



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



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE DE BIOLOGIE ANIMALE APPLIQUEE

Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat 3eme cycle

Spécialité: BIOLOGIE ANIMALE ENVIRONNEMENTALE

Option: REPRODUCTION & DEVELOPPEMENT

Intitulé

**Etude biochimique, enzymologique et cytologique chez
Donax trunculus: rapport avec le cycle biologique et la pollution
dans le golfe de Annaba.**

Présenté par: M^{me}. Lamia BENSOU DA-TALBI

Membres de Jury :

Président	:Pr. Noureddine SOLTANI	Université Badji-Mokhtar. Annaba
Directrice de thèse	: Pr. Nadia SOLTANI-MAZOUNI	Université Badji-Mokhtar. Annaba
Examineur	: Pr. Mostefa BOULAH DID	ENSSMAL. Alger
Examineur	: Pr. Dahbia HABES	Université Badji-Mokhtar. Annaba
Examineur	: Dr. Lamine MEZDJRI	Universié 20 août 1955. Skikda

Année Universitaire: 2014-2015

Remerciements

A l'issue de ces années de doctorat, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à ceux ou celles qui d'une manière ou d'une autre, m'ont permis d'entreprendre, de réaliser et d'achever cette thèse.

Je suis très honorée que M. Noureddine SOLTANI (Professeur, Université d'Annaba) et responsable du laboratoire de Biologie Animale Appliquée, a accepté de présider ce jury. Mais aussi de m'avoir accueillie et permis de réaliser cette thèse dans d'excellentes conditions de travail. Les années passées au sein de ce laboratoire m'ont beaucoup appris et apporté tant sur le plan scientifique, professionnel qu'humain. Merci à vous de m'avoir fait bénéficier de votre expérience, et de vos conseils avisés qui m'ont énormément aidé à m'affirmer et à évoluer en tant que jeune chercheuse. Je lui adresse ici toute ma reconnaissance et mon admiration. Je vous exprime toute ma gratitude.

Mes profondes reconnaissances et Mes plus vifs remerciements s'adressent au M. N. Soltani-Mazouni (Professeur, Université d'Annaba) pour avoir acceptée d'être la directrice de cette thèse, mes plus vifs remerciements pour ses orientations, sa qualité humaine et sa gentillesse.

J'exprime toute ma reconnaissance aux membres du jury, M. Mostefa BOULAHDI (Professeur, Ecole Nationale Supérieure des sciences de la mer et de l'Aménagement du Littoral, Alger), Mme Dahbia HABES (Professeur, Université d'Annaba) et M. Lamine MEZDJRI (Docteur, Université 20 août 1955, Skikda) qui ont accepté d'évaluer ce travail, qu'ils trouvent ici l'expression de mes plus vifs remerciements.

Je tiens aussi à remercier chaleureusement Mlle Amel HAMDANI pour son aide, sa disponibilité et ses conseils bien appréciables depuis mon master.

Je ne saurai jamais comment remercier mes collègues et mes amies Fatiha BENSALÉM (Docteur, Université d'Annaba) qui nous a quittée et Amel DJEMAOUN (Doctorante, Université de Annaba) pour leurs précieux conseils et pour l'aide combien efficace qu'elles m'ont apportées. Je n'oublierai jamais leurs marques de sympathie, leurs disponibilités, leurs soutiens moraux, et leurs encouragements.

*Enfin, je remercie Yacine le pêcheur, qui a fait tout son possible pour assurer un échantillonnage mensuel durant toute la période d'étude. J'ai aussi une pensée pour les milliers d'haricot de mer (*Donax trunculus*), qui ont participés, de façon bien involontaire, à la réalisation de cette thèse.*

DEDICACES

A la mémoire de mon père, tu me manque mon cher papa.

A ma chère mère la lumière de ma vie qui m'a soutenu tout au long de ma vie dans les moments difficiles et dans mes études. Tu m'as apporté soutien, écoute et encouragements qui ont été essentiels pendant ces années. Cette thèse est la tienne car grâce à ton aide et à que ce travail a pu voir le jour...

A mon mari, Fayçal qui m'a supporté tous les jours pendant la rédaction, et sa patience envers moi

A ma chère sœur Nassima et sa petite famille.

A mes frères Imed, Riad et surtout khaled pour son aide toutes les années d'études.

A ma famille au sens large, avec toutes mes excuses pour mon manque de présence et d'attention ces dernières années.

Que Dieu le tout puissant nous accorde un avenir meilleur.

Table des Matières

1. INTRODUCTION.....	1
2. MATERIEL ET METHODES.....	9
2.1. Présentation du modèle biologique.....	9
2.1.1. Morphologie et Anatomie.....	9
2.1.2. Répartition géographique.....	13
2.1.3. Biotope.....	14
2.1.4. Nutrition.....	15
2.1.5. Distribution spatiale.....	16
2.2. Reproduction et développement.....	16
2.2.1. Cycle de reproduction.....	18
2.2.2. Cycle du développement.....	18
2.3. Présentation du golfe et des sites d'étude.....	20
2.3.1. Site d'El Battah.....	20
2.3.2. Site de Sidi Salem.....	20
2.4. Stratégie d'échantillonnage de <i>Donax trunculus</i>	22
2.5. Biométrie et croissance de <i>Donax trunculus</i>	23
2.6. Dissection et prélèvement des tissus	23
2. 6. 1. Dissection et prélèvement du manteau.....	24
2. 6. 2. Dissection et prélèvement des gonades.....	24
2.7. Dosage des biomarqueurs du stress environnemental.....	25
2.7.1. Dosage de l'acétylcholinestérase	25
2.7.2. Dosage de la glutathion S-transférase.....	26
2.7.3. Dosage de la catalase.....	27
2.7.4. Dosage des protéines.....	28
2. 8. Dosage biochimique.....	28
2.8.1. Dosage qualitatif des acides gras.....	28
2.8.2. Dosage des sucres.....	30
a- Dosage qualitatif des sucres.....	30
b- Dosage de Glycogène.....	30
2.8.3. Dosage qualitatif des acides aminés.....	32

2.9. Etude Histologique.....	32
2.10. Analyses statistiques.....	34
3. RESULTATS.....	36
3.1. Etude de la distribution des fréquences de taille.....	36
3.2 .Etude de la biométrie et de la croissance.....	40
3.2.1 Analyse de la variance multivariée et analyse hiérarchique de la croissance.....	45
3.2.1.1. Analyse de la variance multivariée (MANOVA).....	45
3.2.1.2. Analyse hiérarchique.....	45
3.3. Variation mensuelle des biomarqueurs du stress environnemental.....	47
3.3.1. Activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE).....	48
3.3.2. Variation mensuelle de l'activité la glutathion S transférase (GST).....	51
3.3.3. Variation mensuelle de l'activité de la catalase (CAT).....	56
3.3.4. Test de corrélation.....	60
3.3.5. Analyse de la variance multivariée (MANOVA).....	60
3.3.6. Analyse hiérarchique.....	60
3.4. Dosages biochimiques.....	62
3.4 1. Dosage des acides gras.....	62
3.4.2. Dosage des sucres.....	69
3. 4.2.1. Dosage du glycogène.....	69
3.4 2.2. Dosage qualitatif des sucres.....	75
3.4.3. Dosage qualitatif des acides aminés.....	76
3.5. Aspect cytologique de la reproduction.....	77
4. DISCUSSION.....	85
4. 1. Dynamique des populations.....	85
4.2. Réponse des biomarqueurs du stress environnemental.....	90
4.2.1. L'acétylcholinestérase.....	90
4.2.3. La glutathion S-transférase.....	93
4.2.4. La catalase.....	94
4.3. Composition biochimique.....	96
4.3.1. Glycogène.....	96

4.3.2. Acides gras.....	98
4.3.3. Acides aminés et sucres.....	100
4.5. Aspect cytologique.....	101
CONCLUSION ET PRSPECTIVES.....	102
RESUMES.	
Français.....	104
Anglais.....	106
Arabe.....	108
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	111
ANNEXES	
Annexe 1: Communication.....	119
Annexe 2: Production scientifique...	

LISTE DES FIGURES

Figures	Titres	Pages
1	Représentation des méthodologies permettant d'évaluer les risques écotoxicologiques, d'après Lagadic & Amiard (1997).	4
2	Phénotype de <i>D. trunculus</i> .	10
3	Aspect morphologique externe (A , Gr × 2.5) et interne (B , Gr × 2,5) de la coquille de <i>D. trunculus</i> .	11
4	Anatomie générale de <i>D. trunculus</i>	12
5	Distribution géographique du <i>Donax trunculus</i> . (www.google.com)	13
6	Représentation schématique de localisation de <i>Donax trunculus</i> dans son biotope (www.google.fr/image).	14
7	La respiration et l'alimentation d'un mollusque enfoui (www.google.fr/image).	15
8	Aspect externe des gonades de <i>D. trunculus</i> : femelle (A , Gr × 10) et mâle (B , Gr × 8,75) de la coquille de <i>D. trunculus</i> .	17
9	Cycle biologique d'un Mollusque Bivalve (http://www.asnailsodyssey.com).	19
10	Localisation géographique du golfe d'Annaba et des sites d'échantillonnage.	21
11	Description d'un tellinier (A) et du déroulement de l'opération de pêche (B) (www.google.fr/image).	22

12	Paramètre linéaires considérés pour l'étude biométrique de <i>D. trunculus</i> .	23
13	Morphologie externe du manteau de <i>D. trunculus</i> (Gr × 2,5).	24
14	Positionnement de la coupe.	24
15	Principales étapes de dosage de glycogène (Van Handel, 1964).	31
16	Distribution mensuelle des fréquences de taille de <i>D. trunculus</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El Battah et Sidi Salem (janvier - juin 2011; n=100).	38
17	Distribution mensuelle des fréquences de taille de <i>D. trunculus</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El Battah et Sidi Salem (juillet - décembre 2011; n=100).	39
18	Courbe exponentielle exprimant le poids total frais en fonction de la longueur de <i>D. trunculus</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El Battah (A) et Sidi Salem (B) au cours de l'année 2011 (n=1100).	44
19	Classification hiérarchique des saisons selon la croissance de <i>D. trunculus</i> durant l'année 2011: El Battah (A), Sidi Salem (B).	46
20	Dosage des protéines : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumines (μg) (R^2 coefficient de détermination).	47
21	Variation mensuelle de l'activité de l' acétylcholinestérase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau du <i>D. trunculus</i> pêché dans deux stations du golfe d'Annaba : El Battah et Sidi Salm au cours de l'année 2012 (m + s, n = 4 - 5).	49
22	Variation mensuelle de l'activité de la glutathion S-transférase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau du <i>D. trunculus</i> pêché dans deux stations du golfe d'Annaba : El Battah et Sidi Salm au cours de l'année 2012 (m + s, n = 4 - 5).	53
23	Variation mensuelle de l'activité de la Catalase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau du <i>D. trunculus</i> pêché dans deux stations du golfe d'Annaba : El Battah et Sidi Salm au cours de l'année 2012 (m+s, n=4- 5).	57

24	Classification hiérarchique des saisons selon la réponse des biomarqueurs chez <i>D. trunculus</i> au cours de l'année 2012 El Battah (A), Sidi Salem (B).	61
25	Taux des acides gras ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) des gonades femelles chez <i>Donax trunculus</i> pêché dans deux stations du golfe d'Annaba (El Battah et Sidi Salem) durant la période de reproduction de l'année 2013 ($m \pm \text{SD}$, $n = 4-5$).	65
26	Taux des acides gras ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) des gonades mâles chez <i>Donax trunculus</i> pêché dans deux stations du golfe d'Annaba (El Battah et Sidi Sale durant la période de reproduction de l'année 2013 ($m \pm \text{SD}$, $n = 4-5$).	65
27	Taux des acides gras ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) des gonades chez <i>Donax trunculus</i> pêché dans deux stations du golfe d'Annaba (El Battah et Sidi Salem) durant la période du repos sexuel de l'année 2013 ($m \pm \text{SD}$, $n = 5$).	68
28	Dosage du glycogène : droite de régression exprimant les absorbances en fonction des quantités de glycogène (μg) (R^2 : coefficient de détermination).	69
29	Taux de glycogène ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des gonades de <i>Donax trunculus</i> pêché à El Battah et à Sidi Salem durant les deux périodes de la reproduction de l'année 2013 (A: mâle, B: femelle) ($m \pm s$, $n = 3$).	71
30	Taux de glycogène ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du manteau de <i>Donax trunculus</i> pêché à El Battah et à Sidi Salem durant les deux périodes de la reproduction au cours de l'année 2013 (A: mâle, B: femelle) ($m \pm s$, $n = 3$).	72
31	Taux de glycogène ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du corps entier de <i>Donax trunculus</i> pêché à El Battah et à Sidi Salem durant les deux périodes de la reproduction au cours de l'année 2013 ($m \pm s$, $n = 3$).	74
32	Chromatogramme des sucres gonadique chez <i>D. trunculus</i> récoltés au niveau des deux sites du le golfe d'Annaba.	75
33	Chromatogramme des acides aminés gonadique chez <i>D. trunculus</i> récoltés au niveau des deux sites du le golfe d'Annaba	76
34	Stade 1(femelle). a: El Battah (G: X 100); b: Sidi Salem (G: X 200); (TC: tissu conjonctive; Og: ovogonie; O: Ovocyte)	78
35	Stade 2 (femelle). a: El Battah (G: X 100); b: Sidi Salem (G: X 100); TC: tissu conjonctive; O: Ovocyte).	79

36	Stade 3A (femelle). a: El Battah (G: X 100); b: Sidi Salem (G: X 100); Fm: f	79
37	Stade 3B (femelle). a: El Battah (G: X 100); b: Sidi Salem (G: X 300); TC: tissu conjonctive; Op: ovocyte pédonculé; Fv: follicule vide)	80
38	Stade 3D (femelle). a: El Battah (G: X 200); b: Sidi Salem (G: X 200); TC: tissu conjonctive; Ad: Adipocyte).	80
39	Stade 1 (mâle). a: El Battah (G: X 100); b: Sidi Salem (G: X 100); (TC: tissu conjonctive; FI: follicule immature).	81
40	Stade 2 (mâle). a: El Battah (G: X 100); b: Sidi Salem (G: X 100)	81
41	Stade 3A (mâles). a: El Battah (G: X 200); b: Sidi Salem (G: X 200); (Fm: follicule mature).	82
42	Stade 3A (mâles). A: El Battah (G: X 200); B: El Battah (G: X 200); (Sz: spermatozoïde; Sg: spermatogonie).	82
43	Stade 3B (mâle) a: El Battah (G: X 100); b: Sidi Salem (G: X 100); (F: follicule).	83
44	Stade 3C (mâle).a: El Battah (G: X 100); b: Sidi Salem (G: X 100); (Tc: tissu conjonctive).	83
45	Stade 3D (mâle). a: El Battah (G: X 400); b: Sidi Salem (G: X 100); Tc: tissu conjonctive; Fd: follicule dégénère; Ad: Adipocyte.	84

Liste des tableaux

Tableau	Titres	Pages
1	Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.	28
2	Principales étapes de coloration par hématoxyline-éosine selon Martel (2005).	33
3	classement des saisons selon les paramètres biométriques mesurés chez <i>D. trunculus</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah, Sidi Salem) au cours de l'année 2011: test HSD de Tukey.	41
4	Paramètres biométriques mesurés chez <i>D. trunculus</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah, Sidi Salam) au cours des saisons de l'année 2011 ($m \pm s$; $n=1100$).	42
5	Dosage des protéines : réalisation de la gamme d'étalonnage.	47
6	Variation mensuelle de l'activité de l' acétylcholinestérase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> pêché dans deux stations du golfe d'Annaba : El Battah et Sidi Salm au cours de l'année 2012 ($m + s$, $n = 5$).	50
7	Classement des saisons par ordre décroissant selon l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah, Sidi Salem) au cours de l'année 2012 ($m \pm s$; $n = 5$) par le test HSD de Tukey.	51
8	Variation mensuelle de l'activité de la glutathion S- transférase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau du <i>D trunculus</i> pêché dans deux stations du golfe d'Annaba El Battah et Sidi Salm au cours de l'année 2012 ($m + s$, $n = 4 - 5$).	54
9	Classement des saisons par ordre décroissant selon l'activité spécifique de la glutathion S-transférase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah, Sidi Salem) au cours de l'année 2012 ($m\pm s$; $n= 5$) par le test HSD de Tukey.	55

10	Variation mensuelle de l'activité de la catalase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau du <i>D trunculus</i> pêché dans deux stations du golfe d'Annaba : El Battah et Sidi Salm au cours de l'année 2012 ($m + s, n = 5$).	58
11	Classement des saisons par ordre décroissant selon l'activité spécifique de la catalase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah, Sidi Salem) au cours de l'année 2012 ($m \pm s; n = 5$) par le test HSD de Tukey.	59
12	Taux des acides gras ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des gonades de <i>Donax trunculus</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah et Sidi Salem) durant la période de reproduction de l'année 2013 ($m \pm \text{SD}, n = 4-5$). Pour un même site les moyennes suivies d'une même lettre en majuscule tandis que pour un même sexe les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule.	63
13	Analyse de la variance de trois critères de classification (site, sexe, acide gras) de la quantité d'acides gras ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des gonades de <i>Donax trunculus</i> chez les deux sexes pêchés dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah et Sidi Salem) durant la période de reproduction de l'année 2013.	64
14	Taux des acides gras ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des gonades de <i>Donax trunculus</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah et Sidi Salem) durant la période du repos sexuel de l'année 2013 ($m \pm \text{SD}, n = 5$).	66
15	Analyse de la variance de deux critères de classification (site, acide gras) de la quantité d'acides gras ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des gonades de <i>Donax trunculus</i> pêchés dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah et Sidi Salem) durant la période du repos sexuel de l'année 2013.	68
16	Dosage du glycogène : réalisation de la gamme d'étalonnage.	69
17	Taux de glycogène ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des gonades de <i>Donax trunculus</i> pêché à El Battah et à Sidi Salem durant les deux périodes de la reproduction au cours de l'année 2013 ($m \pm s, n = 3$).	73
18	Taux de glycogène ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du manteau de <i>Donax</i>	73

	<i>trunculus</i> pêché à El Battah et à Sidi Salem durant les deux périodes de la reproduction au cours de l'année 2013 ($m \pm s$, $n = 3$).	
19	Taux de glycogène ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du corps entier de <i>Donax trunculus</i> pêché à El Battah et à Sidi Salem durant les deux périodes de la reproduction au cours de l'année 2013 ($m \pm s$, $n = 3$).	74
20	Longueur (μm) des ovocytes pendant le cycle de développement au niveau d'El Battah Sidi Salem ($n = 5$).	76
21	Longueur (μm) des cellules sexuelles mâles pendant le cycle de développement au niveau d'El Battah et Sidi Salem ($n = 5$).	77

INTRODUCTION

1. INTRODUCTION

Les problèmes de l'environnement n'ont pas de frontières. Dès le début du siècle, ils sont devenus une préoccupation internationale. Leur évolution rapide, a conduit la communauté des Nations à élaborer des instruments juridiques de protection de l'environnement sous forme de conventions et de protocoles internationaux. Cependant, l'état de l'environnement ne cesse de se dégrader et la vision protectionniste se trouve confrontée à de nombreuses limites (FEPS, 2007).

Le milieu marin, un monde riche et extraordinaire recouvre près de 71% de la Terre. Il constitue une immense réserve de ressources énergétiques, minérales et biologiques. Une grande partie de la diversité de la planète se trouve dans les mers et les océans qui recèlent environ 250 000 espèces connues et des millions à découvrir ! Des trésors inestimables dont nous tirons des services à l'image du plancton marin, constitué d'animaux et d'algues visibles mais aussi de cyanobactéries, microalgues et virus qui jouent un rôle écologique primordial en apportant des matières nutritives fondamentales pour les écosystèmes marins. Ces organismes restituent dans l'atmosphère une quantité considérable d'oxygène en réalisant la photosynthèse. Cependant, cet espace ne cesse d'être menacé par différentes sources de pollution qui risquent de diminuer ses potentialités économiques et d'avoir des répercussions néfastes sur la santé humaine (Mc Cauley *et al.*, 2000; Long, 2000). Parmi les conséquences majeures de la pollution, celle des produits chimiques est devenue actuellement un danger préoccupant qui affecte l'hydrosphère par perturbation au niveau des êtres vivants (faune et flore) et les compartiments abiotiques (eau et sédiments) qu'ils occupent (Truhaut, 1977).

L'altération actuelle de l'écosystème aquatique est favorisée aussi bien par la poussée démographique que par les progrès de la technologie industrielle (Neveu *et al.*, 2001). En effet les côtes sont depuis toujours le lieu privilégié d'installation des villes, des ports et des industries. De plus, la moitié de la population mondiale est localisée à moins de 50 Km des rivages où l'eau est devenue par la force des choses le véhicule naturel des déchets domestiques et industriels (Munkittrick & Mc carty, 1995). La qualité des hydrosystèmes s'est retrouvée ainsi peu à peu altérée par la quantité et la diversité des polluants rejetés dans le milieu naturel (Lavado *et al.*; 2006, Sanchez *et al.*; 2007). Le littoral se trouve continuellement exposé à une grande variété de substances contaminantes et de micropolluants directement rejetés dans les mers et les océans, auxquels s'ajoutent ceux rejetés dans l'air et qui seront drainés par les sols et les fleuves (Damiens *et al.*; 2004, Valavanidis *et al.*; 2006). Le développement technologique a donné de nouvelles dimensions aux risques d'intoxication et aujourd'hui le nombre de populations exposées aux contaminants environnementaux ne cesse d'augmenter. On estime à 250 000,

le nombre de nouveaux produits chimiques synthétisés qui viennent s'ajouter chaque année à plus de 2 millions de substances déjà répertoriées. Plus de 100 000 substances sont commercialisées et la plupart se retrouvent dans l'environnement à la fin de leur cycle de vie (Depledge & Galloway, 2005).

La pollution toxique de l'eau a plusieurs origines, elle peut être urbaine produite par la population vivant autour du bassin (déchets solides ou liquides, traitement des eaux usées, polluants contenus dans les eaux de ruissèlements,...), industrielle (métaux lourds, hydrocarbures, substances chimiques,...) et/ou agricole (pesticides, insecticides,...) (Sarkar *et al.*; 2006). Ces polluants sont introduits et circulent dans les écosystèmes, depuis les milieux contaminés (air, eaux et sols) jusqu'aux communautés vivantes (Chapman, 1995; Baird *et al.*, 1996). L'écotoxicologie est une discipline qui étudie les perturbations fonctionnelles (écophysiological) produites par l'exposition des êtres vivants « dans la nature » à tel ou tel polluant, ainsi que les conséquences qui en résultent pour les populations affectées (niveau démoécologique). (Breitholz *et al.*, 2006). Elle contribue à la surveillance permanente des polluants dans l'environnement, en particulier par l'usage de biomarqueurs et d'indicateurs biologiques de pollution. Elle connaît aujourd'hui un développement important, c'est celui de la prévision de l'impact potentiel d'un polluant sur l'environnement (Truhaut, 1977 & Arapis, 2005).

Au début des années 70 des programmes de surveillance de l'environnement sont basés sur l'analyse chimique des contaminants majeurs comme les hydrocarbures aromatiques et polycycliques (HAP), les polychlorobiphényles (PCB), les métaux lourds, les pesticides dans différents compartiments de l'environnement (colonne d'eau, sédiments, organismes) (Takisawa, 1970). Le deuxième volet de la surveillance de l'environnement est l'observation des changements induits au niveau des populations et des communautés constituant les écosystèmes permettant de typer les biocénoses (Amiard *et al.*, 1998).

Les méthodes d'analyse chimique permettent la détection, la caractérisation et la quantification de la plupart des contaminants présents dans les différents compartiments aquatiques ainsi que dans les tissus animaux et végétaux. De nombreuses analyses chimiques peuvent ainsi être effectuées en routine pour identifier et quantifier les principales classes de contaminant présentes dans un échantillon pour lequel on ne dispose d'aucune information. Cependant, outre le prix élevé de telles analyses, la détection de certains contaminants et de manière globale de tous les contaminants présents dans un échantillon donné, peut s'avérer difficile, voire impossible (Vidal, 2001) De même, les produits de dégradation ou de transformation peuvent ne pas être pris en compte. Ces limites sont évidemment repoussées d'année en année grâce à l'évolution des techniques d'analyse permettant notamment de détecter et de quantifier les substances chimiques à des seuils de plus en plus bas (Champeau, 2005). Néanmoins, il est une question essentielle à laquelle les analyses chimiques ne pourront jamais répondre: quel est l'impact des contaminants sur les écosystèmes? Les interactions polluants/polluants et polluants/organismes ? (Ait-

Aissa, 2003). Seuls des outils biologiques sont à même d'apporter un ou plusieurs élément(s) de réponse : c'est la biosurveillance de l'écosystème.

Le concept de biosurveillance (biomonitoring), qui repose sur l'étude de la réponse biologique des organismes aux polluants (Breitholz *et al.*, 2006; Ors *et al.*, 2007). Il permet le diagnostic précoce de la contamination du milieu naturel avant l'altération ou la perte de l'intégrité physique des êtres vivants (Lafaurie *et al.*, 1992, Namour, 1992).

Deux approches complémentaires sont utilisées de nos jours : la première est basée sur les communautés ou populations appelées bioindicateurs. Il s'agit notamment des indices biocénotiques, qui de par la présence ou l'absence de telle ou telle espèce, nous renseignent sur l'état de santé d'un milieu (Ramade, 1979). La seconde approche est plus prédictive sur l'état de santé du milieu, elle se situe au niveau de l'individu et concerne l'utilisation de biomarqueurs (Schlenk, 1999). (Figure 1).

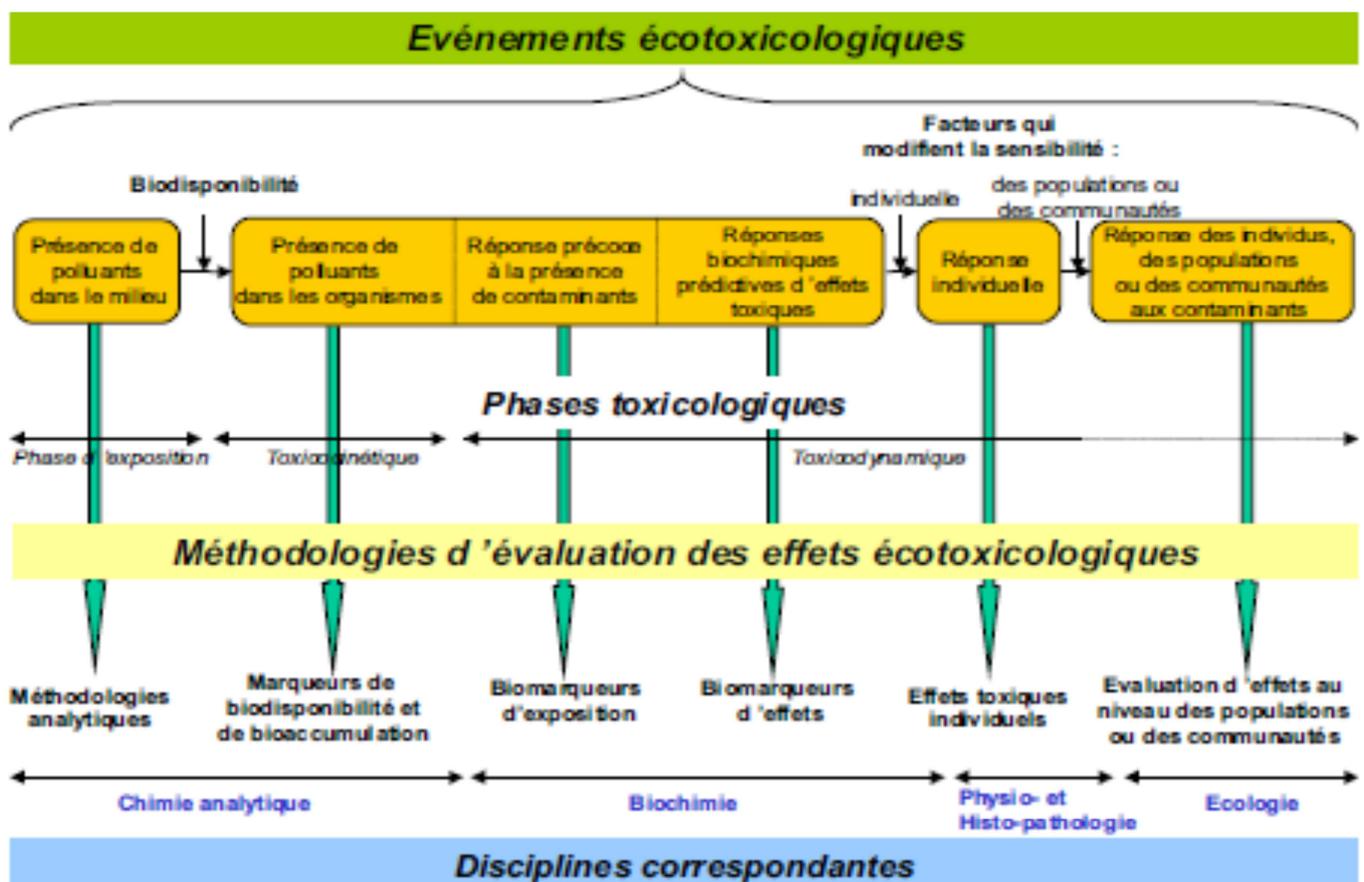


Figure 1. Représentation des méthodologies permettant d'évaluer les risques écotoxicologiques, d'après Lagadic & Amiard (1997).

La bio-indication relative à la qualité de l'eau est l'utilisation d'organismes sensibles à un polluant donné présentant des effets visibles macroscopiquement ou microscopiquement, afin d'évaluer la qualité de l'eau. Elle peut correspondre à des espèces animales ou végétales qui, de par leur présence (ou leur absence) et/ou leur abondance, nous renseignent sur l'état de santé d'un milieu. Celle-ci fournit une information semi-quantitative sur la contamination du milieu aquatique et permet d'apprécier directement les impacts environnementaux des polluants (Vidal, 2001; Lam & Gray, 2003). Les espèces sentinelles sont présentes naturellement dans le milieu étudié ou sont transplantées dans celui-ci par encagement («caging»). Elles doivent posséder des caractéristiques particulières: sessiles, abondantes, présentant une large distribution géographique, adaptées aux variations de divers paramètres environnementaux (température, oxygénation, *etc.*) et relativement résistantes aux différents contaminants présents dans le milieu aquatique (Vidal, 2001). De plus, leur physiologie doit être bien connue (Amiard *et al.*, 1998). On peut ainsi distinguer les espèces «pollusensibles» (bioindicateurs négatifs) et les espèces «pollurésistantes» ou «pollutolérantes» (bioindicateurs positifs) (Lagadic et Caquet, 1996).

Un biomarqueur est un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental révélant l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant (Amiard *et al.*, 1998). Les biomarqueurs ont été classifiés en trois catégories: les biomarqueurs d'exposition, d'effet et de susceptibilité (Timbrell *et al.*, 1994).

Les biomarqueurs d'exposition sont en général impliqués dans les métabolismes de détoxification des xénobiotiques (ex: cytochromes P450) ou dans les mécanismes de défense cellulaire (ex: enzymes antioxydantes) (Champeau, 2005). Leurs variations peuvent être spécifiques ou non d'une catégorie de contaminants (ex: induction chez le poisson du cytochrome P450 CYP1A par les HAPs) et n'entraînent pas obligatoirement d'effets délétères (Halliwell et Gutteridge, 1999). Elles signifient la plupart du temps que l'organisme s'est adapté à une agression extérieure d'ordre chimique (Vidal, 2001).

Les biomarqueurs d'effet correspondent à des cibles moléculaires qui, lorsqu'elles sont atteintes, signifient que les mécanismes de défense ou de détoxification de l'organisme n'ont pas été suffisamment efficaces pour contrer l'action néfaste d'un xénobiotique (ex: indicateurs de stress oxydatif à l'ADN) (Vidal, 2001). Les conséquences peuvent être parfois irréversibles, entraînant à terme la mort de l'animal ou bien une incapacité à se reproduire. De tels effets peuvent par la suite altérer la structure même des populations et donc des écosystèmes (Vidal, 2001).

Les biomarqueurs de susceptibilité peuvent correspondre à des protéines qui, lorsqu'elles sont surexprimées ou sous-exprimées, augmentent la sensibilité d'un organisme à un contaminant. Ces

variations d'expression peuvent être dues à des différences génétiques interindividuelles (Who, 1993) ou résulter d'une exposition précédente à un xénobiotique (Vidal, 2001). Par exemple, un individu présentant une surexpression du cytochrome CYP1A sera plus à même de développer des adduits à l'ADN lorsqu'il sera exposé à des HAPs (synthèse de métabolites hautement réactifs *via* le CYP1A) qu'un individu présentant une expression normale. Par contre, il pourra détoxifier plus efficacement d'autres xénobiotiques (ex.: aflatoxine) et leur sera donc plus résistant (Schlenk, 1999). Seule l'utilisation simultanée de ces trois catégories de biomarqueurs et ce, à plusieurs niveaux d'organisation biologique (moléculaire, cellulaire, tissulaire, physiologique) peut apporter des informations pertinentes sur le mode d'action et les effets des xénobiotiques présents dans le milieu. Finalement, seule une approche globale intégrant des analyses chimiques et biologiques (bioindicateurs et biomarqueurs) permet d'évaluer la qualité d'un écosystème et les risques qu'il encourt. (Phillipe, 1985; Paez-Osuna *et al.*, 1993; Lorteau *et al.*, 1995; Cajaraville *et al.*, 2000; Nasci *et al.*, 2002).

Les mollusques ont été les premiers organismes sentinelles utilisés dans les études de surveillance de la contamination chimique des écosystèmes aquatiques marins et dulçaquicole, étant des organismes benthiques, les mollusques ont un rôle clé dans la structure des communautés. Leur position trophique permet d'assurer un rôle de transition pour l'ensemble de la chaîne alimentaire des écosystèmes aquatiques et par conséquent, ils participent au maintien de l'équilibre de ces écosystèmes (Reice & Wohlenberg 1993). Les mollusques notamment les bivalves sont largement utilisés comme espèces bioindicatrices de la pollution dans les programmes de biosurveillance de l'environnement marin (Livingstone *et al.*, 1997; Regolo;1998; Mora *et al.*, 1999; Narbonne *et al.*, 2005; Ricciardi *et al.*, 2006). Ils constituent d'excellents bioindicateurs de contamination des eaux marines et continentales grâce à leurs fortes capacités de bioaccumulation, leur sédentarité, leurs distribution géographique et leur mode d'alimentation filtreur de type suspensivore. Ce sont les seuls qui se nourrissent en filtrant l'eau. (Virengo *et al.*, 2007; Zorita *et al.*, 2007; Berthet, 2008), En raison de leur mécanisme d'alimentation, les mollusques peuvent accumuler les polluants chimiques et bactériens ainsi que les toxines naturelles qui sont présents dans l'eau, même lorsque la source de la pollution est très éloignée. Un seul mollusque peut filtrer une quantité d'eau représentant jusqu'à 300 fois son poids en une heure (Long et Wilson, 1997; Iso, 1998; Kaayo *et al.*, 1999; Thompson *et al.*, 1999; Connors et Ringwood, 2000). Les mollusques bivalves ont un intérêt économique provenant des activités de pêche. Ils jouent également un rôle essentiel dans le transfert de la matière organique produite par l'organisme marin autotrophe (phytoplancton), ils constituent un apport alimentaire riche en lipides et en acides aminées (Déng *et al.*, 1976). D'un point de vue pratique, ils sont faciles à collecter et à maintenir au laboratoires en raison de leurs bonne résistance au stress des prélèvements et de manipulations (Narbonne & Michel., 1997, Cajaraville *et al.*, 2000, Rank *et al.*, 2005). De nombreuses espèces de bivalves sont utilisées comme organismes tests dans les

programmes de biosurveillance, les plus utilisées sont *Grassostrea gigas*, *Ruditapes decussatus*, *Perna perna*, *Mytilus galloprovincialis* (Djediat & Boukroufa, 1990; Paulet *et al.*, 1992; Gregory & George, 1996; Ait Aissa *et al.*, 2003) et *Donax trunculus* (Beldi *et al.*, 2006; Abdallah & Abdallah, 2008; Sifi *et al.*, 2007; Tlili *et al.*, 2010a; Amira *et al.*, 2011, Soltani *et al.*, 2012).

De nombreuses études ont été consacrées à *Donax trunculus* qui est une espèce atlantico-méditerranéenne (Ansell et Lagardère, 1980), elle a été utilisée pour estimer la qualité des écosystèmes côtiers dans plusieurs programmes de surveillance: Mauritanie (Roméo et Gnassia-Barelli, 1988), Maroc (Moukrim, 2004), Espagne (Usero *et al.*, 2005), Algérie (Drardja-Beldi *et al.*, 2006). En méditerranée plusieurs travaux ont été réalisés sur cette espèce: (Moueza, 1972; Amouroux, 1974; Mouëza et Chessel, 1976; Bodoy et Massé, 1978; Ansell et Bodoy, 1979; Ansell *et al.*, 1980; Neuberger-Cywiak *et al.*, 1990; Ramón *et al.*, 1995) et en Atlantique (Ansell et Lagardère, 1980; Guillou et Le Moal, 1980; Bayed et Guillou, 1985; Bayed, 1991; Guillou et Bayed, 1991). En Algérie, la distribution de *D. trunculus* a été décrite par Vaissière et Fredj (1963) lors d'une série de dragages effectuée le long des côtes algéroises. La biologie, l'écologie et la reproduction de cette espèce ont été étudiées sur les côtes algéroises (Mouëza, 1971; Mouëza et Frenkiel-Renaut, 1973; Mouëza et Chessel, 1976; Benchamma, 1995), concernant le golfe d'Annaba, les travaux rapportés portent surtout sur son rôle écotoxicologique (Soltani *et al.*, 2005; Beldi *et al.*, 2006; Sifi *et al.*, 2007; Abdennour *et al.*, 2010; Amira *et al.*, 2011; Hamdani & Soltani-Mazouni, 2011; Bensouda & Soltani-Mazouni., 2012).

Le golfe d'Annaba est situé sur les côtes Est de l'Algérie. De par sa richesse en ressources halieutiques (Derbal et Kara, 2001), il offre de grandes possibilités pour l'activité de pêche et présente donc un intérêt économique important. Cependant, la situation de cette région s'est détériorée en raison de la croissance démographique et de l'installation de grandes activités industrielles exerçant sur le milieu marin une grande pression anthropique (Laabed *et al.*, 2006). En outre, des travaux antérieurs ont montré que la région du golfe d'Annaba est influencée par des effluents riches en certains métaux et particulièrement le cadmium (Semadi et Deruelle, 1993; Abdenour *et al.*, 2000; Beldi *et al.*, 2006), il est soumis à des activités agricoles, industriels, urbaines ainsi qu'au développement touristique (Beldi *et al.*, 2006; Abdennour *et al.*, 2010; Soltani *et al.*, 2012) et par conséquent subit l'impact de nombreux produits chimiques et de facteurs stressants; ce qui rend l'évaluation de la qualité de l'écosystème marin indispensable.

Le laboratoire de biologie animale appliquée s'est intéressé à l'étude de la biosurveillance du golfe d'Annaba afin d'évaluer son état de santé par l'utilisation d'un bioindicateur de pollution *D. trunculus* (Mollusque, Bivalve). Les travaux rapportés sur cette espèce permettent d'analyser les tendances

spatiales et temporelles de la contamination chimique de l'environnement marin et ses effets sur la croissance, la biologie et l'évolution du *D. trunculus*. En effet la croissance et la reproduction des mollusques marins sont dépendantes des facteurs environnementaux (température, phytoplancton, oxygène...), notamment chez les bivalves-filtreurs. (Aouadene, 2003; Abbes, 2004; Chouahda, 2006; Hamdani, 2007; Tayaa, 2007; Beldi, 2006; Amira, 2008; Braia, 2009; Sifi, 2009; Hamdani, 2012).

Notre étude complète les travaux antérieurs réalisés dans ce cadre. Elle a pour objectif de décrire et de comparer chez *D. trunculus* pêché sur deux sites du golfe d'Annaba El Battah éloigné des sources de pollution et Sidi Salem situé à proximité de zones polluées les éléments suivants :

- Une étude de la dynamique des populations de *D. trunculus* en suivant la distribution des fréquences des classes de taille et les paramètres biométriques durant l'année 2011.
- Une étude enzymatique permettant d'analyser des biomarqueurs susceptibles de fournir une réponse précoce en présence de polluants par un dosage mensuel de l'acétylcholinestérase (AChE), biomarqueur de neurotoxicité, la glutathion S-transférase (GST), et la catalase (CAT) enzymes du stress oxydatif au cours de l'année 2012).
- Une étude de la composition biochimique des gonades mâles et femelles du *D. trunculus* durant deux périodes de reproduction (activité et repos sexuel) au cours de l'année 2013:
 - Dosage qualitatif des sucres par chromatographie sur couche mince (CCM).
 - Dosage qualitatif des acides aminés par chromatographie sur couche mince (CCM).
 - Dosage quantitatif du glycogène au niveau du mentaux, des gonades mâles et femelles et du corps entier.
 - Dosage qualitatif par chromatographie en phase gazeuse et quantitatif des acides gras.
- Une étude histologique des gonades mâles et femelles de *Donax trunculus*.

MATERIELS & METHODES

2. MATERIEL ET METHODES

2. 1. Présentation du modèle biologique:

L'embranchement des Mollusques (du latin molluscus = mou), l'un des plus anciens et des plus variés du monde animal, le deuxième embranchement le plus diversifié après celui des arthropodes, comprend plus de 100.000 espèces vivantes. Ses représentants habitent principalement le milieu marin, Ils peuvent être ovipares ou ovovipares.

L'espèce choisie pour cette étude est le mollusque bivalve *Donax trunculus* (Linnaeus, 1758), c'est une espèce bioindicatrice de la pollution. La classification des mollusques bivalves se base sur plusieurs critères à savoir, la forme de la coquille, la charnière et la structure des branchies (Bellon-humbert, 1992). La position systématique du *Donax trunculus* est la suivante (Inventaire nationale du patrimoine naturel de France, 2006):

Embranchement	: Mollusca
Classe	: Bivalvia
Ordre	: Veneroidae
Super-famille	: Tellinoidea
Famille	: Donacidae
Genre	: <i>Donax</i>
Espèce	: <i>trunculus</i> (Linnaeus, 1758)

2. 1. 1. Morphologie et anatomie

Donax trunculus, appelé communément Haricot de mer, ou Telline. Les pêcheurs français ont coutume de l'appeler également flion, olive de mer, haricot de mer, douçeron, blanchette (nord de la France), pignon (Vendée) et lagagnon (Landes), tanille, tenille, ou encore truille (sud de la France), aussi appelé « papillon » en raison de la forme des deux valves ouvertes. En Espagne il est commercialisé sous le nom de Tellerina (Catalan), Tallerines ou Coquina (Castillan). Il est dénommé aussi Edge shell en grande Bretagne, Tellina en Itali et Conquilha, Cadelinha au Portugal. Enfin, il est également consommé au Japon sous le nom de Naminoko. (Théband *et al.*, 2005), haricot de mer en Algérie.



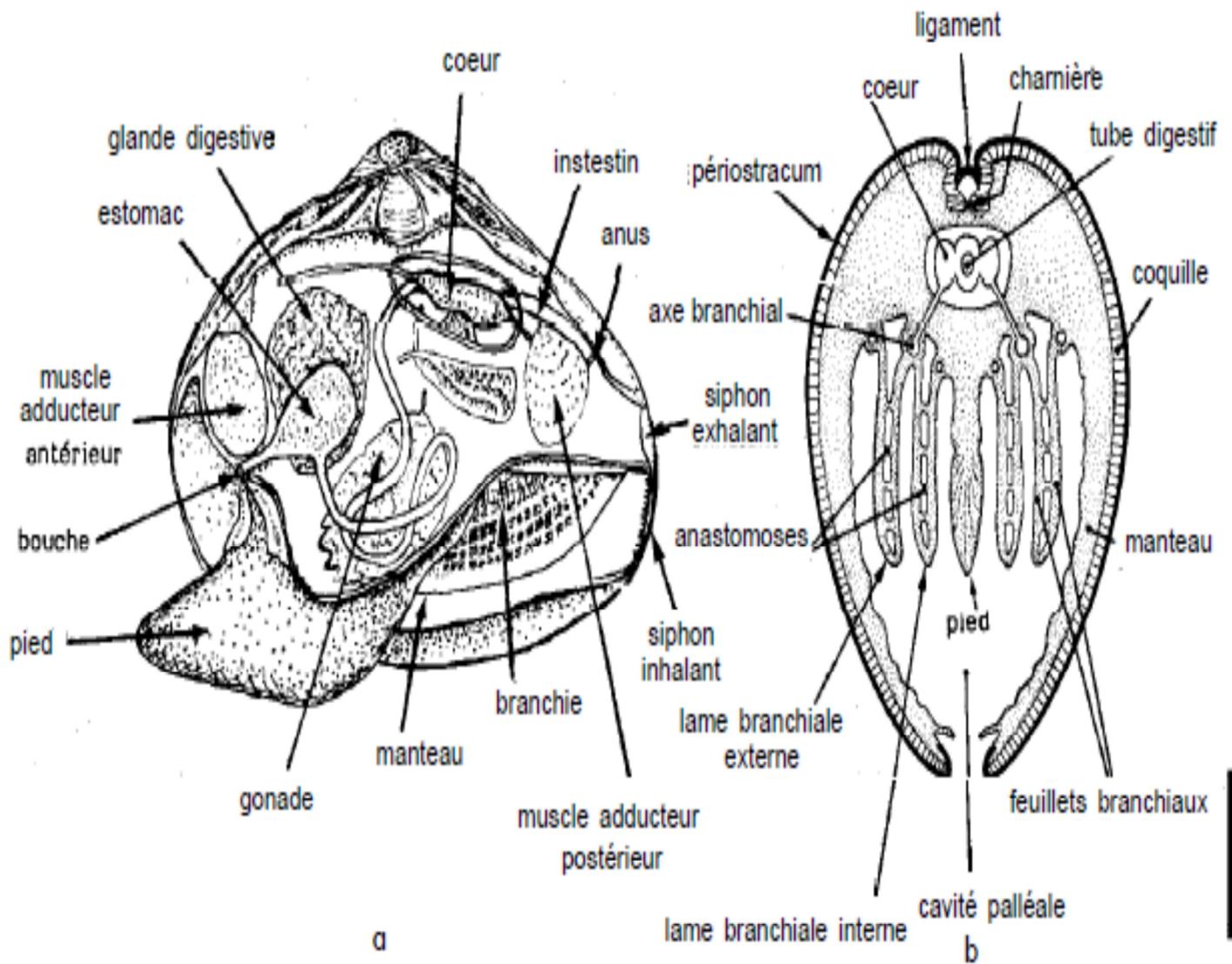
Figure 2. Phénotype de *D. trunculus*.

Donax trunculus, est un mollusque bivalve aquatique de la famille des Donacidae avec une taille qui varie de 25 à 35 mm, certains spécimens peuvent mesurer jusqu'à 5 cm. *D. trunculus* présente une symétrie bilatérale avec une coquille solide, peu renflée, allongée, triangulaire et inéquilatérale avec une partie postérieure plus courte que la partie antérieure (Poutier, 1978) (Fig. 3). Cette coquille est formée de deux valves reliées par un ligament externe, chaque valve possède deux dents au niveau de la charnière et plusieurs autres plus petites tout le long du bord latéral. La surface externe des valves est pratiquement lisse, de couleur blanche jaunâtre ou brunâtre, uniforme extérieurement; ou variablement ornée de rayons et de bandes concentrique généralement violacés, brunâtres, ou grisâtres; l'intérieur blanc, est souvent largement maculé de violet, brunâtre ou orangé en deux régions intégrales (Fischer *et al.*, 1987). Les deux valves s'articulent autour d'un dispositif appelé charnière et d'une structure élastique, le ligament. Sous l'action de ces valves, la coquille tend à s'ouvrir et à se refermer par contraction des muscles adducteurs qui s'insèrent sur la face interne des deux valves où leur empreinte est généralement visible (Bougis, 1976).



Figure 3. Aspect morphologique externe (A, Gr \times 2,5) et interne (B, Gr \times 2,5) de la coquille de *D. trunculus*.

D. trunculus présente un corps mou, non segmenté, comprimé latéralement, sans tête distincte (Acéphales) ni appareil masticateur; il est enveloppé par un manteau, constitué de deux lobes qui sécrètent et supportent chacune des valves de la coquille. Ces deux lobes (palléaux), fusionnés dorsalement entre eux et avec la masse viscérale délimitent ventralement une vaste cavité palléale interne en communication avec le milieu extérieur; ils sont étroitement attachés aux valves le long d'une ligne palléale. Les bords externes du manteau sont parfois plus ou moins soudés, formant à l'arrière deux siphons permettant l'entrée de l'eau dans la cavité palléale (siphon inhalant) ou son rejet vers l'extérieur (siphon exhalant) (Fisher *et al.*, 1987). Le pied, organe musculueux ventral mobile, parfois en forme de hache (pélécytopodes), permet la locomotion (fouissage) ou la fixation au substrat par des filaments (byssus). Il possède une paire de branchies respiratoires lamelleuses (Lamellibranches) qui participent aussi à la collecte de la nourriture par création de courants d'eau dans la cavité palléale. De plus cette espèce présente une masse viscérale englobant divers organes tels que la glande digestive (comporte un estomac avec un appendice posterodorsal gastrique et un intestin enroulé), la nourriture passe à travers le gros intestin et le rectum (Mikkelsen *et al.*, 2007), le cœur, les reins et les gonades (Ramon Herrero, 1993). (Fig. 4).



Anatomie générale des Bivalves

a. vue latérale interne après ablation du manteau et de la valve gauche

b. coupe transversale schématique

2. 1. 2. Répartition géographique

La distribution du *Donax trunculus* comprend la mer Méditerranée et la partie nord-est de l'Atlantique entre la France (Guillou & Le Moal, 1980) et le Sénégal (Fischer *et al.*, 1981). En Atlantique, ce Bivalve occupe essentiellement la partie intertidale des plages alors qu'en méditerranée, il se cantonne dans la partie superficielle de l'infra-littoral (Amouroux, 1974 ; Salas, 1987). Cette espèce est un important composant de la faune benthique infra-littorale, habitant les plages de sable fin, un habitat complexe et délicat (Ansell, 1983; McLachlan, 1990; Pavese *et al.*, 2007) caractérisé par un hydrodynamisme fort, source d'instabilité pour le sédiment qui l'abrite (Gaspar *et al.*, 1999). Ceci rend ce bivalve sensible à toute variation de facteurs abiotiques (température, salinité, oxygénation) (Fig. 5).



Figure 5. Distribution géographique du *Donax trunculus*.

(www.google.com)

2. 1. 3. Biotope

D. trunculus est une espèce fouisseuse que l'on retrouve sur les plages à sable fin, entre 0 et 2 m de profondeur en Méditerranée, et 0 et 5 m de profondeur en Atlantique (Massé, 1971; Amouroux, 1974; Salas-Casanova, 1987; Costa *et al.*, 1987; Neuberger-Cywiak *et al.*, 1990; Mariani *et al.*, 1998; Manca Zeichen *et al.*, 2002; Gaspar *et al.*, 2002; La Valle, 2006). Cette espèce apprécie la zone de déferlement des vagues où l'hydrodynamisme est fort, bénéficiant ainsi d'une bonne oxygénation. Elle résiste bien aux variations de salinité et de température. En revanche elle n'apprécie pas l'eau trop fraîche inférieure à 10 °C. Un environnement favorable rassemble souvent de très nombreux individus. Son pied puissant et la forme compressée de ses valves lui permettent de s'enfouir très rapidement dans le sédiment et de s'y maintenir solidement. En outre, *D. trunculus* est considéré comme un organisme sensible au substrat en raison de sa sensibilité aux variations granulométriques du sédiment au cours de son cycle de vie, en particulier au cours de ses premiers stades de croissance (de La Huz *et al.*, 2002). Guillou & Le Moal, (1980) ont constaté que *D. trunculus* s'installe préférentiellement sur du sédiment composé principalement de sable fin, dont la médiane granulométrique est de 0,12 mm. En Algérie, Degiovanni & Mouëza, (1972), ont observé que *D. trunculus* occupe une fraction granulométrique comprise entre 0,25 et 0,63mm pour un pourcentage qui varie de 70 à 91% du sédiment. D'après Mouëza (1972) la taille optimale des particules varie entre 0,50 et 0,40 mm au printemps et en été, et entre 0,30 et 0,25 pendant l'hiver.

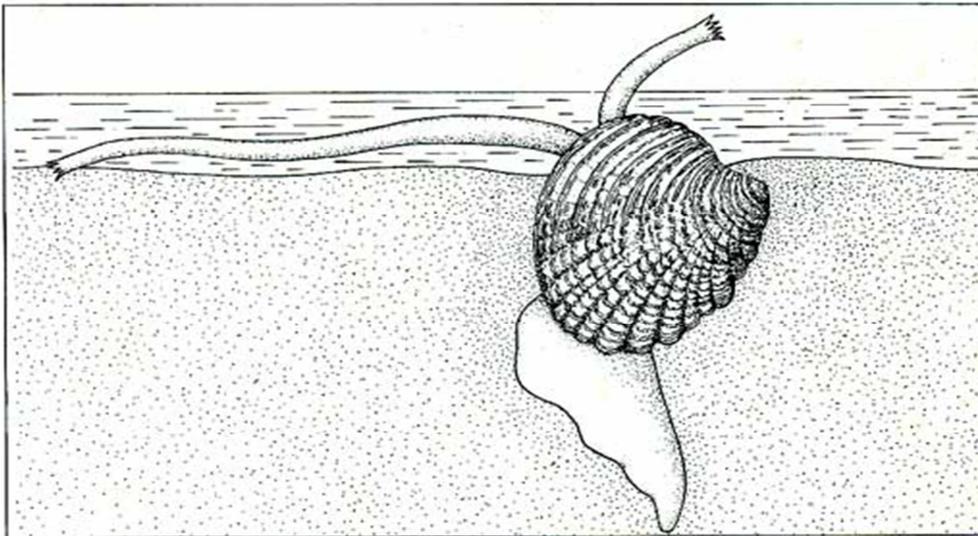


Figure 6. Représentation schématique de localisation de *Donax trunculus* dans son biotope (www.google.fr/image).

2.1.4. Nutrition

Les tellines sont des organismes ayant une éthologie alimentaire de type suspensivore, se nourrissant de phytoplancton et de matière organique (Mouëza & Chessel, 1976), la structure des siphons a montré que *D. trunculus* filtre ainsi les particules de matière organique en suspension les plus fines (Mouëza & Frenkiel, 1973). Il sélectionne sa nourriture en fonction du diamètre de ses siphons. Ce taxon colonise les zones de déferlement des vagues, là où l'hydrodynamisme favorise la présence des particules en suspension empêchant la sédimentation rapide de la matière organique (Degiovanni & Mouëza, 1972). Les particules nutritives sont acheminées vers la bouche tandis que les particules non sélectionnées sont éliminées sous forme de pseudo-fécès par le siphon exhalant. Dans le golfe d'Annaba les charges en matières en suspension sont importantes, elle sont de l'ordre de 15 mg /L à 35 mg/L (Bedi, 2007) riche en phytoplancton (Frehi *et al.*, 2004). Les individus de *D. trunculus* sont généralement les consommateurs fondamentaux dans les communautés inférieures molles, alors qu'ils sont à leur tour le sujet à la prédation par une grande variété d'invertébrés, poissons, oiseaux et mammifères (Luzzatto & Penchaszadeh, 2001 ; Peterson *et al.*, 2000 ; Salas *et al.*, 2001).

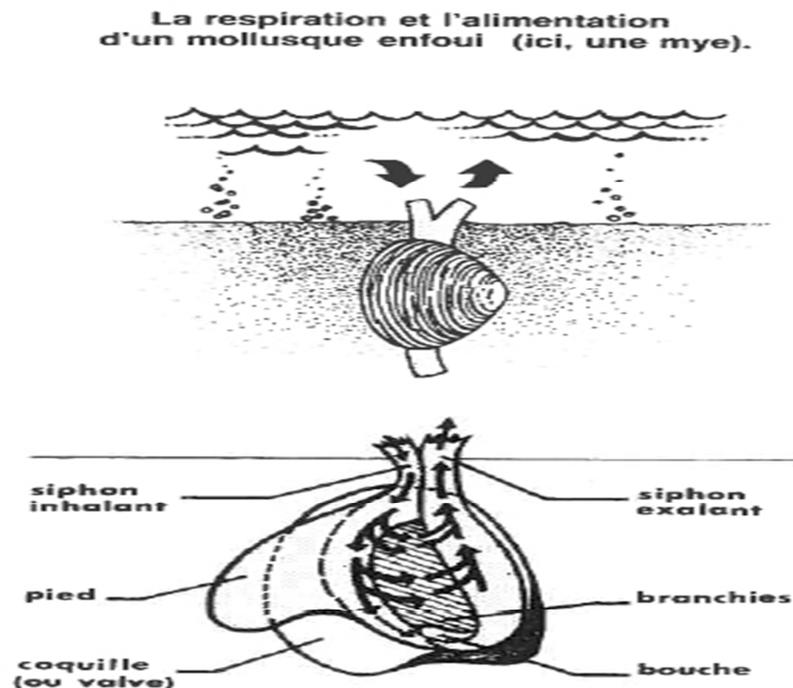


Figure 7. La respiration et l'alimentation d'un mollusque enfoui (www.google.fr/image).

2. 1. 5. Distribution spatiale

Les jeunes individus colonisent fréquemment le haut des plages en nombre important alors que les individus de plus grande taille se retrouvent plus en profondeur en densité plus faible. Les plus jeunes sont certainement poussés par le courant, en grandissant ils se déplacent vers le fond. Il est possible de déterminer approximativement l'âge du flion tronqué. En effet, la croissance du mollusque est ralentie voire arrêtée en période hivernale. Il apparaît alors sur la coquille une strie de croissance très sombre. En période estivale, la croissance reprend, la couleur de la coquille devient alors plus claire. Comme pour un arbre, en comptant le nombre des tries sombres on obtient son âge approximatif (Marobinet al., 2007). Un autre fait remarquable concerne la durée de vie de ce petit mollusque. Elle est d'autant plus courte que la température moyenne de l'eau de son habitat est élevée. En effet, plus l'eau est chaude, plus sa croissance est rapide mais plus sa vie est courte et inversement. En Bretagne, son âge peut atteindre un peu plus de 5 ans alors qu'au Maroc les individus de 4 années sont rares.

2. 2. Reproduction et Développement

D.trunculus est une espèce gonochorique dont la glande génitale est située au-dessus du pied (Fischer *et al.*, 1987). La glande génitale n'est pas un organe anatomiquement distinct; elle s'étend d'une façon diffuse dans la masse viscérale (Ramon *et al.*, 1999; Manca-Zeichen *et al.*, 2002; El Hamidi., 2003). *D.trunculus* ne présente aucun signe extérieur de dimorphisme sexuel, durant la phase du repos sexuel la distinction des sexes est donc impossible à l'œil nu (Gaspar *et al.*, 1999). La gonade se présente en un tissu blanchâtre étalé dans la masse viscérale sur les parois de l'intestin et du sac stylet en période de maturité sexuelle uniquement. Ainsi, à maturité, les sexes sont bien reconnaissables à l'œil nu mais d'une population à une autre, la description de la gonade est variable en ce qui concerne sa coloration, chez les populations méditerranéennes, il est possible de distinguer la glande génitale femelle, colorée en bleu nattier par pigmentation du vitellus et blanc crème pour la glande génitale mâle, (Moueza & Frenkiel-Renault, 1973; Ben Khadher-Dhaoui, 2001) (fig.8). Pour les populations atlantiques, la glande génitale femelle est de couleur violette et de couleur jaune-orange pour le mâle (Gaspar *et al.*, 1999). La maturité sexuelle est atteinte durant la première année de vie (Gaspar *et al.*, 1999). La taille des individus de la première maturité sexuelle est variable selon les populations étudiées, elle a été estimée à 16 mm de longueur sur les côtes algériennes (Moueza & Frenkiel-Renault, 1973); 14 mm sur les côtes portugaises (Gaspar *et al.*, 1999); 18,39 mm sur les côtes italiennes (Manca-Zeichen *et al.*, 2002); et 19 mm dans une étude ponctuelle conduite au niveau du golfe de Tunis (INSTM, 2005). Le développement des gonades suit le même rythme chez les deux sexes (Sastry, 1979). Les études concernant la reproduction du *D.trunculus* mettent l'accent sur la présence de deux stratégies de reproduction en fonction de la position

géographique des populations. La première concerne une population qui présente une gamétogénèse précoce déclenchée dès le mois de décembre et qui prend fin en juillet sur les côtes marocaine (Bayed, 1990) et en aout, aussi bien sur les côtes atlantiques portugaises (Gaspar *et al.*, 1999) que sur les côtes tunisienne (Ben Khadher-Dhaoui, 2003). Une deuxième stratégie est relative aux populations dont la gamétogénèse est tardive; elle débute en février et prend fin en septembre sur les côtes algériennes (Moueza & Frenkiel, 1973) et en juillet sur les côtes adriatiques italiennes (Manca-Zeichen *et al.*, 2002). Dans la plupart des études menées et quelle que soit la stratégie de reproduction adoptée chez *D.trunculus*, la période de repos sexuelle est limitée temporellement ou même totalement absente (Gaspar *et al.*, 1999; Manca-Zeichen *et al.*, 2002; Ben Khadher-Dhaoui, 2003; INSTM, 2005).

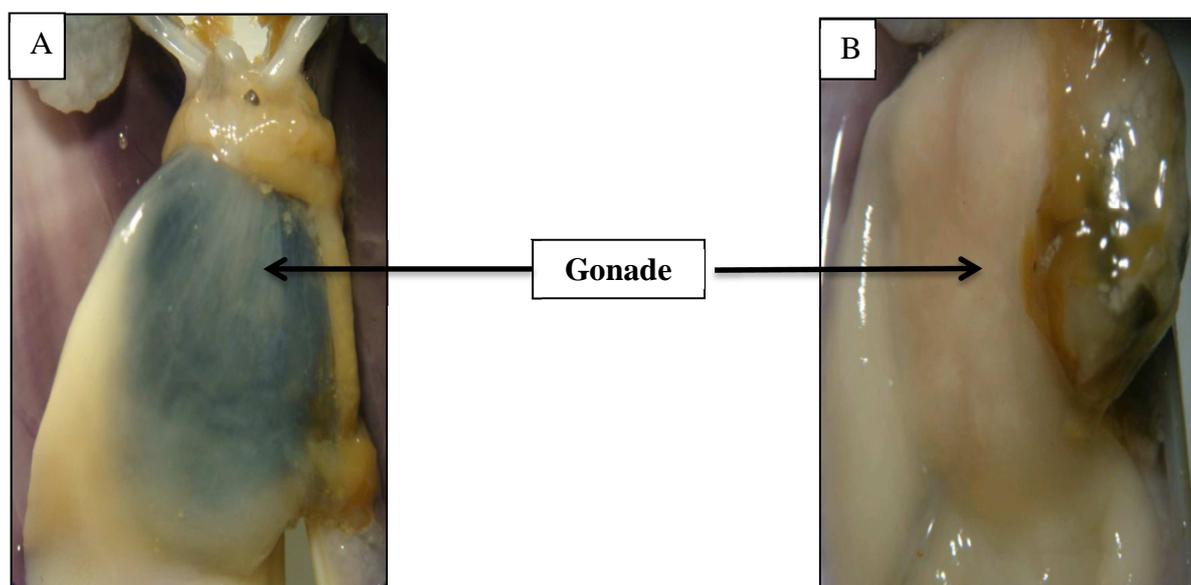


Figure 8. Aspect externe des gonades de *D. trunculus*: femelle (A, Gr \times 10) et mâle (B, Gr \times 8,75) de la coquille de *D. trunculus*.

2. 2. 1. Le cycle de reproduction

Le cycle de reproduction est déclenché par des variations brutales de la température et/ou de la salinité ; il peut aussi être déclenché par d'autres facteurs tels que le bloom phytoplanktonique ou la présence dans l'eau de gamètes d'individus de la même espèce (Gouletquer, 1997). La période d'activité sexuelle présente une période de repos durant l'automne et une période d'activité qui débute en hiver et qui se termine en été (Mouëza, 1971; Aouadene, 2003 ; Amira, 2008 ; Hamdani & Soltani-Mazouni, 2011 ;

Hamdani, 2013). D'après Neuberger-Cywiak *et al.* (1990) *D. trunculus* se reproduit à la fin de l'été, et pendant les mois de septembre à novembre, le pourcentage des individus juvéniles dans la population augmente considérablement. La période de reproduction de *D. trunculus* présente des variations au sein de son aire de répartition ; en méditerranée, le recrutement est bimodale (Ansell & Bodoy, 1979 ; Mouëza *et al.*, 1973 ; Ansell, 1983 ; La Valle, 2005 ; Ramon *et al.*, 1995 ; Beldi, 2007) alors qu'en Atlantique, il n'a lieu qu'une seule fois dans l'année. Comme bien des mollusques, la ponte est provoquée par un stress (choc thermique ou salin), les gamètes sont alors expulsés par le siphon exhalant. La fécondation est externe, les œufs mesurent environ 70 µm. Après une courte période de vie planctonique, la larve va se métamorphoser et adopter une vie benthique. D'après l'étude histologique menée sur les gonades dans le golfe d'Annaba (Hamdani & Soltani-Mazouni, 2011), le cycle de reproduction est décrit comme suit:

- La période de repos, débute en septembre jusqu'au mois de novembre où 100% des individus sont au stade 0.
- La période d'activité sexuelle s'étale de décembre à août: de décembre à février: reprise de l'activité sexuelle, les individus sont au stade I et II du cycle.

Du mois de mars au mois d'août: maturation des gonades. La gamétogenèse et la ponte se déroulent en même temps.

2. 2. 2. Cycle du développement

Les gamètes mâles et femelles de *Donax trunculus*, sont libérés dans le milieu marin à travers le siphon exhalant, où les œufs sont fécondés (fécondation externe). Ces derniers vont donner naissance à une blastula qui se développe en une larve nageuse, dite trochophore puis une première ébauche de coquille se développe et deux valves minéralisées se forment donnant la larve véligère, caractérisée par un velum servant d'organe natatoire, respiratoire et nourricier; lorsque la larve véligère est totalement formée, le velum se résorbe, les branchies apparaissent et le pied se développe ventralement, c'est le stade pédivéligère (Prieur, 1971); à ce stade la larve peut mener une vie de type planctonique pendant environ 6 mois, puis elle s'enfonce vers le bas et, après la métamorphose, commence sa vie benthique (Mouëza & Frenkiel-Renault, 1973). La métamorphose dure environ 19-23 jours à 21 °C (Otero, 1982).

En règle générale, sur les côtes méditerranéennes, les jeunes individus s'installent sur la couche superficielle et par la suite, et avec l'augmentation de la taille et de l'âge, les individus migrent plus profondément (La Valle, 2005). La durée du cycle de vie du *D. trunculus* est de 2 à 3 ans en méditerranée (Bodoy, 1982; Bayed et guillou., 1985, Ramon *et al.*, 1995) alors que celle-ci la longévité peut atteindre 4 à 5 ans sur les côtes atlantiques (guillou & Le Moal., 1980; Gaspar *et al.*, 1999) (Fig. 9).

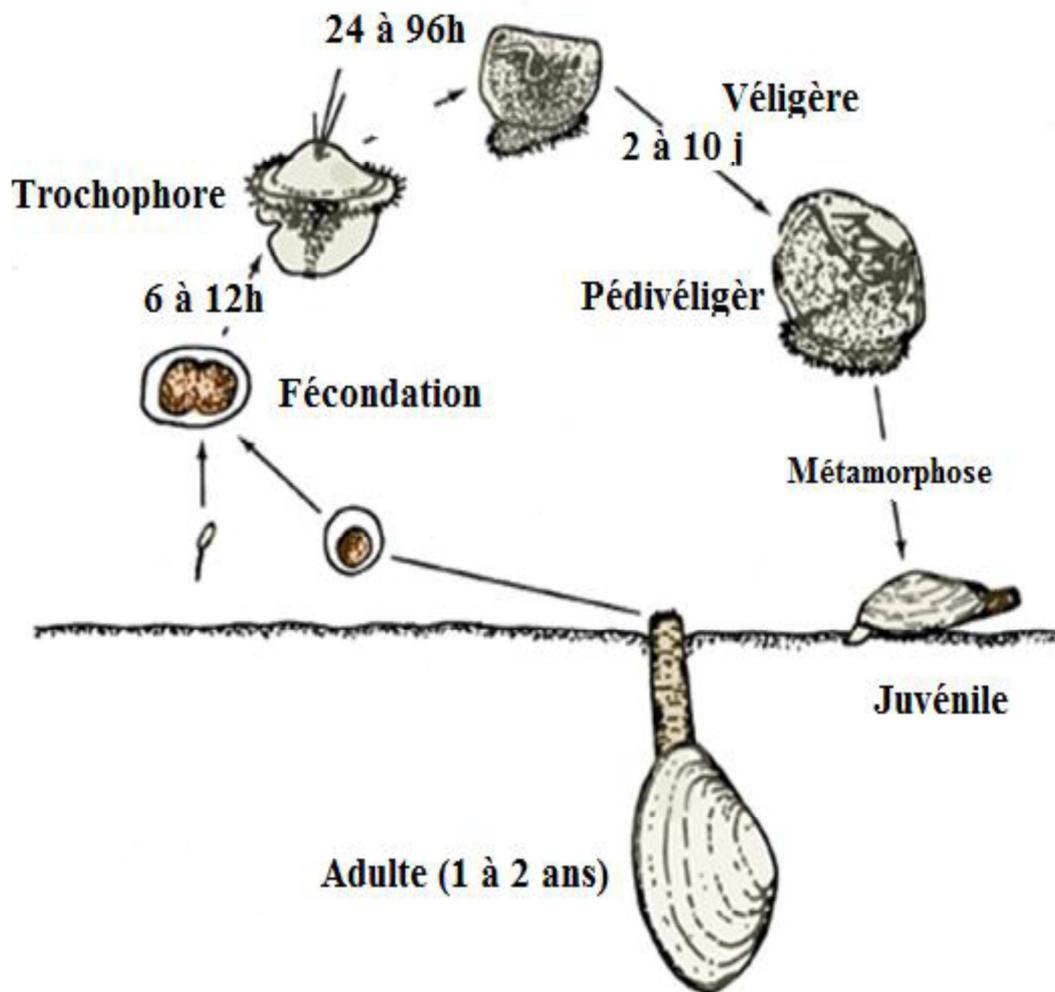


Figure 9. Cycle biologique d'un Mollusque Bivalve (<http://www.asnailsodyssey.com>).

2. 3. Présentation du golfe et des sites d'étude

Le golfe d'Annaba est situé à l'extrême Nord Est du littoral algérien, limité par le cap Rosa ($8^{\circ}15'$ E et $36^{\circ} 58'$ N) à l'Est, et par le cap de Garde ($7^{\circ} 16'$ E et $36^{\circ} 58'$ N) à l'Ouest (Fig. 10), distant de 40 Km, et une profondeur qui ne dépasse pas 65 m. Divers oueds se déversent dans la baie, dont les plus importants: l'oued Mafrag et l'oued Seybouse. Ces oueds apportent des matières minérales et organiques d'origine agricole et domestique (Khélifi-Touhami *et al.* 2006), des effluents urbains (Khammar, 2007) et industriels, en particulier les produits phytosanitaires de l'usine FERTIAL. Deux sites ont été choisis au niveau de la baie d'Annaba (El Battah et Sidi Salem) en raison d'une forte abondance du matériel biologique utilisé et du niveau de pollution.

2. 3. 1. Site d'El Battah

Le site d'El Battah (36°50' N et 7° 56' E) se trouve à l'Ouest de l'oued Mafrag, entre la plage de Chatt et le Cap rosa (Fig. 10), la plage d'El Battah est constituée de sables moyens dont le diamètre moyen est de 0,26 mm (Beldi, 2007). Il est pris comme site de référence en raison de son éloignement de toute source de pollution, et au régime hydrodynamique important auquel il est soumis. En effet, les courants qui découlent de la face Sud-Est du Cap de garde orientés d'Ouest en Est avec des vitesses fluctuantes selon les saisons, et pouvant atteindre 1m/s. Ces courants ont tendance à se propager dans l'échancrure du golfe, s'infléchissant vers le Sud-Est en direction d'oued Mafrag avec une intensité qui atteint 0,5 m/s; ces courants contribuent à la dilution des polluants dans ce site.

2. 3. 2. Site de Sidi Salem

Le second site est celui de Sidi Salem (36°50' N et 7°47'E) se trouve du côté Est de l'oued Seybouse (Fig. 10). Une étude granulométrique indique que la plage de Sidi Salem est composée de sable fin (Beldi, 2007). Ce site est caractérisé par la présence de lents tourbillons qui s'étendent au Sud et au Sud-Est du port empêchant une dilution efficace des polluants. Le site de Sidi Salem est considéré comme pollué car il reçoit par le biais de l'oued Seybouse, des déchets urbains et portuaires, en plus des rejets du complexe industriel FERTIAL spécialisé dans la production des produits phytosanitaires et des engrais.

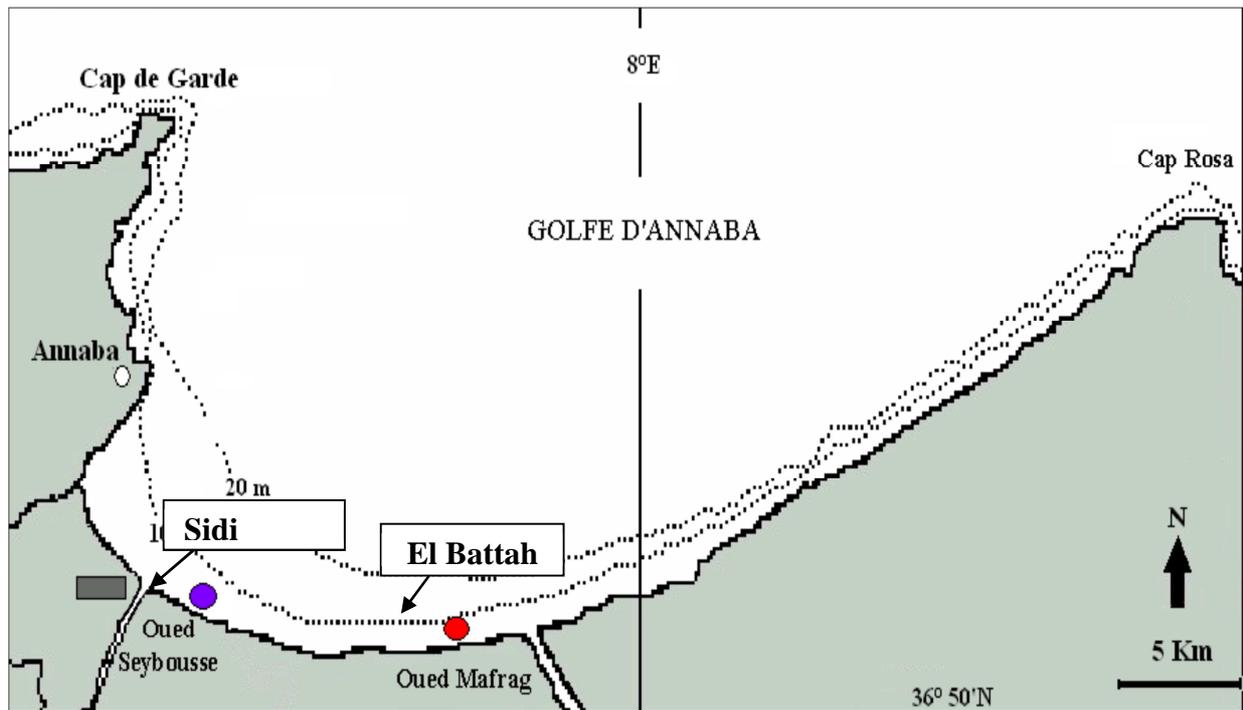


Figure 10. Localisation géographique du golfe d'Annaba et des sites d'échantillonnage.

2. 4. Stratégie d'échantillonnage de *Donax trunculus*

La collecte de *Donax trunculus* est effectuée à l'aide d'un râteau à main, couramment utilisés pour la pêche des mollusques, appelé communément "le cope" ou tellinier ; cet outil comporte deux parties, une partie métallique composée de deux arceaux réunis et d'une tôle dentée en métal sous forme de peigne armé de longues dents en fer; l'autre partie est constituée d'un filet dont le maillage ne doit pas être inférieur à 10 mm. Le râteau est pourvu d'un poignet de 1,5 m de long, ce qui permet de régler l'inclinaison des dents (Fig. 11).

L'échantillonnage est réalisé mensuellement pendant une période d'un an (Janvier - décembre 2011) au niveau des deux sites d'étude (El Battah et Sidi Salem). 100 individus sont pêchés mensuellement et d'une façon aléatoire au niveau de chaque site et durant l'année d'étude sur une profondeur de 7 cm dans le sable et une colonne d'eau de 1 à 1,5 m selon l'état de la mer. Les échantillons sont ensuite transportés au laboratoire dans des bacs en plastiques contenant de l'eau de mer. L'étude biométrique, la dissection et le prélèvement du manteau et des gonades sont réalisés le jour même de la pêche pour éviter l'effet du jeûne et une émission éventuelle des gamètes due au stress; ce qui peut diminuer le poids de la masse molle totale (Beninger & Lucas, 1984).

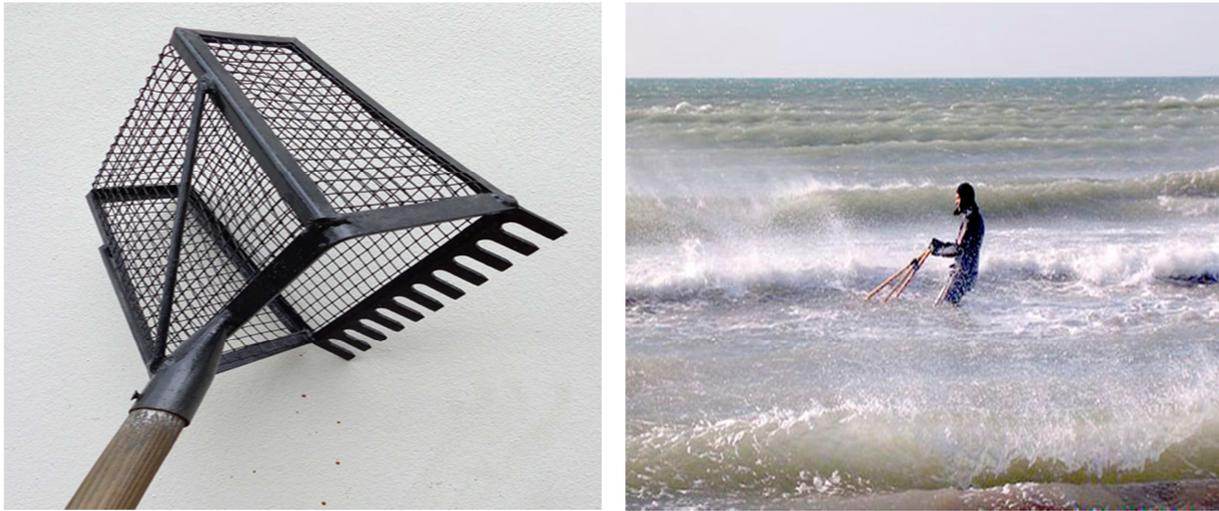


Figure 11. Description d'un tellinier (A) et du déroulement de l'opération de pêche (B) (www.google.fr/image).

2. 5. Biométrie et croissance du *Donax. Trunculus*

Les individus de *D. trunculus* sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse permettant d'obtenir une précision de 1/10 mm, et classés selon:

- La longueur antéro-postérieure (L): correspondant à la plus grande distance séparant le bord antérieur du bord postérieur de la coquille; dans le but de déterminer les relations biométriques chez *D. trunculus*.
- La mesure de la hauteur (H): qui va de la charnière dorsale au bord ventral.
- L'épaisseur (E) qui est la largeur maximale de la convexité des deux valves réunies (Fig. 12).
- Un seul paramètre pondéral est pris en considération dans cette étude, est celui du poids total frais (Pt-f), qui correspond à la somme du poids frais de la coquille, du poids frais de la chair et celui de l'eau intervalvaire. Ce paramètre est déterminé à l'aide d'une balance de précision (Sartorius H110, précision 0,1mg).

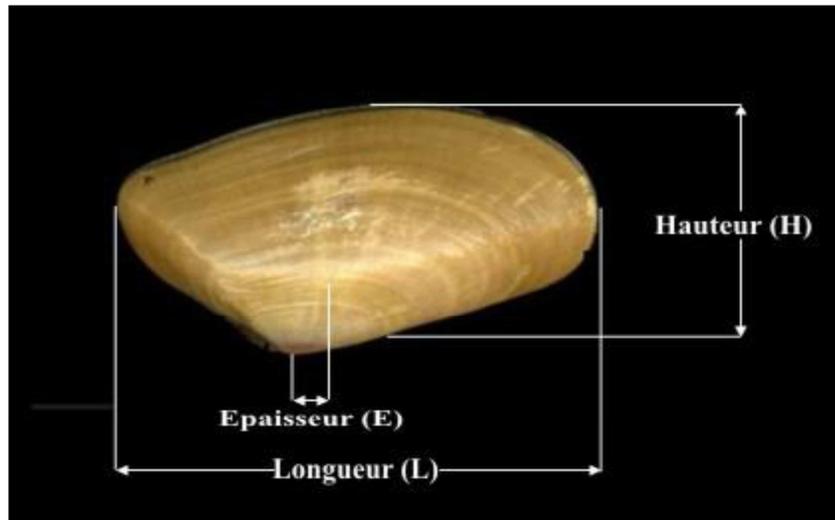


Figure 12. Paramètre linéaires considérés pour l'étude biométrique de *D. trunculus*.

2. 6. Dissection et prélèvement des tissus

Les dosages biochimiques et enzymatiques ont été effectués sur des individus vivants ayant une taille moyenne de 26 ± 1 mm (correspondant à la classe de taille la plus fréquente et la plus abondante tout au long de l'année).

2. 6. 1. Dissection et prélèvement du manteau

Après ouverture des valves de la coquille, le manteau est prélevé et débarrassé des siphons puis séparé verticalement en deux moitiés où, chaque moitié servira à un dosage biochimique différent (Fig. 13), le prélèvement du manteau est réalisé mensuellement sur des individus de chaque site.



Figure 13. Morphologie externe du manteau de *D. trunculus* (Gr $\times 2,5$).

2. 6. 2. Dissection et prélèvement des gonades

La méthode de prélèvement a été décrite par Enriquez-Diaz (2004) et Royer et al (2008), un fragment de tissu est prélevé de façon perpendiculaire à l'axe longitudinal de la masse viscérale (l'axe antéro-postérieur) à l'aide d'un scalpel. La coupe est localisée au milieu de la gonade (Fig 14). Le prélèvement de la gonade a été réalisé par période de reproduction, par site et par sexe soit pour l'étude microscopique soit pour le dosage biochimique.

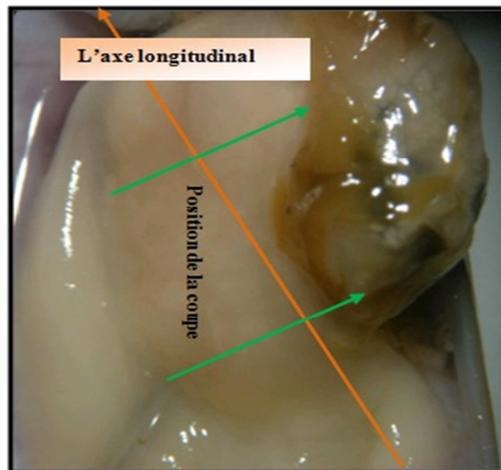


Figure 14. Positionnement de la coupe.

2. 7. Dosage des biomarqueurs du stress environnemental

2. 7. 1. Dosage de l'acétylcholinestérase

La méthode de dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) la plus courante est celle d'Ellman *et al.*, (1961). Elle consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ASCh), dont l'hydrolyse catalysée, libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide; révèle l'activité enzymatique de l'AChE grâce à une méthode colorimétrique faisant intervenir un ion (le dithiobisnitrobenzoate ou DTNB) qui se lie avec la thiocholine pour former un complexe de couleur jaune que l'on dose à 412 nm.

Les manteaux sont homogénéisés dans 1 ml de solution détergente (38,03 mg éthylène glycol tris-beta aminoéthyl éther NNN'N' ou EGTA, 1 ml triton X 100%, 5,845 g NaCl (1 N), 80 ml tampon tris 10 mM à pH 7) à l'aide d'un homogénéiseur à ultrasons puis centrifugés à 9000 tours/mn pendant 15 mn. Le surnageant est utilisé immédiatement comme source d'enzyme pour la mesure de l'activité AChE.

L'activité spécifique de l'AChE est déterminée comme suit: 100 µl du surnageant sont additionnés à 100 µl de DTNB (39,6 g de DTNB, 15 mg CO₃HNa, dans 10 ml de tampon tris 0,1 M, pH 7) et 1 ml du tampon tris (0,1 M, pH 7). Après 3 à 5 mn de repos nécessaire pour épuiser la réaction spontanée, 100 µl du substrat acétylthiocholine iodide (Sigma R) (118 mg ASCh dans 5 ml d'eau distillée) sont ajoutés. La lecture des densités optiques, s'effectue à 412 nm toutes les 4 minutes pendant 20 minutes contre un blanc où le surnageant a été remplacé par un volume équivalent de solution détergente (100 µl). L'activité spécifique de l'AChE est déterminée par la formule suivante:

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

ΔDO : Pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

V_t : Volume total de la cuve (0,1 ml du surnageant + 0,1 ml du DTNB + 1 ml tampon tris + 0,1 ml du substrat ASCh).

V_s : Volume du surnageant (0,1 ml).

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

2.7. 2. Dosage de la glutathion S-transférase

La mesure de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) consiste à fournir à l'enzyme un substrat, en général du CDNB (chlorodinitrobenzène), qui réagit facilement avec de nombreuses formes de GST et de glutathion. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une molécule nouvelle qui absorbe la lumière à une longueur d'onde de 340 nm. La valeur de densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé elle-même liée à l'intensité de l'activité GST (Habig *et al.*, 1974).

Les échantillons sont homogénéisés dans 1 ml du tampon phosphate (0,1 M, pH 6) à l'aide d'un broyeur à ultrasons dans une cuve remplie de glace. L'homogénat ainsi obtenu est centrifugé à 14000 tours/mn pendant 30 mn et le surnageant servira au dosage de l'activité de la GST.

La méthode utilisée dans notre dosage consiste à faire agir les GSTs contenus dans l'échantillon, sur un mélange de GSH + CDNB, à une température ambiante, le protocole utilisé pour le dosage de l'activité spécifique de la GST est le suivant: Une fraction aliquote de 0,2 ml est ajoutée à 1,2 ml du mélange CDNB (1 mM) - GSH (5 mM); (4,052 mg CDNB, 30,73 mg GSH, 0,8 ml d'éthanol; 20 ml tampon phosphate 0,1 M, pH 6). La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec 0,2 ml d'eau distillée remplaçant le surnageant. La variation de la densité optique due à l'apparition du complexe CDNB-GSH est mesurée toutes les minutes pendant 5 min à 340 nm dans un spectrophotomètre UV. L'activité spécifique de la GST est déterminée par la formule suivante:

$$X (\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta\text{DO}/\text{mn} \times V_t}{9,6 \times V_s} / \text{mg de protéines}$$

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

9,6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB.

V_t : Volume total de la cuve 1,4 ml (0,2 ml du surnageant + 1,2 ml du mélange CDNB/GSH).

V_s : Volume du surnageant dans la cuve (0,2 ml).

2. 7. 3. Dosage de la catalase

Le dosage de la Catalase (CAT) est réalisé selon la méthode de Claiborne (1985). Cette méthode est basée sur la mesure spectrophotométrique de la réduction de l'eau oxygénée (H₂O₂) en une molécule d'oxygène (O₂) et deux molécules d'eau (H₂O) en présence de la CAT à une longueur d'onde UV de 240 nm. La moitié de chaque manteaux dosage est homogénéisée dans 1 ml de tampon phosphate (100 mM, pH 7,4), puis centrifugés à 15000 trs/min, pendant 10 min. Le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme.

Le dosage de l'activité CAT s'effectue dans une cuve en quartz à 25°C, sur une fraction aliquote de 50 µl du surnageant dilué de façon à se situer entre 1 et 1,5 mg de protéines/ml, soit 0,05 à 0,75 mg dans la cuve, à laquelle on ajoute 750 µl de tampon phosphate (100 mM, pH 7,4), et 200 µl H₂O₂ (500 mM) préparé extemporanément [1,42 ml eau oxygénée à 30 volumes (gardé en chambre froide), 25 ml tampon phosphate (100 Mm pH 7,4)]. Après agitation, la lecture est effectuée au spectrophotomètre. L'activité décroît rapidement, il est donc important de mettre toujours le même temps entre le pipetage du surnageant et le moment où on place la cuve dans le spectrophotomètre.

La lecture des absorbances est effectuée après 15 secondes toutes les 5 secondes pendant 30 secondes à une longueur d'onde UV de 240 nm contre un blanc avec 800 µl de tampon phosphate (100 Mm, pH 7,4), et 200 µl de H₂O₂. L'activité spécifique de la CAT est déterminée par la formule suivante:

$$X (\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta\text{Do}/\text{mn}}{0,040} / \text{mg de protéines}$$

Do max : densité optique maximum obtenue.

Do min : densité optique minimum obtenue.

0,04: coefficient d'extinction molaire du peroxyde d'hydrogène (cm⁻¹. mmole⁻¹.l).

2.7. 4. Dosage des protéines

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976) sur une fraction aliquote de 100 µL de l'homogénat avec 4 ml de bleu brillant de coomassie (BBC), la solution de BBC se prépare comme suit: 50 mg de bleu brillant de coomassie (G250), 25 ml d'éthanol (95 %), après une agitation de 2 heures on ajoute, 50 ml d'acide orthophosphorique (85 %) et on complète à 500 ml d'eau distillée. La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 595 nm et la gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution Albumine de sérum de boeuf (BSA) comme standard (1mg /1ml) (tableau 1):

Tableau 1: Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.

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

2. 8. Dosage biochimique

2. 8. 1. Dosage qualitatif des acides gras

L'extraction des acides gras des gonades a été réalisée selon la méthode de Bligh& Dyer (1959).

Extraction des lipides totaux :

- Les échantillons sont extraits dans 100 µl d'étalon interne C15:0 (2µg/µl). (BROYAGE)
- **Ajouter:** 2 ml de méthanol ; 1ml de chloroforme (vortex 2min) + 1ml chloroforme; 0,8 ml de NaCl 2M (vortex 2min) + 1V Chloroforme / 1V méthanol /0,9 V NaCl 2M.
- Centrifuger 2min à 2500 rpm (séparation de phases).
- Récupérer la phase inférieure chloroformique dans un tube en verre avec une pipette pasteur et une propipette. Tout en plongeant la pipette, chasser les bulles d'air ; avant de retirer attendre quelques secondes afin que le niveau se stabilise. Vérifier que la phase est limpide sans bulle d'air (= eau). Sinon, éliminer la phase supérieure en aspirant la surface ou revortexer l'échantillon.
- Sécher complètement sous azote (régler le souffle de façon à ce que la surface bouge).

On effectue ensuite une méthylation au BF₃ (Boron trifluoride - méthanol):

- Ajouter 1ml NaOH méthanolique 0,5 N puis fermer sou azote.
- Incuber 20 min à 80°C puis refroidir dans la glace ou sous l'eau froide (choc thermique).
- Ajouter 2ml BF₃ (sortir le produit du frigo un peu à l'avance) et fermer sous azote.
- Incuber 15 mn à 80°C puis choc thermique.
- Ajouter 2ml NaCl saturé et d'hexane (hauteur d'un doigt) puis vortex 2mn.
- Prélever la phase supérieure hexanique dans un tube en verre pour CPG.

Pour l'analyse des acides gras, des échantillons ont été séchés sous N₂ dans un tube en Téflon. Transestérifiées en esters méthyliques avec 14% de trifluorure de bore et analysé comme Clarus 500 chromatographe en phase gazeuse (GC) (Perkin Elmer) équipé d'un auto-injecteur et la colonne de -silica fusionné flexible (30m * 0,32 mm id * 0,25 m) revêtu de polyéthylène glycol (CP Wax 52 CB Agilent). Les paramètres de fonctionnement pour la GC étaient identiques à celles décrites par (Budg et Parrish, 1983). En bref, la vitesse d'écoulement du gaz porteur d'hélium était de 3 ml / min. La température de la colonne a été programmée pour maintenir à 85 ° C pendant 0,5 min, pour s'élever à 195 ° C et maintenir pendant 15 minutes après la rampe à 40 ° C / min et de tenir à 215 ° C pendant 0,75 minutes après rampe à 2 ° C / min. La température de l'injecteur est passé de 150 à 250 ° C à 200 ° C / min. Le détecteur à ionisation de flamme a été maintenu à 260 ° C tout au long de l'analyse. Les acides gras ont été identifiés par comparaison des temps de rétention avec quatre étalons d'acides gras commerciaux.

2. 8. 2. Dosage des sucres

a- Dosage qualitatif des sucres

Il a été réalisé par chromatographie sur couche mince (CCM). Le principe de cette chromatographie de partage (liquide – liquide) consiste en une migration différentielle des produits selon leur masse moléculaire.

Mode opératoire :

Sur une plaque de gel de silice (Schleicher et Schüll F-1500) de 10 x 10cm, on dépose à l'aide d'un capillaire, un volume approximatif de 50 µl de milieu réactionnel des échantillons, du blanc et un mélange de six témoins T1: Fructose, T2: Glucose, T3: Saccharose, T4: galactose, T5: Manose, T6: Arabinose et. La plaque chromatographique est ensuite mise dans la cuve de migration contenant le solvant suivant : n-butanol, acide acétique, Eau (4, 1, 5.V/V).

Après 4 heures de migration, la plaque de silice est séchée sous hotte, puis pulvérisée avec une solution d'acide sulfurique à 20ml dans l'éthanol à 8 ml. La plaque est enfin chauffée dans une étuve à 100°C pendant 5 à 10 minutes environ. Les produits donnent des taches noires sur le chromatogramme selon la réaction furfuralique basée sur la déshydratation des oses en milieu acide fort et à chaud.

Le calcul des RF (rapport frontal) de chacun des solutés permet d'identifier l'oligomère.

b- Dosage de Glycogène

Le dosage a été réalisé selon la technique de Van Handel (1964) qui utilise comme solution standard le glycogène (1mg/ml) et comme réactif l'antrone a 150mg, 25ml H₂O, 75ml d'acide sulfurique concentré. (Fig.15).

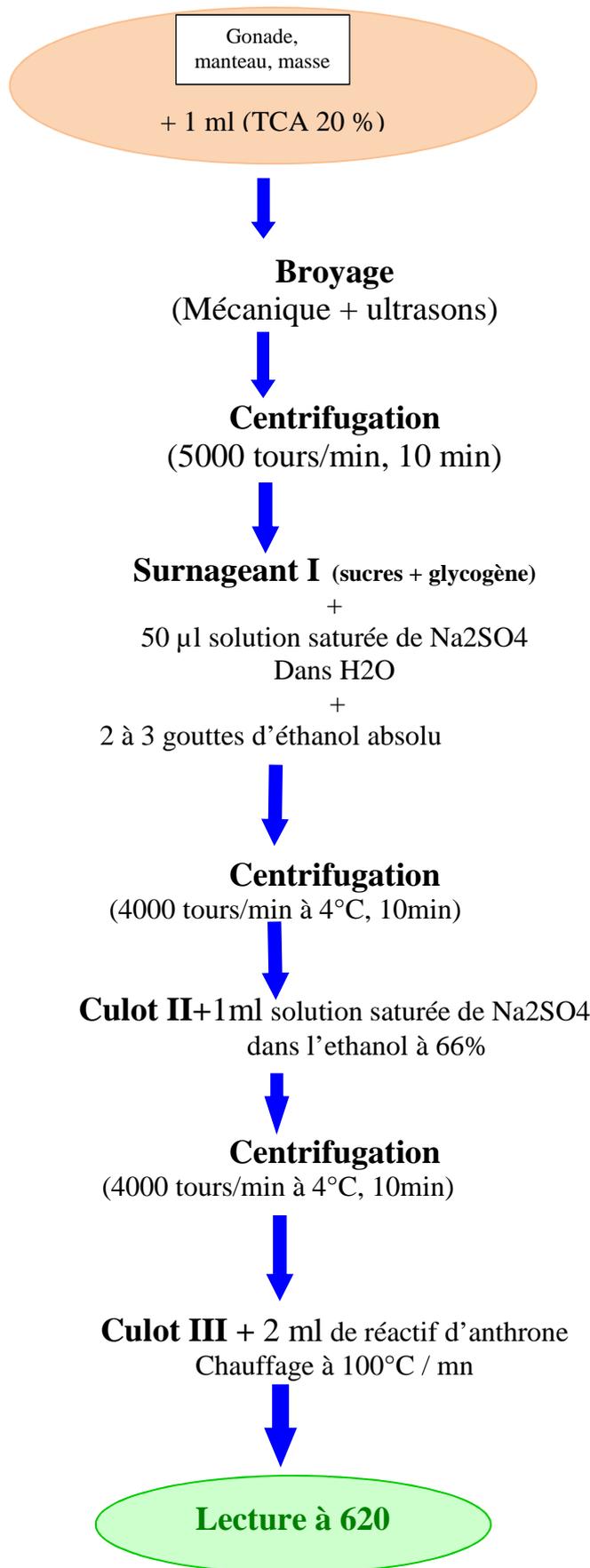


Figure.15. Principale étapes de dosage de glycogène (Van Handel, 1964).

2. 8. 3. Dosage qualitatif des acides aminés

Il a été réalisé par chromatographie sur couche mince (CCM).

Le principe de cette chromatographie de partage (liquide – liquide) consiste en une migration différentielle des produits selon leur masse moléculaire.

Mode opératoire :

Sur une plaque de gel de silice (Schleicher et Schüll F-1500) de 10 x 10cm, on dépose à l'aide d'un capillaire, un volume approximatif de 20 µl de milieu réactionnel des échantillons, du blanc et un mélange de trois témoins T1: Arginine, T2: Alanine, T3: Valine : T4: lysine, T5: Leucine, T6: Isoleucine. La plaque chromatographique est ensuite mise dans la cuve de migration contenant le solvant suivant : n-butanol, acide acétique, Eau (4, 1, 5.V/V).

Après 4 heures de migration, la plaque de silice est séchée sous hotte, puis pulvérisée avec une solution de Ninhydrine. La plaque est enfin chauffée dans une étuve à 90°C pendant 5 à 10 minutes environ. Les produits donnent des taches colorées sur le chromatogramme

Le calcul des RF (rapport frontal) de chacun des solutés permet d'identifier l'oligomère.

2. 9. Etude Histologique

Le protocole histologique est réalisé selon Martoja et Martoja (1967)

- **Fixation:** Le fragment de la gonade est placé dans une cassette d'histologie, et conservée dans un fixateur d'histologie le liquide de Bouin alcoolique durant 48 heures.
- **Pré inclusion:** Les échantillons ont ensuite été déshydratés dans deux bains successifs d'éthanol et de trois bains de butanol, pour finalement être imprégné dans la paraffine, quatre bains de 24h ont été effectués.
- **Inclusion:** Les tissus imprégnés de paraffine doivent ensuite être inclus dans un bloc de paraffine, que l'on moulera autour des tissus sur le banc d'inclusion. Le socle du moule est constitué par la cassette d'histologie annotée afin de conserver la référence de l'individu. Une fois solidifié, le bloc de paraffine est débité en prisme autour du fragment de tissus.
- **Réalisation des coupes:** Les blocs de paraffine contenant les tissus sont coupés à l'aide d'un microtome. Ils sont d'abord dégrossis jusqu'à ce que la coupe passe par la totalité de la section de masse viscérale, puis coupés à 3 µm d'épaisseur, les coupes sont déposées sur une lame de

microscope. Les coupes sont ensuite étalés à l'aide d'une plaque chauffante à 30°C et sécher à l'étuve de 60°C pendant 1 heure

- **Coloration:** Afin d'obtenir une coloration contrastée des tissus reproducteurs, on utilise une coloration hématoxyline-éosine Martel (2005). Les tissus sont déparaffinés par des bains successifs de xylène, puis hydratés dans l'alcool avant d'être plongés dans les colorants, et rincés par des bains d'alcool, puis xylène (voir Tableau 2).

Tableau 2. Principale étapes de coloration par hématoxyline-éosine selon Martel (2005).

Étapes de coloration (Hématoxyline et éosine)	
Xylène	5 minutes
Xylène	5 minutes
Ethanol 100°	5 minutes
Ethanol 100°	5 minutes
Ethanol 100°	5 minutes
Rincer à l'eau du robinet	3 minutes
Colorer avec l'hématéine de Harris	15 minutes
Laver les coupes à l'eau du robinet	3 minutes
Bleuir dans l'eau ammoniacale	2 secondes
Laver à l'eau du robinet	15 minutes
Colorer dans une solution d'éosine	15 minutes
Ethanol 100°	5 minutes
Ethanol 100°	5 minutes
Acétone /xylène (v/v)	5 minutes
Xylène	5 minutes
Montage des lames avec baume de canada	

Les préparations histologiques ont été observées sous un microscope Leica avec trois objectifs selon la taille des cellules (10X, 20X et 40X). Le microscope été muni d'une caméra vidéo afin d'enregistrés les images.

2. 10. Analyse statistique

Les données sont représentées par la moyenne arithmétique plus au moins l'écart type ($m \pm SD$) établie sur un effectif ou un nombre de répétitions précisées dans les tableaux et les figures. Les analyses statistiques ont été réalisées grâce à un logiciel MINITAB (Version 16, Penn State College, PA, USA) disponible au Laboratoire de Biologie Animale Appliquée.

2. 10. 1. Test d'égalité de la variance

Ce test permet de vérifier l'homogénéité des variances par les tests de Bartlett et Levene; dans le cas de non égalité des variances, une normalisation des données est alors effectuée (Dagnelie, 2009). Les variances sont considérées comme significatives lorsque la significativité présente une probabilité inférieure ou égale à 5% ($p < 0,05$).

2. 10. 2. Régression linéaire et corrélation

L'analyse consiste à étudier la netteté des relations d'interdépendance et de corrélation entre les différentes variables : longueur (paramètre linéaire) en fonction du poids total frais (paramètre pondéral) pour l'étude de la croissance. De plus, cette analyse statistique permet de déterminer les différentes équations de régression linéaire au sens des moindres carrés et les coefficients de détermination ajustés (R^2) du type $y = ax + b$. Ces équations sont utilisées d'une part dans la détermination des courbes d'étalonnage, et d'autre part dans le calcul des activités enzymatiques de l'AChE, la GST et CAT et l'activité biochimiques.

2. 10. 3. Analyse univariée

L'analyse univariée permet d'une part, de comparer deux à deux entre les deux sites par le test t de Student, en étudiant les différentes variables biométriques (longueur, épaisseur, hauteur, poids total), et la réponse des différents biomarqueurs (AChE, GST, CAT), et d'autre part d'évaluer les effets: mois, saison, année des différents résultats pour chaque site. La comparaison intrasite consiste à comparer entre les mois et les saisons d'un même site et pour la même année pour tous les résultats obtenus par application du modèle linéaire généralisé (GLM) additionné au test HSD (honest significant difference) de Tukey permettant ainsi de classer les mois, les saisons et les années selon leurs réponses aux différents paramètres étudiés (Hsu, 1996). La comparaison intersites consiste à comparer entre les mois, les saisons et les années des deux sites d'études, deux à deux à l'aide de test t de Student indépendant pour la même année.

2. 10. 4. Analyse de la variance multivariée et analyse hiérarchique

L'Analyses de la variance multivariée (MANOVA) est une extension naturelle de l'ANOVA en cas où plusieurs paramètres sont observés simultanément sur les mêmes individus. La MANOVA prend en compte les corrélations qui existent entre les différentes étudiées (paramètres biométriques, la réponse des biomarqueurs) (Palm, 2000). Elle a pour but de discerner éventuellement l'impact de la pollution sur la structure et la physiologie des populations de *D. trunculus* au sein des deux sites étudiés (El Battah, Sidi Salem). La MANOVA comprend trois tests qui sont: Wilk's Lambda, Lawly-Hotteling et Pillai's Trace. Cependant, aucun de ces tests n'est considéré comme étant le plus puissant et aucun ne peut être recommandé de manière préférentielle (Dagnelie, 1986). Selon Huberty (1994) le test de Wilk's est le plus populaire.

L'analyse hiérarchique nous permet de classer les différentes saisons dans chaque site selon leurs réponses aux différents paramètres étudiés. Il consiste à définir le critère de regroupement de deux classes afin de les fusionner, on les fusionne jusqu'à ce qu'il n'y ait plus qu'une seule classe (Bouroche & Saporata, 1980), cette classification est basée sur le degré de similarité entre les classes et doit satisfaire à deux conditions : La cohésion, c'est à dire une homogénéité à l'intérieur des classes et L'isolement ou hétérogénéité entre les classes. Cette hiérarchie est représentée graphiquement par un arbre ou dendrogramme.

RESULTAS

3. RESULTATS

3. 1. Etude de la Distribution des fréquences de taille

Le suivi temporel de la structure de population permet d'étudier la croissance à travers la détermination des périodes de recrutement. Ceci correspondant à l'apparition des nouveaux individus à partir des histogrammes de distribution des classes de taille de la longueur antéropostérieure. L'amplitude des classes de taille utilisée est de 2 mm (Bayed & Guillou, 1985).

Les figures 16 et 17 représentent les histogrammes relatifs à la distribution mensuelle des classes de taille obtenues de janvier à décembre 2011 chez *D. trunculus* recueillis dans deux sites du golfe d'Annaba: El Battah et Sidi Salem. L'évolution mensuelle des fréquences de taille montre une différence entre les deux sites d'étude. En effet, de janvier à février on enregistre des classes de taille qui varient de [18-20[mm à [26-28[mm pour le site d'El Battah avec une dominance de la classe de taille [22-24[mm. Au mois de mars le polygone s'étale jusqu'à la classe de taille [32-34[mm avec une dominance des classes de tailles [24-26[et [26-28[mm. Pour le site de Sidi Salem les classes de taille varient entre [18-20[mm et [30-32[mm du mois de janvier à mars avec une dominance de la classe de taille [22-24[mm au mois de janvier et février et une dominance de la classe [26-28[au mois de mars. Durant les mois d'avril et mai, les classes de tailles varient de [22-24[à [30-32[avec une dominance des classes de tailles [24-26[et [26-28[au mois d'avril et de la classe de taille [26-28[au mois de mai au niveaux des deux sites. Au mois de juin, le polygone se déplace vers la droite avec l'apparition des individus de la classe [34-36[mm à Sidi Salem et les classes de tailles commencent de [24-26[avec une dominance des classes de taille [26-28[et [28-30[au niveau des deux sites. Au cours de ce mois, l'évolution des classes de taille continue dans les deux sites indiquant une croissance des individus. Durant les mois de juillet et août on révèle un retour des classes de taille [22-24[avec une dominance de la classe de taille [24-26[mm contre une dominance des classes de tailles [26-28[et [28-30[mm au mois de juillet à Sidi Salem. A partir du mois de septembre jusqu'au mois d'octobre, on enregistre des classes de taille variant entre [18-20[mm et [28-30[mm dans les deux sites, avec l'absence des classes de taille [18-20 [et [22-24[au mois de septembre pour le site d'El Battah et [28-30[mm au mois d'octobre pour le site de Sidi Salem . Au niveau du site El Battah, un effectif plus élevé de la classe [26-28[mm est enregistré au mois de septembre, le mois d'octobre montre une dominance des classes [20-22[mm, [26-28[mm. Concernant le site de Sidi Salem, on remarque une répartition différente des classes de taille entre les deux mois avec une dominance de la classe [24-26[. Au mois de novembre on remarque un décalage des polygones vers la droite de [18-20[mm à [30-32[mm à Sidi Salem avec une dominance de la classe [22-24[et de [20-22[mm à [30-32[mm à El Battah avec un effectif plus élevé des classes [26-28[mm et [28-30[mm.

Au mois de décembre on remarque un arrangement des polygones vers la droite de [20- 22[mm à [30- 32[mm au niveau des deux sites avec l'apparition de la classe de taille [16-18[mm au niveau de Sidi Salem. La répartition des classes au cours de ce mois est presque similaire au niveau des deux sites.

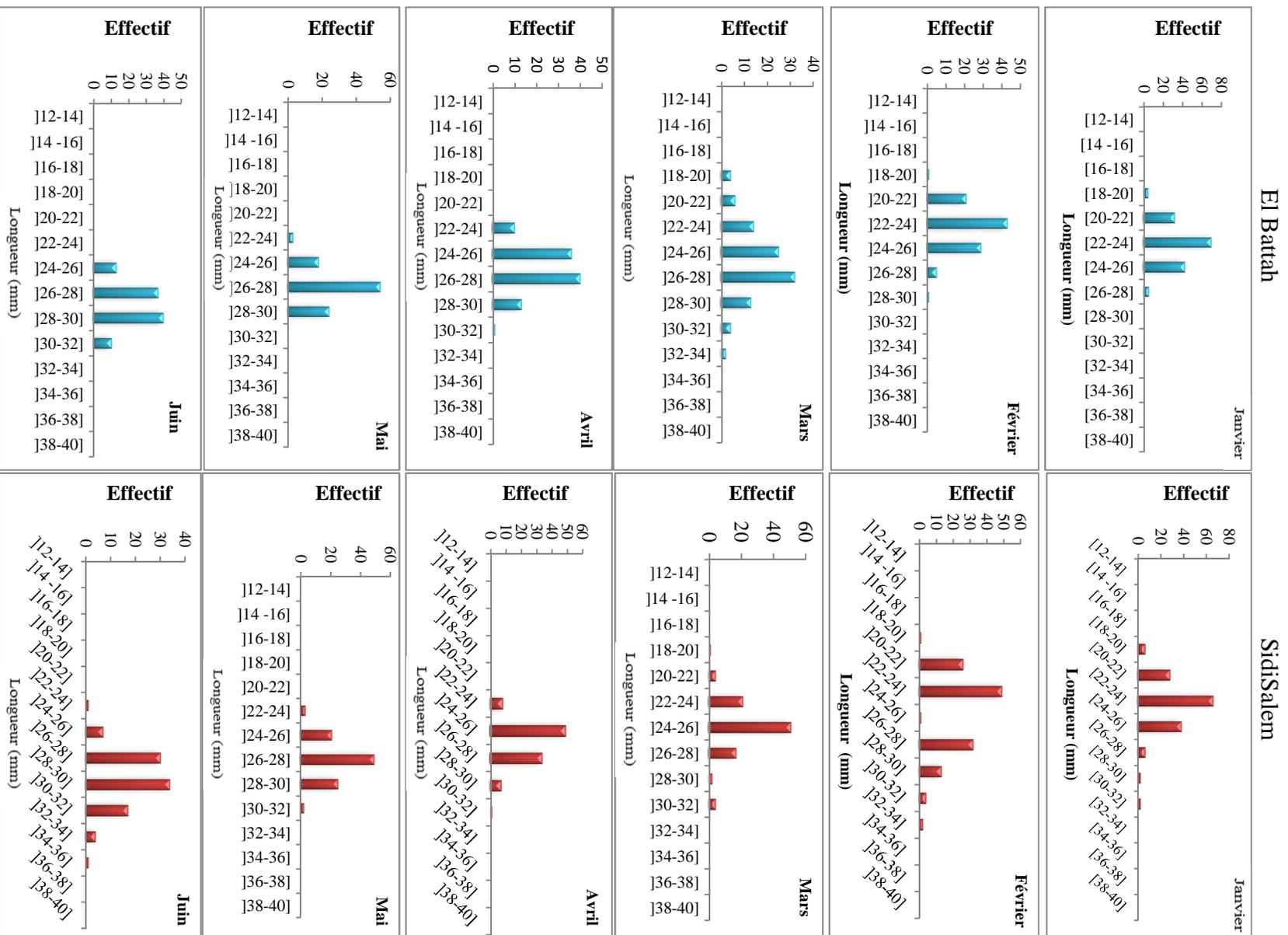


Figure 16. Distribution mensuelle des fréquences de taille de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El Battah et Sidi Salem (janvier - juin 2011; n=100).

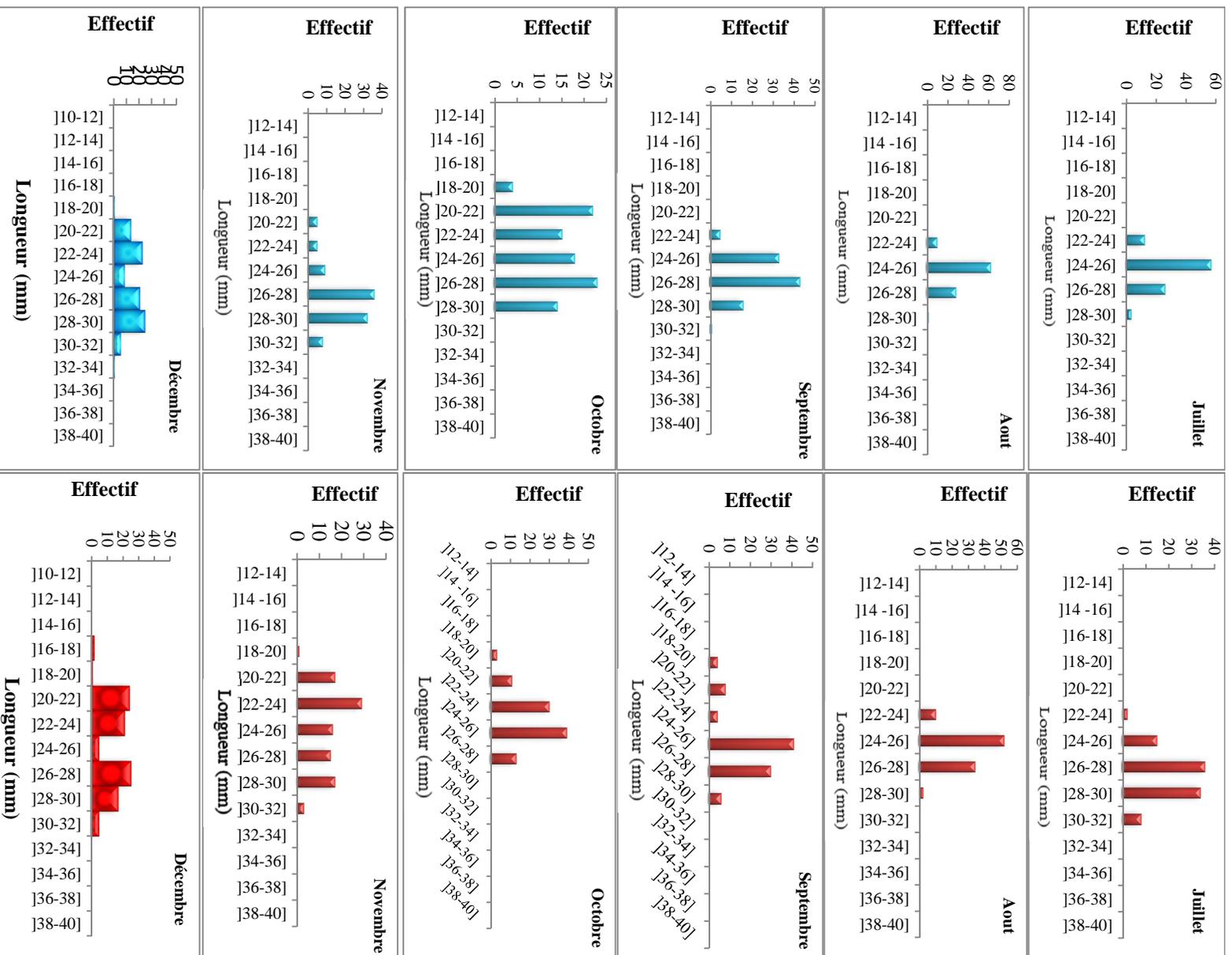


Figure 17. Distribution mensuelle des fréquences de taille de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El Barrah et Sidi Salem (juillet - décembre 2011; n=100).

3. 2. Etude de la Biométrie et de la croissance

L'étude de la croissance des populations de *D. trunculus* pêché pendant l'année 2011 au niveau des deux sites du golfe d'Annaba: El Battah et Sidi Salem est déterminée par l'analyse de la variance à un seul critère de classification suivi du test de HDS Tukey, le test t de student est utilisé afin de comparer les différentes moyennes mensuelles saisonnières entre les deux sites pour tous les paramètres biométriques étudiés. Le test de corrélation a été utilisé afin de mesurer l'intensité de la relation existant entre les différents paramètres biométriques étudiés (longueur, hauteur, épaisseur, poids total frais), ce qui explique à chaque fois la relation directe entre deux variables.

L'analyse de la variance à un seul critère de classification révèle un effet saison hautement significatif ($P < 0,001$) pour la longueur et la hauteur au niveau d'El Battah et pour tous les paramètres biométriques étudiés sauf la hauteur à Sidi Salem. Le test de Tukey classant les saisons par site montre l'existence de trois groupes de saisons pour la longueur et la hauteur contre un seul groupe pour le reste des paramètres (épaisseur et poids frais total) à El Battah. Trois groupes de saisons pour les deux paramètres (la longueur et le poids frais total) et un seul groupe pour la hauteur contre quatre groupes de saisons pour l'épaisseur à Sidi Salem. La meilleure croissance a été enregistrée en été et au printemps par rapport à l'automne et l'hiver au niveau d'El Battah, La meilleure croissance a été enregistrée en hiver, au printemps et en été par rapport à l'automne au sein de Sidi Salem (tableau 3).

Le tableau 4 représente les moyennes saisonnières des différents paramètres biométriques déterminés au cours de l'année 2011 dans les deux sites d'étude. La comparaison des moyennes par le test t de student entre les deux sites d'étude montre des différences significatives ($p < 0,05$ à $p < 0,001$) pour la longueur, la hauteur et l'épaisseur en hiver; la longueur, la hauteur et le poids frais totale au printemps; la longueur et le poids frais totale en été et en automne respectivement.

Le test de corrélation nous permet de mesurer l'intensité de la relation existant entre toutes les variables étudiées, ce qui explique la relation directe entre deux variables. D'après les résultats obtenus, on note des corrélations positives entre les différentes variables étudiées au sein des deux sites avec des seuils de signification hautement significatifs ($p < 0,001$). Des corrélations négatives hautement significatives entre la hauteur et l'épaisseur à El Battah et entre la longueur et la hauteur à Sidi Salem ont été enregistrées. A noter que la station de Sidi Salem présente de bons coefficients de corrélation pour tous les paramètres par rapport à El Battah.

La figure 18 montre la relation existante entre le poids total frais et la longueur dans les deux sites d'étude au cours de l'année 2011 à travers des courbes de régression exprimés par l'équation de croissance relative aux bivalves.

Les résultats montrent qu'il y a une allométrie minorante entre le poids total frais et la longueur dans les deux sites d'étude ($b < 3$). Le site d'El Battah semble afficher un bon coefficient de détermination comparativement à Sidi Salem (99,55% contre 10,19%).

Tableau 3. classement des saisons selon les paramètres biométriques mesurés chez *D .trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah, Sidi Salem) au cours de l'année 2011: test HSDde Tukey.

Paramètres biométriques	El Battah		Sidi Salem	
	Saisons	Groupe	Saisons	Groupe
Longueur (cm)	été	A	été	A
	printemps	B	printemps	A
	Automne	B	Automne	B
	hiver	C	hiver	C
Hauteur (cm)	été	A	Automne	A
	Automne	B	été	A
	printemps	B	printemps	A
	hiver	C	hiver	A
Epaisseur (cm)	été	A	été	A
	Automne	A	Automne	B
	printemps	A	printemps	C
	hiver	A	hiver	D
Poids total frais (mg)	Automne	A	printemps	A
	été	A	été	B
	printemps	A	Automne	B
	hiver	A	hiver	C

Tableau 4. Paramètres biométriques mesurés chez *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah, Sidi Salam) au cours des saisons de l'année 2011 ($m \pm s$; $n=1100$).

saison	Paramètre biométrique	El Battah	Sidi Salem
Hiver	Longueur (cm)	2,65±0,12 a	2,64±0,19 b
	Hauteur (cm)	1,43 ±0,12 a	1,41±0,10 b
	Epaisseur (cm)	0,84±0,11 a	0,83±0,07 b
	Poids total frais (mg)	2,57±0,62 a	2,50±0,54 a
Printemps	Longueur (cm)	2,80±0,23 a	2,68±0,26 b
	Hauteur (cm)	1,50±0,12 a	1,46±0,14 b
	Epaisseur (cm)	1,11±3,46 a	0,884±0,10 a
	Poids total frais (mg)	2,85±0,58 a	2,36±0,66 b
Été	Longueur (cm)	2,64±0,29 a	2,56±0,30 b
	Hauteur (cm)	1,44±0,14 a	1,65±4,05 a
	Epaisseur (cm)	1,08±3,47 a	0,86±0,08 a
	Poids total frais (mg)	1,2±1,61 a	2,26±0,67 a
Automne	Longueur (cm)	2,35±0,18 a	2,34±0,18 a
	Hauteur (cm)	1,27±0,09 a	1,26±0,09 a
	Epaisseur (cm)	0,74±0,007 a	0,75±0,008 a
	Poids total frais (mg)	1,74±0,40 a	1,65±0,40 b

Les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les deux sites.

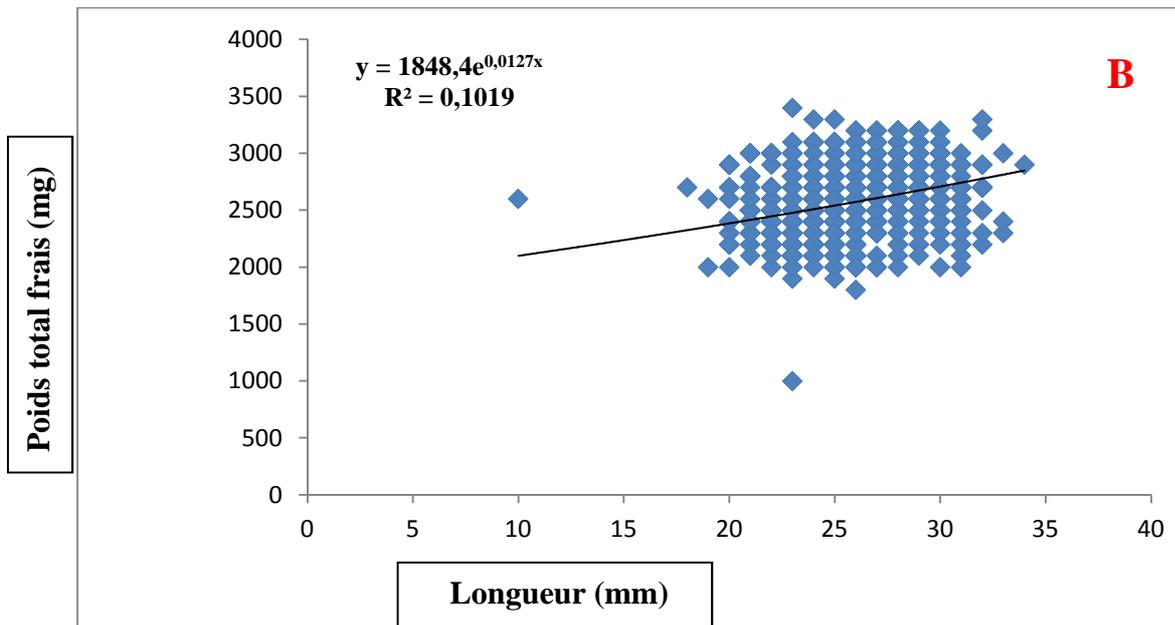
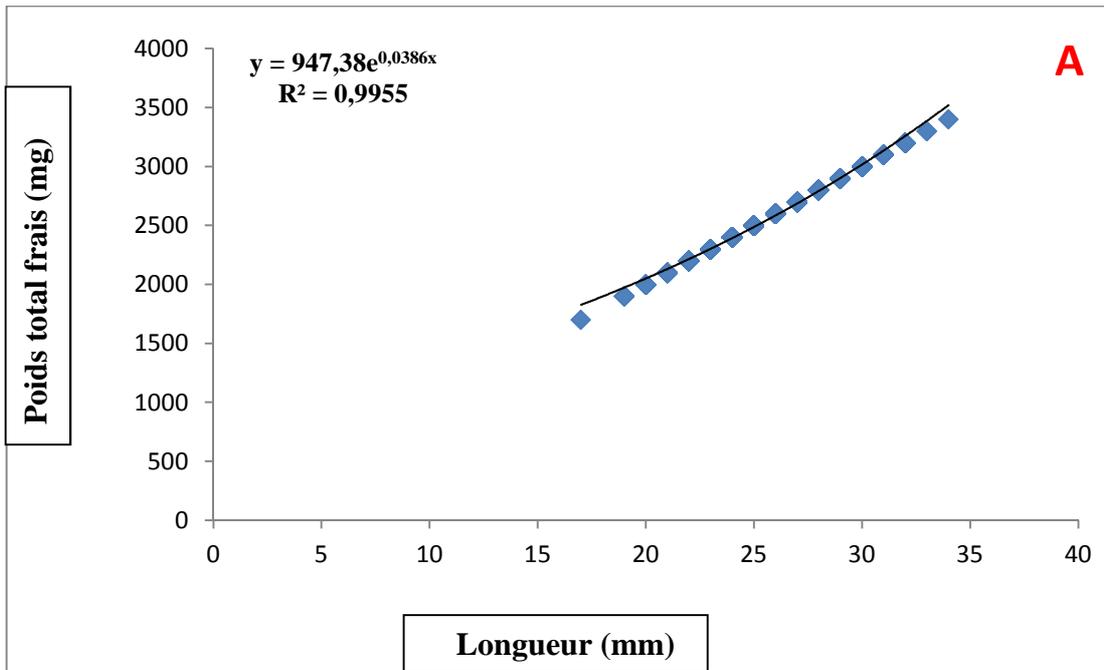


Figure 18. Courbe exponentielle exprimant le poids total frais en fonction de la longueur de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El Battah (A) et Sidi Salem (B) au cours de l'année 2011 (n=1100).

3. 2. 1. Analyse de la variance multivariée et analyse hiérarchique

3. 2. 1. 1. Analyse de la variance multivariée (MANOVA)

L'analyse de la variance multivariée (MANOVA) a été effectuée pour étudier les corrélations qui existent entre les différents paramètres biométriques (longueur, hauteur, épaisseur et poids total frais) pour les facteurs mois et site (El Battah et Sidi Salem) durant l'année d'étude. Les résultats montrent un effet saison, site et interaction saison/site hautement significatifs ($p < 0,001$) au niveau des trois tests utilisées Wilk's Lambda, Hotelling-Lawley et Pilla's Trace.

3. 2. 1. 2. Analyse hiérarchique

La classification hiérarchique a pour but de fournir une répartition des individus en groupes ou classes homogènes et bien les séparer (Palm, 1996). L'analyse hiérarchique présentée par un arbre hiérarchique ou dendrogramme est effectuée sur les résultats de la croissance obtenus par saisons au sein de chaque site (El Battah, Sidi Salem) durant l'année d'étude.

En effet, le site d'El Battah montre trois groupes, le premier renferme l'hiver avec une similarité de 99,6%, le deuxième, représentant la plus grande similitude dans la croissance des individus de *D. trunculus* (99,9%), renferme l'été et le printemps, le troisième renferme l'automne avec une similarité de 99,42% (Fig. 19 A). Le site de Sidi Salem révèle trois groupes l'un renferme l'hiver avec une similarité égale à 98,76% suivie par une deuxième classe représentée par l'été et le printemps (similarité de 99,49%), et une troisième classe représentée par l'automne (similarité de 99,49%) (Fig.19 B).

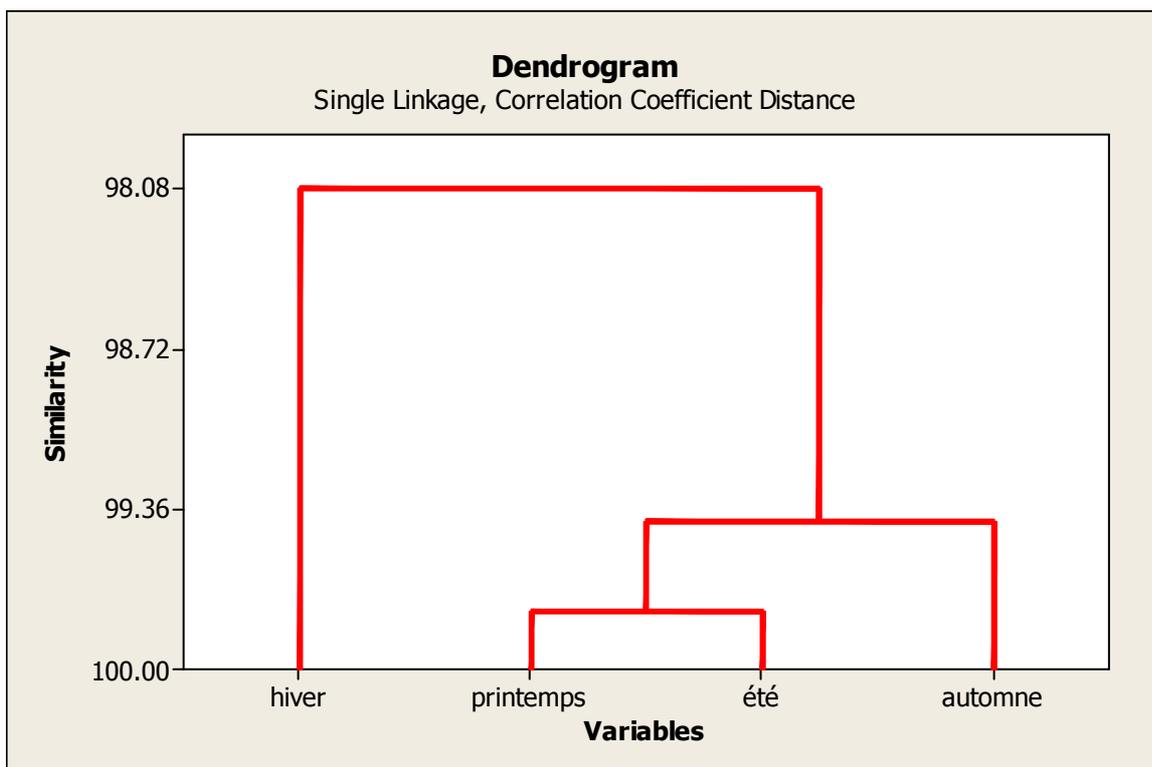
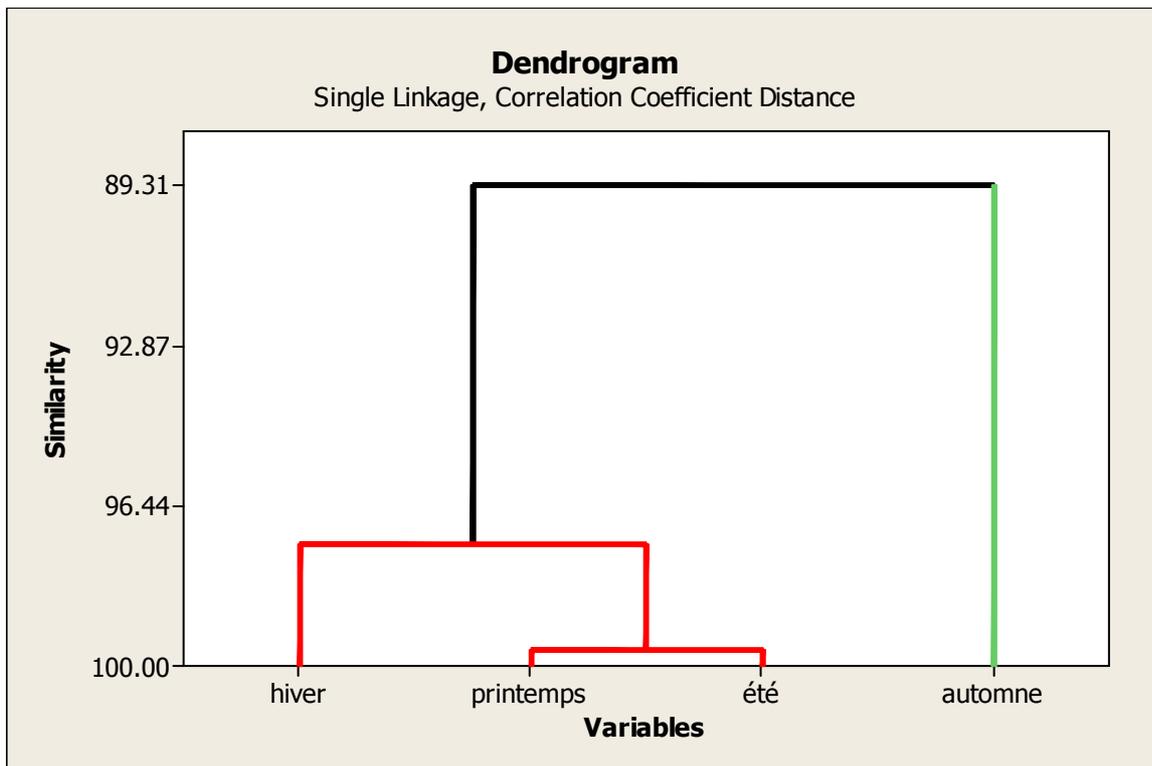


Figure 19. Classification hiérarchique des saisons selon la croissance de *D.trunculus* durant l'année 2011: El Battah (A), Sidi Salem (B).

3. 3. Variation mensuelle des biomarqueurs du stress environnemental

Les résultats obtenus sont exprimés par rapport à une quantité de protéines exprimée en milligramme (mg) obtenue à partir de la droite de régression d'une courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction d'une quantité d'albumine (μg) (Tableau 5, Fig. 20).

Tableau 5. Dosage des protéines : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Quantité de protéines (μg)	Absorbances
0	0
20	0,144
40	0,237
60	0,373
80	0,445
100	0,577

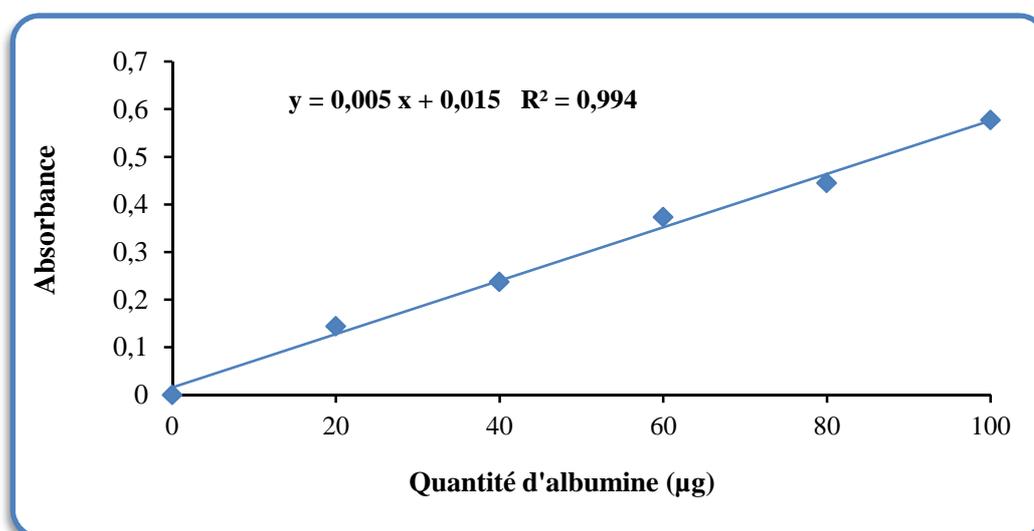


Figure 20. Dosage des protéines : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumines (μg) (R^2 coefficient de détermination).

3. 3. 1. Activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE)

L'activité spécifique de l'AChE exprimée en $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines est déterminée mensuellement au niveau du manteau de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba, El Battah et Sidi Salem au cours de l'année 2012. Cette activité est calculée par application de la formule d'Ellman *et al*, (1961) en utilisant les pentes des droites de régression exprimant les absorbances en fonction du temps. Les résultats obtenus sont exprimés par rapport à une quantité de protéines (Fig. 21).

Le suivi mensuel de l'activité de l'AChE au cours de cette période montre des valeurs maximales au mois de mars au niveau d'El Battah avec une valeur de $51.9 \pm 10.2 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines et au mois de novembre avec $37,25 \pm 3,65 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines chez les individus provenant de Sidi Salem. Tandis que les valeurs minimales sont enregistrées au mois de juillet, avec $2,66 \pm 1,02 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines à El Battah et $1,95 \pm 0,8 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines à Sidi Salem au mois d'octobre. Des diminutions remarquables ont été observées pendant la période estivale au niveau des deux sites (tableau 6, Fig. 21).

La comparaison des moyennes par le test t de student révèle une inhibition significative de l'activité de l'AChE chez les individus de Sidi Salem comparativement à ceux d'El Battah aux mois de mars ($p=0.018$), aout ($p=0,031$), septembre ($p=0,000$), octobre ($p=0,005$) et novembre ($p=0,018$), (tableau 6, Fig. 21.).

L'analyse de la variance à un seul critère de classification (mois et site) montre un effet mois et un effet site hautement significatif ($P < 0,001$) au niveau des deux sites.

Le classement des saisons par le test de Tukey révèle l'existence de quatre groupes au sein d'El Battah (un groupe pour chaque saison) et deux groupes à Sidi Salem, le premier renferme l'hiver et le printemps; le second présente l'été et l'automne. (Tableau 7)

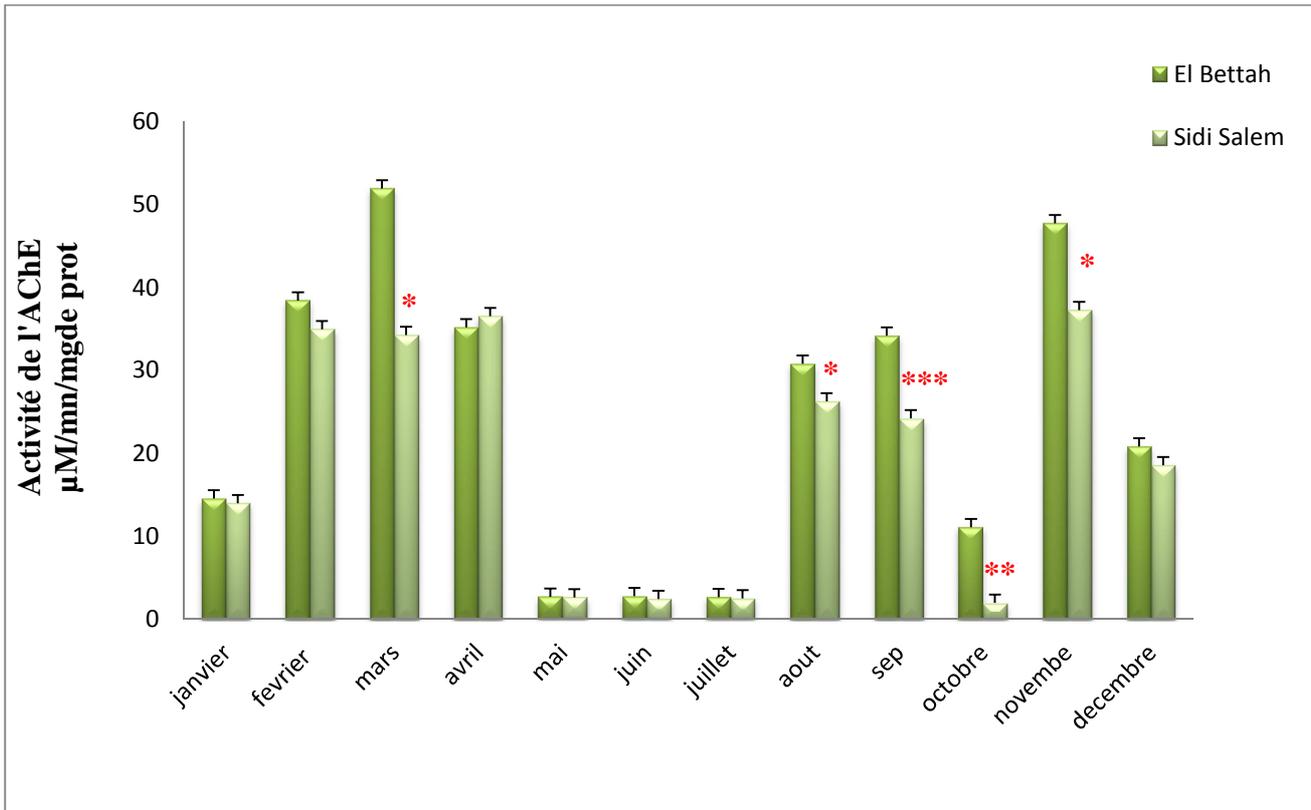


Figure 21: Variation mensuelle de l'activité de l'acétylcholinestérase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau du *D. trunculus* pêché dans deux stations du golfe d'Annaba : El Battah et Sidi Salm au cours de l'année 2012 (m + s, n = 4 - 5). (*: différence significative; **: différence très significative; ***: différence hautement significative).

Tableau 6. Variation mensuelle de l'activité de l'**acétylcholinestérase** ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* pêché dans deux stations du golfe d'Annaba : El Battah et Sidi Salm au cours de l'année 2012 (m + s, n = 5).

Mois	El Batah	Sidi Salem	P
Janvier	14.52 \pm 1.96	13.96 \pm 2.03	0.67 NS
Février	38.38 \pm 3.52	34.91 \pm 5.36	0.26 NS
Mars	51.9 \pm 10.20	34.24 \pm 02	0.018*
avril	35.15 \pm 4.41	36.49 \pm 3.53	0.61 NS
Mai	2.67 \pm 0.49	2.60 \pm 1.35	0.91 NS
Juin	2.73 \pm 0.78	2.42 \pm 1.21	0.61 NS
Juillet	2.66 \pm 1.02	2.47 \pm 1.83	0.84 NS
Aout	30.76 \pm 3.03	26.24 \pm 2.23	0.031*
Septembre	34,17 \pm 1,88	24,18 \pm 1,61	0,000***
Octobre	11.05 \pm 3.48	1.95 \pm 0.80	0.005**
Novembre	47.71 \pm 4.86	37.25 \pm 3.65	0.018*
Décembre	20.81 \pm 3.80	18.54 \pm 2.44	0.30 NS

NS: non significatif * significatif ($P < 0,05$) ** très significatif ($P < 0,01$) *** hautement significatif ($P < 0,001$).

Tableau 7. Classement des saisons par ordre décroissant selon l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah, Sidi Salem) au cours de l'année 2012 ($m \pm s$; $n = 5$) par le test HSD de Tukey.

El Battah		Sidi Salem	
Saisons	Groupe	Saisons	Groupe
printemps	A	hiver	A
hiver	B	printemps	A
Automne	C	été	B
été	D	Automne	B

3. 3. 2 Variation mensuelle de l'activité la glutathion S transférase (GST).

L'activité spécifique de la GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) est estimée par application de la formule de Habig *et al*, (1974) en utilisant les pentes des droites de régression exprimant les absorbances en fonction du temps. Les résultats obtenus sont exprimés par rapport à une quantité de protéines. (Fig. 22).

L'activité de la GST atteint un maximum au mois de septembre avec une valeur de $32,73 \pm 1,39$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines au niveau du site El Battah et $34,45 \pm 1,99$ à Sidi Salem. Un minimum est atteint au mois de janvier avec une valeur de $3,31 \pm 1,34$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines à El Battah et une valeur de $2,96 \pm 0,51$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines à Sidi Salem pour le mois de février (Tableau. 8).

La comparaison des moyennes par le test t de student indique une différence significative ($p < 0,05$) aux mois de mars et des différences très significatives ($p < 0,01$) aux mois de février, mai, juillet, octobre et décembre. Par contre, aucune différence significative ($p > 0,05$) n'est observée aux mois de janvier, juin et novembre (Fig. 22).

Après une application de l'analyse de la variance à un seul critère de classification (mois et site), on note un effet mois et un effet site hautement significatif ($p < 0,001$) pour les deux sites d'étude et un effet saison très significatif à El Battah.

Le classement de l'activité saisonnière GST selon un ordre décroissant par application du test de Tukey a permis l'identification de deux groupes à El Battah, le premier englobe l'automne, l'hiver et l'été et le deuxième renferme l'hiver, l'été et le printemps et deux groupes pour le site de Sidi Salem, le premier renferme l'automne et le second l'hiver, le printemps et l'été, (Tableau 9).

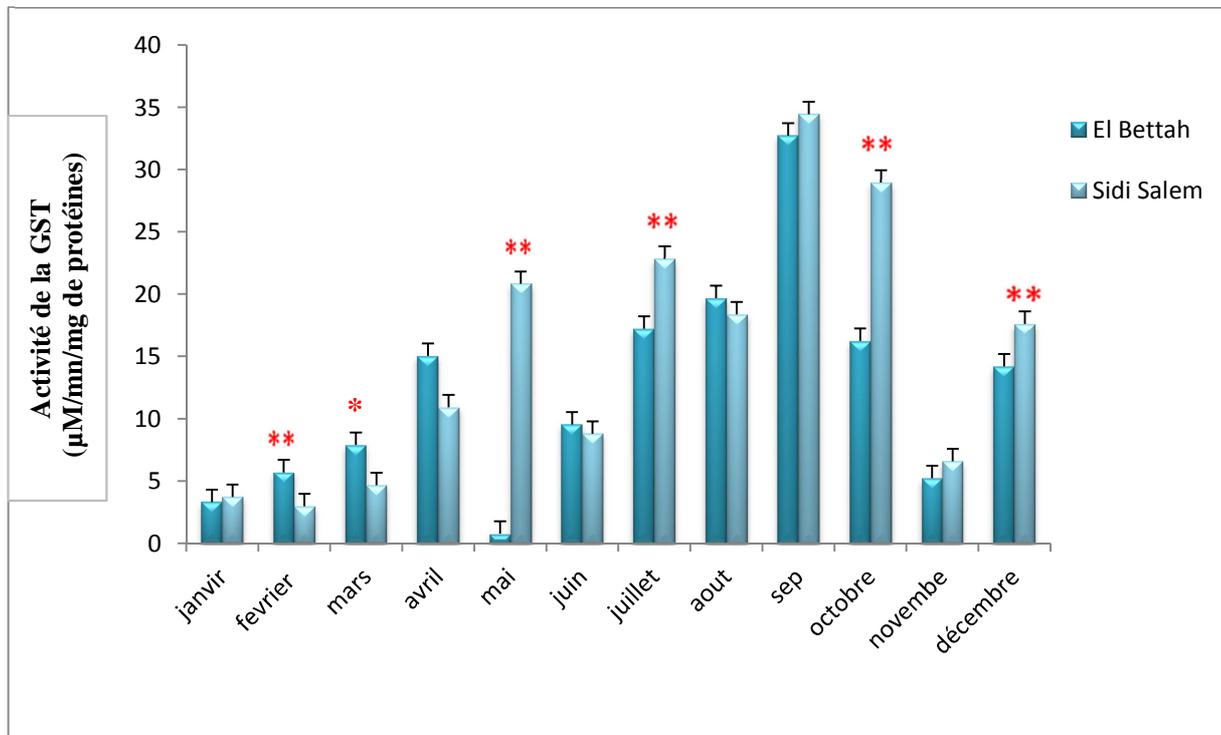


Figure 22: Variation mensuelle de l'activité de la **glutathion S-transférase** ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau du *D trunculus* pêché dans deux stations du golfe d'Annaba : El Battah et Sidi Salm au cours de l'année 2012 (m + s, n = 4 - 5).

(*: différence significative; **: différence très significative; ***: différence hautement significative).

Tableau 8. Variation mensuelle de l'activité de la glutathion S- transférase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau du *D trunculus* pêché dans deux stations du golfe d'Annaba El Battah et Sidi Salm au cours de l'année 2012 (m + s, n = 4 - 5).

Mois	El Batah	Sidi Salem	P
Janvier	3.31 \pm 1.34	3.705 \pm 0.726	0.58 NS
Février	5.70 \pm 1.02	2.961 \pm 0.512	0.003**
Mars	7.89 \pm 1.56	4.67 \pm 1.49	0.012*
avril	15.03 \pm 2.64	10.90 \pm 3.66	0.08 NS
Mai	15.77 \pm 1.54	20.82 \pm 2.32	0.007**
Juin	9.53 \pm 1.79	8.78 \pm 1.93	0.54 NS
Juillet	17.22 \pm 0.17	22.83 \pm 1.76	0.008**
Aout	19.67 \pm 1.83	18.37 \pm 6.07	0.67 NS
Septembre	32.73 \pm 1.39	34.45 \pm 1.99	0.306 NS
Octobre	16.23 \pm 1.05	28.95 \pm 0.19	0.002**
Novembre	5.23 \pm 1.74	6.58 \pm 2.41	0.346 NS
Décembre	14.20 \pm 0.93	17.63 \pm 0.86	0.003**

Tableau 9. Classement des saisons par ordre décroissant selon l'activité spécifique de la glutathion S-transférase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah, Sidi Salem) au cours de l'année 2012 ($m \pm s$; $n = 5$) par le test HSD de Tukey.

El Battah		Sidi Salem	
Saisons	Groupe	Saisons	Groupe
été	A	hiver	A
printemps	AB	été	B
Automne	AB	Automne	B
hiver	B	printemps	B

3. 3. 3. Variation mensuelle de l'activité de la catalase (CAT)

Un dosage mensuel de l'activité spécifique de la CAT ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) est réalisé selon la méthode de Claiborne (1985) au niveau du manteau de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah et Sidi Salem) au cours de l'année 2012. (Fig. 23).

L'activité de la CAT montre des fluctuations qui varient selon les sites et les mois. D'après les résultats obtenus, le site d'El Battah présente une valeur minimale de $0,23 \pm 0,045 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines au mois de novembre et une valeur maximale de $2,34 \pm 0,18 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines au mois de aout; alors qu'à Sidi Salem la valeur minimale est de $0,17 \pm 0,03 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines au mois de janvier et la valeur maximale est de $4,39 \pm 1,05 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines au mois de juillet. (Tableau 10).

L'analyse statistique des données par comparaison des moyennes deux à deux révèle une augmentation significative ($p < 0,05$) au mois de janvier et très significative ($p < 0,01$) au mois de juillet et septembre au niveau du site de Sidi Salem comparativement à El Battah. Par contre aucune différence significative n'est observée tout le reste des mois (Fig. 23).

A partir de l'analyse de la variance à un seul de classification (mois et site), on distingue un effet saison hautement significatif ($p < 0,001$) à El Battah et significatif à Sidi Salem ($p < 0,05$) et

Concernant le classement décroissant des saisons par le test de Tukey, deux groupes sont mis en évidence pour le site d'El Battah, le premier représente le printemps et l'été, le second renferme l'automne et l'hiver contre un seul groupe à Sidi Salem. (Tableau 11).

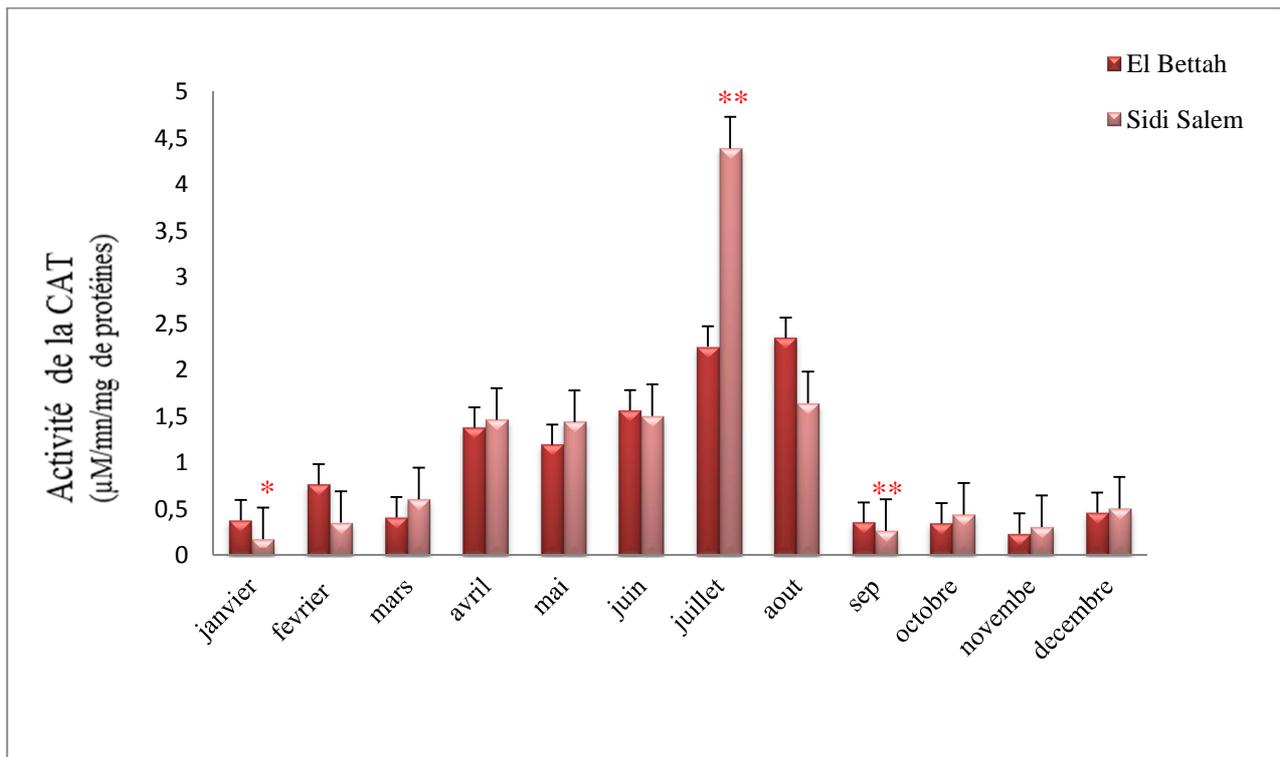


Figure 23: Variation mensuelle de l'activité de la **Catalase** ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau du *D trunculus* pêché dans deux stations du golfe d'Annaba : El Battah et Sidi Salm au cours de l'année 2012 (m + s, n = 4 - 5).

(*: différence significative; **: différence très significative; ***: différence hautement significative).

Tableau 10. Variation mensuelle de l'activité de **la catalase** ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau du *D trunculus* pêché dans deux stations du golfe d'Annaba : El Battah et Sidi Salm au cours de l'année 2012 (m + s, n = 5).

Mois	El Batah	Sidi Salem	P
Janvier	0.376 ± 0.138	0.174 ± 0.038	0.035*
Février	0.763 ± 0.388	0.351 ± 0.089	0.08 NS
Mars	0.409 ± 0.165	0.605 ± 0.292	0.24 NS
avril	1.375 ± 0.339	1.460 ± 0.287	0.68 NS
Mai	1.190 ± 0.344	1.436 ± 0.501	0.39 NS
Juin	1.562 ± 0.452	1.503 ± 0.308	0.81 NS
Juillet	2.249 ± 0.800	4.39 ± 1.05	0.008**
Aout	2.344 ± 0.189	1.640 ± 0.658	0.083 NS
Septembre	0,350 ± 0,042	0,262 ± 0,038	0,01**
Octobre	0.343 ± 0.072	0.438 ± 0.222	0.466 NS
Novembre	0.231 ± 0.045	0.303 ± 0.107	0.226 NS
Décembre	0.458 ± 0.260	0.504 ± 0.211	0.665 NS

Tableau 11. Classement des saisons par ordre décroissant selon l'activité spécifique de la catalase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah, Sidi Salem) au cours de l'année 2012 ($m \pm s$; $n = 5$) par le test HSD de Tukey.

El Battah		Sidi Salem	
Saisons	Groupe	Saisons	Groupe
été	A	printemps	A
printemps	A	été	A
Automne	B	hiver	A
hiver	B	Automne	A

3. 3. 4. Test de corrélation

Le test de corrélation réalisé au niveau de chaque site démontre pour le site d'El Battah une corrélation négative non significative entre l'AChE et les deux autres biomarqueurs (CAT, GST). Par contre une corrélation positive non significative ($p > 0,05$) est enregistrée entre la GST et la CAT. Concernant le site de Sidi Salem, on remarque une corrélation positive non significative entre l'AChE et les deux autres biomarqueurs (CAT, GST). Une corrélation négative non significative est enregistrée entre la CAT et la GST.

3. 3. 5. Analyse de la variance multivariée (MANOVA)

Les réponses des trois biomarqueurs étudiés (AChE, GST, CAT) montrent un effet hautement significatif ($p < 0,001$) pour les facteurs mois, site et l'interaction mois /site pour les trois tests utilisés Wilk's Lambda, Hotelling-Lawley et Pilla's Trace.

3. 3. 6. Analyse hiérarchique

L'analyse hiérarchique donne l'arbre hiérarchique ou dendrogramme, cette analyse est effectuée sur le classement des saisons par site (Figure 24). Le site d'El Battah présente la première classe qui renferme les deux saisons les plus similaires: l'hiver et l'automne, la deuxième classe présente le printemps et enfin, une troisième classe avec l'été, la saison qui présente une réponse des biomarqueurs la moins similaire par rapport aux trois autres saisons (Figure 24 A). Par contre, le site de Sidi Salem présente trois classes, la première renferme l'hiver, la deuxième l'été et l'automne, les saisons qui montrent une réponse des biomarqueurs la plus similaire, et la troisième renferme le printemps au cours de l'année d'étude (Figure 24 B).

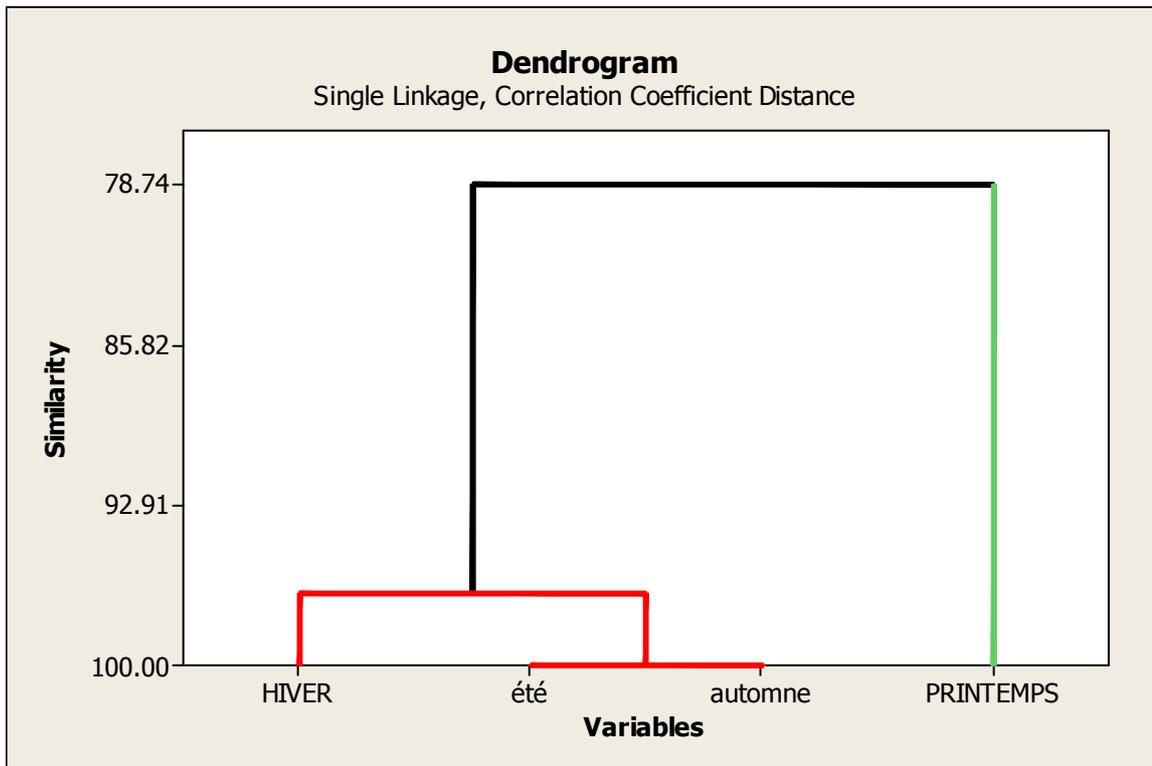
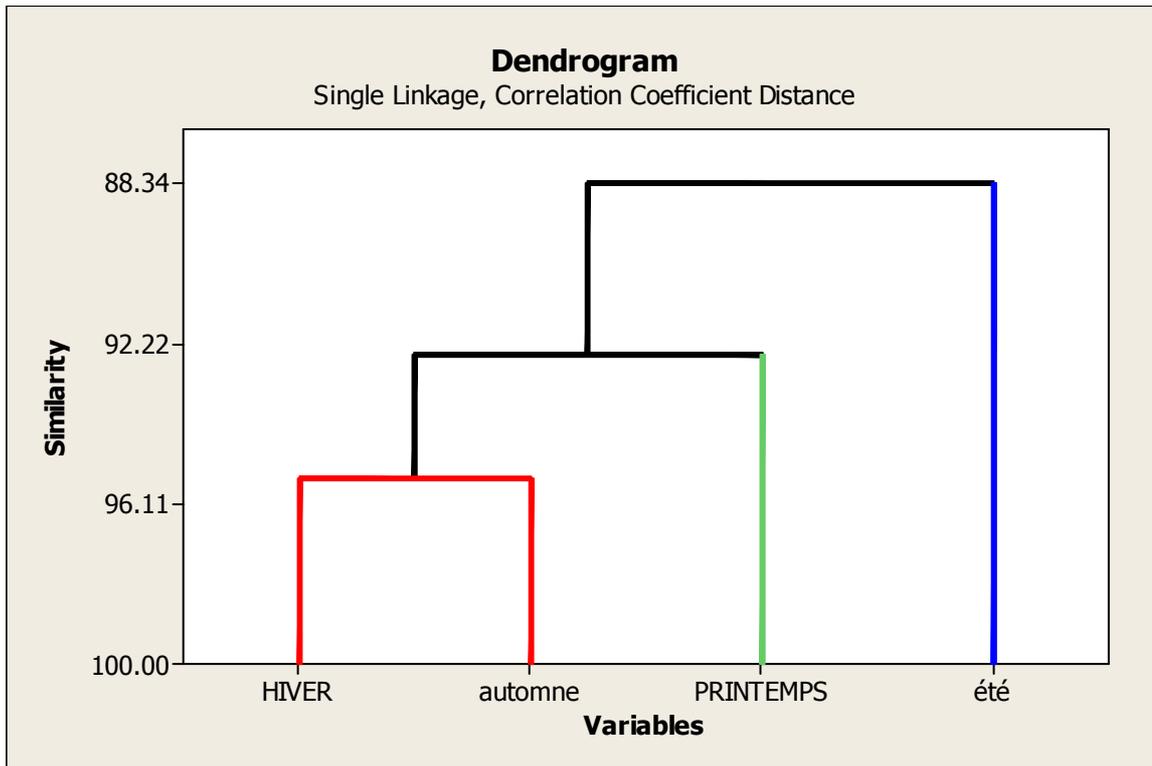


Figure 24. Classification hiérarchique des saisons selon la réponse des biomarqueurs chez *D. trunculus* au cours de l'année 2012 El Battah (A), Sidi Salem (B).

3. 4. Dosages biochimiques

3. 4. 1. Dosage des acides gras

Pendant l'activité sexuelle les mêmes acides gras sont enregistrés au niveau des deux sites du point de vue qualitatif. Les résultats montrent l'existence d'acides gras saturés (C16:0, C18:0), monoinsaturés (C16: 1n-9, C18: 1n-9) et polyinsaturés contenant la famille des oméga 6 (C18: 2n-6) et la famille des oméga 3 (C18: 3n-3, C20:5n-3, C22 :6n-3) au niveau des deux stations avec une dominance des acides gras saturés (l'acide palmitique C16:0 et l'acide stéarique C18:0) (Tableau 19).

Concernant l'analyse quantitative des acides gras, la comparaison des moyennes par le test t de student montre des différences significatives entre les deux sites pour les acides gras (C14:0 Myristique, C16:0 Palmitique, C16:1n-9, C18:0 Stéarique, C22:6n-3 docosahexanoïque (DHA) chez les femelles. Une différence significative pour l'acide gras C18: 3n-3 α Linoléique a été enregistrée chez les mâles.

La Σ AGS, Σ AGPI, et Σ AGMI est plus importante chez les individus d'El Battah comparativement à ceux du site de Sidi Salem, le rapport ω_3 / ω_6 est plus élevé chez les mâles que les femelles. (Tableau 19). L'analyse de la variance à trois critères de classification (site, sexe, acide gras) montre un effet site et acide gras hautement significatif, une interaction (site/sexe/acide gras) hautement significative a été enregistrée (tableau 20).

Pendant le repos sexuel une série d'acides gras a été observée au niveau des deux sites C14: 0 Myristique, C16: 0 Palmitique, C16: 1n-9, C16:4, C18: 0 Stéarique, C18: 1n-9 Oléique, C18: 1n-7, C18: 2n-6 Linoléique, C18:3n-6, C18: 3n-3 α Linoléique, C18: 4n-3, C20: 1n-9, C20: 2n-6, C20: 4n-6, C20:5n-3 ecosapentanoïque, C22: 1n-9, C22: 2i, C22: 2j, 22: 3n-3, C22 :5n-3 Docosapentanoïque, C22 :6n-3 docosahexanoïque (DHA) et la présence de l'acide gras C16: 1n-7 et l'acide gras C16: 3 uniquement au niveau d'El Battah. Nous avons également observé la présence d'acides gras inconnus (UK1, UK2) au niveau des deux sites et l'UK3 seulement à Sidi Salem avec un pic important.

L'analyse de la variance à trois critères de classification (site, acide gras) montre un effet significatif entre les deux sites pour les acides gras C16: 0 Palmitique, C16: 1n-9, C18: 1n-9 Oléique, C20:5n-3 ecosapentanoïque, C22: 1n-9; une différence très significative pour les acides gras C18: 2n-6 Linoléique, C18:3n-6, C18: 3n-3 α Linoléique, C18: 4n-3 et des différences hautement significatives pour UK1, UK2, C20: 1n-9. (Fig 34).

Tableau 12: Taux des acides gras ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des gonades de *Donax trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah et Sidi Salem) durant la période de reproduction de l'année 2013 ($m \pm \text{SD}$, $n = 4-5$). Pour un même site les moyennes suivies d'une même lettre en majuscule tandis que pour un même sexe les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule.

Acides Gras	Femelles		Mâles	
	El Battah	Sidi Salem	El Battah	Sidi Salem
C14: 0 Myristique	0,250 \pm 0,0825 a A	0,076 \pm 0,0151 b A	0,0808 \pm 0,017 a B	0,0625 \pm 0,011 a A
C16: 0 Palmitique	2,935 \pm 0,480 a A	1,359 \pm 0,732 b A	2,360 \pm 0,802 a A	1,789 \pm 0,148 a A
C16: 1n-9	0,157 \pm 0,062 a A	0,059 \pm 0,017 b A	0,1026 \pm 0,042 a A	0,0663 \pm 0,031 a A
C18: 0 Stéarique	1,527 \pm 0,195 a A	0,882 \pm 0,190 b A	1,189 \pm 0,389 a A	0,929 \pm 0,059 a A
C18: 1n-9 Oléique	0,326 \pm 0,054 a A	0,272 \pm 0,034 a A	0,200 \pm 0,054 a B	0,192 \pm 0,035 a A
C18: 2n-6 Linoléique	0,120 \pm 0,026 a A	0,164 \pm 0,045 a A	0,0953 \pm 0,023 a A	0,0703 \pm 0,013 a A
C18: 3n-3 α Linoléique	0,0637 \pm 0,021 a A	0,034 \pm 0,019 a A	0,0693 \pm 0,015 a A	0,0268 \pm 0,008 b A
C20:5n-3 ecosapentanoïque	0,238 \pm 0,124 a A	0,050 \pm 0,0025 a A	0,268 \pm 0,060 a A	0,216 \pm 0,067 a A
C22 :5n-3 Docosapentanoïque	0,0287 \pm 0,0048 a A	0,028 \pm 0,0019 a A	0,0537 \pm 0,0087 a B	0,0547 \pm 0,0089 a A
C22 :6n-3 docosahexanoïque(DHA)	0,185 \pm 0,047 a A	0,055 \pm 0,0004 b A	0,366 \pm 0,0769 a B	0,273 \pm 0,0569 a A
AGS	4,712 \pm 0,757	2,353 \pm 0,937	3,629 \pm 0,859	2,78 \pm 0,218
AGMI	0,483 \pm 0,116	0,331 \pm 0,051	0,303 \pm 0,096	0,258 \pm 0,066
AGPI	0,635 \pm 0,223	0,333 \pm 0,068	0,852 \pm 0,184	0,641 \pm 0,153
AGPI / AGMI	1,450 \pm 1,922	1,006 \pm 1,333	2,812 \pm 1,916	2,484 \pm 2,318
AGPI ω 6	0,120 \pm 0,026	0,164 \pm 0,045	0,0953 \pm 0,023	0,0703 \pm 0,013
AGPI ω 3	0,515 \pm 0,197	0,169 \pm 0,024	0,757 \pm 0,160	0,570 \pm 0,141
Rapport ω 3 / ω 6	4,291 \pm 7,577	1,030 \pm 0,53	7,943 \pm 6,956	8,142 \pm 10,846

Tableau 13: Analyse de la variance de trois critères de classification (site, sexe, acide gras) de la quantité d'acides gras ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des gonades de *Donax trunculus* chez les deux sexes

péchés dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah et Sidi Salem) durant la période de reproduction de l'année 2013.

Sources de variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
Site	1	1,0826	1,0748	20,89	0,000***
Sexe	1	0,2059	0,0655	1,27	0,261
Acides gras	9	76,0086	8,2163	159,66	0,000***
Interaction Site/Sexe	1	0,1296	0,0984	1,91	0,169
Interaction Site/Acide gras	9	6,0294	0,6253	12,15	0,000***
Interaction Sexe/Acide gras	9	1,1725	0,1326	2,58	0,009**
Interaction Site/Sexe/Acide gras	9	1,6767	0,1863	3,62	0,000***
Erreur résiduelle	136	6,9989	0,0515	-	-
Total	175	93,3044	-	-	-

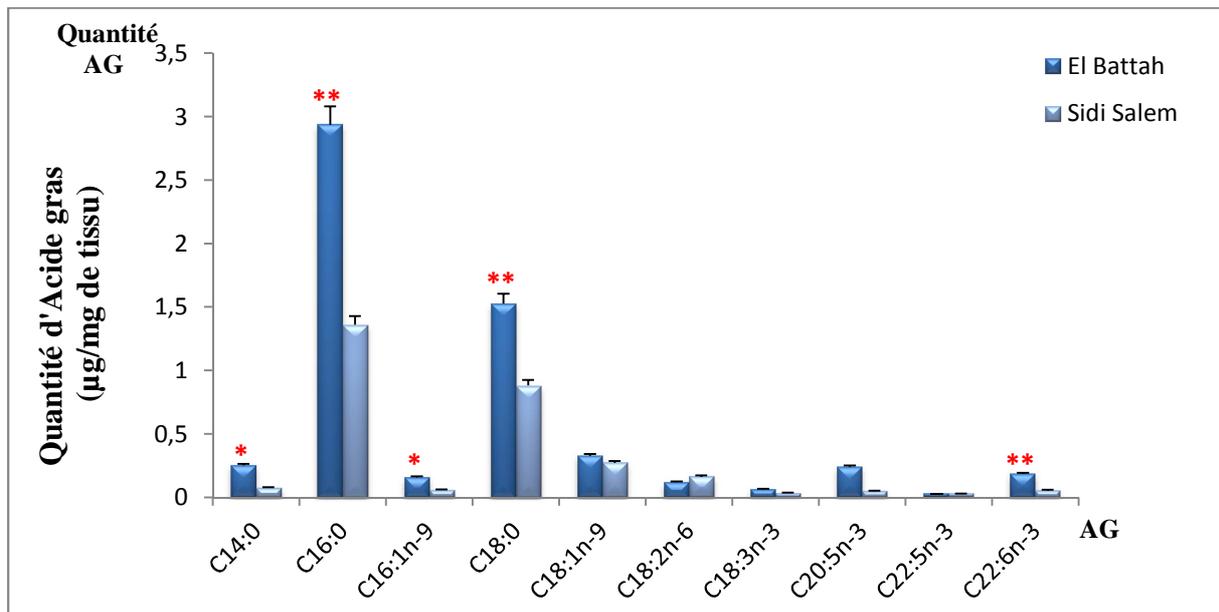


Figure 25: Taux des acides gras ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) des gonades femelles chez *Donax trunculus* pêché dans deux stations du golfe d'Annaba (El Battah et Sidi Salem) durant la période de reproduction de l'année 2013 ($m \pm SD$, $n = 4-5$).

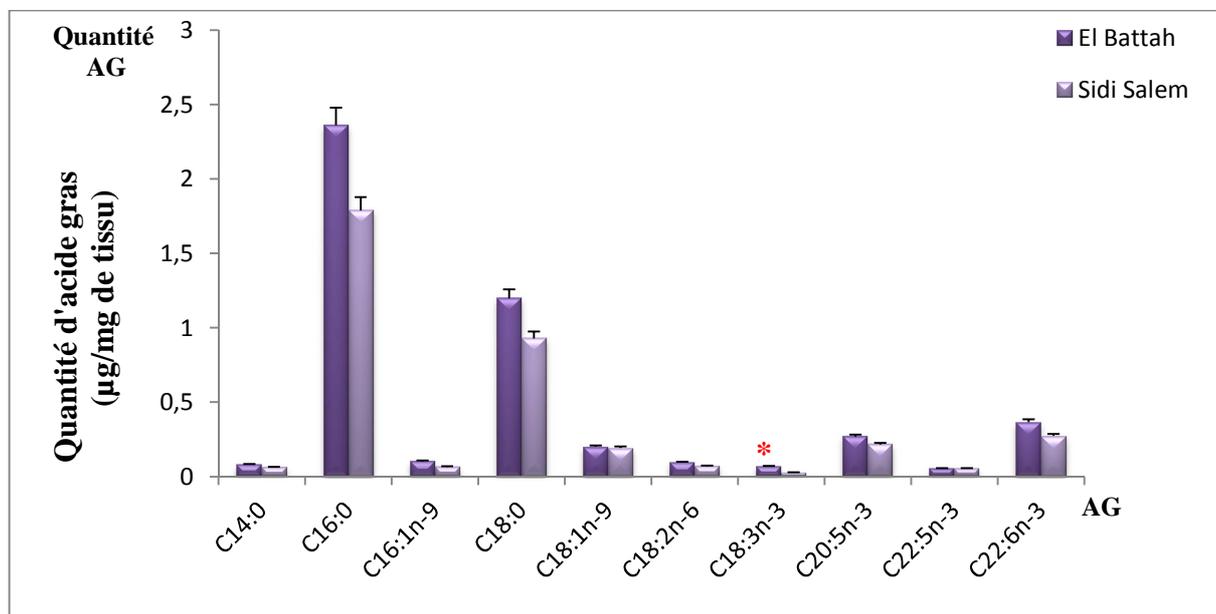


Figure 26: Taux des acides gras ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) des gonades mâles chez *Donax trunculus* pêché dans deux stations du golfe d'Annaba (El Battah et Sidi Salem) durant la période de reproduction de l'année 2013 ($m \pm SD$, $n = 4-5$).

Tableau 14: Taux des acides gras ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des gonades de *Donax trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah et Sidi Salem) durant la période du repos sexuel de l'année 2013($m \pm \text{SD}$, $n = 5$).

Acides Gras	El Battah	Sidi Salem
C14: 0 Myristique	$0,905 \pm 0,212$ A	$0,127 \pm 0,025$ B
C16: 0 Palmitique	$5,35 \pm 1,03$ A	$3,811 \pm 0,72$ B
C16: 1n-9	$0,667 \pm 0,38$ A	$0,126 \pm 0,068$ B
C16: 1n-7	$0,278 \pm 0,464$	-
C16: 3	$0,113 \pm 0,015$	-
UK	$0,145 \pm 0,02$ A	$1,076 \pm 0,253$ B
UK	$0,721 \pm 0,132$ A	$0,191 \pm 0,075$ B
C16:4	$0,188 \pm 0,07$ A	$0,597 \pm 0,77$ A
C18: 0 Stéarique	$1,914 \pm 0,51$ A	$1,563 \pm 0,766$ A
C18: 1n-9 Oléique	$0,739 \pm 0,183$ A	$0,379 \pm 0,267$ B
C18: 1n-7	$0,385 \pm 0,068$	-
C18: 2n-6 Linoléique	$0,272 \pm 0,080$ A	$0,083 \pm 0,011$ B
C18:3n-6	$0,153 \pm 0,018$ A	$0,096 \pm 0,027$ B
C18: 3n-3 α Linoléique	$0,217 \pm 0,050$ A	$0,077 \pm 0,005$ B
C18: 4n-3	$0,307 \pm 0,065$ A	$0,125 \pm 0,022$ B
C20: 1n-9	$0,179 \pm 0,018$	$0,071 \pm 0,011$

	A	B
C20: 2n-6	0,108 ± 0,017 A	0,214 ± 0,209 A
C20: 4n-6	0,060 ± 0,008 A	0,076 ± 0,010 B
C20:5n-3 ecosapentanoïque	0,428 ± 0,048 A	0,309 ± 0,198 A
UK	-	0,087 ± 0,006
C22: 1n-9	0,198 ± 0,060 A	0,088 ± 0,027 B
C22: 2i	0,089 ± 0,008 A	0,087 ± 0,023 A
C22: 2j	0,044 ± 0,005 A	0,080 ± 0,067 A
C22: 3n-3	0,043 ± 0,012 A	0,335 ± 0,644 A
C22 :5n-3 Docosapentanoïque	0,080 ± 0,040 A	0,160 ± 0,086 A
C22 :6n-3 docosahexanoïque(DHA)	0,556 ± 0,046 A	1,007 ± 0,581 A
AGS	2,723 ± 0,584	1,791 ± 0,495
AGMI	0,407 ± 0,195	0,166 ± 0,093
AGPI	0,167 ± 0,038	0,186 ± 0,068
AGPI / AGMI	1,450 ± 1,922	1,006 ± 1,333
AGPI ω6	0,148 ± 0,031	0,117 ± 0,064
AGPI ω3	0,272 ± 0,043	0,335 ± 1,536
Rapport ω6 / ω3	0,544 ± 0,720	0,349 ± 0,041

Tableau 15: Analyse de la variance de trois critères de classification (site, acide gras) de la quantité d'acides gras ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des gonades de *Donax trunculus* pêchés dans deux sites du golfe d'Annaba (El Battah et Sidi Salem) durant la période du repos sexuel de l'année 2013.

Sources de variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
Site	1	0,8202	0,8202	8,40	0,004***
Acides gras	21	198,9728	9,4749	96,99	0,000***
Interaction Site/Acide gras	21	12,3633	0,5887	6,03	0,000***
Erreur résiduelle	176	17,1935	0,0977	-	-
Total	219	229,3498	-	-	-

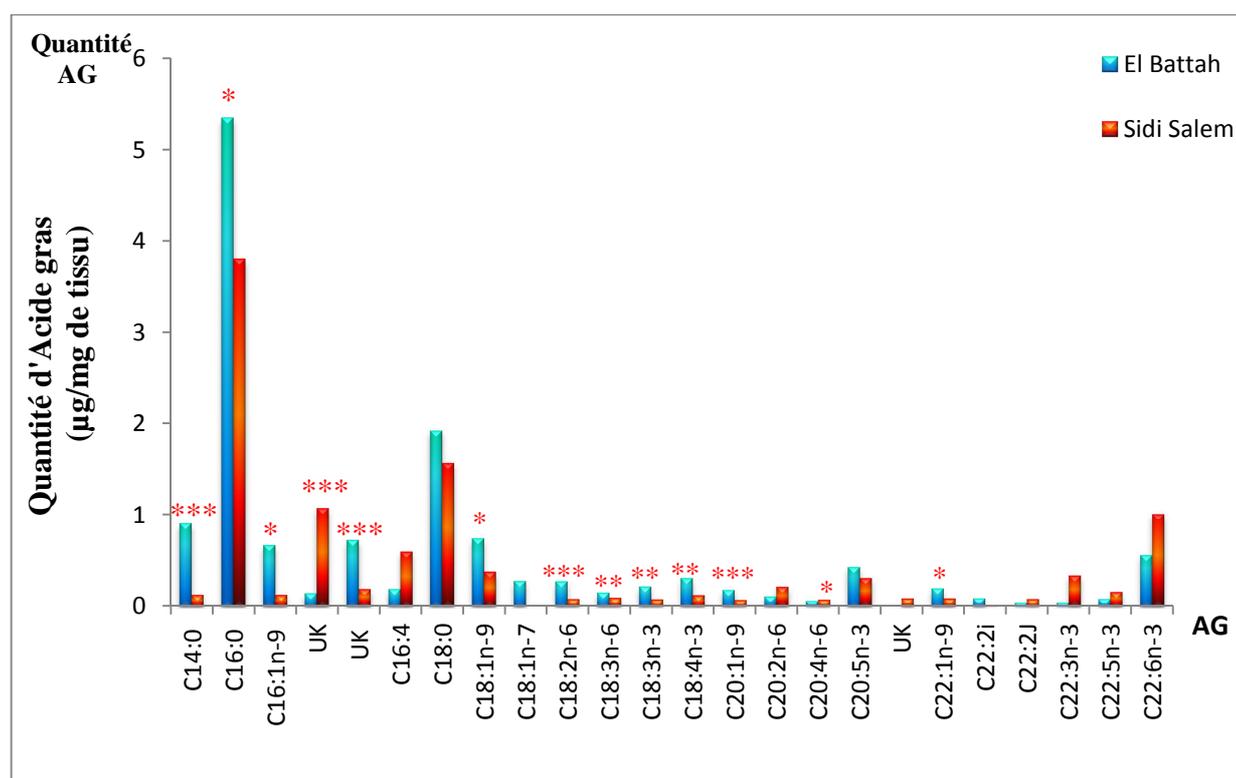


Figure 27: Taux des acides gras ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) des gonades chez *Donax trunculus* pêché dans deux stations du golfe d'Annaba (El Battah et Sidi Salem) durant la période du repos sexuel de l'année 2013 ($m \pm SD$, $n = 5$).

3. 4. 2. Dosage des sucres

3. 4. 2. 1. Dosage du glycogène

Les taux du glycogène exprimé en ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des gonades, du manteau et du corps entier de *D. trunculus* sont calculés à partir d'une courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction d'une quantité de glycogène (μg) (Tableau 16, Fig. 28).

Tableau 16: Dosage du glycogène : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Quantité de glycogène (μg)	Absorbances
0	0
20	0.357
40	0.641
60	0.990
80	1.203
100	1.478

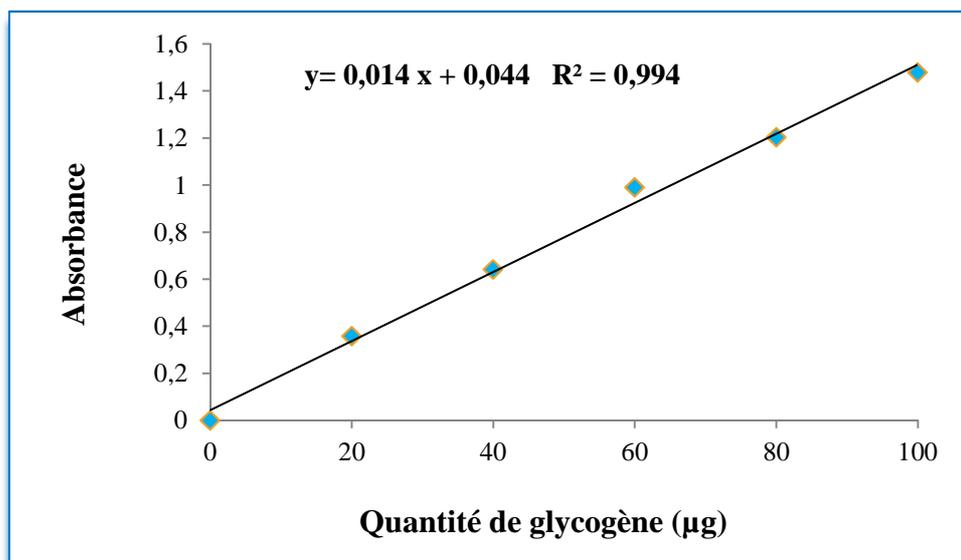


Figure 28. Dosage du glycogène : droite de régression exprimant les absorbances en fonction des quantités de glycogène (μg) (R^2 : coefficient de détermination).

Nous pouvons tout d'abord souligner une augmentation en glycogène déterminé chez les femelles d'El Battah par rapport aux mâles, avec une valeur de 18.59 ± 0.844 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu chez les femelles contre une valeur de 8.820 ± 0.209 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu chez les mâles au niveau des gonades et $0,457 \pm 0,362$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu chez les femelles contre une valeur de $0,242 \pm 0,164$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu chez les mâles au niveau du manteau de *D. trunculus*. Par contre à Sidi Salem on peut noter la présence du glycogène chez les mâles à des taux plus élevés que chez les femelles, au niveau des gonades les mâles représentent 17.428 ± 0.50 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu alors que chez les femelles le taux du glycogène était à 16.741 ± 0.766 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu. Une augmentation du glycogène chez les mâles avec une valeur de $3,224 \pm 0,21$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu par rapport aux femelles $0,272 \pm 0,032$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu au niveau du manteau. Le corps entier ne présente pas de différence entre les deux sites en période d'activité sexuelle (mars). Pendant le repos sexuel les individus provenant du site de Sidi Salem représentent des quantités en glycogène plus importantes que ceux d'El Battah pour les trois tissus (gonades, manteau, corps entier). (Tableau. 17, 18, 19).

La comparaison des moyennes par le test "t" de student révèle des différences significatives pendant le repos sexuel au niveau du manteau et du corps entier et très significatives chez les mâles au niveau des gonades et du manteau et en période de repos sexuel au niveau des gonades. Aucune différence significative n'a été enregistrée entre les femelles des deux sites. (Fig. 29, 30, 31).

L'analyse de la variance à un seul critère de classification montre un effet hautement significatif entre les deux périodes de reproduction chez les femelles des deux sites par contre aucune différence n'a été enregistrée entre les trois organes.

Pour les mâles, L'analyse de la variance à un seul critère de classification montre un effet site, sexe, et période hautement significatif au niveau du site de Sidi Salem.

Le test de tukey nous a permis de classer les organes en trois groupes à Sidi Salem le premier renferme le corps entier et les gonades, le deuxième présente les gonades et le manteau, un troisième groupe pour le manteau.

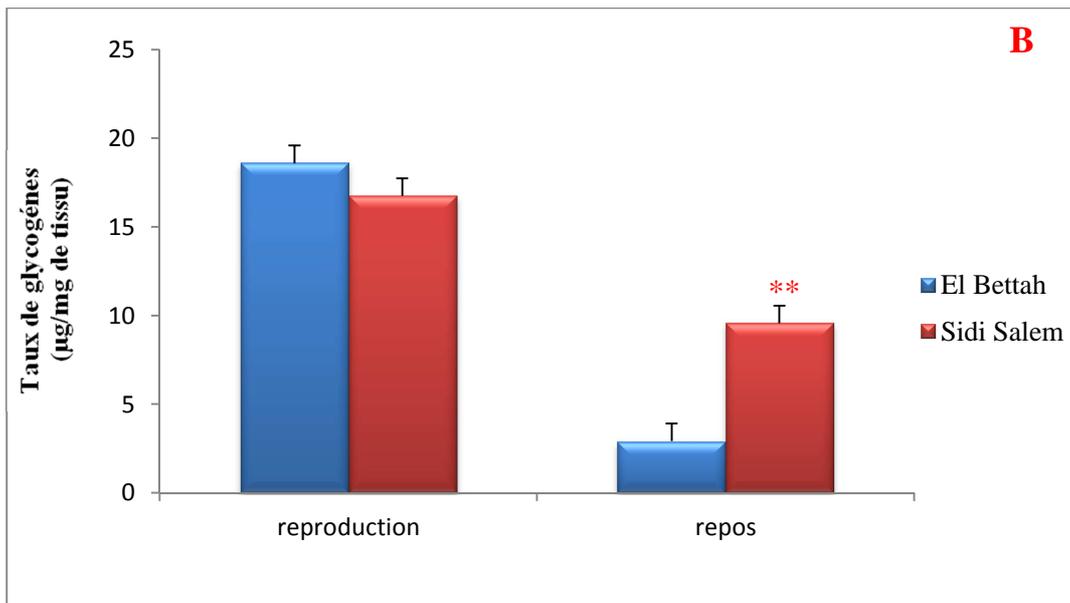
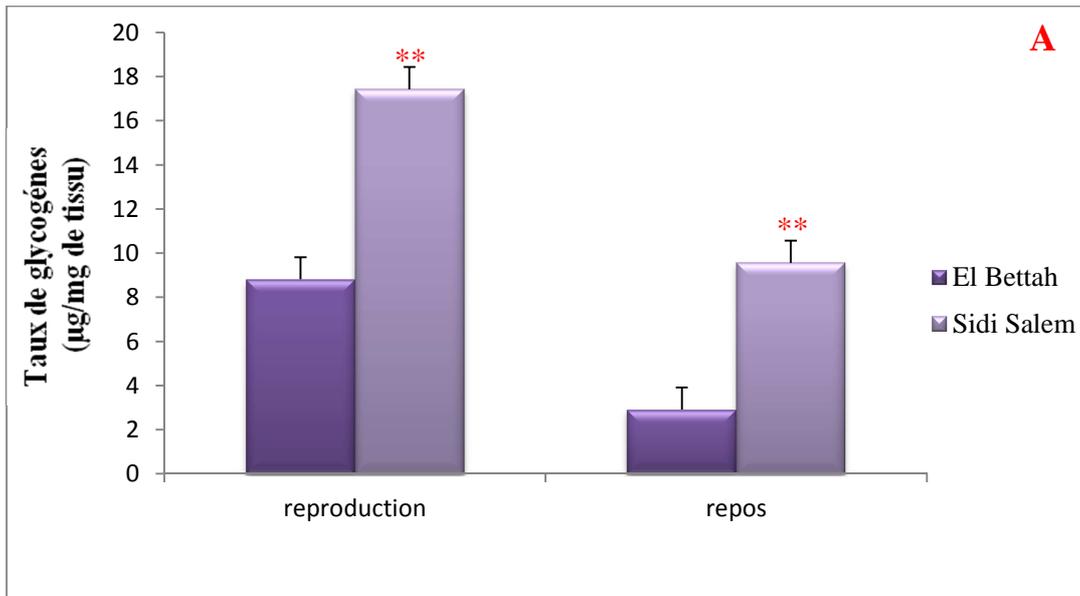


Figure 29. Taux de glycogène ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des **gonades** de *Donax trunculus* pêché à El Battah et à Sidi Salem durant les deux périodes de la reproduction de l'année 2013 (A: mâle, B: femelle) ($m \pm s$, $n = 3$).

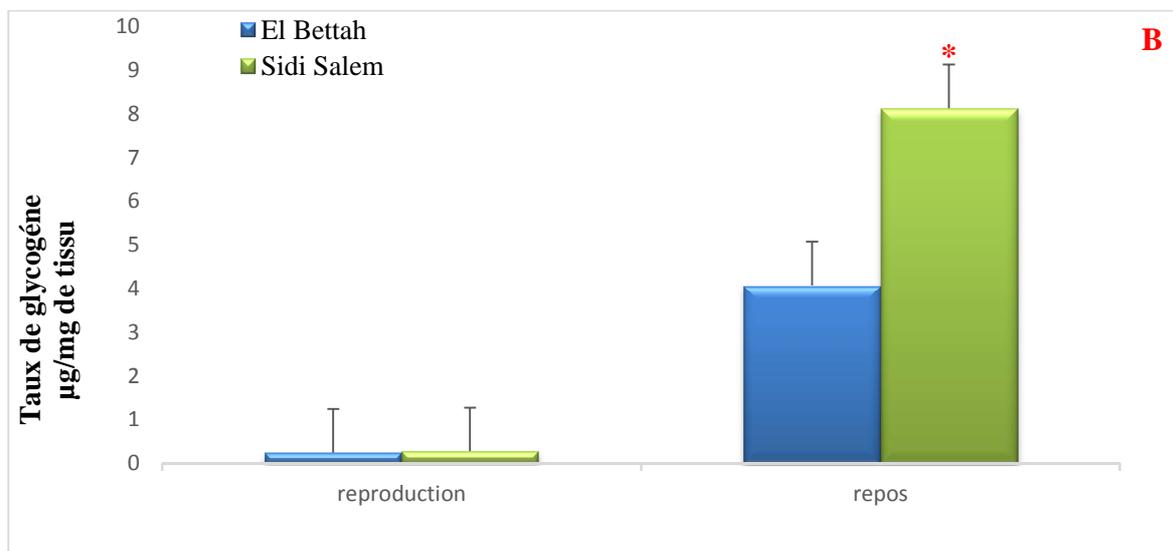
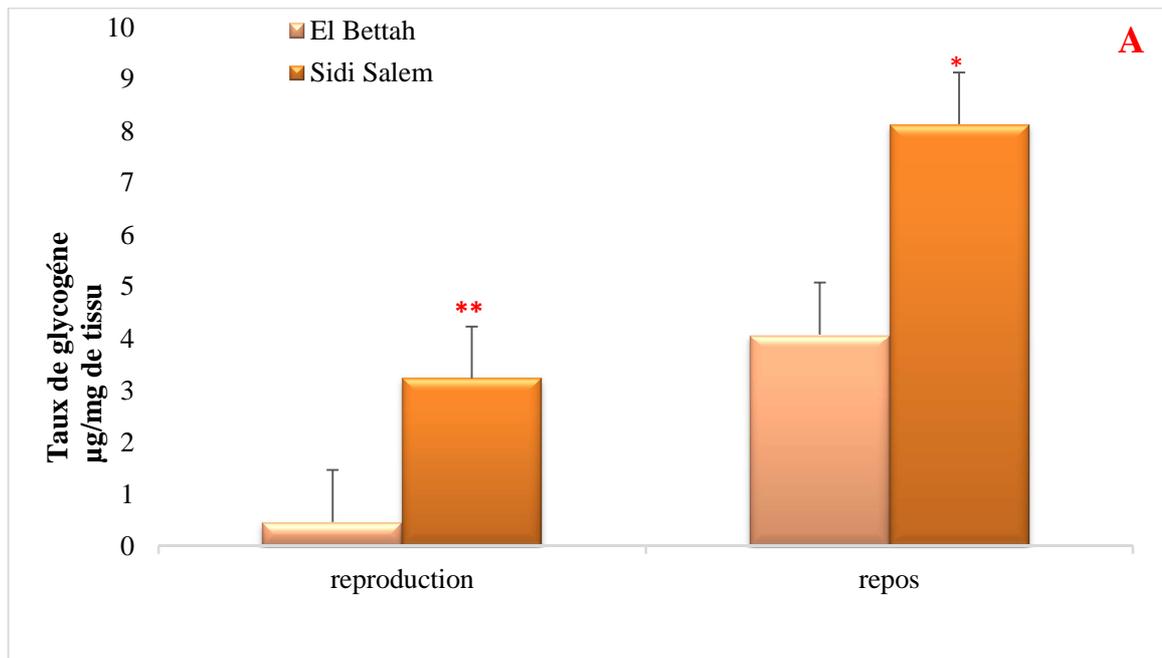


Figure 30. Taux de glycogène ($\mu\text{g/mg}$ de tissu) au niveau du **manteau** de *Donax trunculus* pêché à El Battah et à Sidi Salem durant les deux périodes de la reproduction au cours de l'année 2013 (A: mâle, B: femelle) ($m \pm s$, $n = 3$).

Tableau 17: Taux de glycogène ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau des **gonades** de *Donax trunculus* pêché à El Battah et à Sidi Salem durant les deux périodes de la reproduction au cours de l'année 2013 ($m \pm s$, $n = 3$).

Périodes	El Battah		Sidi Salem	P
Reproduction	M	8.820 ± 0.209	17.428 ± 0.505	0.001 **
	F	18.59 ± 0.844	16.741 ± 0.766	0.06 NS
Repos	2.91 ± 1.46		9.56 ± 1.11	0.008 **

Tableau 18: Taux de glycogène ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du **manteau** de *Donax trunculus* pêché à El Battah et à Sidi Salem durant les deux périodes de la reproduction au cours de l'année 2013 ($m \pm s$, $n = 3$).

Périodes	El Battah		Sidi Salem	P
Reproduction	M	$0,242 \pm 0,164$	$3,224 \pm 0,21$	0.002 **
	F	$0,457 \pm 0,362$	$0,272 \pm 0,032$	0,778 NS
Repos	$4,07 \pm 1,51$		$8,123 \pm 0,938$	0,029 *

Tableau 19: Taux de glycogène ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du **corps entier** de *Donax trunculus* pêché à El Battah et à Sidi Salem durant les deux périodes de la reproduction au cours de l'année 2013 ($m \pm s$, $n = 3$).

Périodes	El Battah	Sidi Salem	P
Reproduction	1.347 ± 0.0364	1.361 ± 0.22	0.924 NS
Repos	0.332 ± 0.013	1.394 ± 0.412	0.047 *

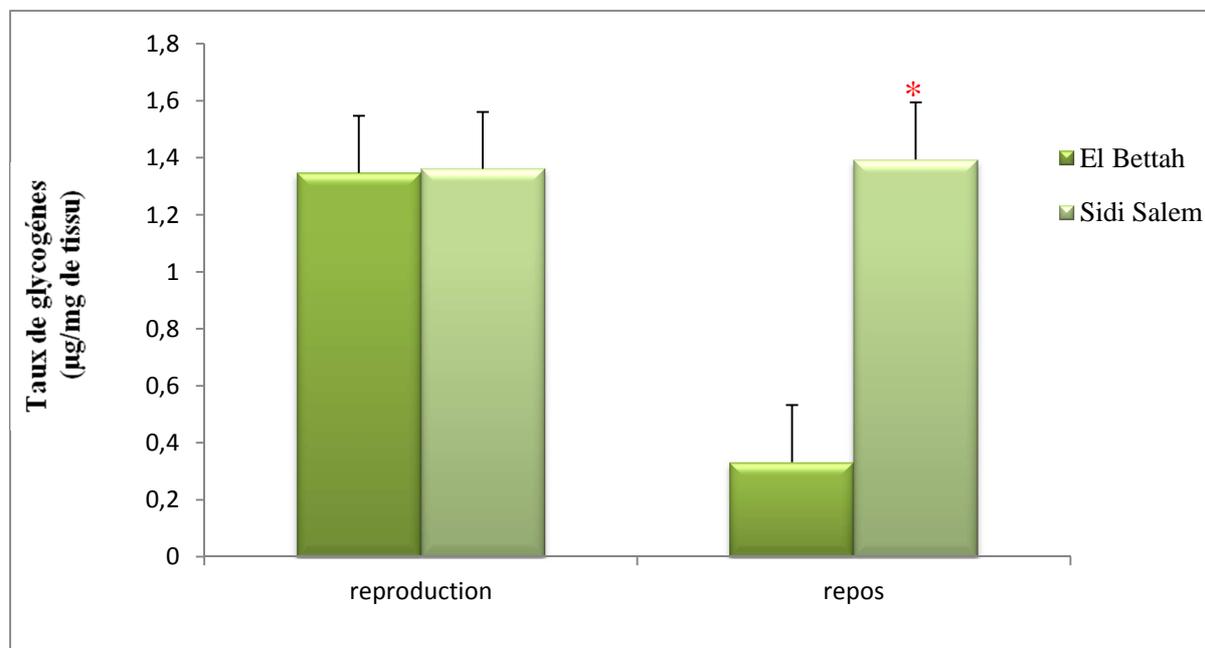


Figure 31. Taux de glycogène ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au niveau du **corps entier** de *Donax trunculus* pêché à El Battah et à Sidi Salem durant les deux périodes de la reproduction au cours de l'année 2013 ($m \pm s$, $n = 3$).

3. 4. 2. 2. Dosage qualitatif des sucres

L'analyse sur CCM des sucres a été réalisée sur les gonades mâles et femelles au cours de la période d'activité et repos sexuelle. Les sucres ont été comparés par des sucres témoins et leur rayon frontal RF.

La révélation des sucres par le biais de l'acide sulfurique a été faite à base des standards: glucose RF= 0,45, galactose RF1 = 0,37, fructose RF3= 0,44, manose RF=0,56, arabinose RF= 0,39, Saccharose RF = 0,43 . Le chromatogramme montre la présence de tous les sucres au niveau d'El Battah au cours des deux périodes et pendant l'activité à Sidi Salem chez les deux sexes. On constate la présence du fructose et du manose chez les femelles de Sidi Salem pendant le repos. (Fig. 32).

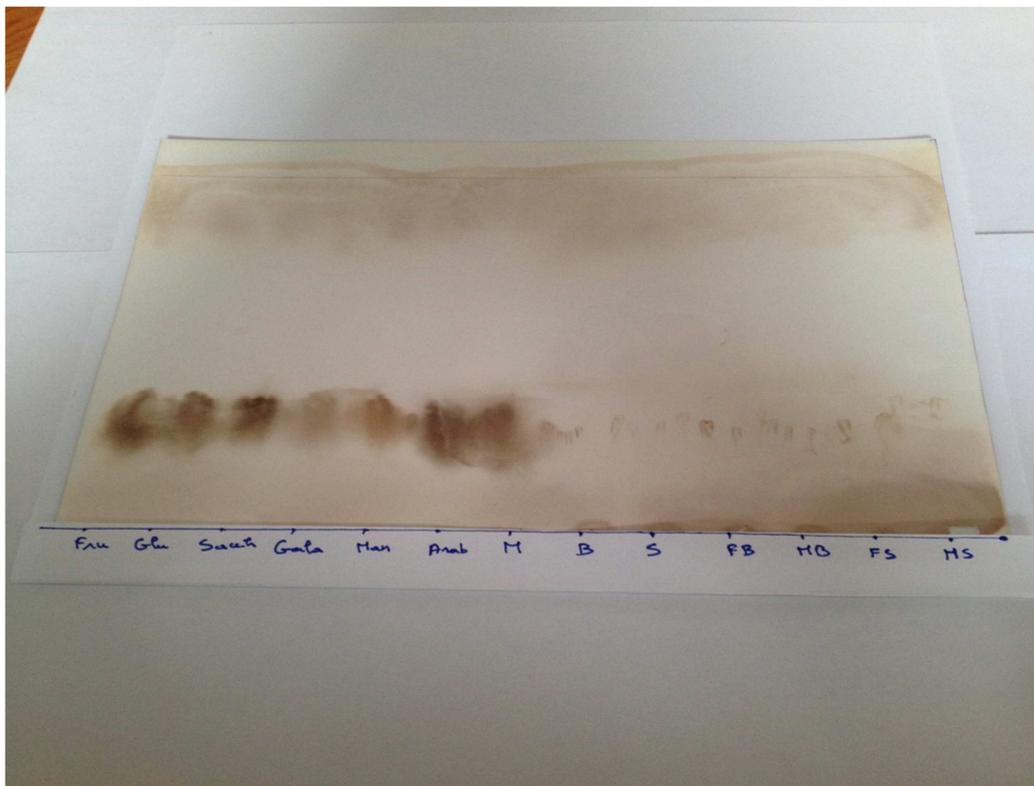


Figure 32. Chromatogramme des sucres gonadique chez *D. trunculus* récoltés au niveau des deux sites du le golfe d'Annaba (B: El Battah, S: Sidi Salem, M: mélange de standards, **FB**: femelle El Battah, **MB**: mâle El Battah, **FS**: femelle Sidi Salem, **MS**: mâle Sidi Salem **Fru**: fructose RF3= 0,44, **Glu**: glucose RF= 0,45, **Gala**: galactose RF1 = 0,37, **Man**: manose RF=0,56.).

3. 4. 3 Dosage qualitatif des acides aminés

L'analyse sur CCM des acides aminés a été réalisée sur les gonades mâles et femelles au cours de la période d'activité et repos sexuelle. Les acides aminés ont été comparés par des acides aminés témoins et leur rayon frontal RF.

La révélation des acides aminés par le biais d'une solution ninhydrinique a été faite à base des standards: arginine RF= 0,55, leucine RF1 = 0,57, isoleucine RF3= 0,54, alanine RF=0,56 valine RF=0,52 et lysine RF= 0,548. Le chromatogramme montre la présence des mêmes acides aminés au niveau des deux sites chez les mâles et les femelles en période de reproduction comparativement aux témoins. (Fig 33).

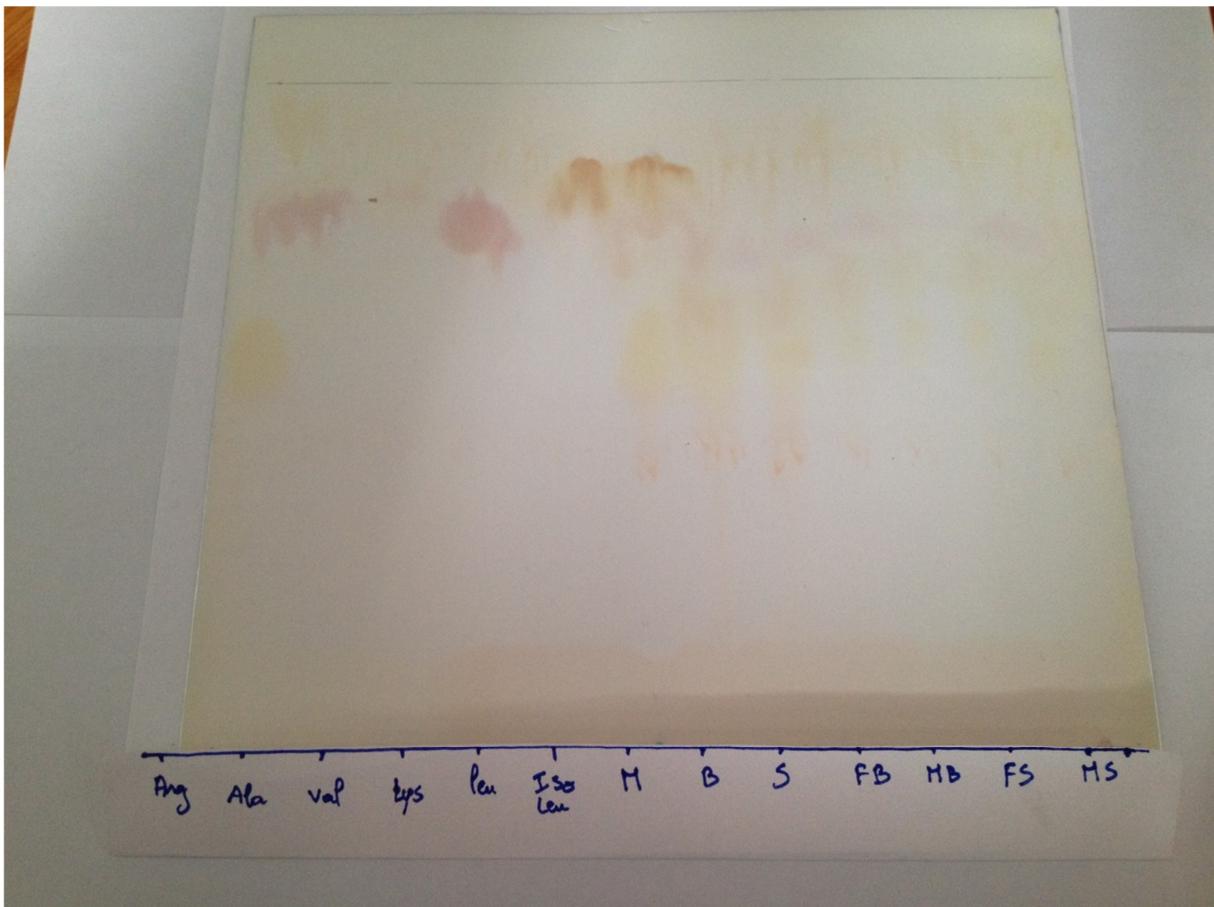


Figure 33 . Chromatogramme des acides aminés gonadique chez *D. trunculus* récoltés au niveau des deux sites du le golfe d'Annaba (B: El Battah, S: Sidi Salem, M: mélange de standards, FB: femelle El Battah, MB: mâle El Battah, FS: femelle Sidi Salem, MS: mâle Sidi Salem Arg: arginine RF= 0,55, leu: leucine RF1 = 0,57, Iso leu: isoleucine RF3= 0,54, Ala: alanine RF=0,56 et val: valine RF=0,52).

3. 5. Aspect cytologique de la reproduction

Une mensuration (longueur) des gonades a été réalisée sur des coupes histologiques pendant le cycle de développement. Pour rappel le cycle de reproduction est décrit comme suit (Hamdani & Soltani-Mazoni; 2011):

Stade 0: repos sexuel

Stade 1: reprise de l'activité génitale

Stade 2: gamétogénèse

Stade 3A: maturité

Stade 3B: émission des gamètes

Stade 3C: redéveloppement

Stade 3D: arrêt de l'activité génitale

Les résultats obtenus ne montrent aucune différence entre les deux sites concernant la longueur des ovocytes (tableau 20) et des cellules sexuelles mâles (tableau 21) durant tous les stades de développement.

Tableau 20: Longueur (μm) des ovocytes pendant le cycle de développement au niveau d'El Battah Sidi Salem (n= 5).

Stades de développement	El Battah	Sidi Salem
Stade 1	10,29 \pm 1,05 A	6,05 \pm 2,1 A
Stade 2	10,29 \pm 1,05 A	7,86 \pm 2,77 A
Stade 3A	21,30 \pm 7,1 A	11,49 \pm 1,05 A
Stade 3B	8,47 \pm 4,19 A	6,65 \pm 3,78 A
3B vers 3C	10,29 \pm 3,78 A	10,89 \pm 3,63 A
Stade 3D	5,44 \pm 1,82 A	6,65 \pm 1,05 A

Tableau 21: Longueur (μm) des cellules sexuelles mâles pendant le cycle de développement au niveau d'El Battah et Sidi Salem (n = 5).

Stades de développement	El Battah	Sidi Salem
Stade 1	8,47 \pm 1,05 A	5,44 \pm 1,82 A
Stade 2	4,84 \pm 1,05 A	4,23 \pm 1,05 A
Stade 3A	16,57 \pm 4,1 A	9,68 \pm 2,1 A
Stade 3B	9,68 \pm 2,1 A	8,47 \pm 2,1 A
3B vers 3C	8,47 \pm 1,05 A	6,65 \pm 1,05 A
Stade 3D	8,47 \pm 2,1 A	9,68 \pm 2,10 A

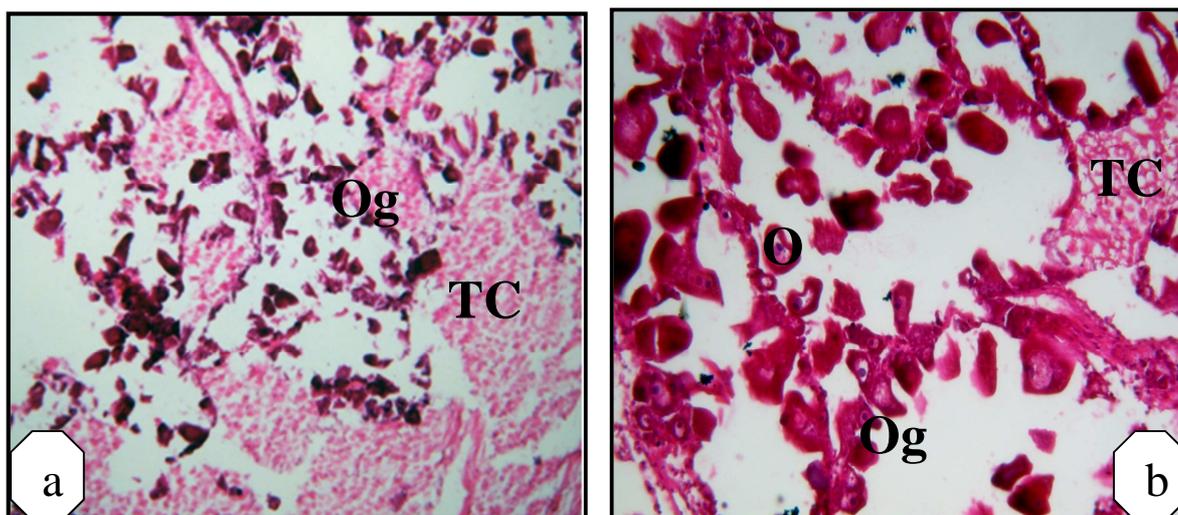


Figure 34. Stade 1(femelle). Premiers signes de la gamétogénèse. Apparence d'une lignée d'ovogonies. Début de formation des follicules sexuels. au sein du tissu conjonctif on observe les futurs follicules ainsi que des ovogonies. tissu conjonctif abondant des ovocytes se fixent sur les parois folliculaires (a: El Battah (G: X 100); b: Sidi Salem (G: X 200); TC: tissu conjonctive; Og: ovogonie; O: Ovocyte).

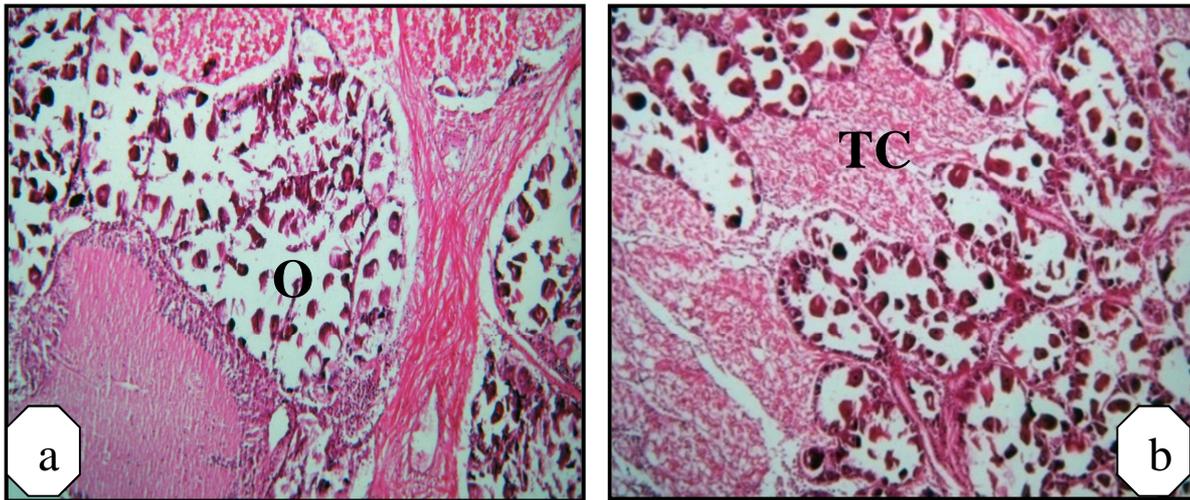


Figure 35. Stade 2 (femelle). Un grand espace est occupé par les follicules. Les jeunes ovocytes restent attachés au pourtour folliculaire, ceux qui sont matures deviennent libres dans le lumen. les parois folliculaires sont bien formées. Centre vide des follicules, les ovocytes pédonculés sont accrochés aux parois folliculaires (a: El Battah (G: X 100); b: Sidi Salem (G: X 100); TC: tissu conjonctive; O: Ovocyte).

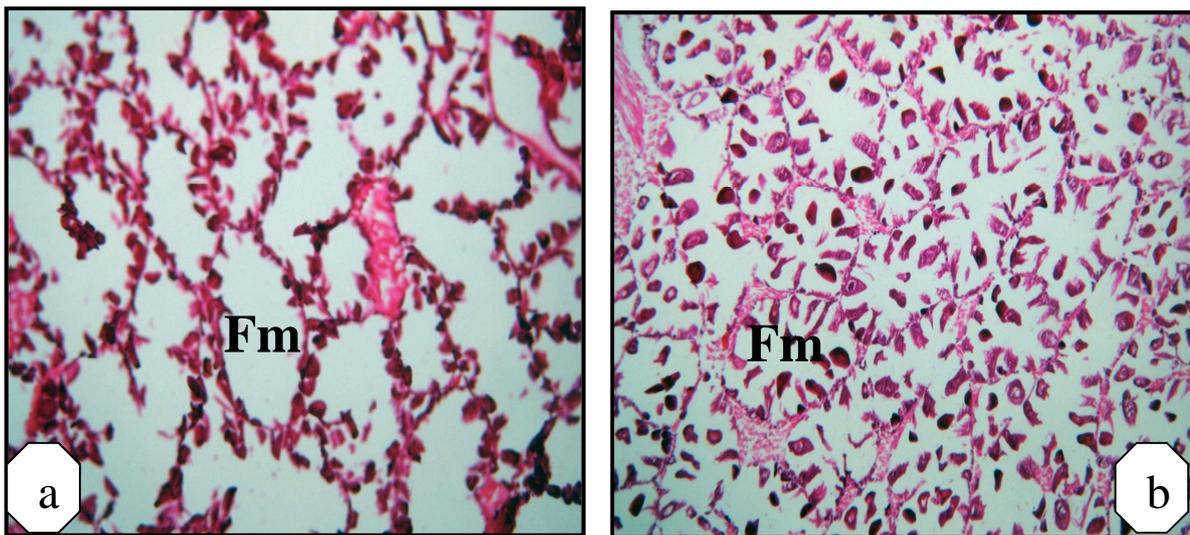


Figure 36. Stade 3A (femelle). Maturité morphologique. Ovocytes bien développés, pressés dans la lumière des follicules, forme polygonale. Maturité des follicules qui présentent une forme polygonale (pression) (a: El Battah (G: X 100); b: Sidi Salem (G: X 100); Fm: f

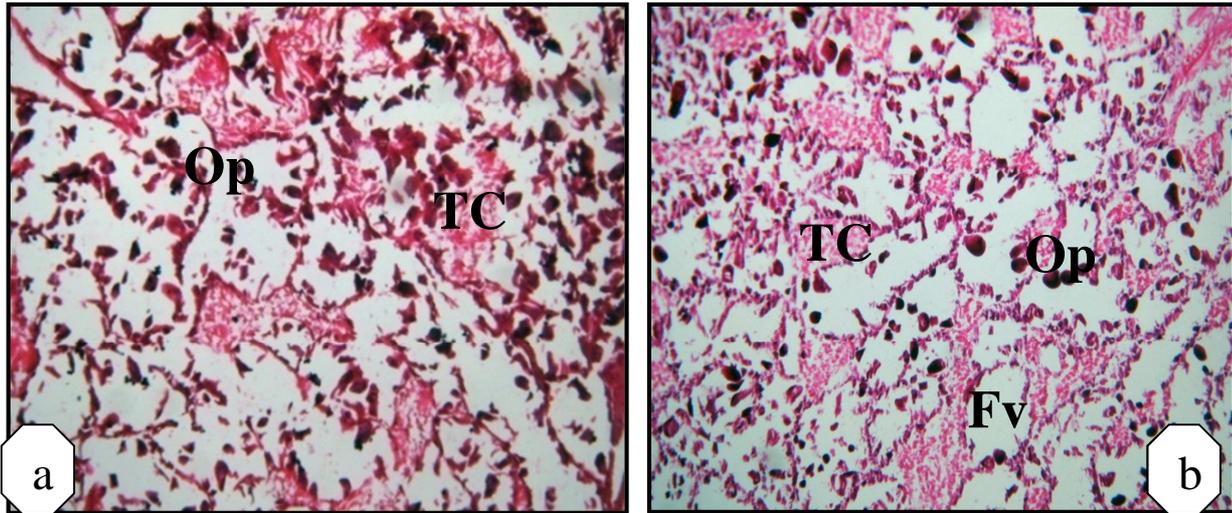


Figure 37. Stade 3B (femelle). Certains follicules se vident de leurs contenus, les ovocytes restant prennent une forme sphérique au moment où la pression de ponte dans les follicules diminue. Réduction généralisée du nombre d'ovocytes dans le tissu germinal. Follicules sexuels vides. Jeunes ovocytes en formation sur les parois. une réduction générale de la surface occupée par le tissu génital. On observe l'envahissement des follicules sexuels par le tissu conjonctif (a: El Battah (G: X 100); b: Sidi Salem (G: X 300); TC: tissu conjonctive; Op: ovocyte pédonculé; Fv: follicule vide)

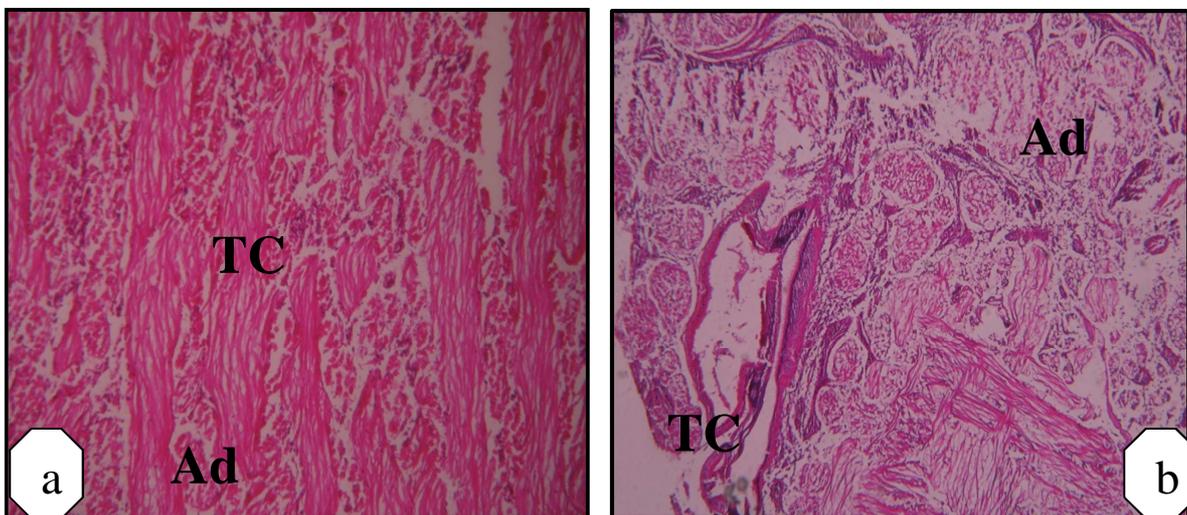


Figure 38. Stade 3D (femelle). Arrêt de l'activité génitale. Follicules sexuels dégénérés.. Follicules occupés par les adipocytes (a: El Battah (G: X 200); b: Sidi Salem (G: X 200); TC: tissu conjonctive; Ad: Adipocyte).

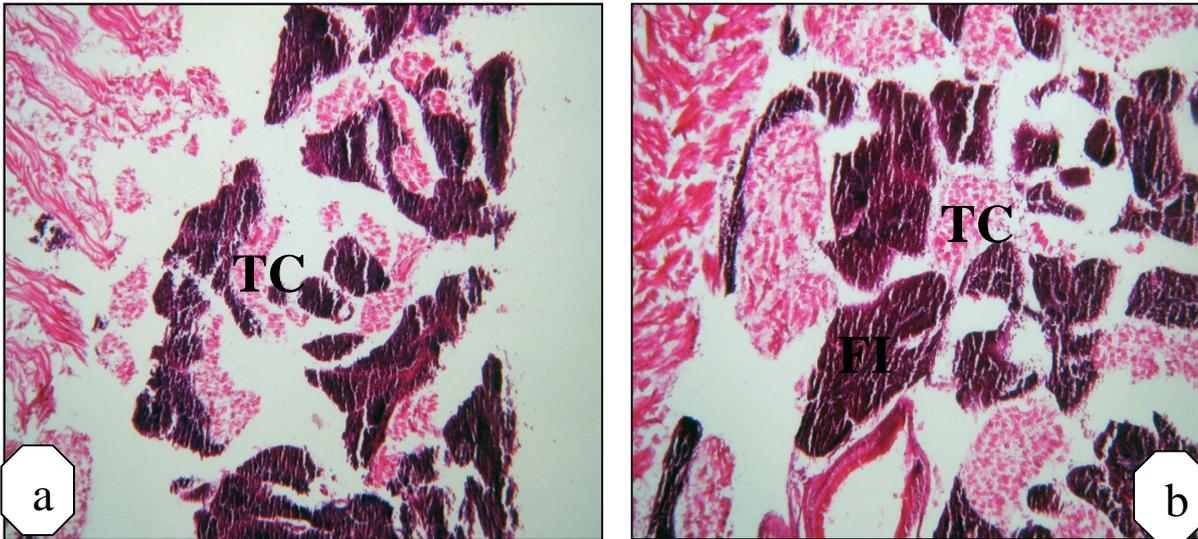


Figure 39. Stade 1 (mâle). Début de formation des follicules sexuels). Dans le tissu conjonctif des spermatogonies se regroupent pour former des follicules spermatiques. Début de formation des follicules spermatiques (a: El Battah (G: X 100); b: Sidi Salem (G: X 100); TC: tissu conjonctive; FI: follicule immature).

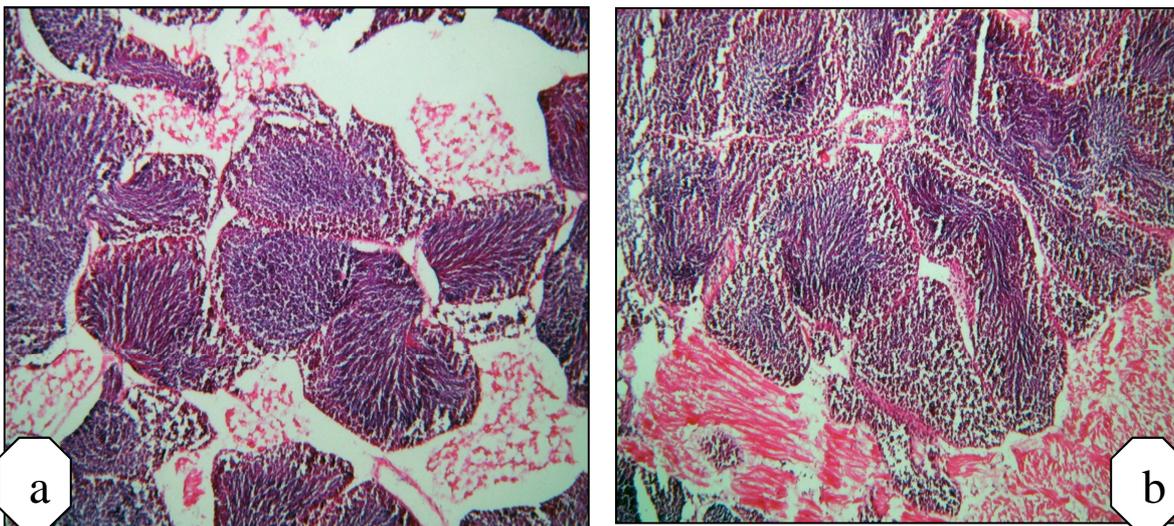


Figure 40.stade 2 (mâle). On observe les follicules spermatiques en spermatogénèse (Début). La lignée germinale apparaît dans les follicules avec de l'extérieur vers l'intérieur: spermatogonies, spermatocytes et spermatides (a: El Battah (G: X 100); b: Sidi Salem (G: X 100))

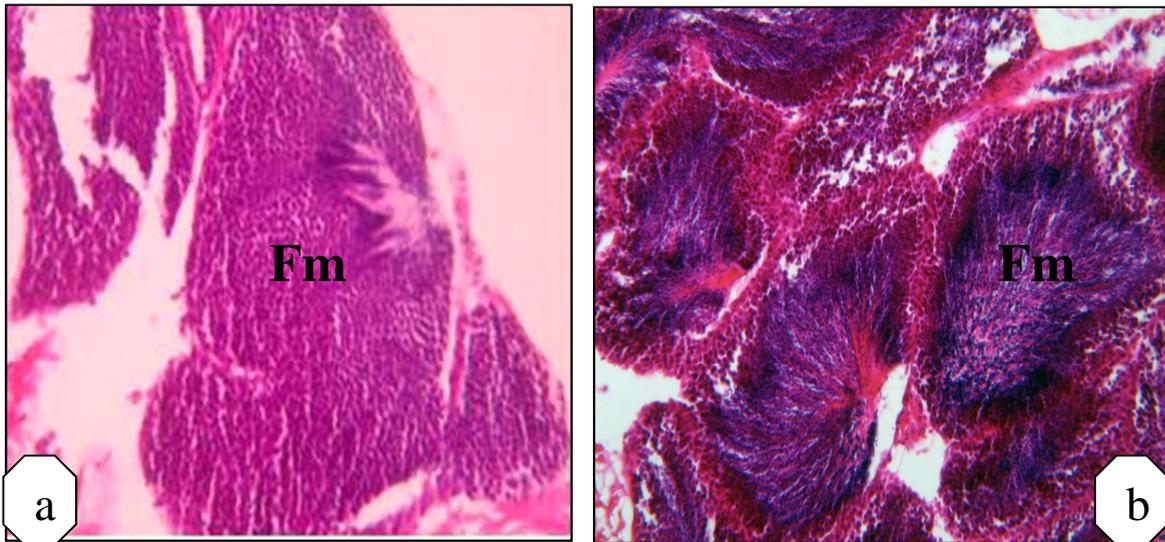


Figure 41. stade 3A (mâles). Follicules sexuels bien formés en plein développement, Disposition des spermatogonies, spermatocytes et spermatozoïdes de périphérie vers le centre. Maturité morphologique. Spermatozoïdes abondants au centre des follicules, groupés sous forme des colonnes (a: El Battah (G: X 200); b: Sidi Salem (G: X 200); Fm: follicule mature).

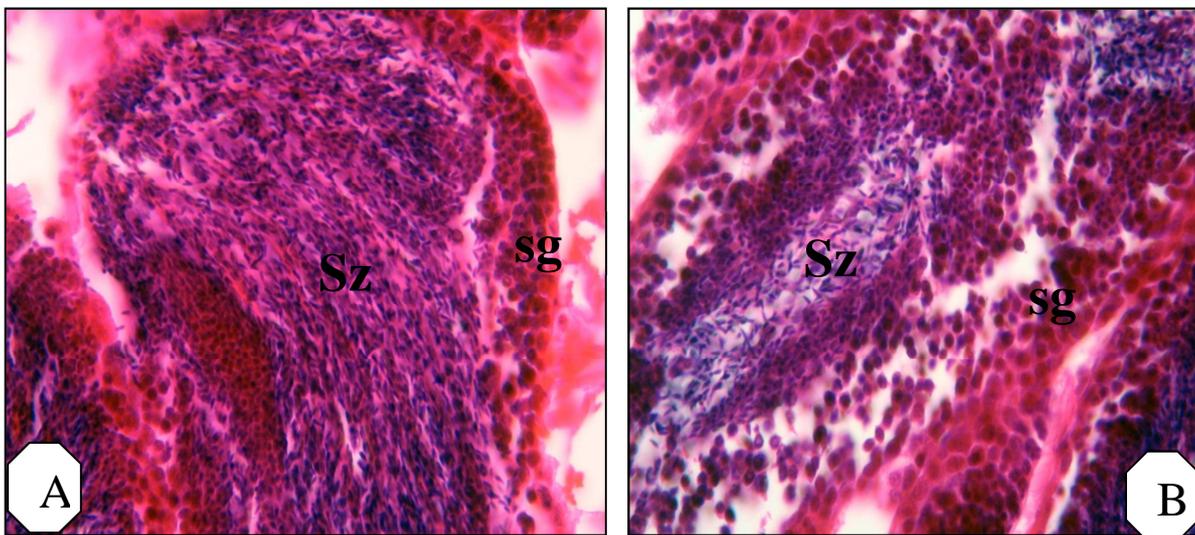


Figure 42. Stade 3A (mâles)., Spermatozoïdes abondants au centre des follicules, groupés sous forme des colonnes (A: El Battah (G: X 200); B: El Battah (G: X 200); Sz: spermatozoïde; Sg: spermatogonie).

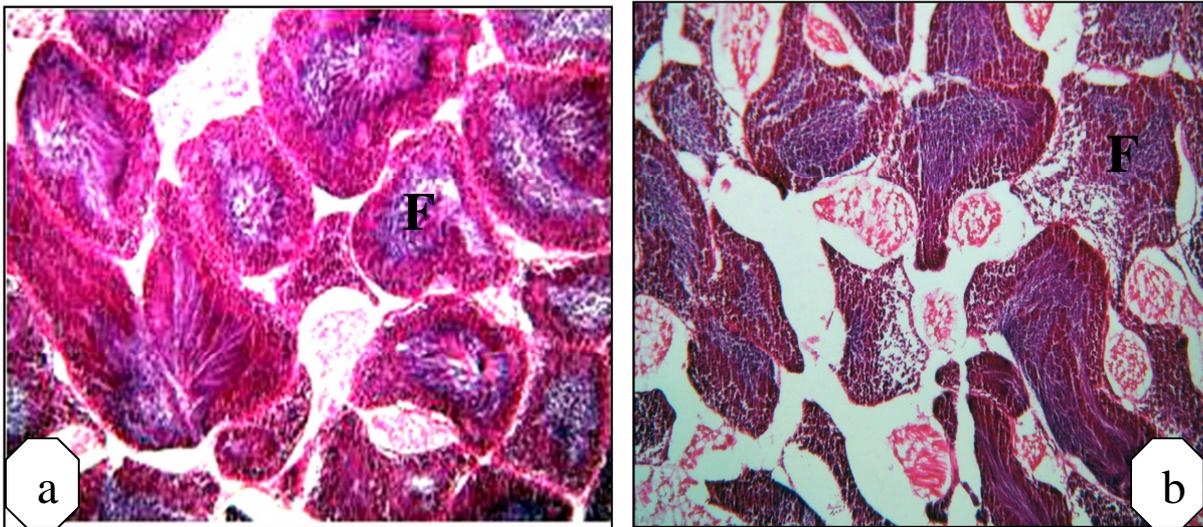


Figure 43. Stade 3B (mâle) Emission des gamètes. Arrangement des spermatozoïdes en colonnes disparaît. Follicules sexuels se vident de leur contenu. Quelques colonnes spermatiques persistent. Stade d'émission des spermatozoïdes (a: El Battah (G: X 100); b: Sidi Salem (G: X 100); F: follicule).

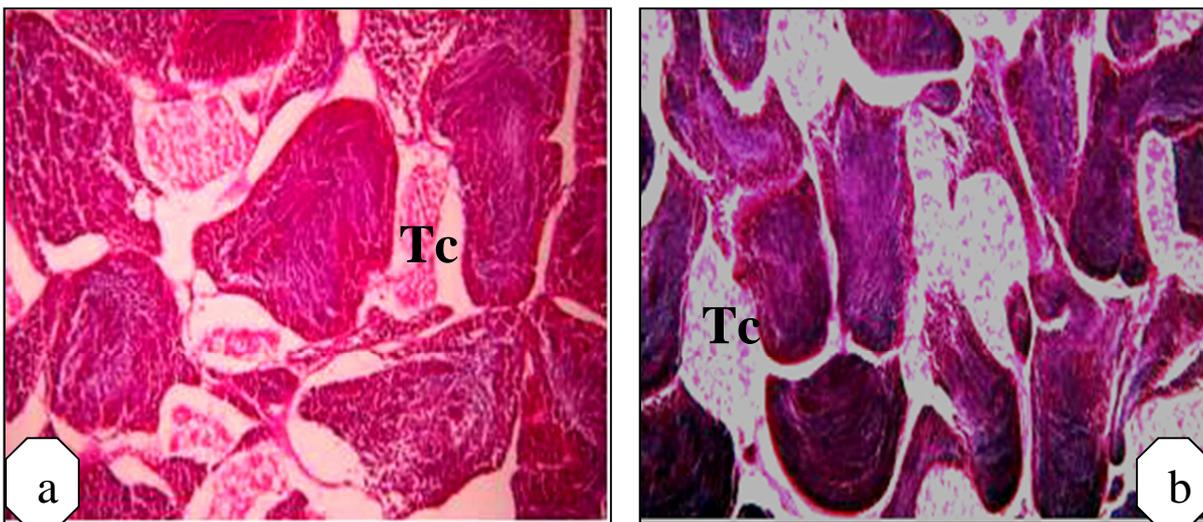


Figure 44. Stade 3C (mâle). C'est le stade de redéveloppement, le renouvellement gamétogénésique a lieu, les follicules n'occupent plus toute la surface du tissu génital. Tissu conjonctif abondant (a: El Battah (G: X 100); b: Sidi Salem (G: X 100); Tc: tissu conjonctive).

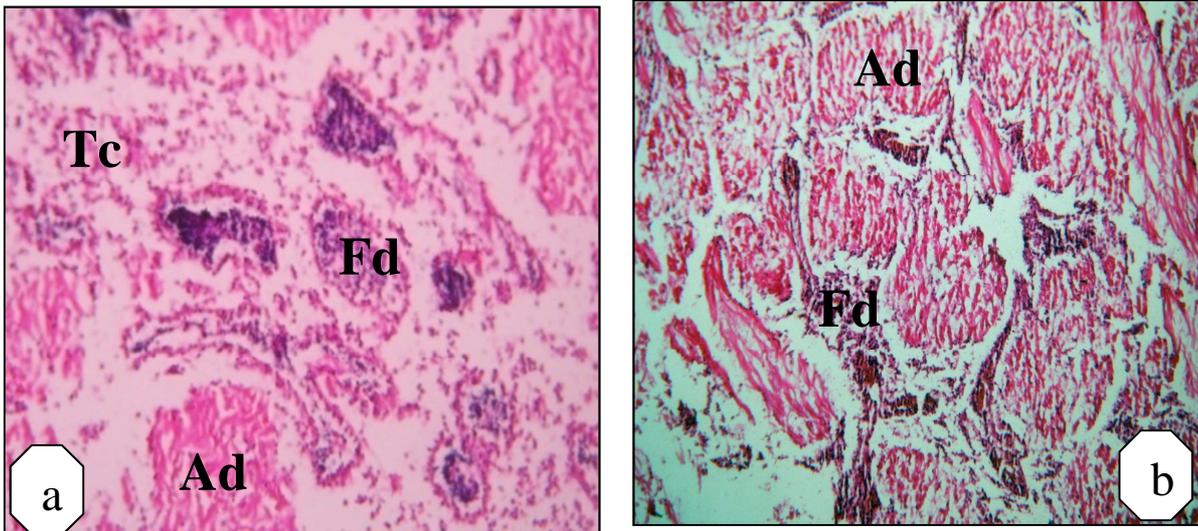


Figure 45. Stade 3D (mâle). Follicules presque vides avec quelques spermatozoïdes. Gonade s'acheminant vers le stade 0. Parois tubulaires déchirées. Débris cellulaires présents (a: El Battah (G: X 400); b: Sidi Salem (G: X 100); Tc: tissu conjonctive; Fd: follicule dégénère; Ad: Adipocyte).

DISCUSSION

4. DISCUSSION

Depuis plusieurs années, le littoral du golfe d'Annaba a été soumis à des fortes pressions anthropiques, industrielles, agricoles et touristiques. En conséquence il a été exposé à l'impact de nombreux contaminants chimiques susceptible de contribuer à la dégradation écologique de cet écosystème. Les baies côtières sont des zones semi-fermées où la capacité de renouvellement des eaux est limitée, permettant ainsi l'accumulation des contaminants (Vlahogranni *et al.*, 2009). Les organismes aquatiques présents dans ces milieux font face à de très nombreuses sources de perturbations qui agissent le plus souvent de manière simultanée, engendrant des interactions plus ou moins néfastes (Dellali *et al.*, 2010, Kankal & Gaikwad, 2011). La biosurveillance est un élément important dans les programmes d'évaluation de la qualité des eaux en fournissant des informations spécifiques concernant la dynamique des polluants (leur persistance dans l'environnement), ainsi que leurs effets sur la santé des espèces (Campos *et al.*, 2012). De nos jours, les indicateurs biologiques sont principalement employés pour évaluer l'état de l'environnement et pour fournir un signal précoce des changements environnementaux, ou pour diagnostiquer la cause d'un problème écologique (Noss, 1990; Dufrene & Legendre, 1997; Niemi & McDonald, 2004; Howe *et al.*, 2007). Du point de vue écotoxicologique, les mollusques bivalves de par leur mode de vie jouent un rôle important dans la bioaccumulation des polluants car ils ont l'avantage d'être en contact direct avec l'eau, le sédiment et la nourriture contaminée (Gunther *et al.*, 1999 ; Miller *et al.*, 2000). La réponse à l'échelle sub-individuelle (biomarqueurs) chez les mollusques bivalves peuvent être utilisés comme de véritables système d'alarme sensibles dans les études d'évaluation des risques écotoxicologiques (Tlili, 2012).

4.1. Dynamique des populations

De nombreuses études ont porté sur les facteurs pouvant affecter la croissance et la survie des bivalves (Winter, 1978; Bayne & Newell, 1983; Grant, 1996; Grizzle *et al.*, 2001). Cependant, parmi les paramètres du milieu on peut citer l'action de la température, la disponibilité des aliments, ainsi que d'autres facteurs du stress physiologique (Brey & Clarke, 1993). En effet, la disponibilité de la nourriture peut être considérée comme étant le facteur le plus important dans la détermination de la croissance des mollusques, car si la nourriture est rare la croissance sera retardée indépendamment de tous les autres facteurs (Seed, 1976).

La croissance de l'individu est l'une des principales caractéristiques de la plupart des organismes et un paramètre important dans la dynamique des populations. Les mollusques, sans doute en raison de leur abondance mais aussi du fait de la présence d'une coquille remarquablement organisée, ont donné lieu à de nombreuses études de morphométrie et de croissance, notamment chez les bivalves (Legaya *et al.*,

2000; Ansell & Lagards, 1980; Bodoy, 1982; Gaspar et al., 1999). La coquille des mollusques bivalves ne fournit pas seulement une protection importante contre les prédateurs et les dommages mécaniques, mais aussi intervient dans le contrôle de l'environnement interne, particulièrement dans la circulation des courants d'eau à travers la cavité palléale (Seed, 1980).

L'étude de la structure démographique des populations d'une espèce est d'un intérêt multiple avec notamment la connaissance instantanée des tailles les plus représentatives, les périodes de ponte et la durée de vie des différentes classes de taille (Bachelet, 1981; Dauvin, 1988; Bazairi, 1999; Zine, 2004). Dans la mer Méditerranée, la croissance de *Donax trunculus* est généralement étudiée en utilisant la méthode d'analyse indirecte se basant sur la mesure de la longueur antéro-postérieure de la coquille; elle est contrôlée par l'interaction de plusieurs facteurs écologiques tels que la température, la densité, la disponibilité de la nourriture. De plus, la granulométrie du sédiment est un facteur principal dans le contrôle de la distribution des populations de *D. trunculus* (Mouëza & Frenkiel-Renault, 1973; Ansell & Lagardère, 1980; Guillou & Le Moal, 1980; Bodoy, 1982; Bayed & Guillou, 1985; Costa *et al.*, 1987; Mazé & Laborda, 1988; Neuberger-Cywiak *et al.*, 1990; Ramon, 1993; Ramon *et al.*, 1995; Manca-Zeichen *et al.*, 2002; Tlili *et al.*, 2010a; La valle *et al.*, 2011). La Valle, (2006) a rapporté que la présence d'un sédiment bien trié avec une taille moyenne des grains dans les plages de sable moyennement fin, permet une meilleure croissance avec l'apparition d'une population plus stable. En effet, c'est le cas de la plage d'El Battah qui se caractérise par un sable moyen dont le diamètre moyen est de 0,26 mm, tandis que la plage de Sidi Salem est composée de sable fin avec diamètre moyen de 0,18 mm.

De nos jours, les indicateurs biologiques sont principalement employés pour évaluer l'état de l'environnement et fournir un signal précoce des changements environnementaux, ou pour diagnostiquer la cause d'un problème écologique (Noss, 1990; Dufrene & Legendre, 1997; Niemi & McDonald, 2004; Howe *et al.*, 2007).

Donax trunculus occupe les environnements hautement énergétiques sur les plages de sable fin, où il est exposé aux rythmes des marées, l'action des vagues intenses et l'instabilité des sédiments (Brown & McLachlan, 1990). Dans ces environnements, les populations de *Donax trunculus* sont capables d'atteindre des densités très élevées (Gaspar *et al.*, 1999). Cette espèce est préférentiellement distribuée entre 0-2 m de profondeur dans la Méditerranée, et entre 0-6 m sur les côtes de l'Atlantique, avec des densités plus élevées entre 0-3 m de profondeur (Gaspar *et al.*, 2002; La valle, 2006).

L'étude menée durant la période allant de janvier à décembre 2011 montre une répartition des classes de taille différente entre les deux sites et qui varient en fonction de la période de reproduction et du stade de développement, par contre aucun recrutement n'a été enregistré et cela peut être due à une faute d'échantillonnage.

Ces résultats sont en accord avec les travaux d'Aouadene (2003), Beldi (2007) menés dans le golfe d'Annaba, chez les populations des côtes algéroises (Mouëza & Frenkiel- Renault, 1973; Ansell *et al.*, 1980), les côtes Marocaines (Bayed & Guillou, 1985; Bayed, 1990; Guillou & Bayed, 1991), les côtes italiennes (Badino & Marchionni, 1972) et les côtes espagnoles (Mazé & Laborda, 1990; Ramon *et al.*, 1995). En effet, le recrutement bimodal semble être une caractéristique des populations méditerranéennes (Mouëza & Frenkiel- Renault, 1973; Ansell & Bodoy, 1979; Ramon *et al.*, 1995). Cependant nos résultats sont en contradiction avec les travaux de Sifi (2009) dans le golfe d'Annaba, qui a observé la présence d'un recrutement unimodal chez cette espèce. Voliani *et al.* (1997) montrent également chez *D. trunculus* une seule période de recrutement en automne. Plusieurs travaux rapportent également la présence d'un recrutement unimodal chez *D. trunculus* en Méditerranée (Neuberger-Cywiack, 1990; Manca-Zeichen *et al.*, 2002) et en Atlantique (Ansell & Lagardère, 1980; Guillou & Le Moal, 1980).

Un recrutement bimodal est observé chez d'autres espèces de Donacidés tels que *Donax variabilis* en Caroline du Sud (États-Unis) (Wilson, 1999); *Donax semistriatus* en Palestine (Neuberger - Cywiak *et al.*, 1990). Cependant, Ansell (1972) suggère un recrutement continu chez *Donax vittatus*. Un recrutement continu sans période de repos sexuel est également observé chez la moule *Callista chione* au Portugal (Moura *et al.*, 2008), alors que Bayed (1998) signale une variabilité dans le recrutement avec un recrutement bimodal en 1985 et 1987 et un recrutement unimodal en 1986 et 1988 de *D. trunculus* dans les plages d'Essaouira au Maroc. Une variabilité dans le recrutement est également signalée chez *R. Decussatus* pêchée dans différents sites des côtes marocaines avec un recrutement unimodal dans un des sites, un recrutement bimodal avec une période de repos sexuel dans un autre site et un recrutement trimodal sans période de repos sexuel dans un troisième site, ceci est dû essentiellement aux variations trophiques et thermiques entre ces trois sites (Kamara *et al.*, 2005).

D'après les résultats antérieurs obtenus, un retard d'un mois dans le recrutement des jeunes individus à Sidi Salem comparativement à El Battah en période printanière, ceci est confirmé par le travail de Hamdani (2012) où elle a constaté après une étude histologique la présence de légères différences dans la répartition des différents stades gamétogénésiques entre les deux sites, avec un retard d'un mois dans l'émission des gamètes (le stade 3B) à Sidi Salem (le maximum de ce stade a été enregistré au mois d'avril à El Battah et au mois de mai à Sidi Salem). Ce retard est probablement dû à la pollution dans ce site provoquant ainsi, une perturbation dans l'émission des gamètes. En effet, Abdennour *et al.* (2010) révèle selon une analyse réalisée sur le sédiment au niveau du golfe d'Annaba, la présence de métaux

lourds (Plomb, Nickel, cuivre et Zinc) à des concentrations différentes avec une augmentation au niveau de Sidi Salem par rapport à El Battah. Cependant, l'exposition aux polluants peut affecter la croissance et le succès de la reproduction chez les bivalves marins (Neudecker, 1981; Steele & Mulcahy, 1999). Nos résultats sont en accord avec ceux observés par Tlili *et al.* (2011) chez *D. trunculus* au niveau du golfe de Tunis. Guerlet *et al.* (2007) rapporte également un retard dans la maturité et l'émission des gamètes chez la moule *Dreissena polymorpha* exposée à la pollution. Une modification du cycle sexuel avec un allongement de la période de reproduction a été déjà constatée chez *M. edulis* exposées à des métaux lourds (Myint & Tyler, 1982) et chez d'autres moules exposées au cuivre (Zorita *et al.*, 2006).

La distribution des classes de taille a été largement utilisée comme un élément important dans la structure des populations terrestres et aquatiques (Brown, 1995; Kerr & Dickie, 2001; White *et al.*, 2007). En effet, La structure des populations des Donacidés révèle une étroite relation entre la croissance, la reproduction, la mortalité larvaire et la variation saisonnière de la distribution des fréquences des classes de taille (Wilson, 1999). D'après les résultats obtenus, les individus d'El Battah montrent une distribution des classes de tailles et une croissance meilleure comparativement à ceux de Sidi Salem, qui montrent une amélioration dans leur croissance au cours de l'année d'étude (2011).

Des travaux réalisés sur les côtes françaises (Body & Massé, 1978) et algéroises (Mouèza, 1972) confirment que la distribution des classes de tailles est en relation étroite avec la période de reproduction et l'apparition des jeunes recrues. Cependant, d'après notre étude on distingue une différence dans la distribution des classes de taille au cours de la période d'activité sexuelle s'étalant de mars à septembre, et une distribution des classes relativement la même durant la période de repos sexuel s'étalant d'octobre à février. En effet, on remarque une croissance rapide en été et au printemps contre une croissance lente en hiver et en automne ;

D'après Ramon *et al.* (1995), la progression mensuelle de la distribution des fréquences des classes de taille montre un profil saisonnier de la croissance des populations de *D. trunculus* sur les côtes espagnoles; ceci confirme nos résultats qui sont également en accord avec les travaux de Guillou & Le Moal (1980) sur les côtes françaises, Manca-Zeichen *et al.* (2002) sur les côtes italiennes et Gaspar *et al.* (1999) sur les côtes portugaises. Fishelson *et al.* (1999) ont observé chez *D. trunculus* une dominance des juvéniles en automne et celle des adultes au printemps et en été. Cette différence saisonnière est due au recrutement en été, mais aussi à la croissance des individus en fin de printemps et au début de l'été, et à la perte du poids plus tard à la fin de l'été (Beukema *et al.*, 1985; Essink & Bos, 1985; Beukema & Desprez, 1986). Une augmentation du pourcentage des juvéniles est également signalée en Palestine chez

la même espèce durant l'automne avec un maximum en septembre et novembre (Neuberger-Cywiak *et al.*, 1990). Lastra & McLachlan (1996) ont expliqué l'altération de la croissance et du recrutement des juvéniles par la qualité du sédiment durant les premiers stades de croissance chez les jeunes recrues qui préfèrent un sable fin et cette sensibilité diminue avec leur croissance. En effet, De La Huz *et al.* (2002) ont montré que les individus de *D. trunculus* ayant une taille inférieure à 25 mm préfèrent un sable moyen et grossier tandis que ceux ayant une taille supérieure à 25 mm préfèrent un sable fin à moyen. En général, il est reconnu que la relation taille-poids est parmi les données de base les plus importantes qui expliquent les changements de la longueur de la coquille chez les bivalves en milieu naturel. Ainsi, on peut citer les conditions environnementales comme l'exposition aux vagues (Akester & Martel, 2000), les conditions trophiques (Alunno-Bruscia *et al.*, 2001), la profondeur de l'eau (Claxton *et al.*, 1998; Lajtner *et al.*, 2004), les courants (Fuiman *et al.*, 1999), les turbulences de l'eau (Hinch & Bailey 1988), la nature du sédiment (Newell *et al.*, 1982; Lajtner *et al.*, 2004) et la qualité de l'eau (Lajtner *et al.*, 2004). Les données taille-poids sont également employées dans les études physiologiques pour obtenir des estimations de la variation saisonnière de la croissance (Gosling, 2003).

D'après nos résultats, on remarque que la longueur de la coquille croît relativement plus vite que le poids total (allométrie minorante) dans les deux sites d'études. En effet, Fishelson *et al.* (1999) ont démontré que chez *D. trunculus* la longueur augmente avec l'augmentation du poids total. Ceci est en accord avec la plupart des travaux réalisés sur la croissance de *D. trunculus* dans différentes régions de son aire de distribution y compris, le Sud-Ouest européen, la méditerranée et le nord d'Afrique. Une allométrie minorante est constatée chez cette espèce en Espagne (Mazé & Laborda, 1990; Ramòn, 1993), en France (Ansell & Lagadère, 1980), au Maroc (Bayed, 1990; Tlili *et al.*, 2011) et en Algérie (Ansell *et al.*, 1980); ainsi que chez d'autres espèces de bivalves tels que *Venerupis decussatust*, *Cardium edule* (Benmessaoud, 2007) et *Scrobicularia plana* (Kourradi, 2007) collectés sur les côtes atlantique marocaine.

Les arbres hiérarchiques obtenus montrent au cours de l'année d'étude des similitudes dans la croissance des individus durant l'été et le printemps pour les deux sites.

4.2. Réponse des biomarqueurs du stress environnemental

Les eaux côtières sont exposées à plusieurs mécanismes de perturbation; la pollution chimique, associée à la production industrielle et l'urbanisation élevée, sont parmi les préoccupations les plus majeures (Giarratano *et al.*, 2010). L'utilisation de réponses biologiques chez les espèces sentinelles exposées aux différents contaminants est devenue un outil utile dans l'évaluation de la qualité de

l'environnement. De nombreux biomarqueurs écotoxicologiques proposés dans les trois dernières décennies basés sur les réponses aux niveaux moléculaires et cellulaires représentent les premiers signaux de perturbation de l'environnement et ils sont couramment utilisés dans les programmes de biosurveillance (Moore *et al.*, 2004 ;Viarengo *et al.*, 2007).

4.2.1. L'acétylcholinestérase :

Une enzyme vitale dont le rôle majeur est d'hydrolyser l'acétylcholine (ACh), un ester libéré dans l'espace synaptique lors de la transmission de l'influx nerveux d'une cellule nerveuse à une autre (Bainy *et al.*, 2006; Moser & Padilla, 2011). A l'arrivée de l'influx nerveux, la terminaison pré-synaptique libère l'ACh qui diffuse à travers l'espace synaptique et vient activer des récepteurs spécifiques situés dans la membrane post-synaptique. Dans les jonctions neuromusculaires, les fibres musculaires post-synaptiques présentent au contact de la terminaison nerveuse une région membranaire spécialisée riche en récepteurs nicotiques qui sont également des canaux ioniques. La fixation de l'ACh sur ces derniers provoque l'ouverture de ces canaux. L'entrée consécutive d'ions sodium entraîne une dépolarisation locale qui déclenche un potentiel d'action propagé dans toute la fibre musculaire, la libération d'ions calcium et finalement la contraction. Pour que la repolarisation soit possible, l'ACh est très rapidement hydrolysée en acétate et choline par l'AChE. Cependant l'inhibition de ce dernier mène à une accumulation de l'ACh dans la région post-synaptique provoquant une hyperexcitation. Chez les invertébrés, l'accumulation d'acétylcholine peut induire une intoxication nerveuse avec une hyperactivité, des tremblements, des convulsions et enfin une paralysie, qui peut conduire à la mort (Hoguet & Key, 2008). L'activité des cholinestérases entre dans la catégorie des biomarqueurs d'exposition, leur inhibition est utilisée pour détecter la pollution environnementale causée par les composants neurotoxiques (Cailleaud *et al.*, 2007). En effet, de nombreux auteurs considèrent que la mesure de l'activité de l'acétylcholinestérase comme étant le meilleur révélateur de contamination du milieu par les pesticides organophosphorés et les carbamates (Amiard- Triquet, 2009). Toutefois, d'autres contaminants tels que les métaux lourds, les détergents et les toxines algales peuvent inhiber l'AChE (Payne *et al.*, 1996; Guilhermino *et al.*, 1998; Lehtonen *et al.*, 2003; Tim-Tim *et al.*, 2009). Des études récentes suggèrent que l'inhibition de l'activité acétylcholinestérase peut également indiquer l'exposition à un stress général (Lehtonen *et al.*, 2006). La réponse des organismes face aux inhibiteurs est fonction de l'espèce animale (Bocquené *et al.*, 2004). L'inhibition de l'acétylcholinestérase conduit à une altération physiologique grave des organismes marins (Ozmen *et al.*, 1998; McHenery *et al.*, 1997; Dauberschmidt *et al.*, 1997). De nombreux travaux portant sur les pesticides ont bien traité les relations existantes entre l'inhibition de l'AChE et les troubles de comportement chez les organismes aquatiques (Amiard-Triquet, 2009).

L'analyse des résultats de l'activité spécifique de l'AChE chez *D. trunculus* échantillonnée au niveau des deux sites dans le golfe d'Annaba sur une durée d'un an, montre une inhibition de l'activité de l'AChE chez les individus de Sidi Salem comparativement à ceux d'El Battah pour la majorité des mois. En effet, on a constaté une diminution de l'activité au niveau des deux sites d'étude, ceci est probablement dû à une diminution du niveau de pollution dans le golfe. En effet un profil saisonnier est mis en évidence avec une diminution de l'activité AChE à Sidi Salem en été par rapport aux autres saisons.

D'autres études montrent que les variations observées concernant l'activité de l'AChE chez les mollusques marins sont souvent en relation étroite avec le degré de pollution, et donc indiquent la présence de substances inhibitrices de l'activité AChE (Escartín & Porte, 1997; Najimi *et al.*, 1997; Radenac *et al.*, 1998; Dailianis *et al.*, 2003; Lionetto *et al.*, 2004). Ceci confirme l'inhibition relativement plus importante de l'AChE chez les bivalves provenant de Sidi Salem, un site contaminé par des déchets industriels provenant du complexe FERTIAL, spécialisé dans la production des fertilisants et par des déchets domestiques, véhiculés par oued Seybouse, ainsi que par des métaux lourds (Cuivre, Zinc, plomb et nickel) détectés dans le sédiment (Abdenmour *et al.*, 2010). Une étude menée par Beldi *et al.* (2006) sur les deux sites montrent la présence de métaux lourds (Zn, Cu, Pb, Cd) chez *D. trunculus* avec une augmentation significative chez les bivalves collectés à Sidi Salem à l'exception du Cd. En effet, l'inhibition de l'AChE a été déjà rapportée par Aoudène (2003); Beldi (2007); Sifi *et al.* (2007) et Soltani *et al.* (2012) chez *D. trunculus* collectés au niveau du même site. De même, Tlili *et al.* (2010) ont observé au niveau du golfe de Tunis une inhibition de l'AChE chez la même espèce pêchée dans un site pollué par des déchets agricoles et domestiques comparativement à un site non pollué. Les mêmes résultats sont signalés par Mahmoud *et al.* (2010) chez le bivalve *Fulvia fragilis* dans la lagune de Bizerte (Tunisie) collectés dans un site pollué par des effluents urbains comparativement à un site éloigné de toute source de pollution. Cette inhibition est rapportée chez d'autres bivalves tels que, *M. galloprovincialis* exposée aux sédiments pollués par les métaux lourds en mer adriatique central (Gorbi *et al.*, 2008), *Macoma balthica* transplanté dans le nord de la mer Baltique (Leiniö *et al.*, 2005) et chez *Cerastoderma glaucum* exposé aux métaux lourds dans le golfe de Gabèse (Tunisie) (Machreki-Ajmi *et al.*, 2008). Les mêmes observations ont été constatées par Gaitonde *et al.* (2006) chez le mollusque marin *Cronia contracta* pêché au niveau d'un site contaminé par les métaux lourds, sur la côte Ouest Indienne, et chez *Hexaplex trunculus* exposée aux métaux lourds (Cd et Cu), et aux insecticides neurotoxiques dans la lagune de Bizerte (Roméo *et al.*, 2006).

4.2.2. La glutathion S-transférase

C'est une enzyme qui catalyse la conjugaison entre un peptide, le glutathion réduit, et les composés électrophiles (Martínez-Lara *et al.*, 1997; Cunha *et al.*, 2007); elle intervient dans la phase II du processus de détoxification cellulaire (Elia *et al.*, 2003). Cette conjugaison du glutathion avec certains substrats permet la formation de composés hydrophiles moins toxiques et facile à éliminer (Ketterer *et al.*, 1983). La GST joue également un rôle dans la destruction des peroxydes et des époxydes provenant de l'oxydation non enzymatique des acides gras (Valko *et al.*, 2006). Des études ont aussi montré que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) peut aussi induire l'activité de la GST (Hayes & Pulford, 1995; Solé *et al.*, 2004).

L'environnement soumis à de nombreux polluants impose à certaines espèces animales de développer des mécanismes de détoxification des xénobiotiques et de résistance au stress oxydatif. Ces mécanismes, dont l'activité de la GST, sont utilisés comme biomarqueurs de défense (Amiard-Triquet *et al.*, 2009). La glutathion S-transférase joue un rôle important dans le processus de détoxification et la réponse au stress oxydatif. Elle a été largement utilisée en écotoxicologie et dans l'évaluation de la pollution marine (Boutet *et al.*, 2004; Hoarau *et al.*, 2006; Rhee *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2008; Wan *et al.*, 2008a, 2008b, 2009; Kim *et al.*, 2010; Nail & Choi, 2011; Won *et al.*, 2011).

D'après les résultats obtenus une fluctuation mensuelle de l'activité de la GST est enregistrée au niveau des deux sites avec une augmentation de cette activité chez les individus de Sidi Salem comparativement à ceux d'El Battah. D'après Giarratano *et al.* (2011) les variations de l'activité de la GST pourraient être liées au cycle de reproduction, où l'activité maximale correspond à la période de restauration des réserves et à la période de la gamétogenèse, tandis que les valeurs les plus faibles coïncident avec la période de ponte. Dans le golfe d'Annaba, Hamdani & Soltani- Mazouni, (2011) ont constaté une période de repos sexuel en automne et deux périodes de ponte, une printanière et l'autre estivale; ceci peut expliquer l'augmentation de l'activité GST de septembre jusqu'au mois de décembre et sa diminution au mois de mars et au mois d'août. Les variations de l'activité de la GST peuvent être liées aux facteurs environnementaux tels que la disponibilité de la nourriture, les paramètres physicochimiques de l'eau, ainsi que le niveau de polluants dans les tissus, qui peuvent varier avec le temps. Nos résultats montrent

un profile générale avec une augmentation de la GST au cours de toute l'année d'étude, et semble plus élevé au cours de la période estivale.

Plusieurs études ont rapporté une induction de l'activité de la GST par des contaminants organiques comme une des voies de la phase II de biotransformation (Sheehan & Power, 1999), tandis que d'autres études, ne montrent aucune différence significative entre un site de référence et un site pollué (Van der Oost *et al.*, 2003). Cette enzyme peut être altérée par de nombreux contaminants tels que les pesticides, Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les huiles et autres polluants (Frasco & Guilhermino 2002; Peña-Llopis *et al.*, 2003; Kavitha & Rao, 2009; Vieira *et al.*, 2009). En effet, la diminution de l'activité de la GST a été déjà observée chez *M. galloprovincialis* collectés dans des régions polluées (Regoli *et al.*, 2004; Bebianno *et al.*, 2007; Tsangaris *et al.*, 2010; Fernandez *et al.*, 2012).

Nos résultats montrent bien le rôle de la GST dans la phase II de biotransformation des polluants organiques et l'augmentation signalée dans son activité est en fonction de la pollution de l'eau (Abdenmour *et al.*, 2010; Beldi *et al.*, 2006). Les mêmes résultats sont rapportés par Sifi *et al.* (2007) sur *D. trunculus* collecté dans le golfe d'Annaba. En effet, la toxicité de plusieurs composants exogènes tels que les métaux et les contaminants organiques, peut provoquer l'induction de l'activité de la GST soit sous des conditions environnementales (Knight *et al.*, 1988; Durou *et al.*, 2007) ou expérimentales au laboratoire (Livingstone, 1991).

4.2.3. Activité de la catalase.

Les enzymes permettent de protéger les cellules contre les radicaux libres produits de manière physiologique au cours du métabolisme cellulaire normal. Parmi les principaux systèmes enzymatiques, la catalase (CAT), est une enzyme antioxydante intracellulaire impliquée dans le système de défense contre les radicaux générés par les polluants oxydants environnementaux, c'est une hydroperoxydase péroxysomale qui dégrade H₂O₂ en H₂O et O₂ (Baumard *et al.*, 1999). La catalase peut éliminer les formes réactives de l'oxygène tel que le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) dans un système biologique, et ceci va réduire le stress oxydatif dans un organisme y compris les bivalves (Manduzio *et al.*, 2005; Chakraborty *et al.*, 2010). Cette enzyme antioxydante est largement utilisée comme un biomarqueur impliqué dans la défense primaire contre les dommages oxydatifs (Bergayou *et al.*, 2009). L'activité de la CAT n'est pas spécifique à un groupe de contaminants, mais au stress oxydatif et peut être induite par une large gamme de contaminants organiques dont les xénobiotiques et les métaux lourds (Livingstone, 2001; Akcha *et al.*, 2000; Roméo *et al.*, 2003).

L'activité de la CAT chez *D. trunculus* dans le golfe d'Annaba montre relativement le même profil que celui de la GST avec une augmentation chez les individus collectés à Sidi Salem, suite à une exposition aux différents contaminants dans l'environnement. Sachant que ce site est contaminé par des rejets urbains, agricoles et industriels, l'augmentation de l'activité de la CAT constitue une réponse à la présence de ces contaminants. L'activité de la CAT présente des avantages évidents en tant que biomarqueur. Cependant, la présence de grandes quantités de polluants peut surpasser le système oxydant, ce qui va provoquer une peroxydation lipidique des membranes cellulaires par un taux élevé en malondialdéhyde (MDA) chez les individus de Sidi Salem comparativement à ceux d'El Battah (Sifi *et al.*, 2013), témoignant que ces individus sont confrontés à un stress oxydatif. Des travaux antérieurs montre la présence de métaux lourds dans le sédiment (Abdenmour *et al.*, 2010) et chez *D. trunculus* du golfe d'Annaba (Beldi *et al.*, 2006). Selon Cossu *et al.* (1997), la catalase est souvent l'une des premières enzymes anti-oxydantes à être induites. En effet, une induction de l'activité de la CAT est enregistrée chez *M. galloprovincialis* due aux métaux lourds (Vlahogianni *et al.*, 2007) ainsi que chez *P. viridis* due au HAP et aux pesticides organochlorés (Richardson *et al.*, 2008). Nos résultats sont comparables à ceux observés par Tlili *et al.* (2010a) sur *D. trunculus* collectés dans deux sites différents sur le golf de Tunis; et par Jebali *et al.* (2007), chez le bivalve *Ruditapes decussatus* collecté dans plusieurs sites sur la côte tunisienne suivant un gradient de pollution.

En général, la comparaison inter-sites des activités moyennes (AChE, GST, CAT) chez *D. trunculus* montre une variation spatiale et temporelle des activités enzymatiques due au niveau de pollution et aux différents facteurs environnementaux. Les individus collectés à Sidi Salem présentent une inhibition de l'activité AChE, due à la présence de composants neurotoxiques issus du complexe FERTIAL spécialisé dans la production des fertilisants et des produits phytosanitaires. L'activité GST montre une augmentation non significative au cours de la période d'étude, cette augmentation est en relation avec la présence de xénobiotiques dans ce site induisant ainsi le système de détoxification. Toutefois, un effet site est remarqué. Tandis que la CAT montre une augmentation significative En effet, la non-spécificité de la catalase ne permet pas de déterminer avec précision l'origine des réponses enzymatiques ceci confirme que les individus de Sidi Salem subissent un stress environnemental dû à la présence de différents contaminants. La réponse des différents biomarqueurs étudiés résulte d'une part, des perturbations anthropiques (rejets urbains, industriels et agricoles) et d'autre part de la localisation du site, son hydrodynamisme et leur implication dans le processus de dilution des contaminants.

4.3. COMPOSITION BIOCHIMIQUE

4.3.1. Glycogène

Les réserves énergétiques telles que le glycogène et les lipides sont d'une grande importance dans la reproduction, chez les mollusques bivalves marins le stockage et l'utilisation saisonnier d'énergie sont étroitement liés aux conditions environnementales (température, disponibilité de la nourriture polluants chimiques) et au cycle gamétogénique annuel (Tlili *et al.*, 2010). En effet, les effets chimiquement induits au niveau cellulaire permettront de réduire la disponibilité de l'énergie destinée pour la croissance et l'entretien de l'homéostasie, et donc conduire à une altération indésirable des processus de reproduction et du développement (Kooijman & Bedaux, 1996).

Le glycogène est un biomarqueurs, considéré comme un combustible pour les différents processus métaboliques et physiologiques démontrant ainsi une réponse bien claire face aux complexes contaminations (Pellerin *et al.*, 1993; Pellerin-Massicotte, 1994; Gauthier-Clerc *et al.*, 2002). Chez les bivalves marins, le glycogène est la source principale de réserves en glucose stocké dans de spécifiques cellules vésiculeuses (Berthelin *et al.*, 2000), et est connu pour son rôle essentiel dans la fourniture de l'énergie nécessaire à l'entretien et au développement gamétogénique (Bayne *et al.*, 1982; Gabbott & Whittle, 1986; Ruiz *et al.*, 1992; Mathieu & Lubet, 1993), ainsi que pour le maintien de l'état physiologique pendant l'hiver et les périodes où la nourriture est peu disponible (Beninger & Lucas, 1984; Hummel *et al.*, 1988). Le glycogène est également largement utilisé dans la formation des gamètes et des tissus gonadiques pendant la gamétogenèse (Tourari *et al.*, 1988; Sprung & Borcharding 199; Stoeckmann & Garton, 2001).

La quantification mensuelle du glycogène chez les individus de *D. trunculus* pêchés dans deux sites du golfe d'Annaba au cours de l'année 2013 montre une augmentation au mois de février à El Battah et au mois d'avril à Sidi Salem qui peut être expliquer par une accumulation des réserves nécessaires pour la période de reproduction et la libération des gamètes. Les bivalves présentent un cycle saisonnier de stockage/mobilisation des réserves énergétiques, en particulier le glycogène, mais aussi les lipides stockés qui sont corrélés au cycle annuel de reproduction (Berthelin *et al.*, 2000). Le stockage du glycogène au niveau du manteau diminue en été et atteint un minimum au cours de la période de ponte; ceci indique que le glycogène du manteau est la source principale d'énergie pour la production des gonades. Des études antérieures montrent que la variation saisonnière du glycogène dans le manteau est la même qu'au niveau des gonades, ce qui confirme que le glycogène du manteau présente des données valables pour la variation saisonnière dans le métabolisme énergétique, en particulier en ce qui concerne le cycle de reproduction (de Zwaan & Mathieu, 1992; Berthelin *et al.*, 2000).

Concernant l'influence des sites sur le taux du glycogène, une diminution est observée chez les individus collectés à Sidi Salem, comparativement à ceux d'El Battah. Cette diminution pourrait être expliquée par des différences dans la disponibilité et la qualité de la nourriture et la tolérance face aux degrés de pollution (Calow, 1991) subit par les individus issus de Sidi Salem. Les différences intersites (El Battah et Sidi Salem) dans la réponse aux différents biomarqueurs (AChE, GST, CAT) chez *D. trunculus* suggère une exposition environnementale des individus récoltés à Sidi Salem à plusieurs contaminants chimiques (Sifi *et al.*, 2007; Amira *et al.*, 2011). Ceci est d'autant plus vrai que le site de Sidi Salem reçoit des déchets domestiques et industriels provenant du complexe FERTIAL, spécialisé dans la production des fertilisants et des produits phytosanitaires. La présence de polluants dans l'environnement conduit fréquemment à l'épuisement des réserves énergétiques comme un mécanisme compensatoire à la forte demande d'énergie nécessaire pour le processus de détoxification (Guerlet *et al.*, 2006). En outre, le glycogène est rapidement utilisé lorsque les organismes sont soumis à un stress (Lagadic *et al.*, 1997), ce qui peut conduire également à une réduction supplémentaire de l'énergie disponible pour la reproduction (De Coen & Janssen, 2003; Smolders *et al.*, 2004; Voets *et al.*, 2006).

Plusieurs résultats ont rapportés que le glycogène diminue avec les concentrations en zinc chez *Mya edulis* (Pellerin-Massicotte *et al.*, 1993) et en zinc et Cd chez *Mya arenaria* (Saint-Hilaire & Pellerin, 1995). En effet, Beldi *et al.*, (2006) ont rapportés une teneur élevée en métaux lourds essentiellement du zinc, cuivre, plomb et du cadmium mesuré au niveau de la chair de *D. trunculus* au niveau du site de Sidi Salem ce qui peut influencer les taux du glycogène chez les individus de ce site.

4. 3. 2. Les acides gras

Les lipides constituent une importante banque d'éléments nutritifs chez les mollusques bivalves. Ils sont généralement utilisés comme une source d'énergie durant la gamétogenèse (Walne, 1970; Beukema et de Bruin, 1977; Hollande, 1978), et constitue la principale réserve nutritionnelle dans les œufs et les larves ainsi que le conditionnement de leur viabilité (Helm *et al.*, 1973). Au cours de la maturation sexuelle, les gonades de *Veneridae* (A'de Álvarez, 1995 ; Ansell, 1974a, b; Anderson et Personne, 1976; Rodríguez-Moscoso, 2000 ; Hamdani & Soltani-Mazouni, 2014) sont riches en composition biochimique (principalement des lipides. Ceci confirme le rôle énergétique des lipides dans les gonades de bivalves (Gabbott, 1975; Hollande, 1978). Les quelques études qui ont été faites sur les deux sexes dans la description de la composition biochimique de certains bivalves montrent que la gonade femelle accumule des lipides neutres (Lubet et Le Feron de Longcamp 1969;. Napolitano et al, 1992; Soudant et al., 1996a). Les

phospholipides et triglycérides semblent constituer la plus grande fraction de lipides gonadiques chez les invertébrés marins (Hollande, 1978). Les études réalisées sur *R. decussatus*, à la fois en milieu naturel et en laboratoire (Beninger et Lucas, 1984; Rodri'guez-Moscoso, 2000) confirment l'importance des lipides dans les gonades.

Les acides gras sont des acides carboxyliques R-COOH dont le radical R est une chaîne aliphatique de type hydrocarbure de longueur variable qui donne à la molécule son caractère hydrophobe (gras). La grande majorité des acides gras naturels présentent les caractères communs: monocarboxylique, chaîne linéaire avec un nombre pair de carbones, saturés ou en partie insaturés avec un nombre de double liaisons maximal de 6.

La détermination de la composition des acides gras (AG) dans les mollusques bivalves peut être un bon indicateur de l'état de santé de la population, permet de caractériser la qualité nutritionnelle d'un produit destiné à la consommation humaine, et peut également traduire le type de nourriture dans les bivalves (Freites L., Fernandez-Reiriz M.J., & Labarta U., 2002 c).

L'analyse qualitative des acides gras a montré une composition identique chez les individus des deux stations. Les résultats montrent une quantité relativement élevée des AG saturés (C16: 0 et C18: 0), les résultats ont également été signalés par (Parry G., Volkman, J. K., Johns, R. B., 1979) et (Galap C., Netchitaillo P., Le boulenger F. & Grillot J.P., 1999) qui ont mentionnés un environnement riche en détritiques organiques et de bactéries en corrélation avec une forte proportion de graisse saturée chez les bivalves.

Pour les acides gras polyinsaturés en particulier l'eicosapentaénoïque (C20: 5 n-3) prédomine dans les deux sexes sur les deux sites contrairement à d'autres travaux sur les bivalves comme *R. decussatus* (Ojea J. *et al.*, 2004) et l'huître *C. gigas* (Dridi; S *et al.*, 2007) *D.trunculus* qui a trouvé que le DHA constitue la majeure partie des acides gras.

Au cours de la période étudiée, *D.trunculus* a été caractérisée par des niveaux élevés de l'AGPI n-3 des acides gras totaux pour les individus des deux sites. Ceux-ci sont importants AG dans l'alimentation humaine, en particulier pour leur prévention des maladies cardio-vasculaires (Boussoufa; D *et al.*, 2011). Les faibles niveaux d'AGPI n-6 (0.120- 0,164 µg / mg) chez les femelles d'El Battah et Sidi Salem respectivement (0.095- 0.070 µg / mg) à El Battah et Sidi Salem chez les mâles relativement élevé. Le rapport n-3 / n-6 AGPI contribuer à une évaluation bromatologique positive de la qualité des lipides de *D. trunculus* de la côte sud de la mer Méditerranée (golfe de Annaba).

Le *D.trunculus* contient une quantité à peu près semblable des AGMI dans les deux sexes des deux sites, ces acides gras en C18: 1 général et en particulier, a un certain effet vasoprotecteur. Ainsi, le C18: 1 est l'acide gras prédominant de l'huile d'olive; les effets bénéfiques sont largement connus (Grundy S.M., 1989)

Le taux faible AGMI est dû soit à la nature du régime alimentaire de ces bivalves, ou une distribution trophique sur les deux sites et peut être due à la présence de polluants dans Sidi Salem que les montants les plus bas ont été enregistrés dans ce site.

Le contenu élevé de SFA, AGPI, AGMI sont enregistrés à El Battah, peut se traduire par une détritisme organique en raison de l'enrichissement de la matière organique fonds marins causée par la sédimentation accrue dépendent de la biomasse des bivalves, les conditions hydrologiques locales et la présence des autres produits organiques naturels ou entropiques, peuvent également être due à des conditions climatiques (température, salinité, pH du milieu etc) .Il a été rapporté qu'une diminution de la température produit généralement une augmentation des AGPI et une diminution SFA du contenu dans les poissons et fruits de mer afin de maintenir la fluidité des membranes cellulaires (Chu E.L.E.& Greaves J., 1991), de faibles niveaux des AG ont été enregistrés chez les femelles peuvent être dus à l'émission de gamètes. L'existence de plusieurs acides gras pendant la saison de reproduction peut être dû à des besoins énergétiques au cours de la gamétogenèse.

En période de repos sexuel on a trouvé une série de 25 acides gras saturés monoinsaturés et polyinsaturés, cette variété en acides gras peut être due à une baisse de la température et à une accumulation des réserves énergétique pour démarrer un nouveau cycle gamétogénique.

4. 3. 3 Chromatographie sur couche mince des sucres et acides aminées

La composition biochimique des Mollusques Bivalves fournit une indication certaine sur les conditions nutritionnelles des populations et sert également à évaluer la réponse de ces organismes aux conditions environnementales (De Coen et Janssen, 2003; Smolders *et al.*,2004; Voets *et al.*,2006). D'après Freitas *et al.* (2002), il existe des variations notables dans les proportions des différents constituants biochimiques pour une même espèce provenant de localités différentes. Ces fluctuations sont dues aux capacités nutritives des eaux. En effet, des moules issue d'un site propre des embouchures des oueds qui permet un enrichissement continu du milieu en élément nutritifs, permet à ces espèces de répondre à la grande demande d'énergie lors de la croissance et de la reproduction (Bayed, 1991). Par contre, des moules vivants dans un site pollué soumis à l'action des eaux usées et des rejets industriels perturbe la disponibilité de la nourriture, perturbant ainsi la croissance et la reproduction (Benomar *et al.*, 2006). La qualité de la nourriture disponible a aussi une grande importance (Albentosa *et al.*, 1999). Il existe en effet de grandes différences dans la composition biochimique des espèces de plancton et donc dans leur nutrition (Delauney *et al.*, 1993). Les facteurs environnementaux agissent de façon certaine sur la biodisponibilité de la nourriture (Galindo-Becks *et al.*, 1991; Miskiewicz et Gibbs, 1994; Hickey, 1995). Plusieurs études révèlent que le cycle sexuel des mollusques bivalves comprend deux périodes: une période de repos sexuel caractérisé par l'accumulation des réserves métaboliques essentiellement le

glycogène, une période d'activité sexuelle caractérisé par l'utilisation de ces réserves pour le développement gonadique (spermatogenèse et ovogenèse) (Gabbott, 1975; Deslous-Paoli et Héral, 1988; Berthelin *et al.*, 2000).

L'étude de la composition biochimique des gonades de *D. trunculus* dans le golfe d'Annaba révèle des teneurs en métabolites (glucides, lipides et protéines) variant en fonction du temps du site et du sexe. Ces variations sont étroitement liées au cycle de reproduction de l'espèce dans le golfe d'Annaba et aux conditions environnementales du milieu ainsi qu'à l'état physiologique des deux sexes et leurs besoins énergétiques.

Nos résultats qualitatifs montrent la présence des différents sucres et acides aminées au niveau des gonades des individus provenant des deux sites. Au niveau de notre laboratoire des travaux antérieurs ont été faite en examinant la quantité de la composition biochimique montrent une augmentation des taux de glucides et une réduction des taux de lipides et de protéines pendant la période de repos sexuel où le sexe est indifférencié (Hamdani, 2012), ceci est en accord avec les travaux d'Ansell *et al.* (1980), Tlili *et al.* (2011) sur la même espèce et chez d'autres bivalves tel que *R. decussatus* (Camacho *et al.*, 2003), *Ensis arcuatus* (Darriba *et al.*, 2005), *Crassostrea nippona* (Okumura *et al.*, 2005) et *Littorina littorea* (De Wolf *et al.*, 2007).

4.4. Aspect cytologique de la reproduction

L'étude histologique des gonades de *D. trunculus* dans le golfe d'Annaba ne montre aucun effet sur la longueur des cellules sexuelles mâles et femelles dans les deux sites d'étude pendant la période de reproduction. Aucune étude n'a été effectuée sur la morphométrie des gonade chez les mollusques en général mais beaucoup d'études ont été faites sur la détermination du cycle de reproduction chez *D. trunculus* (Hamdani, 2012; Mouëza et Frenkiel-Renault, 1973; Bayed 1990; Voliani *et al.*, 1997; Manca-Ziechen *et al.*, 2002; Tlili *et al.* 2011)

CONCLUSION

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre travail a été réalisé dans le contexte général d'un programme national de biosurveillance des eaux du golfe d'Annaba, en utilisant le mollusque bivalve *Donax trunculus* comme espèce bioindicatrice de la pollution. Les bivalves sont collectés mensuellement durant l'année 2011 et périodiquement en 2012 et 2013 dans deux sites du golfe d'Annaba : El-Battah, site éloigné des sources polluantes et Sidi Salem, site exposés aux différents rejets. Nous avons évalué l'impact de la pollution sur la croissance, la réponse des biomarqueurs du stress environnemental chez *Donax trunculus* et quelques paramètres de la reproduction.

L'étude de la croissance montre des différences de distribution des classes de taille entre les deux sites en fonction de la période de reproduction. Le suivi des différents paramètres biométriques (la longueur, l'épaisseur, la hauteur et le poids total frais) montrent une meilleure croissance chez les individus de Sidi Salem par rapport à El Battah.

La présente étude a montré que l'accumulation et la diminution des réserves lipidiques au niveau des gonades influencent la cinétique de croissance de *D. trunculus*. En outre, la variation des teneurs en acides gras dans les tissus sont tributaires de leurs stades sexuels et de la richesse du milieu en chlorophylle a qui est la source nutritionnelle majeure. Nos résultats montrent une variété en acides gras avec l'existence de différents types d'acides gras: les saturés, les polyinsaturés avec une quantité importante des oméga 3, et en dernier lieu les monoinsaturés avec une légère diminution au niveau de la station de Sidi Salem.

La mesure des biomarqueurs du stress environnemental chez les individus collectés à Sidi Salem montre une inhibition de l'activité de l'AChE, témoignant la présence de polluants neurotoxiques tels que les carbamates et les organophosphorés et une induction du système de détoxification représenté par l'augmentation de l'activité de la GST, provoquée par la présence de différents xénobiotiques. L'augmentation de l'activité de la CAT chez les bivalves de Sidi Salem indique leurs expositions à un stress oxydatif en rapport avec le niveau de pollution dans ce site.

Le dosage qualitatif des sucres et des acides aminés par chromatographie sur couche mince montre la variété nutritionnelle de *D. trunculus* dans les deux sites d'étude avec une richesse plus importante au niveau d'El Battah comparativement à Sidi Salem.

La mensuration des longueurs des cellules sexuelles mâles et femelles ne montre aucune différence entre les deux sites.

L'interprétation des résultats demande une grande prudence afin de ne négliger aucun des facteurs biotiques et abiotiques pouvant être impliqués dans les variations mesurées. La variabilité saisonnière des biomarqueurs de pollution ainsi que leur sensibilité à différents facteurs abiotiques, réponses biochimiques au niveau cellulaire, les réponses physiologiques ou comportementales (la survie, la reproduction et la croissance) au niveau des individus, peuvent masquer ou fausser les effets des contaminants. Il serait donc intéressant de:

- ✓ Identifier la nature des contaminants présents dans le golfe pour avoir plus de précision.
- ✓ Réaliser une transplantation des bivalves *Donax trunculus* dans d'autres sites afin d'évaluer leur qualité environnementale.
- ✓ Etudier d'autres paramètres de la reproduction comme par exemple l'ultrastructure des gonades mâles et femelles.
- ✓ Etudier le phénomène de féminisation de cette espèce dans les milieux pollués afin de mieux comprendre le développement gonadique

RESUME

RESUME

La présente étude s'inscrit dans le cadre d'un programme national de biosurveillance de la qualité des eaux du golfe d'Annaba, en utilisant une espèce bioindicatrice de la pollution, le mollusque bivalve *Donax trunculus* (Linnaeus, 1758). Elle vise à évaluer l'impact d'une éventuelle pollution sur la reproduction de cette espèce. Un suivi de quelques paramètres comme la dynamique de population, la composition biochimique au niveau des gonades, du manteau et du corps entier a été faite, ainsi que la réponse de quelques biomarqueurs du stress environnemental. Les échantillons ont été récoltés mensuellement au cours de l'année 2011 et en période de reproduction et de repos sexuel durant l'année (2012 et 2013) au niveau de deux sites du golfe d'Annaba El Battah pris comme un site de référence et Sidi Salem situé au voisinage de différents rejets urbains et industriels.

La croissance des populations de *D. trunculus* montre une variation temporelle au niveau des deux sites. Le suivi de la distribution des classes de taille a permis de révéler une différence de distribution des classes de tailles au niveau des deux sites. L'étude biométrique a montré des différences significatives entre les deux sites pour la majorité des paramètres biométriques avec des effets site et temps hautement significatifs.

La réponse des différents biomarqueurs, l'acétylcholinestérase (AChE), la glutathion S-transférase (GST) et la catalase (CAT) montre des fluctuations importantes en relation avec le niveau de pollution et le stress subis par les individus de *D. trunculus*. En effet, on a noté une inhibition de l'AChE et une induction de l'activité GST et CAT chez les bivalves collectés à Sidi Salem par rapport à El Battah.

L'analyse de la composition en acides gras par chromatographie en phase gazeuse (CPG) chez *D. trunculus* montre une prédominance des acides gras saturés (AGS) et principalement l'acide palmitique (C16: 0) et l'acide stéarique (C18: 0). La deuxième famille qui existe est celle des acides gras polyinsaturés (AGPI). Les ω 3 constituent la forme majeure de la famille des AGPI chez *D. trunculus* au niveau des deux sites pendant les deux périodes de reproduction par rapport à la famille des oméga 6. Pendant la période de repos sexuel, on peut noter qu'il existe une variété nutritionnelle en acide gras au niveau des deux sites avec l'apparition de plusieurs acides gras comparativement avec la période d'activité.

La composition biochimique en glycogène déterminée pendant deux périodes de reproduction au niveau du manteau, des gonades et du corps entier du *D. trunculus* montre des taux significativement inférieurs chez les individus de Sidi Salem comparativement à ceux d'El Battah. En effet en période de

reproduction enregistre des effets sites et sexes hautement significatifs, l'effet sexe montre que les femelles accumulent plus de réserves en glycogène et mobilisent plus d'énergie que les mâles au cours du processus de la reproduction.

L'analyse chromatographique sur couche mince (CCM) a montrée l'existence des sucres et des acides aminées au niveau des deux sites mais leurs apparition est plus importante chez les individus d'El Battah que ceux de Sidi Salem ce qui peut être expliquée par des différences dans la disponibilité et la qualité de la nourriture et par le coût de la tolérance subit par les individus issus de Sidi Salem pour faire face à la pollution.

L'étude histologique menée sur les ovocytes et les gonades mâles ne montre aucune différence entre les deux sites sur la longueur des gonades.

La somme des résultats obtenus montrent une pollution globale dans le golfe d'Annaba plus remarquable chez la population récolté à Sidi Salem comparativement à El Battah en rapport avec le niveau de pollution dans ce site.

Mots clés : biosurveillance, Golfe d'Annaba, bioindicateurs, *Donax trunculus*, pollution, Reproduction, cycle de développement, Biomarqueurs, stress environnemental.

ABSTRACT

The present study is a part of a biomonitoring program of quality waters in the gulf of Annaba, by use a pollution bioindicator species, the mollusc bivalve *Donax trunculus* (Linnaeus, 1758). In this context, we have evaluated the impact of a possible pollution on the growth, and the response of some biomarkers of environmental stress, over a period of two (March 2009 - February 2011) at two sites in the gulf of Annaba different in their level of exposure to pollutant sources: Sidi Salem, a site relatively polluted compared to El Battah. Growth of *D. trunculus* populations shows a temporal variation in the two sites. The monitoring of the distribution of size classes revealed a bimodal recruitment (spring and summer) during the two years at the two sites with a delay of one month for the spring recruitment in Sidi Salem. Biometric study showed a significant differences between the two sites for the majority of biometric parameters with highly significant site and time effects. Individuals of El Battah show a better growth compared to those of Sidi Salem. In addition, an improvement in the growth recorded in the second year compared to the first year of study in individuals of Sidi Salem suggesting the presence more favorable conditions and a decrease in the level of pollution in this site.

The response of different biomarkers, acétylcholinestérase (AChE), glutathione Stransferase (GST) and catalase (CAT) shows significant fluctuations in relation with the level of pollution and the stress suffered by individuals of *D. trunculus*. However, we noted an inhibition of AChE activity and induction of CAT and GST activities in bivalves collected from Sidi Salem compared to El Battah. Indeed, a decrease in the activity of the three biomarkers is observed from one year to another, and this can be explained by a decrease in the emission of pollutants into the gulf.

The The analysis of fatty acid composition in *D. trunculus* shows a predominance of palmitic (C16: 0), stearic (C18: 0), oleic acid (C18: 1n-9), ecosapentanoïque (C20: 5n- 3), and docosaexanoïque (DHA) (C22: 6n-3). polyunsaturated fatty acids (PUFAs) are the major form of fatty acids in the *D.trunculus* both sites during the two breeding seasons. The amount of saturated fatty acids (SFA). The family of ω 3 is greater at El Battah by contribution in Sidi Salem. During the period of sexual rest, we can note that there is a nutritional variety fatty acid at the two sites with the appearance of several fatty acids compared with the period of activity.

Biochemical composition glycogen determined during two breeding seasons at the coat, gonads and whole body *D.trunculus* shows significantly lower rate in individuals of Sidi Salem compared to El Battah. Indeed during the breeding records in highly significant site effects and sexes, the sex effect shows that females accumulate more glycogen and mobilize more energy than males during the reproductive process.

Chromatographic analysis thin layer (TLC) has shown the existence of sugars and amino acids at both sites, but their appearance is more important in individuals El Battah than Sidi Salem which can be explained by differences in the availability and quality of food and the cost of tolerance suffered by individuals from Sidi Salem to deal with pollution.

Histological study of oocytes and male gonads showed no difference between the two sites on the length of the gonads.

The sum of results obtained show that the gulf of Annaba suffers from an accentuated pollution at Sidi Salem compared to El Battah. Indeed, a decrease in the level of pollution is found in the gulf. In addition, the present study indicates that *D. trunculus* is a good indicator of pollution in the bay of Annaba.

key words: biomonitoring, Annaba gulf, bioindicator, *Donax trunculus*, pollution, Growth, biomarkers, environmental stress.

تنائي للتلوث مؤثر حبوي كائن باستخدام عنابة خليج لجودة البيولوجية للمراقبة برنامج إطار في تدخل الدراسة هذه الرخوية القوقعة (*Donax trunculus*) Linnaeus, 1758) كدالك و النمو على التلوث تأثير بتقييم قمنا السياق هذا في مستوى على 9022 فيفري إلى 9002 مارس من ابتداء عامين لمدة البيئي للتلوث الحيوية المؤثرات بعض استجابة على مع مقارنة نسبيا ملوث موقع سالم سيدي التلوث مصادر إلى التعر □ مستوى في مختلفين عنابة خليج في موقعين البطاح.

مجتمع نمو *D. trunculus* بإظهار يسمح الحجم أقسام توزيع مراقبة الموقعين مستوى على زمني اختلاف يظهر بشهر تأخر وجود مع الموقعين لكلا بالنسبة هذا و الدراسة سنتي خلا □ الرخوي هذا صغار وجود لإظهار مرحلتين وجود

صغار ظهور يخص فيما *Donax trunculus* فرق □ ق □ جود أظهرت الحيوية القياسية الدراسة . سالم سيدي موقع في لعالمي هنا معنوي الارتفاع العرض الطول المدر □ سة القياسية الحيوية المعاملات أغلبية يخص فيما الموقعين بين معنوية . سالم سيدي أفراد مع مقارنة أفضل لنمو تظهر البطاح أفراد . الموقع □ الوقت تأثير □ جود مع الطازج الكلي الوزن عوامل بوجود يوي □ مما الألى السنة مع بالمقارنة الثانية السنة في سالم سيدي أفراد نمو تحسن نلا □ ظ ذلك إلى بالاطافة . الموقع هذا في التلوث مستوى في انخفاض □ ملائمة أكثر

استراز كولين الاستيل البيئي للتلوث الحيوية المؤشرات استجابة (AChE) ترنسفراس س القلوتاتيون (GST) □ الكتلاز (CAT) أفراد تعانيه الذي التوترو □ التلوث بمستوى مرتبطة هامة تغيرات □ جود إلى تشير *Donax trunculus* لل المتميز للنشاط تثبيط لا □ ظنا بالفعل □ (AChE) لنشاط تحفيز □ (GST) □ (CAT) من جمعهم □ م التي الأفراد عند الثلاث الحيوية للمؤشرات المميز النشاط في انخفاض لكن . البطاح من انتقاؤها تم التي من مثيلتها مع بالمقارنة سالم سيدي . الخليج مستوى على الملوثات بعض في انخفاض يفسر قد ما هذا □ أخرى إلى سنة من

البطاح مستوى على منه سالم بسيدي □ دة أكثر تلوث من بعاني عنابة خليج تظهران عليها المحصل ائج النت مجموع أن تثبت الدراسة هذه ذلك على زيادة عنابة خليج في التلوث مستوى في انخفاض هناك لكن *Donax trunculus* يعتبر . الخليج مستوى على للتلوث جيد مؤشر □ يوي كائن

تلوث

مؤشر □ يوي كائن , عنابة خليج , بيولوجية مراقبة : **المفتاح كلمات** , *Donax trunculus* , □ يوي مؤشر , نمو , بيئي تلوث

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- Mc Cauley D.J., Degraeve G.M., Linton T.K., 2000.** Sediment quality guidelines and assessment :overview and research needs. *Environmental Science & Policy.*, **3**:133-144.
- Truhaut, R., 1977.** Ecotoxicology: objectives, principles, and perspectives. *Ecotox. Envir. Saf.*, **1**: 151-173.
- Neveu A., Riou C, Bonhomme M., Chassin P. & Papy F., 2001.** L'eau dans l'espace rural, vie et milieu aquatique. *Paris.*, 3-62 p.
- Valavanidis A., Vlahogianni T., Dassenakis M. & Scoullou M., 2006 .** Molecular biomarkers of oxydative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicol. Environ . Saf .*, **64**: 178-189.
- Depledge, M. H., Galloway, T. S., 2005.** Healthy animals, healthy ecosystems. *Front. Ecol. Environ.*, **3(5)**: 251-258.
- Munkittrick, K.R, Van Der Kraak, G.J, McMaster, M.E., and Portt, C.B., 1992,** Response of hepatic MFO activity and plasma sex steroids to secondary treatment of bleached Kraft pulp mill and mill shutdown. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **11**, 1427-1439.
- Chapman, P.M., 1995.** Ecotoxicology and pollution-key issues. *Mar. Pollut. Bull.* **31**: 167–177.
- Claiborne, A., 1985.** In: R.A. Greenwald (Ed.). Handbook of Methods for Oxygen Radical Research CRC Press, Boca Raton, FL., 283.
- Baird, D.J., Maltby, L., Greig-Smith, P.W., Douben, P.E.T., 1996.** Ecotoxicology: Ecological Dimensions (Eds.). Chapman and Hall, London.
- Damiens G., Gnassia-Barelli M., Loqués 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.
- Arapis, G., 2005.** Modern Problems of Ecotoxicology. Equidosimetry – Ecological Standardization and Equidosimetry for Radioecology and Environmental Ecology, Springer Netherlands, editors (Athènes: NATO Security trough Science Series), 101-109.
- Takisawa, Y., 1970.** Studies on the Niigata episode of the minamata disease. *Acta Medecine.*
- Amiard, J.C., Caquet, T. & Lagadic, L., 1998.** Les biomarqueurs parmi les méthodes d'évaluation de la qualité de l'environnement. In Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement (eds L. Lagadic, T. Caquet, J.C. Amiard & F. Ramade), pp. XXI-XXXI. *Lavoisier*, Paris.
- Abdenmour, C., Drif, F., Boulakoud, M. S., Ounissi, M., 2010.** Trace metals in the mussel *Donax trunculus* of Annaba estuaries, Algeria. *Oceanography/.*, **1(6)**: 15-20.
- Aït-Aïssa, S., Palluel, O. & Procher, J. M., 2003.** Biomarqueurs précoces d'écotoxicité. INERIS, rapport final DRC 00-102. 49 p.

- Champeau O., 2005.** Biomarqueurs D'effets Chez *C. Fluminea* :Du Developpement En Laboratoire A L'application En Mesocosme. Thèse de Doctorat, Université de, Bordeaux option: ecotoxicologie., 281 p.
- La Faurie M., Narbonne J.-F et Galgani F., 1992.** Indicateur Biochimiques de contamination de l'environnement marin. *Anal. Mag.*, v. 20, n°6: 27-33.
- Namour P., 1992.** Les mono-oxygénases de poissons. Un outil pour la caractérisation des pollutions chroniques. *Etudes du Cemagref, série Ressources en Eau*. N°6, 232 p.
- Vidal, M-L., Bassères, A. and Narbonne, J-F., 2001,** Potential biomarkers of trichloroethylene and toluene exposure in *Corbicula fluminea*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 9, 87-97.
- Schlenk, D., 1999.** Necessity of defining biomarkers for use in ecological risk assessments. *Marine Pollution Bulletin*, **39(1-12)**, 48-53.
- Lagadic, L., Amiard, J.C., 1997.** Biomarqueurs en écotoxicologie: principes et définitions. In *Biomarqueurs en Ecotoxicologie. Aspects Fondamentaux*. Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., Ramade, F. (Eds.). Paris, *Masson*, 1-9.
- Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C. & Ramade, F., 1997.** Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects fondamentaux. *Masson (Eds.)*. Paris: 1-9.
- Lam, K.S., Gray, J.S., 2003.** The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. *Mar. Pollut. Bull.*, **46**: 182–186.
- Lagadic, L., Caquet, T., 1996.** Marqueurs biologiques de pollution: des outils au service de l'écotoxicologie. *Phytoma - La Défense des Végétaux*, **480**, 10-13.
- Timbrell, J.A., Draper, R., Waterfield, C.J., 1994.** Biomarkers in toxicology: new uses for some old molecules? *Toxicology and Ecotoxicology News*, **1(1)**, 4-14.
- WHO,1993,** International programme on chemical safety (IPCS). *Environmental Health Criteria 140: Polychlorinated biphenyls and terphenyls (second edition)*. Geneva, *World Health Organization*
- Sarkar, P., Yadav P., Bhatnagar, D., 1997.** Cadmium-induced lipid peroxidation and the antioxidant system in rat erythrocytes: the role of antioxidants. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **11**, 8-13.
- Sarkar S., Yadav P., Bhatnagar D., 1998.** Lipid peroxidative damage on cadmium exposure and alterations in antioxidant system in rat erythrocytes: a study with relation to time. *BioMetals*, **11(2)**, 153-157.
- Phillips D.J.H., 1977.** The use of biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine environments: a review. *Environmental Pollution.*, **13**: 281-317.

- Paez-Osuna F., Frias-Espericueta M.G & Osuna-Lopez J.I., 1995.** Trace metal concentration in relation to season and gonadal maturation in the oyster *Crassostrea iridescens*. *Mar. Environ. Res.*, **40**(1):19-31.
- Cajaraville, M.P., Bebianno, M.J., Blasco, J., Porte, C., Sarasquete, C. & A. Viarengo., 2000.** The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach, *Sci. Total. Environ.*, **247**: 295–311 pp.
- Livingstone, D.R., 1991.** Organic xenobiotic metabolism in marine invertebrates. In: Gilles R, editor. *Advances in comparative and environmental physiology*. Berlin: Springer. *vol.*, **7**: 45-185.
- Livingstone, D.R., 2001.** Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Mar. Pollut. Bull.*, **42**: 656–666.
- Narbonne, J.F., 1998.** Historique-fondements biologiques de l'utilisation de biomarqueurs en écotoxicologie. In « *Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement* », Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C., Ramade F. (ed.), *Tec et Doc Lavoisier, Paris.*, 1-7.
- Regoli, F., 1998.** Trace metals and antioxidant enzymes in gills and digestive gland of the Mediterranean mussel *Mytilus Galloprovincialis*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **34**, 48-63.
- Regoli, F., Principato, G., 1995.** Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. *Aquatic Toxicology*, **31**, 143- 164.
- Regoli, F., Nigro, M., Bertoli, E., Principato, G., Orlando, E., 1997.** Defenses against oxidative stress in the Antarctic scallop *Adamussium colbecki* and effects of acute exposure to metals. *Hydrobiologia*, **355**, 139-144.
- Viarengo, A., Burlando, B., Giordana, A., Bolognesi, C., Gabrielides, G.P., 2000.** Networking and expert-system analysis: next frontier in biomonitoring. *Mar. Environ. Res.*, **49**(5): 483- 486.
- 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. *Comp. Biochem. Physiol. C* ., **100**: 187-190.
- Viarengo, A., Lowe, D., Bolognesi, C., Fabbri, E., Koehler, A., 2007.** The use of biomarkers in biomonitoring: A 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comp. Biochem. Physiol.* **146 C**: 281–300.
- Zorita, I., Ortiz-Zarragoitia, M., Soto, M., Cajaraville, M.P., 2006.** Biomarkers in mussels from a copper site gradient (visres, Norway) integrated biochemical, histochemical and histological study. *Aqua. Toxicol.*, **785**: 109-116.
- Long ER., 2000.** Spatial extend of sediment toxicity in U.S. estuaries and marines bays. *Environ Monit Assess.*, **64**(1):391-409.

- Mouëza M et Chessel D., 1976.** Contribution à l'étude de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusque Lamellibranche) dans l'Algérois : analyse statistique de la dispersion le long d'une plage en baie de Bou-Ismaïl, *J. Exp. Mar. Bio/ Ecol.*, **21**: 211-221.
- Mouëza M et Frenkiel-Renault L., 1973.** Contribution à l'étude de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusques: Lamellibranches) dans l'Algérois: la reproduction. *Cah. Biol. Mar.*, **14**: 261-283.
- Mouëza M., 1971.** Contribution à l'étude de l'écologie et de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusque Lamellibranche). Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques Mention Océanographie. 130 p.
- Mouëza M., 1972.** Contribution à l'étude de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusque Lamellibranche) dans l'Algérois : la croissance. *Pelagos.*, **4**: 25-35.
- Moukrim A., 2004.** *Donax trunculus* as a sentinel species for environmental monitoring of sandy beaches on Moroccan coasts. *B Environ Contam Tox.*, **73 (4)**: 674-681.
- Myint U. M., Tyler P. A., 1982.** Effects of temperature, nutritive and metal stressors.
- Nadji S., 2004.** Variation saisonnières et annuelle de quelques paramètres biométriques et biochimiques chez trois espèces de bivalves pêchées au niveau d'une lagune saumâtre, lac El-Mellah, El Kala.
- Nalepa T. F., Cavaletto J. F., For M., Gordon W. M. et Wimmer M., 1993.** Seasonal and annual variation in weight and biochemical content of the Zerba mussel *Dreissena polymorpha* in lake St. Clair. *Res.*, **19 (3)**: 541-552.
- Namour P., 1992.** Les mono-oxygénases de poissons. Un outil pour la caractérisation des pollutions chroniques. Etudes du **Cemagref**, série *Ressources en Eau*. N°6, 232 p.
- Neuberger-Cywiak L., Achituv Y et Mizrahi L., 1990.** The ecology of *Donax trunculus* Linnaeus and *Donax semistriatus* Poli from the Mediterranean coast of Israel. *J. Exp. Mar. Bio/ Ecol.*, **134** : 203-220. on the reproductive biology of *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*; 1982, 67: 209-223.
- Pérez-Camacho A., Labarta U et Beiras R., 1995.** Growth of mussels *Mytilus galloprovincialis* on cultivation rafts: influence of seed source, cultivation site and phytoplankton availability. *Aqua.*, **138**: 349-362.
- Long E. R et Wilson C. J., 1997.** On the identification of toxic hot spots using measures of the sediment quality triad. *Environ Toxicol. Chem.*, **34(6)**: 373-374.
- Long S, M., Ryder K. J et Holdway D. A., 2003.** The use of respiratory enzymes as biomarkers of petroleum hydrocarbons exposure in *Mytilus edulis plumuatus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **55**: 261-270.
- Lowe D. M., Moore M. N., Bayne B. L., 1982.** Aspect of gametogenesis in the marine mussel *Mytilus edulis* L. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*; 1982, 62: 113-145.
- Lubet P., 1959.** Recherche sur le cycle sexuelle et l'émission des gamètes chez les Mytilidés et les pectinidés (Moll. Biva). *Rev. Trav. Inst. Peche marit .*, **23 (4)** :389-548.
- Iso., 1998.** Qualité de l'eau –Essai d'inhibition de la croissance des algues marines avec *Skeletonema Costatum* et *Phaedactylum tricornutum*. International Standards organisation, Standart NFENISOIO 253: 590-311 ; 8p. *J. Fish.*, **1(3)** : 325-48.

- Kaayo D., Lips F., Garcia Martine 1999.** Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarkers in the aquatic environment. *J. Chem. Thech. Biothechnol.*, **57**: 195-211.
- Fernandez-Reiriz J. M., Labarta U., Albentosa M et Pérez-Camacho A., 1998.** Effect of microalgal diet and commercial wheatgerm flours on the lipid profile of *Ruditapes decussatus* spat. *Comp. Biochem. Physiol.*, **119 B**: 369-377.
- Ansell A. D et Lagardère F., 1980.** Observation on the biology of *Donax trunculus* and *Donax vittatus* at Ile d'Oléron (French Atlantic Coast). *Mar. Biol.*, **57(4)**: 287-300.
- Roméo M., Gnassia-barelli M., 1988.** *Donax trunculus* and *Venus verrucosa* Enzymatic antioxidant response of a labrid fish (*Coris julis*) liver to environmental caulerpenyne. *Comp. Biochem. Physiol.*, **144**: 191-196.
- Moukrim A., 2004.** *Donax tronculus* as a sentinel species for environmental monitoring of sandy beaches on Moroccan coasts. *B Environ Contam Tox.*, **73 (4)**: 674-681.
- Usero J., Morillo J et Gaspari C., 2005.** Heavy metal concentrations in mollusks from the Atlantic coast of southern Spain. *Chemosphere*. **59**:11751181
- Drardja-Beldi H., 2006.** Etude de *Gambusia affinis* (Poisson, Téléostéen) et *Donax trunculus* (Mollusque, Pélécy-pode): Ecologie ; Physiologie et impacts de quelques altéragènes. Thèse de Doctorat d'état en sciences de la mer option Biologie et Ecologie marines., 134pp.
- Mouëza M., 1972.** Contribution à l'étude de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusque Lamellibranche) dans l'Algérois : la croissance. *Pelagos.*, **4**: 25-35.
- Amouroux J. M., 1974.** Etude des peuplements infralittoraux de la côte du Roussillon III. Variations spatiales et saisonnières. *Vie Milieu.*, **24**: 321-354.
- Mouëza M et Chessel D., 1976.** Contribution à l'étude de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusque Lamellibranche) dans l'Algérois : analyse statistique de la dispersion le long d'une plage en baie de Bou-Ismaïl, *J. Exp. Mar. Bio/ Ecol.*, **21**: 211-221.
- Bodoy A. et Massé H., 1978.** Quelques paramètres permettant de suivre la production organique d'un Mollusque bivalve au cours d'un cycle saisonnier. *Publ. sci. tech. CNEXO, Actes colloq.*, **7**: 753-766.
- Ansell A. D et Bodoy A., 1979.** Comparison of events in the seasonal cycle for *Donax vittatus* and *Donax trunculus*. Dans: Cyclic phenomena in marine plants and animals, *13^{ème} Europ. Mar. Biol. Symp.*, Naylor, E et Hartno, R. G. Pergamon Press, Oxford et New York. pp. 191-198.
- Ansell A. D et Lagardère F., 1980.** Observation on the biology of *Donax trunculus* and *Donax vittatus* at Ile d'Oléron (French Atlantic Coast). *Mar. Biol.*, **57(4)**: 287-300.
- Neuberger-Cywiak L., Achituv Y et Mizrahi L., 1990.** The ecology of *Donax trunculus* Linnaeus and *Donax semistriatus* Poli from the Mediterranean coast of Israel. *J. Exp. Mar. Bio/ Ecol.*, **134** : 203-220. on the reproductive biology of *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*; 1982, **67**: 209-223.
- Ramón M., Abello P et Richardson C. A., 1995.** Population structure and growth of *Donax trunculus* (Bivalvia: Donacidae) In the western Mediterranean. *Mar. Biol.*, **121**: 665-671.
- Guillou J et Le Moal Y., 1980.** Aspects de la dynamique des populations de *Donax trunculus* et *D. vittatus* en baie de Douarnenez. *Annal, Inst. océanogr.* Paris., **56 (1)**: 55-64.

- Bayed A et Guillou J., 1985.** Contribution à l'étude des populations du genre *Donax*: La population de *D. trunculus* L. (Mollusca, Bivalvia) de Mehdia (Maroc). *Annal. Inst. Océanogr.*, **61(2)** : 139-147.
- Bayed A., 1990.** Reproduction de *Donax trunculus* sur la côte Atlantique marocaine. *Cah. Biol. Mar.* **31** : 159-169.
- Guillou J et Bayed A., 1991.** Contraintes du milieu sur les populations de *Donax trunculus* L. et *D. venustus* Poli du littoral atlantique marocain. *Oceanologica acta.*, **4 (3)**: 291-298.
- Vaissière R et Fredj G., 1963.** Contribution à l'étude de faune benthique du plateau continental de l'Algérie. In: Mouëza M., 1971. Contribution à l'étude de l'écologie et de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusque lamelibranche). Thèse de doctorat en sciences Biologiques mention Océanographie. 130p.
- Mouëza M., 1971.** Contribution à l'étude de l'écologie et de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusque Lamelibranche). Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques Mention Océanographie. 130 p.
- Mouëza M et Frenkiel-Renault L., 1973.** Contribution à l'étude de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusques: Lamelibranches) dans l'Algérois: la reproduction. *Cah. Biol. Mar.*, **14**: 261-283.
- Mouëza M et Chessel D., 1976.** Contribution à l'étude de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusque Lamelibranche) dans l'Algérois : analyse statistique de la dispersion le long d'une plage en baie de Bou-Ismaïl, *J. Exp. Mar. Bio/Écol.*, **21**: 211-221.
- Benchamma F., 1995.** Contribution à l'étude de la croissance et de la reproduction de *Donax trunculus* sur les côtes algéroises. Mémoire d'ingénieur d'état en halieutique, ISMAL (Alger). 74p.
- Lubet P., 1959.** Recherche sur le cycle sexuelle et l'émission des gamètes chez les Mytilidés et les pectinidés (Moll. Biva). *Rev. Trav. Inst. Peche marit.*, **23 (4)** :389-548.
- Deng J. C., Mathews R. F., Waston C. M., 1976.** Effect of chemical and physical treatment on the rancidity development of frozen mullet fillets. *J. food. Sci.*, **41**: 1479-1483.
- Beninger, P. G. & Lucas, A., 1984.** Seasonal variation in condition, reproductive on estuarine bivalve molluscs in the field. In: Keegan, B.F., Ciedigh, P. O. & Boaden, P. J. S (Eds). *Biology of benthic organisms*. Pergamon press, oxford, 57-58 pp.
- Freites L., Fernandez-Reiriz M.J., & Labarta U., 2002 c.** Evolution of fatty acid profiles of subtidal and rocky mussel seed (*Mytilus galloprovincialis*, LMK). Influence of environmental parameters. *Journal of experimental Marine Biology and ecology.*, 268: 185-204
- Parry G., Volkman, J. K., Johns, R. B., 1979.** Fatty acids of bacterial origin in contemporary marine sediments *Geo-Chim. Cosmochim. Acta* 43: 1715-1725.
- Galap C., Netchitaillo P., Le boulenger F. & Grillot J.P., 1999.** Variation of fatty acid contents in selected tissues of female dog cockle (*Glycymeris glycymeris* L., Mollusca. Bivalvia) during the annual cycle. *Comp. Biochem. Physiol.* 122: 241-254.
- Ojea J., Pazos A.J., Martinez D., Novas Sanchez S.J.L. & Abad M. 2004.** Seasonal variation in weight and biochemical composition of the tissues of *Ruditapes decussatus* in relation to the gametogenic cycle. *Aquaculture*, **238**: 203-220.

- Dridi S., Romdhane MS. & El Cafsi M. 2007.** Seasonal variation in weight and biochemical composition of the pacific oyster, *Crassostrea gigas* in relation to the gametogenic cycle and environmental condition of the Bizerte lagoon, Tunisia. *Aquaculture*, **263**: 238-248.
- Boussoufa D., Ghazali N., Viciano E., Navarro J.C., El Cafsi M. 2011.** Seasonal variation in condition and fatty acid composition of coquina calms, *Donax trunculus* (Linneau 1758) (Mollusca : Bivalvia) from the Tunisian coast. *Cah.Biol.Mar*, **52**: 47-56.
- Key A., Menotti A., Aravanic C., Blackburn H., Djordevic B.S., Bueiecek I., Nedeljkoic S., Puddv., Punsar S., Taylor H.L., Conti S., Kronbou D., Toshima H., 1984.** The seven countries study: 2289 deaths in 15 years, 13, 141-154.
- Grundy S.M., 1989.** Mono unsaturated fatty acids and cholesterol metabolism: implication for dietary recommendations. *Amer. J. Nutr.*, 529-533.
- Chu E.L.E. & Greaves J. 1991.** Metabolism of palmitic, linoleic and linolenic acids in adult oysters, *Crassostrea virginica*. *Marine Biology*, **110**: 229-236.
- Dunstan G. A., Olley J. & El Cafsi M. 2007.** Major environmental and biological factors influencing the fatty acid composition of seafood from Indo-Pacific to Antarctic waters. *Recent Res. Devel. Lipid Research*. **3**: 63-86.
- Aouadene, A., 2003.** Evaluation spatio-temporelle de quelques paramètres biométriques et biochimique chez *D. trunculus* (mollusca, Bivalvia) dans un environnement pollué (golfe d'Annaba). Thèse de Magistère en Biologie Animale option Ecologie Animale Appliquée Université d'Annaba., 88p.
- Claiborne, A., 1985.** In: R.A. Greenwald (Ed.). Handbook of Methods for Oxygen Radical Research CRC Press, Boca Raton, FL., 283.
- Dellali, M., Barelli, M.G., Romeo, M., Aissa, P., 2001.** The use of acetylcholinesterase activity in *Ruditapes decussatus* and *Mytilus galloprovincialis* in the biomonitoring of Bizerta lagoon. *Comp. Biochem. Physiol C. Toxicol. Pharmacol.*, **130**: 227-235.
- Dellali, M., El Bour, N., Mahmoud, M., Patricia, A. & Mahmoudi, E., 2010.** The use of *Fulvia fragilis* (Mollusca: Cardiidae) in the biomonitoring of Bizert lagoon: A mutimarkers approach. *Ecol. Indic*, **10 (3)**: 696-702.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M., 1961.** A new and rapid colorimetric determination of Acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol. Physiol.Pharm.*, 38, 84.
- Cossu, C., Doyotte, A., Jacquin, M.C., Vasseur, P., 1997.** Biomarqueurs du stress oxydant chez les animaux aquatiques. In: Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., Ramade, F. (Eds.), Biomarqueurs en écotoxicologie: Aspects fondamentaux. *Masson*, Paris, 149-163 pp.
- Costa, C., Bianchini, M., Ceccarelli, P., Orecchia, P., Rambaldi, E., Volterra, R. 1987.** Indagine sui molluschi bivalvi di interesse commerciale (telline, cannolicchi e vongole) delle coste della Toscana, del Lazio e della Campania. *Quad. Ist. Idrobiol. Acquacolt. G.Brunelli.*, **7**: 58 pp.

- Aarab N., 2004.** Les biomarqueurs chez les poissons et les bivalves: de l'exposition à l'effet et du laboratoire au terrain. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux, option: ecotoxicologie des milieux aquatiques., 276 p.
- Amira A., Sifi K. & Soltani N., 2011.** Seasonal variation of oxidative biomarkers in *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba (Algeria), *Eur. J. Exp. Bio.*, **1(2)**: 7-16.
- Bayed A., 1990.** Reproduction de *Donax trunculus* L. sur la côte Atlantique Marocaine. *Cah. Biol. Mar.*, **31**: 159-169.
- Bayed A., 1991.** Etude écologique des écosystèmes de plages de sable fin de la côte atlantique marocaine : Modèles de zonation, Biotypologie, Dynamique de populations. *Thèse Doct. d'Etat.Univ. Mohammed V, Rabat* : 229p.
- Bayed A., 1998.** Variabilité de la croissance des populations du Mollusque *Donax trunculus* sur le littoral atlantique marocain. *Cahiers Options méditerranéennes.*, **35**: 11-23.
- Bayed A. & Guillou J., 1985.** Contribution à l'étude des populations du genre *Donax* : La population de *D. trunculus* L. (Mollusca, Bivalvia) de Mehdiya (Maroc). *Ann. Inst. Oceanogr., Paris.*, **61(2)**: 139-147.
- Hagger, J.A., Lowe, D., Dissanayake, A., Jones, M.B., Galloway, T.S., 2010.** The influence of seasonality on biomarker responses in *Mytilus edulis*. *Ecotoxicology.*, **19**: 953-962.
- Habig W.H., Pabst M.J & Jacobi W.B., 1974.** The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, **249**: 7130-7139.
- Hamdani, A., 2013.** La reproduction chez un mollusque bivalve *Donax trunculus* L. dans le golfe d'Annaba. Rapport entre les aspects cytologique et biochimique et la pollution). Thèse de Doctorat en Biologie Animale Appliquée, Université d'Annaba. 366 p.
- Hamdani, H. & Soltani-Mazouni, N., 2011.** Changes in biochemical composition of the gonads of *Donax trunculus* L. (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba (Algeria) in relation to reproductive events and pollution. *Jord. J. Biol. Sci.*, **4(1)**: 170.
- Beldi H., 2007.** Etude de *Gambusia affinis* (Poisson, Téléostéen) et *Donax trunculus* (Mollusque, Pélécy-pode): écologie, physiologie et impacts de quelques altéragènes. Thèse de Doctorat d'état en Sciences de la Mer, option : Biologie et écologie marines, Université d'Annaba., 105 p.
- Beldi, H., Gimbert, F., Maas, S., Scheifler, R. & Soltani, N., 2006.** Seasonal variation of Cd, Cu, Pb and Zn in the edible mollusk *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba, Algeria. *Afric. J. Agri. Res.*, **1(4)**: 85-90.
- Abdallah, M.A. & Abdallah, A.M., 2008.** Biomonitoring study of heavy metals in biota and sediments in the South Eastern coast of Mediterranean sea, Egypt. *Environ. Monit. Assess.*, **146**: 139-145.
- Djediat, C. & Boukroufa, F., 1990.** Reproduction comparée de *Perna perna* (L) et de *Mytilus galloprovincialis* (LMK) sur la côte algéroise., **10**: 115-127.
- Amouroux, J.M., 1974.** Etude des peuplements infralittoraux de la côte du Roussillon. III. Variations spatiales et saisonnières. *Vie Milieu.*, **24**: 321-354.

- Usero J., Morillo J et Gaspari C., 2005.** Heavy metal concentrations in mollusks from the Atlantic coast of southern Spain. *Chemosphere*. **59**:1175-1181.
- Vaissière R et Fredj G., 1963.** Contribution à l'étude de faune benthique du plateau continental de l'Algérie. In: Mouëza M., 1971. Contribution à l'étude de l'écologie et de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusque lamellibranche). Thèse de doctorat en sciences Biologiques mention Océanographie. 130p.
- Shimizu Y. 1993.** Micro algal metabolites. *Chem. Rev* 1993: 1685 - 1689.
- Stanley-Samuelson D. W. et Loher W., 1986.** Prostaglandins in insect reproduction. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **79**: 841-853.
- Tayaa H., 2007.** Caractéristique morphologique et variation de deux biomarqueurs du stress environnemental (LDH, MDA) dans deux sites du golfe d'Annaba chez *Donax trunculus*: corrélation avec le métabolisme lipido-glucidique. Thèse de Magistère en Biologie Animale option Ecologie Animale Université d'Annaba.
- Pipe R. K., 1985.** Seasonal cycles and effects of starvation on egg development in *Mytilus edulis*. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*; 1985, 24: 121-128.
- Ramón M., Abello P et Richardson C. A., 1995.** Population structure and growth of *Donax trunculus* (Bivalvia: Donacidae) In the western Mediterranean. *Mar. Biol.*, **121**: 665-671.
- Roméo M., Gnassia-barelli M., 1988.** *Donax trunculus* and *Venus verrucosa* Enzymatic antioxidant response of a labrid fish (*Coris julis*) liver to environmental caulerpenyne. *Comp. Biochem. Physiol.*, **144**: 191-196.
- Ruissel-Hunter W. D., 1985.** Physiological, ecobiological and evolutionary aspects of molluscan tissue degrowth. *American Malacological Bull.*, **3**: 213-221.
- Fuiman, L.A., Smith, M.E., Malley, V.N., 1999.** Ontogeny of routine swimming speed and startle responses in red drum, with a comparison of responses to acoustic and visual stimuli. *J. Fish Biol.*, **55**: 215- 226.
- Galloway, T.S. & Depledge, M.H., 2001.** Immunotoxicity in invertebrates: measurement and ecotoxicological relevance. *Ecotoxicology*, **10**(1): 5-23.
- Gaspar M. B., Ghicharo L. M., Vasconcelos P., Garcia A., Santos A. R. & Monteiro C., 2002.** Depth segregation phenomenon in *Donax trunculus* (Bivalvia, Donacidae) population of the Algarve Coasts (southern Portugal). *Scie.Mar.*, **66**: 111-121.
- Gaspar, M.B., Chicharo, L.M., Vasconcelos, P., Garcia, A., Santos, A.R., Monteiro, C.C., 2002.** Depth segregation phenomenon in *Donax trunculus* (Bivalvia: Donaci-dae) populations of the Algarve coast (southern Portugal). *Sci. Mar.*, **66** (2): 111-121.
- Gaspar, M.B., Ferreira, R., Monteiro, C.C., 1999.** Growth and re-productive cycle of *Donax trunculus* L., (Mollusca: Bivalvia) off Faro, southern Portugal. *Fish. Res.*, **41**: 309 – 316.
- Gaspar, M.B., Monteiro, C.C., 1998.** Reproductive cycles of the razor clam *Ensis siliqua* and the clam *Venus stiatula* off

ANNEXE 1

Productions scientifiques:

Publication international:

Measure of Oxidative Stress and Neurotoxicity Biomarkers in *Donax trunculus* from the Gulf of Annaba (Algeria): Case of the Year 2012. *Annual Research & Review in Biology* 4(12): 1903-1914; 2014

Communications internationales:

1. **Lamia BENSOUDA, Jean-Pierre FARINE & Nadia SOLTANI-MAZOUNI. (2012).** ANALYSE DES ACIDES GRAS DES GONADES DE *Donax trunculus* EN RELATION AVEC LE SEXE ET LE SITE DANS LE GOLFE D'ANNABA. *Les 3^{èmes} Journées de l'association Tunisienne de Toxicologie (L'ATT) Tabarka-Tunisie 03–05 Février 2012. Communication affichée.*
2. **Lamia BENSOUDA & Nadia SOLTANI-MAZOUN. (2013).** UTILISATION DE MARQUEURS BIOCHIMIQUES POUR LA BIOSURVEILLANCE DE LA QUALITE DES EAUX : CAS DU GOLFE D'ANNABA (ALGERIE). *La deuxième édition du congrès international de la bio-surveillance de l'environnement Casablanca- Maroc, 24,25 et 26 Octobre 2013. Communication orale.*

ANNEXE 2