

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة باجي مختار عنابة

*Badji Mokhtar University
Annaba*



*Université Badji Mokhtar
Annaba*

Faculté des Sciences
Département de Biologie

MÉMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de MAGISTER

SPECIALITE

ECOLOGIE ET ENVIRONNEMENT

Option

TOXICOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE

THEME

TOXICITE COMPAREE DU MALATHION ET DU CADMIUM A
L'EGARD DE *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) ET MESURES DE
BIOMARQUEURS

Présenté par M^{lle} Fatma Moulka Hadjira BRAIA

Jury :

Président

C. ABDENNOUR

Pr. Université d'Annaba.

Directeur de mémoire

N. SOLTANI

Pr. Université d'Annaba.

Examineur

H. DRARDJA - BELDI

M.C .Université d'Annaba.

Examineur

K. OUALI

M.C .Université d'Annaba.

Année: 2008-2009

« Rien ne vaut la recherche, lorsqu'on veut trouver quelque chose. »

J. R. R. Tolkien, Bilbo le Hobbit

A mes chers Parents
A mon frère Nazim
Mes sœurs Anissa, Nezli, Sarah et Raja
Et à toute ma famille

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le Professeur C. Abdennour, pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Ma profonde reconnaissance et mes plus vifs remerciements s'adressent au Professeur N. Soltani pour avoir accepté d'être le directeur de ce mémoire et de m'avoir ouvert les portes de son laboratoire.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et mes sincères remerciements aux Maitres de Conférences H. DRARDJA - BELDI et K. OUALI pour avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens également à remercier vivement M^{elle} K.Sifi qui ma aidée durant tous mes travaux au laboratoire.

Mes plus vifs remerciements vont également à:

- *M^{me} Samira Yezli et à ouided Boutamine (Techniciennes de laboratoire) qui m'ont beaucoup aidée.*
- *M^{me} Nadia Chakouri et wafa qui m'ont soutenue et encouragée.*
- *M^{me} Wahida Loucif-Ayad, M^{me} Fouzia Tine, Nedjouda, Aicha Beya, Akila, Amel, Salima, Menel moustique et Karima moustique.*
- *Mohamed-skander Boughlem, Salim touati, Mehdi Akacem et Mehdi Faci pour m'avoir aidée tout au long des prélèvements.*
- *Toute ma promotion.*
- *Zaina, pour son soutien, aide et encouragements.*

Merci Encore

Résumé

Cette étude s'intègre dans un programme de biosurveillance du golfe d'Annaba par l'utilisation de *Donax trunculus* espèce comestible et bioindicatrice de la pollution.

On a évalué dans un premier temps en conditions de laboratoire l'impact du malathion et du cadmium sur la toxicité et les biomarqueurs. La toxicité du malathion (50 – 100 – 150 - 300 µg/l) et du cadmium (7,6 – 10 - 15 ppm) à différentes concentrations, entraîne une mortalité de l'espèce étudiée avec une relation concentration-réponse. Aussi les différents dosages effectués montrent que l'insecticide a un effet plus marqué que le métal lourd.

Ensuite nous avons évalué l'impact de la pollution sur les paramètres physico-chimiques de l'eau de mer, la croissance de cette espèce, mais aussi sur certains biomarqueurs; le glutathion (GSH), la glutathion S-transférase (GST) et l'acétylcholinestérase (AChE) de septembre 2007 à août 2008 au niveau de deux sites: El-Battah loin des sources de pollution et Sidi Salem site pollué par les déchets agricoles, urbains, industriels et portuaires.

L'étude des paramètres physico-chimiques révèle des fluctuations temporelles liées aux variations saisonnières et environnementales dans les deux sites. L'analyse biométrique a permis de révéler deux recrutements pendant la période d'étude, une longueur maximale de 37 mm et une différence dans la croissance mensuelle entre les deux sites. On a observé également une variation mensuelle des biomarqueurs mesurés avec un effet site, un effet mois et une interaction site/mois hautement significative. Les différences entre sites seraient en rapport avec leur niveau de pollution.

Mots clés : *Donax trunculus*, Glutathion, Glutathion-S-transférase, Acétylcholinestérase, Malathion, Cadmium, Croissance, Toxicité.

Abstract

This study fits in a biomonitoring program, in the gulf of Annaba, which uses *Donax trunculus* a pollution bioindicating edible species.

In a first step, we evaluate in laboratory conditions the impact of malathion and cadmium respectively on toxicity and biomarkers. The different applied dosages show that the insecticide has a more striking effect than heavy metal. Malathion (50 - 100 - 150 - 300 µg/l) and cadmium (7,6 - 10 - 15 ppm) toxicities at different concentrations also lead to a mortality of the studied species with a concentration-reponse.

Then, we evaluate the impact of pollution on sea water physicochemical parameters concerning the growth of this species and on certain biomarkers, glutathion (GSH), glutathion S-transférase (GST) and l'acétylcholinestérase (AChE), the study period is from september 2007 to august 2008 and takes place at two different locations: El-Battah, a site relatively spared by pollution and Sidi Salem, an area polluted by agricultural, urban, industrial and portuary waste.

The physicochemical parameter study reveals temporal fluctuations linked to seasonal and environmental variations at the study sites. The biometric analysis revealed two recruits during the study period, a maximum length of 37 mm and a difference in the monthly growth between the two sites and a highly significant monthly variation on the measured biomarkers are observed with a site effect, a month effect and an interacting month/ site effect. The disparity between the study-sites would be connected to their respective pollution level.

Key words: *Donax trunculus*, Glutathion, Glutathion S-transférase, Acétylcholinestérase, Malathion, Cadmium, Growth, Toxicity.

SOMMAIRE

1. INTRODUCTION	1
2. MATERIEL ET METHODES	6
2.1. Presentation de l'espèce	6
2.1.1. Morphologie	6
2.1.2. Anatomie	7
2.2. Ecologie et biologie	9
2.3. Application des xénobiotiques	11
2.3.1. Présentation du malathion et du cadmium	11
2.3.2. Concentration et traitement	13
2.4. Etude toxicologique	13
2.5. Présentation des sites de prélèvement	15
2.6. Paramètres physico-chimiques	16
2.7. Techniques d'échantillonnage	17
2.8. Biométrie de l'espèce	18
2.9. Dissection et prélèvement du tissu	19
2.10. Analyse biochimique	20
2.10.1. Taux de glutathion	20
2.10.2. Activité de la glutathion S-transférase	21
2.10.3. Activité de l'acétylcholinestérase	22
2.11. Extraction et dosage des protéines	24
2.12. Analyse statistique	24
3. RESULTATS	25
3.1. Toxicité au laboratoire du malathion et du cadmium sur <i>D.trunculus</i>	25
3.1.1. Bioessai des xénobiotiques	25
3.1.2. Effet des xénobiotiques sur les biomarqueurs	42
3.2. Biosurveillance de la pollution des eaux du golfe d'Annaba	55
3.2.1. Caractéristique du milieu	55
3.2.2. Croissance de <i>D.trunculus</i>	57
3.2.3. Réponse des biomarqueurs	58
4. DISCUSSION	68
4.1. Evolution des Paramètres physico-chimique des sites	68
4.2. Croissance de <i>D. trunculus</i>	69

4.3. Aspects toxicologiques	71
4.4. Aspects biochimiques	72
5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	79
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	81
RESUMES	97

Liste des figures

<u>Figure 1.</u> Phénotype de <i>Donax trunculus</i> .	6
<u>Figure 2.</u> Morphologie externe (A) et interne (B) de la coquille de <i>D. trunculus</i> .	7
<u>Figure 3.</u> Anatomie générale des Bivalves.	8
<u>Figure 4.</u> Cycle biologique des Bivalves.	10
<u>Figure 5.</u> Structure chimique du malathion.	12
<u>Figure 6.</u> Position géographique des deux sites d'étude dans le golfe d'Annaba: El Battah et Sidi Salem.	16
<u>Figure 7.</u> Multiparamètre (CONSORT C 535).	17
<u>Figure 8.</u> Engin de pêche artisanal "le cope" (A), Récolte artisanal de <i>D. trunculus</i> (B).	18
<u>Figure 9.</u> Drague à telline réservée à la pêche professionnelle (A), drague professionnelle en condition de pêche (B).	18
<u>Figure 10.</u> Paramètres biométriques mesurés pour <i>D. trunculus</i> .	19
<u>Figure 11.</u> Prélèvement du manteau chez <i>D. trunculus</i> .	20
<u>Figure 12.</u> Toxicité du malathion après 12h d'exposition de <i>D. trunculus</i> et classement des concentrations .	27
<u>Figure 13.</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) après 12h d'exposition de <i>D. trunculus</i> .	29
<u>Figure 14.</u> Toxicité du malathion après 24h d'exposition de <i>D. trunculus</i> et classement des concentrations.	32
<u>Figure 15.</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) après 24h d'exposition de <i>D. trunculus</i> .	33
<u>Figure 16.</u> Toxicité du cadmium après 12h d'exposition de <i>D. trunculus</i> et classement des concentrations .	36
<u>Figure 17.</u> Toxicité du cadmium (ppm) après 12h d'exposition de <i>D. trunculus</i> .	38
<u>Figure 18.</u> Toxicité du cadmium après 24h d'exposition de <i>D. trunculus</i> et classement des concentrations.	40
<u>Figure 19.</u> Toxicité du cadmium (ppm) après 12h d'exposition de <i>D. trunculus</i> .	42
<u>Figure 20.</u> Droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (μg) (R^2 : coefficient de détermination).	43
<u>Figure 21.</u> Effet du malathion sur le taux de glutathion ($\mu\text{M/mg}$ de protéines) au	45

niveau du manteau de *D. trunculus* ($m \pm s$; $n=4$).

- Figure 22.** Effet du cadmium sur le taux de glutathion ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* ($m \pm s$; $n=4$). 47
- Figure 23.** Effet du malathion sur l'activité de la glutathion S-transférase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* ($m \pm s$; $n=4$). 49
- Figure 24.** Effet du cadmium sur l'activité de la glutathion S-transférase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* ($m \pm s$; $n=4$). 50
- Figure 25.** Effet du malathion sur l'activité de l'acétylcholinestérase ($\text{nM}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* ($m \pm s$; $n=4$). 53
- Figure 26.** Effet du cadmium sur l'activité de l'acétylcholinestérase ($\text{nM}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* ($m \pm s$; $n=4$). 54
- Figure 27.** Variation mensuelle de la température ($^{\circ}\text{C}$) de l'eau prélevée dans les deux sites d'études El-Battah et Sidi Salem dans le golfe d'Annaba de septembre 2007 à août 2008. 56
- Figure 28.** Variation mensuelle du pH de l'eau prélevée dans les deux sites d'étude El-Battah et Sidi Salem dans le golfe d'Annaba de septembre 2007 à août 2008. 56
- Figure 29.** Variation mensuelle de la salinité (g/l) de l'eau prélevée dans les deux sites d'étude El-Battah et Sidi Salem dans le golfe d'Annaba de septembre 2007 à août 2008. 57
- Figure 30.** Distribution des fréquences de taille de *D. trunculus* pêché à El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008 ($n=100$). 59
- Figure 31.** Distribution des fréquences de taille de *D. trunculus* pêché à El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008 ($n=100$). 60
- Figure 32.** Variation mensuelle du taux de glutathion ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008 ($m \pm s$; $n=6$). 62
- Figure 33.** Variation mensuelle de l'activité 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 et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008 ($m \pm s$; $n=6$). 65
- Figure 34.** Variation mensuelle de l'activité de l'acétylcholinestérase ($\text{nM}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à 67

août 2008 (m±s ; n=6).

Liste des tableaux

<u>Tableau 1:</u> Fiche technique du malathion.	12
<u>Tableau 2:</u> Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.	24
<u>Tableau 3:</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. tunculus</i> après 12h d'exposition: mortalité observée (%) ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).	25
<u>Tableau 4:</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 12h d'exposition: mortalité corrigée (%) ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).	26
<u>Tableau 5:</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 12h d'exposition: transformation angulaire ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).	26
<u>Tableau 6:</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. tunculus</i> après 12h d'exposition: analyse de la variance à un critère de classification ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).	27
<u>Tableau 7:</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 12h d'exposition: classement des concentrations ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).	27
<u>Tableau 8:</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 12h d'exposition: transformation en probits des mortalités corrigées ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).	28
<u>Tableau 9:</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 12h d'exposition: transformation des concentrations ($\mu\text{g/l}$) en logarithmes décimaux des concentrations ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).	28
<u>Tableau 10:</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 12h d'exposition: analyse des probits de la CL50.	28
<u>Tableau 11:</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 12h d'exposition: analyse des probits de la CL90.	29
<u>Tableau 12:</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 24h d'exposition : mortalité observée (%) ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).	30
<u>Tableau 13:</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 24h d'exposition: mortalité corrigée (%) ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).	30

<u>Tableau 14:</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 24h d'exposition: transformation angulaire ($m\pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).	31
<u>Tableau 15 :</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 24h d'exposition: analyse de la variance à un critère de classification ($m\pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).	31
<u>Tableau 16:</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 24h d'exposition: classement des concentrations ($m\pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).	31
<u>Tableau 17:</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 24h d'exposition: transformation en probits de mortalités corrigées ($m\pm s$; $n=3$ répétition comportant chacune 100 individus).	32
<u>Tableau 18:</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 24h d'exposition: transformation des concentrations ($\mu\text{g/l}$) en logarithmes décimaux des concentrations ($m\pm s$; $n=3$ répétition comportant chacune 100 individus).	33
<u>Tableau 19:</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) après une exposition de 24h de <i>Donax trunculus</i> : analyse des probits de la CL50.	33
<u>Tableau 20:</u> Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) après une exposition de 24h de <i>Donax trunculus</i> : analyse des probits de la CL90.	33
<u>Tableau 21:</u> Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 12h d'exposition : mortalité observée (%) ($m\pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).	34
<u>Tableau 22:</u> Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 12h d'exposition : mortalité corrigée (%) ($m\pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).	34
<u>Tableau 23:</u> Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 12h d'exposition: transformation angulaire ($m\pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).	35
<u>Tableau 24:</u> Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 12h d'exposition: analyse de la variance à un critère de classification ($m\pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).	35
<u>Tableau 25:</u> Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 12h d'exposition: classement des concentrations ($m\pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).	36
<u>Tableau 26:</u> Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de <i>D. trunculus</i> après 12h d'exposition: transformation en probits des	37

mortalités corrigées ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

- Tableau 27:** Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 12h d'exposition: transformation des concentrations (ppm) en logarithmes décimaux des concentrations ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus). 37
- Tableau 28:** Toxicité du cadmium (ppm) après une exposition de 12h de *Donax trunculus* : analyse des probits de la CL50. 37
- Tableau 29:** Toxicité du cadmium (ppm) après une exposition de 12h de *Donax trunculus*: analyse des probits de la CL90. 37
- Tableau 30:** Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition : mortalité observée (%) ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus). 38
- Tableau 31:** Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: mortalité corrigée (%) ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus). 39
- Tableau 32:** Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: transformation angulaire ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus). 39
- Tableau 33:** Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: analyse de la variance à un critère de classification ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus). 40
- Tableau 34:** Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: classement des concentrations ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus). 40
- Tableau 35:** Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: transformation en probits des mortalités corrigées ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus). 41
- Tableau 36:** Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: transformation des concentrations (ppm) en logarithmes décimaux des concentrations ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus). 41
- Tableau 37:** Toxicité du cadmium (ppm) après une exposition de 24h de *D. trunculus* : analyse des probits de la CL50. 41
- Tableau 38:** Toxicité du cadmium (ppm) après une exposition de 24h de *D. trunculus* : analyse des probits de la CL90. 42

<u>Tableau 39:</u> Dosage des protéines ; Réalisation de la gamme d'étalonnage (m±s, n=6).	43
<u>Tableau 40:</u> Effet du malathion sur le taux de glutathion (µM/mg de protéines) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> après 12h et 24h d'exposition (m±s; n=4). Les moyennes d'un même temps sont suivies d'une même lettre en minuscule, tandis que celle d'un même traitement sont suivies d'une lettre en majuscule, ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % .	44
<u>Tableau 41:</u> Effet du malathion sur le taux de glutathion (GSH) (µM/mg de protéines) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> : analyse de la variance à deux critères de classification (traitement, temps).	45
<u>Tableau 42:</u> Effet du cadmium sur le taux de glutathion (µM/mg de protéines) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> après 12h et 24h d'exposition (m±s; n=4).	46
<u>Tableau 43:</u> Effet du cadmium sur le taux de glutathion (GSH) (µM/mg de protéines) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> : analyse de la variance à deux critères de classification (traitement, temps).	46
<u>Tableau 44:</u> Effet du malathion sur l'activité de la glutathion S-transférase (µM/mn/mg de protéines) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> après 12h et 24h d'exposition (m±s ; n=4).	48
<u>Tableau 45:</u> Effet du malathion sur l'activité de la glutathion S-transférase (GST) (µM/mn/mg de protéines) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> : analyse de la variance à deux critères de classification (traitement, temps).	48
<u>Tableau 46:</u> Effet du cadmium sur l'activité de la glutathion S-transférase (µM/mn/mg de protéines) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> après 12h et 24h d'exposition (m±s ; n=4).	49
<u>Tableau 47:</u> Effet du cadmium sur l'activité de la glutathion S-transférase (GST) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> : analyse de la variance à deux critères de classification (traitement, temps).	50
<u>Tableau 48:</u> Effet du malathion sur l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/mn/mg protéines) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> après 12h et 24h d'exposition (m±s ; n=4).	52
<u>Tableau 49:</u> Effet du malathion sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) (nM/mn/mg de protéines) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> : analyse de la variance à deux critères de classification (traitement, temps).	52
<u>Tableau 50:</u> Effet du cadmium sur l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/mn/mg de protéines) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> après 12h et 24h d'exposition (m±s ; n=4).	53
<u>Tableau 51:</u> Effet du cadmium sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) (nM/mn/mg de protéines) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> : analyse de la variance à deux critères de classification (traitement, temps).	54

<u>Tableau 52:</u> Taille moyenne en (mm, $m \pm s$) de <i>Donax trunculus</i> pêché à El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008 (n=100).	58
<u>Tableau 53 :</u> Variation mensuelle du taux du glutathion ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008 ($m \pm s$; n=6).	61
<u>Tableau 54:</u> Analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois) du taux du glutathion au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à Aout 2008.	62
<u>Tableau 55:</u> Variation mensuelle de l'activité 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 et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008 ($m \pm s$; n=6).	64
<u>Tableau 56 :</u> Analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois) de l'activité de la glutathion S-transférase du manteau de <i>D. trunculus</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008.	64
<u>Tableau 57:</u> Variation mensuelle de l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/mn/mg de protéines) au niveau du manteau de <i>D. trunculus</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008 ($m \pm s$; n=6).	66
<u>Tableau 58:</u> Analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois) de l'activité de l'acétylcholinestérase du manteau de <i>D. trunculus</i> pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008.	67

1. Introduction

Le développement industriel, agricole et urbain est accompagné inévitablement par des problèmes de pollution. En effet, Les contaminants produits par les activités anthropiques (industries, activités agricoles et domestiques) sont rejetés dans l'environnement par le biais des eaux douces (eaux usées et lessivage des sols lors des pluies) et finissent par se retrouver dans les milieux aquatiques, en particulier côtiers. De ce fait, ces zones comptent parmi les plus exposées aux différents types de pollutions récurrentes, comme les matières organiques, les métaux lourds, les polychlorobiphényles (PCBs), les pesticides ou les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), qui peuvent induire des conséquences écologiques majeures (Galloway & Depledge, 2001).

Actuellement, les gestionnaires de l'environnement et les scientifiques envisagent un contrôle strict de l'utilisation des ressources naturelles, comme l'eau, qui respecte l'ensemble des communautés vivant dans les écosystèmes aquatiques. Pour atteindre un tel objectif, il est donc important de disposer d'outils pertinents qui permettent de rendre compte de la qualité des écosystèmes et de la santé des communautés vivant dans ces écosystèmes. L'analyse chimique, qui mesure les concentrations en produits toxiques dans les milieux, permet de répondre partiellement à ces besoins. En effet, si cette approche reste indispensable pour identifier les causes, elle se restreint toutefois aux composés dont la toxicité est connue et pour lesquels une méthode de dosage, dans des matrices parfois complexes, est disponible. Aussi, la grande diversité des polluants potentiellement présents dans le milieu à surveiller pose rapidement un problème de coût. Enfin, si les analyses chimiques renseignent sur la présence ou non d'un polluant dans les différents compartiments de l'écosystème (eau, sol, sédiments, organismes), cela reste insuffisant pour prédire l'impact réel de la substance toxique sur les organismes, puisque les nombreuses interactions polluants/polluants et polluants/organismes qui existent dans le cas de pollutions multiples ne sont pas prises en compte (Aït-Aïssa, 2003).

Ces dernières années, les scientifiques ont fait appel à un type de contrôle par biosurveillance afin d'évaluer l'impact de la pollution sur les divers écosystèmes; ce contrôle repose sur l'utilisation d'indicateurs biologiques de pollution. Les indicateurs biologiques ou bioindicateurs sont des organismes ou des groupes d'organismes utilisés pour déterminer la

présence, l'abondance et la biodisponibilité des contaminants de l'environnement par l'intermédiaire des concentrations mesurées dans ces organismes pris dans leur totalité ou dans un ou plusieurs organes et/ou tissus (Chambost-Manciet, 2002).

La prédiction de l'impact environnemental des substances toxiques et de mélanges de toxiques est un des challenges majeurs pour la recherche en toxicologie environnementale. Les mollusques, en particulier les bivalves, sont des modèles d'intérêt (Rittschof & McClellan-Green, 2005). Les Mollusques Bivalves tels que *Donax trunculus* sont communs et souvent abondants, d'une taille suffisante pour réaliser des analyses, faciles à échantillonner, leur large distribution, sédentarité et mode de nutrition de type suspensivore font deux des candidats idéaux pour l'étude des effets des polluants organiques et métalliques (Cossa, 1985). En effet, ils sont exposés aux fluctuations physico-chimiques de l'environnement (température, salinité, contaminants chimiques, etc.) sans possibilité de fuite et peuvent accumuler des polluants. De plus, leur physiologie est relativement bien connue et ils ont tendance à s'établir dans des régions où des espèces moins robustes ne peuvent pas survivre. De ce fait, ils répondent à tous les critères d'un indicateur quantitatif biologique (Lopez-Barea & Pueyo, 1998). *D. trunculus* a été utilisé pour estimer la qualité des écosystèmes côtiers dans plusieurs programmes de surveillance: Mauritanie (Roméo & 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: (Mouëza, 1972; Amouroux, 1974; Mouëza & Chessel, 1976; Bodoy & Massé, 1978; Ansell & Bodoy, 1979; Ansell *et al.*, 1980; Neuberger-Cywiak *et al.*, 1990; Ramón *et al.*, 1995) et en Atlantique (Ansell & Lagardère, 1980; Guillou & Le Moal, 1980; Bayed & Guillou, 1985; Bayed, 1991; Guillou & Bayed, 1991). En Algérie, la distribution de *D. trunculus* a été décrite par Vaissière & Fredj. (1963) lors d'une série de dragages effectués le long des côtes. La biologie, l'écologie et la reproduction de cette espèce ont été étudiées sur les côtes algéroises (Mouëza, 1971; Mouëza & Frenkiel-Renaut, 1973; Mouëza & Chessel, 1976; Benchamma, 1995).

Dans le golfe d'Annaba, les travaux rapportés sur cette espèce représentent des efforts concertés permettant 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 de *D. trunculus* (Aouadene, 2003; Abbes, 2004; Chouahda, 2006; Hamdani, 2007; Tayaa, 2007; Beldi, 2007; Amira, 2007).

Les effets biologiques des xénobiotiques résultent surtout de la métabolisation ou biotransformation à l'intérieur de l'organisme (Van der Oost *et al.*, 2003). L'altération d'une ou plusieurs fonctions biologiques est susceptible de modifier l'homéostasie et la capacité d'adaptabilité de ces organismes avec pour conséquence la remise en cause de leur croissance, de leur reproduction, voire de leur survie. L'écotoxicologie est la discipline qui évalue les effets des perturbations physiques et chimiques sur les êtres vivants, les voies de transfert des contaminants et leur action sur l'environnement. Elle fait intervenir l'utilisation de biomarqueurs ayant pour but de mettre en évidence de façon précoce une pollution (Van der Oost *et al.*, 2003). Un biomarqueur se définit comme un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, de l'organisme, de la population ou de l'écosystème qui peut être relié à une exposition ou à des effets toxiques de polluants chimiques environnementaux (Lagadic *et al.*, 1997; Galloway & Depledge, 2001; Van der Oost *et al.*, 2003). Les différents travaux scientifiques réalisés ont permis de classer les biomarqueurs suivant la spécificité de leur réponse à certaines molécules polluantes ou à un type d'effet. Ainsi, classiquement, les auteurs distinguent les biomarqueurs d'expositions, d'effets et de sensibilités (Lagadic *et al.*, 1997; Kammenga *et al.*, 2000).

De nombreux biomarqueurs ont été étudiés chez les mollusques bivalves, et recommandés par des instances internationales pour la surveillance de la qualité du milieu aquatique. Plusieurs revues de synthèse et ouvrages ont été publiés sur les biomarqueurs et les mécanismes moléculaires mis en cause ont été relativement bien décrits. Parmi ces biomarqueurs, on peut citer: les enzymes de biotransformation comme la glutathion S-transférase (GST) (Stien, 1998). Les paramètres du stress oxydatif tel que: le glutathion (GSH) (Sies, 1999), la superoxyde dismutase (SOD) (Orbea *et al.*, 2000), la catalase (Stegeman *et al.*, 1992), la glutathion peroxydase (GPX) (Halliwell & Guetteridge, 1999). La peroxydation lipidique (Dotan *et al.*, 2004). La Métallothionéine (Viarengo *et al.*, 2000). Les protéines de choc thermique (HSP) (Tiebskorn *et al.*, 1997; Minier *et al.*, 1999). Les paramètres hématologiques (Van der Oost *et al.*, 2003). Les paramètres immunologiques (Harford *et al.*, 2006). Les paramètres endocriniens comme la vitellogénine (Hink *et al.*, 2007). Les paramètres neuromusculaires tels que l'AChE (Kavitha & Venkateswara, 2007). Les paramètres génotoxiques (Winzinger *et al.*, 2007).

Le golfe d'Annaba constitue une zone littorale sous influence de deux oueds (le Mafrag et la Seybouse); il bénéficie d'une forte productivité biologique (Derbal & Kara, 2001) et il est le siège d'activités humaines très variées qui contribuent au rejet de nombreuses molécules toxiques telles que les métaux lourds et les pesticides (Ounissi, 2007). De nombreuses études ont évalué les effets de ces substances notamment du malathion et du cadmium (Gagniaire, 2005).

Le malathion est un insecticide organophosphoré de contact, d'ingestion et d'inhalation. C'est un acaricide très liposoluble non systémique et un inhibiteur de l'acétylcholinestérase. Ces insecticides ont progressivement remplacé les insecticides organochlorés, en raison de leur faible rémanence, malgré leur toxicité aiguë plus importante. Depuis 1942, plusieurs milliers de molécules organophosphorées ont été synthétisées, dont certaines à des fins militaires (Viala, 1998).

Ces insecticides sont des inhibiteurs des acétylcholinestérases mais aussi des carboxylésterases. Ces activités existent dans l'hémolymphe de *Mytilus edulis* et elles sont plus ou moins fortement inhibées après un contact *in vitro* avec les organophosphorées (Galloway *et al.*, 2002). Ces insecticides peuvent avoir des effets sur d'autres activités que les estérases chez les bivalves, une étude a montré qu'ils diminuent *in vitro* la phagocytose chez *Crassostrea virginica* (Larson *et al.*, 1989). Chez *Mytilus mercenaria*, le malathion augmente *in vivo* la production de lysozyme (Anderson *et al.*, 1981) et le fénitrothion, insecticide organophosphoré, diminue la quantité de glutathion réduit dans sa glande digestive (Pena-Llopis *et al.*, 2002).

Le cadmium est un des éléments les plus rares dans la nature (Fasette, 1975). Il se trouve fréquemment associé au minerai de zinc. Contrairement à de nombreux métaux, le cadmium n'a aucun rôle métabolique connu et ne semble pas biologiquement essentiel ou bénéfique au métabolisme des êtres vivants (Lane & Morel, 2000). Dans le milieu marin le cadmium est présent sous forme de complexes inorganiques, ($CdCl^+$, $CdCl_2$, etc). Malgré la rareté des formes organiques, le cadmium a une capacité à s'accumuler dans les tissus vivants à cause de sa similitude chimique avec un oligoélément important pour la vie, le zinc. Il a une très forte affinité pour les protéines (en particulier les groupes cystéiniques) ce qui permet la bioaccumulation (Aït-Aïssa, 2000). Le cadmium provoque une peroxydation lipidique chez *Crassostrea gigas* et *M. edulis* (Geret *et al.*, 2002) et induit une diminution de la SOD dans la

glande digestive de *M. edulis* (Orbea *et al.*, 2002). Il est connu pour être un stimulant de la production de métallothioneines (MT) chez les bivalves. Une exposition d'*Ostrea edulis* au cadmium provoque une augmentation de l'expression de l'ARNm de MT dans les hémocytes (Corporeau & Auffret, 2003).

A cet effet, et dans le cadre d'un programme de biosurveillance de la qualité des eaux du golfe d'Annaba, nous avons testé au laboratoire les effets de deux xénobiotiques, un insecticide organophosphoré, le malathion et un métal lourd, le cadmium à l'égard de *D. trunculus* sur la toxicité et la réponse de quelques biomarqueurs. L'impact de la pollution a été évalué par la mesure des paramètres physico-chimiques du milieu, la croissance de l'espèce étudiée, mais également par la mesure de certains biomarqueurs tel que le glutathion (GSH), la glutathion S-transférase (GST) et l'acétylcholinestérase (AChE).

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Présentation de l'espèce

2.1.1. Morphologie

Donax trunculus (Linnaeus, 1758) (Fig. 1), également connue sous l'appellation de telline, est plus généralement désigné par les pêcheurs de la baie d'Annaba par le terme « haricot de mer ». Les pêcheurs français ont coutume de l'appeler également « poulig », « Blanchette », « pignon », « flion ». En Espagne il est commercialisé sous le nom de « tallarina » (catalan), «tellerina » ou « coquina » (castillan). Il est dénommé « conquilha » ou « cadelinha » au Portugal, et « tellina » en Italie. Enfin, il est également consommé au Japon, sous le nom de « naminoko » (Théband *et al.*, 2005).



Figure 1. Phénotype de *Donax trunculus*.

(www.ebrincondelmalacologo.iespana.org).

C'est un mollusque bivalve à symétrie bilatérale, caractérisé par une coquille de contour allongé triangulaire et inéquilatéral, composée de deux valves calcifiées qui recouvrent les côtés droit et gauche du corps. Elles s'articulent dorsalement autour d'un dispositif marginal appelé charnière et d'une structure élastique très imparfaitement calcifiée, le ligament. Sous l'action de ce dernier, la coquille tend à s'ouvrir par contraction des muscles adducteurs qui s'insèrent chacun sur la face interne des deux valves où leur empreinte est généralement visible (Bougis, 1976; Grimes, 1994).

La surface externe des valves est assez brillante, entièrement blanche, ou avec une coloration variable sur fond blanc, la plupart du temps relativement claire. La teinte de fond pouvant se nuancer de jaune ou d'orangé. La coloration externe montre le plus souvent des rayons et des bandes de dimensions et d'intensité de couleur variable, mais généralement violacée brunâtre à grisâtre. Quant à la coloration interne, elle peut être entièrement blanche ou être plus au moins maculée de violet ou de brunâtre (Fig. 2). Les plus grands individus peuvent atteindre une longueur de 47 mm (Poutier, 1978).



Figure 2. Morphologie externe (A) et interne (B) de la coquille de *D. trunculus*.
(www.schnr-specimen-shells.com).

2.1.2. Anatomie

D. trunculus présente un corps mou, non segmenté, comprimé latéralement, sans tête distincte (acéphale) ni appareil masticateur. Il est enveloppé par un manteau, constitué de deux lobes qui sécrètent et supportent chacune des valves de la coquille. Les bords externes du manteau sont parfois plus au moins soudés, formant vers l'arrière deux siphons permettant l'entrée de l'eau (siphon inhalant ou ventral) ou son rejet vers l'extérieur (siphon exhalant ou dorsal). Les branchies sont de type eulamellibranche (Mouëza, 1971).

Le pied, organe musculueux ventral et turgescents, constitue un solide point d'encrage pour l'animal. Le fouissage ou la locomotion sont également assurés par le pied (Fisher *et al.*, 1987) (Fig. 3).

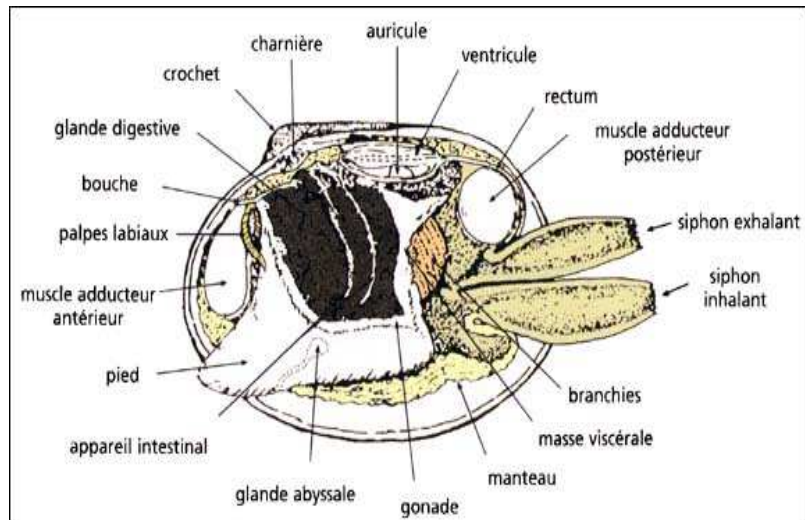


Figure 3. Anatomie générale des Bivalves.

(www.answers.com).

La classification repose sur des critères anatomiques discriminant les grands axes taxonomiques, auxquels s'ajoute la distribution géographique. La forte plasticité morphologique de ces animaux (forme et couleur de la coquille), la charnière et la structure des branchies déterminent sa classification (Bellon Humbert, 1962).

Embranchement : Mollusca
 Classe : Bivalvia
 Sous-classe : Heterodonta
 Super-ordre : Veneroidea
 Ordre : Tellinoidea
 Famille : Donacidae
 Genre : *Donax*
 Espèce : *trunculus* (Linnaeus, 1758)

2.2. Ecologie et biologie

L'aire de distribution de *D. trunculus* comprend la mer Méditerranée et la partie Nord-est de l'Atlantique entre la France et le Sénégal. En Atlantique, ce bivalve occupe essentiellement la partie intertidale des plages, alors qu'en Méditerranée, il se cantonne dans la partie superficielle de l'infralittoral (Bayed, 1998; Amouroux, 1974; Salas, 1987). Ce mollusque bivalve est un animal suspensivore, vivant dans les fonds sableux de granulométrie fine, dont la médiane est de 125 μm , et où l'hydrodynamisme est élevé. Le sédiment est soumis à de grandes variations de températures et de salinité, et bénéficie d'une oxygénation importante. *Donax trunculus* est une espèce fouisseuse qui présente une grande capacité de résistance aux variations des facteurs physico-chimiques du milieu (dans la mesure où ces variations ne sont pas trop brutales) (Gimenez, 1999).

Cette espèce présente des sexes séparés, qui peuvent se distinguer par la couleur de la gonade se trouvant au dessus du pied (Lucas, 1965) et ceci durant la période d'activité sexuelle. Les mâles présentent une gonade blanche ou jaunâtre à produits sexuels blancs et visqueux, alors que les femelles montrent une gonade d'un bleu intense à produits sexuels bleus et granuleux (Lucas, 1965; Mouëza & Frankiel-Renault, 1973). La fécondation est externe, les gamètes sont expulsées à travers le siphon exhalant. Le cycle de reproduction présente d'importantes variations en fonction de la latitude; il présente une période de repos durant l'automne et l'hiver, et une période d'activité qui débute en hiver et qui se termine en été. D'après Mouëza (1971), la période de repos de cette espèce sur la côte algéroise s'étale de novembre à janvier inclus; quand à la période d'activité, elle est comprise entre février et septembre.

Au mois de février, l'activité s'installe plus au moins tôt, ensuite il se produit une augmentation progressive et continue de la population sexuée jusqu'en août (sexualisation maximale, 96 % de la population). En septembre, il se produit une chute brutale du pourcentage des individus sexués (15 %). La période de ponte se déroule en été, en même temps que la gamétogenèse, et prend fin en automne avec la régression des gonades (Mouëza & Frankiel-Renault, 1973; Ansell *et al.*, 1980) (Fig. 4).

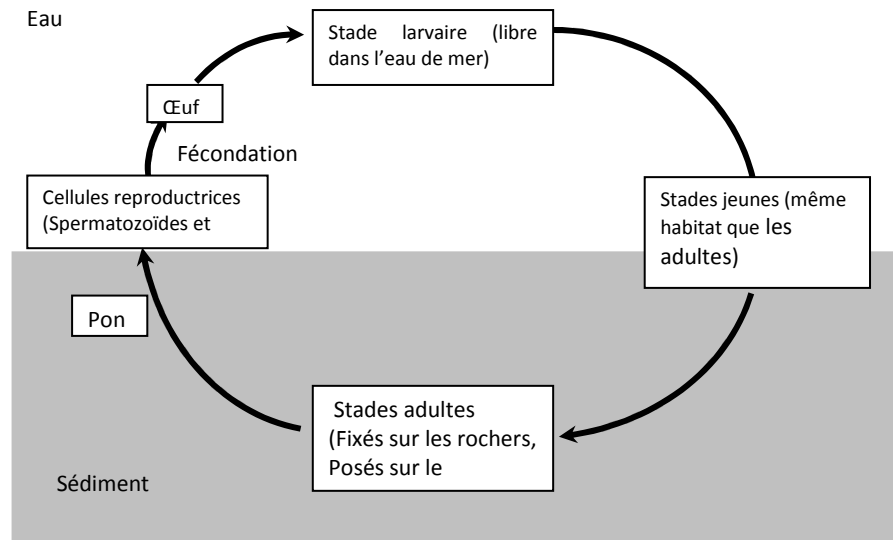


Figure 4. Cycle biologique des Bivalves.

(www.google.F/image).

Donax trunculus est un animal adapté à un fouissage rapide et peu profond en milieu sableux plus au moins agité (Degioanni & Mouëza, 1972), là où l'hydrodynamisme favorise la présence des particules en suspension, empêchant la sédimentation rapide de la matière organique.

Il se nourrit de la matière organique en suspension dans l'eau (Mouëza & chessel, 1976; Wade, 1964). Il absorbe les particules fines en suspension (suspensivore) ou récolte celles déposées sur le sédiment grâce à son siphon allongé (dépositivore). Il assure ces échanges avec le milieu, par une circulation constante d'eau à travers la cavité palléale, l'eau véhiculant nourriture et oxygène. C'est ainsi que les principales fonctions (nutrition, respiration et excrétion) dépendent de l'importance du courant et des caractéristiques de l'eau qui traverse le coquillage. La respiration, déterminée par la teneur en oxygène de l'eau, doit être régulièrement assurée, d'autant que cette espèce est fouisseuse et qu'elle supporte mal l'exondation. Ce taxon connaît peu de prédateurs et de parasites, et possède une faune associée assez pauvre : nacres, coques et autre espèces de Tellines (Gimemez, 1999).

2.3. Application des xénobiotiques

2.3.1. Présentation du malathion et du cadmium

Le malathion est un composé organophosphoré avec une masse molaire de 330,36 g/mole, un point de fusion de 2,85 °C et une masse volumique de 1,23 g/ml à 25 °C (Tomlin, 1997). Relativement stable en milieu neutre, il se décompose en milieu acide ou alcalin, incompatible avec les oxydants puissants, le magnésium et les pesticides alcalins (Tableau 1, Fig. 5). Il commence à se décomposer à 49 °C et se décompose explosivement au dessus de 100 °C, de plus il corrode les métaux et attaque certains plastiques, caoutchoucs et revêtements (Dally *et al.*, 1976; Curtes *et al.*, 1981; Dally *et al.*, 1983; Fournier *et al.*, 1983; Philbert *et al.*, 1985).

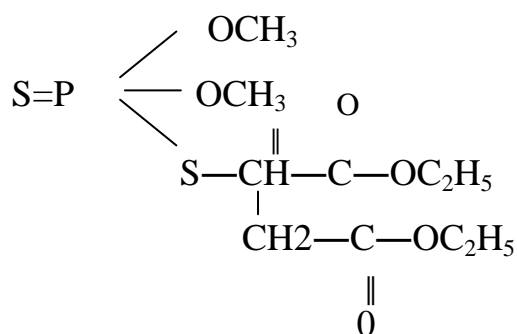
Le malathion est peu persistant dans le sol, avec une demi-vie de 4 à 25 jours. Sa dégradation est rapide. Le principal métabolite issu de la biodégradation est le malathion sous forme d'acide carboxylique en β du groupe phosphorodithioate (HSDB, 1998).

Dans l'eau, il est modérément adsorbé par les sédiments. Sa demi-vie par hydrolyse est de 0,2 semaine à pH 8 et de 21 semaines à pH 6. Les sous-produits d'hydrolyse sont le malaaxon, le malathion sous forme d'acide carboxylique en α ou en β du groupe phosphorodithioate, le *S*-hydrogénophosphorodithioate de *O,O*-diméthyle, le fumarate de diéthyle, le thiomalate de diéthyle et le *S*-hydrogéo-phosphorothioate de *O,O*-diméthyle. La volatilisation n'est pas un processus important (HSDB, 1998).

Dans l'atmosphère, le malathion est sujet à la photolyse directe. Sa demi-vie est estimée à 1,5 jour (HSDB, 1998).

Tableau 1: Fiche technique du malathion.

Nom chimique	Phosphorodithioate de S-[1,2-bis (éthoxycarbonyl) éthyle] Et de 0,0-diméthyle.
Noms commerciaux	Riddex Cythion (Kemsan), Malathion 500 (United agri Products), Gardex (Gardex chemicals), Fyfanon® ULV (cheminova)
Type de pesticide	Acaricide et insecticide
Groupe chimique	Thiophosphates
Formule chimique	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂

**Figure 5.** Structure chimique du malathion.

Le cadmium est un élément métallique de symbole Cd (PM = 112,40), blanc brillant, malléable et ductile. Il est naturellement présent à l'état de traces dans les roches superficielles de l'écorce terrestre. Il y a deux origines principales de présence de cadmium.

- Le cadmium primaire est principalement associé au zinc dans les minerais de zinc (blende) (0,01 à 0,05 %) et également présent dans les minerais de plomb, de cuivre, ainsi que dans les phosphates naturels.
- Le cadmium secondaire est produit par recyclage.

Le cadmium a une grande résistance à la corrosion; son point de fusion est bas, il a une bonne conductivité de l'électricité; ses produits dérivés ont une bonne résistance aux fortes températures; il présente des caractéristiques chimiques proches de celles du calcium, facilitant ainsi sa pénétration dans les organismes (Borchardt, 1985). En zone côtière, lors du mélange des eaux douces avec l'eau de mer, le cadmium forme des complexes très stables

avec les chlorures: les chloro-complexes (CdCl_2 , CdCl , CdCl_3^- et CdCl_4^{2-}). Pour des salinités faibles, c'est la forme CdCl qui domine, alors qu'en milieu marin, c'est CdCl_2 qui est majoritaire (Cossa & Lassus, 1989). Les usages de cadmium se situent principalement en électricité (accumulateurs), en électronique, en métallurgie et dans l'industrie des matières plastiques (Ramade, 1992).

2.3.2. Concentration et traitement

Les expériences ont été réalisées au mois de juillet 2008. Le sable, l'eau de mer et les organismes utilisés proviennent du site El-Battah. Le fond des aquariums a été rempli de 15 cm de sable, 20 L d'eau de mer (température 25 °C, salinité 34,5 g /l, pH 8,28, conductivité 2,02 μS) et 100 individus par aquarium.

Le malathion est additionné à quatre concentrations: 50, 100, 150 et 300 $\mu\text{g/l}$ (Damiens *et al.*, 2004).

Le cadmium (Cd) a été utilisé sous forme de CdCl_2 (chlorure de cadmium) à différentes concentrations: 7,6; 10 et 15 ppm (Neuberger- Lywiak *et al.*, 2003).

Dans un premier temps, les séries d'expérience, visent à déterminer la CL50 et la CL90 à partir des valeurs observées de la mortalité chez les traités par le malathion et le cadmium à différentes concentrations. Puis on a évalué l'effet du malathion et du cadmium sur le taux de glutathion et les activités enzymatiques de l'acétylcholinestérase et la glutathion S-transférase après 12^h et 24^h d'exposition.

2.4. Etude toxicologique

Le but de cette étude est d'estimer la concentration létale 50 (CL50) et la concentration létale 90 (CL90) du malathion et du cadmium à l'égard de *D. trunculus*.

. Mortalité observée

Le pourcentage de mortalité observée chez les bivalves traités par l'insecticide et le métal lourd à différentes concentrations ainsi que les témoins est déterminé selon la formule suivante:

$$\text{Mortalité observée} = \frac{\text{Nombre de bivalves morts après traitement}}{\text{Nombre total de bivalves traités}} \times 100$$

. Mortalité corrigée

Le pourcentage de mortalité observée est corrigé par la formule d'Abbott (1925) qui permet d'éliminer la mortalité naturelle.

$$\text{Mortalité corrigée} = \frac{\text{Mortalité observée chez les traités} - \text{Mortalité observée chez les témoins}}{100 - \text{Mortalité observée chez les témoins}} \times 100$$

. Transformation angulaire

Les pourcentages de mortalité corrigée subissent une transformation angulaire selon Bliss, cité par Fisher & Yates (1957). Les données normalisées font l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification; suivie par le classement des concentrations par le test de Tuckey.

. Analyse des probits

Les pourcentages de mortalité corrigée subissent une transformation en probits (Fisher & Yates, 1957). Le logarithme décimal des concentrations en fonction des probits nous permettent de déterminer la droite de régression à partir de laquelle les CL50 et CL90 sont estimées (Finney, 1975).

. Intervalle de confiance

La méthode de Swaroop (1966) précise l'intervalle de confiance (IC) avec une probabilité de 95 %:

- Limite supérieure = CL50 x FCL50
- Limite inférieure = CL50 / FCL50

Aussi deux paramètres sont nécessaires:

- Le 1^{er} paramètre est le S (Slope), donné par la formule suivante:

$$S = \frac{CL84 / CL50 + CL50 / CL16}{2}$$

- Le 2^{ème} paramètre est la FCL50 donné par la formule suivante:

$$FCL50 = \text{Anti log } C$$

$$C = \log S \times 2, 77/\sqrt{N}$$

S: Slope

N : Nombre total des bivalves testés.

2.5. Présentation des sites de prélèvement:

Le golfe d'Annaba est situé à l'extrême Nord Est du littoral algérien, limité par le cap Rosa (8°15' LE et 36° 58' LN) à l'Est, et par le cap de Garde (7° 16' LE et 36° 58' LN) à l'Ouest (Fig. 6), distant de 40 Km et une profondeur qui ne dépasse pas 65 m. Divers oueds se déversent dans la baie, parmi les plus importants : Le Mafrag et la Seybouse. Ces oueds apportent des matières minérales et organiques d'origines agricole et domestique (Khélifi-Touhami *et al.*, 2006), des effluents urbains (Khammar, 2007) et industrielle, en particulier les produits phytosanitaires de l'usine FERTIAL (Saker, 2007). Le prélèvement des échantillons a été effectué au niveau de deux sites : El-Battah et Sidi Salem dans lesquels le matériel biologique est abondant.

- Le premier site El-Battah (36° 50' N et 8° 50' E) se trouve à l'Ouest de l'oued Mafrag, entre la plage de Chatt et le cap Rosa. Cette zone d'étude est caractérisée par son

éloignement des sources de pollution et est soumise à un régime hydrodynamique important, ce qui contribuerait à la dilution des polluants. L'analyse granulométrique de cette zone, montre que *D. trunculus* colonise des sables moyens purs (Drardja-Beldi, 2007).

- Le second site est celui de Sidi Salem ($36^{\circ} 50' N$ et $7^{\circ}47'E$) ; il se trouve du coté Est de l'oued Seybouse, endroit caractérisé par la présence de lents tourbillons qui s'étendent au Sud et au Sud-est du port. Il est caractérisé par son exposition à plusieurs sources de pollution, en plus des rejets de l'usine FERTIAL spécialisée dans la production de fertilisants et de produits phytosanitaires. La population de *D. trunculus* de ce site occuperait un fond de sable fin selon Drardja-Beldi. (2007).



Figure 6. Position géographique des deux sites d'étude dans le golfe d'Annaba: El Battah et Sidi Salem.

2.6. Paramètres physico-chimiques

La qualité du milieu a été évaluée par la mesure de paramètres physico-chimiques de l'eau ($T^{\circ}C$, pH, Salinité) à l'aide d'un multiparamètre CONSORT C 535 (Fig. 7) et ce mensuellement de septembre 2007 à août 2008.



Figure 7. Multiparamètre (CONSORT C 535).

2.7. Techniques d'échantillonnage

La méthode d'échantillonnage annuelle des gisements naturels de tellines diffèrent selon que la pêche est artisanale ou professionnelle. Les pêcheurs d'haricot de mer de la baie d'Annaba pratique une pêche artisanale; ils utilisent un râteau à main appelé « cope » ; celui-ci se compose de 4 parties essentielles: un large manche en bois (qui varie selon la taille de l'utilisateur), une poche réceptrice en arrière du râteau sous forme de sac en grillage, une tôle dentée soudée à l'armature métallique qui racle le fond et un câble d'acier fixé à la tôle. L'orientation est conduite par une seule personne à une profondeur qui varie de 0,5 à 1,5 m (Fig. 8).

La drague à tellines utilisée par les pêcheurs professionnels est constituée de grilles (tamis pour retenir les coquillages), un volet pour stocker les haricots de mer, un dispositif mécanique qui permet d'ajuster la profondeur de pénétration de la lame selon les conditions du milieu. La drague tractée à reculons par le pêcheur équipé d'un harnais, est utilisée à basse mer dans quelques dizaines de centimètres d'eau (Fig. 9).

Au fur et à mesure du développement de la pêcherie l'engin de pêche a été amélioré et très sensiblement allégé. La pêche de *D. trunculus* reste cependant une activité très physique.

L'échantillonnage effectué sur une année (de septembre 2007 à août 2008) a été réalisé aléatoirement. Une fois récolté, l'haricot de mer est ramené vivant au laboratoire dans des bacs en plastique contenant de l'eau de mer le jour même.

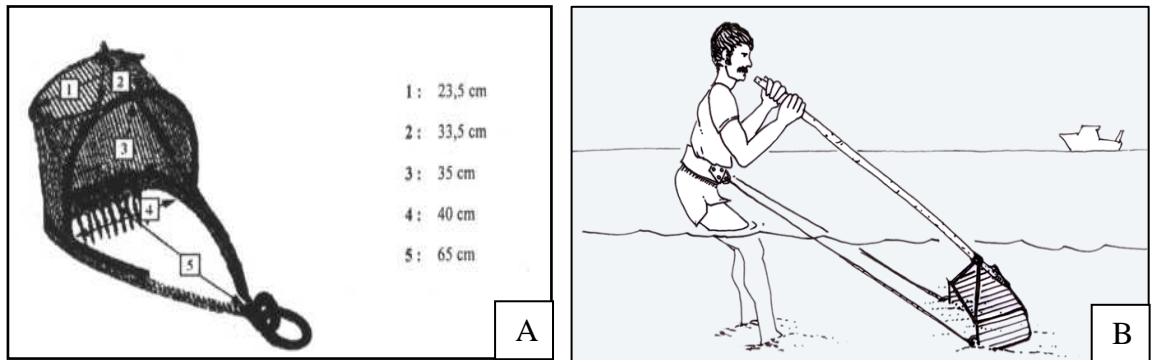


Figure 8. Engin de pêche artisanal "le cope" (A), Récolte artisanal de *D. trunculus* (B).
(www.marenritaly.it/conociamo/rete/07.gif)



Figure 9. Drague à telline réservée à la pêche professionnelle (A), drague professionnelle en condition de pêche (B).

(www.marenritaly.it/conosciano/rete/07.gif).

2.8. Biométrie de l'espèce

Des lots de 100 individus/site ont été constitués puis, les paramètres linéaires suivants ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse (précision: 1/20 mm) (Fig. 10).

- La longueur totale (L): la plus grande distance séparant le bord antérieur du bord postérieur de la coquille.
- La hauteur (H): qui va de la charnière dorsale au bord ventral.

- L'épaisseur maximale (E): la largeur maximale de la convexité des deux valves réunies.

Ces mêmes individus ont été pesés à l'aide d'une balance de précision (Sortorius H110 d'une précision de 0,1 mg) afin de déterminer, le poids total frais, le poids frais de la coquille et le poids frais de la chair.

Les mesures ont été réalisées le jour même du prélèvement pour éviter l'effet du jeûne et une émission éventuelle des gamètes dûe au stress, ces phénomènes biologiques diminuent le poids de la masse molle totale (Gaspar *et al.*, 2002).

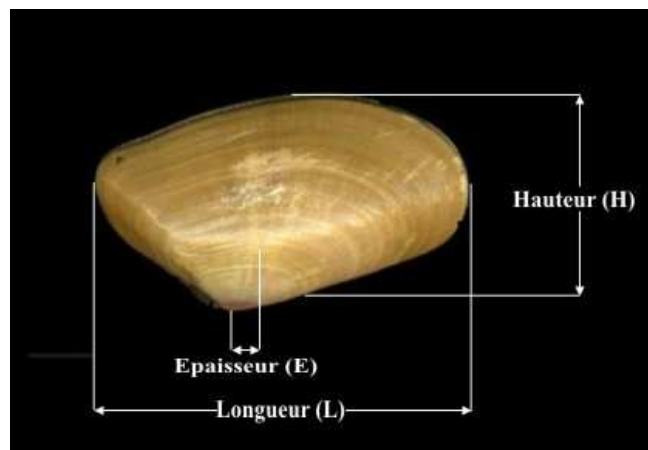


Figure 10. Paramètres biométriques mesurés pour *D. trunculus*.

2.9. Dissection et prélèvement du tissu

Les dosages biochimiques ont été effectués sur des individus vivants ayant une taille de 28 ± 1 mm (correspondant à la classe la plus fréquente rencontrée tout au long de l'année). Après dissection, le manteau est prélevé et séparé en deux parties, chaque partie étant destinée à un dosage (Fig. 11). Les fragments de tissus ont été prélevés sur des individus récoltés mensuellement au niveau des deux sites pendant une année et sur les organismes traités avec le malathion et le cadmium.

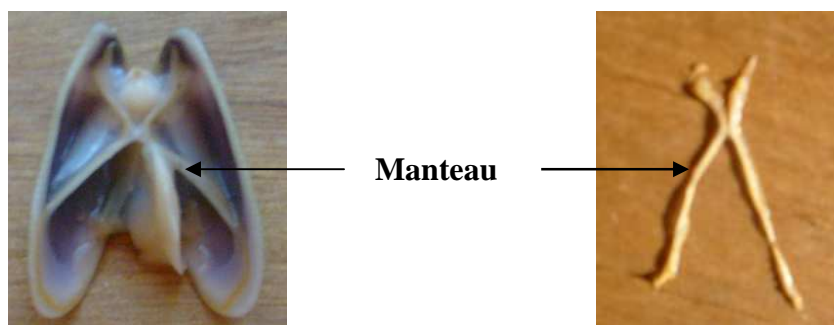


Figure 11. Prélèvement du manteau chez *D. trunculus*.

2.10. Analyses biochimiques

2.10.1. Taux de glutathion

Le glutathion est dosé selon la méthode de Weckberker & Cory (1988) qui est basée sur l'absorbance de l'acide 2 - nitro 5 - mercapturique, résultant de la réduction de l'acide 5-5`-dithio- bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman) par les groupements thiol (-SH) du glutathion. Le manteau de *D. trunculus* est homogénéisé dans 1 ml d'une solution EDTA (acide éthylène diamine tétra acétique) à 0,02 M (7,4448 g EDTA et 1000 ml d'eau distillée) à l'aide des ultrasons (Soni fer B-30). Afin de protéger les groupements thiols du glutathion, l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalysilique (ASS) 0,25% (0,25 g ASS, 100 ml d'eau distillée); 0,8 ml de l'homogénat sont additionnés à 0,2 ml d'acide sulfosalysilique, le mélange est vortexé et laissé pendant 15 min dans un bain de glace, puis centrifugé (1000 tours/mn pendant 5 min). Le surnageant est utilisé pour la mesure de la concentration du glutathion selon les étapes suivantes:

- Prélever 0,5 ml du surnageant et 0,5 ml d'eau distillée pour le blanc.
- Ajouter 1 ml du tampon tris-EDTA (0,02 M; pH 9,6) [63,04 g tris; 7,4448 g EDTA et 1000 ml d'eau distillée].
- Ajouter 0,025 ml de DTNB (0,01M) [3,96 g DTNB, 1000 ml méthanol absolu].
- Laisser le mélange pendant 5 min à température ambiante.
- Mesurer la densité optique par un spectrophotomètre UV (SHIMADZU-UV-1202) à une longueur d'onde de 412 nm.

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante:

$$\text{Taux du GSH} \quad (\mu\text{M/mg de protéines}) = \frac{\text{Do} \times 1 \times 1,525}{13,1 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg de protéines}}$$

DO: Densité optique.

1: Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat).

1,525: Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH (0,025 ml DTNB + 0,5 ml surnageant + 1 ml tris-EDTA).

13,1: Coefficient d'absorbance (concernant le groupement thiol (-SH) du GSH).

0,8: Volume de l'homogénat utilisé en ml.

0,5: Volume du surnageant utilisé en ml.

mg de protéines: Quantité de protéines exprimée en mg.

2.10.2. Activité 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 est celle de Habig *et al.* (1974) qui 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:

$$\text{GST } (\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta\text{DO} \times \text{Vt}}{9,6 \times \text{Vs} \times \text{d} \times \text{mg de protéines}}$$

ΔDO: Densité optique.

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

9,6: Coefficient d'extinction du mélange (GSH-CDNB) à 340 nm.

Vs: Volume du surnageant utilisé dans le dosage (0,2 ml).

d: Epaisseur de la cuve (1 cm).

mg de protéines: Quantité de protéines exprimée en mg.

2.10.3. Activité de l'acétylcholinestérase

La méthode de dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) la plus courante est celle d'Ellman *et al.*, (1961) modifiée par Habes *et al.*, (2006). 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 acétique. La quantité de thiocholine obtenue est proportionnelle à l'activité enzymatique; on la révèle grâce à une méthode colorimétrique faisant intervenir un ion (le

dithiobisnitrobenzoate ou DTNB) qui se lie avec la thiocholine pour former un complexe de couleur jaune que l'on dose à 412 nm.

Les échantillons sont homogénéisés pendant quelques secondes dans 1 ml de solution détergente (38,03 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 dans une cuve remplie de glace puis centrifugés à 9000 tours/mn pendant 5 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:

$$\text{AChE (nM/min/mg de protéines)} = \frac{\Delta\text{DO} \times V_t}{1,36 \times V_s \times \text{mg de protéines}}$$

ΔDO: Densité optique.

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

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

1,36: Coefficient d'extinction (concernant le DTNB à 412 nm).

mg de protéines: Quantité de protéines exprimée en mg.

2.10.4. Extraction et dosage des protéines

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976) sur une fraction aliquote de 0,1 ml 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, Merk), 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 bœuf (BSA) comme standard (1mg / 1ml) selon les indications ci-dessous:

Tableau 2: Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.

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

2.11. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne (\pm l'écart type). L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel MINITAB version 13,31 Fr (Windowsx, 2000) disponible au laboratoire de Biologie Animale Appliquée. Différents tests ont été utilisés: les moyennes des différents dosages effectués, pour les séries témoins et traitées ainsi que pour les deux sites étudiés, ont été comparées deux à deux en utilisant le test "t" de Student. Les résultats obtenus, ont fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à deux critères de classification (traitement, temps) pour les séries traitées et témoins ainsi que (site, mois) pour la mise en évidence des effets site, mois et interaction site/mois.

3. RÉSULTATS

3.1. Toxicité au laboratoire du malathion et du cadmium sur *D. trunculus*

3.1.1. Bioessai des xénobiotiques

. Effet du malathion sur le taux de mortalité de *D. trunculus* après 12h d'exposition

Après traitement avec le malathion à différentes concentrations (50, 100, 150, 300 µg/l) sur *D. trunculus*, nous avons mentionné dans le tableau 3 le taux observé de mortalité, elle est de l'ordre de $2,66 \pm 0,94$ % chez les séries témoins et augmente chez les séries traitées jusqu'à $59,33 \pm 3,09$ % de mortalité à 300 µg/l.

Tableau 3 : Toxicité du malathion (µg/l) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 12h d'exposition: mortalité observée (%) ($m \pm s$; n=3 répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations Répétitions	Témoins	50	100	150	300
R₁	4	5	8	32	55
R₂	2	6	11	40	62
R₃	2	4	10	34	61
m ± s	$2,66 \pm 0,94$	$5,0 \pm 0,81$	$9,66 \pm 1,24$	$35,33 \pm 3,39$	$59,33 \pm 3,09$

Les mortalités observées sont corrigées par la formule d'Abbott (1925) qui montre l'effet réel des différentes concentrations; les taux corrigés sont représentés dans le tableau 4. L'insecticide manifeste une toxicité avec une relation concentration-réponse.

Tableau 4: Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 12h d'exposition: mortalité corrigée (%) ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations Répétitions	50	100	150	300
R₁	1,04	4,16	29,16	53,12
R₂	4,08	9,18	38,77	61,22
R₃	2,04	8,16	32,65	60,20
m \pm s	2,38 \pm 1,26	7,16 \pm 2,16	33,52 \pm 3,97	58,18 \pm 3,60

Les taux corrigés subissent une transformation angulaire (Tableau 5) et font l'objet d'une analyse de la variance à un seul critère de classification (Tableau 6). Les résultats indiquent qu'il existe un effet concentration hautement significative ($p < 0,001$). Le classement des concentrations par le test de Tuckey donne quatre groupes : le premier renferme la concentration 50 $\mu\text{g/l}$. Le second groupe renferme la concentration 100 $\mu\text{g/l}$, le troisième 150 $\mu\text{g/l}$ et le quatrième la concentration 300 $\mu\text{g/l}$ (Tableau 7, Fig. 12).

Tableau 5: Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 12h d'exposition: transformation angulaire ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations Répétitions	50	100	150	300
R₁	5,74	11,54	32,58	46,72
R₂	11,54	17,46	38,06	51,35
R₃	8,13	16,43	34,45	50,77
m \pm s	8,47 \pm 2,38	15,14 \pm 2,58	35,03 \pm 2,27	49,61 \pm 2,05

Tableau 6: Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. tunculus* après 12h d'exposition: analyse de la variance à un critère de classification ($m \pm s$, $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Factorielle	3	3179,3	1059,8	129,94	0,000***
Résiduelle	8	65,2	8,2		
Totale	11	3244,6			

Tableau 7: Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 12h d'exposition: classement des concentrations ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations	Mortalités corrigées	Mortalités transformées	Classement
50	$2,38 \pm 1,26$	$8,47 \pm 2,38$	A
100	$7,16 \pm 2,16$	$15,14 \pm 2,58$	B
150	$33,52 \pm 3,97$	$35,03 \pm 2,27$	C
300	$58,18 \pm 3,60$	$49,61 \pm 2,05$	D

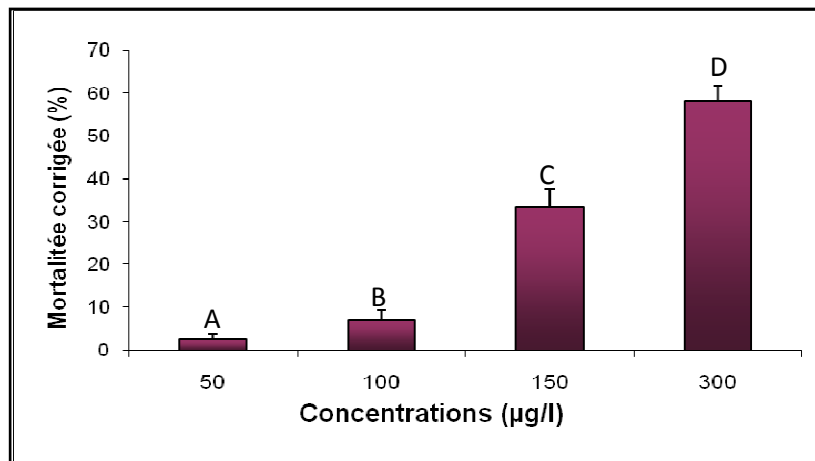


Figure12. Toxicité du malathion après 12h d'exposition de *D. trunculus* et classement des concentrations .

L'équation de la droite de régression exprimant le probit des pourcentages de mortalité corrigée (Tableau 8) en fonction du logarithme décimal des concentrations (Tableau 9) avec un coefficient de détermination $R^2 = 0,921$, révèle une très forte liaison positive entre les probits et le logarithme décimal des concentrations. Les concentrations létales CL50 et CL90, déterminées à partir de la droite de régression sont respectivement 247,74 $\mu\text{g/l}$ et 669,74 $\mu\text{g/l}$ (Tableau 10, 11, Fig. 13).

Tableau 8: Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 12h d'exposition: transformation en probits des mortalités corrigées ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations	50	100	150	300
Mortalités corrigées	2,38	7,16	33,52	58,18
Probits	3,00	3,53	4,57	5,20

Tableau 9: Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 12h d'exposition: transformation des concentrations ($\mu\text{g/l}$) en logarithmes décimaux des concentrations ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations	50	100	150	300
Log concentrations	1,69	2	2,17	2,47

Tableau 10: Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 12h d'exposition: analyse des probits de la CL50.

Traitements	Droite de régression	Slope	CL50	I C
Malathion	$Y = 2,96X - 2,09$	2,16	247,74	(167,16 – 367,15)

Tableau 11: Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 12h d'exposition: analyse des probits de la CL90.

Traitements	Droite de régression	Slope	CL90	I C
Malathion	$Y = 2,96X - 2,09$	3,32	669,74	(365,77 – 1226,29)

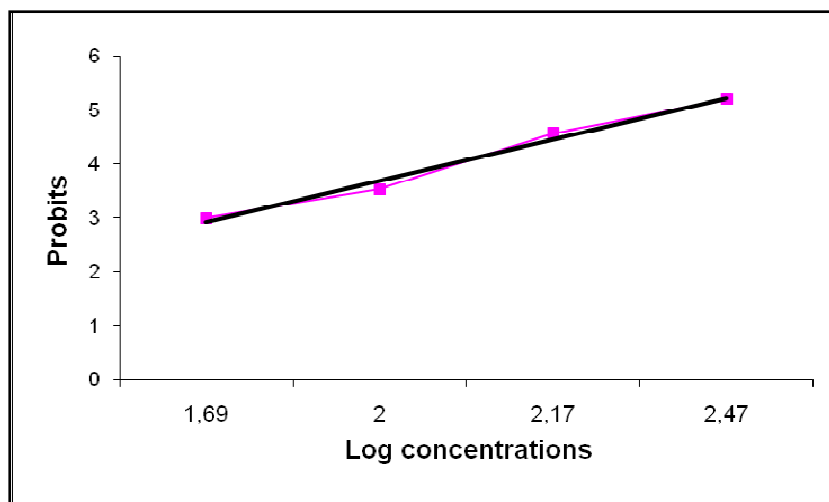


Figure 13. Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) après 12h d'exposition de *D. trunculus*.

- **Effet du malathion sur le taux de mortalité de *Donax trunculus* après 24h d'exposition**

Le taux observé de mortalité chez *D. trunculus* traité avec quatre concentrations (50, 100, 150, 300 $\mu\text{g/l}$), est de l'ordre de $10,0 \pm 1,63$ % chez les séries témoins et augmente chez les séries traitées à plus de 90 % (Tableau 12).

Tableau 12: Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition : mortalité observée (%) ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations Répétitions	Témoins	50	100	150	300
R₁	12	51	65	81	90
R₂	8	58	73	82	98
R₃	10	56	69	84	93
m \pm s	10,0 \pm 1,63	55 \pm 2,94	69,0 \pm 3,26	82,33 \pm 1,24	93,66 \pm 4,24

Les mortalités corrigées par la formule d'Abbott (1925) sont notées dans le tableau 13 avec un pourcentage de $49,92 \pm 4,18\%$ à faible concentration ($50 \mu\text{g/l}$) et augmente à plus de 90 % avec la concentration la plus élevée ($300 \mu\text{g/l}$).

Tableau 13: Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: mortalité corrigée (%) ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations Répétitions	50	100	150	300
R₁	44,31	60,22	78,40	88,63
R₂	54,34	70,65	80,43	97,82
R₃	51,11	65,55	82,22	92,22
m \pm s	49,92 \pm 4,18	65,47 \pm 4,25	80,35 \pm 1,56	92,89 \pm 3,78

Après transformation angulaire (Tableau 14) les données subissent une analyse de la variance à un seul critère de classification (Tableau 15). L'analyse statistique des données révèle des effets concentrations hautement significatives ($p < 0,001$). Le classement par le test de Tuckey des concentrations donne quatre groupes: le premier renferme la concentration 50

$\mu\text{g/l}$, Le second la concentration 100 $\mu\text{g/l}$, le troisième 150 $\mu\text{g/l}$ et le quatrième 300 $\mu\text{g/l}$ (Tableau 16, Fig. 14).

Tableau 14: Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: transformation angulaire ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations Répétitions	50	100	150	300
R ₁	41,55	50,77	62,03	69,73
R ₂	47,29	56,79	63,43	80,03
R ₃	45,57	53,73	64,90	73,57
m \pm s	44,80 \pm 2,40	53,76 \pm 2,45	63,45 \pm 1,17	74,44 \pm 4,25

Tableau 15: Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: analyse de la variance à un critère de classification ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Factorielle	3	1461,73	487,24	41,56	0,000***
Résiduelle	8	93,79	11,72		
Totale	11	1555,51			

Tableau 16: Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: classement des concentrations ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations	Mortalités corrigées	Mortalités transformées	Classement
50	49,92 \pm 4,18	44,80 \pm 2,40	A
100	65,47 \pm 4,25	53,76 \pm 2,45	B
150	80,35 \pm 1,56	63,45 \pm 1,17	C
300	92,89 \pm 3,78	74,44 \pm 4,25	D

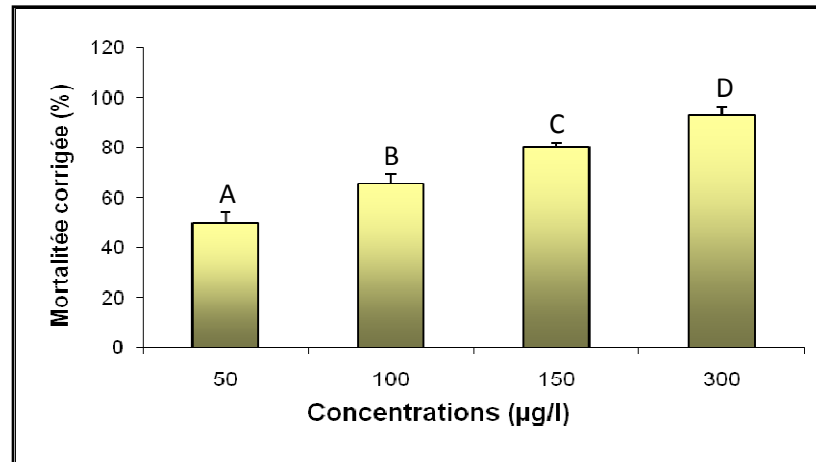


Figure14. Toxicité du malathion après 24h d'exposition de *D. trunculus* et classement des concentrations .

L'équation de la droite de régression du probit des pourcentages de mortalité corrigée (Tableau 17) en fonction du logarithme décimal des concentrations (Tableau 18) avec un coefficient de détermination $R^2 = 0,972$, révèle une forte liaison entre les probits et le logarithme décimal des concentrations testées. Les concentrations 50 (CL50) et 90 (CL90), déterminées à partir de la droite de régression sont respectivement de 53,57 µg/l et 250,61 µg/l (Tableau 19, 20, Fig. 15).

Tableau 17: Toxicité du malathion (µg/l) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: transformation en probits des mortalités corrigées ($m \pm s$; $n=3$ répétition comportant chacune 100 individus).

Concentrations	50	100	150	300
Mortalités corrigées	49,92	65,47	80,35	92,89
Probits	4,997	5,396	5,852	6,461

Tableau 18: Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: transformation des concentrations ($\mu\text{g/l}$) en logarithmes décimaux des concentrations ($m \pm s$; $n=3$ répétition comportant chacune 100 individus).

Concentrations	50	100	150	300
Log concentrations	1,69	2	2,17	2,47

Tableau 19: Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) après une exposition de 24h de *Donax trunculus* : analyse des probits de la CL50.

Traitements	Droite de régression	Slope	CL50	I C
Malathion	$Y = 1,91X + 1,69$	3,31	53,57	(29,43 – 97,49)

Tableau 20 : Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) après une exposition de 24h de *Donax trunculus* : analyse des probits de la CL90.

Traitements	Droite de régression	Slope	CL90	I C
Malathion	$Y = 1,91X + 1,69$	8,11	250,61	(57,47 – 1092,65)

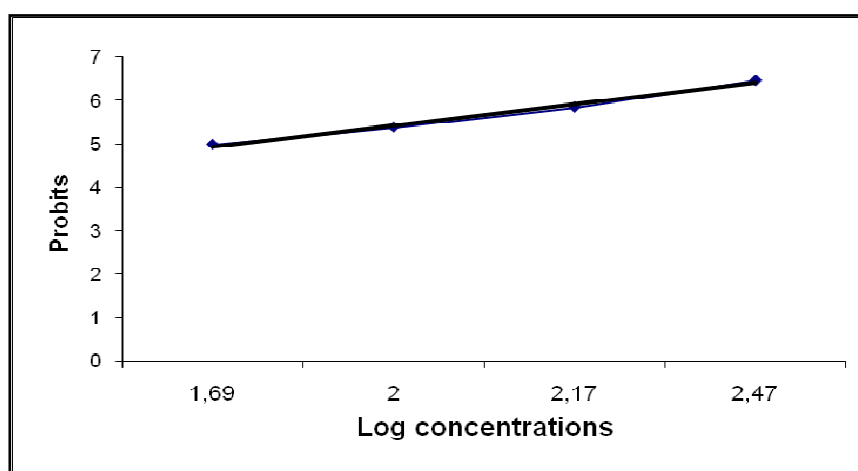


Figure 15. Toxicité du malathion ($\mu\text{g/l}$) après 24h d'exposition de *D. trunculus*.

• **Effets du cadmium sur le taux de mortalité de *Donax trunculus* après 12h d'exposition**

Après traitement avec le cadmium à différentes concentrations (7,6 – 10 - 15 ppm), nous avons mentionné dans le tableau 21 le taux observé de mortalité, il est de l'ordre de $2,66 \pm 0,94$ % chez les séries témoins et augmente chez les séries traitées jusqu'à $69,33 \pm 2,86$ % pour la concentration la plus élevée (15 ppm).

Tableau 21: Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 12h d'exposition : mortalité observée (%) ($m \pm s$; n=3 répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations Répétitions	Témoins	7,6	10	15
R ₁	4	12	48	66
R ₂	2	20	47	69
R ₃	2	17	42	73
m ± s	2,66 ± 0,94	16,33 ± 3,29	45,66 ± 2,62	69,33 ± 2,86

Les mortalités observées sont corrigées par la formule d'Abbott (1925) qui montre l'effet réel des différentes concentrations (Tableau 22).

Tableau 22: Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 12h d'exposition: mortalité corrigée (%) ($m \pm s$; n=3 répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations Répétitions	7,6	10	15
R ₁	8,33	45,83	64,58
R ₂	18,36	45,91	68,36
R ₃	15,30	40,81	72,44
m ± s	13,99 ± 4,19	44,18 ± 2,38	68,46 ± 3,20

Les taux corrigés subissent une transformation angulaire (Tableau 23) et font l'objet d'une analyse de la variance à un seul critère de classification (Tableau 24). Les résultats indiquent qu'il existe un effet concentration hautement significative ($p \leq 0,001$). Le classement des concentrations par le test de Tuckey révèle trois groupes: le premier (A) renferme la concentration 7,6 ppm, le second groupe (B) renferme la concentration 10 ppm et le troisième (C) la concentration 15 ppm (Tableau 25, Fig. 16).

Tableau 23: : Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 12h d'exposition: transformation angulaire ($m \pm s$; n=3 répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations Répétitions	7,6	10	15
R₁	16,43	42,13	53,13
R₂	25,50	42,13	55,55
R₃	22,79	39,23	58,05
m ± s	21,57 ± ,80	41,16 ± 1,36	55,57 ± 2,00

Tableau 24: : Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 12h d'exposition: analyse de la variance à un critère de classification ($m \pm s$; n=3 répétitions comportant chacune 100 individus).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Factorielle	2	1747,74	873,87	85,86	0,000***
Résiduelle	6	61,06	10,18		
Totale	8	1808,80			

Tableau 25: Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 12h d'exposition: classement des concentrations ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations	Mortalités corrigées	Mortalités transformées	Classement
7,6	13,99 \pm 4,19	21,57 \pm 3,80	A
10	44,18 \pm 2,38	41,16 \pm 1,36	B
15	68,46 \pm 3,20	55,57 \pm 2,00	C

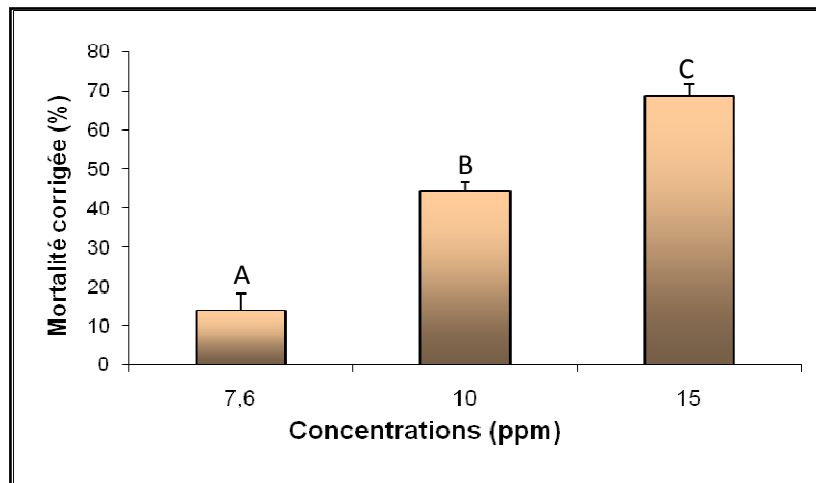


Figure16. Toxicité du cadmium après 12h d'exposition de *D. trunculus* et classement des concentrations .

L'équation de la droite de régression exprimant le probit des pourcentages de mortalité corrigée (Tableau 26) en fonction du logarithme décimal des concentrations (Tableau 27) avec un coefficient de détermination $R^2 = 0.911$, révèle une très forte liaison positive entre les probits et le logarithme décimal des concentrations. Les concentrations 50 (CL50) et 90 (CL90), déterminées à partir de la droite de régression sont : 11,59 ppm et 20,27 ppm (Tableau 28, 29, Fig. 17).

Tableau 26: Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 12h d'exposition: transformation en probits des mortalités corrigées ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentraions	7,6	10	15
Mortalité corrigée	13,99	44,18	68,46
Probits	3,91	4,85	5,47

Tableau 27: Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. tunculus* après 12h d'exposition: transformation des concentrations (ppm) en logarithmes décimaux des concentrations ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations	7,6	10	15
Log concentrations	0,88	1	1,17

Tableau 28: Toxicité du cadmium (ppm) après une exposition de 12h de *Donax trunculus*: analyse des probits de la CL50.

Traitements	Droite de régression	Slope	CL50	I C
Cadmium	$Y = 5,27X - 0,61$	1,54	11,59	(8,77 – 15,31)

Tableau 29: Toxicité du cadmium (ppm) après une exposition de 12h de *Donax trunculus*: analyse des probits de la CL90.

Traitements	Droite de régression	Slope	CL90	I C
Cadmium	$Y = 5,27 - 0,61$	1,79	20,27	(14,64 – 28,05)

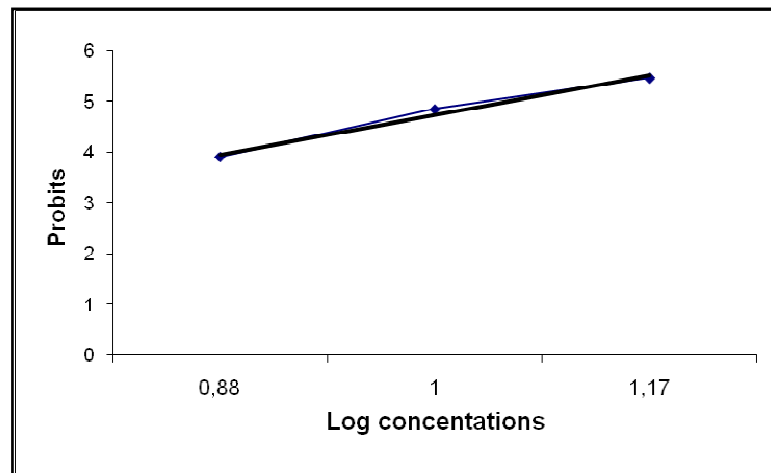


Figure 17. Toxicité du cadmium (ppm) après 12h d'exposition de *D. trunculus*.

- **Effets du cadmium sur le taux de mortalité de *Donax trunculus* après 24h d'exposition**

Le cadmium a été appliqué à différentes concentrations (7,6 – 10 - 15 ppm). Le taux de mortalité observée est mentionnée dans le tableau 30 avec des taux variant de $42,66 \pm 3,39$ % (7,6 ppm) à plus de 90 % (15 ppm).

Tableau 30: Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition : mortalité observée (%) ($m \pm s$; n=3 répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations Répétitions	Témoins	7,6	10	15
R₁	12	38	62	90
R₂	8	46	65	99
R₃	10	44	57	90
m ± s	$10,0 \pm 1,63$	$42,66 \pm 3,39$	$61,33 \pm 3,29$	$93,0 \pm 4,24$

Les mortalités observées sont corrigées par la formule d'Abbott (1925), elles varient de $36,20 \pm 4,92$ % pour 7,6 ppm (faible dose) à $92,14 \pm 4,78$ % pour 15 ppm (concentration la plus élevée). les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 31.

Tableau 31: Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: mortalité corrigée (%) ($m \pm s$; n=3 répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations Répétitions	7,6	10	15
R ₁	29,54	56,81	88,63
R ₂	41,30	61,95	98,91
R ₃	37,77	52,22	88,88
m ± s	$36,20 \pm 4,92$	$56,99 \pm 3,97$	$92,14 \pm 4,78$

Après transformation angulaire (Tableau 32) des mortalités corrigées; l'analyse statistique des données (Tableau 33) révèle un effet concentration hautement significatif ($p \leq 0,001$). Le classement par le test de Tuckey des concentrations testé donne trois groupes: le groupe (A) renferme la concentration 7, 6 ppm, le groupe (B) renferme la concentration 10 ppm et le groupe (C) la concentration 15 ppm (Tableau 34, Fig. 18).

Tableau 32: Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: transformation angulaire ($m \pm s$; n=3 répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations Répétitions	7,6	10	15
R ₁	32,58	48,45	69,73
R ₂	39,82	51,35	81,87
R ₃	37,46	46,15	69,73
m ± s	$36,62 \pm 3,01$	$48,65 \pm 2,12$	$73,77 \pm 5,72$

Tableau 33: Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: analyse de la variance à un critère de classification ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Factorielle	2	2156,7	1078,3	46,51	0,000***
Résiduelle	6	139,1	23,2		
Totale	8	2295,8			

Tableau 34: Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: classement des concentrations ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations	Mortalités corrigées	Mortalités transformées	Classement
7,6	$36,20 \pm 4,92$	$36,62 \pm 3,01$	A
10	$56,99 \pm 3,97$	$48,65 \pm 2,12$	B
15	$92,14 \pm 4,78$	$73,77 \pm 5,72$	C

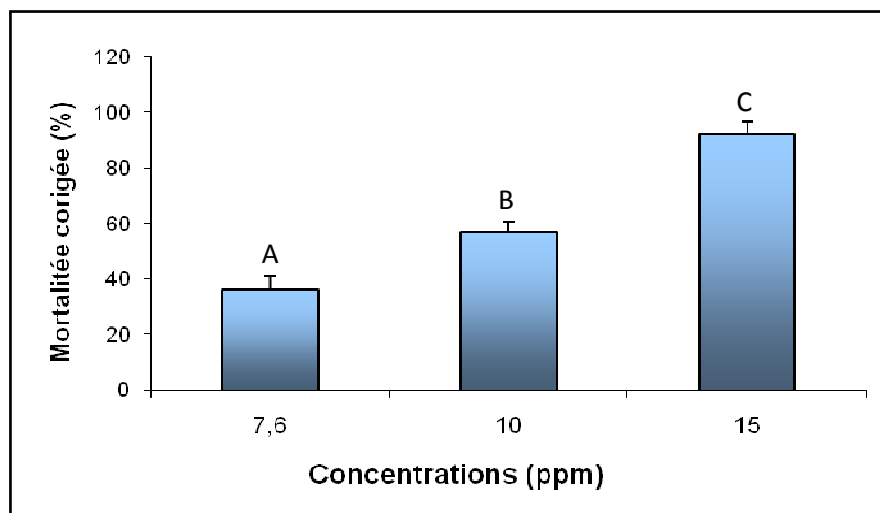


Figure 18. Toxicité du cadmium après 24h d'exposition de *D. trunculus* et classement des concentrations .

L'équation de la droite de régression exprimant le probit des pourcentages de mortalité corrigée (Tableau 35) en fonction du logarithme décimal des concentrations (Tableau 36) avec un coefficient de détermination $R^2 = 0.967$ révèle une liaison positive très forte entre les probits et le logarithme décimal des concentrations. Les concentrations 50 (CL50) et 90 (CL90), déterminées à partir de la droite de régression sont respectivement: 8,91 ppm et 14,37 ppm (Tableau 37, 38, Fig. 19).

Tableau 35: Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: transformation en probits des mortalités corrigées ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations	7,6	10	15
Mortalités corrigées	36,20	56,99	92,14
Probits	4,646	5,173	6,411

Tableau 36: Toxicité du cadmium (ppm) administré à différentes concentrations à l'égard de *D. trunculus* après 24h d'exposition: transformation des concentrations (ppm) en logarithmes décimaux des concentrations ($m \pm s$; $n=3$ répétitions comportant chacune 100 individus).

Concentrations	7,6	10	15
Log concentrations	0,88	1	1,17

Tableau 37: Toxicité du cadmium (ppm) après une exposition de 24h de *D. trunculus*: analyse des probits de la CL50.

Traitements	Droite de régression	Slope	CL50	I C
Cadmium	$Y = 6,16X - 0,85$	1,44	8,91	(6,85 – 11,58)

Tableau 38: Toxicité du cadmium (ppm) après une exposition de 24h de *D. trunculus* : analyse des probits de la CL90.

Traitements	Droite de régression	Slope	CL90	I C
Cadmium	$Y = 6,16X - 0,85$	1,61	14,37	(10,73 – 19,24)

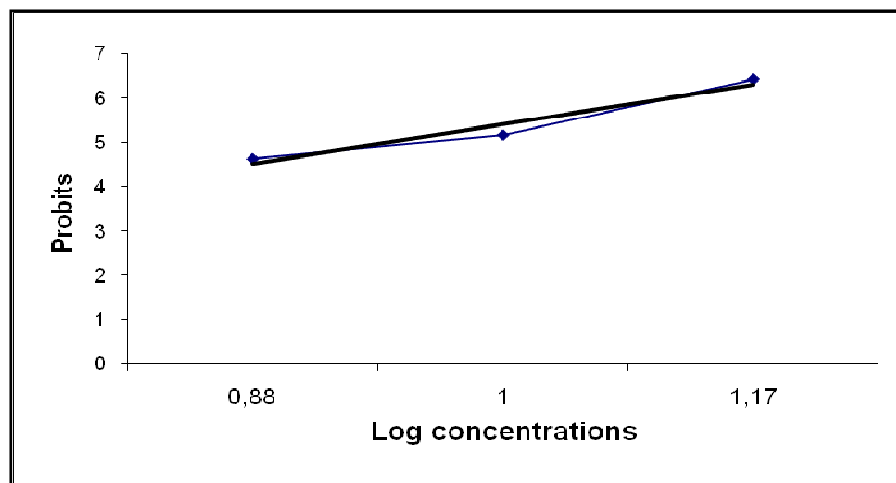


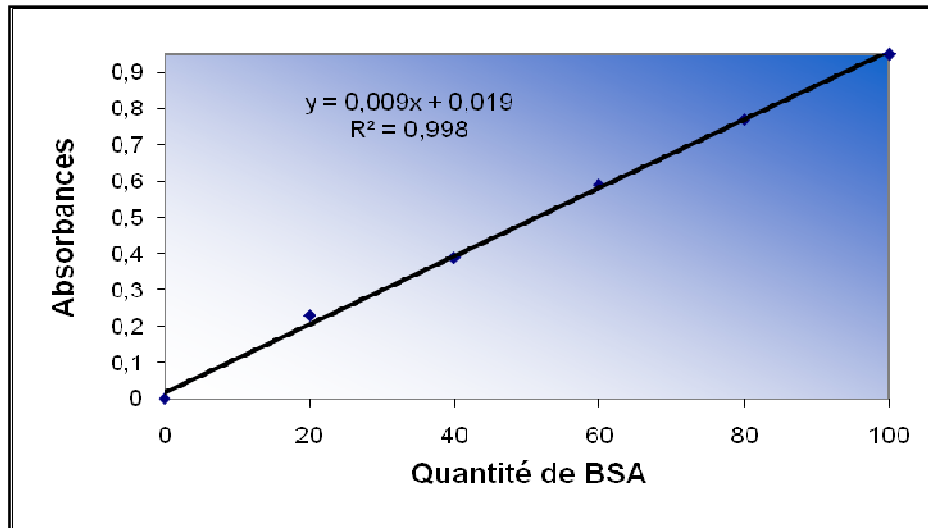
Figure 19. Toxicité du cadmium (ppm) après 12h d'exposition de *D. trunculus*.

3.1.2. Effets des xénobiotiques sur les biomarqueurs

Le taux de glutathion et les activités de la GST et de l'AChE ont été mesurés au niveau du manteau de *D. trunculus*. La quantification des protéines a été mesurée à partir d'une droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de BSA (μg) (Tableau 39, Fig. 20).

Tableau 39: Dosage des protéines; Réalisation de la gamme d'étalonnage ($m \pm s$, $n=6$).

Quantité de BSA (μg)	Absorbances
20	$0,23 \pm 0,02$
40	$0,39 \pm 0,02$
60	$0,59 \pm 0,03$
80	$0,77 \pm 0,05$
100	$0,95 \pm 0,07$

**Figure 20.** Droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (μg) (R^2 : coefficient de détermination).

- **Effet du malathion et du cadmium sur le taux de glutathion**

La détermination du taux de glutathion a été réalisée par application de la formule de (Weckberker & Cory, 1988). Chez les traités au malathion, le taux de glutathion diminue significativement après une période d'exposition de 24h par rapport aux séries témoins, l'analyse statistique avec le test « t » de Student des taux moyens montre qu'il n'existe pas de différences significatives chez les traités avec 50 $\mu\text{g/l}$ même après 24h d'exposition, cependant les concentrations: 100 $\mu\text{g/l}$, 150 $\mu\text{g/l}$ et 300 $\mu\text{g/l}$ induisent après 12h d'exposition

une diminution significative ($p \leq 0,05$) et une diminution hautement significative ($p \leq 0,001$) du taux de glutathion après 24h (Tableau 40, Fig. 21). L'analyse de la variance à deux critères de classification indique qu'il y'a un effet temps, un effet traitement et une interaction traitement/temps hautement significative (Tableau 41).

Concernant les traités avec le cadmium, les résultats obtenus montrent que le taux de GSH diminue significativement après 24h d'exposition pour passer de $0,41 \pm 0,03$ ppm chez les séries témoins à $0,28 \pm 0,02$ ppm chez les traités avec 10 ppm et $0,16 \pm 0,02$ ppm chez les traités avec 15 ppm. Le test « t » de Student indique une différence hautement significative ($p \leq 0,001$) des séries traitées avec 15 ppm de cadmium comparativement aux témoins (Tableau 42, Fig. 22). De plus, l'analyse de la variance à deux critères de classification montre qu'il ya un effet temps, un effet traitement et une interaction traitement/temps hautement significative ($p \leq 0,001$) (Tableau 43).

Tableau 40: Effet du malathion sur le taux de glutathion ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* après 12h et 24h d'exposition ($m \pm s$; $n=4$). Les moyennes d'un même temps sont suivies d'une même lettre en minuscule, tandis que celle d'un même traitement sont suivies d'une lettre en majuscule, ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 %

Traitements Temps	Témoins	50 $\mu\text{g/l}$	100 $\mu\text{g/l}$	150 $\mu\text{g/l}$	300 $\mu\text{g/l}$
0 h	$0,41 \pm 0,03$ a A	-	-	-	-
12h	$0,42 \pm 0,03$ a A	$0,41 \pm 0,02$ a A	$0,36 \pm 0,03$ b B	$0,33 \pm 0,03$ c B	$0,31 \pm 0,03$ d C
24h	$0,41 \pm 0,03$ a A	$0,40 \pm 0,02$ a A	$0,28 \pm 0,01$ b C	$0,17 \pm 0,04$ c C	$0,15 \pm 0,03$ d D

Tableau 41: Effet du malathion sur le taux de glutathion (GSH) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus*: analyse de la variance à deux critères de classification (traitement, temps).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	2	0,062	0,031	24,95	0,000***
Traitements	4	0,042	0,010	8,55	0,000***
Interaction Traitements/Temps	8	0,058	0,007	5,88	0,000***
Erreur résiduelle	45	0,056	0,001	-	-
Totale	59	0,219	-	-	-

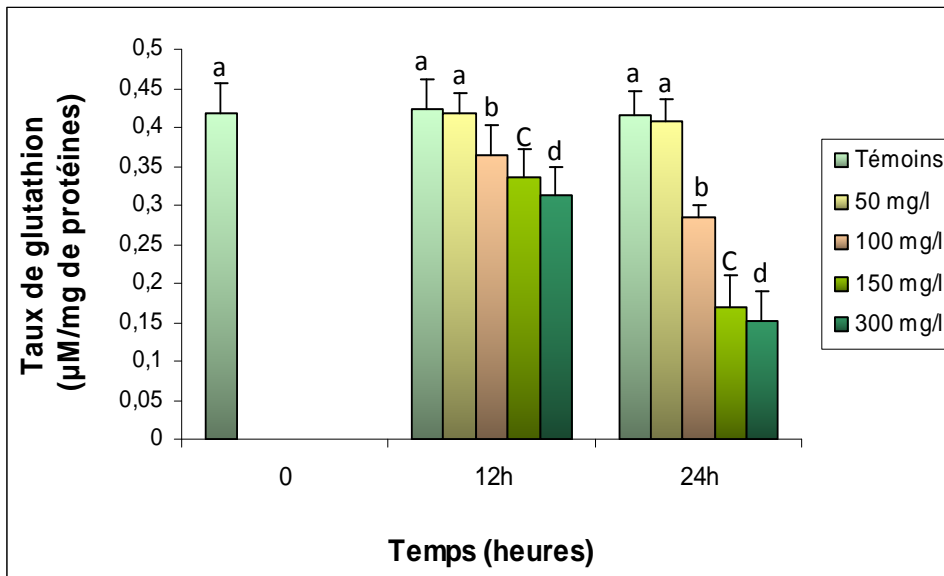


Figure 21. Effet du malathion sur le taux de glutathion ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* ($m \pm s$; $n=4$).

Tableau 42: Effet du cadmium sur le taux de glutathion ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* après 12h et 24h d'exposition ($m \pm s$; $n=4$).

Traitements Temps	Témoins	7,6 ppm	10 ppm	15 ppm
0h	$0,41 \pm 0,03$ a A	-	-	-
12h	$0,42 \pm 0,03$ a A	$0,41 \pm 0,02$ a A	$0,30 \pm 0,02$ b B	$0,28 \pm 0,01$ c B
24h	$0,41 \pm 0,03$ a A	$0,39 \pm 0,03$ a A	$0,28 \pm 0,02$ b C	$0,16 \pm 0,02$ c D

Tableau 43: Effet du cadmium sur le taux de glutathion (GSH) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus*: analyse de la variance à deux critères de classification (traitement, temps).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	2	0,024	0,012	11,62	0,000***
Traitements	3	0,0301	0,010	9,72	0,000***
Interaction Traitements/Temps	6	0,0308	0,005	4,98	0,001***
Erreur résiduelle	36	0,0371	0,001	-	-
Totale	47	0,122	-	-	-

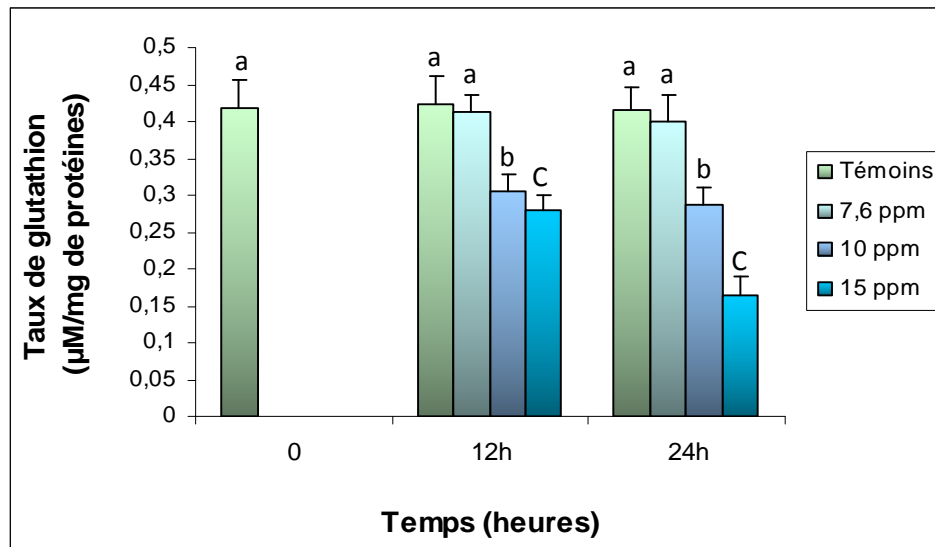


Figure 22. Effet du cadmium sur le taux de glutathion ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* ($m \pm s$; $n=4$).

- **Effets du malathion et du cadmium sur l'activité de la glutathion S-transférase**

La détermination de l'activité spécifique de la glutathion S-transférase a été réalisée par application de la formule d'Habig *et al.*, (1974) en utilisant les pentes des droites de régression exprimant l'absorbance en fonction du temps. Chez les traités au malathion l'activité de la GST augmente significativement au cours de l'expérience et atteint des valeurs maximales de 3,36 – 3,98 - 4,73 - 5,23 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de poteines chez les traités au malathion (50, 100, 150 et 300 $\mu\text{g}/\text{l}$) après 24h (Tableau 44, Fig. 23). La comparaison des moyennes à l'aide du test « t » de student, révèle une augmentation significative après 12h d'exposition et une différence hautement significative ($p < 0,001$) après 24h pour les traités avec 150 et 300 $\mu\text{g}/\text{l}$. L'analyse de la variance à deux critères de classification indique qu'il ya un effet traitement, un effet temps et une interaction traitement/temps hautement significative ($p < 0,001$) (Tableau 45).

Concernant les traités avec le cadmium, les résultats obtenus montrent que l'activité de la glutathion S-transférase varie au cours du temps pour atteindre des valeurs maximales après

24h du traitement chez les traités au cadmium avec 10 et 15 ppm. La comparaison des activités moyennes après 12h d'exposition indique une augmentation très significative pour 15 ppm de cadmium. A la fin de l'expérience (24h) une différence hautement significative est enregistrée comparativement aux témoins (Tableau 46, Fig. 24). De plus, l'analyse de la variance à deux critères de classification montre qu'il ya un effet traitement, temps et une interaction traitement/temps hautement significative ($p \leq 0,001$) (Tableau 47).

Tableau 44: Effet du malathion sur l'activité de la glutathion S-transférase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* après 12h et 24h d'exposition ($m \pm s$; $n=4$).

Traitements Temps	Témoins	50 $\mu\text{g/l}$	100 $\mu\text{g/l}$	150 $\mu\text{g/l}$	300 $\mu\text{g/l}$
0h	3,15 \pm 0,11 a A	-	-	-	-
12h	3,09 \pm 0,22 a A	3,19 \pm 0,19 a A	3,78 \pm 0,16 b B	4,39 \pm 0,21 c B	4,61 \pm 0,11d C
24h	3,25 \pm 0,11 a A	3,63 \pm 0,29 a B	3,98 \pm 0,18 b C	4,73 \pm 0,15 c C	5,23 \pm 0,12 d D

Tableau 45: Effet du malathion sur l'activité de la glutathion S-transférase (GST) ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* : analyse de la variance à deux critères de classification (traitement, temps).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	2	10,272	4,021	104,69	0,000***
Traitements	4	11,289	1,954	50,89	0,000***
Interaction Traitements/Temps	8	5,950	0,608	15,85	0,000***
Erreur résiduelle	45	1,601	0,038	-	-
Totale	59	18,941	-	-	-

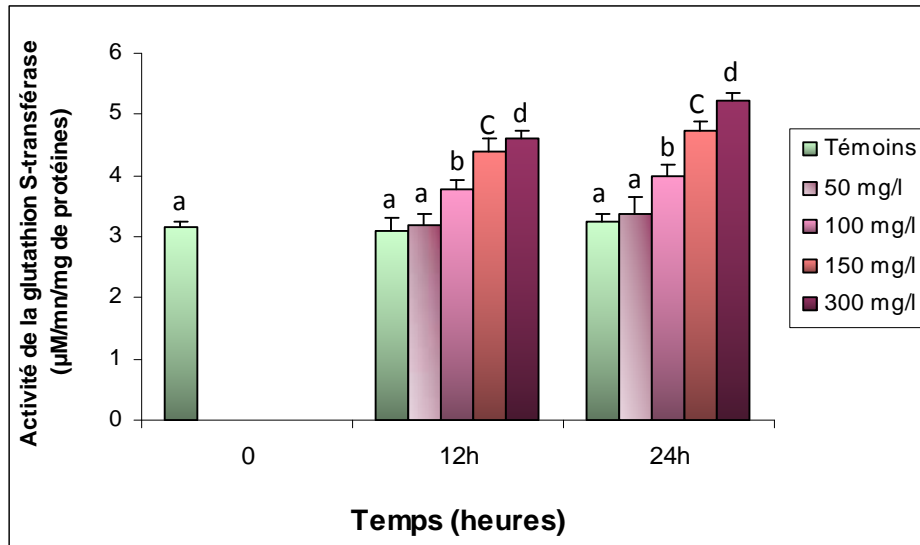


Figure 23. Effet du malathion sur l'activité de la glutathione S-transférase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D.trunculus* ($m \pm s$; $n=4$).

Tableau 46: Effet du cadmium sur l'activité de la glutathione S-transférase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D.trunculus* après 12h et 24h d'exposition ($m \pm s$; $n=4$).

Traitements Temps	Témoins	7,6 ppm	10 ppm	15 ppm
0h	3,15 ± 0,11 a A	-	-	-
12h	3,09 ± 0,22 a A	3,18 ± 0,10 a A	3,47 ± 0,17 a B	4,16 ± 0,11 b C
24h	3,25 ± 0,11 a A	3,43 ± 0,30 a B	4,32 ± 0,15 b C	5,07 ± 0,27 c D

Tableau 47: Effet du cadmium sur l'activité de la glutathion S-transférase (GST) au niveau du manteau de *D.trunculus* : analyse de la variance à deux critères de classification (traitement, temps).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	2	8,042	4,021	104,69	0,000***
Traitements	3	5,863	1,954	50,89	0,000***
Interaction Traitements/Temps	6	3,652	0,608	15,85	0,000***
Erreur résiduelle	36	1,382	0,038	-	-
Totale	47	18,941	-	-	-

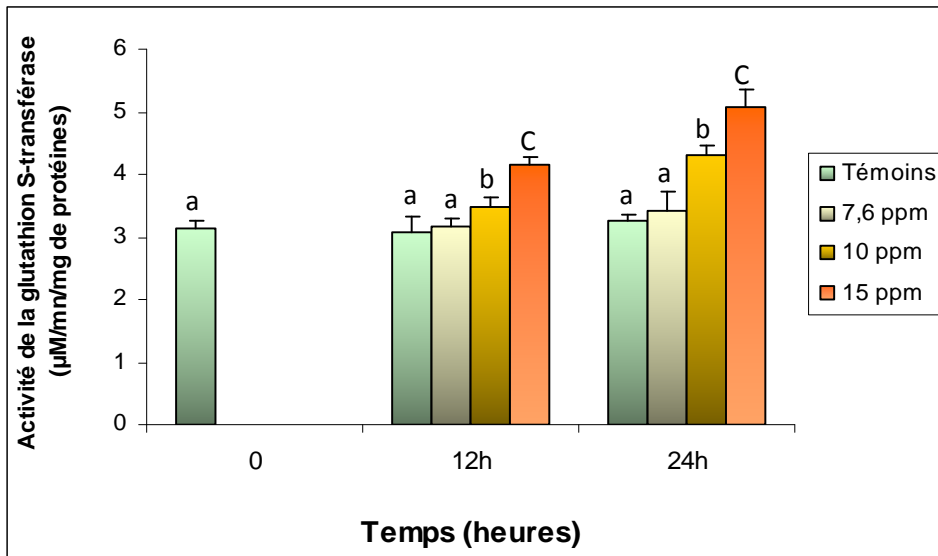


Figure 24. Effet du cadmium sur l'activité de la glutathion S-transférase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* ($m \pm s$; $n=4$).

- **Effets du malathion et du cadmium sur l'activité de l'acétylcholinestérase**

L'activité spécifique de l'AChE est déterminée selon la méthode d'Ellman *et al.* (1961) et calculée d'après les pentes des droites de régression exprimant l'absorbance en fonction du temps. Chez les traités avec le malathion les valeurs de l'AChE diminuent de 2,00 nM/mn/mg de protéines chez les témoins à 0,50 nM/mn/mg de protéines chez les traités avec 300 µg/l en fin de traitement. La comparaison des moyennes après 12h indique qu'il n'existe pas de différence significative ($p > 0,05$) pour la concentration 50 µg/l et une diminution hautement significative ($p < 0,001$) pour le reste des concentrations. A la fin de l'expérimentation (24h) une inhibition hautement significative est enregistrée pour les concentrations les plus élevées (100, 150 et 300 µg/l) (Tableau 48, Fig. 25). De plus, l'analyse de la variance à deux critères de classification révèle un effet traitement, temps et une interaction traitement/temps hautement significative (Tableau 49).

L'activité enzymatique chez les traités avec le cadmium diminue significativement au cours de l'expérience, les valeurs les plus faibles sont enregistrées après 24h d'exposition, 2,10 - 1,42 - 1,02 nM/mn/mg de protéines (7,6 - 10 et 15 ppm). La comparaison des activités moyennes montre une inhibition très significative ($p < 0,05$) après 12h pour 10 et 15 ppm alors qu'aucun effet ($p > 0,05$) n'est enregistré pour le reste des concentrations, 24h après, une diminution significative ($p > 0,05$) est observée chez les traités avec 7,6 ppm et une inhibition hautement significative ($p < 0,001$) est enregistrée chez les traités avec 10 et 15 ppm (Tableau 50, Fig. 26). L'analyse de la variance à deux critères de classification révèle un effet traitement, un effet temps et une interaction traitement/temps hautement significative (Tableau 51).

Tableau 48: Effet du malathion sur l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/mn/mg de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* après 12h et 24h d'exposition (m±s ; n=4).

Traitements Temps	Témoins	50 mg/l	100 mg/l	150 mg/l	300 mg/l
0h	2,00 ± 0,15 a A	-	-	-	-
12h	2,28 ± 0,12 a B	2,23 ± 0,18 a A	1,78 ± 0,16 b B	1,40 ± 0,10 c B	0,85 ± 0,06 d C
24h	2,15 ± 0,16 a AB	2,10 ± 0,13 a B	1,24 ± 0,10 b C	1,15 ± 0,14 c C	0,50 ± 0,04 d D

Tableau 49: Effet du malathion sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) (nM/mn/mg de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* : analyse de la variance à deux critères de classification (traitement, temps).

Source de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	2	4,177	2,088	80,48	0,000***
Traitements	4	6,986	1,746	67,31	0,000***
Interaction Traitements/Temps	8	4,072	0,509	19,92	0,000***
Erreur résiduelle	45	1,167	0,025	-	-
Totale	59	16,403	-	-	-

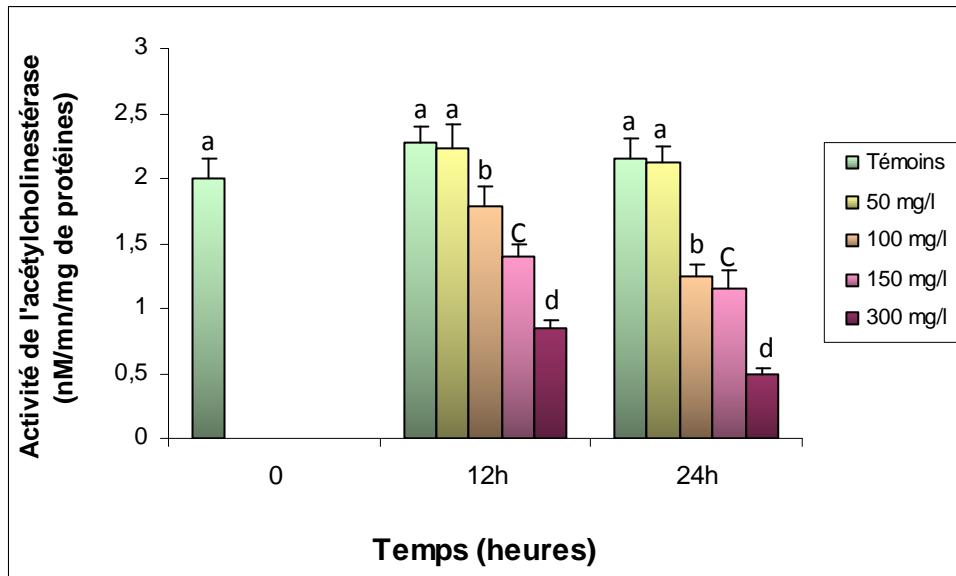


Figure 25. Effet du malathion sur l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/mn/mg de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* ($m \pm s$; $n=4$).

Tableau 50: Effet du cadmium sur l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/mn/mg de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* après 12h et 24h d'exposition ($m \pm s$; $n=4$).

Traitements Temps	Témoins	7,6 ppm	10 ppm	15 ppm
0h	2,00 ± 0,15 a A	-	-	-
12h	2,15 ± 0,12 a A	2,06 ± 0,18 a A	1,88 ± 0,18 b A	1,59 ± 0,13 c B
24h	2,33 ± 0,16 a B	1,65 ± 0,14 a B	1,42 ± 0,11 b B	1,02 ± 0,08 c C

Tableau 51: Effet du cadmium sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) (nM/mn/mg de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus*: analyse de la variance à deux critères de classification (traitement, temps).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	2	1,420	0,710	24,71	0,000***
Traitements	3	2,436	0,812	28,25	0,000***
Interaction Traitements/Temps	6	1,922	0,320	11,15	0,000***
Erreur résiduelle	36	1,034	0,028	-	-
Totale	47	6,814	-	-	-

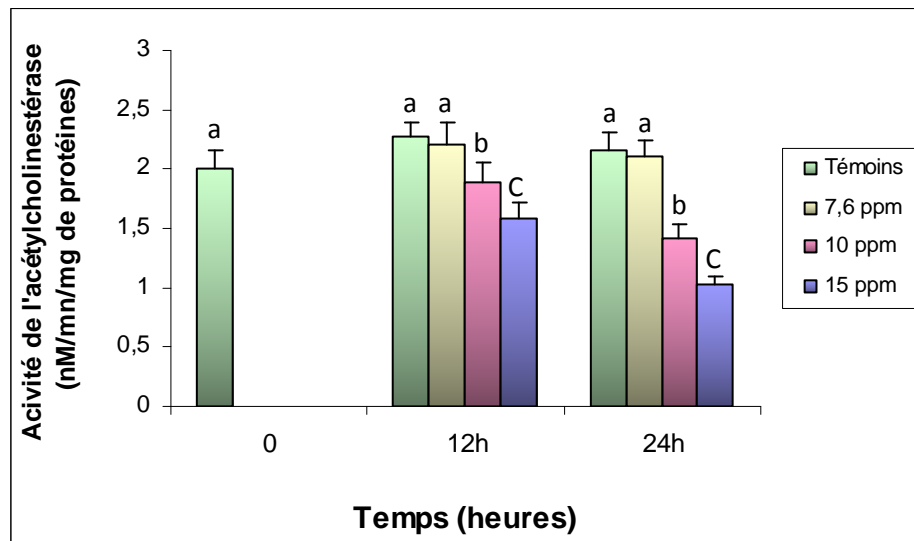


Figure 26. Effet du cadmium sur l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/mn/mg de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* ($m \pm s$; $n=4$).

3.2. Biosurveillance de la pollution des eaux du golfe d'Annaba

3.2.1. Caractéristique du milieu

Les figures 27, 28 et 29 représentent les variations mensuelles des paramètres physico-chimiques mesurés au niveau des deux sites d'études (El-Battah et Sidi Salem) de septembre 2007 à août 2008.

Après examen des résultats obtenus on constate que: La température présente des variations similaires dans les deux sites. Les valeurs les plus basses sont enregistrées pendant la période hivernale; un minimum est observé en janvier pour les deux sites d'étude avec 12,6 °C à El-Battah et 12,2 °C à Sidi Salem. Les valeurs les plus élevées sont enregistrées pendant la période estivale; un maximum est observé à El-Battah en août avec 28 °C et en Juillet à Sidi Salem avec 28,2 °C (Fig. 27).

La moyenne des températures enregistrées pendant la période d'étude montre que les eaux de Sidi Salem sont légèrement plus chaudes (21,14°C) que les eaux d'El-Battah (20,39°C).

Le pH est relativement constant et alcalin au niveau des deux sites. La valeur minimale est observée en septembre (4,83) à El-Battah et en octobre (6,46) à Sidi Salem; tandis que la valeur maximale est enregistrée en août pour le site d'El-Battah (8,28) et en juin pour le Site de Sidi Salem (8,34) (Fig. 28). La moyenne des PH enregistrée de septembre 2007 à août 2008 montre une similitude au niveau des deux sites avec 7,65 à El-Battah et 7,63 à Sidi Salem.

L'évolution de la salinité (g/l) durant la période d'étude révèle des valeurs minimales en période hivernale et au début de la période printanière, avec un minimum en décembre pour El-Battah (14,5 g/l) et Sidi Salem (10,03 g/l). Les valeurs les plus élevées sont enregistrées en période estivale jusqu'au début de la période automnale, avec un maximum de 58 g/l en septembre pour le site d'El-Battah et 35,7 g/l en juillet pour le site de Sidi Salem (Fig. 29). La moyenne annuelle enregistrée de ce paramètre montre une salinité plus élevée au niveau d'El-Battah avec 31,67 g/l comparativement à Sidi Salem (23,30 g/l).

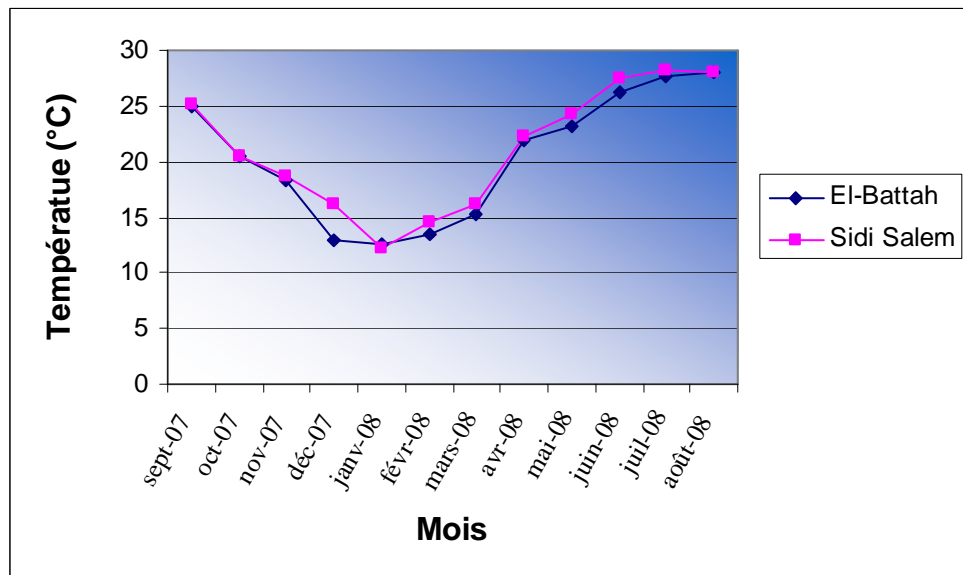


Figure 27. Variation mensuelle de la température (°C) de l'eau prélevée dans les deux sites d'études El-Battah et Sidi Salem dans le golfe d'Annaba de septembre 2007 à août 2008.

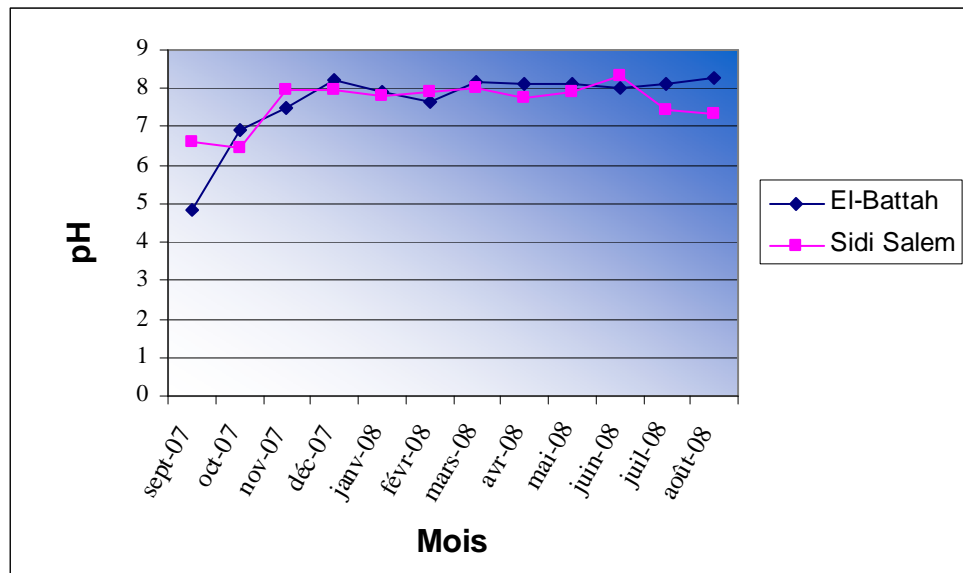


Figure 28. Variation mensuelle du pH de l'eau prélevée dans les deux sites d'étude El-Battah et Sidi Salem dans le golfe d'Annaba de septembre 2007 à août 2008.

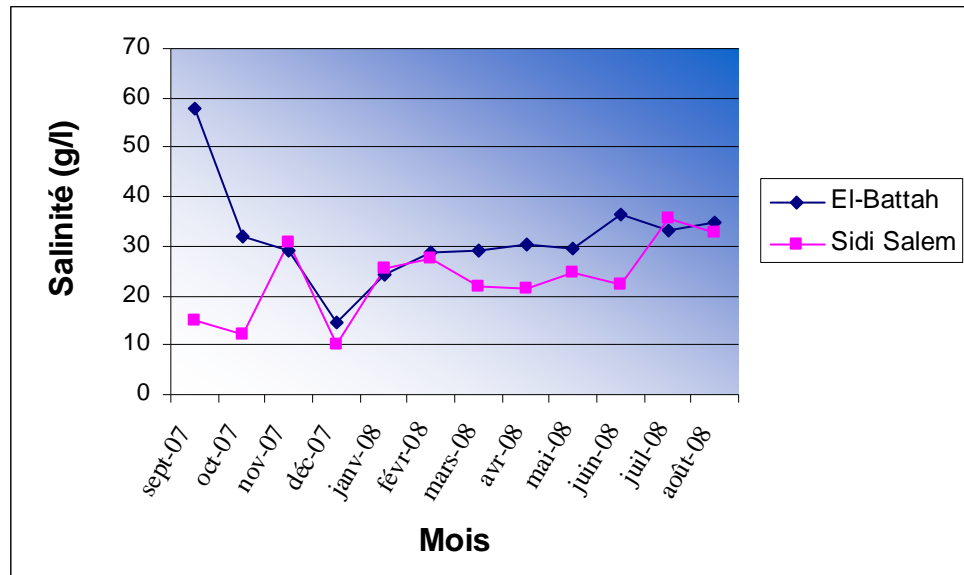


Figure 29. Variation mensuelle de la salinité (g/l) de l'eau prélevée dans les deux sites d'étude El-Battah et Sidi Salem dans le golfe d'Annaba de septembre 2007 à août 2008.

3.2.2. Croissance de *D. trunculus*

Les figures 30, 31 représentent les histogrammes relatifs à la distribution mensuelle des fréquences de taille et le représente les tailles moyennes obtenues de septembre 2007 à août 2008 chez *D. trunculus* recueillis dans deux sites du golfe d'Annaba: El-Battah et Sidi Salem.

L'examen de ces histogrammes montre une dominance de l'effectif de la classe de taille 28-30 mm au niveau des deux sites étudiés. Au mois d'octobre on remarque l'absence de la classe de taille, 12-14 mm et 14-16 mm, au niveau des deux sites et 16-18 mm au niveau de Sidi Salem seulement. Au mois de novembre et de décembre on observe l'apparition de la classe de taille 32-34 mm à Sidi Salem et à El-Battah seulement au mois de décembre. Une évolution presque identique pour les différentes classes de tailles est constatée au niveau des deux sites de janvier à avril. Du mois de mai et jusqu'au mois d'août on remarque une diminution dans l'effectif de la classe de taille 24-26 mm au niveau d'El-Battah qui passe de 11 individus au mois de mai à 2 individus au mois d'août. Au mois de mai et de juillet une

nouvelle classe de taille 36-38 mm fait son apparition au niveau du site El-Battah (un seul individu de 37 mm est recensé).

La classe 16-18 mm apparait dans les deux sites au mois d'août, tandis que les classes 8-10 mm, 12-14 mm et 18-20 mm ne sont présent qu'au niveau d'El-Battah, traduisant de nouvelles recrues. Les longueurs maximales au niveau des deux sites ont été enregistrée en période de reproduction: 37 mm, au mois de mai et juillet à El-Battah ainsi que 35 mm au mois de mars, avril et juillet à Sidi Salem.

Tableau 52: Taille moyenne en (mm, $m \pm s$) de *Donax tunculus* pêché à El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008 (n=100).

Mois	El-Battah	Sidi Salem
Septembre 2007	24 \pm 3,9	24 \pm 4,1
Octobre 2007	24 \pm 4,1	26 \pm 2,9
Novembre 2007	26 \pm 2,6	25 \pm 4,2
Décembre 2007	26 \pm 3,7	26 \pm 3,6
Janvier 2008	26 \pm 3,2	2, \pm 3,4
Février 2008	28 \pm 3,0	27 \pm 3,3
Mars 2008	26 \pm 2,7	29 \pm 2,2
Avril 2008	28 \pm 2,7	278 \pm 1,8
Mai 2008	27 \pm 1,9	28 \pm 2,4
Juin 2008	28 \pm 2,2	27 \pm 1,8
Juillet 2008	28 \pm 2,0	28 \pm 2,1
Août 2008	28 \pm 4,0	28 \pm 2,5

3.2.3. Réponse des biomarqueurs

- **Effet sur le taux de glutathion**

Le calcul des taux de glutathion a été réalisé selon la formule de Weckberker & Cory (1988). Le suivi des variations des taux de glutathion dans le manteau chez *D. trunculus* au niveau des deux sites montre des fluctuations durant la période d'étude qui varient selon les mois et les sites.

D'après les résultats obtenus, le site de Sidi Salem affiche les valeurs les plus faibles avec un minimum enregistré au mois de mars ($0,11 \pm 0,01 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) alors que les valeurs les plus élevées sont observées au niveau du site El-Battah avec un maximum de $0,77 \pm 0,06 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines au mois de février (Tableau 53, Fig. 32). La comparaison des moyennes enregistrées par le test "t" de Student, révèle des différences hautement significatives ($p < 0,001$) au mois d'octobre, février, mars et avril, des différences très significatives au mois de Juillet ($p < 0,01$) et des différences significatives ($p < 0,05$) au mois de novembre et juin. Les résultats de l'analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois) montrent un effet site, un effet mois et une interaction site/mois hautement significative ($p < 0,001$) (Tableau 54).

Tableau 53: Variation mensuelle du taux du glutathion ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008 ($m \pm s$; $n=6$).

Mois	El-Battah	Sidi Salem	P
Septembre 2007	$0,35 \pm 0,03$	$0,34 \pm 0,01$	0,739 NS
Octobre 2007	$0,26 \pm 0,02$	$0,19 \pm 0,01$	0,000***
Novembre 2007	$0,42 \pm 0,03$	$0,37 \pm 0,03$	0,049*
Décembre 2007	$0,22 \pm 0,01$	$0,22 \pm 0,01$	0,724 NS
Janvier 2008	$0,58 \pm 0,04$	$0,56 \pm 0,03$	0,341 NS
Février 2008	$0,77 \pm 0,06$	$0,47 \pm 0,04$	0,000***
Mars 2008	$0,20 \pm 0,03$	$0,11 \pm 0,01$	0,001***
Avril 2008	$0,33 \pm 0,021$	$0,22 \pm 0,02$	0,000***
Mai 2008	$0,41 \pm 0,01$	$0,40 \pm 0,02$	0,280 NS
Juin 2008	$0,27 \pm 0,01$	$0,24 \pm 0,01$	0,024*
Juillet 2008	$0,31 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,01$	0,005**
Août 2008	$0,30 \pm 0,01$	$0,29 \pm 0,01$	0,133 NS

NS: Non significative ; * : différence significative ($P < 0,05$) ; ** : différence très significative ($P < 0,01$) ; *** : différence hautement significative ($P < 0,001$), comprenant les moyennes des deux sites pour un même temps.

Tableau 54 : Analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois) du taux du glutathion au niveau du manteau de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à Aout 2008.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Site	1	0,135	0,145	23,78	0,000***
Mois	10	1,934	0,193	31,70	0,000***
Interaction Site/Mois	10	0,205	0,020	3,36	0,001***
Erreur résiduelle	122	0,744	0,006	-	-
Totale	143	3,019	-	-	-

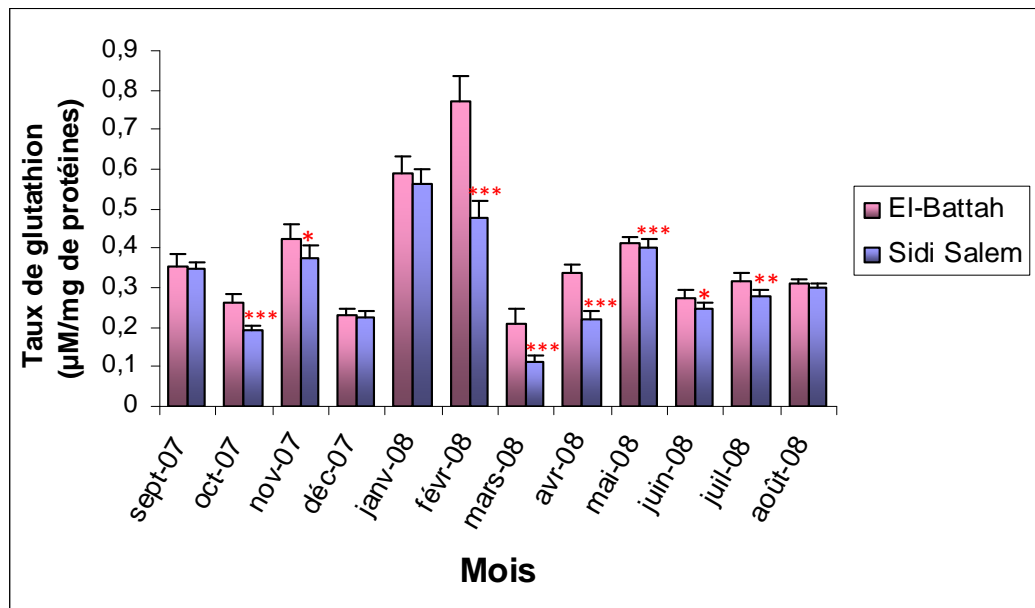


Figure 32. Variation mensuelle du taux de glutathion ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008 ($m \pm s$; $n=6$).

- **Effets sur l'activité de la glutathion S-transférase**

Le taux de la GST ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) a été calculé par application de la formule d'habig *et al.*(1974) en utilisant les pentes des droites de régression exprimant l'absorbance en fonction du temps.

Les individus récoltés au niveau d'El-Battah affichent une valeur maximale de l'activité de la GST durant le mois de mai avec $6,57 \pm 0,34 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines, une diminution cependant est observée durant les mois restant avec un minimum enregistré au mois de janvier $2,65 \pm 0,32 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines (Tableau 55, Fig. 33).

Concernant le site de Sidi Salem, l'activité de la GST montre une valeur maximale au mois de février avec une valeur atteignant les $8,08 \pm 0,12 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines alors qu'une diminution de l'activité est observée au mois de septembre, octobre, avril, juillet et août avec un minimum enregistré au mois de juillet $3,23 \pm 0,16 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines. La comparaison des moyennes mensuelles indique qu'il n'ya pas de différences significatives ($p > 0,05$) aux mois de mars, avril, juin et juillet des différences significatives ($p \leq 0,05$) en septembre, mai et août et des différences hautement significatives en octobre, novembre, décembre, janvier et février ($p \leq 0,001$). L'analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois), révèle un effet site, un effet mois et une interaction site/mois hautement significative ($p \leq 0,001$) (Tableau 56).

Tableau 55: Variation mensuelle de l'activité 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 et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008 ($m \pm s$; $n=6$).

Mois	El-Battah	Sidi Salem	P
Septembre 2007	3,74 \pm 0,25	4,49 \pm 0,40	0,005**
Octobre 2007	2,75 \pm 0,26	4,46 \pm 0,42	0,000***
Novembre 2007	5,20 \pm 0,23	7,15 \pm 0,26	0,000***
Décembre 2007	3,42 \pm 0,45	6,28 \pm 0,28	0,000***
Janvier 2008	2,65 \pm 0,32	6,35 \pm 0,36	0,000***
Février 2008	3,95 \pm 0,16	8,08 \pm 0,12	0,000***
Mars 2008	5,81 \pm 0,43	6,05 \pm 0,11	0,241 NS
Avril 2008	3,06 \pm 0,20	3,29 \pm 0,11	0,043 NS
Mai 2008	6,57 \pm 0,34	7,03 \pm 0,25	0,028 *
Juin 2008	6,03 \pm 0,13	6,14 \pm 0,14	0,216 NS
Juillet 2008	3,26 \pm 0,18	3,23 \pm 0,16	0,789 NS
Août 2008	4,32 \pm 0,29	4,79 \pm 0,21	0,013**

Tableau 56: Analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois) de l'activité de la glutathion S-transférase du manteau de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Site	1	72,141	65,369	177,39	0,000***
Mois	10	198,310	19,831	53,82	0,000***
Interaction site/Mois	10	49,083	4,908	13,32	0,000***
Erreur résiduelle	122	44,957	0,369	-	-
Totale	143	364,491	-	-	-

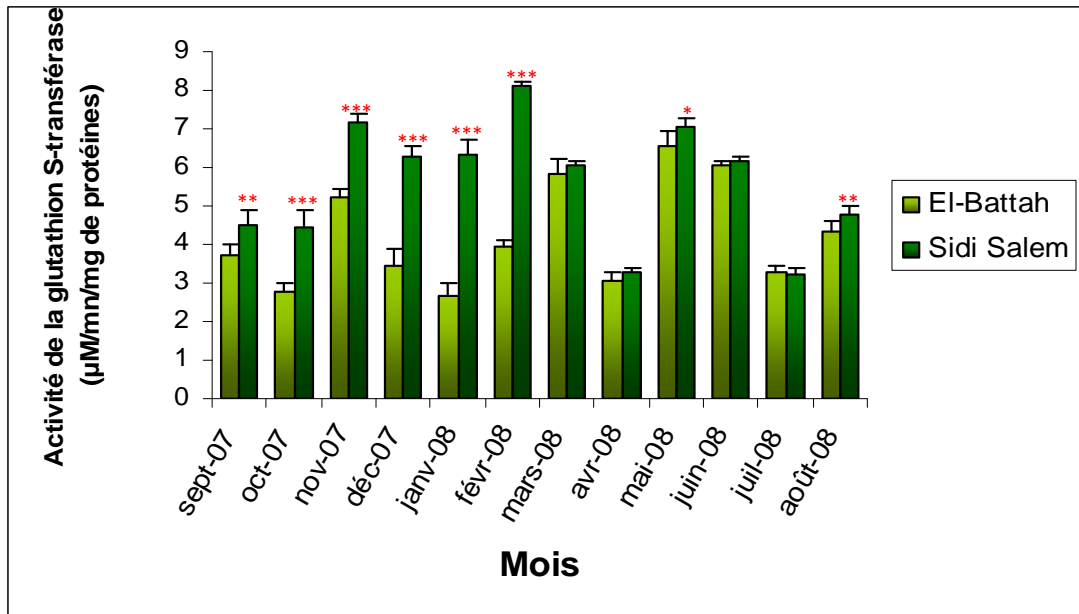


Figure 33. Variation mensuelle de l'activité de la glutathione S-transférase ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008 ($m \pm s$; $n=6$).

• Effets sur l'activité de l'acétylcholinestérase

L'activité de l'AChE ($\text{nM}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) a été calculée par application de la formule d'Ellman *et al.* (1961) en utilisant les pentes des droites de régression exprimant l'absorbance en fonction du temps. Les résultats obtenus montrent des variations au sein d'un même site; ceci a été conforté par l'analyse de la variance à deux critères de classifications (site et mois) qui révèle un effet mois hautement significatif ($p < 0,001$).

Les individus récoltés dans la zone d'El-Battah présentent des valeurs élevées durant les mois de novembre, décembre, janvier et février avec une valeur maximale observée au mois de décembre ($3,67 \pm 0,12$ $\text{nM}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines). Une diminution de l'activité de l'AChE a été notée durant les mois suivants : septembre, octobre, juin et juillet, avec un minimum moyen de $0,54 \pm 0,04$ $\text{nM}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines au mois de septembre.

Concernant le site de Sidi Salem, le profil de l'activité de l'AChE montre un pic au mois de février avec une valeur maximale de $3,21 \pm 0,40$ $\text{nM}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines, durant les

autres mois on observe une diminution de l'activité de l'AChE avec une valeur minimale enregistrée au mois de septembre ($0,39 \pm 0,03$ nM/mn/mg de protéines) (Tableau 57, Fig. 34). La comparaison des résultats obtenus dans ces deux sites à l'aide du test "t" de student indique des différences hautement significatives pendant les mois de septembre, novembre, décembre et avril ($p \leq 0,001$) une différence très significative au mois de Mars ($p \leq 0,01$) et significative au mois de février et août ($p \leq 0,05$). L'analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois) réalisée sur les données relatives aux deux sites révèle qu'il ya un effet mois, un effet site hautement significatif (Tableau 58).

Tableau 57 : Variation mensuelle de l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/mn/mg de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008 ($m \pm s$; $n=6$).

Mois	El-Battah	Sidi Salem	P
Septembre 2007	$0,54 \pm 0,04$	$0,39 \pm 0,03$	0,000***
Octobre 2007	$0,70 \pm 0,01$	$0,67 \pm 0,04$	0,138 NS
Novembre 2007	$3,31 \pm 0,11$	$2,61 \pm 0,15$	0,000***
Décembre 2007	$3,67 \pm 0,12$	$3,03 \pm 0,29$	0,003***
Janvier 2008	$3,17 \pm 0,22$	$3,20 \pm 0,22$	0,789 NS
Février 2008	$3,65 \pm 0,12$	$3,21 \pm 0,40$	0,041*
Mars 2008	$2,66 \pm 0,11$	$2,35 \pm 0,15$	0,004**
Avril 2008	$3,00 \pm 0,15$	$1,53 \pm 0,11$	0,000***
Mai 2008	$2,79 \pm 0,11$	$2,65 \pm 0,12$	0,069 NS
Juin 2008	$0,55 \pm 0,04$	$0,52 \pm 0,02$	0,131 NS
Juillet 2008	$1,54 \pm 0,14$	$1,51 \pm 0,12$	0,724 NS
Août 2008	$2,59 \pm 0,11$	$2,43 \pm 0,12$	0,049*

Tableau 58: Analyse de la variance à deux critères de classification (site, mois) de l'activité de l'acétylcholinestérase du manteau de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Site	1	4,384	4,874	13,54	0,000***
Mois	10	118,695	11,869	32,96	0,000***
Interaction Site/Mois	10	5,865	0,586	1,63	0,106
Erreur résiduelle	122	43,934	0,360	-	-
Totale	143	172,880	-	-	-

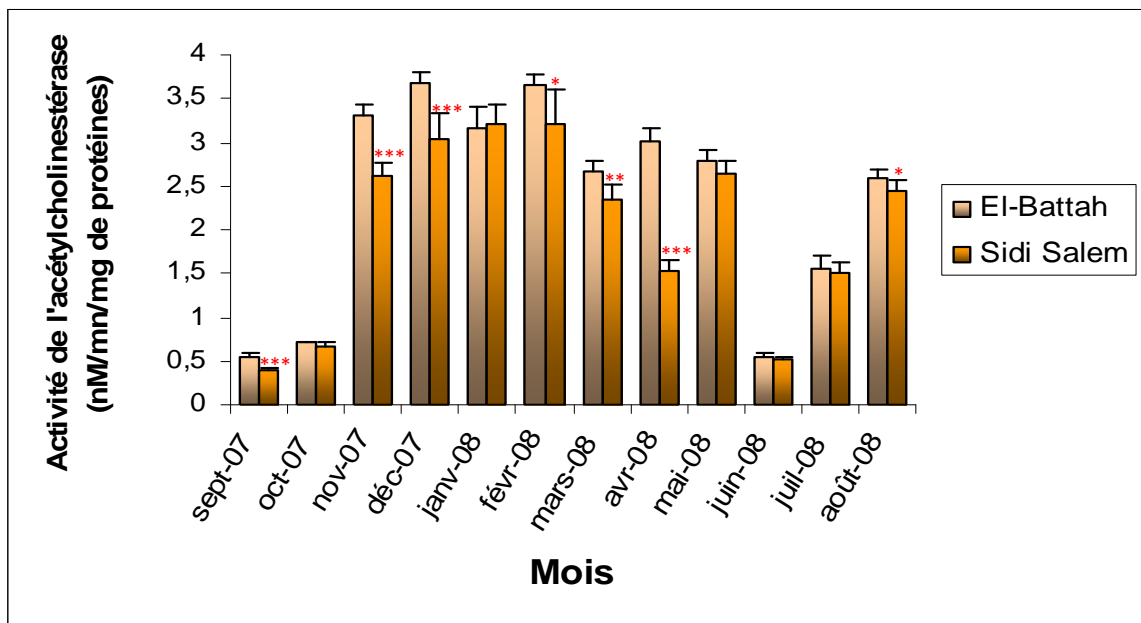


Figure 34. Variation mensuelle de l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/mn/mg de protéines) au niveau du manteau de *D. trunculus* pêché dans deux sites du golfe d'Annaba: El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008 (m±s ; n=6).

4. Discussion

4.1. Evolution des paramètres physico-chimiques des sites

Les Mollusques Bivalves mènent une vie benthique et souvent sédentaire. Ils sont osmo et thermoconformes (Galtsoff, 1964) et ne possèdent pas de système de régulation. Ils sont donc directement exposés aux fluctuations de l'environnement (température, salinité, polluants, etc). Chez l'huître creuse la quantité de gamètes produites en été est complètement sous la dépendance des réserves accumulées en hiver (Gosling, 1992), de l'intensité des blooms printaniers (Gabbott, 1983) et de la température de l'année écoulée (Gabbott, 1975). Certaines activités peuvent être diminuées par une augmentation de la température, comme la phagocytose, chez *Crassostrea virginica* (Hegaret *et al.*, 2003), la stabilité des membranes lysosomales chez *Perna viridis* (Nicholson, 2001). A l'identique, une faible température peut provoquer des effets néfastes sur les hémocytes, déstabiliser les membranes des cellules de *Mytilus edulis* (Camus *et al.*, 2000) et diminuer la phagocytose des hémocytes de *C. virginica* (Alvarez *et al.*, 1989). La moyenne des températures enregistrées pendant la période d'étude montre que les eaux de Sidi Salem sont en moyenne légèrement plus chaudes (21,14 °C) que les eaux d'El-Battah (20,39 °C), ceci peut être expliqué par la température ambiante des sites étudiés.

Le pH est un facteur écologique essentiel qui conditionne la vie aquatique. Le pH est très fortement influencé par la photosynthèse et influence lui-même un grand nombre de processus biologiques et chimiques. Les données obtenues durant la période d'étude ne montre pas une variation importante entre les deux sites étudiés (7,65 à El-Battah et 7,63 à Sidi Salem). Le pH mesuré est relativement constant et légèrement alcalin.

Parmi les paramètres physico-chimiques étudiés, la salinité est un facteur limitant pour le développement des mollusques bivalves. La salinité est négativement corrélée avec le taux de locomotion des hémocytes chez *C. virginica* (Fisher & Newell, 1986) et est positivement corrélée à la stabilité de la membrane lysosomale chez *Perna viridis* (Nicholson, 2001). De faibles salinités (4 ‰) diminuent la phagocytose chez *Ostrea edulis* (Fisher *et al.*, 1987) et

induisent une baisse de la synthèse de protéines chez *C. virginica* (Tirard *et al.*, 1997). Une salinité élevée augmente le pourcentage de granulocytes (Fisher, 1988) et diminue la concentration en lysozyme chez *C. virginica* (Chu *et al.*, 1993). Les variations saisonnières observées durant la période d'étude avec une salinité minimale en période hivernale et au début de période printanière (un minimum en décembre pour les deux sites étudiés avec 14,5 g/l pour le site d'El-Battah et 10,03 g/l pour le site de Sidi Salem), s'expliqueraient par les faibles évaporations de l'eau et aux fortes précipitations. En revanche, les salinités maximales qui sont enregistrées en période estivale jusqu'au début de la période automnale (un maximum de 58 g/l en septembre pour le site d'El-Battah, et en juillet au niveau de Sidi Salem avec 35,7 g/l) seraient engendrées par l'action conjuguée des fortes températures et la baisse des précipitations. Les mesures des paramètres physico-chimiques effectués par Hamdani durant l'année 2006 et Amira durant la période de reproduction de mars à août 2007 sont similaires aux résultats obtenus durant notre période d'étude.

4.2. Croissance de *D. trunculus*

Les populations de *D. trunculus* sont abondante sur les plages de type dissipatif, ce sont des plages relativement larges, à pentes subtidales et intertidales faibles et où l'hydrodynamisme est élevé sans toutefois atteindre un seuil limite d'instabilité. Ce sont des animaux suspensivores qui colonisent les zones de saturation et de résurgence où ils constituent de très grandes biomasses. L'exploitation de ce mollusque est limitée sur l'ensemble du littoral et ne concerne que quelques plages où l'abondance est élevée et se trouvant à proximité de grands centres urbains.

L'estimation de la croissance de ce Donacidae à partir de l'analyse des distributions des fréquences de taille, met en évidence deux recrutements durant la période d'étude: septembre 2007 et août 2008. Chouahda (2006) dans le golfe d'Annaba et par Mouëza & Frankiel-Renault (1973) sur la population d'Azur plage à Alger. En effet la méditerranée est caractérisée par un recrutement bimodal de ces populations (Body & Massé, 1978; Bayed & Guillou, 1985; Ramon *et al.*, 1995). Cependant, un seul recrutement est observé par Voliani *et al.* (1997) en septembre et Neuberger-Cywiak (1990) entre juillet et septembre. Enfin, chez

les populations atlantiques, le recrutement annuel est unimodal (Ansell & Lagardère, 1980; Guillou & Le Moal, 1980; Manca-zeichen *et al.*, 2001).

La taille maximale enregistrée durant la période d'études est de 37 mm, seulement, l'effectif recensé de cette classe de taille est très faible (un individu) et n'a été observé qu'au mois de mai et de juillet uniquement au niveau du site El-Battah, ceci peut être expliqué par les conditions du milieu qui était favorable à la croissance en cette période. Les mêmes observations ont été notées par Manca-zeichen *et al.* (2001) le long de la côte italienne au sud de l'adriatique. Les tailles maximales enregistrées sont 45 mm pour les populations atlantiques européennes à leur limite Nord de distribution (Guillou & Le Moal, 1980) et 40 mm plus au Sud (Ansell & Lagardère, 1980) ainsi que sur la côte espagnole de Valence (Ramón *et al.*, 1995), 36 mm dans la baie de bou Ismaïl (Mouëza, 1971) et sur les côtes françaises (Body & Massé, 1978), tandis qu'au Maroc, les longueurs maximales observées sont faibles ne dépassant pas les 36 mm (Bayed, 1991).

Les différences observées entre les deux sites d'études ne peuvent pas être expliquées par une erreur d'échantillonnage, du fait que cette différence s'est rencontrée sur plusieurs prélèvements successifs. De plus, l'effet du mauvais temps ne devrait pas trop affecter la stabilité des populations de *D. trunculus*. D'après Mouëza & Chessel (1976), des prélèvements effectués l'un durant une période de calme, l'autre au lendemain d'une forte mer déferlant sur la plage, ne présente pas de différence significative de nature qualitative ou quantitative. Par contre cela peut être expliqué par une réduction des apports nutritifs durant la période estivale et par une pollution environnementale, car la présence d'une grande quantité de coquilles vides dans le sédiment de la plage de Sidi Salem laisse supposer une mortalité massive de *D. trunculus* dans ce site. En effet, Anderlini (1990) a mis en évidence l'impact d'eau d'égout sur la croissance des bivalves *M. edulis* et *Perna perna*.

4.3. Aspect toxicologique

Des essais de toxicité aiguë sur le mollusque bivalve *D. trunculus* exposé au malathion à différentes concentrations (50 – 100 - 150 et 300 µg/l) ont été effectués afin d'estimer la concentration létale 50 (CL50) et la concentration 90 (CL90) après 12h et 24h d'exposition. Les résultats obtenus donnent les concentrations létales suivantes: la CL50 et la CL90 ont été estimées après 12h d'exposition à 247,74 µg/l et 669,74 µg/l avec un intervalle de confiance de 167,16 - 367,15 et 365,77 - 1226,29 respectivement. Après 24h d'exposition la CL50 et la CL90 ont été estimées à 53,57 µg/l et 250,61 µg/l avec un intervalle de confiance de 29,43 - 97,49 et 57,47 - 1092,65.

Après de nombreuses recherches, aucun travail de toxicité au malathion sur *D. trunculus* n'a été retrouvé. Cependant, les données obtenues sur la grenouille des bois *Rana sylvatica* sont en accord avec nos résultats puisque son intervalle de confiance après 24h d'exposition au malathion est de 0,2 - 42 mg/l (Relyea, 2004). La CL50 a pu être estimée chez le poisson chat *Ictalurus furcatus* à 13,57 µg/l après 96h d'exposition (Aker, 2008) et à 38 µg/l chez *Homarus americanus* après une exposition de 24h au malathion (De Guise, 2004). Les recherches effectuées par Ren *et al.* (2007) sur le crustacé zooplanctonique *Daphnia magna* a révélé une CL50 de 3,80 µg/l. Les travaux réalisés sur la puce d'eau *Ceriodaphnia dubia* (Maul *et al.*, 2006) et sur *Anopheles stephensi* (Bansal *et al.*, 2004) ont estimé la concentration létale 50 à 2,82 µg/l et à 0,001 mg/l respectivement. *Tagetes patula* une plante de la famille des Asteraceae a fait l'objet également d'essais toxicologiques pour déterminer la CL50 évaluée à 17 ppm (Dharmagadda *et al.*, 2005).

Les résultats obtenus des essais toxicologiques effectués sur *D. trunculus* à différentes concentrations de cadmium (7,6 – 10 - 15 ppm) ont estimé la concentration létale 50 après 12h d'exposition à 11,59 ppm avec un intervalle de confiance de 8,77 - 15,31 alors que la concentration létale 90 est de 20,27 ppm pour un intervalle de confiance de 14,64 - 28,05. Après 24h d'exposition les CL50 et CL90 ont été estimées à 8,91 ppm et 14,37 ppm avec un intervalle de confiance de 6,85 - 11,58 et 10,73 - 19,24 respectivement. Ceci est en accord avec les résultats obtenus par Neuberger-Cywiak *et al.* (2002) qui ont obtenu après 48h d'exposition au cadmium une CL50 de 7,6 ppm avec un intervalle de confiance de 5,6 - 10,0 et une CL50 de 3,8 ppm pour un intervalle de confiance de 1,0 - 5,6 après 96h d'exposition.

D'autres espèces de mollusques bivalves exposés au même métal lourd ont fait l'objet d'essais toxicologiques afin de déterminer leurs CL50, par exemple les travaux menés par Yap. (2004) révèlent une CL50 de 1,53 mg/l chez *Perna viridis* après 24h d'exposition alors qu'elle est de 0,39 mg/l chez *Argopecten ventricosus* (Sobrino-Figueroa *et al.*, 2007), 0,71 mg/l chez la *Mytilopsis sallei* (Uma Devi, 1996) et à 0,15 mg/l chez *Mya arenaria* après 168 jours d'exposition au cadmium (Eisler, 1977). Après 96h d'exposition la CL50 a été estimée chez le vers *Polychaete perinereis aibuhitensis Grube* à 2500µg/l (Uma Devi, 1996).

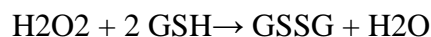
4.4. Aspect biochimique

. Taux du glutathion réduit

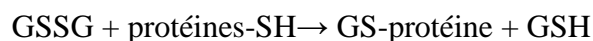
Le glutathion est un tripeptide (L-γ-glutamyl-L-cystéinyl glycine) qui joue un rôle central dans les processus de défense antioxydant intracellulaire (Arrigo, 1999; Sies, 1999). C'est un antioxydant non enzymatique qui va, en piégeant les radicaux libres, intervenir à divers degrés en complément des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



L'anion superoxyde sera pris en charge par la superoxyde dismutase. Il y a coopération entre les deux mécanismes. Le GSH intervient également comme substrat des glutathions peroxydases en tant que donneur d'hydrogène.



Le glutathion est également impliqué dans le métabolisme des xénobiotiques. Il intervient dans la réaction catalysée par le glutathion-S-transférase où il est couplé au xénobiotique. Sous sa forme oxydée (GSSG), il peut réagir avec les molécules présentant un groupement -SH. Les protéines sont la cible de cette réaction.



Cette réaction est à l'origine de l'inactivation des enzymes ou de leur perte de stabilité. Ceci pourrait expliquer le fait que la cellule tente à conserver un faible taux de GSSG dans les conditions physiologiques et que certains organes tel que le foie, éliminent le GSSG en cas de stress oxydant (Cossu *et al.* 1997).

Nos résultats révèlent que le malathion administré dans l'eau d'élevage de *D. trunculus* provoque une diminution du taux de glutathion après 24h d'exposition. En accord avec nos résultats la diminution du GSH a été observée par Da Silva *et al.* (2008) au niveau du cortex préfrontal d'une souris traitée avec 1g/kg après 3h d'exposition. La diminution du taux de GSH a été observée chez la dorade *Gilthead Sparus aurata* après 24h d'exposition à 0,4 mg/l de malathion (Rosety *et al.*, 2005) et au niveau des tubules malpighian du criquet *Acheta domesticus* (Neufeld *et al.*, 2005) ainsi que chez l'hippocampe exposé à différentes concentrations de malathion (Brocardo *et al.*, 2005). D'autres travaux ont montré la réduction du taux de glutathion chez les rats et les embryons de crapaud exposés à 20 ppm pendant 96h. (Hazarika *et al.*, 2003).

Concernant le cadmium administré dans l'eau d'élevage de *D. trunculus*, il provoque une diminution du taux de GSH dosé au niveau du manteau après 12 h d'exposition, ce taux continue à diminuer jusqu'à la fin du traitement (24h). En accord avec nos résultats la diminution du GSH a été observée après une exposition au cadmium par, Ringwood *et al.* (2004) dans la glande digestive de *Crassostrea virginica*, par Ringwood *et al.* (2000) dans l'hépatopancréas de la même espèce après 4h d'exposition et au niveau de l'hépatopancréas du crabe d'eau douce *Sinopotamon yangtsekiende* (Wang *et al.*, 2008). D'autres travaux ont montré que le taux de GSH diminue significativement chez les rats traités au cadmium avec 1,5 mg/100g de poids corporel pendant sept jours (Ola-Mudathir, 2008). Cependant, quelques études ont montré une augmentation du taux de GSH après administration du cadmium tel qu'il a été observé au niveau de la glande digestive de *Mytilus galloprovincialis* traité à 200 µg/l (Viarengo *et al.*, 1999; Regoli & Principato, 1995) et au niveau du foie de la truite arc-en-ciel (Aït-Aïssa *et al.*, 2003).

Concernant les dosages effectués sur les individus issus des deux sites d'échantillonnage, les résultats obtenus montrent, dans l'ensemble, une diminution de la

teneur en GSH dans le site de Sidi Salem comparativement à El-Battah, cela est peut être dû à une pollution provenant de l'usine FERTIAL. Ces résultats viennent confirmer les travaux réalisés par Amira (2007) qui a signalé une diminution du taux de GSH chez *D. trunculus* collectés à Sidi Salem comparativement à ceux collectés à El-Battah. Plusieurs travaux confirment les résultats obtenus et aident à mieux expliquer la relation entre la diminution du taux de GSH et le niveau de contamination du milieu; ceci a été observé par Gorbi *et al.* (2008) chez la moule, *Mytilus galloprovincialis* transplantée près de la plateforme offshore en mer adriatique et exposée à des sédiments pollués par les métaux lourds. Prakash *et al.* (1995) ont démontré une réduction du taux de GSH chez *Perna viridis* exposée aux métaux lourds et chez la même espèce en contact avec les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les pesticides organochlorés (Richardson *et al.*, 2008). Les travaux conduits par Coffinet *et al.* (2008) sur le mollusque bivalve *Unio tumidus* ont montré une diminution du taux de GSH lorsque celui-ci est exposé au méthacrylate de méthyle dans les eaux de la rivière du Gave de Peau (France). Le glutathion a été également réduit chez *Perna viridis* au contact du mercure (Verlecar *et al.*, 2008).

. Activité de la glutathion S-transférase

La glutathion S-transférase (GST) est une enzyme de phase II qui catalyse, dans le cytosol, la réaction de conjugaison des xénobiotiques à caractère électrophile et de leurs métabolites un ligand endogène polaire qui est le glutathion (Habig *et al.*, 1974). L'addition se fait soit directement sur les groupements fonctionnels du xénobiotique et dans ce cas, la molécule est directement métabolisée par la GST, soit, lorsque la molécule ne possède pas de fonction qui permette cette réaction sur les groupements hydrophiles générés par l'action préalable des monooxygénases à cytochrome P450. La GST joue donc un rôle majeur dans la neutralisation et la détoxification de certains xénobiotiques en augmentant leur hydrosolubilité et en facilitant ainsi leur élimination (Van der Oost *et al.*, 2003). La GST participe au transport intracellulaire de certains composés comme les hèmes, la bilirubine et les acides biliaires. En marge de la GST cytosolique qui est impliquée dans la détoxification des composés électrophiles, il a été mis en évidence l'existence d'une forme membranaire de la GST. Cette isoenzyme qui est activée par les espèces réactives de l'oxygène que sont les

peroxydes d'oxygènes et l'anion superoxyde, participe à la protection cellulaire vis-à-vis des dommages induits par des molécules oxydantes (Anyas & Anders, 1989). La GST microsomale participe également à la détoxification des produits réactifs issus de la lipopéroxydation (Berhane *et al.*, 1994). Il a été mis en évidence, chez des truites exposées à des polluants, l'existence d'une corrélation négative entre l'activité de la GST cytosolique et celle de la GST membranaire. Ce résultat pourrait être expliqué par l'inhibition de la GST cytosolique suite à un stress oxydant qui augmente l'activité de la GST membranaire (Petrivalsky *et al.*, 1997).

Dans la présente étude, le dosage de la GST dans le manteau de *D. trunculus* traité au malathion, révèle une augmentation de l'activité après 12h, cette induction reste progressive jusqu'à la fin du traitement (24h). La stimulation de cette activité après exposition au malathion a été observée également après 28 jours par Naraharisetti *et al.* (2008) dans le foie des rats traités avec 500 ppm, par Matambo *et al.* (2007) chez *Anopheles arabiensis* Patton. Après 24h de traitement chez les larves d'un insecte lépidoptère *Carposina niponensis* (Zhang *et al.*, 2007) et au niveau du cortex cérébral des rats traités avec 250 mg/kg (Brocardo *et al.*, 2005). D'autres études ont montré l'induction de cette enzyme chez *Aedes aegypti* (Rodríguez *et al.*, 2002) exposé au malathion.

On note également une augmentation progressive de l'activité spécifique de la GST chez *D. trunculus* traitée avec le cadmium à partir de 12 heures et jusqu'à 24h d'exposition. L'augmentation de l'activité GST après traitement est une forme de défense qui se traduit par la détoxification du cadmium dans l'organisme. Dans cette étude l'augmentation de la GST est accompagnée d'une diminution du taux de GSH, ce qui suggère que le métal lourd conjugué par le GSH est démenagé par la GST dans le but de diminuer son effet toxique (Chatterjee & Bhattacharya, 1984). La stimulation de l'activité GST après administration du cadmium a été aussi observé par Pempkowiak *et al.*, (2006) chez *Mytilus trossulus* traité avec 50 µg/l pendant 2 semaines, dans la glande digestive de *Mytilus edulis* traité avec 400 µg/l après 20 jours d'exposition (Ciocan *et al.*, 2004) et chez le métazoaire nématode, *Caenorhabditis elegans* (Roh *et al.*, 2006). De plus Ola-Mudathir *et al.* (2008) ont montré une induction de l'activité de la GST chez les rats traités avec 1,5 mg/100g de poids corporel durant 7 jours, chez *Daphnia magna* traité avec 25 µg/l (Jemec *et al.*, 2007), ainsi que dans le

foie de la daurade *Sparus aurata* exposée pendant 48h à 200 µg/kg de cadmium (Bouraoui *et al.*, 2008).

Concernant les dosages effectués sur *D. trunculus* de septembre 2007 à août 2008, les valeurs les plus élevées sont observées chez les individus collectés à Sidi Salem. Ceci est en accord avec les résultats obtenus par Chouahda (2006) sur la même espèce. L'augmentation de la GST peut être engendrée par plusieurs facteurs, tel que: La température, le pH, l'oxygène, et par le niveau de pollution, comme elle peut être liée au cycle de reproduction (Halla *et al.*, 1997). Abbas (2004), a observé l'augmentation de la GST chez deux espèces de bivalves, la coque et la palourde au niveau de la station sud du lac El Mellah par rapport à la station Est, ceci serait selon l'auteur en rapport avec la contamination du milieu. L'induction de l'activité de la GST a été observée par Leiniö *et al.* (2005) chez *Perna viridis* exposé aux hydrocarbures aromatiques polycycliques et aux pesticides organochlorés et par Yao *et al.* (2002) chez l'insecte ravageur du riz *Sogatella furcifera* récolté au niveau du site pollué de Zhejiang (Chine). La stimulation de l'activité GST a été aussi constatée par Canesi *et al.* (2007) chez *Mytilus sp* exposée aux eaux usées. L'augmentation de cette activité a été également démontrée chez le crabe *Carcinus maenas* récolté sur la côte espagnole polluée par les hydrocarbures (Morales-Caselle *et al.*, 2008) et chez *Mytilus edulis* échantillonné sur la côte Ouest canadienne (Gagné *et al.*, 2008). De plus Quiniou *et al.* (2007) ont démontré une induction de l'activité GST chez les larves de *Crassostrea gigas* transplantées au port d'Arcachon (côte atlantique française).

. Activité de l'acétylcholinestérase

Au niveau des jonctions neuromusculaires et interneuronales, l'influx nerveux est transmis grâce à la libération d'acétylcholine, par la terminaison nerveuse, dans l'espace synaptique où elle va se fixer sur l'un des récepteurs cholinergiques de la membrane post-synaptique. L'interaction entre l'acétylcholine et le récepteur induit une dépolarisation de la membrane et la transmission de l'influx nerveux. Le système retrouve son état de repos suite à l'inactivation de l'acétylcholine par une enzyme responsable de son hydrolyse: l'acétylcholinestérase (AChE). Toutefois, l'inhibition de l'AChE provoque une accumulation de l'acétylcholine dans l'espace synaptique et une dépolarisation permanente de la membrane.

De nombreuses molécules sont connues pour leur capacité à inhiber *in vitro* ou *in vivo*, l'activité AChE; parmi elles, les composés organophosphorés et les carbamates sont des inhibiteurs historiques. Les métaux sont aussi des inhibiteurs d'AChE du fait de leur capacité à induire un changement conformationnel de l'enzyme. Toutefois cet effet qui est non spécifique nécessite une exposition à des concentrations métalliques très élevées par rapport aux concentrations retrouvées dans l'environnement. Du fait du rôle central joué par l'AChE dans la transmission de flux nerveux et la perturbation de cette activité par différents contaminants environnementaux, cette enzyme est largement utilisée comme biomarqueur chez différentes espèces (Payne *et al.*, 1996; Flammarion *et al.*, 2002; Corsi *et al.*, 2003). En plus de la description du potentiel neurotoxique, il existe une relation entre le taux d'inhibition et des effets délétères au niveau comportemental. Il apparaît que des organismes aquatiques dont le taux d'inhibition est supérieur à 60 % présentent aussi des perturbations du comportement (Cooper & Bidwell, 2006; Venkaeswara *et al.*, 2006; Kavitha & Venkateswara, 2007), les répercussions écologiques non négligeables de ces résultats renforcent donc l'intérêt qui est porté à l'AChE en tant que biomarqueur de neurotoxicité.

Les résultats obtenus montrent une inhibition de l'activité acétylcholinestérase chez les individus exposés au malathion. Des résultats similaires ont montré que le traitement aux insecticides organophosphorés diminue l'activité de l'AChE après 24h d'exposition au niveau de l'hémolymphe de la moule bleue *Mytilus edulis* (Rickwood *et al.*, 2004). Da Silva *et al.* (2008) ont observé également une diminution de cette activité chez les souris traitées avec 1g/kg de malathion après 3h d'exposition, chez la même espèce Da Silva *et al.* (2006) ont observé une diminution de l'activité après un traitement avec 200 mg/kg de malathion. De plus Trevisan *et al.* (2008) ont remarqué une inhibition de cette activité au niveau du cerveau des rats exposés à 100 mg/kg/jours de malathion pendant 3 jours. Selon Brocardo *et al.* (2005) L'exposition de l'hippocampe et le cortex cérébral des rats à 250 mg/kg de malathion provoque une diminution de l'AChE.

L'analyse des résultats obtenus après dosage de l'activité acétylcholinestérase dans le manteau de *D. trunculus* traité avec du cadmium à différentes concentrations révèle une inhibition de cette enzyme après 12h d'exposition et jusqu'à la fin du traitement (24h). Cette diminution a été également observée après traitement au cadmium par Stefano *et al.* (2008)

chez le bivalve *Pecten jacobaeus* et par Wang *et al.* (2007) chez les polychètes *Perinereis aiubhitensis* Grube après 10 jours d'exposition. L'inhibition de cette enzyme par le même métal lourd a été aussi observée chez *Daphnia magna* (Jemec *et al.*, 2007) et dans le cerveau des rats exposés pendant 3 semaines à 3 mg/kg/jours (Pari *et al.*, 2007), ainsi que chez les rats exposés pendant 14 jours à 1 mg/kg/jours (Carageorgiou *et al.*, 2005).

L'analyse des résultats obtenus après dosage de l'activité de l'AChE chez *D. trunculus* échantillonnée au niveau des deux sites dans le golfe d'Annaba sur une durée d'une année, montre que les valeurs les plus faibles ont été observées au niveau du site de Sidi Salem, ceci est probablement lié aux déchets domestiques et industriels et à la teneur en métaux lourds dans le sédiment (Gharssallah, 2002; Drardja-Beldi, 2007). La diminution de l'activité de cette enzyme au niveau de ce site est en accord avec les résultats d'Aouadane (2003) et de Chouahda (2006). De plus, Gorbi *et al.* (2008) ont observé une inhibition de cette activité chez *Mytilus galloprovincialis* exposée aux sédiments pollués par les métaux lourds en mer adriatique central près de la plate forme offshore de gaz. Les travaux de Leiniö *et al.* (2005) sur le mollusque bivalve *Macoma balthica* transplanté dans le nord de la mer Baltique et de Machreki-Ajmi *et al.* (2008) chez *Cerastoderma glaucum* exposé aux métaux lourds dans le golfe de Gabèse montrent une diminution de cette activité. Les mêmes observations ont été constatées par Gaitonde *et al.* (2006) chez le mollusque marin *Cronia contracta* pêché au niveau d'un site hautement contaminé par les métaux lourds Dona Paula, sur la côte Ouest indienne et chez *Hexaplex trunculus* exposée aux métaux lourds (Cd et Cu), au carbofuran et au lindane dans la lagune de Bizerte (Roméo *al.*, 2006).

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Nos expérimentations ont été effectuées dans un premier temps dans le but de déterminer les CL50 et CL90 du malathion et du cadmium additionnés à l'eau d'élevage d'une espèce comestible et bioindiciatrice de la pollution, *Donax trunculus*. Puis évaluer l'effet de l'insecticide et du métal lourd sur trois biomarqueurs, le glutathion (GSH), la glutathion S-transférase (GST) et l'acétylcholinestérase (AChE).

Les essais toxicologiques ont permis de révéler un effet insecticide et métal lourd avec une relation dose-réponse. Les dosages biochimiques montrent quant à eux une diminution du taux de glutathion une induction de l'activité spécifique de la glutathion S-transférase et une inhibition de l'activité acétylcholinestérase chez *D. trunculus* traité au malathion et au cadmium, avec un effet plus marqué de l'insecticide par rapport au métal lourd.

La pollution des eaux du golfe d'Annaba a été évaluée chez *D. trunculus* dans une seconde série d'expérience au niveau de deux sites: El-Battah et Sidi Salem, par un suivi mensuel (de septembre 2007 à août 2008) des paramètres physico-chimiques de l'eau de mer, de la croissance, et des effets sur les biomarqueurs (GSH, GST, AChE).

Les résultats des prélèvements de paramètres physico-chimiques dans les sites retenus sont caractérisés par des fluctuations proches. L'analyse biométrique a permis de révéler deux recrutements pendant la période d'étude, une longueur maximale de 37 mm et une différence dans la croissance mensuelle entre les deux sites. Concernant la mesure des différents biomarqueurs, les résultats obtenus montrent une diminution du taux de GSH, une augmentation de l'activité de la GST et une diminution de l'activité de l'AChE chez les populations de Sidi Salem traduisant un effet de pollution sur ce site.

En perspective, il serait intéressant de développer ces recherches par :

- L'analyse des eaux et du sédiment afin d'évaluer la nature des polluants présents.
- Dosages d'autres biomarqueurs comme le cytochrome P450, la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GSH-Px), la catalase et la métallothionéine afin

d'aboutir à des informations complémentaires sur l'action de cet insecticide et du métal lourd chez *D. trunculus*.

- Le comportement du bioindicateur choisi devrait évidemment être étudié vis-à-vis des autres contaminants chimiques incluant d'autres éléments tracés et pesticides.
- L'étude qualitative et quantitative des effluents de l'usine FERTIAL doit être réalisée afin de pouvoir suggérer une solution raisonnable et définitive pour le traitement des décharges en mer.
- Continuer les tests de toxicité aigue avec des doses plus élevées et déterminer les temps létaux 50 pour différentes expositions (12, 24, 96h).

- Abbes A., 2004.** Variation spatio-temporelle de l'activité de trois biomarqueurs du stress environnemental (AchE, GST et LDH) chez *Ruditapes decussatus* et *Cardium glaucum* (Mollusca, Bivalvia) provenant de la lagune El Mellah. Thèse de Magistère en Biologie Animale option Reproduction et Développement. Université d'Annaba.
- Abbot W. B., 1925.** A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology.*, **18**: 265-267.
- Aït-Aïssa S., Porcher J., Arrigo A. & Lambre C. 2000.** Activation of the hsp70 promoter by environmental inorganic and organic chemicals: relationships with cytotoxicity and lipophilicity. *Toxicology.*, **145**: 147-157.
- Aït-Aïssa S., 2003.** Réponses multi-biomarqueurs chez des poissons exposés à des métaux, seuls ou en mélange. Journée de la SFRP section Environnement, Paris, 15 Septembre 2003. Présentation invitée.
- Aït-Aïssa S., Palluel O. & Porcher J-M., 2003.** Biomarqueurs précoces d'écotoxicité. INEIS, rapport final DRS 00-102., 49 p.
- Alvarez M. R., Friedl F. E., Johnson J. S. & Hinsch G. W. 1989.** Factors affecting in vitro phagocytosis by oyster hemocytes. *Journal of Invertebrate Pathology.*, **54**: 233-241.
- Aker WG., Hu X., Wang P., Hwang HM., 2008.** Comparing the relative toxicity of malathion and malaoxon in blue catfish *Ictalurus furcatus*. *Environ Toxicol.*, **23**: 548-54.
- AMIRA A., 2007.** Evaluation du stress environnemental chez *Donax trunculus* : Mesure de biomarqueurs (GSH et MDA) et corrélation avec le métabolisme lipido-glucidique durant la période de reproduction au niveau du Golfe d'Annaba. Mémoire de Magistère en Biologie et physiologie Animale Option Reproduction et développement. Université d'Annaba., 79 p.
- Amouroux J. M., 1974.** Etude des peuplements infralittoraux de la côte du Roussillon III. Variations spatiales et saisonnières. *Vie Milieu.*, **24**: 321-354.
- Anderlini V. C., 1990.** The effects of sewage on trace metal concentrations and scope for growth in *Mytilus edulis aoteanus* and *Perna perna* from Wellington Harbor, New Zealand. Paper presented at the International Conference on trace metals in the environment, Sydney (Australia), July 1990. In: *Trace metals in the aquatic environment*. G. E. Batley., **125**: 263-288.
- Anderson R. S., Giam C. S., Ray L. E. & Tripp M. R. 1981.** Effects of environmental pollutants on immunological competency of the clam *Mercenaria mercenaria*: impaired bacterial clearance. *Aquatic Toxicology.*, **1**: 187-195.
- Aniya Y., Anders M., 1989.** Activation of rat liver microsomal glutathione S-transferase by reduced oxygen species. *Journal of Biological chemistry.*, **264**: 1998-2002.

- Ansell A. D. & Bodoy A., 1979.** Comparison of events in the seasonal cycle for, *Dsnax vittatus* and *D. trunculus*. Dans : *Cyclic phenomena in marine plants and animals*, Proc. 7th Euro p. mar. Bisl Symp., Naylor, E. et Hartno, R.G. (Eds). *Pergamon Press, Oxford et New York.*, p. 191-198.
- Ansell A. D., & Lagardère F., 1980.** Observation on the biology of *Donax trunculus* and *Donax vittatus* at ile d'Oleron (French Atlantic Coast). *Mar.Biol.*, **57**: 287-300.
- 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.
- Bansal S. K., Singh K. V., 2004.** Efficacy of different organophosphate and synthetic pyrethroid insecticides to the larvae of malaria vector *Anopheles stephensi*, Liston. *J Environ Biol.*, **25**: 485-8.
- Bainy A.C.D., 2000.** Biochemical responses in peneids caused by contaminants. *Aquaculture.*, **191** : 163- 168.
- 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). *Annal. Inst. Océanogr.*, **61**: 139-147.
- Bayed A., 1998.** Variabilité de la croissance de *Domax trunculus* sur le littoral marocain-CIHEM, options Méditerranéennes., P: 11-23.
- 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 Doctorat d'Etat, Univ. Mohammed V, Rabat., p. 229.
- Bellon-Humbert C., 1962.** Les mollusques marins testacés du maroc. II-Lamellibranches et Scaphopodes. Travaux de l'institut scientifique Chérifi en Série Zoologique Rabat., **28**: 184 p.
- 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.
- Bentaleb F., 2001.** Contribution à l'étude écobioologique de *Donax trunculus* L. Mollusque lamellibranche dans la plage du Chatte (Golfe d'Annaba). Mémoire d'ingénieur d'état en océanologie, option : aquaculture., 48p.
- Berhane K., Widersten M., Engstiom A., Kozarich J., Mannervik B., 1994.** Detoxication of base propenals and other α , β -unsaturated aldehyde products of radical reactions and lipid peroxidation by human glutathione transferases. *Proceedings of the National Academy of Sciences.*, **91** : 1480-1484.

- Biotope P2A Développement., 2007.** Etude Globale sur la telline (*Donax trunculus*-linne 1767) en camargue, par naturel Regional de Camargue, 112 P.et annexes.
- Bocquene G., 1996.** L'acétylcholinestérase, marqueur de neurotoxicité. Application à la surveillance des effets biologiques des polluants chez les organismes marins. Thèse Doctorat, Ecol Pratique des Hautes Etudes., 250 p.
- Bocquene G., Roig A. & Fournier D., 1997.** Cholinesterases from the common oyster (*Crassostrea gigas*). Evidence for the presence of a soluble acetylcholinesterase insensitive to organophosphate and carbamate inhibitors. *FEBS Letters.*, **407**: 261-266.
- Bodoy A., & 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.
- Borchardt T., 1985.** Relationship between carbon and cadmium uptake in *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, **85**:233-244.
- Bougis., 1976.** Océanographie biologique appliquée, l'exploitation de la vie marine. Edition Masson., p.17-23.
- Bouraoui Z., Banni M., Ghedira J., Clerandeanu C., Guerbej H., Narbonne J. F.,**
- Boussetta H., 2008.** Acute effects of cadmium on liver phase I and phase II enzymes and metallothionein accumulation on sea bream *Sparus aurata*. *Fish Physiol Biochem.*, **34**:201-7.
- Bourekba N., 2000.** Données préliminaires sur un Bivalve comestible (*Donax trunculus*, Linnaeus, 1758) de la plage du Chatta (golfe de Annaba). Mémoire d'étude appliquées (DUEA) option biologie de pêches., 34p.
- Boutet I., Tanguy A., Auffret M., Riso R. & Moraga D., 2002.** Immunochemical quantification of metallothioneins in marine mollusks: characterization of a metal exposure bioindicator. *Environmental Toxicology and Chemistry.*, **21**: 1009-1014.
- Bradford M. M., 1976.** A rapid and sensitive methods for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal.Biochem.*, **72**: 278-254.
- Brocardo P. S., Pandolfo P., Takahashi R. N., Rodrigues A. L., Dafre A. L., 2005.** Antioxidant defenses and lipid peroxidation in the cerebral cortex and hippocampus following acute exposure to malathion and/or zinc chloride. *Toxicology.*, **207**: 283-91.
- Brousseau P., Pellerin J., Morin Y., Cyr D., Blakley B., Boermans H. & Fournier M., 2000.** Flow cytometry as a tool to monitor the disturbance of phagocytosis in the clam *Mya arenaria* hemocytes following in vitro exposure to heavy metals. *Toxicology.*, **142**: 145-156.

- Camus L., Grosvik B. E., Borseth J. F., Jones, M. B. & Depledge, M.H. 2000.** Stability of lysosomal and cell membranes in haemocytes of the common mussel (*Mytilus edulis*): effect of low temperatures. *Marine Environmental Research.*, **50**: 325-329.
- Canesi L., Lorusso L. C. Ciacci C., Betti M., Regoli F., Poiana G., Gallo G., Marcomini A., 2007.** Effects of blood lipid lowering pharmaceuticals (bezafibrate and gemfibrozil) on immune and digestive gland functions of the bivalve mollusc, *Mytilus galloprovincialis*. *Chemosphere.*, **69**: 994-1002.
- Carageorgiou H., Tzotzes V., Sideris A., Zarros A., Tsakiris S., 2005.** Cadmium effects on brain acetylcholinesterase activity and antioxidant status of adult rats: modulation by zinc, calcium and L-cysteine co-administration. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.*, **97**: 320-4.
- Chambost-Manciet Y., 2002.** Ampleur et effets biologiques de la contamination métallique (Cd, Cu, Fe, Pb et Zn) des sédiments en Mer du Nord. Utilisation de l'étoile de mer *Asterias rubens* (L.) comme bioindicateur et biomarqueur (mémoire). Université Libre de Bruxelles.
- Chatterjee S. & Bhattacharya S., 1984.** Detoxification of industrial pollutants by the glutathione S-transferase system in the liver of *Anabas testudineus* (Bloch). *Toxicol. Lett.*, **22**: 187-198.
- Chouahda S., 2006.** Impact de deux xénobiotiques (cadmium et halofenozide) sur *Gambusia affinis* et évaluation du stress environnemental dans le golfe d'ANNABA par l'utilisation de *Donax trunculus*. Thèse de Magistère en Biologie et physiologie Animale option Ecotoxicologie Animale Appliquée Université d'Annaba., 76p.
- Chu-F L. E. & La Peyre J. F., 1993.** *Perkinsus marinus* susceptibility and defense-related activities in eastern oysters *Crassostrea virginica*: Temperature effects. *Diseases of Aquatic Organisms.*, **16**: 223-234.
- Ciocan C. M., Rotchell J. M., 2004.** Cadmium induction of metallothionein isoforms in juvenile and adult mussel (*Mytilus edulis*). *Environ Sci Technol.*, **38**:1073-8.
- Coffinet S., Cossu-Leguille C., Bassères A., Gonnet J. F., Vasseur P., 2008.** Response of the bivalve *Unio tumidus* and freshwater communities in artificial streams for hazard assessment of methyl methacrylate. *Environ Toxicol Chem.*, **27**: 1371-82.
- Cooper R. U., Clough L. M., Farwell M. A., West T. L., 2002.** Hypoxia-induced metabolic and antioxidant enzymatic activities in the estuarine fish *Leiostomus xanthurus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.*, **279** :1- 20.
- Corporeau C. & Auffret M. 2003.** In situ hybridisation for flow cytometry: a molecular method for monitoring stress gene expression in hemolymph cells of oysters. *Aquatic Toxicology.*, **64**: 427-435.

- Corsi I., Mariottini M., Sensini C., Lancini L., Focardi S., 2003.** Cytochrome P450, acetylcholinesterase and gonadal histology for evaluating contaminant exposure levels in fishes from a highly entropic brackish ecosystem: the Orbetello lagoon, Italy. *Marine Pollution Bulletin.*, **46**: 203-212.
- Cossa D., Lassus P., 1985.** Le cadmium en milieu marin. Biogéochimie et écotoxicologie. Editions Ifremer, Plouzané, France: 26p.
- Curtes JP., Develay P., Hubert J-P., 1981.** Late peripheral neuropathy due to an acute voluntary intoxication by organophosphorus compounds. *Clin Toxicol.*, **18**: 1453-1462.
- Cooreman K., Roose P. & Vyncke W. 1993.** Screening of organophosphate and carbamate pesticides by cholinesterase inhibition. In: Committee, I.M.E.Q. (ed) ICES Statutory Meeting 1993. ICES, Copenhagen., 7pp.
- Dally S., Fournier E., Cambier J., 1976.** Neurophathie périphérique probablement due aux insecticides anticholinestérasiques. *Nov Press Med.*, **5**: 718.
- Dally S., Danan M., Fournier E., 1983.** Toxicité des insecticides organiques : progrès récents. *Arch Mal Prof.*, **44**: 389-398.
- Damiers G., His E., Grassia-Barelli M., Quiniou F., Roméo M., 2004.** Evaluation of biomarkers in oyster larvae in natural and polluted conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C.*, **138**: 121-128.
- De Guise S., Maratea J., Perkins C., 2004.** Malathion immunotoxicity in the American lobster (*Homarus americanus*) upon experimental exposure. *Aquat Toxicol.*, **66**: 419-25.
- Derbal F. & Kara M. H., 2001.** Inventaire des poissons des côtes de l'Est Algérien. *Pub. Rapp. Com. Int. Mer. Médit.*, **36**, 2001.
- Da Silva A. P., Meotti F. C., Santos A. R., Farina M., 2006.** Lactational exposure to malathion inhibits brain acetylcholinesterase in mice. *Neurotoxicology.*, **27**:1101-5.
- Da Silva A. P., Farina M., Franco J. L., Dafre A. L., Kassa J., Kuca K., 2008.** Temporal effects of newly developed oximes (K027, K048) on malathion-induced acetylcholinesterase inhibition and lipid peroxidation in mouse prefrontal cortex. *Neurotoxicology.*, **29**:184-9.
- Dharmagadda V. S., Naik S. N., Mittal P. K., Vasudevan P., 2005.** Larvicidal activity of *Tagetes patula* essential oil against three mosquito species. *Bioresour Technol.*, **96**: 1235-40.
- Dotan Y., Lichtenberg D., Pinchuk I., 2004.** Lipid peoxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Progress in Lipid Reasearch.*, **43**: 200-227.
- Drardja-Beldi H., 2007.** 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.

- Eisler R., 1977.** Acute toxicities of selected heavy metals to the softshell clam, *Mya arenaria*. *Bull Environ Contam Toxicol.*, **17**:137-45.
- Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V., Featherstone R.M. Biochem., 1961.** *Pharm.*, **7**: 88-95.
- Finney D. J., 1971.** Probit analysis (3rd edn) *Cambridge University Press*, London.
- Flammarion P., Noury P., Garric J. 2002.,** The measurement of cholinesterase activities as a biomarker in chub (*Leucinus cephalus*): the fish length should not be ignored. *Environmental Pollution.*, **120** :325-330.
- Fournier E. & Bonderf J., 1983.** Les produits antiparasitaires à usage agricole. Technique et documentation Lavoisier., Paris.
- Fisher R. A. & Yates., 1957.** Statical tables for biological agricultural and medical research. 5^{ème} édition, *Olivier et Boyd*. London., PP.64-66.
- Fisher W. S., Auffret M. & Balouet G., 1987.** Response of European flat oyster (*Ostrea edulis*) hemocytes to acute salinity and temperature changes. *Aquaculture.*, **67**: 179-190.
- Fisher W., Bauchat M.L. F Schneider M., 1987.** Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche, Méditerranéen et en mer noire. Zone de pêche 37. Volume 1 : Végétaux et invertébrés. FAO/CEE., 76pp.
- Fisher S.W., 1988.** Environmental influence on host response: environmental influence on bivalve hemocyte function. *American Fisheries Society Special Publication.*, **18**: 225-237.
- Fulton M. & Key P. B., 2001.** Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry.*, **20**: 37-45.
- Gabbott P. A., 1975.** Storage cycle in marine Bivalve molluscs: a hypothesis concerning the relationship between glycogen metabolism and gametogenesis. In: Proceedings 9th Europ. Mar. Biol. Symp, by Barnes, H., ed. Aberdeen University Press., 191-211.
- Gabbott P. A., 1983.** Developmental and seasonal metabolic activities in marine molluscs. In: The Mollusca. Vol. 2., by Hochachka, P.W., ed. New York, Academic Press., 165-217.
- Gagné F., Burgeot T., Hellou J., St-Jean S., Farcy E., Blaise C., 2008.** Spatial variations in biomarkers of *Mytilus edulis* mussels at four polluted regions spanning the Northern Hemisphere. *Environ Res.*, 107:201-17.

- Gagniaire B., 2005.** Etude des effets de polluants sur les paramètres hemocytaires de l'huitre creuse, *Crassostrea gigas*-interaction entre environnement, mecanismes de defense et maladies infectieuses.Thèse de doctorat option : Océanologie Biologique et Environnement Marin., 377pp.
- Gaitonde D., Sarkar A., Kaisary S., Silva C.D., Dias C., Rao D. P., Ray D., Nagarajan R., De Sousa S. N., Sarker S., Patill D., 2006.** Acetylcholinesterase activities in marine snail (*Cronia contracta*) as a biomarker of neurotoxic contaminants along the Goa coast, West coast of India. *Ecotoxicology.*, **15**: 353-8.
- Galloway T. S. & Depledge M. H., 2001.** Immunotoxicity in invertebrates: measurement and ecotoxicological relevance. *Ecotoxicology.*, **10**: 5-23.
- Galloway T. S., Millward N., Browne M. A. & Depledge M. H. 2002.** Rapid assessment of organophosphorous/carbamate exposure in the bivalve mollusc *Mytilus edulis* using combined esterase activities as biomarkers. *Aquatic Toxicology.*, **61**: 169-180.
- Galtsoff, P. C., 1964.** The American oyster *Crassostrea virginica* (Gemlin). *Fishery Bulletin of the Fish and Wildlife Service.*, **64**: 1-480.
- Gosling E., 1992.** Systematics and geographic distribution of *Mytilus*. In: The mussel *Mytilus*: ecology, physiology, genetics and culture, by Gosling, E., ed. Developpments in Aquaculture and Fisheries Science, vol.25. Amsterdam, Elsevier, Amsterdam., 1-20p.
- 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.
- Geret F., Jouan A., Turpin V., Bebianno M. J. & Cosson R. P. 2002.** Influence of metal exposure on metallothionein synthesis and lipid peroxidation in two bivalve mollusks: the oyster (*Crassostrea gigas*) and the mussel (*Mytilus edulis*). *Aquatic Living Resources.*, **15**: 61-66.
- Gharsallah Z., 2002.** Evaluation de la pollution du littoral d'Annaba : qualité microbiologique de l'eau et teneur en métaux lourds du sédiment supericiel. Mémoire de magistère en Biologie Marine et physiologie des organismes Marin.
- Gimenez M., 1999.** Evaluation de la répartition du gisement de *Donax trunculus* L dans le golfe de Beauduc. Rapport de stage de Deust Gen. Centre universitaire d'Arles, Réserve Nationale de camargue, SNEN., 23p et annexes.
- Gorbi S., Virno Lamberti C., Notti A., Benedetti M., Fattorini D., Moltedo G., Regoli F., 2008.** An ecotoxicological protocol with caged mussels, *Mytilus galloprovincialis*, for monitoring the impact of an offshore platform in the Adriatic Sea. *Mar Environ Res.*, **65**: 34-49.
- Grimes., 1994.** Contribution à la connaissance des populations de *Cardium glaucum* (Bruguère., 1789), *Lorupes lacteurs* (Lirmaly) du lac El-Mellah (El-Kala, Algérie).

Ecologie et Dynamique. Thèse de Magister institut des sciences de la mer et de l'aménagement du littoral. ISMAL (Alger), 221pp et annexes.

- Guillou J. & 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**: 55-64.
- Guillou J. & Bayed A., 1991.** Contraintes du milieu sur les populations de *Donax trunculus* L. et *D. venustus* Poli du littoral atlantique marocain. *Oceanologica acta.*, **4**: 291-298.
- Habes D., Morakchi S., Aribi N., Farine J.P. & Soltani N., 2006.** *Pest.Biochem.Physicol.*, **84**: 17-24.
- Habig W.H., Jakobby W.B & Ketley J.N., 1965.** Glutathione S-transferase (rat and human). *Meth.Enzymol.*, **77**: 218-231.
- Habig W.H., Pabst M.J & Jacobi W.B., 1974.** The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. chem.*, **249**: 7130-7139.
- Halla M., Bhaimi A., Narbonne J., Mathieu M. & Moukrim A., 1997.** Etude du cycle de reproduction de deux espèces de moules *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis* dans la baie d'Agadir (sud du Maroc). *Haliothis.*, **26**: 51-62.
- Halliwell B., Gutteridge J. M. C., 1999.** Free radicals in biology and medicine. *Oxford University Press.*, 936 pp.
- Hamdani A., 2007.** Caractérisation biochimique des populations de *Donax trunculus* vivant dans deux sites du golfe d'Annaba : Dosage des acides nucléiques et analyse qualitative et quantitative des protéines. Thèse de Magistère en Biologie Animale option Ecologie Animale Université d'Annaba., 79p.
- Harford A. J., O'Halloran K., Wright P.F.A., 2006.** Flow cytometric analysis and optimization for measuring phagocytosis in three Australian freshwater fish. *Fish & shellfish Immunology.*, **20**: 562-573.
- Hazarika A., Sarkar S. N., Hajare S., Kataria M., Malik J. K., 2003.** Influence of malathion pretreatment on the toxicity of anilofos in male rats: a biochemical interaction study. *Toxicology.*, **185**: 1-8.
- Hegaret H., Wikfors G.H. & Soudant, P. 2003.** Flow cytometric analysis of haemocytes from eastern oysters, *Crassostrea virginica*, subjected to a sudden temperature elevation II. Haemocyte functions: aggregation, viability, phagocytosis, and respiratory burst. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.*, **293**: 249-265.
- Hinck J. E., Blazer V.S., Deuslow N.D., Echols E.R., Gross T. S., May T.W., Anderson P. J., Coyle J.J., Tillitt D.E., 2007.** Chemical contaminants, health indicators and reproductive biomarker responses in fish from the Colorado River and its tributaries. *Science of the Total Environment.*, **378**: 376-402.

- HSDB., 1998.** Hazardous Substances Data Bank. Us National Library of Medicine in Chem Source / Référence CHIMIE (CD-ROM). CCHST (Centre Canadien D'hygiène Et De Sécurité Au Travail), Hamilton, Ontario.
- Jemec A., Drobne D., Tisler T., Trebse P., Ros M., Sepčić K., 2007.** The applicability of acetylcholinesterase and glutathione S-transferase in *Daphnia magna* toxicity test. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.*, **144**: 303-9.
- Kammenga J.E., Dallinger R., Donker M.H., Kohler H. R., Simonsen V., Triebkorn R. and Weeks J. M., 2000.** Biomarkers in terrestrial invertebrates for ecotoxicological soil risk assessment. In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, Vol 164*. G. W. Ware (Eds.). 175 Fifth Ave/New York/NY 10010/USA, Springer-Verlag., 93-147.
- Kavithan P., Venkateswara Rao, J. 2007.,** Poxidative stress and locomotor behaviour reponse as biomarkers for assessing recovery status of mosquito fish, *Gambusia affinis* after lethal effect of an organophosphate pesticide, monocrotophos. *Pesticide Biochemistry and Physiology.*, **87** :182-188.
- Khammar H., 2007.** Caractères chimiques des effluents urbains introduits au littoral d'Annaba. Mémoire de magister. Univ. Annaba., 49pp.
- Khélifi-Touhami M., Ounissi M., Saker I., Haridi A., Djorfi S. & Abdenour C., 2006.** The hydrology of the Mafrag estuary (Algeria): Transport of inorganic nitrogen and phosphorus to the adjacent coast. *Journal of food, agriculture and environment.*, **4**: 340-346.
- Kreimer D.I., Golginova E.A., Raves M., Sussman J. L., Silman I., Weiner L., 1994.** A metastable state of *Torpedo californica* acetylcholinesterase generated by modification with organomercurials. *Biochemistry.*, **33**: 14407-14418.
- Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C. and Ramade F., 1997.** Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects fondamentaux. Paris, Masson.
- Lane T. W., Morel F. M. M., 2000.** "A biological function for cadmium in marine diatoms." *Proceedings of the National Academy of Sciences.*, **97**: 4627 - 4631.
- Larson K. G., Roberson B. S. & Hetrick F. M. 1989.** Effect of environmental pollutants on the chemiluminescence of hemocytes from the American oyster *Crassostrea virginica*. *Diseases of Aquatic Organisms.*, **6**: 131-136.
- Leiniö S., Lehtonen K. K., 2005.** Seasonal variability in biomarkers in the bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma balthica* from the northern Baltic Sea. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.*, **140**: 408-21.
- Lopez-Barea J. & Pueyo C., 1998.** Mutagen content and metabolic activation of promutagens by molluscs as biomarkers of marine pollution. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis.*, **399**: 3-15.

- Lucas A., 1965.** Recherche sur la sexualité des Mollusques Bivalves.
Thèse, Rennes, 135p. 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 science Biologiques mention Océanographie., 130pp.
- Machreki-Ajmi M., Ketata I., Ladhar-Chaabouni R., Hamza-Chaffai A., 2008.** The effect of in situ cadmium contamination on some biomarkers in *Cerastoderma glaucum*. *Ecotoxicology.*, **17**:1-11.
- Manca-Zeichen M., Agnes S., Mariani A., Maccaroni A. & Ardizzone G. D., 2001.** Biologie and population dynamics of *Donax tunculus* L. (Bivalvia; Donacidae) in the south adriatic coast (Italy). *Estaine, Costal and Shel Science.*, **56**: 345-358.
- Marchi B., Burlando B., Moore M. N. & Viarengo A., 2004.** Mercury- and copper-induced lysosomal membrane destabilisation depends on [Ca²⁺] dependent phospholipase A2 activation. *Aquatic Toxicology.*, **66**: 197-204.
- Matambo T. S., Abdalla H., Brooke B. D., Koekemoer L. L., Mnzava A., Hunt R. H., Coetzee M., 2008.** Insecticide resistance in the malarial mosquito *Anopheles arabiensis* and association with the kdr mutation. *Med Vet Entomol.*, **21**: 97-102.
- Matozzo V., Ballarin L., Pampanin D. M. & Marin M. G., 2001.** Effects of copper and cadmium exposure on functional responses of hemocytes in the Clam, *Tapes philippinarum*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology.*, **41**: 163-170.
- Maul J. D., Farris J. L., Lydy M. J., 2006.** Interaction of chemical cues from fish tissues and organophosphorous pesticides on *Ceriodaphnia dubia* survival. *Environ Pollut.*, **141**: 90-7.
- Minie L., Eufemia N., Epel D., 1999.** The multi-xenobiotic resistance phenotype as a tool to biomonitor the environment. *Biomarkers.*, **4**.
- Mora P., Fournier D. & Narbonne J-F. 1999.** Cholinesterases from the marine mussels *Mytilus galloprovincialis* Lmk. and *M. edulis* L. and from the freshwater bivalve *Corbicula fluminea* Muller. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology.*, **122**: 353-361.
- Mora P., Michel X. & Narbonne J-F. 1999.** Cholinesterase activity as potential biomarker in two bivalves. *Environmental Toxicology and Pharmacology.*, **7**: 253-260.
- Morales-Caselles C., Martín-Díaz M. L., Riba I., Sarasquete C., DelValls T. A., 2008.** Sublethal responses in caged organisms exposed to sediments affected by oil spills. *Chemosphere.*, **72**: 819-25.

- 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.
- 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.
- Mouëza M. & Frenkiel-Renault L., 1973.** Contribution à l'étude de la biologie de *Donax trunculus* L. (Mollusques, Lamellibranches) dans l'Algérois : la reproduction. *Cab.Biol.Mar.*, **14**: 261-283.
- Mouëza M. & 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.Biol.Ecol.*, **21**: 211-221.
- Moukrim A., 2004.** *Donax trunculus* as a sentinel species for environmental monitoring of sandy beaches on Moroccan coasts. *B Environ Contam Tox.*, **73**: 674-681.
- Naraharisetti S. B., Aggarwal M., Sarkar S. N., Malik J. K., 2008.** Concurrent subacute exposure to arsenic through drinking water and malathion via diet in male rats: effects on hepatic drug-metabolizing enzymes. *Arch Toxicol.*, **82**: 543-51.
- Neuberger-Cywiak L., Achituv Y. & 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.
- Neuberger-Cywiak L., Achitwo Y., Garcia E. M., 2002.** Effects of Zinc and Cadmium on the Burrowing Behavior, LC50, and LT50 on *Donax trunculus* Linnaeus (Bivalvia, Donacidae). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **70**: 713-722.
- Neufeld D. S., Kauffman R., Kurtz Z., 2005.** Specificity of the fluorescein transport process in Malpighian tubules of the cricket *Acheta domesticus*. *J Exp Biol.*, **208**: 2227-36.
- Nicholson S. 2001.** Ecocytological and toxicological responses to copper in *Perna viridis* (L.) (Bivalvia: Mytilidae) haemocyte lysosomal membranes. *Chemosphere.*, **45**: 399-407.
- Ola-Mudathir K. F., Suru S. M., Fafunso M. A., Obioha U. E., Faremi T. Y., 2008.** Protective roles of onion and garlic extracts on cadmium-induced changes in sperm characteristics and testicular oxidative damage in rats. *Food Chem Toxicol.*
- Orbea A., Fahimi H. D., Cajaraville M. P., 2000.** Immunolocalization of four antioxidant enzymes in digestive glands of mollusks and crustaceans and fish liver. *Histochemistry and cell biology.*, **114**: 393-404.
- Orbea A., Ortiz-Zarragoitia M. & Cajaraville M. P., 2002.** Interactive effects of benzo(a)pyrene and cadmium and effects of di(2-ethylhexyl) phthalate on antioxidant and peroxisomal enzymes and peroxisomal volume density in the digestive gland of mussel *Mytilus galloprovincialis* Lmk. *Biomarkers.*, **7**: 33-48.

- Ounissi M., 2007.** Devenir et incidences des flux de matières continentales enrichissantes et polluantes dans le littoral d'Annaba. Bilan final du projet de recherche ONE SS/MATE/05/04. 11p.
- Pari L., Murugavel P., 2007.** Diallyl tetrasulfide improves cadmium induced alterations of acetylcholinesterase, ATPases and oxidative stress in brain of rats. *Toxicology*, **234**: 44-50.
- Payne J.F., Mathieu A., Melvin W., Fancey L. L. 1996.** Acetylcholinesterase, an old biomarker with a new future? Field trials in association with two urban rivers and paper mill in Newfoundland. *Marine Pollution Bulletin*, **32** :225-231.
- Pempkowiak J., Pazdro K., Kopecka J., Perez E., Sole M., 2006.** Toxicants accumulation rates and effects in *Mytilus trossulus* and *Nereis diversicolor* exposed separately or together to cadmium and PAHs. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.*, **41**: 2571-86.
- Pena-Llopis S., Ferrando M. D. & Pena, J. B. 2002.** Impaired glutathione redox status is associated with decreased survival in two organophosphate-poisoned marine bivalves. *Chemosphere.*, **47**: 485-497.
- Petrivalsky M., Machala M., Nezveda K., Piacha V., Svobodoua Z., Drabech P., 1997.** Glutathion-dependent detoxifying enzymes in rainbow trout liver; search for specific biochemical markers of chemical stress. *Environmental Toxicology and chemistry.*, **16** : 1417-1421.
- Poutiers J.M., 1978.** Contribution n°15-Introduction à l'étude faunistique des bivalves du littoral français : les espèces marines du golfe d'Aigues-Mortes Deuxième partie. CERBAP.
- Prakash N. T., Rao K. S., 1995.** Modulations in antioxidant enzymes in different tissues of marine bivalve *Perna viridis* during heavy metal exposure. *Mol Cell Biochem.*, **146**: 107-13.
- Phibert M., Conso F., Choudat D., 1985.** L'intoxication par les insecticides organophosphorés *Biol.*, **19**: 127-132.
- Quiniou F., Damiens G., Gnassia-Barelli M., Geffard A., Mouneyrac C. Budzinski H., Roméo M., 2007.** Marine water quality assessment using transplanted oyster larvae. *Environ Int.*, **33**: 27-33.
- Ramade F., 1992.** Précis d'écotoxicologie. Collection d'écologie 22, Masson, Paris., P.170-171.

- Ramón M., Abello P. & Richardson C. A., 1995.** Population structure and growth of *Donax trunculus* (Bivalvia: Donacidae) in the western Mediterranean. *Mar. Biol.*, **121**: 665-671.
- Regolie F. & Principato G., 1995.** 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 Toxicol.*, **3**: 141-164.
- Rittschof D. & McClellan-Green P., 2005.** Molluscs as multidisciplinary models in environment toxicology. *Marine Pollution Bulletin.*, **50**: 369-373.
- Roméo M., Gnassia-barelli M., 1988.** *Donax trunculus* and *Venus verrucosa* bioindicators of trace metal concentrations in Mauritanian coastal waters. *Marine as Biology.*, **99**: 223-227.
- Relyea R. A., 2004.** Synergistic impacts of malathion and predatory stress on six species of North American tadpoles. *Environ Toxicol Chem.*, **23**: 1080-4.
- Ren Z., Zha J., Ma M., Wang Z., Gerhardt A., 2007.** The early warning of aquatic organophosphorus pesticide contamination by on-line monitoring behavioral changes of *Daphnia magna*. *Environ Monit Assess.*, **134**:373-83.
- Richardson B. J., Mak E., De Luca-Abbott SB., Martin M., McClellan K., Lam P. K., 2008.** Antioxidant responses to polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in green-lipped mussels (*Perna viridis*): do mussels "integrate" biomarker responses? *Mar Pollut Bull.*, **57**: 503-14.
- Rickwood C. J., Galloway T. S., 2004.** Acetylcholinesterase inhibition as a biomarker of adverse effect. A study of *Mytilus edulis* exposed to the priority pollutant chlorfenvinphos. *Aquat Toxicol.*, **67**: 45-56.
- Roméo M., Gharbi-Bouraoui S., Gnassia-Barelli M., Dellali M., Aïssa P., 2006.** Responses of Hexaplex (*Murex*) *trunculus* to selected pollutants. *Sci Total Environ.*, **359**: 135-44.
- Ringwood A. H., Hoguet J., Keppler C., Gielazyn M., 2004.** Linkages between cellular biomarker responses and reproductive success in oysters *Crassostrea virginica*. *Mar Environ Res.*, **58**: 151-5.
- Rodríguez M. M. Bisset J., Ruiz M., Soca A., 2002.** Cross-resistance to pyrethroid and organophosphorus insecticides induced by selection with temephos in *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) from Cuba. *J Med Entomol.*, **39**: 882-8.
- Rosety M., Rosety-Rodríguez M., Ordonez F. J., Rosety I., 2005.** Time course variations of antioxidant enzyme activities and histopathology of gilthead seabream gills exposed to malathion. *Histol Histopathol.*, **20**: 1017-20.

- Saker I. E., 2007.** Pollutions chimiques par les effluents industriels directs introduits au littoral d'Annaba. Mémoire de magister Univ. Annaba. 34p.
- Salas C., 1987.** Ecologia de los Donacidae (Mollusca, Bivalvia) de la Bahía de Málaga (SE de España). *Inv.Pesa.*, **51**: 67-77.
- Sanchez J. C., 2001.** Wildlife exposure to organophosphorus insecticides. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology.*, **172**: 21-63.
- Sobrino-Figueroa A. S., Cáceres-Martínez C., Botello A.V., Nunez-Nogueira G., 2007.** Effect of cadmium, chromium, lead and metal mixtures on survival and growth of juveniles of the scallop *Argopecten ventricosus* (Sowerby II, 1842). *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.*, **42**:1443-7.
- Théband O., Véron G., Fifas S., 2005.** Incidences des épisodes d'efflorescences de microalgues toxiques sur les écosystèmes et sur les pêcheries de coquillage en baie de Douarnenez. **IFREMER**. 73p et annexes.
- Tomlin C. D. S., 1997.** The Pesticide Manual, a world compendium, 11^e Ed. *The British Crop Protection Council, Farnham, Surrey, UK*, 1606P.
- Sies H., 1999.** Glutathion and its role in cellular functions. *Free Radical Biology and Medicine.*, **27**: 916-921.
- Stegenan J.J., Brouwer M., Richard T. D. G., Förlin L., Fowler B. A., Sanders B. M., Van veld P. A., 1992.** Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effects. In: Huggett R. J., Kimerle R. A., Mehrle P. M., Bergman H.L (Eds), *Biomarkers: biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress. Lewis Publisher, Chelsea.*, p, 235-335.
- Stefano B., Ilaria C., Silvano F., 2008.** Cholinesterase activities in the scallop *Pecten jacobaeus*: characterization and effects of exposure to aquatic contaminants. *Sci Total Environ.*, **392**: 99-109.
- Stien,X., Percic P., Gnassia-Barelli M., Romeo M., Lafaurie M., 1998.** Evaluation of biomarkers in caged fishes and mussels to assess the quality of waters in a bay of the NW Mediterranean Sea. *Environmental Pollution.*, **99**: 339-345.
- Swaroop S., Gibroy A. B. & Uemura K., 1969.** Statistical methods in malaria eradication. Geneva: World Health Organisation.
- 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. 72p.

- Tirard C. T., Grossfeld R. M., Levine J. F. & Kennedy-Stoskopf S. 1997.** Effect of osmotic shock on protein synthesis of oyster hemocytes in vitro. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology.*, **116**: 43-49.
- Trevisan R., Uliano-Silva M., Pandolfo P., Franco J. L., Brocardo P. S., Santos A. R., Farina M., Rodrigues A. L., Takahashi R. N., Dafre AL.,2008.** Antioxidant and acetylcholinesterase response to repeated malathion exposure in rat cerebral cortex and hippocampus. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.*, **102**: 365-9.
- Triebiskon R., Kähler H. R., Honnen W., Schramm M., Adams S. M., Mäller E., 1997.** Induction o heat shock proteins, changes in live ultrastructure and alterations of fish behaviour: are these biomarkers related and are they useul to elect the state o pollution in the field? *Journal of Aquatic Ecosystem Sterss and Recovey.*, **6**: 57-73.
- Uma Devi V., 1996.** Bioaccumulation and metabolic effects of cadmium on marine fouling dressinid bivalve, *Mytilopsis sallei* (Recluz). *Arch Environ Contam Toxicol.*, **31**:47-53.
- Usero J., Morillo J., Garcia I. , 2005.** Heavy metal concentrations in mollusks from the Atlantic coast of southern Spain. *Chemosphere.*, **59**: 1175-1181.
- Van der Oost R., Beyer J. & Vermeulen N. P. E., 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: *a review.* *Environmental Toxicology and Pharmacology.*, **13**: 57-149.
- Venkateswara Rao J., Ghousia Begum., Jakka N. M. K., Srikanth K., Nageswara Rao R., 2006.** Prolonged effects of the insecticide profenofos on locomotor behaviour in the mosquito fish, *Gambusia affinis*. *Drug and Chemical Toxicology.*, **29** :255-267.
- Verlecar X. N., Jena K. B., Chainy G. B., 2008.** Modulation of antioxidant defences in digestive gland of *Perna viridis* (L.), on mercury exposures. *Chemosphere.*, **71**:1977-85.
- Viarengo A., Burlando B., Cavaletto M., Marchi B., Ponzano E., Blasco J., 1999.** Role of metallothionein against oxidative stress in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Am J Physiol.*, **277**: R1612-9.
- Viarengo A., Burlando B., Ceratto N., Panfolli I., 2000.** Antioxidant ole of metallothioeins: a comparative overview. *Cellula and Molecular Biology.*, **43**: 407- 417.
- Voliani A., Auteri R., Baino R. & Giannardi G., 1990.** Changes in size and abundance of *Donax trunculus* related to depth and bottom characteristics. *Rapp. Comm. Int. Mer. Medit.*, **32**: 29.
- Wang J., Zhou Q.,X., Zhang Q. R., Zhang Y., 2007.**Toxic effects of petroleum hydrocarbons, copper and cadmium on polychaete *Perinereis aibuhitensis* Grube and on its responses in acetylcholinesterase activity *Huan Jing Ke Xue.*, **28**: 1796-801.

- Wang L., Yan B., Liu N., Li Y., Wang Q., 2008.** Effects of cadmium on glutathione synthesis in hepatopancreas of freshwater crab, *Sinopotamon yangtsekiense*. *Chemosphere*.
- Wirzinger G., Weltje L., Gerchen J., Sordyl H., 2007.** Genotoxic damage in field-collected three-spined sticklebacks(*Gasterosteus aculeatus* L.): A suitable biomonitoring tool? *Mutation Research/ Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.*, **628**:19-30.
- Weckberker G & Cory G., 1988.** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia 1210 cells in vitro. *Cancer letters.*, **40**: 257-264.
- Yao H., Jiang C., Ye G., Cheng J., 2002.** Insecticide resistance of different populations of white-backed planthopper, *Sogatella furcifera* (Horváth) (Homoptera:Delphacidae)]. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao.* **13**: 101-5.
- Yap CK., Ismail A., Omar H., Tan SG., 2004.** Toxicities and tolerances of Cd, Cu, Pb and Zn in a primary producer (*Isochrysis galbana*) and in a primary consumer (*Perna viridis*). *Environ Int.*, **29**:1097-104.
- Zhang Y. L., Mu W., Chen Z. L., Han Z. R., Ma C., Zhai R. H., 2007.** Susceptibility and related physiological and biochemical mechanisms of *Carposina niponensis* Walsingham larvae on six insecticides before and after overwintering. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao.*, **18**:1913-6.

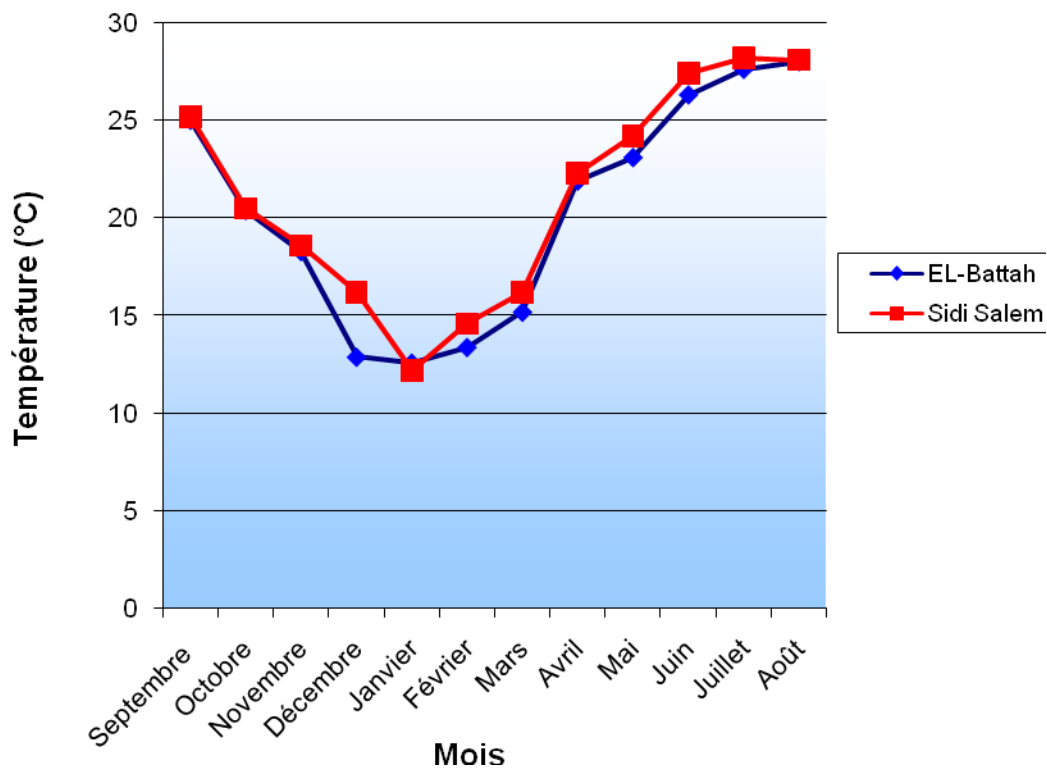


Figure : Variation mensuelle de la température (°c) de l'eau de mer prélevée dans les deux sites d'études EL-Battah et Sidi Salem dans le golfe d'Annaba de Septembre 2007 à Août 2008

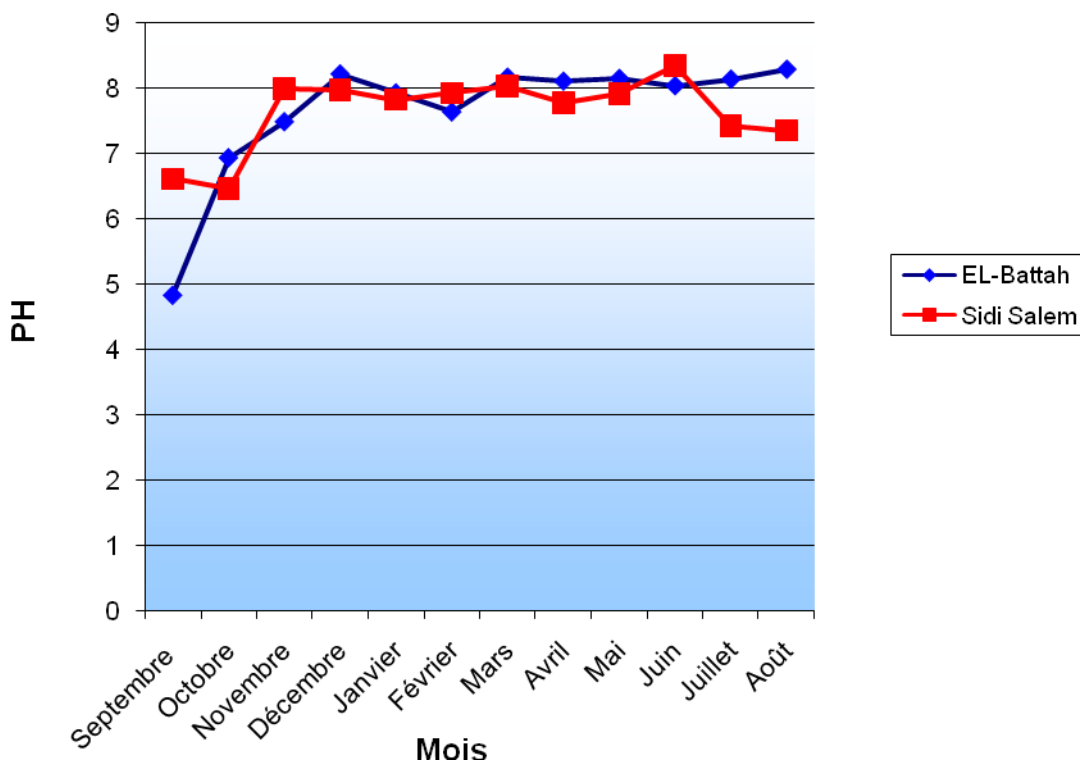


Figure : Variation mensuelle du PH de l'eau de mer prélevée dans les deux sites d'étude EL-Battah et Sidi Salem dans le golfe d'Annaba de Septembre 2007 à Août 2008.

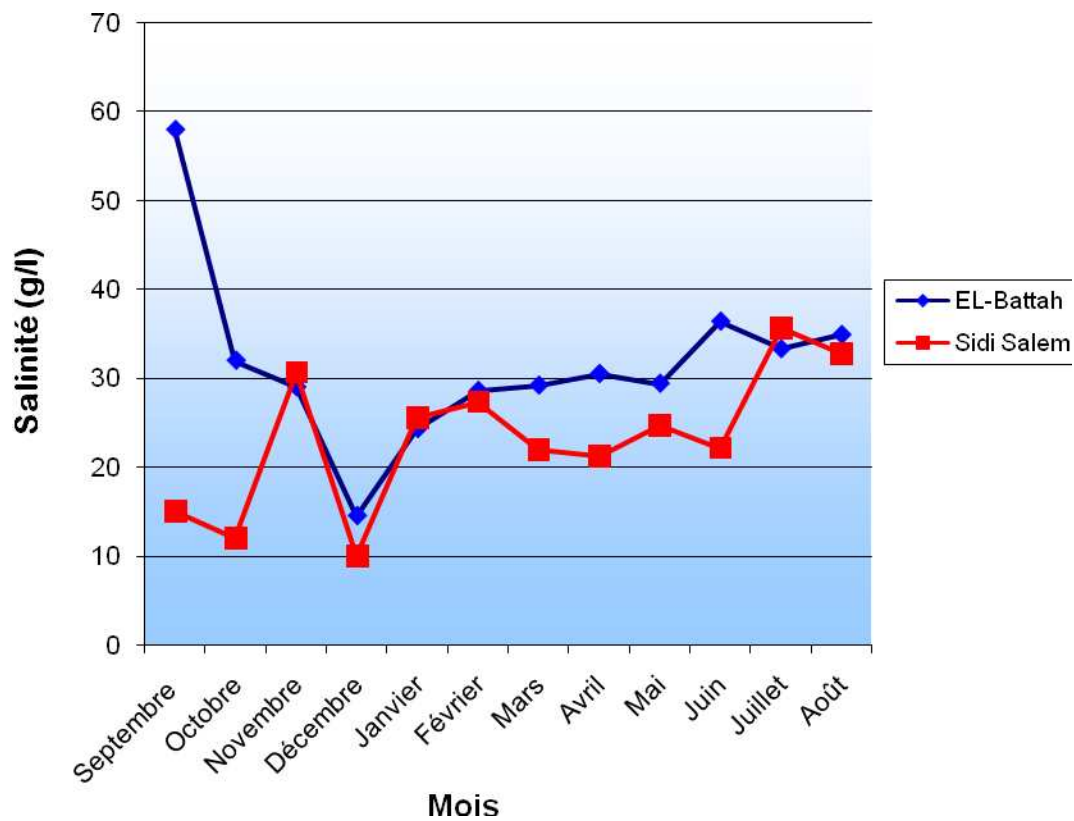


Figure : Variation mensuelle de la salinité (g/l) de l'eau de mer prélevée dans les deux sites d'étude EL-Battah et Sidi Salem dans le golfe d'Annaba de Septembre 2007 à Août 2008.

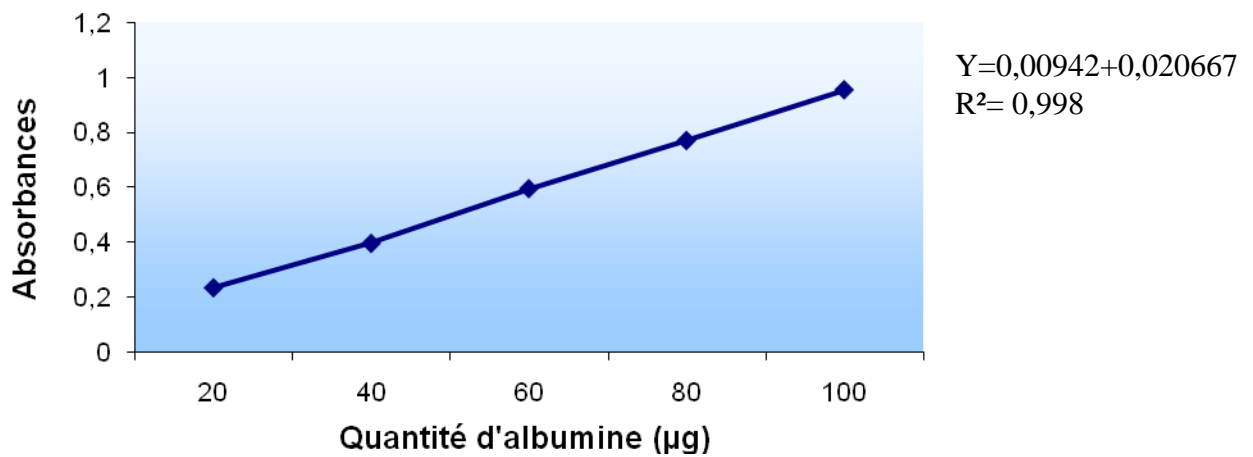


Figure : Droite de régression exprimant l'absorbances en fonction des quantités d'albumines (µg) (R² : Coefficient de détermination).

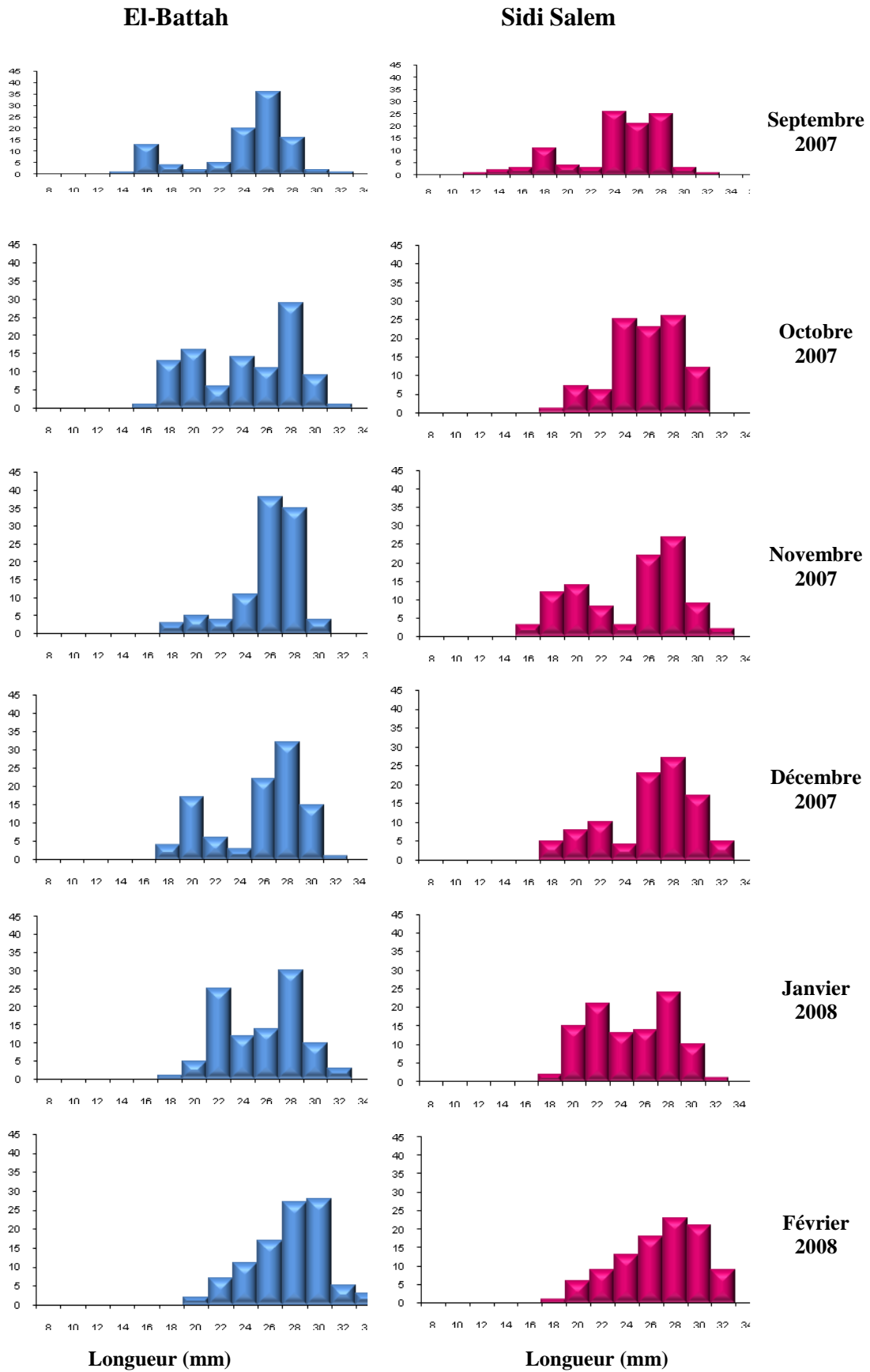
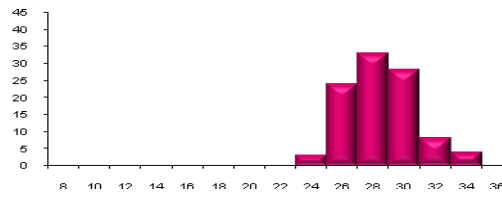
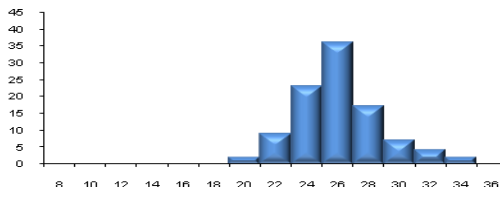


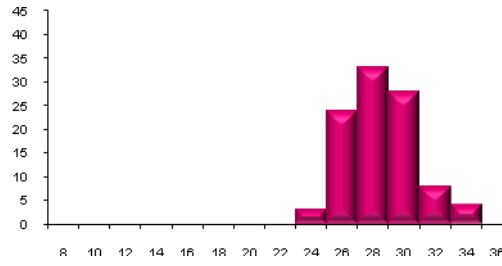
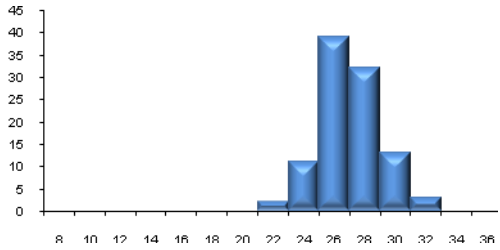
Figure 30. Distribution des fréquences de taille de *D. trunculus* pêché à El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008 (n=100).

El-Battah

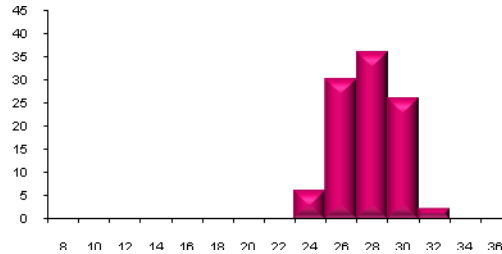
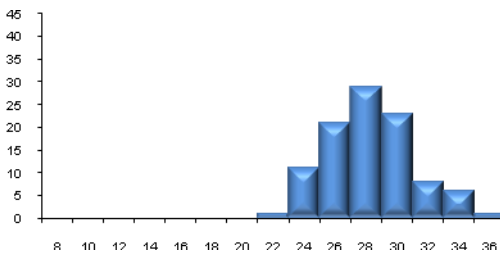
Sidi Salem



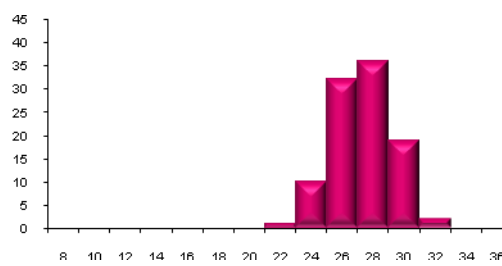
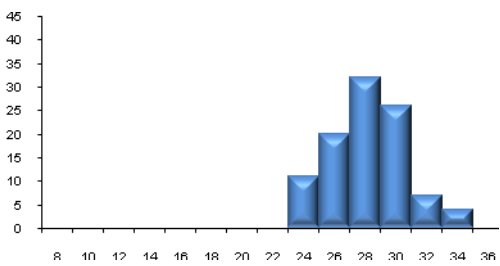
Mars
2008



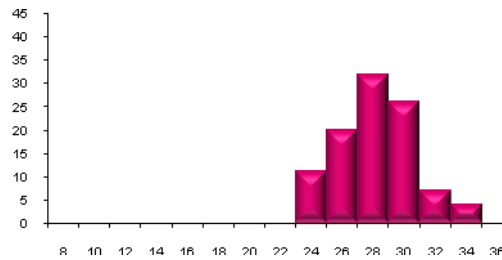
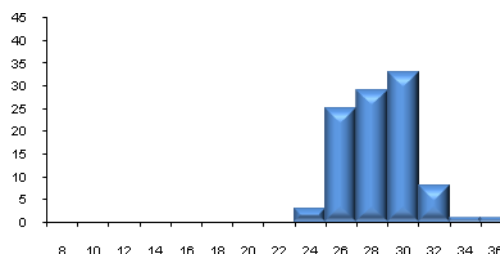
Avril
2008



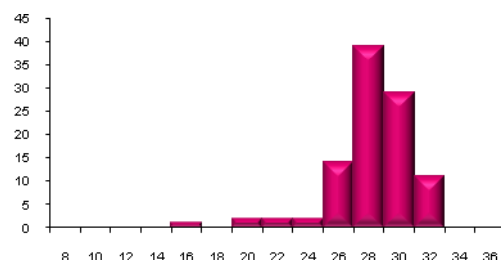
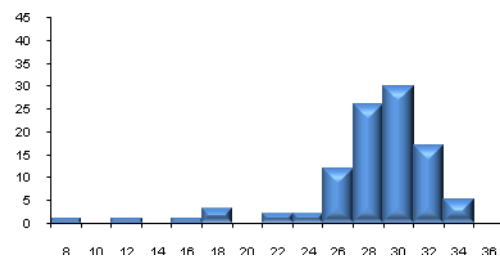
Mai
2008



Juin
2008



Juillet
2008



Août
2008

Longueur (mm)

Longueur (mm)

Figure 31 . Distribution des fréquences de taille de *D. trunculus* pêché à El-Battah et Sidi Salem de septembre 2007 à août 2008 (n=100).