaba. Thèse de Magister, Université Badji-Mokhtar, Algérie.

Frehi H., Ayada M., Kara M.H. & Coute A., 2004. Hydrobiologie de la baie d'Annaba (Algérie nord-est): Caractères physico-chimiques et biomasse chlorophyllienne. *Rapp. Comm. int. Mer Méditerr.*, 37. 359 p.

Freites L., Lodeiros C., Narváez N., Estrella G., Babarro J.M.F., 2003. Growth and survival of the scallop *Lyropecten* (=Nodipecten) *nodosus* (L., 1758) in suspended culture in the Cariaco Gulf (Venezuela), during a non upwelling period. *Aquac Res* 34:709–718

Frolin L., Blom S., Clander M., Sturve J., 1996. Effects on UDP glucuronosyl transferase glutathione transfrase, DT-diaphorase and glutathione reductase activities in rainbow trout liver after longterm exposure to PCB. *Marine Environmental Research* 42:213-216.

Furey W.F., Robbins A.H., Clancy L.L., Winger D.R., Wang B.C., Stout C.D., 1987. Crystal structure of Cd, Zn metallothionein. *Science*. 231: 704-710.

Furnestin M., 1966. - Eléments de planctonologie appliquée. *Rev. Trav. Inst. Sci. Pêches Marit., Nantes*, 30 (1/3): pp. 117-278.

-G-

Galloway TS, Brown RJ, Browne MA, Dissanayake A, Lowe D, Jones MB, Depledge MH (2004a). A multibiomarker approach to environmental assessment. *Environ Sc Technol* 38: 1723-1731

García M., Seijo C.L., Freites L., Córdova1 H., Suástegui J.M.M., Babarro J., 2016. Comparative performance of the mussels *Perna perna* and *Perna viridis*, cultivated at four different depths. *Brazilian Journal of Oceanography* 64 (3), p. 249-262. <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-87592016113906403>

Gayaniilo J-R., F-C., Soriano P., Pauly D., 1996. (The FAO –ICLARM STOCK. Assessment Tools (FiSAT) User Guide. FAO Computerised information Series (Fisheries) N° 8. FAO, Rome, p. 266.

Geffard A., Amiard J.C., Amiard-Triquet C., 2002a. Use of metallothionein in gills from oysters *Crassostrea gigas* as a biomarker: seasonal and intersite fluctuations. *Biomarkers* 2002a; 7 (2): 123-137.

Geffard A., Amiard-Triquet C., Amiard J.C., Mouneyrac C., 2001. Temporal variations of metallothionein and metal concentrations in the digestive gland of oysters *Crassostrea gigas* from a clean and metal rich sites. *Biomar* 2001; 6 (2): 91-107.

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.

George S.G., 1980. "Correlation of metal accumulation in mussels with the mechanisms of uptake, metabolism and detoxification: a review." *Thalassia Jugoslavica* **16** (2-4): 347-365.

George SG., 1990. Biochemical and Cytological Assessments of Metal Toxicity in Marine Animals. In Heavy Metals in the Marine Environment. *Furness, R.W. and P.S. Rainbow (eds)*. pp 123-142.

Geret Florence, Cosson Richard P., 1999. Utilisation des métallothionéines comme biomarqueur de la contamination métallique : variabilité entre sites et organes chez l'huître *Crassostrea gigas*. *Oceanologica Acta* 23 (2000) 261–271

Ghaiddalia et Bourgeois, 1961. Influence de la température et de l'éclairement sur la distribution des crevettes de moyennes et de grandes profondeurs Edit, Rev. Gen. Fish. Med (Fra) n° 1 : 16:p53-58.

Gmelin J.F., 1789. Caroli a Linné ... *Systema Naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species; cum characteribus, differentiis, synonymis, locis*. Editio decimo tertia, aucta, reformata. 3 vols. in 9 parts. Lipsiae, 1788-93. v. 1 (pt 3), pp 1033-1516., available online at <https://doi.org/10.5962/bhl.title.36932>

Goldberg E.D., 1975. The mussel watch ; a first step in global marine monitoring. Mar Poll Bull 11 : 111

Gonzalez J.L., Chiffolleau J.F., Miramand P. et Thouvenin B., 1999. Le cadmium: comportement d'un contaminant métallique en estuaire, Programme scientifique Seine Aval, Editions Ifremer, Plouzané, France: 31.

Gosling E., 1992. The mussel *Mytilus*. Ecology, physiology, genetics and culture. Developments in aquaculture and fisheries Science 25. Elsevier, Amsterdam, p. 565.

Gosling E., 2003. *Bivalve molluscs: Biology, ecology and culture*. Fishing News Books, Oxford, UK.

Grangnery A., 2001. Etude et modalisation de la dynamique des populations des principaux bivalves en élevage (*Crassostrea gigas* et *Mytilus galloprovincialis*) et des principaux épibiontes des étangs de Thau. Thèse de doctorat, 1999-2000.

-H-

Habig W-H., Pabst M-J., & Jakoby W-B., 1974. Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. The journal of biological chemistry. 249 : 7130–7139.

Halla L.S., Krausman P.R., And Morrison M.L., 1997. The habitat concept and a plea for standard terminology. Wildl. Soc. Bull. 25:173-182.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C., 1999. Free radicals in biology and medicine. *Oxford university press Inc, New York.*

Hamza-Chaffai A., Roméo M., Gnassia-Barelli M., El Abed A., 1998. Effects of copper and lindane on some biomarkers measured in the clam *Ruditapes decussatus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 61: 397- 404.

He X., kan H., Cai L., Ma Q., 2008. Nuclear factor erythroid-2-related factor 2 (Nrf2) is critical in defense against high glucose-induced oxidative damage in cardiomyocytes. *J. Mol. Cell. Cardio.*

Headden G-F., and M-C., Williams E., 1968. A comparison of embedding waxes. *J. Med. Lab. Technol.*, 25:250 – 262.

Hicks D.W. et Tunnell J.W., 1995. Ecological notes and patterns of dispersal in the recently introduced mussel, *Perna perna* (Linnaeus, 1758) in the gulf of Mexico. *Am. Malacol. Bull.*, 11: pp.203-206.

Hicks D.W., Tunnell J.W. et Mc Mahon R.F., 1993. Population dynamics of the non-indigenous brown mussel *Perna perna* in the Gulf of Mexico compared to other worldwide populations. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 211: pp. 181-192.

Huggett R-J., R-A., Kimerle P-M., Mehrle J-R. & H-L., Bergman E.D.S., 1992. Biomarkers. Biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic Stress. Boca Raton, Fla., Lewis Publishers, 347pp.

-I-

Idhalla M., Bouhaimi A., Zekhnini A., Narbonne J.F., Mathieu M. & Moukrim A., 1997. Etude du cycle de reproduction de deux espèces de moules *Perna perna* (Linné, 1758) et *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) dans la baie d'Agadir (Sud du Maroc). *Haliotis* 26, pp. 51-62.

IdHalla M., Nhhala H., Kassila J., Ait Chattou E.M., Orbi A., Moukrim A., 2017. Comparative production of two mussel species (*Perna perna* and *Mytilus galloprovincialis*) reared on an offshore submerged longline system in Agadir, Morocco. International Journal of Scientific and Engineering Research, 8 (6). ISSN 2229-5518.

-J-

Jacob S.T., Ghshal K., Sheridan J.F., 1998. Induction of metallothionein by stress and its molecular mechanisms. *Gene expression.* 7: 301-310.

Jiang L.J., Maret W., Vallee B.L., 1998. The ATP-metallothionein complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95: 9146-9149.

-K-

Kaehler S.C., McQuaid D., 1999. Lethal and sub-lethal effects of phototrophic endolithes attaching the shell of the intertidal mussel *Perna perna*. *Marine Biology* (1999) 135: 497-503

Kagi J.H.R., Vallee B.L., 1960. Metallothionein: a cadmium and zinc containing protein from equine renal cortex. *J. Biol. Chem.* 235: 3460-3465.

Kamel N. 2014 : Effets combinés des facteurs environnementaux et des polluants chimiques chez la moule *Mytilus galloprovincialis* : Harmonisation des biomarqueurs d'exposition suivant les recommandations OSPAR et MEDPOL. *Thèse de doctorat. Univ. Nantes. Fac. Sci. Tech.* 160p.

Kautsky N., 1982. Growth and size structure in a Baltic *Mytilus edulis* population. *Marine Biology* 68, p. 117–133.

Khan M.A.A., Assim Z.B., Ismail N. 2010. Population dynamics of the green-lipped mussel, *Perna viridis* from the offshore waters of Naf River coast, Bangladesh. *Chiang Mai J Sci* 37(2):344–354

Khati Hadj moussa W., 2009. Etude de la qualité des eaux du golfe d'Annaba par l'utilisation d'un mollusque sentinelle, la moule *Perna perna*: essai in vivo et in situ. Application à la biosurveillance de l'environnement marin. *Thèse de doctorat. Univ. Annaba. laboratoire écobiologie des milieux marins et littoraux.* 87p

Khati W., Ouali K., Mouneyrac C., Banaoui A., 2012. "Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use in biomonitoring". *Energy Procedia* 18, p. 784 – 794. www.sciencedirect.com

Khelifi-Touhami M., 1998. Composition et abondance du zooplancton des eaux côtières de l'Est algérien (secteur eutrophe du golfe d'Annaba et du plateau continental d'El-Kala). Thèse de Magister en Ecologie, Université Badji-Mokhtar, Algérie.

Kim S., Lee K., Bae S.J., Hahn J.S., 2015. Promoters inducible by aromatic amino acids and γ -aminobutyrate (GABA) for metabolic engineering applications in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Microbiol Biotechnol* 99(6):2705-14

Kohler K. et Riisgard H.U., 1982. "Formation of metallothioneins in relation to accumulation of cadmium in the common mussel *Mytilus edulis*." *Mar. Biol* 66: 53-58.

Kojima Y., Berger C., Vallee B.L., Kagi J.H.R., 1976. Amino-acid sequence of equine renal metallothionein-1B. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America.* 10: 3413-3417.

Kojima Y., Kagi J.H.R., 1978. Metallothionein. *Trends. Biochem. Sci.* 3: 90-93.

Krezoki S., Laib J., Onana P., Hartmann T., Chen P., Shaw C.F., Petering D.H., 1988. Presence of Zn, Cu-binding protein in liver of freshwater fishes in the absence of elevated exogenous metal: relevance to toxic metal exposure. *Mar. Environ. Res.* 24:147-150.

-L-

Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C., Ramade F., 1997. Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux. *Masson. Paris.* pp 417.

Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C., Ramade F., 1998. Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. *Lavoisier. Paris.* pp 320.

Lane T.W. et Morel F.M.M., 2000. "A biological function for cadmium in marine diatoms. "Proceedings of the National Academy of Sciences **97**(9): 4627-4631.

Lawrence D.R. et Scott G.I., 1982. The determination and use of condition index of oysters. Estuaries, 5(1): 23-27.

Laziac Tidal, 1986. The reproductive cycles of the intertidal bivalves *Crassostrea cucullata* (Borne, 1978) and *Perna perna* (Linnaeus, 1758) from the Transkei Coast, Southern Africa. 29:226-230.

Lee S-Y., 1985. The population dynamics of the green mussel, *Perna veridis*(L) in Victoria Harbour,Hong Kong-dominance in a pollution environnement Asia Mar.Biol.2,107-118.

LeBlanc G.A., Cochrane B.J., 1985. Modulation of substrate specific glutathione-S transferase activity in *Daphnia Magna* with concomitant effects on toxicity tolerance. Comp. Bioch. Physiol., C 82, p: 37 - 42.

Linnaeus, 1758. Gulf States Marine Fisheries Commission. Retrieved on 2007-12-15.

Livingstone D.R., Lemaire P., Mathews A., Peters L., Bucke D., Law R., 1993. Pro-oxidant, antioxidant and EROD activity responses in liver of dap (*Limand Limand*) exposed to sediments contaminated with hydrocarbons and others chemicals. *Mar. Pollut. Bull.*, **26** (11): 602-606.

Lodeiros C., Himmelman J., 2000. Identification of factors affecting growth and survival of the tropical scallop *Euvola (Pecten) ziczac* in the Golfo de Cariaco, Venezuela. Aquaculture, 182, p. 91-114.

Loo L-O. & Rosenberg R-m., 1983. *Mytilis edulis* culture : growth and production in Western Sweden. Aquaculture 35 :137 – 150.

Lorenzen C-J., 1967. Détermination of chlorophylle and pheopigments spectrométrie equation. Limnol. oceanogr. 12:343-346.

Lubet P., 1959. Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les mytilidés et les pectinidés (Moll. Bival). *Rev. Trav. Inst. Pêche Marit.* 23, 4, pp. 389-548.

Lubet P., 1970. Cycle et rythme sexuels chez les mollusques pélécypodes. Influence du milieu et étude expérimentale. *Ann. Ins. Michel Pacha*, **3**: 24- 50.

Lubet P., 1973.- Exposé synoptique des données biologiques sur la moule *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1818). *Synopsis FAO sur les pêches*, n° **88**, FAO, Rome :43 p.

Lubet P., Gimazane J.P., et Prunus G., 1981. Etude du cycle de reproduction de *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) à la limite de son aire de répartition. Comparaison avec les autres secteurs de cette aire. *Haliotis*, 11 : 157-170.

Lubinsky I., 1958. Studies on *Mytilus edulis* L. of the 'Calanus' expeditions to Hudson and Ungava Bay. Canadian Journal of Zoology 36, 869-881.

Lucas A., et Beninger P-G., 1985. The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture*, 44 :187 – 200.

Lunetta J.E., 1969. Reproduction physiology of the mussel *Mytilus perna* (Mollusca lamellibrachia). *Zool : Biol. Mar. Sci Paul.* 0,26 : 33 – 111.

Luoma S.N., 1983. "Bioavailability of trace metals to aquatic organisms - a review." *Sci. Total. Environ.* 28 : 1-22.

-M-

Mackay E.A., Overnell J., Dunbar B., Davidson I., Hunziker P.E., Kagi J.H.R., Fothergill J.E., 1993. Complete amino acid sequences of five dimeric and four monomeric forms of metallothionein from the edible mussel *Mytilus edulis*. *Euro. J. Biochem.* 218:183-194.

Mandelli E. et Acuna A., 1975.- The culture of the mussel *Perna perna* and the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae*, in Venezuela. *Marine Fisheries Review*, 37 : pp. 15-18.

Mann R., 1978. A comparison of morphometric, biochemical and physiological indexes of condition in marine bivalve molluscs. In: J.H. THARP et W. GIBSOWS, ed., Energy and Environmental stress in aquatic systems. DOE Symp. Ser. 48: 484-497.

Manzella G.M.R. and La Violette P.E., 1990.The seasonal variation of water mass content in the western Mediterranean and its relationship with the inflows through the straits of Gibraltar and Sicily. *J. Geoph. Res.* 95: 1623-1626.

Marchand M. et Kantin R., 1997. "Les métaux traces en milieu aquatique." *Océanis* 23(4): 595-629.

Maret W., Vallee B.L., 1998. Thiolate ligands in metallothionein confer redox activity on zinc clusters. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95: 3478-3482.

Margoshes M., Vallee B.L., 1957. A cadmium protein from equine kidney cortex. *J. Am. Chem. Soc.* 79: 4813-4820.

Marigomez I., Soto M., Cajaraville M-P., Angulo E., Giamberini L., 2002. Cellular and Subcellular. Distribution of metals in Molluscs. *Microscopy Research and Technique* 56, 358-392.

Mark Anthony C. Mamon, Julie Andrea P., Añano Louise C., Abanador Genesis Julyus T., Agcaoili Caira B., Sagum Ria Lorraine H., Pagliawan Jean Mherck B., Tapere Jessie Bob M., Agravante John Harold G., Arevalo Abdul Jabbar A., Minalang, 2016. Pollutant exposure in Manila Bay: Effects on the allometry and histological structures of *Perna viridis* (Linn.). *Science Department, Las Piñas National High School, Philippine.* Asian Pacific Journal of Reproduction 2016; 5(3): 240–246

Marques A., Pereira R-T-L., Correa B-C., 1998. Seasonal Variation in growth and yield of the brown mussel *Perna perna* (L.) cultured in Ubatuba, Brasil. Fisheries Institute.Sao Paulo State Agriculture Departement,Sao Paulo ,SP, Brazil. *Rev. ELSEVIER*.

Martin M., Osborn K.E., Patricia B. et Glickstein N., 1981.- Toxicities of ten metals to *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis* embryos and *Cancer magister* larvae. *Marine Pollution Bulletin* **10** (9): pp. 305-308.

Martoja M. et Martoja R., 1982. "La bioaccumulation des métaux, processus physiologique normal et conséquences de la pollution." *Le courrier du CNRS* **54**: 32-37.

Martoja R. et Martoja M., 1978. "L'antagonisme sélenium-mercure." *Actual. Biochim. Mar* **1**: 149-184.

Martoja R., & Martoja Pierson M., 1967. Initiation aux techniques de l'histologie animale. Masson : 345 p.

Mascaro M., Seed R., 2000. Foraging behavior of *Cracinus maenas* (L.): comparison of size-selective predation on four species of bivalve prey. *J. Shellfish Res.* **19**, 283-291.

Masters B.A., Kelly E.J., Quaife C.J., Brinster R.L., Palmiter R.D., 1994. Targeted disruption of metallothionein I and II genes increases sensitivity to cadmium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **91**: 584-588.

Maurin, 1961. Etude des fonds chalutables de la Méditerranée occidentale (écologie et pêche). Résultats des campagnes des navires océanographiques : Président-Théodore-Tissier p191-195p.

Maury R. et Engrand P., 1986. Recherches en Eco toxicologie expérimentale sur la bioaccumulation et les transferts de mercure dans un système "sédiment-eau-macrophytes". Thèse de Doctorat, Université Bordeaux 1: 320.

MEDPOL Programme, 2006. A Strategic Action Plan to eliminate pollution from land-based sources in the Mediterranean. UNEP. Mediterranean Action Plan. MED POL,

Merzouki M., Talib N., Sif J., 2009. Indice de condition et teneurs de quelques métaux (Cu, Cd, Zn et Hg) dans les organes de la moule *Mytilus galloprovincialis* de la côte d'El Jadida (Maroc) en mai et juin 2004. *Bulletin de l'Institut Scientifique*, Rabat, section Sciences de la Vie., **31 (1)** : 21-26.

Michalska A.E., Choo K.H., 1993. Targeting and germ-line transmission of a null mutation at the metallothionein I and II loci in mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **90** : 8088-8092.

Mikac N., Branica M., Wang W-X. et Harrison R. M., 1996. "Organ lead compounds in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the Eastern Adriatic Coast." *Environ. Sci. Technol.* **30**: 499-508.

Mikac N., Kwokal Z., Martincic D. et Branica M., 1996. "Uptake of mercury species by transplanted mussels *Mytilus galloprovincialis* under estuarine conditions (Krka river estuary)." *Science of the Total Environment* **184**: 173-182.

Miquel M., 2001. Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport Office Parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques (Dir.). Rapport Sénat n°261 : 360.

Monteiro P.M.S., Van Der Plas A., Mohrholz V., Mabille E., Pascall A. and Joubert W., 2006. Variability of natural hypoxia and methane in a coastal upwelling system: Oceanic physics or shelf biology? *Geophysical Research Letters* 33: doi: 10.1029/2006GL026234. issn: 0094-8276.

Moore M.N., Allen J.I., 2002. A computational model of the digestive gland epithelial cell of marine mussels and its simulated responses to oil-derived aromatic hydrocarbons. *Mar. Environ. Res.* 54, 579-584.

Moriarty C., Bninska M., Leopold M., 1990. Eel, *Anguilla anguilla* L., stock and yield in Polish lakes. *Aquaculture Research*. Volume 21, Issue 3. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1990.tb00472.x>

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 Progr Ser* 1998; 162: 125–135.

Munger K., Germann U.A., Lerch K., 1985. Isolation and structural organization of the *Neurospora crassa* copper metallothionein gene. *EMBO J.* 4: 2665-2668.

Myint M.U., Tyler P.A., 1982. Effects of temperature, nutritive and metal stressors on the reproductive biology of *Mytilus edulis*. *Mar Biol* 67:209–223

Myrand B., Guderley H., Himmelman J.H., 2000. Reproduction and summer mortality of blue mussels *Mytilus edulis* in the Magdalen Islands, Southern Gulf of St. Lawrence. *Mar Ecol-Prog Ser* 197:193–207

-N-

Naciri M., 1998. Dynamique d'une population de moules, *Mytilus galloprovincialis* (Lmk.), vivant sur la côte atlantique marocaine. *Bulletin de l'Institut Scientifique*, Rabat, 1997-1998, n°21, pp. 43-50.

Najimi S., Bouhaimi A., Daubèze M., Zekhnini A., Pellerin J., Narbonne J.F., Moukrim A., 1997. Use of acetylcholinesterase in (*Perna perna*) and (*Mytilus galloprovincialis*) as a biomarker of pollution in Agadir Marine Bay (South of Morocco). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 58: 901-908.

Narasimham KA., 1981. Dimensional relationships and growth of green mussel *Perna viridis* in Kakinada Bay. *Indian J Fish* 28:240–248

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, p. 37-42.

Navarro J.M., 1988. The effects of salinity on the physiological ecology of *Choromytilus chorus* (Molina, 1782) (Bivalvia: Mytilidae). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 122:19–33

Neff J.M., 2002. Bioaccumulation in Marine Organisms: Effect of contaminants from oil well produced water, Elsevier Science Publishers, Amsterdam.

Nicholas S.J., 1996. Variations in the reproductive cycle of *Dreissena polymorpha* in Europe, Russia and North America. Am. Zool. **36**:311–325

-O-

Ochieng O.B., Khakasa M.K., Sturcky O.P., 2015. Harmful marine phytoplankton community in Shirazi Creek, Kenya. J Fish Aquat Sci **10**:266–275

OMS-IPCS, 1998. Environmental Health Criteria n°200: copper, World Health Organisation, International Programme on chemical safety. <http://www.inchem.org/fullist.htm>.

Otvos J.D., Liu X., Li H., Shen G., Basti M., 1993. Dynamic Aspects of Metallothionein Structure, Metallothionein III. *Biological Roles and Medical Implications*. 57: 220-227.

Ouinissi M., Frehi H., Khelifi M., et Touhami M., 1998. Composition et abondance du zooplancton en situation d'eutrophisation dans un secteur côtier du golfe d'Annaba (Algérie). *Ann. Ins. Oceanographie, Paris*, **74**(1):13-28p

Ounissi M. & Frehi H., 1999. Variabilité du microphytoplancton et des Tintinnidae (Protozoaires Ciliés) d'un secteur eutrophe du Golfe d'Annaba (Méditerranée sud occidentale). *Cah. Biol. Mar.* **40**: 141-153.

Ounissi M. & Khelifi-Touham, M., 1999. Le zooplancton du plateau continental d'El-Kala (Méditerranée sud-occidentale): composition et abondance en mai 1996. *J. Rech. Océanogr.*, **24** (1): 5-11.

Ozdemir E., Ugur S. et Kaimaki A., 1998. Heavy metal concentrations in some molluscs and in superficial sediments from Izmir Bay (Turkey). *Rapports de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée*, **35** (2).

-P-

Page H.M., Hubbard D.M., 1987. Temporal and spatial patterns of growth in mussels *Mytilus edulis* on an offshore platform: relationships to water temperature and food availability. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **111** (2), 159-179.

Pallery P., 1921. Histoire de la moule d'Afrique. Bull. de la société d'histoire naturelle de l'Afrique du nord. 5 : 105 – 115.

Palmiter R.D., 1994. Regulation of metallothionein genes by heavy metals appears to be mediated by a zinc-sensitive inhibitor that interacts with a constitutively active transcription factor, MTF-1. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*. **91**:1219-1223.

Palmiter R.D., Findley S.D., Whitemore T.E., Durnam D.M., 1992. MT-III, a brain specific member of the metallothionein family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **89**: 6333-6337.

Parent L., Twiss M. R. et Campbell P.G.C., 1996. "Influences of natural dissolves organic matter on the interaction of aluminium with the microalga *Chlorella*: A test of the free-ion model of trace metal toxicity." Environ. Sci. Technol. **30**: 1713-1720.

Pasteur-Humbert C., 1962. Les mollusques marins testacés du Maroc: Les Lamellibranches et les Scaphopodes. *Trav. Inst. Sci. Chérif., sér. Zool.* n° **28** : 184 p.

Paulet Y.M., Dorange G., Cochard J.C., Le Pennec M., 1992. Reproduction et recrutement chez *Pecten maximus* L. *Ann. Inst. Océanogr.* Paris **68(1-2)**: 45-64.

Pauly D., David N., 1981. ELEFEN-1 BASIC program for the objective extraction of growth parameters from length-frequency data *Mecresforschung* 28(4).205-211.

Pellerin – Massicote J-B., Vincent Y., & Pelletier E., 1989. Evaluation de la qualité de l'estuaire du Saint-Laurent. Etudes spatiales. Rapport remis au ministère de l'environnement de Québec, 130 pp.

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*). *Journal de Recherche Océanographique* 22: 91-98.

Perez C.A. and Roman G., 1979. Estudio del mejillon y de sua epifauna en los cultivos flotantes de la Ria de Arosa : II. Crecimiento, mortalidad y produccion del mejilleon. *Boletin del Instituto Espanol de Oceanografia* 5 (1), 21-41.

Phernambucq A.J.W. et Vroonland C.S., 1983. A comparison of four index of condition of the european flat oyster *Ostrea edulis* L. *Cons. int. Explor. Mer, C.M.* 1983/F : 3, 11p.

Phillips D.J.H. et Rainbow P.S., 1994. Biomonitoring of trace aquatic contaminants, Aldenn Press Ltd, Oxford.

Phillips D.J.H., 1976.- The common mussel *Mytilus edulis* as an indicator of pollution by zinc, cadmium, lead and copper. I- Effects on environmental variables on uptake of metals. *Mar. Biol.*, **38**: pp. 59-69.

Piscator M., 1964. On cadmium in normal human kidneys with a report on the isolation of metallothionein from cadmium exposed rabbit livers. *Nord Hyg Tidskr.* 45:76-82.

Poulsen E., Riisgard H.U. et Mohlenberg F., 1982. "Accumulation of cadmium and bioenergetics in the mussel *Mytilus edulis*." *Mar. Biol* **68**: 25-29.

Power A., Sheehan D., 1996. Seasonal variation in the antioxidant defense systems of gill and digestive gland of the blue mussel, *Mytilus edulis*. *Comp. Biochem. Physiol. C* 114, 99-103.

Power A.J., Sturmer L., Lucas C., Walker R.L., Manley J., 2005. Gametogenic cycle of the ponderous ark, *Noetia ponderosa* (Say, 1822), from Cedar Key, Florida. *J Shellfish Res* **24**:69–73

Price N.M. et Morel F.M.M., 1990. "Cadmium and cobalt substitution for zinc in a marine diatom." *Nature* **344**(6267): 658-660.

Rainbow P.S., 1990. Heavy metal levels in marine environment. Heavy metals in the marine environments. R. W. Furness, P. S. Rainbow et C. Press, CRC Press, Boca Raton: 68-79.

Rajagopal S., Venugopalan V.P., Van der Velde G., Jenner H.A., 2006. Greening of the coasts: a review of the *Perna viridis* success story. *Aquat. Ecol.* **40**:273–297

Rajesh K.V., Mohamed K.S., Kripa V., 2001. Influence of algal cell concentration, salinity and body size on the filtration and ingestion rates of cultivable Indian bivalves. *Indian J. Mar. Sci.* **30**:87–92

Ramade F., 1977. Ecotoxicologie, (collection d'écologie), Ed. Masson, Paris, 228 p.

Ramade F., 1992.- Précis d'écotoxicologie. *Collection d'Ecologie*, **22**, Masson, Paris: pp. 170-171.

Raspor B., Pavicic J., Kozar S., Kwokal Z., Paic M., Odzak N., Ujevic I., Kjakovic Z., 1999a. Assessment of metal exposure of marine edible mussels by means of a biomarker. In: Klaassen C. (Ed.), *Metallothionein IV*. Birkhäuser, Basel 1999a; pp. 629–632.

Regoli F., Mauri M. et Orlando E., 1995.- Trace metals in the shell of mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Rapports de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée*, **34** : 144 p.

Ren J.S., Ross A.H., Hayden B.J., 2000. Comparison of assimilation efficiency on diets of nine phytoplankton species of the greenshell mussel *Perna canaliculus*. *J Shellfish Res* **25**:887–892

Renzoni A. &Massa F.G., 1970. Ulteriori reperti sul ciclo biologico riproduttivo di *Mytilus galloprovincialis*, V^e Simposio Europeo di Biologica Marina.

Renzoni A., 1963. Ricerche ecologiche e idrobiologiche su *Mytilus galloprovincialis* LmK. Nel Golfe di Napoli. *Bulletino di Pesca, Pescicuctura e Idrobiologia*, 18,187-238.

Retima A., 1998. Indice des échanges hydrologiques, chimiques, biochimiques et phytoplanctoniques sur la fertilisation de la lagune El Mellah et du littoral voisin (El Kala, Algérie), selon le régime des marées, dix ans après l'aménagement du chenal de communication. Thèse de Magister en écologie et environnement, Univ. Annaba.87p

Réjean Tremblay, Marcel Roussy Et Mathieu Cusson, 2005. Modélisation du potentiel d'épuration de la moule bleue (*Mytilus* spp.) en eau froide et en réaction à un choc thermique. *Rapport commandité par la SODIM. Cahier d'information* n° 143. Dossier n° 710.2

Ribeyre F. et Boudou A., 1989. Trophic chains and experimental ecosystems: study of bioaccumulation and transfer processes. *Aquatic Ecotoxicology: Fundamental Concepts and Methodologies*. A. Boudou et F. Ribeyre, CRC Press, Boca Raton, FL. **1**: 3-46.

Ribeyre F. et Boudou A., 1980. "Transfer of CH₃HgCl in an experimental freshwater trophic chain -temperature effects." *Environ. Pollut* **1**: 259-268.

Riek R., Prêcheur B., Wang Y., Mackay E.A., Wider G., Guntert P., Liu A., Kagi J.H.R., Wuthrich K., 1999. NMR structure of sea Urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*) metallothionein MTA. *J. Mol. Biol.* **291**: 417-428.

Riget F., Johansen P. et Asmund G., 1997. "Uptake and release of lead and zinc by blue mussels (*Mytilus edulis*). Experience from transplantation experiments in greeland." Mar. Pollut. Bull. **34**: 805-815.

Riisgard H.U. et Hansen S., 1990. "Biomagnification of mercury in a marine grazing food-chain: Algal cell *Phaeodactylum tricornutum*, Mussels *Mytilus edulis* and Flounders *Platichthys flesus* studied by means of a stepwise-reduction-CVAA method." Mar. Ecol. Prog. Ser **62**: 259-270.

Riisgard H.U., Bjornestad E. et Mohlenberg F., 1987. "Accumulation of cadmium in the mussel *Mytilus edulis*: kinetics and importance of uptake via food and seawater." Mar. Biol **96**: 349-353.

Riisgård H.U., Lüskow F., Pleissner D., Lundgreen K., & López M.A.P., 2013. Effect of salinity on filtration rates of mussels *Mytilus edulis* with special emphasis on dwarfed mussels from the low saline central Baltic Sea. Helgoland Marine Research, 67, 591–598.

Rivonker C.U., Ansari Z.A., Parulekar A.H., 1993. Cultivation of green mussel, *Perna viridis* L., on a floating raft in an estuary along the west coast of India. Aquaculture **112**:47–56

Roesijadi G. & Fellingham G.W., 1987. Influence of Cu, Cd and Zn pre-exposure on Hg toxicity in the mussel *Mytilus edulis*. J. Fish. Aquat. Sci. 44 (3): 680-684

Roesijadi G., 1996. Metallothionein and its role in toxic metal regulation. Comp. Biochem. Physiol. C. 113:117-123.

Roméo M., Bennani N., Gnassia-Barelli M., Lafaurie M., Girard J.P., 2001. Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. Aquat Toxicol. 1; 48(2-3):185-194.

Romeo M., Horau P., Garello G., Gnassia-Barelli M. et Girard J.P., 2003. "Mussel transplantation and biomarkers as useful tools for assessing water quality in the NW Mediterranean." Environ. Poll., 122(3): 369-378.

Romeo M., Garcia-Barrelli J.P., Siddoumou Z., et Nguyen P.H., 1993. Variations spatiotemporelles des concentrations en métaux traces chez le mollusque *Donax rugosus* de la côte mauritanienne. Bull. Ecol., t.24(2-3-4) :83-86

Romero S.M.B. et Moreira G.S., 1980. The combined effects of salinity and temperature on the survival embryos and veliger larvae of *Perna perna* (Linné, 1758) (*Mollusca Bivalvia*). Bol. Fisiol. Anim. (Sao Paulo), **5** : pp. 45-58.

Roose P., Albaiges J., Bebianno M.J., 2011. Chemical pollution in Europe's Seas: programmes, Practices and priorities for Research, Marine Board Position Paper 16, Calewaert, J.B. and McDonough N. (Eds). Marine Board-ESF, Ostend, Belgium. 103pp

Ross S.J., Findlay V.J., Malakasi P., Morgan B.A., 2000. Thioredoxin peroxidase is required for the transcriptional response to oxidative stress in budding yeast. Mol Biol Cell 11(8):2631-42

Rouillon G., Navarro E., 2003. Differential utilization of species of phytoplankton by the mussel *Mytilus edulis*. Acta Oecol **24**:299–305

Roy R. et Campbell P.G.C., 1997. "Decreased toxicity of Al to juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) in acidic soft water containing natural organic matter: a test of the Free-Ion Model." Environ. Toxicol. Chem. **16**: 1962-1969.

Ruiz-Pino D.P., Jeandel C., Berthoux J.P. et Minster J.F., 1990. "Are the trace metal cycles balanced in the Mediterranean Sea?" Global and Planetary Change **2**(3-4): 369-388.

Ruiz-Pino D.P., Lambert C.E., Jeandel C. et Buat-Menard P., 1990. "Modelling the biogenic transport of atmospheric particles in the Mediterranean Sea." Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology **89**(1-2): 47-64.

Ruiz-Pino D.P., Nicolas E., Bethoux J.P. et Lambert C.E., 1991. "Zinc budget in the Mediterranean Sea: A hypothesis for non steady-state behavior." Mar. Chem. **33**(1-2): 145-169.

-S-

Sabhi Y., 1997. - Etude des tendances des polluants chimiques métalliques (Hg, Cd, Pb, Cr, Ni, Zn, Cu) dans les organismes marins de la côte méditerranéenne marocaine. *Thèse de Doctorat d'Etat es- Sciences Biologie. Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fès* : 220 pp.

Salaya J.J., Beauperthuy I. et Martinez J., 1973. - Estudio sobre la biología, pesquería y cultivo del mejillón, *Perna perna* (L.), en Venezuela. *Caracas, Republica de Venezuela, Ministerio de Agricultura y Cria, Oficina Nacional de Pesca* : 52 p.

Salomao L.C., Magalhaes A.R.M. et Lunetta J.E., 1980. - Survival of *Perna perna* (Mollusca Bivalvia) in different salinities. *Bol. Fisiol. Anim. (Sao Paulo)*, **4** : pp. 143-152.

Sastray A.N., 1968. Relationships among food, temperature and gonad development of the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck. *Physiol Zool* **41**:44-53

Sato S., 1994. Analysis of the relationship between growth and sexual maturation in *Phacosoma japonicum* (Bivalvia veneridae). *Marine Biology*, **118**: 663-672.

Saucedo P.E., Southgate P.C., 2008. Reproduction, development, and growth. In: Southgate PC, Lucas JS (eds) *The pearl oyster: biology and culture*. Elsevier Science, Amsterdam, pp 129-184

Saxby S.A., 2002. A review of food availability, seawater characteristics and bivalve growth performance at coastal culture sites in temperate and warm temperate regions of the world. Fisheries Research Division, Dept of Fisheries, North Beach, WA, Fisheries Research Report 132, 42 p

Schulz-Baldes M., 1974. "Lead uptake from seawater and food, and lead loss in the common mussel *Mytilus edulis*." Mar. Biol **25**: 177-193.

Schulz-Baldes M., 1977. Lead transport in the common mussel *Mytilus edulis*. Proc. Int. Conf., Heavy metals in the Environment, natl. res. Council Can.

Schurink C.E. et Griffiths C.L., 1990. Marine mussels of southern Africa; their distribution patterns, standing stocks, exploitation and culture. *Journal of Shellfish Research* **9** (1): pp.75-85.

Schurink C.E. et Griffiths C.L., 1991. A comparison of reproductive cycles and reproductive output in four southern African mussel species. *Marine Ecology Progress Series*. **76** : pp.123-134.

Seed R., 1968. Factors influencing shell shape in the mussel *Mytilus edulis*. *J. Mar. Biol. Ass. UK*, **48** : pp. 561-584.

Seed R., 1976. Ecology. In: Bayne BL (ed) Marine mussels: their ecology and physiology. Cambridge University Press, Cambridge, pp 13–65

Seed R., Suchanek T.H., 1992. Population and community ecology of *Mytilus*. In: the mussel *Mytilus*: Ecology, physiology, genetics and culture. E.G. Gosling (ed). Dev. Aquacult. Fish. Sci., Vol.25, Elsevier, Amsterdam, pp : 87 – 169.

Serafim M.A., Bebianno M.J., 2001. Variation of metallothionein and metal concentrations in the digestive gland of the clam *Ruditapes decussatus*: sex and seasonal effects. *Environ. Toxicol. Chem.* **20** : 544-552

Serafim M.A., Company R.M., Bebianno M.J. et Langston W.J., 2002. "Effect of temperature and size on metallothionein synthesis in the gill of *Mytilus galloprovincialis* exposed to cadmium." *Mar. Environ. Res* **54** (3-5): 361-365.

Serbanescu O., Munteanu G., Pecheanu I. et Mihnea I., 1980b.- *Mytilus galloprovincialis* de la côte roumaine de la mer Noire, facteur de concentration en métaux lourds. *Ves Journées Etud. Pollution, Cagliari, CIESM* : pp. 573-576.

Serfling E., Lübbe A., Dorsch-Häsler K., Schaffner W., 1985. Metal-dependent SV40 viruses containing inducible enhancers from the upstream region of metallothionein genes. *The EMBO Journal*. **4**:3851-3859.

Shafee M.S., 1989. Applications of some growth models to the black scallops *Chlamys Varia* (L) from Lanveoc, Bay of Best. *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, **43** : 237 – 250.

Shafee M.S., 1989.- Reproduction of *Perna picta* (*Mollusca: Bivalvia*) from the atlantic coast of Morocco. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **53**: pp. 235-245.

Shafee M-S., 1992. Production estimate of a mussel population *Perna picta* (Born) on the Atlantic Coast of Morocco. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **163** :183-197.

Siddall M.E. and Desser S.S., 1990. Gametogenesis and sporogonic development of *Haemogregarina balli* (Apicomplexa: Adeleina: Haemogregarinidae) in the leech *Placobdella ornata*. *Journal of Protozoology*, **37**: 511-520.

Siddall S-E., 1979. Effets de la température et de la salinité sur la métamorphose de deux moules tropicales. *Démarche de l'association nationale* **69** : 199 de mollusques et crustacés.

Sies H., 1999. Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic. Biol. Med.* **27**: 916-921.

Simkiss K. et Taylor M.G., 1995. Transport of Metals across Membranes. In "Metal speciation and bioavailability in aquatic systems". A. Tessier et D. R. Turner, Wiley. **3**: 2-39.

Simkiss K., Taylor M. et Mason A. Z., 1982. "Metal detoxification and bioaccumulation in molluscs." *Mar. Biol. Letters* **3**: 197-201.

Soon T.K., Denil D.J., Ransangan J., 2016. High Mortality and Poor Growth of Green Mussels, *Perna viridis*, in High Chlorophyll-a Environment. *Ocean Scientific Journal* 51(1), p. 43-57. <http://dx.doi.org/10.1007/s12601-016-0005-0>

Sole M., Porte C. et 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.

Stegeman J-J., Brouwer M., Digiulio R-T., Forlin L., Fowler B-A., Sanders B-M., & Van Veld P-A., 1992. Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. In Biomarkers: biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress. R. Huggett, R. Kimerle, P Mehrle and H. Bergman, Lewis. 235-335.

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, p: 339 - 345.

Steinebach O.M., Wolterbeek B.T., 1992. Metallothionein biodegradation in rat hepatoma cells: a compartmental analysis aided 35S-radiotracer study. *Bioch. Biophys. Acta.* 1116, p:155-165.

Stephensen E., Sturve J., Forlin L., 2002. Effects of redox cycling compounds on glutathione content and activity of glutathione related enzymes in rainbow trout liver. *Toxicology and pharmacology*: 435-442pp.

Stuart G.W., Searle P.F., Chen H.Y., Brinster R.L., Palmiter R.D., 1984. A 12-base-pair DNA motif that is repeated several times in metallothionein gene promoters confers metal regulation to a heterologous gene. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America.* 81:7318-7322.

Stuart G.W., Searle P.F., Palmiter R.D., 1985. Identification of multiple metal regulatory elements in mouse metallothionein-I promoter by assaying synthetic sequences. *Nature*.6040:828-831.

Suhy D.A., Simon K.D., Linzer D.I., O'Halloran T.V., 1999. Metallothionein is part of a zinc-scavenging mechanism for cell survival under conditions of extreme zinc deprivation. *J. Biol. Chem.* 274: 9183-9192.

Sukhotin A.A. and Kulakowski E. E., 1992. Growth and population dynamics in mussels (*Mytilus edulis*. L.) cultured in the White Sea. *Aquaculture* 101 (1-2), 59-73.

Sunda W.G. et Huntsman S.A., 1998. "Processes regulating cellular metal accumulation and physiological effects: Phytoplankton as model systems." *The Science of the Total Environment* 219: 165-181.

-T-

Tan K.S., Ransangan J., 2014. A review of feeding behaviour, growth, reproduction and aquaculture site selection for greenlipped mussel, *Perna viridis*. *Adv Biosci Biotechnol* **5**:462–469

Tan K.S., Ransangan J., 2016. Feeding behaviour of green mussels, *Perna viridis* farmed in Marudu Bay, Malaysia. *Aquac Res* (in press)

Tebble N., 1966. British bivalve seashells: a handbook identification. British Museum (Natural History), London.

Tessier A., Couillard Y., Campbell P.G.C. et Auclair J.C., 1993. "Modelling cadmium partitioning oxic lake sediments and cadmium concentrations in the freshwater bivalve *Anodonta grandis*." *Limnol. Oceanogr.* **38**: 1-17.

Thiele D.J., Walling M.J., Hamer D.H., 1986. Mammalian metallothionein is functional in yeast. *Science*. **231**: 854-856.

Thompson R-J., 1984. Production, reproductive effort, reproduction value and reproduction cost in a population of the blue mussel *Mytilus edulis* from a subantic environment. *Marine Ecology Progress Series* **16** :249 – 257.

Tim-Tim A.L., Morgado F., Moreira S., Rangel R., Nogueira A.J., Soares A.M., Guilhermino L., 2009. Cholinesterase and glutathione S-transferase activities of three mollusc species from the NW Portuguese coast in relation to the 'Prestige' oil spill. *Chemosphere*, **77**(11):1465-75. doi: 10.1016/j.chemosphere.2009.10.014.

Tortell P., Orano C.E. & Tabbu M., 1978. Mussel culture has good prospects as protein source. *World Fishing*, **27**, 49-53.

Toullec J.Y., Lenoir F., Van Wormhoudt A. et Mathieu M., 1989. Approche expérimentale du contrôle de la croissance chez les bivalves. *Océanis*, **15** (4), pp. 511-517.

Tran D., Boudou A. et Massabuau J.C., 2002. "Relationship between feeding-induced ventilator activity and bioaccumulation of dissolved and algal-bound cadmium in the asiatic clam *Corbicula fluminea*." *Environmental Toxicology and Chemistry* **21**: 327-333.

Tuaycharden S., Vakily J.M., Sealow A., McCoy E.W., 1988. Growth and maturation of the green mussel (*Perna viridis*) in Thailand. In: McCoy EW, Chongpeepien T (eds) *Bivalve mollusc culture research in Thailand*. Department of Fisheries, Bangkok, ICLARM Technical Reports **19**, pp 88–101

-U-

Uguz C., Iscan M., Ergu A., Belgin I.V. & Togan I., 2003. The bioaccumulation of nonyphenol and its adverse effect on the liver of rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). *Environmental Research*. Vol. **92**: 262–270.

-V-

Vaissaire et Fredj, 1963. Contribution à l'étude de la faune benthique de plateau continental de l'Algérie. *Bull. Inst. Oceonogr. Monaco*, 60: 38p; 5cartes.

Valavanidis A., Vlahogianni T., Dassenakis M., Scoullos M., 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicol Environ Saf* 2006; 64:178-189.

Valenzuela N., Adams D.C., Janzen F.J., 2003. Pattern does not equal process: exactly when is sex environmentally determined? *Am Nat* 161:676–683

Valli G., Cerneca F. & Ferraantelli N., 1975. Caratteristiche dell'accrescimento e del periodo riproduttivo in un allevamento sperimentale di *Mytilus galloprovincialis* Lam., Bolletino di Pesca. Piscicoltura e Idrobiologia, 30, 2, 299-313.

Van der Oost R., Beyer J., & Vermeulen N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13, 57-149

Veith G.D., Defoe D.L. et Bergstedt B.J., 1979. "Measuring and estimating the bioconcentration factor of chemicals in fish." *J. Fish. Res. Bd. Can* 36: 1040-1048.

Viarengo A., 1989. Heavy metals in marine invertebrates: mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. *Aquat. Sci.* 1: 295-317.

Viarengo A., Pertica M., Canesi L., Accomando R., Mancinelli G. et Orunesu M., 1989. Lipid peroxydation and level of antioxydant compounds (GSH, vitamin E) in the digestive glands of mussels of three different age group exposed to anaerobic and aerobic conditions. *Mar. Environ. Res.*, 28: 291-295.

Viarengo A., Burlando B., Cavaletto M., marchi B., Ponzano E., Blasco J., 1999. Role of metallothionein against oxidative stress in the mussel *Mytilus edulis*. *Am. J. Physiol.* 277:1612-1619.

Viarengo A., Burlando B., Dondero F., Marro A., Fabbri R., 1999. Metallothionein as a tool in biomonitoring programmes. *Biomarkers* 4(6):455-466.

Viarengo A., Canesi L., Pertica M., Livingstone D.R., 1991. Seasonal variations in the antioxidant defence systems and lipid peroxidation of the digestive gland of mussels. *Compar. Biochem. Physiol.* 100:187-190.

Viarengo A., Canesi L., Pertica M., Livingstone D.R. et Orunesu M., 1991. Age-related lipid peroxydation in the digestive gland of mussels: the role of the antioxidant defense systems. *Experientia*, 47: 454-457.

Viarengo A., Ponzano E., Dondero F., Fabbri R., 1997. A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: an application to Mediterranean and Antarctic molluscs. *Mar. Environ. Res.* 44: 69-84.

Viarengo A., Zanicchi G., Moore M.N., Orunesu M., 1981. Accumulation and detoxication of copper by the mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam: A study of the subcellular distribution in the digestive gland cells. *Aquat. Toxicol.* 4:147-157.

Vidal M-L., Bassères A., Narbonne J-F., 2002b. Seasonal variations of pollution biomarkers in two populations of *Corbicula fluminea* (Muller). Comparative Biochemistry and physiology Part C: Toxicol. Pharmacol., 131: 133-151.

-W-

Wang W.X. & Fisher N.S., 1996. Assimilation of trace metal elements and carbon by the mussel *Mytilus edulis*: effects of food composition. *Limnol. Oceanogr.*, 41, 2, 197-207.

Wang W-X. et Fisher N. S., 1997. "Modeling the influence of body size on trace element accumulation in the mussel *Mytilus edulis*." *Mar. Ecol. Prog. Ser* **161**: 103-115.

Wang W-X. et Fisher N. S., 1997a. "Modeling metal bioavailability for marine mussels." *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **151**: 39-65.

Wang W-X. et Fisher N. S., 1998a. "Accumulation of trace elements in a marine copepod." *Limnol. Oceanogr.* **43**: 273-283.

Wang W-X. et Fisher N.S., 1999. "Delineating metal accumulation pathways for marine invertebrates." *The Science of the Total Environment* **237/238**: 459-472.

Wang W-X., Fisher N.S. et Luoma S.N., 1995. "Assimilation of trace elements ingested by the mussel *Mytilus edulis*: Effects of algal food abundance." *Mar. Ecol. Prog. Ser* **129**: 165-176.

Weeckbeker G., & Cory J-G., 1988. Ribonucleotide reductase activity abd grouth of glutathione – depleted mopuse leukameia L 1210 cells *in vitro*. *Cancer Letters*, 40, 257, 264.

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, p: 624 - 631.

Widdows J. et Donkin D., 1992. Ecology, physiology, genetics and culture. In *Gosling E. (Ed) The mussel Mytilus : Elsevier, Amsterdam*, : pp. 383-424.

Wilkinson K.J., Bertsh P.M., Jagoe C.H. et Campbell P.G.C., 1993. "Surface complexation of Al on isolated fish gill cells." *Environ. Sci. Technol.* **27**: 1132-1138.

Wilkinson K.J., Campbell P.G.C. et Couture P., 1990. "Effect of fluoride complexation on aluminium toxicity towards juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)." *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **47**: 1446-1452.

Wilson J.h. & Seed R., 1974. Reproduction in *Mytilus galloprovincialis* LmK (Mollusca : Bivalvia) in Carlinh Ford Lough, Northern Ireland. Irish Ficheriers Investigation, Series B (Marine), 15 :30 p.

Wilson J-H., 1977. The growth of *Mytilus edulis* from Calingford Lough. *Irish Fisheries Investigations. Serias B : Marine* 17 :1 – 15.

Wlostowski T., 1992. On metallothionein, cadmium, copper and zinc relationships in the liver and kidney of adult rats. *Comp. Biochem. Physiol.* 103C (1) : 35-41

Wong W.H., Cheung S.G., 1999. Feeding behavior of the green mussel, *Perna viridis* (L.): responses to variation in seston quantity and quality. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 236:191–207

-X-

X., 2003. Minitab software statistique, version 14.1 pour windows.

-Z-

Zaouali J., 1973. Note sur la présence de *Perna perna* (L), *Mytilus africanus* (Chemnitz) dans la région de Bizerte (Tunisie). Etude comparative du peuplement. *Bulletin de l'Institut National Scientifique et Technique d'Océanographie et de Pêche, Salamboo*, 2 (4) : 637 – 642.

Zaranko D.T., Griffiths R.W. et Kaushik K., 1997. "Biomagnification of polychlorinated biphenyls through a riverine food web." *Environ. Toxicol. Chem.* 16(7): 1463-1471.

Zardi G.I., McQuaid C.D., Nicastro K.R., 2007. Balancing survival and reproduction: seasonality of wave action, attachment strength and reproductive output in indigenous *Perna perna* and invasive *Mytilus galloprovincialis* mussels. *Marine Ecology Progress Series* 334, p. 155–163.
www.int-res.com

Zhu Z., DeRose E.F., Mullen G.P., Petering D.H., Shaw C.F., III. 1994. Sequential proton resonance assignments and metal cluster topology of lobster metallothionein-1. *Biochem.* 33: 8858-8865.

ANNEXE

ANNEXE

1. Préparation des solutions en métaux lourds avec diverses concentrations:

⊕ Préparation des solutions de Cd ($\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) à 50, 100 et 200 μg Cd/l :

- ✓ Solution mère de $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ à 100mg Cd/l : dissoudre 0.31g de CdSO_4 dans 1l d'eau distillée au QSP.
- ✓ Solution fille de $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ à 50 μg Cd/l : prélever 1.75ml de la solution mère et compléter jusqu'à 3.5litres avec de l'eau de mer.
- ✓ Solution fille de $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ à 100 μg Cd/l : prélever 3.5ml de la solution mère et compléter jusqu'à 3.5litres avec de l'eau de mer.
- ✓ Solution fille de $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ à 200 μg Cd/l : prélever 7ml de la solution mère et compléter jusqu'à 3.5litres d'eau de mer.

⊕ Préparation des solutions de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ à 10, 15 et 30 μg Cu/l :

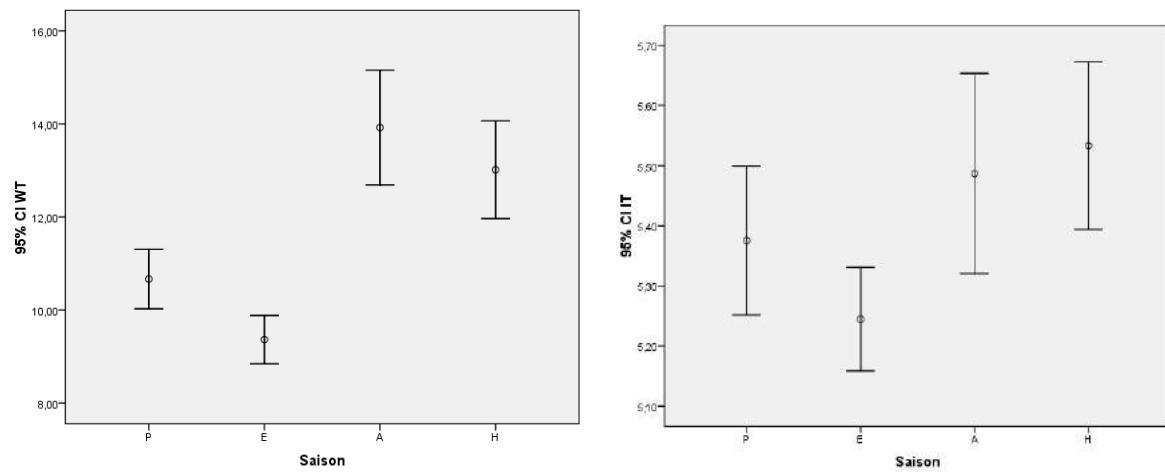
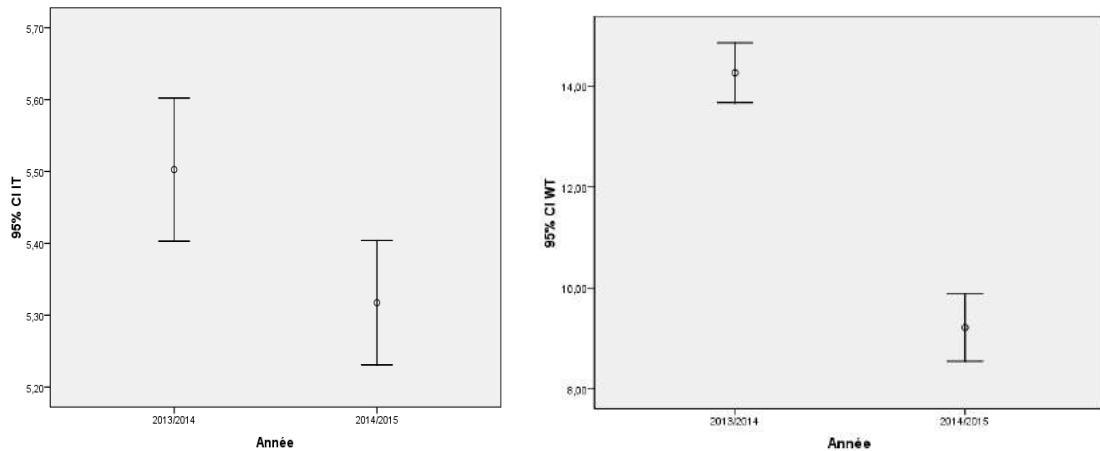
- ✓ Solution mère 1 de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ à 100mg Cu/l : dissoudre 0.39g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dans 1l d'eau distillée au QSP.
- ✓ Solution mère 2 de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ à 10mg Cu/l : prélever 100ml de la solution mère 1 et compléter jusqu'à 1litre d'eau distillée.
- ✓ Solution fille de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ à 10 μg Cu/l : prélever 3.5ml de la solution mère 2 et compléter jusqu'à 3.5litres avec de l'eau de mer.
- ✓ Solution fille de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ à 15 μg Cu/l : prélever 5.25ml de la solution mère 2 et compléter jusqu'à 3.5litres d'eau de mer.
- ✓ Solution fille de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ à 30 μg Cu/l : prélever 10.5ml de la solution mère 2 et compléter jusqu'à 3.5litres d'eau de mer.

⊕ Préparation des solutions de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ à 0.25, 0.5 et 1 μg de Pb/l:

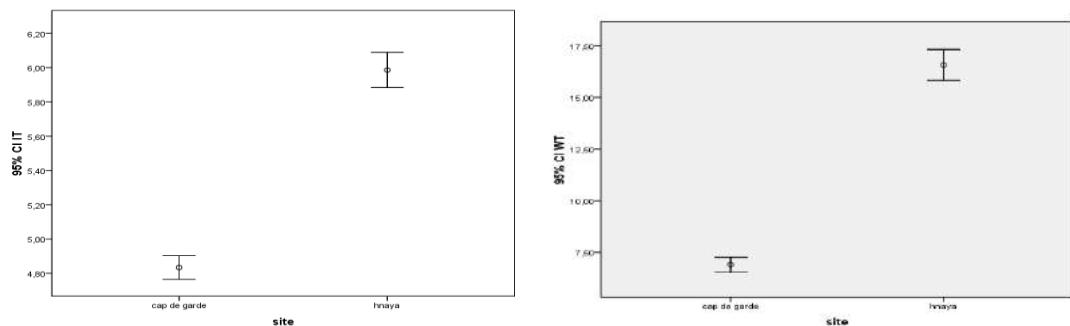
- ✓ Solution mère 1 de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ à 100mg Pb/l : dissoudre 0.16g de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ dans 1l d'eau distillée au QSP.
- ✓ Solution mère 2 de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ à 10mg Pb/l : prélever 100ml de la solution mère 1 et compléter jusqu'à 1litre d'eau distillée.
- ✓ Solution fille de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ à 0.25 μg Pb/l : prélever 0.0875ml de la solution mère 2 et compléter jusqu'à 3.5litres avec de l'eau de mer.
- ✓ Solution fille de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ à 0.5 μg Pb/l : prélever 0.175ml de la solution mère 2 et compléter jusqu'à 3.5litres d'eau de mer.
- ✓ Solution fille de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ à 1 μg Pb/l : prélever 0.35ml de la solution mère 2 et compléter jusqu'à 3.5litres d'eau de mer.

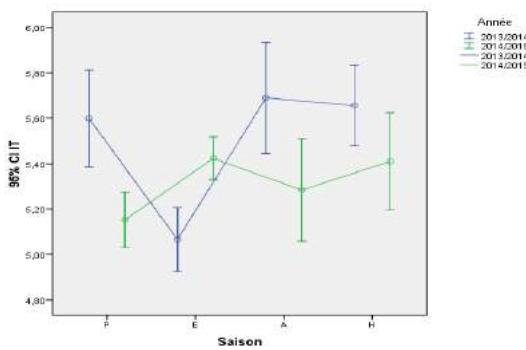
2. Analyse statistique

Effet années :

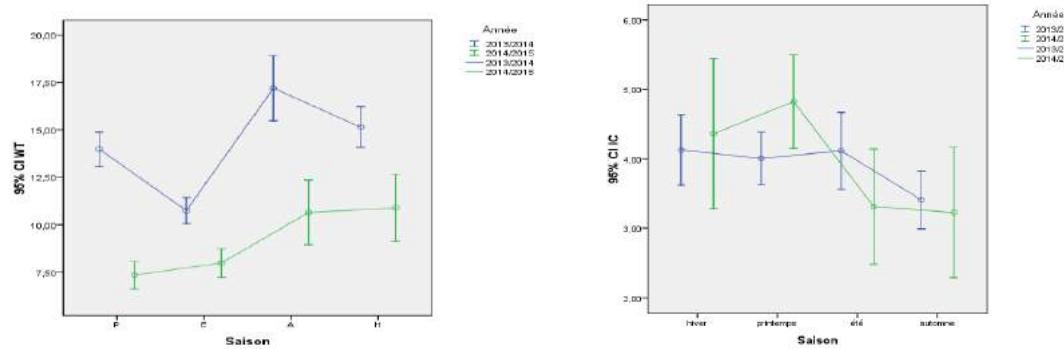


Effet sites : hnaya et plus important que cap de garde pour Lt et wt

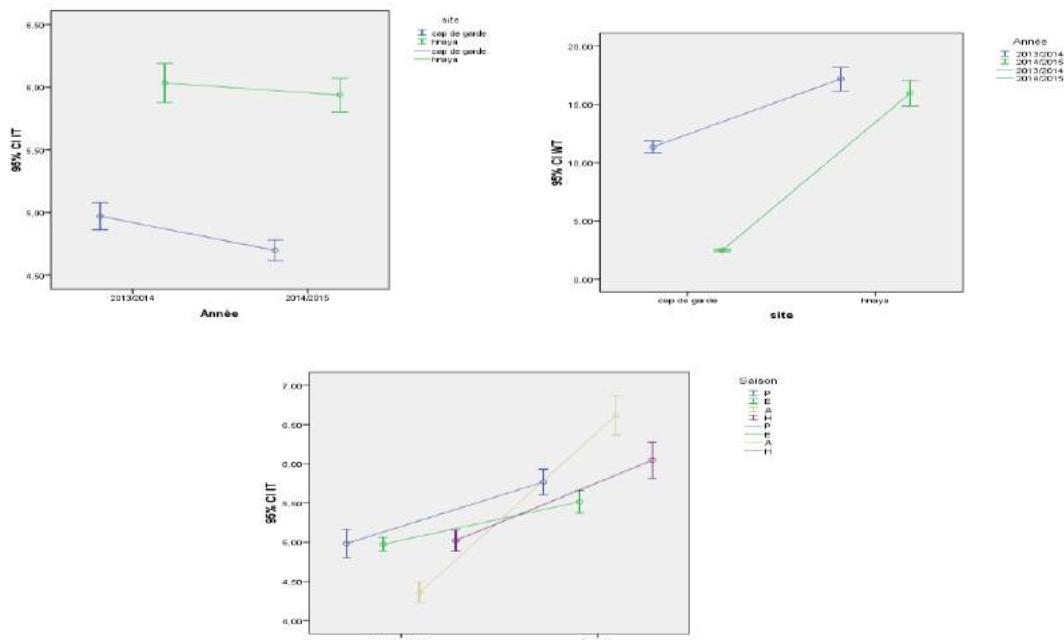




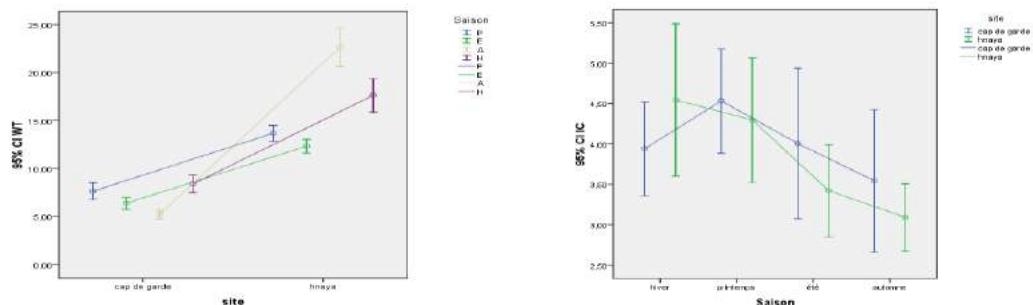
Effet années+saisons :



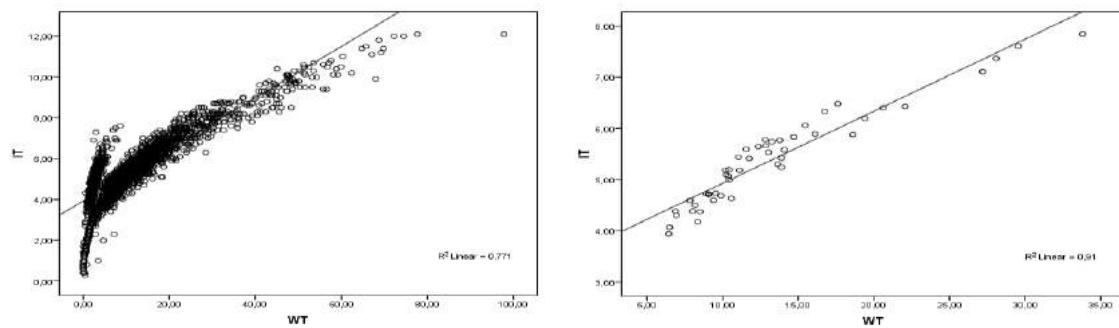
Effet années+sites :



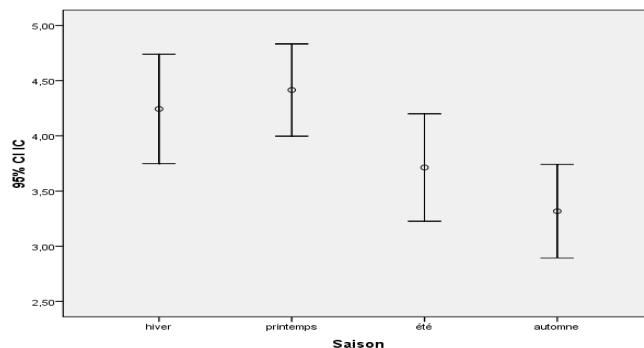
Effet saisons+ sites :



Relation Lt – Wt :



Effet saisons IC :



Comparaison entre les 2 sites Cap et Lahnaya:

Test Wilcoxon-Mann-Whitney :

Variables	P	signification
IC.50.	< 2.2e-16	***
Lt	< 2.2e-16	***
La	< 2.2e-16	***
Ep	1.567e-13	***
Wt	< 2.2e-16	***
Chll a	5.326e-07	***
DO	1.02e-10	***
SM	1.203e-12	***
SS	1.991e-13	***
temp	0.05862	NS
SR	< 2.2e-16	***

« Cycle II »:

Comparaison entre les 2 sites Cap et Hnaya : Test Wilcoxon-Mann-Whitney

Variables	P	signification
IC.50.	0.7581	NS
Lt	2.2e ⁻¹⁶	***
La	2.2e ⁻¹⁶	***
Wdf	2.2e ⁻¹⁶	***
Wf	2.2e ⁻¹⁶	***
Ep	2.2e ⁻¹⁶	***
Wshell	2.2e ⁻¹⁶	***

Wt	2.2e ⁻¹⁶	***
Chl a	0.1856	NS
DO	0.8874	NS
SM	0.8397	NS
SS	0.3682	NS
temp	0.5368	NS

Tableau : Corrélation pour les biomarqueurs

Corrélations positives			Corrélations négatives		
significative	hautement	très hautement	significative	hautement	très hautement
	significative	significative		significative	significative
		*GSH G & GSH Br *GST Br & GST G	GST G et O2	*GST Br et O2 *S% & pH	pH & MES
		pH et O2			
			temp et O2		



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Study of weight gain and reproduction in the *Perna perna* mussel using a standard animal

Kerdoussi Asma*, Belhaouas Saber, Bensaad-Bendjedid Lamia, Touati Hassen, Bensouilah Mourad

Laboratory of Ecobiology for Marine Environment and Coastlines, Faculty of Science Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria

Key words: *Perna perna*, Weight gain, Standard animal, Reproduction, Gulf of Annaba

<http://dx.doi.org/10.12692/ijb/11.6.218-230> Article published on December 30, 2017

Abstract

This study aims to establish a link between weight variation of the brown mussel *Perna perna*, condition index and the environmental parameters. In order to eliminate the effect of growth on the weight variation, a standard sized animal of about 60 mm, was used. Random sampling of mussels and seawater was conducted once a month, from two sites in the Gulf of Annaba (Algeria), over an annual cycle. Growth parameters were determined by reference to shell length, fresh and dry mass tissue weight, as well as shell and total weight. Temperature, dissolved oxygen, salinity, chlorophyll *a* and suspended matter were recorded at each site. The results show that, the CI variation in the SI is a function of weight, which is itself a function of the sexual stage as well as the availability of food (especially chlorophyll-a and suspended matter). The period of the maximum of gain weight corresponds with the increases in the condition index and was associated with high concentrations of chlorophyll-a and suspended matter, recorded during the spring period. This is supported by statistical analysis showing a significant correlation. *Perna perna* has two spawning periods, one in the autumn and one in winter. The knowledge of the reproductive cycle and environmental parameters that could influence them may constitute a basic data, necessary not only for any commercial exploitation of this mussel species, but for its use as bio-monitoring as well. Such monitoring assures a qualitative analysis of shellfish aquaculture products and helps to choose mussel cultivation sites.

*Corresponding Author: Kerdoussi Asma ✉ asma_kerd@yahoo.fr

Introduction

The rapid population growth in coastal communities has all the more exerted increasing pressure on the productivity of these resources as fishing effort from the artisanal fishing sector has been increasing. A strategy which Algeria could undertake to find alternative economic activities for small-scale, fishermen would be in bivalve farming such as oysters and mussels. These mollusks are easy to farm; they are nutritious food items and with proper management and direction of bivalve farming development programmes, the product could be a source of protein and essential nutrient. Among the species of bivalves harvested from the wild in the North East of Algerian Coastline include the mussel *Perna perna*.

Bivalve growth depends on the environmental quality; due to the rapid growth rates of mussels, these organisms are well suited for culture on a commercial scale in subtidal biotopes (Rivonker *et al.*, 1993; Rajagopal *et al.*, 2006). By definition, growth comes to be known as the measure of the increase in size and weight of individual according to time and environmental variables. Bautista (1989) has indicated that mussel growth is a function of a number of environmental parameters, mainly food and temperature. The environment influences the somatic and reproductive tissue growth of marine bivalves both directly and indirectly (Griffiths and Griffiths, 1987; Lodeiros and Himmelman, 2000). In given mussels population, the weight dynamics is closely linked to the reproductive activity of individuals (Seed, 1973). Bouhaimi *et al.*, (2000) reported that different parameters of growth show variations being closely related with different phases of the reproductive cycle, either for *M. galloprovincialis* or *Perna perna*. According to Barillé (1996), temporary accumulation of reserves are converted into gametes, and then expelled in the environment in order to ensure fertilization, induce a sudden loss and slowing down of weight, or even the halt of growth. This author suggests separating these two processes, in order to determine precisely the influence of the environmental constraints' either on growth or reproduction. In this sense, Baird (1958) stressed that in order to compare the condition of

samples of mussels "the mussels should be of approximately the same size". From individual condition index measurements, Baird showed a curvilinear relationship between length and condition in *Mytilus edulis*, with optimum condition at between 50 and 60 mm length. According to Hilbish (1986), temporal variations of standard animal weight reflect changes in productivity and fertility of individuals.

Biology and dynamic population study of bivalves species presents undeniable scientific interest; the knowledge of their reproductive cycle and environmental parameters that could influence them, may constitute a basic data necessary not only for any commercial exploitation of this given mollusk, but for its use as bio-monitoring as well. In Algeria, the reproduction as well population structure has been carried out by Abada-Boudjema (1981) and Boukroufa (1987) at Bordj El Kiffan, also by Chaoui (1993) in Annaba Gulf. At present, this species is used as indicator in the coastal water quality monitoring (Belabed *et al.*, 2007; Belabed *et al.*, 2013; Khatti *et al.*, 2007; Khatti *et al.*, 2012 ; Kadri *et al.*, 2015).

The aim of this study is to firstly follow the weight growth (total weight, weight of fresh flesh, dry flesh and shell weight) and condition index of standard size animal (60mm) and secondly, to identify the effect of some environmental factors on the parameters mentioned above. Such monitoring assures a qualitative analysis of shellfish aquaculture products during the biological cycle and helps to choose mussel cultivation sites.

Material and methods

Study Area

Random sampling was conducted in brown mussel from natural beds at the Gulf of Annaba, Algérie. The two sampling sites are the Cap de Garde ($36^{\circ}58'50.335''$ N and $7^{\circ}47'8.056''$ E) and Lahnya ($36^{\circ}53'6.59''$ N and $8^{\circ}4'8.70''$ E). The currents over Annaba Gulf present circulation oriented from west to the east with fluctuating speeds according to the seasons and reaching around 0.5 to 1m/s. This current starts from South East side of Cap de Garde to the Mafragh River (Fig. 1).



Fig. 1. Study area; sampling sites (S1: Cape of Guard and S2: Lahnya (Google earth, 2017 modified).

The study was carried out for twelve months from January 2010 to December 2010, and samplings of mussels and seawater were conducted once a month.

Environmental variables

Multi-parameters environmental sensor (Consort 535) was used to measure the in situ environmental parameters which included temperature (Temp; °C), salinity (SS; g.L⁻¹) and dissolved oxygen (DO; mg.L⁻¹) at 0.5m below the water surface.

The chlorophyll-a (Chll-a; µg.L⁻¹) was extracted in 90% acetone, after pre-filtration of seawater samples through 200 to 250µm pore size membrane filters to remove large particulate matter and zooplankton. A second filtration was carried out on GF/C 0.45 µm filters (WHATMAN) then followed by absorbance determination at two wavelengths (665 and 750µm) before and after acidification. Thereafter, the chlorophyll-a concentration was calculated according to monochromatic method of Lorenzen (1967).

To determine the content of the suspended matter (SM; mg.L⁻¹), the seawater samples were filtered on pre-weighed GF/C 0.45 µm filters (WHATMAN). Subsequently, the GF/C 0.45 µm filters (WHATMAN) were dried in an oven (100°C for 24h) before final weighing to estimate the total suspended matter according to differential weighing method of Aminot and Chaussepied (1983).

Mussel's treatment

Fifty mussels of different size were collected monthly from two sites, and then transported in isothermal containers to laboratory, where they were sorted and cleaned of encrusting organism. For each harvested mussel, the morphometric and weight measurements including shell length (SL; mm; anterior-posterior axis), total weight (Wt; g; whole body weight) and a weight of the different components (shell weight (SW; g), wet flesh weight (Wf; g) and the dry flesh weight (DWf; g)) were carried out to the nearest 1/20mm and 0.01g, using a vernier caliper and an analytical balance (Kern 440-33) respectively.

Each weight per mussel in each monthly sample at each site was related and plotted against shell length.

The relationship of $W=aL^b$ (W = weight (g); L = length (mm); a = condition factor; b = growth coefficient) was used to establish the length-weight relationship (Quinn and Deriso, 1999) and then to calculate monthly weight changes in different component for standard-sized individuals (60mm). At this size (60mm), individual intend the most of products that it synthesize for reproduction. Indeed, for young individual, the greatest part of energy is intended for their somatic growth (Parache, 1983).

Dry weight variation of a standard individual check out the principle according to which, the dry flesh weight fluctuations essentially depends on the maturity degree of genital organs.

The regression coefficients and b have been estimated by the method of least squares after linearization (logarithmic transformation). The linear function is then:

$$\log Y = \log a + b \log X$$

The report of the parameters and b is determined by the linear regression, while the correlation rank inter-variables have been established by calculating of determination coefficient R².

The purpose of the biological cycle study of the given species is to determine the outstanding phenomena that occur during this cycle, such as the growth or reproduction.

The condition index gives us a clear idea about physiological condition of the individuals in a given population (Bodoy and Massé, 1979; Bodoy, 1980; Lucas and Beninger, 1985). And permit estimation of the organic matter part emanated during the reproduction (Bodoy and Massé, 1979). According to Pellerin-Massicotte (1994), it is also an indicator of general stress and physical condition of organisms.

The index chosen within the framework of this study is that proposed by Phernambucq and Vroonland (1983) and demonstrated by Bodgy *et al.*, (1986); it will allow us to follow the steps of the gametogenesis and gametes emission periods; Condition index (CI) of brown mussel was calculated from the ratio of dry flesh weight (DWf)/ total weight (Wt):

$$CI = (DWf / Wt) \times 100$$

The improvements in accuracy and speed of measurements which are possible with the CI method permit quite large samples of mussels to be evaluated individually, with a high degree of precision.

Statistical analysis

The statistical analysis of data was performed using the software R (for Windows, Version 3.3.2); prior to analyses, all variables were tested for normality and homogeneity of variances (Test of Shapiro-Wilk).

Relationship between growth parameters and five hydrographic parameters was investigated by using performing a Spearman rank correlation procedure.

Regarding the inter-station comparisons, the non-parametric test of Wilcoxon-Mann-Whitney was applied on all measured parameters.

Results

The total weight of the standard individual (SI) fluctuates between 13 and 18g at the Cap de Garde mussels (an average of about 15.50g) and between 12 and 15g at those of Lahnaya (either on average 13.67g). At the Cap de Garde, the total weight of the SI shows peaks in January (17g), May (16g) and August (18g). At Lahnaya, the Wt of the SI shows two peaks in February (16g) and in June (14.5g) (Fig. 2a).

The evolution of the Wt shows a very significant difference between Cap de Garde individuals and those of Lahnaya ($p = 0.003$).

Regarding shell weight, Values oscillate between 9.6 and 11.6g (average weight = 10.31g) with a peak in October for mussels collected in Cap de Garde and from 7.5 to 10.5g (average weight = 8.95g) with three peaks close to 10 in February, June and August for the mussels of Lahnaya (Fig. 2b).

A very highly significant difference ($p < 0.001$) was recorded in the evolution of mussels shell weight collected from the both sites.

The fresh flesh weight of SI shows variation from 3 to 5.5g in the Cap de Garde (for an average weight of 4.23g); the values fluctuate between 3.5 and 4.5g except for the rise of December and January (5.45g) and the decrease in March (2.91g). At Lahnaya, this weight fluctuates between 3 and 4.5g (with 3.67g as average weight); it lies between 3.5 and 4.5g from February to October and falls to 3g between November and January (Fig. 2c).

The SI fresh flesh weight of the Cap de Garde and Lahnaya mussels showed a significant difference ($p=0.04$) in values evolution between both sites.

Significant positive correlation ($r \geq 0.59$; $p = 0.041$) at Lahnaya and very significant ($r \geq 0.80$; $p = 0.0014$) at the Cap de Garde was recorded between total weight and fresh flesh weight of SI.

In both sites, the dry flesh weight of the SI shows important fluctuations which varies from 0.3 to 0.8g (for an average weight of 0.54g) for mussels of Cap de Garde and from 0.3 to 0.7g (either an average weight of 0.51g) for those of Lahnaya.

The values recorded to the mussels collected from the Cap de Garde are more often between 0.5 and 0.7g except for the peak of May and the heavy decrease of February, March and September.

As regards with the dry flesh weight of Lahnaya mussels, it oscillates between 0.6 and 0.75g from February to May, decreases and remains close to 0.55g from June to August. Subsequently, it shows a second fall up to 0.4g from September to November, to finally reaching its minimal value (0.3g) in December and January (Fig. 2d).

No difference was found between the both sites, regarding the evolution of the weight of SI dry flesh weight.

The SI condition index (CI) of *Perna perna* mussel ranged from 2 to 4.9 with a mean (\pm SD) of 3.49 ± 0.81 at the Cap de Garde and from 2.5 to 5.2 (a mean (\pm SD) of 3.75 ± 0.93) at Lahnaya.

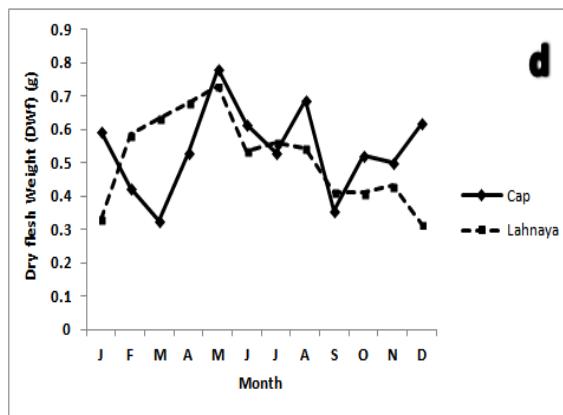
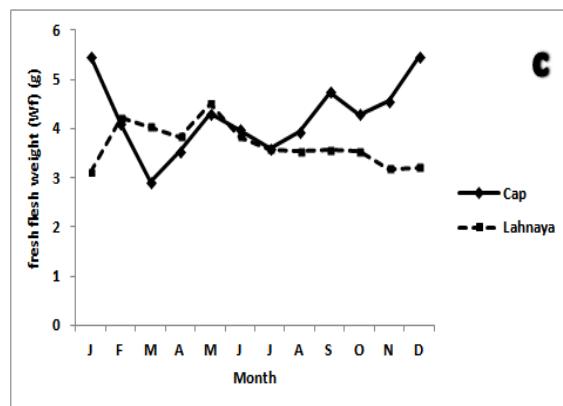
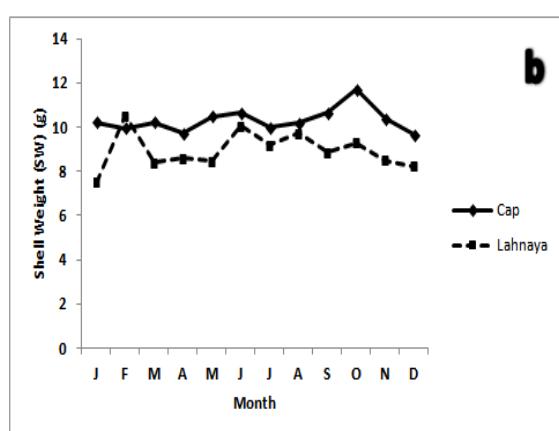
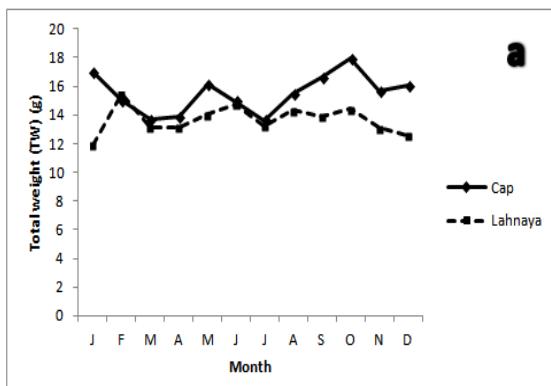


Fig. 2. Monthly evolution of different weights of the Standard Individual (a: total weight (Wt); b: shell weight (SW); c: fresh flesh weight (Wf); d: Dry flesh weight (Dwf)).

Mussels of Cap de Garde show that their CI fluctuates between 4 and 5 from April to August and between 3 and 4 from October to December, except for low values recorded in March (2.39) and in September (2.14). For mussels belonging Lahnaya, the values of CI are close to 5 from March to May, then decrease to 4 from June to August and 3 from September to November. Subsequently, it records values lower than 3 in December-January (Fig. 3).

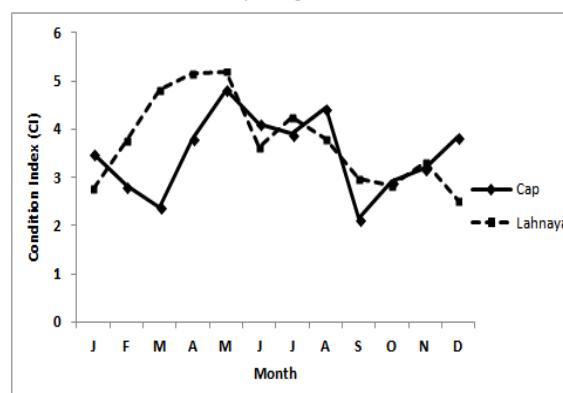


Fig. 3. Monthly evolution of the standard individual condition index (CI).

The Wilcoxon-Mann-Whitney test applied for comparison of CI raised in both sites does not show a significant difference. However, a very highly significant positive correlation (<0.001) was noted between the condition index and the dry flesh weight of SI collected in both sites of study.

Table 1. Monthly values of the environment parameters of seawater recorded in the site 1 (Cap de Garde) and the site 2 (Lahnaya).

Month	Chll-a		SM		DO		SS		Temp	
	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2
January	74.76	0	0.217	0.024	7.4	5.05	37.2	36.5	15	13
February	0	0	0.238	0.218	10.09	11.7	40.3	39.7	18	7
March	0	0	0.203	0.22	10.2	11.1	39.8	39.8	13	7
April	192.24	10.68	0.237	0.275	5.4	0.6	37.4	36.5	13	17
May	104.13	26.7	0.024	0.109	5.21	6.2	38.01	37.8	26	18
June	24.03	0	0.024	0.23	5.2	7	39.2	37.6	26	26
July	202.92	72.09	0.244	0.254	5.04	5.9	40.4	39.8	26	26
August	165.54	42.72	0.225	0.035	5.56	5.7	35.6	36	28	26
September	10.68	8.01	0.02	0.197	5.72	8.67	39.6	36.5	26	18
October	16.02	50.73	0.04	0.122	6.3	8.6	35.9	36.5	12	17
November	4	13.35	0.033	0.045	7.75	5.02	36.5	36.4	12	13
December	0	0	0.226	0.028	7.46	4.96	37.3	36.4	15	13

Temperature ranged between 12 and 28°C (average temperature = 19.16°C) in the Cap de Garde and from 7 to 26°C (average temperature = 16.75°C) at Lahnaya. Salinity values varied between 35.6 and 40.4 g/l (average salinity = 38.10 g/l) in the Cap de Garde and between 36.4 and 39.8 g/l (average salinity= 37.45) at Lahnaya. Dissolved oxygen levels fluctuate between 5.04 and 10.2 mg/l (with an average of 6.77 mg/l) in the Cap de Garde and between 4.96 and 11.7 mg/l (average content = 6.7 mg/l) at Lahnaya. In the Cap de Garde, the content of suspended matter range from 0.02 to 0.24 mg/l (an average of 0.144 mg/l) and in Lahnaya, they vary from 0.02 to 0, 27 mg/l (average of 0.146 mg/l). Recorded chlorophyll-a content shows fluctuations between 0 and 202.9 µg/l (average of 66.19 µg/l) in the Cap de Garde and between 0 and 72 µg/l (average of 18.69 µg/l) at Lahnaya.

The environmental parameters measured in this study do not show any significant difference between the both sites. However, the matrix of Spearman correlation established between environment settings and those of the growth in each study site, allows us to include the maximum of data and set at best, the type and amplitude of correlations.

Environmental factors

The spatio-temporal variations of the seawater parameters recorded throughout the sampling period are summarized in table 1.

At the Cap de Garde, the SI condition index (CI) correlates positively with chlorophyll-a ($r = 0.62$; $p < 0.05$) and negatively with dissolved oxygen ($r = 0.68$; $p < 0.05$).

Suspended matter and the weight of shell, show a negative correlation very highly significant ($r = 0.85$; $p < 0.001$). Regarding salinity and temperature, no significant correlation was recorded with none of weight parameters.

However, these are the suspended matter at Lahnaya, which seems to be the most associated with the weight variables; a significant correlation is recorded between suspended matter and dry flesh weight ($r = 0.60$; $p < 0.05$), the weight of fresh flesh ($r = 0.65$; $p < 0.05$) and condition index ($r = 0.58$; $p < 0.05$).

Positively correlated with suspended matter ($r = 0.61$; $p < 0.05$), the salinity seems to have effect on the evolution of the fresh flesh weight; we note, in fact, a highly significant positive correlation between these two parameters ($r = 0.75$; $p < 0.01$).

We note a positive correlation ($r = 0.68$; $p < 0.05$) between the level of dissolved oxygen and the evolution of the SI total weight.

Discussion

Reproduction and growth performance of the brown mussel (*Perna perna*) in a coastal marine environment can be affected by many factors, including environmental change, pollution, disease outbreaks, physiochemical, hydrodynamic, food, predation, and competition for space.

Askew (1972) and Utting (1986), showed that several factors influence the rate of weight gain and linear growth in bivalves, such as the physical and nutritional status of the environment, besides the physiological (Bayne *et al.*, 1999) and genetic parameters of bivalves (Newkirk, 1980; Gaffney, 1988; Hedgecock *et al.*, 1996).

Changes in total weight (Wt) and fresh flesh weight (Wf) of the SI differ very significantly between the two study sites, whereas changes within each site show a positive correlation ranging from significant ($p = 0.04$) to very significant ($p = 0.001$) respectively at Lahnaya and the Cap de Garde sites. This can be explained by the fact that a loss of weight suffered during the biological cycle of the animal is compensated for by intravalvular water (for Wt) and by the occupation of tissues by sexual cells or reserves and water (for Wf).

Therefore, neither of these weight parameters really reflects the state of growth of the tissues, which leads us to conclude that these weights are not reliable predictors of weight variations related to reproduction, as demonstrated by Aloui-Bejaoui *et al.*, (2002).

Nor is total weight a reliable predictor of commercial quality. If we consider the entirety of the biomass produced, it does provide a good indication of productivity for shellfish farming, but it does not provide an indication of the exact proportion of tissue mass compared to the rest of the animal. The same results have been reported for the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* in the Bizerte lagoon in Tunisia (Aloui-Bejaoui *et al.*, 2002).

Several authors have highlighted the value of studying dry flesh weight (DWf) when estimating the weight changes of *Mytilus edulis* (Brown *et al.*, 1976; Rodhouse *et al.*, 1984; Hilbish, 1986; Barillé, 1996), of *M. galloprovincialis* (Ceccherelli and Rossi, 1984; Naciri, 1998; Aloui-Bejaoui *et al.*, 2002) and of *Perna perna* and *Perna viridis* (Garcia *et al.*, 2016), as well as when monitoring the reproductive cycle represented by the condition index of *Perna picta* (Shafee, 1989) and *Perna canaliculus* (Hickman and Illingworth, 1980). The variations of dry flesh weight for a standard individual accord with the principle that weight fluctuations depend mainly on the degree of maturity of the gonads, and thus have the advantage of explaining a gain or loss of weight in organic terms, without taking into account either variations of weight relating to linear growth, or the volume of water retained by the animal during its biological cycle.

In the present study, changes in DWf show no significant difference between the two sites under consideration. However, this weight does vary considerably according to the phase of the sexual cycle, itself depending on local environmental conditions, which would explain the very highly significant positive correlation noted between DWf and CI at both study sites. A similar finding was also reported by Hickman and Illingworth (1980), who showed that the CI reduction results from an increase in the contents component combined with a decrease in the dry flesh component.

The period of maximum fattening extends from May until August for the mussels at the Cap de Garde, and from March to May for the mussels at Lahnaya. Contrary to what has been found in the present study, Braid (1966), found that highest levels of condition in *Mytilus edulis* in Europe occurred in autumn and winter, prior to the spring spawning season

This fattening period includes both the resumption phase of sexual activity (gametogenesis and gonadal maturity) and the part of the year when high levels of chlorophyll-a and suspended matter (SM) are recorded.

This correlation between the physiological condition of the individuals and the availability of food has already been highlighted by Naciri (1998), who explains that the fluctuations in DWf of the *M. galloprovincialis* mussel (standard animal of 40 mm) may be due to several factors such as the growth of the tissue mass and the shell, the formation and emission of gametes, the use of reserves during certain periods of the biological cycle and the availability of food in the environment. Aloui-Bejaoui *et al.*, (2002) report that temperature, and phytoplankton biomass represented by the levels of chlorophyll-a, play an important part in explaining the increase in weight of the standard animal of the *Mytilus galloprovincialis* mussel in the Bizerte lagoon in Tunisia. According to these authors, temperature and chlorophyll-a content explain both the variation in fresh flesh weights and in dry flesh weights only. These two parameters have an impact on tissue growth, itself largely influenced by the reproductive cycle, which interferes markedly with somatic weight increase (Parache and Massé, 1987).

Lubet (1973) notes, that the very substantial *M. galloprovincialis* biomass in the Adriatic and the Atlantic Ocean is due to the abundance of phytoplankton in these environments. The study results of Garcia *et al.*, (2016) showed that the growth rate of *Perna perna* and *Perna viridis* grown on ropes in the gulf of Cariaco in Venezuela was related to environmental factors, in particular the influence of food and temperature. These two parameters also appear among the main environmental parameters cited by Héral *et al.*, (1987) and Seed and Suchanek (1992) including temperature, seston biomass, particulate organic matter and phytoplankton biomass.

Rajagopal *et al.*, (1998) and Alfaro (2006) demonstrated that there is a strong correlation between the availability of food and the density of green mussels; but the chlorophyll-a measurement is not enough on its own to show the exact significance of food availability as a factor in the growth of bivalves, given their selective feeding behavior (Ren *et al.*, 2000; Rouillon and Navarro, 2003). This was demonstrated and confirmed by Mohd-Taib *et al.*, (2016), Garcia *et al.*, (2016) and Soon *et al.*, (2016).

In mussels deprived of a supply of food, Cherifi *et al.*, (2015) noted a significant decrease in the condition index after 10 days. However, in specimens fed with powdered *Ulva intestinalis* seaweed, mass was observed to be maintained. In the present study, contrary to what was found by Aloui-Bejaoui *et al.*, (2002), the influence of the chlorophyll-a content on the weight of dry flesh (DWf) was greater than that of the temperature. This accords with the results of Kautsky (1982) on *Mytilus edulis* in the Baltic. He indicated that the abundance of food was the primary factor controlling gonad growth, and that this was linked to a probable adaptation of mussels to the low temperatures of the Baltic. In the present study, the influence of temperature is indirect; this parameter acts in combination with other environmental factors such as dissolved oxygen and salinity. Hickman and Illingworth (1980), show a correlation between the mean level of condition in mussel populations and the latitude (and water temperature) at which they occur. Data from a variety of species indicates a direct relationship between latitude and condition, and a corresponding inverse temperature/condition relationship. The temperature tolerances of the various species must limit these relationships, but they appear to exist over a wide range of latitudes for several mussel species. In this sense, Lubet (1981) specified that weight gain is influenced by, amongst other factors, the temperature, which has a direct action on the kinetics of gametogenesis, resulting in competition between the somatic and germinal compartments, inducing a significant weight gain. This author also showed that the temperature acts indirectly on the primary productivity of the environment and the availability of the food and consequently, on the nutrition of the bivalve.

Salinity cannot have a direct effect on growth, according to Seed and Suchanek (1992), unless low salinities create a nutrient-poor environment. On this subject, Arnaud (1966) noted that only a salinity lower than 15 g/L has an effect on the growth of mussels, linear growth in particular. Soon *et al.*, (2016) reported for the *Perna viridis* mussel that a low condition index corresponded to relatively lower salinity. Salinity has been positively associated with the filtration rate (Rajesh *et al.*, 2001) and condition index (Navarro, 1988) of marine bivalves.

Consistent with this result, salinity was positively correlated with the fresh flesh weight (Wf), itself positively correlated with the CI of the standard individual.

Regarding the change in shell weight (SW), very highly significant differences ($p=0.000$) were recorded between the two study sites; the SW of the Cap de Garde mussels shows a very highly significant negative correlation with suspended matter.

The standard individual being of fixed size, the increase observed in October in the Cap de Garde mussels and in February at Lahnaya can only reflect a thickening shell following peak levels of suspended matter and chlorophyll-a that had been noted during the previous months.

According to Sato (1994), the nutrient wealth of the environment promotes, in the tissues of the oyster, the accumulation of energy reserves necessary for somatic tissue growth and for the synthesis of CaCO_3 for shell growth. Kim *et al.*, (2016) showed that the rise of CO_2 concentrations in seawater influences the process of calcification responsible for formation of the larval shell of the clam *Mactra veneriformis*. Thus, organisms which use CaCO_3 to form their shells are sensitive to CO_2 concentrations in the water.

In oysters, as in other species of bivalves, the storage of metabolites is closely related to the stages of the sexual cycle. Storage tissue (vesicular cells) represents an important energy reservoir, which is exhausted during the sexual activity period of the animal (Berthelin *et al.*, 2000).

The CI reflects the physiological condition of the living organism. The annual variation of this index provides us with an idea of the gonad state and the progress of the reproductive cycle of *Perna perna* and may determine the period of emission of gametes (spawning).

An evaluation of the condition index of *P. perna* mussels in the Gulf of Annaba shows that this index is much better in the spring. These values are explained not only by the probable occurrence of phytoplankton blooms, and thus food availability, but also the

attainment of optimal physiological temperatures, enabling greater metabolism of products of digestion. This increase in the condition index coincides with high levels of chlorophyll-a and suspended matter. This finding is supported by the statistical analysis results, which show a significant correlation between these parameters in both study sites.

Urrutia *et al.*, (1999), showed that in a nutrient-rich environment, the surplus of energy may be shared between the somatic growth of tissues and gonad development of the bivalve. According to Hickman and Illingworth (1980), seasonal changes in the condition of *Perna canaliculus* result from complex interactions between a variety of factors, including nutrition, temperature and salinity, on the metabolic activities of the mussel, and particularly on the growth and reproductive processes.

In the present study, reduction of CI in autumn and winter corresponds with partial spawning phases. According to many authors, lower Fig. s for this index occur either following food supply depletion or following spawning which leads to a significant loss of weight (Dorange *et al.*, 1989; Paulet *et al.*, 1992; Barillé, 1996). Similar results, noting the existence of two spawning periods of which one is in the winter, were recorded by Shafee (1989) for *Perna picta* (Morocco) and Mohd-Taib *et al.*, (2016) for *Pernaviridis* (Malaysia). Autumn spawning was reported by Zaouali (1973) in Tunisia, by Zardi *et al.*, (2007) on the south coast of South Africa for *P. perna* and by Soon *et al.*, (2016) for *P. viridis* in Malaysia.

In contrast, only a single spring spawning has been reported for *P. perna* in Algeria (Abada-Boudjema and Moussa, 1981) and for *Mytilus galloprovincialis* in Tunisia (Aloui-Bejaoui, 2002). A summer spawning was reported by Hickman and Illingworth (1980) for *P. canaliculus* in New Zealand and also by Zardi (2007) for *P. perna*, apart from the autumn spawning.

Gosling (1992) reports, after monitoring the sexual cycle of *Mytilus edulis* for several years that gametogenesis and sperm production are highly variable in terms of both time and space.

Conclusion

The mussel *Perna perna* has a sexual cycle that extends throughout the year, with two spawning periods, one in winter and the other in autumn. The period of maximum weight gain for individuals extends from May to August for the mussels at the Cap de Garde, and from March to May for the mussels of Lahnaya. Levels of chlorophyll-a and suspended matter are the environmental factors which have the greatest impact on weight parameters for the standard animal, whilst other factors, such as temperature, dissolved oxygen and salinity, operate in an indirect and combined manner on variations to the tissue mass of the standard animal.

References

- Abada-Boudjema YM, Mouëza M.** 1981. Structure des populations d'une moulière naturelle en baie d'Alger. *Acta Ecologica/Ecología Generalis* **2(2)**, 183-194.
- Alfaro AC.** 2006. Population dynamics of the green-lipped mussel, *Perna canaliculus*, at various spatial and temporal scales in northern New Zealand. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **334**, 294-315.
- Aloui-Bejaoui N, Le Pennec M, Rezgui S, Maamouri F.** 2002. Influence du cycle de reproduction et des conditions du milieu sur la croissance pondérale de *Mytilus galloprovincialis* basée sur l'utilisation d'un animal standard. *Marine life* **12(1-2)**, 47-57.
- Aminot A, Chaussepied M.** 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin. Centre national pour l'exploitation des océans, Brest 395 pp.
- Arnaud P.** 1966. Croissance comparée de *Mytilus gallo provincialis* Lmk, de l'étang de Thau et de Salses – Leucate. *Revue des travaux de l'institut des pêches Maritime* **30**, 357-374.
- Askew CG.** 1972. The growth of *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas* in Ensworth Harbour. *Aquaculture* **1**, 237-259.
- Baird RH.** 1958. Measurement of condition in mussels and oysters. *Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer* **23**, 249-257.
- Baird RH.** 1966. Factors affecting the growth and condition of mussels (*Mytilus edulis* L.). *Fishery Investment*, London **25(2)**, 1-33.
- Barillé AL.** 1996. Contribution à l'étude des potentialités conchyliques de Perthuis Breton. Thèse de doctorat. Université d'Aix-Marseille II 243 pp.
- Bautista C.** 1989. *Tecnología de cultivo de moluscos*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España 167pp.
- Bayne Bl, Svensson S, Nell JA.** 1999. The physiological basis for faster growth in the sydneyroch oyster, *Saccostrea commercialis*. *Biology Bulletin* **197(3)**, 377-387.
- Belabed BE, Djabourabi A, Bensouilah M.** 2008. "Teneurs en Plomb, Cadmium, Mercure et zinc relevées dans la chair de la moule « *Perna perna* » récoltée dans le littoral d'Annaba ». *Revue des sciences et technologie de l'université d'Annaba, Synthèse* **18**, 12-22.
- Belabed BE, Meddour A, Tata T, Aleya L.** 2013. Etude de la contamination par les métaux lourds de la zone industrialo-portuaire du golfe de Annaba, à l'aide de bio-indicateurs. *Rapport de la Commission internationale pour l'exploration scientifique de la Mer Méditerranée* **40**, p. 239.
- Berthelin C, Kellner K, Mathieu M.** 2000. Storage metabolism in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in relation to summer mortalities and reproductive cycle (West Coast of France). *Comparative Biochemistry and Physiology* **125B**, 359-369.
- Boddy A, Prou J, Berthomeh JP.** 1986. Etude comparative de différents indices de condition chez l'huitre creuse (*Crassostrea gigas*). *Haliotis* **15**, 173-182.
- Bodoy A, Massé H.** 1979. Quelques paramètres permettant de suivre la production organique d'un Mollusque Bivalve au cours d'un cycle saisonnier. *Publications du Centre National pour l'Exploitation des Océans (CNEXO)*. Série : Actes de colloques n° 7, 753-766.

- 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(01)**, 57-66.
- Bouhaimi A, Halla M ID, Kaaya AR, Mathieu M, Moukrim A.** 2000. Etude comparative de deux populations naturelles de moules *Perna perna* (L) et *Mytilus galloprovincialis* (LmK), dans la baie d'Agadir (Sud de Maroc) : Suivi de la croissance et de la dynamique de population. *Haliotis* **29**, 27-41.
- Boukroufa F.** 1987. Reproduction et structure des populations de la moule *Perna perna* (Lubet, 1973) sur la côte Algéroise. Thèse de Magistère, Université des sciences et de la technologie Houari-Boumédiène, Alger, 140 pp.
- Brown RA, Seed R, O'Connor RJ.** 1976. A comparison of relative growth in *Cerastoderma* (=*Cardium*) *edulis*, *Modiolus modiolus* and *Mytilus edulis* (Mollusca: Bivalvia). *Journal of Zoology* **179**, 297-315.
- Ceccherilli VU, Rossi R.** 1984. Settlement, growth and production of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Ecology Progress Series* **16**, 173-184.
- Chaoui L.** 1993. Etude de la reproduction de *Perna perna* (L) (*Mytilidae*) dans le golfe de Annaba; aspects écologique, histologique et biochimique. Thèse de Magistère. Université Annaba 80 pp.
- Cherifi H, Chebil Ajjabi L, Sadok S.** 2015. Affiner pour mieux conserver: cas de la moule *Mytilus galloprovincialis*. Bulletin de l'Institut national scientifique et technique d'océanographie et de pêche, Salamboo **42(Numéro Spécial)**, 3-7.
- Dorange G, Paulet YM, LePnne M, Cochard JC.** 1989. Critères histologiques de la qualité des ovocytes émise par *Pecten maximus*. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris* **309 (03)**, 113-120.
- Gaffney PM.** 1988. Genetic improvement of cultured bivalve species. *Journal of Shellfish Research* **7**, 158-159.
- García M, Seijo CL, Freites L, Córdova H, Suástegui JMM, Babarro J.** 2016. Comparative performance of the mussels *Perna perna* and *Perna viridis*, cultivated at four different depths. *Brazilian Journal Of Oceanography* **64(3)**, 249-262. <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-87592016113906403>
- Gosling E.** 1992. The mussel *Mytilus*. Ecology, physiology, genetics and culture. *Developments in aquaculture and fisheries Science* **25**. Elsevier, Amesterdam 589 pp.
- Griffiths CL, Griffiths RJ.** 1987. Bivalvia. In: Pandian Jh, Vernberg Fj. (Eds.). *Animals Energetics*. New York: Vol. II. Academy Press p.1-88.
- Hedgecock D, McGoldrick DJ, Manahan DT, Vavza J, Appelmans N, Bayne Bl.** 1996. Quantitative and molecular genetics analyses of heterosis in bivalve molluscs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **203**, 49-59.
- Héral M, Deslous – Paoli JM, Prou J, Razet D.** 1987. Relations entre la nourriture disponible et la production de Mollusques en milieu estuaire: variabilité temporelle de la colonne d'eau. *Haliotis* **16**, 149-158.
- Hickman RW, Illingworth J.** 1980. Condition Cycle of the Green-Lipped Mussel *Perna canaliculus* in New Zealand. *Marine Biology* **60**, 27-38.
- Hilbish TJ.** 1986. Growth trajectories of shell and soft tissue in bivalves: seasonal variation in *Mytilus edulis* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **96**, 103 – 113.
- 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. *Advances in Environmental Biology* **9(18)**, 180-189.

- Kautsky N.** 1982. Growth and size structure in a Baltic *Mytilus edulis* population. *Marine Biology* **68**, 117–133.
- Khati W, Ouali K, Bensouilah M, Gnassia-Barelli M, Romeo M.** 2007. Effet du cadmium sur certains biomarqueurs de stress chez la moule *Perna perna* du golfe d'Annaba (Algérie). *Mésogée* **63**, 51-57.
- Khati W, Ouali K, Mouneyrac C, Banaoui A.** 2012. “Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use in biomonitoring”. *Energy Procedia* **18**, 784 – 794.
- Kim JH, Yu OH, Yang EJ, Kang SH, Kim W, Choy EJ.** 2016. Effects of ocean acidification driven by elevated CO₂ on larval shell growth and abnormal rates of the venerid clam, *Mactraveneriformis*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* **34 (06)**, 1191–1198. <http://dx.doi.org/10.1007/s00343-016-5159-1>
- Lodeiros C, Himmelman J.** 2000. Identification of factors affecting growth and survival of the tropical scallop *Euvola (Pecten) ziczac* in the Golfo de Cariaco, Venezuela. *Aquaculture* **182**, 91-114.
- Lorenzen CJ.** 1967. Détermination of chlorophylle and pheopigments spectrometrie equation. *Limnology and Oceanography* **12**, 343-346.
- Lubet P.** 1973. Exposé synoptique des données biologiques sur la moule *Mytilus galloprovincialis* (Lamark 1819). Synopsis F.A.O. (Food and Agriculture Organization) sur les pêches **88**, pag. var.
- Lubet P.** 1981. Action de la température sur le cycle de reproduction des lamellibranches. Extrait du Bulletin de la Société zoologique de France **106(3)**, 283-291.
- Lucas A, Beninger PG.** 1985. The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture* **44**, 187 – 200.
- Mohd-Taib A, Madin J, Ransangan J.** 2016. Density, recruitment and growth performance of Asian green mussel (*Perna viridis*) in Marudu Bay, Northeast Malaysian Borneo, three years after a massive mortality event. *Songklaakarin Journal of Science and Technology* **38(6)**, 631-639.
- Naciri M.** 1998. Dynamique d'une population de moules, *Mytilus galloprovincialis* (Lmk.), vivant sur la côte atlantique marocaine. *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, 1997-1998* **21**, 43-50.
- Navarro JM.** 1988. The effects of salinity on the physiological ecology of *Choromytilus chorus* (Molina, 1782) (Bivalvia: Mytilidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **122**, 19–33.
- Newkirk GF.** 1980. Review of the genetics and the potential for selective breeding of commercially important bivalve. *Aquaculture* **19**, 209-228.
- Parache A, Massé H.** 1987. Influence des facteurs du milieu sur le cycle biologique de *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) en élevage sur corde dans l'anse de (côte méditerranéenne française). *Haliotis* **16**, 137-147.
- Parache A.** 1983. Evolution temporelle du poids et de la composition biochimique de *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) en Méditerranée Nord-Occidentale. Rapport de la Commission internationale pour l'exploration scientifique de la Mer Méditerranée **28(3)**, 235-236.
- Paulet YM, Dorange G, Cochard JC, Le Pennec M.** 1992. Reproduction et recrutement chez *Pecten maximus* L.. *Annales de l'Institut Océanographique, Paris* **68(1-2)**, 45-64.
- Pellerin-Massicote J.** 1994. Oxidative processes as indicators of chemical stress in marine bivalves. *Aquatic Ecosystem Health* **(3m)**, 101-111.
- Phernambucq AJW, Vroonland CS.** 1983. A comparison of four index of condition of the european flat oyster *Ostrea edulis* L. *Conseil international pour l'Exploration de la Mer, Council Meeting 1983/F* **03**, p. 11.
- Quinn II T, Deriso RB.** 1999. Quantitative fish dynamics. Oxford University Press, New York p. 542.

Rajagopal S, Venugopalan VP, Nair KVK, Van Der Velde G, Jenner HA, Hartog CD. 1998. Reproduction, growth rate and culture potential of the green mussel, *Perna viridis* (L) in Edaiyur backwaters, east coast of India. *Aquaculture* **162(3-4)**, 187-202.

Rajagopal S, Venugopalan VP, Van Der Velde G, Jenner HA. 2006. Greening of the coasts: a review of the *Perna viridis* success story. *Aquatic Ecology* **40(3)**, 273- 297.

Rajesh KV, Mohamed KS, Kripa V. 2001. Influence of algal cell concentration, salinity and body size on the filtration and ingestion rates of cultivable Indian bivalves. *Indian Journal of Marine Sciences* **30**, 87-92.

Ren JS, Ross AH, Hayden BJ. 2000. Comparison of assimilation efficiency on diets of nine phytoplankton species of the green shell mussel *Perna canaliculus*. *Journal of Shellfish Research* **25**, 887-892.

Rivonker CU, Ansari ZA, Parulekar AH. 1993. Cultivation of green mussel *Perna viridis* L., on a floating raft in an estuary along the west coast of India. *Aquaculture* **112(1)**, 47-56.

Rouillon G, Navarro E. 2003. Differential utilization of species of phytoplankton by the mussel *Mytilus edulis*. *Acta Ecologica* **24**, 299-305.

Sato S. 1994. Analysis of the relationship between growth and sexual maturation in *Phacosomajaponicum* (Bivalvaveneridae). *Marine Biology* **118**, 663-672.

Seed R, Suchanek TH. 1992. Population and community ecology of *Mytilus*. In: the mussel *Mytilus*: Ecology, physiology, genetics and culture. E.G. Gosling (ed). Developments in aquaculture and fisheries Science 25, Elsevier, Amsterdam p. 87 – 169.

Shafee MS. 1989. Reproduction of *Perna picta* (Mollusca: Bivalvia) from the Atlantic coast of Morocco. *Marine Ecology Progress Series* **53**, 235-245.

Soon TK, Denil DJ, Ransangan J. 2016. High Mortality and Poor Growth of Green Mussels, *Perna viridis*, in High Chlorophyll-a Environment. *Ocean Scientific Journal* **51(1)**, 43-57.
<http://dx.doi.org/10.1007/s12601-016-0005-0>

Urrutia Mb, Ibarrola I, Eglisias Jip, Navarro E. 1999. Energetics of growth and reproduction in a high-tidal population of the clam *Ruditapes decussatus* from Urdabai Estuary (Basque Country, N. Spain). *Journal of Sea Research* **42**, 35-48.

Utting SD. 1986. A Preliminary study on growth on *Crassostrea gigas* larvae and spat in relation to dietary protein. *Aquaculture* **56**, 123-138.

Zaouali J. 1973. Note sur la présence de *Perna perna* (L), *Mytilus africanus* (Chemnitz) dans la région de Bizerte (Tunisie). Etude quantitative du peuplement. *Bulletin de l'Institut national scientifique et technique d'océanographie et de pêche, Salamboo* **2(4)**, 637-642.

Zardi GI, Mc Quaid CD, Nicastro KR. 2007. Balancing survival and reproduction: seasonality of wave action, attachment strength and reproductive output in indigenous *Perna perna* and invasive *Mytilus galloprovincialis* mussels. *Marine Ecology Progress Series* **334**, 155–163.