

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur
et de la recherche scientifique
Université Chadli Bendjedid
El Tarf



جامعة الشاذلي بن جديد

UNIVERSITE CHADLI BENDJEDID

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشاذلي بن جديد
الطارف

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Mer

Laboratoire de recherche sur la biodiversité
et la pollution des écosystèmes.



كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم علوم البحار
مخبر البحوث حول التنوع البيولوجي وتلوث
البيئة



**THESE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTORAT
DE 3^{ème} CYCLE LMD**

Option :

Bio-indication des milieux aquatiques : Environnement et risques

THÈME

**UTILISATION DU MACROZOOBENTHOS COMME BIOINDICATEUR DE LA QUALITÉ DE
L'ENVIRONNEMENT MARIN CÔTIER DU GOLFE D'ANNABA : CAS DE CHONDRILLA
NUCULA (PORIFERA)**

Présenté Par : ZERARGUIA Islem

Devant le jury composé de :

Pr. Hichem NASRI	Professeur	Président	Univ. El Tarf
Pr. Willia KHATI	Professeur	Directrice de thèse	Univ. El Tarf
Pr. Farid DERBAL	Professeur	Co- Directeur de thèse	Univ. Annaba
Pr. Kheireddine OUALI	Professeur	Examineur	Univ. Annaba
Pr. Zoubir AZZOUZ	Professeur	Examineur	Univ. Annaba
Dr. Yousria GASMI	MCA	Examinatrice	Univ. El Tarf

≈ Année universitaire 2022 - 2023 ≈

Dédicaces

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,

L'amour, le respect, la reconnaissance...

Aussi, c'est tout simplement que

Je dédie cette thèse...

À MA TRES CHERE MERE

Toi, source inépuisable de tendresse, de patience et de dévouement. Tes prières et tes bénédictions ont été d'un soutien inestimable tout au long de ma vie.

Quels que soient les mots que je puisse choisir, ils ne suffiront jamais à exprimer pleinement l'affection profonde et la gratitude immense que je ressens à ton égard...

Je souhaite ardemment ne jamais te décevoir ni trahir la confiance que tu as placée en moi, au prix de tant de sacrifices. Puissent Dieu tout puissant, t'accorder une santé florissante, une longue vie et un bonheur sans limite, *MAMAN CHERIE !*

À MON TRES CHER PERE

Derrière chaque succès se cache une histoire, un héros. Dans mon parcours, ce héros, c'est toi, papa. Je n'aurais jamais pu atteindre ce niveau sans ton soutien inconditionnel et tes encouragements constants.

Parmi tous les pères, tu es le meilleur. Tu es et seras toujours pour moi un exemple de tendresse par tes qualités humaines et ta persévérance.

Je souhaite rendre hommage à toutes les années de sacrifices, d'attention, d'encouragement et de prières que tu as offertes. Puisses-tu trouver dans ce travail le fruit de tes peines et de tes efforts.

Aujourd'hui, je souhaite réaliser l'un de tes rêves. Aucune dédicace ne pourrait véritablement exprimer toute ma gratitude, mon respect et mon amour profond. Que Dieu te préserve, te procure santé et bonheur.

Aucune personne ne pourrait souhaiter avoir un meilleur père... Mille mercis, *PAPA !*

À MA GRAND MERE CHERIE

Grâce à ses prières et sa douceur, elle m'a accompagné tout au long de ce parcours. Que Dieu lui accorde une longue vie, une santé florissante et un bonheur infini dans les deux mondes. Sa présence est un trésor inestimable.

A LA MEMOIRE BIEN-AIMEE DE MES CHERS GRANDS-PARENTS

Je regrette profondément votre absence en ce jour solennel. Que Dieu vous accueille dans Sa miséricorde divine et vous accorde le repos éternel dans Son paradis céleste. Votre présence nous manque, mais votre amour continue de briller dans nos cœurs.

À MES BIEN-AIMÉS FRÈRES ET SŒURS : ISHAK, ILYES & IMEN

En signe de mon amour fraternel sincère, de ma profonde gratitude et de mon immense affection, je vous souhaite une existence comblée de joie et de réussite. Que le Tout-Puissant veille sur vous, vous protège et vous guide tout au long de votre chemin.

À MES FIDÈLES CONFRÈRES ET AMIS :

MINOU, CHERIF & ZAKI.

En mémoire de notre amitié sincère et profonde ainsi que des précieux moments partagés. Ce travail témoigne de mon respect profond et de mon affection sincère envers vous.

UNE DEDICACE PARTICULIERE A SARA ET A LA FAMILLE GEUZOUATI

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond, mon affection et ma considération les plus sincères.

À MES CHERS ONCLES, TANTES, LEURS EPOUX ET EPOUSES À MES CHERS COUSINS, COUSINES ET TOUTE MA FAMILLE

En témoignage d'affection, gratitude et d'attachement. Je vous souhaite tous bonheur, santé et prospérité.

À TOUTES LES PERSONNES QUI ONT PARTICIPE A L'ELABORATION DE CE TRAVAIL À TOUS CEUX QUE J'AI OMIS DE CITER.

Remerciements

عن أبي هريرة رضي الله عنه أن النبي صلى الله عليه وسلم قال:

« مَنْ لَمْ يَشْكُرِ النَّاسَ لَمْ يَشْكُرِ اللَّهَ »

(رواه الترمذي)

Au nom d'ALLAH, celui qui fait miséricorde, le miséricordieux, Louange à ALLAH seigneur des mondes, qui m'a donnée la force de concevoir ce travail. J'implore notre seigneur pour que cet humble effort lui soit sincère, et que le salut et la bénédiction de Dieu soient sur notre prophète MOHAMED.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Monsieur **Hichem NASRI**, Professeur à l'université de Chadli Bendjedid-El Tarf, Doyen de la faculté de l'SNV, et Directeur du laboratoire de recherche Biodiversité et Pollution des Écosystèmes. Malgré ses multiples engagements, il a généreusement accepté de présider mon jury. Je souhaite le remercier tout particulièrement, du fond du cœur, pour bien plus que je ne pourrais le mentionner en quelques lignes... Merci infiniment, **MONSIEUR** !

J'exprime mes sincères remerciements à Madame **Willia KHATI**, ma Directrice de thèse, Professeur et chef de Département des Sciences biologiques à l'université Chadli Bendjedid-El Tarf, pour avoir accepté de diriger cette thèse et m'avoir accueilli au sein de son équipe. Je tiens à vous remercier pour le temps que vous avez consacré à la correction de cette thèse et pour m'avoir accordé une grande autonomie tout au long de ces années. Il est difficile de trouver les mots justes pour exprimer pleinement mes sentiments envers les efforts que vous avez déployés pour nous accompagner dans cette formation doctorale, et en particulier pour ma thèse. Que Dieu vous récompense pour tout le dévouement dont vous avez fait preuve au cours de ces années... Merci, **Madame**!

Je suis également reconnaissant envers Monsieur **Farid DERBAL**, mon Co-Directeur de thèse, Professeur et ancien chef de département des Sciences de la Mer à l'université de Badji Mokhtar Annaba. Sa collaboration en tant que codirecteur de cette thèse et le temps qu'il a consacré à sa correction sont inestimables. Je souhaite tout particulièrement lui témoigner ma profonde reconnaissance pour les efforts qu'il a déployés en tant que Chef de département afin de nous fournir la meilleure formation possible en Sciences de la Mer. Une grande part de mes connaissances et de mes compétences est indéniablement le fruit de ses enseignements et de son expertise... Merci, **Monsieur** !

J'exprime ma profonde gratitude envers Monsieur **Kheireddine OUALI**, Professeur à l'université de Badji Mokhtar-Annaba et Directeur du laboratoire de Biosurveillance et Santé Environnementale, pour m'avoir chaleureusement accueilli au sein de son équipe au laboratoire. C'est au sein de ce laboratoire que j'ai effectué la majeure partie de mes expérimentations. Je tiens à le remercier sincèrement pour son soutien inestimable et ses encouragements tout au long de cette étude. Je suis également honoré qu'il ait accepté de faire partie du jury d'examen de ma thèse.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude envers Monsieur **Zoubir AZZOUZ**, Professeur et Chef de département des sciences de la Mer à l'Université de Badji Mokhtar Annaba, pour l'immense honneur qu'il me fait de participer au jury de ma thèse. En outre, je tiens à lui exprimer ma reconnaissance particulière pour son soutien moral et sa motivation inestimable tout au long des moments difficiles que j'ai traversés pendant mon parcours universitaire. Sa présence bienveillante m'a été d'une aide précieuse, et je lui suis extrêmement reconnaissant. Je tiens à lui témoigner mon dévouement sincère et mon profond respect...Merci, *Monsieur* !

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers Madame **Yousria GASMI**, maitre de conférence et vice doyenne responsable de la pédagogie à la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université de Chadli Bendjedid El Tarf, pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de participer au jury d'examen de ma thèse.

Je souhaite exprimer ma gratitude sincère envers le Professeur **Idris YAHIAOUI**, Directeur du Laboratoire de Génie de l'Environnement à l'université de Abderrahmane Mira, Bejaia, pour son accueil chaleureux à la *Saldae* et sa générosité en mettant à ma disposition tous les moyens nécessaires pour effectuer les analyses chimiques des éléments traces métalliques. Sa collaboration précieuse a grandement contribué à la réalisation de ma thèse de doctorat.

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude, amour et respect envers Monsieur **Cristiano Carvalho Coutinho**, Professeur à l'Institut des Sciences Biomédicales de l'Université Fédérale de Rio de Janeiro au Brésil (ICB-UFRJ). Je suis extrêmement reconnaissant d'avoir été accueilli dans votre laboratoire et d'avoir bénéficié de votre soutien financier pour mes expérimentations. Malgré les obstacles que j'ai dû surmonter, vous avez toujours cru en moi, m'attendant patiemment jusqu'à notre rencontre à l'aéroport de Rio, un moment inoubliable. Je vous remercie également pour les précieux moments passés avec vous et votre merveilleuse famille. Votre disponibilité durant mon séjour à Rio, aussi bref soit-il, restera gravée parmi mes plus beaux souvenirs...Merci infiniment, *Professeur* !

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Monsieur **Faouzi SAMMAR**, Maitre assistant à l'université de Chadli Bendjedid-El Tarf, pour sa précieuse contribution à l'enrichissement de mes connaissances en biostatistique et à la préparation préalable de mes données. Sa généreuse disponibilité et son soutien inestimable ont grandement renforcé mon travail de recherche.

Un grand merci au Monsieur **Rachid AMARA**, chef du service d'anatomie-pathologie à l'hôpital d'El Tarf, pour avoir généreusement accepté ma demande de stage et pour avoir mis à ma disposition tous les moyens nécessaires à la réalisation des coupes histologiques de mes échantillons.

Je suis reconnaissant envers Madame **Hanen MARREF**, Doctorante en biologie à l'université de Chadli Bendjedid El Tarf et technicienne de laboratoire à l'hôpital d'El Tarf, pour son encadrement précieux lors de mon stage à l'unité d'anatomie-pathologie.

Je tiens également à exprimer ma gratitude envers tous mes enseignants tout au long de mon parcours. Cependant, j'aimerais accorder une reconnaissance particulière à :

Madame **Lamia CHAOUI** Professeur au département des Sciences de la Mer de l'université de Badji Mokhtar Annaba.

Madame **Sabah NOUACER**, Maitre de conférence au département des Sciences de la Mer de l'université de Badji Mokhtar Annaba.

Madame **Nadjette BOURHIAL**, Maitre de conférence au département des Sciences de la Mer de l'université de Badji Mokhtar Annaba.

Pour leur soutien moral et leur motivation inébranlable lors des moments difficiles que j'ai traversés pendant mon Master. Je leur témoigne mon dévouement sincère et mon profond respect.

D'un point de vue plus personnel, je tiens à remercier très chaleureusement,

De l'université de Badji Mokhtar d'Annaba :

Sameh RACHEDI BOUKHDIR, Maitre assistante au département de Biologie (botanique) de l'université de Badji Mokhtar Annaba. Je tiens à te remercier pour avoir été la source de ma croissance intellectuelle. Tes mots d'encouragement et tes actions motivantes envers un jeune étudiant égaré dans le "tronc commun" ont provoqué une transformation progressive qui a abouti à l'épanouissement d'aujourd'hui. Je te suis infiniment reconnaissant, *Sameh*, Ton impact a été immense.

Aimen Adib MENIAL, collègue et Doctorant à l'université de Badji Mokhtar Annaba ainsi que sa Maman Madame **Sabah Menial Abdali**, pour leur précieuse assistance dans un moment difficile. Leur soutien m'a permis de retrouver justice et de reprendre mon parcours avec succès.

&

De L'Université de Chadli Bendjedid d'EL Tarf :

Nabila BENSAFIA, Docteur et Maître de conférences au département des Sciences de la Mer, pour sa remarquable disponibilité, sa bienveillance et surtout pour son soutien inconditionnel et ses encouragements constants, qui ont été d'une valeur inestimable pendant les moments de découragement. Merci infiniment, *Nabila!*

Karima HERAMZA, Docteur en sciences de la Mer, pour sa précieuse assistance, sa bienveillance et son soutien indispensable dans l'analyse statistique de mes données via le logiciel R... Merci infiniment, *Karima !*

Madame **Amina AMRANI** Docteur et Maître de conférences au département de biologie, pour sa serviabilité exceptionnelle, sa bienveillance inégalée et surtout pour ses encouragements inlassables...Merci beaucoup, *Madame!*

Yacine BENTOUILI, Maître assistant et responsable de la post graduation au département des Sciences de la Mer à l'université de Chadli Bendjedid El Tarf. Sa précieuse disponibilité, son inestimable serviabilité et son amitié sincère ont marqué ces dernières années. Un immense merci, *Yacine!*

Enfin, je souhaite dédier les dernières lignes pour exprimer ma reconnaissance envers les deux personnes les plus chers et les plus proches, que j'ai eu l'opportunité de rencontrer grâce à cette thèse. Je souhaite sincèrement qu'ils continueront à m'accompagner puisque leur présence dans ma vie est une véritable bénédiction.

Ma collègue « *my Team* » **Imen LAOUATI**, Docteur en biologie et enseignante à l'université de Skikda, qui a été présente à chaque étape de ce parcours, des moments les plus difficiles aux plus joyeux. Je suis reconnaissant de ne jamais avoir été déçu par ta présence constante à mes côtés. Je ne peux même pas imaginer à quoi ressemblerait cette thèse de doctorat sans toi. Aucun mot ne peut véritablement exprimer l'étendue de ma gratitude et de mon respect envers toi. Je remercie sincèrement le destin qui nous a réunis. Que le bon Dieu te comble de santé, de longévité et de bonheur, ainsi que ta famille. Merci infiniment, *Imèn !*

&

Mon Professeur, Cher Monsieur **Mahieddine BOUMENDJEL**, un Professeur émérite à l'université de Badji Mokhtar-Annaba, mon Ange gardien et une source d'inspiration intarissable. Les mots me manquent pour exprimer ma gratitude envers vous ! Grâce à votre accompagnement et soutien infaillible, j'ai atteint un niveau d'autonomie, de compétence et de maîtrise que je n'aurais jamais cru possible. Ainsi, je souhaite vous dédier cette réussite et tout ce qui suivra....Merci infiniment, *Monsieur !*

Table des matières

TABLE DES MATIERES	7
RESUME.....	11
ABSTRACT	12
ملخص.....	13
LISTE DES FIGURES.....	14
LISTES DES TABLEAUX	17
LISTE DES ABREVIATIONS.....	18
INTRODUCTION GENERALE.....	21
GENERALITES	28
1. ELEMENTS TRACES METALLIQUES	28
1.1. Pollution marine.....	28
1.2. Eléments traces métalliques : éléments essentiels et non essentiels	29
1.3. Contamination de la faune	31
1.4. Principales voies de contamination humaine	33
1.5. Effets des métaux lourds sur la faune	35
1.6. Contamination des hydrosystèmes côtiers et estuariens par les ETMs	36
2. EVALUATION DU RISQUE ENVIRONNEMENTAL	37
2.1. Surveillance des polluants	37
2.2. Biosurveillance	37
2.2.1. Bioconcentration.....	39
2.2.2. Bioaccumulation.....	39
2.2.3. Bioamplification.....	40
2.2.4. Biodisponibilité	41
2.3. Développement d'un bioindicateur	41
2.4. Biomarqueurs.....	42
2.4.1. Définition	42
2.4.2. Catégories de biomarqueurs	43
2.4.3- Description des biomarqueurs	44
2.4.3.1. Glutathion (GSH).....	44
2.4.3.2. Glutathion S-transférase (GST)	46
2.4.3.3. Relation GSH et GST	47
2.4.3.4. Malondialdehyde (MDA)	47
2.4.4. Biomarqueurs en écotoxicologie	48
3. MODELE BIOLOGIQUE UTILISE : LES SPONGIAIRES	50
3.1. Description et taxonomie	50
3.1.1. Eponges calcaires - Calcarea (Bowerbank, 1862).....	52
3.1.2. Démospones - Demospongiae (Sollas, 1885)	53

3.1.3. Eponges de verre - Hexactinellida (Schmidt, 1870)	54
3.1.4. Eponges incrustantes - Homoscleromorpha (Dendy, 1905).....	55
3.2. Organisation morphologique et anatomique	56
3.2.1. Système aquifère	56
3.2.2. Organisation cellulaire.....	57
3.2.3. Spicules	58
3.3. Reproduction et gamétogenèse	58
3.3.1. Facteurs limitants de la gamétogenèse.....	60
3.3.2. Dynamique des populations.....	60
3.4. Alimentation	60
3.5. Rôle et niche écologique.....	61
3.6. Valorisation économique	61
3.7. Diversité des éponges en Algérie.....	62
CHAPITRE I. ELEMENTS TRACES METALLIQUES.....	65
1. INTRODUCTION	65
2. MATERIEL & METHODES	68
2.1. Choix et localisation des stations d'échantillonnage	68
2.2. Matériel biologique : Chondrilla nucula	70
2.3. Mesure des paramètres physico-chimiques de l'eau.....	73
2.4. Collecte et traitement des échantillons.....	73
2.4.1. Méthode de prélèvement des éponges	73
2.4.2. Traitement et analyse chimique des éponges	74
2.5. Traitement statistique.....	75
3. RESULTATS	75
3.1. Paramètres physico-chimiques.....	75
3.1.1. Température.....	75
3.1.2. Salinité.....	77
3.1.3. Potentiel d'hydrogène.....	77
3.1.4. Oxygène dissout	78
3.2. Variations saisonnières des ETMs dans les tissus.....	79
3.2.1. Cuivre (Cu).....	80
3.2.2. Zinc (Zn)	81
3.2.3. Plomb (Pb).....	82
3.2.4. Cadmium (Cd).....	83
4. DISCUSSION	84
CHAPITRE II. BIOMARQUEURS DU STRESS OXYDANT	93
1. INTRODUCTION	93
2. MATERIEL & METHODES	95
2.1. Choix et localisation des stations d'échantillonnage	95
2.2. Matériel biologique.....	95

2.3. Collecte et traitement des échantillons.....	95
2.4. Préparation de l'homogénat	95
2.5. Dosage des protéines	95
2.6. Mesure des biomarqueurs	96
2.6.1. Dosage du glutathion (GSH)	96
2.6.2. Dosage du glutathion S-transférase (GST)	97
2.6.3. Dosage du malondialdéhyde (MDA)	98
2.7. Analyses statistiques.....	99
3. RESULTATS	99
3.1. Concentrations du glutathion (GSH)	100
3.2. Activité enzymatique du glutathion S-transférase (GST)	102
3.3. Concentration du malondialdéhyde (MDA)	103
3.4. Analyses de corrélations	104
3.5. Analyse en composantes principales (ACP)	104
3.6. Corrélation de Pearson.....	106
4. DISCUSSION	107
1. INTRODUCTION	111
2.1. Echantillonnage	113
2.2. Fixation et conservation des échantillons	113
2.3. Histologie.....	113
2.4. Observation microscopique	115
3. RESULTATS	116
4. DISCUSSION	118
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	122
BIBLIOGRAPHIE	126
ANNEXES.....	163

Résumé

Cette étude est une contribution à la connaissance des spongiaires des côtes algériennes avec un intérêt particulier pour l'évaluation de leurs potentialités en tant que bioindicateurs de la qualité écotoxicologique des eaux côtières des côtes est d'Algérie. Cette appréciation de la qualité des eaux du golfe d'Annaba a été recherchée en utilisant deux approches écotoxicologiques complémentaires : (i) l'estimation des teneurs et de la biodisponibilité de 4 éléments traces métalliques ou ETMs (Cu, Zn, Pb et Cd) et (ii) le dosage de biomarqueurs (GSH, GST et MDA), chez l'éponge *Chondrilla nucula*, une espèce assez abondante et utilisée pour la première fois dans une perspective d'appréciation de ses performances en qualité de bioindicateur.

Dans ce cadre, des échantillons de l'éponge *C. nucula* ont été prélevés saisonnièrement (Janvier - Décembre 2017) dans deux stations côtières sous influence anthropique, l'une (plage Lever de l'aurore) située à proximité des rejets essentiellement urbains et l'autre (La caravelle) juste au voisinage du port d'annaba et des rejets des déchets de l'unité de production des matières grasses (ex Sogedia).

L'évolution saisonnière des concentrations des ETMs a montré une forte accumulation des éléments étudiés en période hivernale à l'exception du zinc où le pic a été enregistré en période printanière. Les valeurs moyennes enregistrées révèlent un ordre décroissant presque similaire $Zn > Pb > Cu > Cd$ dans les deux stations d'échantillonnage. Néanmoins, les concentrations maximales en cadmium dépassaient celles du cuivre dans la deuxième station (La caravelle).

Les réponses biologiques aux changements des conditions environnementales étaient similaires dans les deux stations. Elles ont révélé des différences inter-saisonnières de la sensibilité des systèmes antioxydants chez l'éponge *C. nucula*. Les valeurs obtenues mettent en évidence une variation saisonnière très hautement significative des teneurs de GSH, GST et MDA.

Enfin, l'étude de la biologie de la reproduction durant un cycle annuel (Janvier – Septembre 2017) a révélé l'absence de reproduction sexuée durant la période d'échantillonnage. Par contre, nous avons pu observer in situ un phénomène de reproduction asexuée à différente période de l'année. Ceci met en évidence la capacité de l'éponge *C. nucula* à concourir l'espace et maintenir dans les conditions environnementales la stabilité de la dynamique de sa population.

Mots-clés : Biomarqueurs, Métaux, *Chondrilla nucula*, Golfe Annaba, Méditerranée.

Abstract

This study is a contribution to the knowledge of the sponges of the Algerian coasts with a particular interest for the evaluation of their potentialities as bioindicators of the ecotoxicological quality of the coastal waters of the east coast of Algeria. This assessment of the water quality of the Gulf of Annaba was assessed using two complementary ecotoxicological approaches: (i) estimation of the levels and bioavailability of 4 metallic trace elements or MTEs (Cu, Zn, Pb and Cd) and (ii) the assay of biomarkers (GSH, GST and MDA), in the sponge *Chondrilla nucula*, a fairly abundant species used for the first time with a view to assessing its performances as a bioindicator.

In this context, samples of the sponge *C. nucula* were collected seasonally (January - December 2017) from two coastal stations under anthropogenic effect, one (Lever de l'aurore beach) located and close to the elements, the other (La caravelle) just next the port of Annaba and waste discharges from the fat production unit (formerly Sogedia).

The seasonal evolution of the concentrations of MTE showed a strong accumulation of the elements studied in the winter period with the exception of zinc where the peak was recorded in the spring period. The average values recorded reveal an almost similar decreasing order $Zn > Pb > Cu > Cd$ in the two sampling stations. Nevertheless, the maximum cadmium concentrations exceeded those of copper in the second station (La caravelle).

The biological responses to changes in environmental conditions were similar at both stations. They revealed inter-seasonal differences in the sensitivity of antioxidant systems in the sponge *C. nucula*. The values obtained show a very highly significant seasonal variation in the levels of GSH, GST and MDA.

Finally, the study of reproductive biology during an annual cycle (January - September 2017) revealed the absence of sexual reproduction during the sampling period. On the other hand, we were able to observe in situ a phenomenon of asexual reproduction at different times of the year. This highlights the ability of the sponge *C. nucula* to compete in space and maintain the stability of its population dynamics under environmental conditions.

Keywords: Biomarkers, Metals, *Chondrilla nucula*, Annaba Gulf, Mediterranean.

ملخص

الدراسة هي مساهمة في معرفة حيوانات الإسفنج البحري بالسواحل الجزائرية و تقييم إمكاناتها كمؤشرات بيولوجية للسمية البيئية لمياه السواحل الشرقية بالجزائر. استند هذا التقييم على مراقبة لجودة المياه في خليج عنابة باستخدام نهجين متكاملين. تمثل النهج الأول في تقدير المستويات والتوافر البيولوجي لأربعة عناصر كيميائية معدنية (النحاس والزنك والرصاص والكاديوم) ، بينما اعتمد النهج الثاني على فحص ثلاثة مؤشرات الحيوية (GSH) و GST و (MDA) ، في الإسفنج البحري *Chondrilla nucula* ، وهو أحد الأنواع المنتشرة و التي تستعمل لأول مرة بهدف تقييم أداؤها كمؤشر بيولوجي.

في هذا السياق ، تم جمع عينات من الإسفنج *C. nucula* موسمياً (يناير - ديسمبر 2017) من موقعين ساحليين معرضان لنشاطات بشرية. كان الموقع الأول لهاته الدراسة هو الجهة الشرقية من "شاطئ فلاح رشيد" و هو شاطئ صغير صخري معروفة بوجود تنوع بيولوجي كبير خاصة فيما يتعلق بالإسفنجيات، كما أن هذا الشاطئ معرض لتلوث مدني عن طريق مجرى حضري يصب في منطقة قريبة. أما الموقع الثاني ، فيتمثل في "شاطئ النصر" و هو أيضا عبارة عن شاطئ صخري صغير يقع بمحاذاة ميناء عنابة و الذي يعد من أكبر مصادر التلوث الصناعي في خليج عنابة وفقا لدراسات سابقة كما أن هذا الشاطئ معرض أيضا الى مخلفات وحدة إنتاج الدهون (سوغيديا سابقاً).

أظهر التغير الموسمي في تركيز العناصر المعدنية تراكمًا قويًا لهاته العناصر في فترة الشتاء باستثناء الزنك الذي لم يبلغ ذروة تراكمه حتى فصل الربيع. من جهة اخرى فان القيم المتوسطة المسجلة لتركيز هاته العناصر أسفرت عن ترتيب تنازلي متمائل تقريبًا $Zn > Pb > Cu > Cd$ في كلا موقعي الدراسة. ومع ذلك ، فقد تجاوزت تركيز الكاديوم النحاس في المحطة الثانية (شاطئ النصر).

من جهتها فقد كانت الاستجابات البيولوجية للتغيرات في الظروف البيئية متشابهة في كلا الموقعين حيث كشفت عن اختلافات موسمية كبيرة في تركيز مؤشرات الأكسدة في الإسفنج *C. nucula*.

أخيرًا ، كشفت دراسة الدورة البيولوجية لهذا الإسفنج خلال الدورة السنوية (يناير - سبتمبر 2017) عدم وجود أدلة على التكاثر الجنسي خلال فترة أخذ العينات. و مع ذلك فقد تمكنا من رصد و توثيق ظاهرة التكاثر اللاجنسي في الوسط الطبيعي في أوقات مختلفة من العام و هو ما يؤكد قدرة الإسفنج *Chondrilla nucula* على المحافظة مكانته في البيئة البحرية و ذلك لامتلاكه استراتيجيات بيولوجية تتيح له الحفاظ على نسله حتى في الظروف غير الملائمة للتزاوج.

الكلمات المفتاحية: المؤشرات الحيوية ، المعادن ، نواة كوندريلا ، خليج عنابة ، البحر الأبيض المتوسط.

Liste des figures

N°	Figure	Page
1	Schéma synthétique des expressions et concepts impliqués dans la trophodynamique des métaux lourds (Ali <i>et al.</i> , 2019, modifié).	32
2	Transfert trophique des métaux lourds d'un hydrosystème à l'être humain via la chaîne alimentaire (Ali <i>et al.</i> , 2019, modifiée)	33
3	Schéma synthétique des effets écotoxicologiques (Poisson <i>et al.</i> , 2011)	34
4	Effets des contaminants chimiques sur les différents niveaux d'organisation biologique (Marchand & Kantin, 1997 ; Marchand, 2002 ; IFREMER, 2006).	37
5	Schéma synthétique représentant la bioaccumulation et la bioamplification des éléments traces métalliques dans la chaîne trophique de l'écosystème côtier (Rabaoui <i>et al.</i> , 2016, modifiée)	39
6	Utilisation des biomarqueurs pour l'évaluation de l'intégralité d'un écosystème (Depledge, 1992, modifiée).	49
7	Clichés illustrant la diversité morphologique, des couleurs et des tailles de Porifera, avec quelques exemples parmi les quatre classes. (a) <i>Aplysina cavernicola</i> , (b) <i>Ephydatia fluviatilis</i> , (c) <i>Xestospongia muta</i> , (d) <i>Sycon ciliatum</i> , (e) <i>Clathrina contorta</i> , (f) <i>Leucosolenia complicata</i> , (g) <i>Rosella nuda</i> , (h) <i>Oopsacas minuta</i> et (i) genre <i>Oscarella</i> (<i>O. tuberculata</i> et <i>O. lobularis</i>) (Renard <i>et al.</i> , 2013).	50
8	Deux hypothèses principales actuellement proposées concernant les relations phylogénétiques non bilatériennes : (a) paraphylie des éponges, (b) monophylie des éponges (Renard <i>et al.</i> , 2013)	51
9	Clichés de quelques éponges calcaires – <i>Calcarea</i> (A - <i>Arturia trinidadensis</i> sp. B - <i>Borojevia trispinata</i> sp. C - <i>Clathrina aurea</i> . D - <i>Clathrina lutea</i> sp. E - <i>Ernstia citrea</i> sp.; F - <i>Ernstia rocasensis</i> sp. G - <i>Ernstia sanctipauli</i> sp. nov. H - <i>Ernstia solaris</i> sp.) (Azevdo <i>et al.</i> , 2017).	52
10	Clichés de quelques démosponges des côtes est algériennes – <i>Demospongiae</i> (A- <i>Axinella verrucosa</i> . B- <i>Chondrilla nucula</i> . C- <i>Chondrosia reniformis</i> . D- <i>Crambe crambe</i> . E- <i>Ircinia fasciculata</i> . F- <i>Petrosia ficiformis</i> . G - <i>Sarcotragus foetidus</i> . I- <i>Sarcotragus spinosulus</i> .) (In Bensafia 2018, Clichés : Derbal, 2015).	53
11	Clichés de quelques éponges en verre - <i>Hexactinellida</i> (A - <i>Farreaocca</i> (Farreidae), spécimen de 10–30 cm de haut, 2026 m de profondeur. B - <i>Heterorete</i> sp. (Euretidae), spécimen de 30–50 cm de diamètre, 1559 m de profondeur. C - <i>Tretopleura</i> sp. (Uncinateridae), spécimen de 51 cm de haut, 888 m de profondeur. D - <i>Aulocalyx australis</i> (Aulocalycidae), spécimen ~ 6 cm de diamètre, 770–919 m de profondeur. E - <i>Lophocalyx</i> sp. (Rossellidae Lanuginellinae), spécimens de 10–50 cm de hauteur, profondeur de 2247 m. F - <i>Regadrella</i> sp. (Euplectellidae Corbitellinae, spécimen de 5–30 cm de haut, 2132 m de profondeur. G - <i>Saccocalyx</i> sp. (Euplectellidae	54

	Bolosominae), spécimen 30–50 cm de haut, 1557 m de profondeur. H - <i>Hyalonema</i> sp.(Hyalonematidae), spécimen de 5–10 cm de haut, 4824 m de profondeur (Dohrmann <i>et al.</i> , 2017).	
12	Clichés d'Homoscléromorpha méditerranéens. (A) <i>Oscarella lobularis</i> . (B) <i>Oscarella tuberculata</i> . (C) <i>Oscarella viridis</i> . (D) <i>Oscarella balibaloï</i> . (E) <i>Candelabre corticium</i> . (F) <i>Pseudocorticium jarrei</i> (Cardenas <i>et al.</i> , 2012, Cliché : Pérez, 2012).	55
13	Organisation générale des éponges (en haut) avec les trois principaux niveaux de complexité du système aquifère (en bas) (Renard <i>et al.</i> , 2009, modifiée).	56
14	Images MEB montrant la diversité de formes et de tailles de spicules des quatre classe des spongiaires : A- Hexactinellida., B- Démospongiae. C- Homoscléromorpha., D- Calcarea (Van Soest <i>et al.</i> , 2012. Cliché: Vacelet,2012)	57
15	Morphologie et physiologie de l'alimentation chez l'éponge. (A) Apparence globale en forme de vase avec plusieurs ostia inhalants et un osculum exhalant. En microscopie (B) une couche de pinacocytes couvrant la face interne des canaux. Des cellules flagellées (C) ou choanocytes génèrent un courant intrinsèque. Les grosses particules sont phagocytées (1) par les archaeocytes (a) et les parties indigestes sont larguées dans les canaux (2). Les petites particules sont piégées par les choanocytes, digérées puis transférées vers les archaeocytes (3) qui poursuivent leur digestion et libèrent les déchets dans les canaux (4) (Nakhle, 2000, modifié).	60
16	Zone d'étude et site d'échantillonnage dans le golfe d'Annaba (Belabed <i>et al.</i> , 2013b modifiée)	67
17	Lieu de prélèvement de l'éponge <i>Chondrilla nucula</i> au niveau de la station Alzon (cliché : Zerarguia, 2017)	68
18	Lieu de prélèvement de l'éponge <i>Chondrilla nucula</i> au niveau de la station La Caravelle (cliché : Zerarguia, 2017)	69
19	Site d'étude du cap de Garde (cliché : Zerarguia, 2017).	69
20	Photo de <i>Chondrilla nucula</i> (Schmidt, 1862) (cliché : Derbal, 2015).	70
21	Mesure des paramètres physicochimiques des eaux de surface (Cliché : Zerarguia, 2017)	72
22	Méthode de prélèvement d'un échantillon de <i>Chondrilla nucula</i> (Cliché : Zerarguia, 2017)	73
23	Echantillons séchés de l'éponge <i>C. nucula</i> (mesures en gramme)	73
24	Evolution saisonnière de la température des eaux de surface dans les deux stations prospectées du golfe d'Annaba.	75
25	Evolution saisonnière de la salinité des eaux de surface dans les deux stations prospectées du golfe d'Annaba.	76
26	Evolution saisonnière du pH des eaux de surface dans les deux stations prospectées du golfe d'Annaba.	77
27	Evolution saisonnière de l'oxygène dissout des eaux de surface dans	78

	les deux stations prospectées du golfe d'Annaba.	
28	Variations spatio-temporelles des teneurs en cuivre (Cu) dans les tissus de <i>Chondrilla nucula</i> échantillonnée dans le golfe d'Annaba.	79
29	Variations spatio-temporelles des teneurs en zinc (Zn) dans les tissus de <i>Chondrilla nucula</i> échantillonné dans le golfe d'Annaba.	80
30	Variations spatio-temporelles des teneurs en plomb (Pb) dans les tissus de <i>Chondrilla nucula</i> échantillonné dans le golfe d'Annaba.	81
31	Variations spatio-temporelles des teneurs en cadmium (Cd) dans les tissus de <i>Chondrilla nucula</i> échantillonné dans le golfe d'Annaba.	82
32	Les variations temporelles des concentrations des biomarqueurs par rapport aux variations des autres paramètres étudiés	99
33	Concentration saisonnière du <i>glutathion</i> (GSH) dans les tissus de <i>Chondrilla nucula</i> du golfe d'Annaba.	100
34	Concentration saisonnière du <i>glutathionne S- transférase</i> (GST) dans les tissus de <i>Chondrilla nucula</i> du golfe d'Annaba.	101
35	Concentration du <i>malondialdehyde</i> (MDA) dans les tissus de <i>Chondrilla nucula</i> du golfe d'Annaba.	102
36	Analyse en composantes principales basée sur la variation spatio-temporelle de l'ensemble des paramètres étudiés. Plan factoriel : D1 : 44,73%, D2 : 27,2. (A) : cercle de corrélation des variables dosées avec les deux premiers axes principaux. (B): Projection des saisons et des sites sur les deux premiers axes principaux.	104
37	Analyse du coefficient de corrélation de Pearson pour les concentrations de métaux lourds dans <i>C. nucula</i> avec les réponses des biomarqueurs du stress oxydatif et les paramètres physico-chimiques.	105
38	Principales étapes de préparation des échantillons en blocs de paraffine. A et B : unité anatomie-pathologie CHU d'El -Tarf ; C, D, E, F et G : Laboratoire pédagogique de l'université de Badji-Mokhtar Annaba.	113
39	Préparations histologiques colorées de l'éponge <i>Chondrilla nucula</i> du golfe d'Annaba.	115
40	Coupes histologiques mettant en évidence l'absence des éléments reproducteurs des colonies échantillonnées. A : Janvier, B : Février, C : Mars, D : Avril, E : Mai, F : Juin, G: Juillet, H : Aout, I : Septembre.	116
41	Mécanisme de reproduction asexuée chez l'éponge <i>Chondrilla nucula</i> et formation de grandes plaques sur le support rocheux (A : détachement d'une partie de l'individu adulte, B : Un individu en forme de larve nouvellement recruté). (clichés : Derbal, 2017).	116

Listes des Tableaux

N°	Tableau	Page
1	Tableau périodique des éléments (l'encadrement indique les éléments retenus dans cette étude) (Casas, 2005)	28
2	Classifications des éléments selon leur toxicité et leur absorption (Wood, 1974)	29
3	Description synthétique des principales caractéristiques des Porifères (Brusca & Brusca 2003 ; Base de données Word Porifera, http://www.marinespecies.org/porifera/ et Gazave <i>et al.</i> , (2012).	51
4	Position taxonomique des éponges inventoriées dans le golfe d'Annaba (selon world porifera database)(Derbal et Kara, 2005 ; Bensafia, 2018).	62
5	Sources anthropiques de quelques ETM (Abed, 2011)	65
6	Les études effectuées sur des invertébrés / organismes marins entant que « bioindicateurs de pollution » par des ETM dans le golfe d'Annaba dans la dernière décennie.	66
7	Résultats de l'ANOVA à un facteur contrôlé des variations de la température des eaux du golfe d'Annaba dans les stations prospectées.	75
8	Résultats de l'ANOVA à un facteur contrôlé des variations de la salinité des eaux du golfe d'Annaba dans les stations prospectées.	76
9	Résultats de l'ANOVA à un facteur contrôlé des variations du pH des eaux du golfe d'Annaba dans les stations prospectées.	77
10	Résultats de l'ANOVA à un facteur contrôlé des variations de l'O ₂ des eaux du golfe d'Annaba dans les stations prospectées.	78
11	Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des ETM (Cu) analysés dans les tissus de <i>Chondrilla nucula</i> du golfe d'Annaba.	79
12	Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des ETM (Zn) analysés dans les tissus de <i>Chondrilla nucula</i> du golfe d'Annaba.	80
13	Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des ETM (Pb) analysés dans les tissus de <i>Chondrilla nucula</i> du golfe d'Annaba.	81
14	Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des ETM (Cd) analysés dans les tissus de <i>Chondrilla nucula</i> du golfe d'Annaba.	82
15	Comparaison des variations physico-chimiques dans le golfe d'Annaba.	86
16	Etudes effectuées sur des spongiaires entant que « bioindicateurs de pollution » par des ETM en Méditerranée	90
17	Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) du glutathionne réduit dans les tissus de <i>Chondrilla nucula</i> échantillonnés dans le golfe d'Annaba.	100
18	Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) du glutathionne S-transférase dans les tissus de <i>Chondrilla nucula</i> échantillonnés dans le golfe d'Annaba.	102
19	Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) du malondialdéhyde dans les tissus de <i>Chondrilla nucula</i> échantillonnés dans le golfe d'Annaba.	103
20	Résultats de l'Analyse en composantes principales montrant les valeurs nettes et les pourcentages des deux premiers axes principaux.	105

Liste des abréviations

- ANOVA** : ANalysis Of VAriance
- BBC** : Bleu Brillant de Commassie
- Ca** : Calcium
- CA** : Régime Alimentaire de l'organisme
- CB** : Rapport de la concentration chimique dans un organisme
- CDNB** : 1-Chloro2, 4-di nitrobenzène
- CWT** : Concentration Chimique Totale dans l'eau
- CWD** : Concentration Chimique librement Dissoute dans l'eau
- Cws** : Concentrations Dissoutes
- Cwt** : Concentrations Totales
- DCE** : Directive Cadre de l'Eau
- Ddl** : Degré de liberté
- DEWA** : Direction de l'Environnement de la Wilaya d'Annaba
- DHWA** : Direction de l'Hydraulique de la Wilaya d'Annaba
- DO** : Densité Optique
- DTNB** : Acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque
- EDTA** : Éthylène Diamine Tétra-Acétique
- ERN** : Espèces Réactives de l'Azote
- ERO** : Reactive Oxygen Species
- FBA** : Facteur de Bioaccumulation
- FBC** : Facteur de Bioconcentration
- FBM** : Facteur de Biomagnification ou Bioamplification
- ETMs** : Eléments Traces Métallique
- ERA** : Environmental Risk Assessment ou évaluation du risque Environnemental
- Kow** : Coefficients de Partage octanol ± eau
- Koc** : Coefficient de Partage Carbone Organique
- Ksw** : Coefficients de Partage
- HAP** : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
- HOCl** : l'Acide Hypochloreux

GS-DNP : 1-S-Glutathionyl 2-4 Dinitrobenzene

GSH : Glutathion réduit

GSH-Pxs : Glutathions peroxydases

GSSG : Glutathion Oxydé

GST : Glutathion S-transférase

MAPEG : Groupe de protéines associées à la membrane dans le métabolisme des eicosanoïdes et du glutathion

MAPK : Famille des Protéines Kinases Activées par des Mitogènes

MDA : Malondialdehyde

MLs : Métaux Lourds

MEB : Microscopie Electronique à Balayage

MPGES-1 : Prostaglandine Microsomale E2 Synthase-1

NGS : Technologie de Séquençage de Nouvelle Génération

NHO3 : L'acide nitrique

NMDA : Les Récepteurs N-méthyl-D-aspartate

nmol : Nano mole

OD : Oxygène Dissout

OH : Radicaux Hydroxyles

P : Seuil de signification

PCB : Polychlorobiphényle

pH : Potentiel Hydrogène

PS : Poids sec

REFA : Réseau Francophone sur l'Eau et l'Assainissement

SSA : Acide Sulfosalicylique

SiO₂ · nH₂O : Silice inorganique amorphe hydratée

TBA : Acide Thiobarbiturique

TCA : Acide Trichloracétique

Vs : Matériau sorbant

γ-GT : la γ-glutamyl transpeptidase astrocytaire

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GENERALE

Les écosystèmes marins sont maintenus par le flux d'énergie des producteurs primaires à la base des réseaux trophiques jusqu'aux consommateurs intermédiaires, aux principaux prédateurs (y compris l'être humain) et aux agents pathogènes, puis de nouveau par la décomposition et les voies détritiques. Ainsi, les communautés marines constituent des réseaux biologiques dans lesquels le succès des espèces est lié directement ou indirectement par diverses interactions biologiques (relations prédateurs-proies, compétition, facilitation, mutualisme, etc.) aux performances d'autres espèces de la communauté. L'effet global de ces interactions constitue la fonction de l'écosystème (par exemple, le cycle des nutriments, les productivités primaire et secondaire), grâce auquel les écosystèmes océaniques et côtiers fournissent la richesse des avantages naturels gratuits dont la société dépend, telles que la production halieutique et aquacole, la purification de l'eau, la protection des rives et les activités récréatives et de loisirs.

Les zones côtières et marines sont constamment soumises à une pression continue et croissante des activités humaines (notamment pêche, commerce, conflits géopolitiques, trafic maritime, etc.). Par conséquent, le rejet des divers polluants (pesticides, éléments organiques persistants, hydrocarbures, métaux, plastiques et microplastiques) en mer affectent en permanence le fonctionnement des écosystèmes marins. La nature hautement dynamique des zones côtières constitue les propriétés physico-chimiques des milieux d'eau douce, des estuaires et des lagunes avec les caractéristiques océanographiques des mers limitrophes (Auta *et al.*, 2017). Ainsi, l'évaluation de la contamination et l'assainissement des milieux côtiers et marins sont l'une des questions les plus complexes et les plus actuelles en écotoxicologie et en gestion environnementale.

La mer Méditerranée est un bassin semi-clos couvrant une superficie de 2,5 millions de km² et contenant 3,7 millions de km³ d'eau. Le temps d'échange de l'eau est estimé à environ 80 ans et ce taux renouvellement qui assez lent entraîne un impact anthropique élevé (Thiboutot *et al.*, 2004; Wingfors *et al.*, 2006). L'urbanisation s'est particulièrement développée le long du littoral, pour accueillir à la fois des populations permanentes et temporelles (la Méditerranée est la plus grande destination touristique du monde), avec pour conséquence une modification

substantielle et des effets néfastes sur les zones côtières (Oursel, 2013). Il existe un large éventail d'activités industrielles répandues le long du bassin méditerranéen, et un certain nombre de spots industrialisés concentrés principalement dans la région occidentale du bassin. Toutes ces activités constituent des sources de pollution par élimination directe, ruissellement continental et transport atmosphérique (UNEP Chemicals, 2002). La présence de ces points chauds de pollution, situés généralement dans des zones semi-fermées comme les golfes et baies à proximité de ports importants, de grandes villes et de zones industrielles, est probablement le problème majeur en Méditerranée (EEA, 1999). En effet, le bassin méditerranéen compte plus de 200 installations pétrochimiques et énergétiques, usines chimiques et unités de production de chlore ainsi qu'une soixantaine de raffineries pétrolières qui déversent annuellement environ 20000 tonnes d'hydrocarbures (Albakjaji, 2010). D'autres produits chimiques tels que les biphényles polychlorés (PCB) et leurs dérivés, pesticides, microplastiques et métaux lourds constituent également des sources de contamination (Cebrian, 2007).

Il est donc évident que l'ensemble des nuisances précitées sont susceptibles de causer des effets délétères sur le fonctionnement des écosystèmes marins d'où l'intérêt de la conservation de la biodiversité et des habitats côtiers de Méditerranée. En 1975, le Programme des Nations Unies pour l'environnement (PNUE) a lancé le Plan d'action pour la Méditerranée (PAM) et, depuis, plusieurs programmes couvrant les aspects scientifiques, socio-économiques et juridiques de la protection de l'environnement méditerranéen ont été mis en œuvre. La première des activités de suivi a été initiée avec le programme MED POL qui est la composante scientifique et technique du MAP (UNEP, 1997). Ensuite, le PNUE a recommandé une série de biomarqueurs pour le programme de biosurveillance MEDPOL (PNUE/RAMOGÉ, 1999). Ces mesures de la réponse biologique pourraient être utilisées pour identifier les sources de pollution et les effets biologiques d'un large éventail de polluants (Cajaraville *et al.*, 2000).

Les métaux lourds sont des constituants naturels présents dans les hydrosystèmes aquatiques (mer et eau douce), généralement en très faibles concentrations. L'activité humaine a inévitablement augmenté les niveaux d'ions métalliques dans la majorité de ces écosystèmes aquatiques naturels. Le drainage minier, l'exploration pétrolière et gazière en mer, les effluents industriels (pesticides, peintures, cuir, textile, engrais, produits pharmaceutiques) et domestiques, le

ruissellement agricole, les pluies acides, etc. ont tous contribué à l'augmentation de la charge métallique dans ces milieux étant finalement incorporées dans les sédiments aquatiques (Di Leonardo *et al.*, 2009; Weber *et al.*, 2009; Rocha *et al.*, 2011).

Bien que certains ETM sont essentiels à la vie et certains sont simplement bénéfiques, nombreux sont hautement toxiques. Les concentrations auxquelles les métaux peuvent être considérés importants varient, car certains sont essentiels à de faibles niveaux et toxiques à d'autres. L'exposition chronique à ces éléments peut également induire des effets sublétaux chez les organismes, y compris une perturbation de l'homéostasie et des dommages aux niveaux cellulaire et moléculaire (Tsangaris *et al.*, 2010). De plus, ces effets peuvent réduire considérablement la capacité de survie de l'organisme en augmentant la sensibilité aux maladies et aux dommages, telle que la peroxydation des lipides (deMontaudouin *et al.*, 2010). Les critères qui permettent de définir si un élément trace métallique est essentiel ou non au développement normal des organismes incluent : (I) l'organisme ne peut ni croître ni achever son cycle de vie sans un approvisionnement adéquat de cet élément; (ii) l'élément ne peut pas être entièrement remplacé par un autre; (iii) l'élément a une influence directe sur l'organisme et participe à son métabolisme (Borchardt *et al.*, 1988; Huang *et al.*, 2007). Les métaux traces sont particulièrement importants car ils peuvent nuire à un large éventail d'espèces aquatiques, sont persistantes, non biodégradables et peuvent être mortels au-delà du seuil critique (Rainbow, 2007). Ces polluants sont souvent des toxines cumulatives et ont même de forts effets visibles lorsqu'ils sont ingérés indirectement par les êtres humains.

Dans les hydrosystèmes, les métaux lourds les plus préoccupants sont le cuivre, le zinc, le cadmium, le mercure et le plomb. Ces éléments sont toxiques pour les organismes au-dessus des concentrations seuils spécifiques, mais nombreux d'entre eux, comme par exemple le cuivre et le zinc, sont essentiels au métabolisme à des concentrations plus faibles. Le plomb et le cadmium n'ont aucune fonction biologique (Ansari *et al.*, 2004).

L'utilisation des bioindicateurs et/ou d'espèces sentinelles a été traditionnellement utilisée dans les études de biosurveillance, y compris l'évaluation des risques environnementaux (Friberg *et al.*, 2011). Bien que les enquêtes chimiques n'identifient qu'une fraction des polluants environnementaux, souvent ceux inclus dans les "listes prioritaires", l'utilisation de bioindicateurs permet d'évaluer les effets globaux des polluants mesurés et non mesurés interagissant avec les facteurs de stress

naturels et anthropiques dans la complexité des systèmes naturels (Birk *et al.*, 2012). L'utilisation de ces biomarqueurs pour évaluer les risques environnementaux de la pollution ont sensiblement augmenté ces dernières années. En effet, l'approche des biomarqueurs a maintenant attiré même l'attention des agences internationales de réglementation en tant qu'un outil nouveau potentiellement puissant pour détecter et documenter l'exposition et les effets d'une contamination environnementale (McCarthy & Shugart, 1990).

Différentes définitions des biomarqueurs ont été proposées par la littérature, mais nous utiliserons ici la définition simple de Depledge & Fossi 1994 : « *Une réponse biologique à un ou plusieurs produits chimiques qui donne une mesure de l'exposition et parfois, aussi, d'effet toxique* ». Une terminologie de travail a été mise en place pour faciliter les discussions sur les biomarqueurs. En effet, les biomarqueurs écotoxicologiques peuvent être attribués à l'une des quatre classes suivantes : (i) biomarqueurs d'exposition, (ii) biomarqueurs d'effet, (iii) biomarqueurs d'exposition / d'effet et (vi) biomarqueurs à effet latent (Depledge, 1993). D'autres classifications ont été mises en place, mais celle-ci reste la plus détaillée.

Des études menées au cours des 10 dernières années pour développer des biomarqueurs de polluants en milieu aquatique ont indiqué la nécessité d'intégrer les interactions des facteurs abiotiques (température, salinité, turbidité, alimentation, etc.) et biotiques (cycle de reproduction, croissance, âge, sexe, etc.) (Norton *et al.*, 2000). L'évaluation des variations saisonnières des biomarqueurs et la détermination des niveaux basaux dans les organismes modèles collectés dans des habitats spécifiques pendant plus d'un cycle (une année) constituent une stratégie de recherche largement recommandée aujourd'hui. Cet effort surmonte les difficultés des études de terrain intégrant les variations de nombreux facteurs de stress naturels et évaluant les effets des polluants chimiques (Kagley *et al.*, 2003). En cas d'exposition chronique, l'action des substances toxiques peut ne pas être prédominante, mais associée à de nombreux facteurs de stress environnementaux. Cependant, en combinaison avec d'autres facteurs, les polluants peuvent contribuer à l'affaiblissement des défenses et des mécanismes de régulation des organismes étudiés (Bodin *et al.*, 2004). Ainsi, les biomarqueurs liés à ces mécanismes de début physiologique de réglementation sont sujets à des variations qui rendent difficile à détecter les effets spécifiques des polluants chimiques. Une meilleure compréhension du niveau basal des biomarqueurs à des sites de contrôle (à la fois légèrement et fortement contaminés), ainsi que

l'évaluation des paramètres caractéristiques des facteurs physiologiques (croissance, respiration, reproduction), peuvent indiquer si et/ou quand l'état physiologique des organismes est affecté (Smolders *et al.*, 2002).

La sélection d'une espèce bio-indicatrice appropriée est essentielle pour évaluer les dommages environnementaux causés par les effets des activités anthropiques et de l'industrialisation (Rosenberg *et al.*, 2004). Les invertébrés benthiques sessiles semblent être des outils particulièrement adaptés à la biosurveillance de la pollution puisqu'ils sont directement exposés aux substances toxiques d'origine hydrique rejetées dans une zone donnée (Perez *et al.*, 2004). Parmi eux, les spongiaires peuvent être considérés comme des bioindicateurs prometteurs puisque ces invertébrés présentent plusieurs avantages dont (i) la grande capacité de filtration de l'eau, (ii) une large distribution spatiale, (iii) une disponibilité temporelle et (iv) une abondance dans les zones sublittorales (Sara & Vacelet, 1973). D'autre part, ce groupe taxonomique qui tolère les changements climatiques et les crises environnementales brusques (Hansen *et al.*, 1995), présentent une organisation biologique très primitive et une éthologie alimentaire (Perez *et al.*, 2003) favorisant par conséquent l'accumulation de métaux lourds (Venkateswara *et al.*, 2008). Globalement, les porifères soumis à une contamination métallique subissent différentes réponses : morphologiques, biologiques, physiologiques et biochimiques, qui peuvent être facilement contrôlées par rapport à d'autres modèles bioindicateurs classiques comme les bivalves ou les polychètes (Cebrian *et al.*, 2006). Malgré ces caractéristiques appropriées, les éponges ont été sous-utilisées dans les enquêtes mondiales.

Ce n'est qu'au cours des 20 dernières années que les éponges sont devenues de plus en plus impliquées dans les programmes de biosurveillance, tel que le programme Spontox qui a réussi l'intégration des spongiaires en tant qu'espèce sentinelle permanente aux réseaux de surveillance du milieu littoral bas-Normand qui fait l'objet d'une des plus intenses vigilances de l'ensemble du littoral français en nombre de réseaux, en points de prélèvements et en paramètres analysés (Basuyaux *et al.*, 2010).

Malgré l'importance des travaux utilisant les éponges en tant que bioindicateurs de la pollution dans le bassin méditerranéen, aucun programme n'a jusqu'à aujourd'hui intégré ces invertébrés benthiques filtreurs dans une stratégie d'étude de contamination côtière sur les côtes Nord-africaines et en particulier le long

du littoral algérien qui certainement doit receler d'importants gisements porifères, comme c'est le cas de la Tunisie, pays limitrophe, qui est considéré comme étant le premier pays producteur d'éponge commerciale (40%) dans la région (Pérez & Vacelet, 2013). Sur les côtes est algériennes, Bensafia (2018) a utilisé pour la première fois, les spongiaires en tant que modèle bioindicateur de la qualité des eaux du golfe d'Annaba et a ouvert ainsi un nouveau créneau d'investigation scientifique utilisant ces organismes macrozoobenthiques.

Cette thèse a pour objectif de fournir des informations complémentaires sur une autre espèce d'éponge colonisant les petits fonds accidentés des côtes est algériennes, il s'agit de *Chondrilla nucula*. En utilisant ce matériel biologique, le suivi et l'évaluation de la qualité des eaux du golfe d'Annaba s'effectuera, d'une part, par une approche multimarqueurs (dosage du GSH, de la GST et du MDA), et d'autre part, par l'estimation des teneurs et de la biodisponibilité des éléments traces métalliques (Cu, Zn, Pb et Cd) dans les tissus de cette espèce.

D'une manière générale, le manuscrit de la thèse a été organisé en 4 chapitres distincts mais complémentaires :

- Le chapitre 1 est une compilation bibliographique sur les éléments traces métalliques, l'évaluation du risque environnemental et la présentation du modèle biologique sur les plans taxonomique, morphologique, anatomique, physiologique, écobiologique, économique et diversité.
- Le chapitre 2 est relatif aux éléments traces métalliques avec un intérêt particulier pour le cuivre, le zinc, le plomb et le cadmium dont la présence est recherchée dans les tissus de *C. nucula*.
- Le chapitre 3 traite des biomarqueurs du stress antioxydant, notamment le dosage du glutathion (GSH), du glutathion S-transférase (GST) et le malondialdéhyde (MDA).
- Le dernier chapitre aborde sommairement la biologie de la reproduction.

Enfin, le manuscrit se termine par une conclusion générale et des perspectives.

GÉNÉRALITÉS

Généralités

1. ELEMENTS TRACES METALLIQUES

1.1. Pollution marine

Dans le cadre de la mer Méditerranée, la Convention de Barcelone a introduit un nouveau concept, conduisant à des perspectives en matière de conservation de l'environnement, définissant la pollution marine comme: *«tout apport ou soustraction anthropique d'énergie et de matière qui provoque un changement persistant des caractéristiques chimiques, physiques ou biologiques d'un système, altérant le fonctionnement des écosystèmes marins et affectant la possibilité d'exploitation humaine des ressources naturelles, y compris l'utilisation des zones côtières à des fins récréatives»*.

Au cours des dernières décennies, l'intégrité écologique et la biodiversité des écosystèmes marins ont été fortement menacées en raison de la forte concentration de polluants générés principalement par différents processus anthropiques (ex. applications industrielles, domestiques et agricoles). En raison de la circulation et de la dynamique de la matière dans l'environnement, les émissions de polluants se retrouvent fréquemment dans la mer, transporté principalement par les apports fluviaux des zones urbaines et rurales polluées près du rivage, des dépôts atmosphériques et des décharges directes (Beiras, 2018). La pollution marine affecte principalement les zones côtières car le temps de séjour des polluants dans les estuaires à marée est plus long qu'au sein des rivières et des cours d'eaux. Ainsi, la capacité de diluer les rejets de déchets diminue et, par conséquent, les polluants s'accumulent (Aminot *et al.*, 2019). Selon la Convention des Nations Unies sur le droit de la mer, la pollution marine est aussi définie comme *« l'introduction par l'homme, directement ou indirectement, de substances ou d'énergie dans le milieu marin qui entraîne ou est susceptible d'entraîner des effets délétères tels que ressources vivantes et vie marine »* (Nations Unies, 1982; Noone *et al.*, 2013).

Sur la base de ce rapport, les agences et institutions internationales de protection de l'environnement du monde entier ont établi de nombreuses listes de polluants dits prioritaires, dont leur fuite vers l'écosystème marin doit être universellement évitée en raison de leurs effets néfastes à court, moyen ou à long termes, ce qui pourrait représenter un danger potentiel pour l'environnement et indirectement la santé humaine (Grip, 2017). L'agence de protection de

l'environnement des États-Unis (EPAUS), par exemple, a mis à jour une liste de polluants prioritaires de "la Clean Water Act". Cette dernière inclue essentiellement des métaux lourds tels que l'arsenic (As), le mercure (Hg), le cadmium (Cd), le zinc (Zn), le chrome (Cr), le plomb (Pb), en plus des autres produits chimiques spécifiques comme les colorants, les composés phénoliques, les biphényles polychlorés et les organophosphates (EPAUS, 2009 ; EPA, 2014).

1.2. Eléments traces métalliques : éléments essentiels et non essentiels

Les métaux lourds sont définis comme «des métaux naturels ayant un numéro atomique supérieur à 20 et une densité élémentaire supérieure à 5 g.cm⁻³» (Ali et Khan, 2018b) (Tab. 1). Ce sont des éléments omniprésents, présents dans l'environnement et accumulés par les organismes vivants via la chaîne alimentaire. Certains métaux sont essentiels à la vie (appelés oligo-éléments) car ils sont impliqués dans de multiples fonctions, telles que la structure et l'activité des enzymes, les protéines de transport, la fonction hormonale et les sites récepteurs spécifiques, étant cruciaux pour le fonctionnement des systèmes biologiques, s'ils sont maintenus aux niveaux requis (Apostoli, 2002).

Tableau 1. Tableau périodique des éléments (l'encadrement indique les éléments retenus dans cette étude) (Casas, 2005).

Hydrogène
 Métaux alcalins
 Métaux alcalino-terreux
 Eléments de transition
 Autres métaux
 Non métaux
 Gaz rares
 Lanthanides
 Actinides

Les métaux classés comme lourds sont : Cu, Co, Cr, Cd, Fe, Zn, Pb, Sn, Hg, Mn, Ni, Mo, V et W (Tab. 2). Dans ce groupe, on peut distinguer à la fois des éléments essentiels aux organismes vivants (micronutriments) et des éléments dont le

rôle physiologique reste inconnu et donc «inactifs» envers les plantes, les animaux et l'homme. Les métaux utilisés comme micronutriments dans les organismes vivants se trouvent généralement à l'état de traces qui sont précisément définis pour chaque espèce. Leur carence et leur excès affectent sensiblement le développement psychophysique des organismes (Szczewski *et al.*, 2009).

Tableau 2. Classifications des éléments selon leur toxicité et leur absorption (Wood, 1974).

Non critique	Toxique, partiellement dissous ou facilement exposé	Très toxique et facilement exposé
Na, C, F, K, S, Sr, H, Cl	Ti, Ga, Hf, Rh, Nb, Ir	Be, As, Au, Cu, Pd, Pb
P, Li, Mg, Al, O, Br, Si	La, Zr, Os, Ta, Ru, Re	Co, Se, Hg, Zn, Ag, Sb
Fe, Rb, Ca, N	W	Ni, Te, Tl, Pt, Sn, Cd, Bi

Par exemple, le Zn qui est le composant intracellulaire le plus abondant est impliqué dans la stabilité génétique et l'expression des gènes ainsi que dans la réparation de l'ADN et la mort cellulaire programmée (Dreosti, 2001). Une carence en Zn peut retarder la croissance avec un risque cancérogène accru, mais absorbé en excès, il peut être neurotoxique (Cai *et al.*, 2005). Le Cu qui est un composant de différentes enzymes, est impliqué dans la synthèse du collagène et dans le développement normal des tissus conjonctifs, des nerfs et du système immunitaire. Présent en excès, il peut être extrêmement toxique en raison de son activité pro-oxydante, causant des dommages à l'ADN. Cet élément a été même associé à des changements neurodégénératifs tels que la maladie d'Alzheimer (Llanos & Mercer, 2002). Le Fe est présent dans diverses enzymes, responsables de la protection cellulaire contre les dommages oxydatifs, et est considéré comme indispensable à la croissance et le développement normal des mammifères (Ventura *et al.*, 2005).

D'autres métaux ne sont pas considérés comme essentiels et leur présence, même à de très faibles doses, peut entraîner une altération des fonctions biologiques (Apostoli, 2002). Par exemple, le Cd est cancérogène et le Pb est neurotoxique, et même en petites quantités, les deux peuvent interagir avec le calcium et le remplacer dans le squelette ou remplacer le Zn dans les enzymes de l'hème et les métallothionéine (Waalkes, 2003).

1.3. Contamination de la faune

L'ensemble des animaux aquatiques et terrestres sont exposés directement ou indirectement aux métaux lourds présents dans leur environnement immédiat (continent, hydrosystèmes, sédiment) et les accumulent à différentes quantités selon différents mécanismes (ingestion, inhalation, contact, etc.) et niveaux trophiques des chaînes alimentaires. Ces principales voies de contamination des ETMs varient selon la complexité du groupe taxonomique, le milieu récepteur et leur mode de vie (comportement, biologie, physiologie, régime alimentaire) (Varrault, 2011; Gall *et al.*, 2015).

Chez les invertébrés, par exemple, les concentrations de métaux lourds peuvent varier considérablement. Il a été rapporté que les concentrations d'As dans les tissus des polychètes varient de 1,5 à 2 739 ppm de poids sec (Waring & Maher, 2005). La bioaccumulation des métaux lourds chez les arthropodes dépend de leurs habitudes alimentaires. Les insectes carnivores concentrent généralement des teneurs en métaux lourds plus élevées que les insectes omnivores et herbivores (Azam *et al.*, 2015). D'une manière générale, les poissons téléostéens carnivores accumulent plus de métaux lourds dans leur organisme car souvent ils sont situés au sommet des chaînes alimentaires aquatiques. Cependant, certaines études ont rapporté le contraire en précisant que certains poissons d'eaux douces omnivores comme le silure *Wallago attu* et la carpe commune *Cyprinus carpio* présentaient des concentrations de métaux plus élevées (Yousafzai *et al.*, 2010; Strbac *et al.*, 2014). Chez les poissons, les métaux lourds peuvent pénétrer dans le corps via 3 voies possibles: (i) le tégument (ii) les branchies et (iii) le tube digestif (Fig. 1). Les parties solubles de métaux peuvent s'accumuler dans le corps du poisson de préférence par les branchies, tandis que les parties particulières peuvent s'accumuler dans le tube digestif. L'entrée par les branchies est une voie principale pour les fractions de métaux lourds solubles chez les poissons (Dallinger *et al.*, 1987). La littérature scientifique sur la bioaccumulation des métaux lourds et des métalloïdes chez les amphibiens et les reptiles est relativement moins riche que celle d'autres groupes d'animaux. Il a été rapporté que les amphibiens anoures sont particulièrement sensibles à l'absorption d'ions de métaux lourds en raison de la perméabilité de leur tégument (Mahmood *et al.*, 2016). La faune ornithologique est exposée aux métaux lourds par l'ingestion de nourriture et d'eau et par géophagie qui est une pratique d'ingestion des substances semblables aux particules du sol pour ingérer des nutriments tels que le soufre et le phosphore (Malik

& Zeb, 2009). Quant à l'effet de leur alimentation sur l'accumulation de métaux lourds, il a été rapporté que les niveaux de métaux lourds chez les oiseaux ayant des habitudes alimentaires différentes étaient généralement les suivants: carnivores> omnivores et insectivores> céréalesivores (Abbasi *et al.*, 2015). Les études relatives à la bioaccumulation des métaux lourds chez les mammifères sont relativement moins courantes par comparaison avec celles des invertébrés et certains poissons (Ali & Khan, 2018a).

La relation multi-trophique complexe entre les organismes vivants permet une mobilisation illimitée (dans l'espace) des métaux traces à travers différents écosystèmes (terrestres et/ou aquatiques) où ils peuvent être accumulés dans les tissus corporels des organismes vivants (bioaccumulation) et transférés à travers les réseaux trophiques, augmentant la concentration lorsqu'ils passent des niveaux trophiques inférieurs aux niveaux trophiques supérieurs (bioamplification) (Fig. 1). En revanche, certaines études évoquant le processus de biodilution précisent que la concentration dans les tissus de certains éléments comme les métalloïdes est inversement proportionnelle avec l'augmentation de la position trophique (Fig. 1) (Besser *et al.*, 2001; Quinn *et al.*, 2003). Le lien entre les éléments et leur accumulation ou dilution chez les organismes aquatiques dépend également des espèces, des conditions toxiques et physico-chimiques et des voies d'exposition (Croteau *et al.*, 2005). Il existe également une influence des facteurs biologiques et écologiques des espèces qui composent la chaîne alimentaire, tels que les habitudes alimentaires, l'habitat, l'âge, le sexe, l'état de santé et les mécanismes de désintoxication (Soto-Jiménez, 2011).

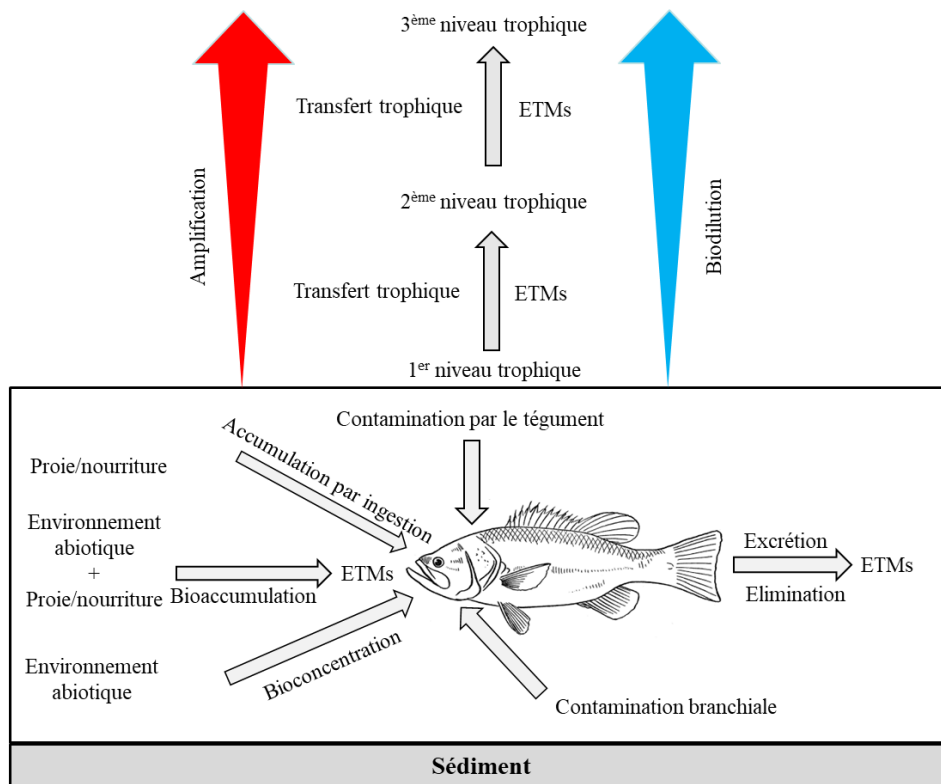


Figure 1. Schéma synthétique des expressions et concepts impliqués dans la trophodynamique des métaux lourds (Ali *et al.*, 2019, modifié).

1.4. Principales voies de contamination humaine

Les métaux lourds sont également toxiques pour la santé humaine. Toutefois, leurs effets néfastes varient en fonction de la dose et de la durée de l'exposition (Waseem & Arshad, 2016). Leur forte accumulation à l'intérieur du corps vivant peut provoquer des pathologies graves au fil du temps (Khan *et al.*, 2013). Par comparaison à d'autres approches, telles que l'inhalation et le contact cutané, l'ingestion d'aliments par voie orale a été considérée comme la principale voie d'exposition aux métaux lourds, par laquelle plus de 90% d'entre eux pénètrent dans le corps humain (Loutfy *et al.*, 2012).

Les fruits de mer (crustacés et mollusques) et les poissons contiennent tous les acides aminés essentiels et constituent donc des sources de protéines pour l'homme, surtout pour les populations côtières qui en consomment régulièrement, soit l'équivalent en protéines animales de 37% (FAO, 2000; Fuentes *et al.*, 2009; Taweel *et al.*, 2013). De plus, ils sont aussi généralement considérés comme une source non négligeable de vitamines et de minéraux essentiels à faible teneur calorifique et

lipidique et donc un aliment adéquat pour un régime alimentaire sain et équilibré. D'ailleurs, la consommation régulière de produits halieutiques est recommandée car ils représentent une source saine d'acides gras saturés particulièrement en oméga-3. Ces derniers ont des effets cardio-protecteurs et sont donc associés à des bienfaits sanitaires (Castro-Gonzalez & Mendez-Armenta, 2008; Ozden *et al.*, 2010). De même, la contamination des crevettes par des métaux lourds notamment le Pb et Hg peut être dangereuse pour la santé publique (Sarker *et al.*, 2018). Cependant, la valeur nutritionnelle et les risques pour la santé du consommateur liés aux organismes marins comestibles doivent être pris en considération car les organismes marins peuvent accumuler des contaminants chimiques présents dans l'environnement marin (Fig. 2).

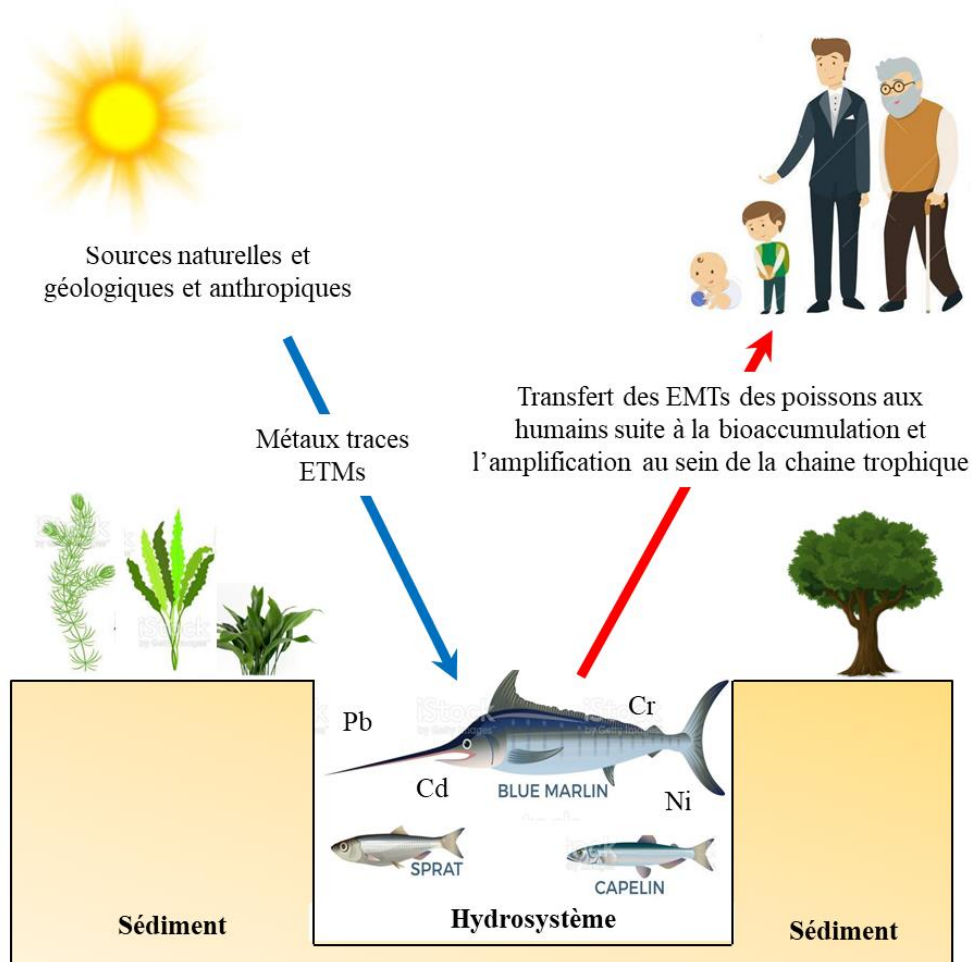


Figure 2. Transfert trophique des métaux lourds d'un hydrosystème à l'être humain via la chaîne alimentaire (Ali *et al.*, 2019, modifiée)

1.5. Effets des métaux lourds sur la faune

L'ensemble des groupes faunistiques (vertébrés et invertébrés) sont sensibles à la toxicité des métaux lourds mais à différents degrés en fonction des caractéristiques des organismes, telles que leur physiologie, comportement, habitudes alimentaires, ainsi que les propriétés des métaux présents dans l'environnement comme la spéciation et la biodisponibilité. Toutefois, il est généralement reconnu et admis par la communauté scientifique que les contaminants environnementaux peuvent nuire à la santé animale. Parmi les effets induits par les activités anthropiques et/ou les paramètres environnementaux observés chez les organismes, on retrouve les perturbations endocriniennes, les effets neurotoxiques, génotoxiques, reprotoxiques et immunotoxiques, etc. (Fig. 3).

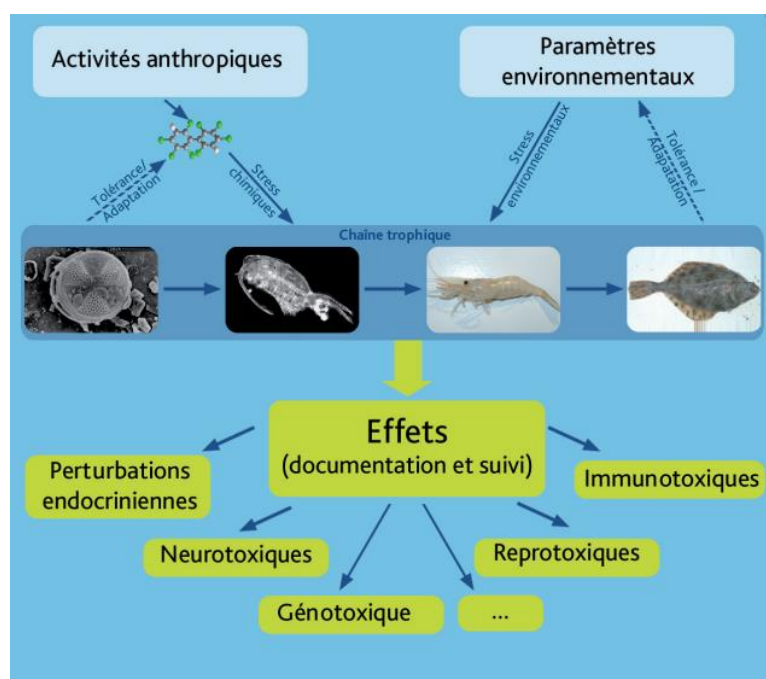


Figure 3. Schéma synthétique des effets écotoxicologiques (Poisson *et al.*, 2011).

Les métaux lourds peuvent affecter la santé des populations d'invertébrées. Il a été rapporté que l'exposition au Pb induisait des dommages à l'ADN dans les cellules branchiales du bivalve d'eau douce *Anodonta anatina* et que les effets génotoxiques étaient plus importants à une dose d'exposition de 120 mg.L^{-1} (Sohail *et al.*, 2017). De même, le Cd, à des niveaux environnementaux pertinents, provoquent des effets biochimiques, toxicologiques et pathologiques évidents chez cette même espèce de bivalve, ce qui pourrait expliquer en partie la cause principale du déclin général

observé chez les populations naturelles (Ngo, 2008). Une étude récente a montré que les métaux lourds affectent le comportement alimentaire du microcrustacé *Daphnia magna* à des concentrations 27 à 63 fois plus faibles que la survie, ce qui suggère que l'application de paramètres sublétaux est nécessaire pour établir des réglementations de protection (Lari *et al.*, 2017). La toxicité des métaux lourds chez les invertébrés aquatiques est liée à une concentration seuil du métal qui est métaboliquement disponible et non à la concentration totale de métal accumulée (Rainbow, 2002). La pollution par les métaux lourds dans les écosystèmes aquatiques est préjudiciable aussi à la santé des populations ichthyologiques, notamment les juvéniles en affectant leur métabolisme physiologique. Cette contamination entraîne généralement des perturbations biochimiques, hématologiques et histologiques (Noureen *et al.*, 2022). Chez les poissons, les contaminants chimiques sont considérés comme de fortes neurotoxines (Baatrup, 1991). Une exposition prolongée à des métaux lourds toxiques peut provoquer une dégénérescence de l'épithélium (Javed & Usmani, 2013). Javed & Usmani (2015), qui ont étudié dans une rivière contaminée par les effluents d'une centrale thermique, la réponse au stress de différentes biomolécules chez le téléostéen *Channa punctatus*, ont signalé que les eaux usées contenant des métaux lourds induisaient un stress, causant une fragilité physiologique chez cette espèce les rendant plus vulnérables aux maladies. La contamination métallique peut également diminuer le succès de la reproduction en affectant le génotype (Pal & Ghosh, 2013). En effet, elle a été suggérée comme l'une des principales raisons du déclin rapide des populations de poisson d'eau douce *Tor putitora* de la rivière Kaboul du Pakistan (Yousafzai *et al.*, 2009). Dans la rivière Barandu de ce même pays, les effluents de l'industrie du marbre ont été responsables de la réduction de l'abondance et de la diversité spécifique (Mulk *et al.*, 2016). Selon Kumari *et al.* (2017), l'exposition des poissons à l'As provoque une hyperglycémie, un épuisement des activités enzymatiques et un dysfonctionnement du système immunitaire.

1.6. Contamination des hydrosystèmes côtiers et estuariens par les ETMs

Les hydrosystèmes estuariens et côtiers sont des régions où les interactions terre-mer sont sensibles et constituent des puits pour les sédiments, les éléments naturels et la pollution qui sont influencés par les activités humaines et les processus naturels (Li *et al.*, 2007). Les métaux lourds sont considérés comme des sources majeures de contamination dans les écosystèmes aquatiques et ont suscité des

inquiétudes dans le monde entier en raison de leur toxicité, bioaccumulation, risque écologique, persistance et de leur nature non biodégradable de la contamination (Singh & Kumar, 2017). Cette situation peut entraîner des menaces potentielles aux écosystèmes et indirectement à la santé humaine (Li *et al.*, 2009).

Avec le développement économique et industriel rapide au cours de ces dernières années, la pollution par les métaux lourds n'a cessé d'augmenter au sein des écosystèmes aquatiques au point de devenir l'un des problèmes environnementaux les plus inquiétants (Monferran *et al.*, 2016). Ces métaux sont acheminés dans les environnements estuariens et côtiers par diverses sources telles que le ruissellement de surface, les précipitations atmosphériques et les activités anthropiques, notamment les déversements océaniques, les rejets d'eaux usées et l'évacuation des eaux usées industrielles (Xu *et al.*, 2016). En fait, cette dernière est devenue la principale source de contamination par les métaux lourds dans de nombreux estuaires et zones côtières du monde entier (Begy *et al.*, 2016), notamment dans le compartiment sédiment meuble où ces substances toxiques se retrouvent piégées (Sundaramanickam *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2016; Jafarabadi *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2018).

2. Evaluation du risque environnemental

2.1. Surveillance des polluants

Face à la grande diversité de la nature et de l'origine des polluants chimiques, différentes stratégies d'évaluation des risques des xénobiotiques ont été développées. L'évaluation du risque environnemental est définie comme étant la mise en place d'une procédure permettant l'évaluation des effets des polluants et des activités anthropogéniques sur les écosystèmes (et leurs composantes) en appliquant des méthodologies déjà maîtrisées et validées à l'échelle expérimentale (Van Der Oost *et al.*, 2003).

2.2. Biosurveillance

L'étude de la pollution de l'environnement implique une connaissance aussi précise que possible de la distribution des polluants dans les écosystèmes et de leurs effets sur les différents niveaux d'organisation biologiques (Fig. 4). Il est parfois d'usage de faire une distinction entre, d'une part, la surveillance chimique dont l'objet est de déterminer le niveau de contamination par tel ou tel polluant des biotopes et de la biomasse et, d'autre part, la surveillance biologique dont l'objet est d'évaluer l'impact à

un instant donné ou en fonction du temps de la pollution de l'environnement sur les populations et les communautés exposées. Le niveau critique de relation concentration-réponse écotoxicologique à un polluant donné étant connu, il sera ultérieurement possible d'établir des normes de protection de l'environnement pour le polluant considéré. Celles-ci fixeront :

- a. les concentrations maximales tolérables au sein des populations des espèces les plus sensibles et les espèces clés de l'écosystème,
- b. les concentrations maximales admissibles dans le biotope et le réseau trophique en aval des espèces de référence,
- c. un niveau maximum de rejet au site des sources d'émission du polluant pour s'assurer que les normes de qualité de l'environnement définies par (a) et (b) soient respectées.

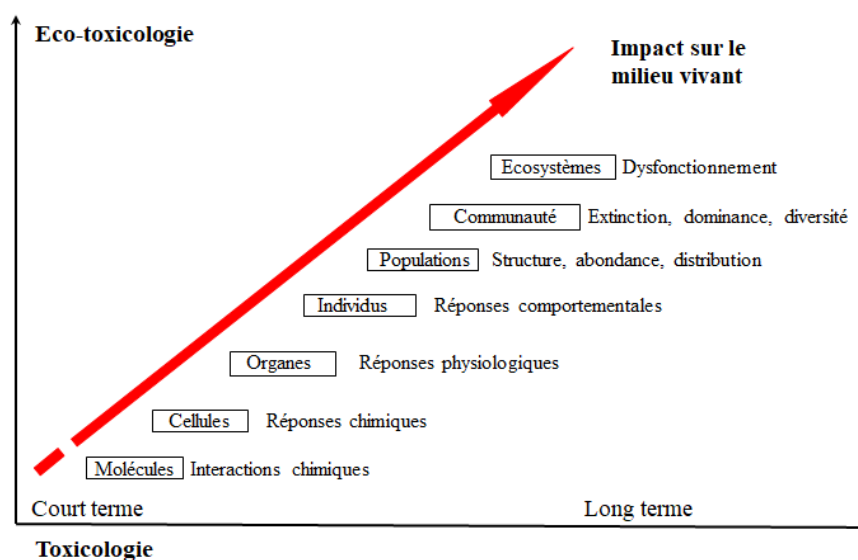


Figure 4. Effets des contaminants chimiques sur les différents niveaux d'organisation biologique (Marchand & Kantin, 1997; Marchand, 2002; IFREMER, 2006).

Il a été largement constaté que les organismes (animales et végétales) ont la faculté d'héberger des concentrations élevées de certains contaminants par rapport aux concentrations de ces substances présentes dans l'environnement (air, eau, sol et sédiments) qu'ils habitent. Ce processus est qualifié de bioconcentration, bioaccumulation et bioamplification, termes que nous définirons plus précisément dans le manuscrit. Les substances bioaccumulables pour lesquelles il y a une augmentation sensible de la concentration présentent un intérêt particulier évident. Il

existe plusieurs incitations à quantifier l'étendue de la bioaccumulation. Les organismes qui bioaccumulent des substances peuvent être exploités pour surveiller la contamination environnementale (Hamelink *et al.*, 1994). La consommation d'organismes contaminés, peut entraîner l'exposition du consommateur à des doses élevées de produits chimiques toxiques. La réponse d'un organisme à une substance toxique est déterminée par la quantité de substance qui atteint l'organe ou le tissu cible (Spacie *et al.*, 1995). La relation entre cette quantité et la concentration environnementale externe est contrôlée par des phénomènes de bioaccumulation. Les contaminants qui sont conservés lorsqu'ils passent d'un organisme à un autre dans une chaîne alimentaire ou un réseau trophique sont particulièrement préoccupants, ce qui peut entraîner des concentrations progressivement plus élevées à des niveaux trophiques élevés (Barron, 1990). L'ampleur de la bioaccumulation peut donc jouer un rôle clé dans la détermination des critères de qualité de l'eau et des sédiments (Gobas & Morrison, 2000).

Une certaine confusion existe dans la littérature sur la nomenclature. Nous utiliserons ici les définitions de Gobas & Morrison (2000) qui sont de plus en plus acceptées comme standard dans la littérature.

2.2.1. Bioconcentration

La bioconcentration chez les poissons implique l'absorption de produits chimiques par absorption de l'eau uniquement (généralement dans des conditions de laboratoire), peut se produire via la surface respiratoire et/ou le tégument, et aboutit à une concentration de produits chimiques dans un organisme aquatique supérieure à celle de l'eau. Le facteur de bioconcentration (FBC) est défini comme le rapport de la concentration chimique dans un organisme CB, à la concentration chimique totale dans l'eau CWT, ou à CWD, la concentration chimique librement dissoute dans l'eau et s'exprime comme suite :

$$BCF = CB / CWT \text{ ou } CB / CWD$$

L'utilisation de la MDC est préférée car elle ne prend en compte que la fraction du produit chimique dans l'eau qui est biologiquement disponible pour l'absorption.

2.2.2. Bioaccumulation

La bioaccumulation est le processus qui entraîne une augmentation de la concentration chimique dans un organisme aquatique par rapport à celle de l'eau, en raison de l'absorption par toutes les voies d'exposition, y compris l'ingestion (Fig.05),

le transport à travers les surfaces respiratoires et l'absorption cutanée. La bioaccumulation peut donc être considérée comme une combinaison de bioconcentration et d'absorption alimentaire. Le facteur de bioaccumulation (FBA) dans est le rapport de la concentration du produit chimique dans l'organisme CB à celle de l'eau, de manière similaire à celle du FBC.

$$FBA = CB / CWT \text{ ou } CB / CWD$$

2.2.3. Bioamplification

La bioamplification peut être considérée comme un cas particulier de bioaccumulation dans lequel la concentration chimique dans l'organisme dépasse celle du régime alimentaire de l'organisme en raison de l'absorption alimentaire. Un facteur de bioamplification (FBM) peut être défini comme le rapport de la concentration de produit chimique dans l'organisme CB à celle du régime alimentaire de l'organisme CA et peut être exprimé comme suit:

$$BMF = CB / CA$$

Il est probablement plus significatif d'exprimer les deux concentrations sur une base lipidique normalisée. Un problème se pose évidemment lors de la définition des BMF lorsqu'un organisme a un large spectre alimentaire avec des concentrations différentes. Les produits chimiques qui se bioaccumulent ne se bioamplifient pas nécessairement.

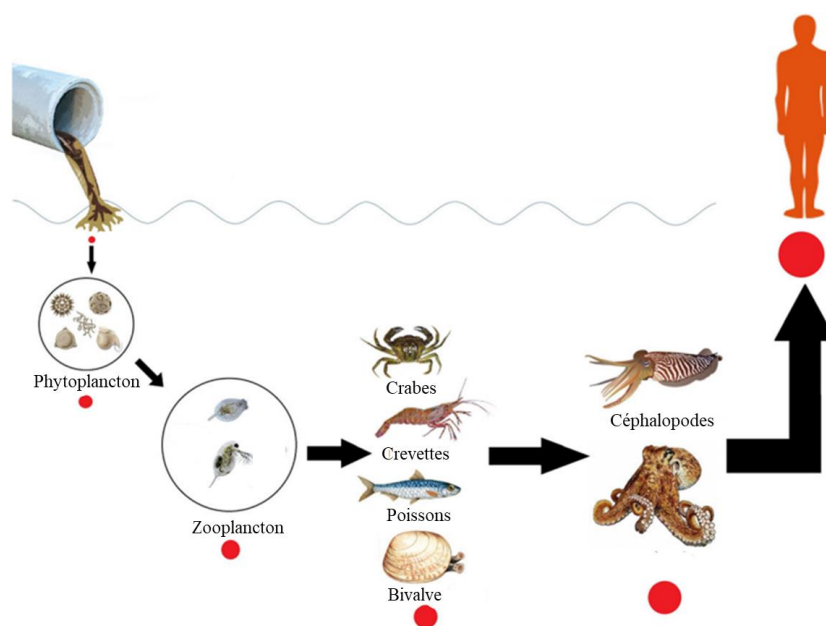


Figure 5. Schéma synthétique illustrant la bioaccumulation et la bioamplification des éléments traces métalliques dans la chaîne trophique de l'écosystème côtier (Rabaoui *et al.*, 2016, modifiée).

2.2.4. Biodisponibilité

Tous les contaminants présents dans l'environnement, par exemple dans l'eau, ne sont pas disponibles pour être absorbés par un organisme. Une partie est séquestrée sous forme sorbée (absorbée ou adsorbée) dans la matière organique dissoute et particulaire. Il existe donc une fraction «biodisponible» qui est souvent assimilée à la fraction réellement dissoute. Des phénomènes similaires existent dans les sédiments et également dans l'atmosphère où la sorption aux particules d'aérosol réduit la biodisponibilité (Hamelink *et al.*, 1994). La fraction dissoute ne peut être définie de manière opérationnelle qu'en termes de taille de pore de filtre spécifique telle que 0,4 mm. En réalité, une grande partie de la matière sorbée passe à travers ces filtres et n'est dissoute qu'en apparence.

En principe, s'il existe une solution contenant une fraction volumique de matériau sorbant (V_s) et que le produit chimique a un coefficient de partage (sur une base volumétrique, c'est-à-dire $(g / m^3) / (g / m^3)$) entre l'état sorbé et dissous du K_{sw} , la fraction de la concentration totale du produit chimique dissous est donnée par :

$$C_{ws} / C_{wt} = 1 / ((1 - V_s) + K_{sw} V_s)$$

où C_{ws} et C_{wt} sont les concentrations dissoutes et totales, respectivement. Habituellement, V_s est petit et $(1 - V_s)$ très différent de 1,0. Les produits chimiques hydrophobes avec des coefficients de partage octanol \pm eau élevés K_{ow} (c'est-à-dire $K_{ow} > 105$) ont des coefficients de partage K_{sw} élevés, entraînant une réduction de la fraction dissoute. L'organisme peut alors ne subir qu'une petite fraction de la concentration totale de produit chimique présent. De même, lorsque V_s est important, la biodisponibilité est également réduite. Souvent, K_{sw} est exprimé en unités de litres par kilogramme, dans ce cas V_s est une concentration en kilogrammes par litre. Gobas & Morrison (2000) ont passé en revue les méthodes de calcul du K_{sw} à partir du coefficient de partage octanol \pm eau du produit chimique et de la teneur en carbone organique des phases de sorption. Seth & coll (1999) ont suggéré que le K_{sw} soit calculé comme le produit du K_{oc} , du coefficient de partage carbone organique \pm eau et de la teneur en carbone organique (g / g). K_{oc} est estimé à $0,35 K_{ow}$ plus ou moins un facteur de 3.

2.3. Développement d'un bioindicateur

Un bioindicateur est un organisme ou une partie d'un organisme ou une communauté d'organismes possédant une série d'informations sur la qualité de

l'environnement ou de ses parties (Markert, 2008). Un aspect catégorique clé d'un bioindicateur marin est sa résilience et son aptitude aux changements environnementaux à court et/ou à long terme. Un bioindicateur doit être capable de capturer les effets cumulés des facteurs de stress pertinents avant que la fonctionnalité biologique ne soit modifiée, ce qui en fin de compte entraverait la capacité d'un organisme à répondre de manière prévisible aux perturbations environnementales (Bonanno & Orlando-Bonaca, 2018; Prazeres *et al.*, 2019). Cela résonne avec des défis majeurs dans le développement d'un bioindicateur dans les écosystèmes aquatiques étant donné la complexité des habitats et les conditions abiotiques présentes dans ces environnements.

Les niveaux de contamination des milieux aquatiques, notamment côtiers, par les métaux peuvent être évalués en analysant les compartiments suivants : eau, sédiment, biote (flore et faune). L'analyse d'un seul compartiment ne renseigne pas suffisamment de l'état de contamination de l'environnement (Fernandez-Maestre *et al.*, 2018). Par conséquent, une approche intégrée est nécessaire pour justifier l'état de pollution de l'environnement et éventuellement le risque potentiel pour la santé humaine. Au cours des deux dernières décennies, les recherches sur la contamination des hydrosystèmes se sont concentrées sur l'utilisation de bioindicateurs (Lafabrie *et al.*, 2007; Sarma *et al.*, 2013; Authman *et al.*, 2015; Prabhakaran *et al.*, 2017; Anandkumar *et al.*, 2018). Ces espèces indicatrices sont sensibles aux changements environnementaux, à la qualité de l'habitat ou à l'influence anthropique, et donc leur statut peut être utilisé pour déduire la santé de l'écosystème (Patra *et al.*, 2019).

Outre le point de vue de la contamination de la chaîne alimentaire, la bioaccumulation des métaux lourds chez les invertébrés a une importance écotoxicologique particulière. En effet, ces organismes peuvent être utilisés comme bioindicateurs dans le domaine de la biosurveillance de la pollution par les métaux lourds dans les écosystèmes aquatiques et terrestres (Ghannem *et al.*, 2018).

2.4. Biomarqueurs

2.4.1. Définition

Les polluants toxiques provoquent souvent des réponses caractéristiques dans l'organisme affecté, communément appelées «biomarqueurs». Un biomarqueur peut être défini comme toute variation biochimique, (génétique) cellulaire, physiologique ou comportementale qui peut être mesurée dans des échantillons de tissu ou de fluide

corporel ou au niveau de l'organisme entier (individus ou populations), et qui fournit une preuve de l'exposition et / ou des effets d'un ou plusieurs des polluants chimiques et/ou les rayonnements (Depledge *et al.*, 1993). Un biomarqueur peut également être simplement défini comme un changement mesurable dans un système biologique à cause de l'exposition à un produit chimique exogène (NRC, 1987; Metcalf *et al.*, 2004). Le terme utilisé au sens large comprend aussi la mesure des paramètres fournissant les moyens de refléter l'interaction entre une structure biologique particulière et des facteurs de stress présents dans l'environnement considéré, qui peuvent être chimiques, physiques ou biologiques (Van der Oost *et al.*, 2003). Ainsi, les biomarqueurs constituent des outils puissants pour détecter l'impact d'une exposition à des concentrations sublétales d'une substance donnée ou de mélanges chimiques complexes, permettant l'évaluation d'effets moins évidents sur les organismes.

2.4.2. Catégories de biomarqueurs

Selon Who (1993), les biomarqueurs peuvent être regroupés principalement en 3 catégories: biomarqueurs d'exposition, d'effet et de sensibilité.

Un biomarqueur d'exposition est une molécule chimique exogène, ses métabolites ou le produit d'une interaction entre le produit chimique et une molécule ou cellule cible. Les biomarqueurs d'exposition sont généralement mesurés en collectant un échantillon biologique facilement obtenu, tel que l'urine ou le sang, auprès d'une personne ou d'un organisme potentiellement exposé. Cet échantillon est ensuite analysé pour un contaminant chimique, son métabolite ou un adduit biologique. Un exemple de biomarqueur d'exposition serait la mesure de la concentration urinaire de p-nitrophénol, un métabolite du méthyl parathion, après exposition au méthyl parathion ou à certains autres pesticides organophosphorés (Hryhorczuk *et al.*, 2002). L'utilisation de biomarqueurs d'exposition s'est développée au cours des dernières décennies, principalement à des fins de biosurveillance et de mise en œuvre dans les études épidémiologiques (Calafat, 2016; Cano-Sancho *et al.*, 2020).

Un biomarqueur d'effet est une altération biochimique, physiologique ou autre mesurable d'un système biologique qui est reconnue comme une altération de la santé ou une maladie connue ou potentielle. Les biomarqueurs d'effet comprennent des altérations biochimiques, telles que des augmentations ou des diminutions d'un taux d'enzymes ou de protéines qui résultent de l'interaction d'un produit chimique avec un

tissu. Par exemple, l'exposition à de fortes doses de cadmium et d'autres métaux lourds peut endommager les tubules contournés proximaux du rein, entraînant une augmentation de l'excrétion urinaire de la protéine de liaison au rétinol de protéine de faible poids moléculaire (Bernard *et al.*, 1997).

Un biomarqueur de sensibilité est un indicateur d'une limitation inhérente ou acquise à la capacité d'un individu à répondre à un défi chimique toxique. Les biomarqueurs de sensibilité sont souvent liés à des polymorphismes génétiques qui entraînent une diminution (ou une augmentation) des activités des enzymes métaboliques détoxifiantes. L'exemple classique d'un biomarqueur de susceptibilité lié génétiquement est une déficience héréditaire de l'activité enzymatique de la glucose-6-phosphate déshydrogénase. Lorsque les personnes atteintes de ce déficit enzymatique sont exposées à un produit chimique ou à un médicament oxydant, elles peuvent souffrir d'une anémie hémolytique sévère (Luzzatto & Mehta, 1989).

2.4.3- Description des biomarqueurs

2.4.3.1. Glutathion (GSH)

Le glutathion ou L- γ -glutamyl-L-cystéinyl-glycine est un tripeptide (Mari *et al.*, 2009) qui joue un rôle clé dans la signalisation cellulaire et les défenses antioxydantes (Morris *et al.*, 2014). Présent presque dans toutes les cellules d'un organisme (Lushchak *et al.*, 2012), le glutathion est l'antioxydant endogène le plus abondant dans le cerveau (Pocernich *et al.*, 2012). Sa fonction antioxydante est médiée de deux manières : en (i) réagissant avec les espèces réactives de l'oxygène (ROS), les espèces réactives de l'azote (RNS), les radicaux hydroxyles (OH \bullet), l'acide hypochloreux (HOCl) et d'autres espèces réactives, ou en (ii) agissant comme un cofacteur indispensable de nombreuses enzymes, en particulier les glutathion peroxydases (GSH-Pxs) et les glutathion S-transférases (GST) (Mari *et al.*, 2009). Le glutathion agissant en coopération avec ses enzymes dépendantes est connu sous le nom de système glutathion et est responsable de la détoxification des espèces réactives et électrophiles produits par les xénobiotiques (Morris *et al.*, 2014).

Le glutathion se présente sous deux formes: la forme oxydée (disulfure de glutathion ou GSSG) et la forme réduite (GSH) (Mari *et al.*, 2009). Cependant, le rôle du glutathion n'est pas seulement de permettre la formation de liaisons disulfure natives, mais également d'équilibrer les réactions redox et ainsi de protéger les cellules du stress oxydatif (Chakravarthi *et al.*, 2006). Chez les mammifères, par

exemple, l'homme particulièrement, il est distribué à des niveaux variables dans presque toutes les cellules du corps. Dans le cerveau, la concentration de glutathion est la plus élevée dans les cellules gliales du cortex (Richie *et al.*, 2015). Son entretien est fondamental pour le contrôle épigénétique (García-Giménez *et al.*, 2014). Le rôle du glutathion dans le contrôle épigénétique peut être ciblé comme une cause possible de nombreuses maladies (Mishra *et al.*, 2014). Le glutathion intracellulaire, obtenu à partir du glutathion extracellulaire par une série de processus enzymatiques impliquant la γ -glutamyl transpeptidase astrocytaire (γ -GT), pourrait alors être utilisé pour empêcher la génération des espèces réactives à l'oxygène (ERO) et des espèces réactives de l'azote (ERN) dans les astrocytes (Garcion *et al.*, 2002). Le glutathion est impliqué dans l'élimination des peroxydes exogènes par les astrocytes et les neurones (Dringen *et al.*, 2000).

Le glutathion a des fonctions antioxydantes et neuromodulatrices importantes et favorise la survie des neurones. En tant que neuromodulateur des récepteurs ionotropes du glutamate, le glutathion interagit avec les récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA) et protège contre l'excitotoxicité du glutamate (Oja *et al.*, 1994). Le glutathion régule également la signalisation cellulaire, la fonction des protéines, l'expression des gènes ainsi que la différenciation et la prolifération des cellules, et la déplétion du glutathion induit des dommages oxydatifs dans le centre nerveux, entraînant des modifications neurodégénératives (Aoyama & Nakaki 2013).

L'épuisement du glutathion entraîne de nombreuses perturbations du fonctionnement des cellules et des organes et il est associé au développement de troubles neuro-immunes (Morris *et al.*, 2014) en contribuant également à l'augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique observée dans ces maladies (Li *et al.*, 2012). De plus, la déplétion en glutathion entraîne une exacerbation des dommages par le stress oxydatif et nitrosatif et une augmentation des niveaux de médiateurs pro-inflammatoires (Morris *et al.*, 2014).

Le glutathion agit également comme un neurotransmetteur et sa déplétion perturbe l'activité du cycle de la méthionine entraînant une altération de la méthylation de l'ADN et de la régulation épigénétique de l'expression des gènes (Morris *et al.*, 2014). De plus, la déplétion en glutathion peut invoquer la machinerie apoptotique même en cas de stress oxydatif ou nitrosatif non accru (Franco *et al.*, 2007, 2009).

2.4.3.2. Glutathion S-transférase (GST)

Les GST sont des familles d'enzymes multifonctionnelles qui jouent un rôle important chez les organismes vivants dans la défense contre le stress oxydatif induit par les xénobiotiques. En détail, la réaction de désintoxication est médiée par l'activité de conjugaison de la GST (Cummins *et al.*, 2011) et le potentiel de désintoxication de la GST peut être amélioré par l'augmentation de la production de GSH induite par le xénobiotique (Dohnal *et al.*, 2014; Allocati *et al.*, 2018). De plus, l'activité de conjugaison de la GST peut être considérée comme la fonction la plus significative des GST, puisque les GST démontrent leur implication dans les réactions de transfert de thiol, de -lyse et d'isomérisation (Hayes *et al.*, 2005), qui aboutissent à la protection des cellules et la tolérance à la toxicité induite par les xénobiotiques (Deavall *et al.*, 2012).

À ce jour, il existe 3 mécanismes connus d'isomérisation catalysée par la GST: les décalages de double liaison carbone-carbone, les réactions redox intramoléculaires et l'isomérisation cis-trans (Deponte, 2013), qui sont bien associés à niveaux de GSH, suggérant une pertinence significative entre le GSH et les GST.

De plus, outre les fonctions antioxydantes, les GST jouent également des rôles biologiques importants, notamment la protection contre les molécules toxiques, la synthèse et la modification des leucotriènes et des prostaglandines (Hayes *et al.*, 2005) chez les organismes vivants par réaction d'isomérisation. Par exemple, la prostaglandine microsomale E2 synthase-1 (MPGES-1) (Pettersson *et al.*, 2005), appartenant à un groupe de protéines associées à la membrane dans le métabolisme des eicosanoïdes et du glutathion (MAPEG) est impliquée dans la maladie inflammatoire (Psarra *et al.*, 2017). Ainsi, la présence de GST dans les organismes vivants peut représenter une adaptation biologique pour la survie et la protection contre des conditions environnementales défavorables, posées par des composés xénobiotiques et des facteurs de stress endogènes renforcés par les xénobiotiques tels que le stress oxydatif (Hayes & McLellan, 1999).

Les GST jouent également un rôle important dans la voie de transduction du signal, en particulier dans la famille des protéines kinases activées par des mitogènes (MAPK) (Laborde, 2010). Cependant, les études sur les invertébrés sont encore limitées car un plus grand nombre de gènes GST sont continuellement identifiés à l'aide de la technologie de séquençage de nouvelle génération (NGS).

Assemblée, la fonction des GST n'est pas seulement limitée au potentiel enzymatique antioxydant, mais aussi au contrôle de diverses fonctions biologiques et de signalisation (Park *et al.*, 2020), permettant et s'engageant dans des recherches moléculaires plus approfondies sur les interactions biologiques des GST dans les organismes aquatiques.

2.4.3.3. Relation GSH et GST

Lors d'une exposition xénobiotique, la conjugaison du glutathion (GSH) est catalysée par le processus majeur de détoxification de phase II (c.-à-d., Les GST) dans de nombreux organismes (Sheehan *et al.*, 2001).

En effet, la conjugaison du GSH à un centre électrophile de composés xénobiotiques est médiée par la GST, formant des conjugués GSS (Armstrong, 1997). Étant donné que la forme oxydée du GSH (GSSG) peut conduire à l'accumulation de stress oxydatif dans les cellules, le rapport entre les formes réduites et oxydées de GSH peut fonctionner comme un indicateur important de l'environnement redox (Dickson & Forman, 2002).

2.4.3.4. Malondialdehyde (MDA)

Le MDA est l'un des produits de peroxydation lipidique secondaire les plus stables. Il provoque un stress toxique dans les cellules, forme des adduits avec des acides nucléiques qui peuvent conduire à des lésions tissulaires et présente une activité génotoxique influençant les maladies dégénératives (Ho *et al.*, 2013). Le MDA peut perturber la structure de la membrane lipidique, ce qui a un effet grave sur la fonction cellulaire normale (Oropesa *et al.*, 2009). Les variations des concentrations de ce composé dans l'organisme peuvent donc refléter des lésions cellulaires causées par les ERO (Fogarasi *et al.*, 2016). En fait, le MDA se forme lors de l'attaque des lipides polyinsaturés (de la famille n-6) par des espèces réactives de l'oxygène générées dans certaines conditions de stress, en particulier avec des contaminants organiques (HAP, PCB, pesticides) et inorganiques (métaux de transition). Les hydroperoxydes ainsi formés se décomposent en intermédiaires radicalaires et en aldéhydes dont un des représentants les plus réactifs est le malonedialdéhyde (MDA). Le MDA est un agent alkylant puissant capable de réagir avec les macromolécules biologiques (Pellerin- Massicote, 1994).

Des études antérieures ont déjà recommandé l'utilisation des produits de la peroxydation lipidique comme biomarqueurs de la pollution de l'environnement (Box

et al., 2007; Vlahogianni *et al.*, 2007; Sole *et al.*, 2008). Par exemple, une augmentation des niveaux de MDA dans les organismes peut être liée à la dégradation d'un site environnemental en diminuant la qualité de l'eau (Charissou *et al.*, 2004). Des études menées sur des espèces marines ont démontré que la peroxydation lipidique est un indice pertinent des dommages chimiques induits par les substances toxiques sur ces espèces (Pedrajas *et al.*, 1995; Avery *et al.*, 1996).

2.4.4. Biomarqueurs en écotoxicologie

L'approche des biomarqueurs a été développée initialement pour tracer les réponses d'organismes individuels à une exposition et un stress croissant aux polluants (Pollutant Responses *in* Marine Animals, 1981, cité par Bensafia, 2018). On suppose qu'un individu en bonne santé exposé à des charges de polluants croissantes souffrira d'une détérioration progressive de sa santé qui finira par être fatale. Les départs précoces de la santé ne sont pas apparents comme une maladie manifeste, mais sont associés à l'initiation de réponses biochimiques et physiologiques (Depledge, 1989). Lorsque ces réponses compensatoires sont activées, le potentiel de survie de l'organisme peut déjà avoir commencé à décliner car la capacité de l'organisme à montrer des réponses compensatoires aux nouveaux défis environnementaux peut avoir été compromise (Depledge *et al.* 1992). Si un organisme a acquis une charge polluante qui ne peut être tolérée, détoxifiée ou excrétée, des processus pathologiques entraîneront le développement d'une maladie manifeste et, finalement, la mort. Néanmoins, même chez les individus qui sont incapables de compenser la toxicité des polluants, si les conditions s'améliorent suffisamment, ils peuvent se rétablir alors que les mécanismes de réparation continuent de fonctionner pour rétablir les réponses compensatoires. En d'autres termes, un organisme peut revenir d'un état malade à un état sain (Depledge, 1989). Les biomarqueurs soulèvent la possibilité de déterminer où se trouve un organisme sur ce continuum et offrent ainsi potentiellement un avertissement des départs précoces et réversibles de la santé due à la pollution (Depledge, 1992).

Jusqu'à présent, les biomarqueurs peuvent être identifiés comme indiquant que les organismes ont été exposés à stress (Mayer *et al.*, 1992) et dans certains cas, même à des facteurs de stress spécifiques comme : les réponses de la métallothionéine après exposition aux métaux (Benson *et al.*, 1990), l'inhibition de l'acétylcholinestérase après exposition à certains pesticides organohalogénés, etc. (Mayer *et al.*, 1992).

En signalant qu'une exposition a eu lieu, ces biomarqueurs (classe 1 dans la classification ci-dessus) contribuent peu à la prédiction des conséquences directes pour l'organisme ou la population en question. Pour que cela soit possible, une réponse d'un biomarqueur devrait, si possible, être liée à un degré donné de croissance ou rendement reproductif ou utilisation d'énergie qui affecte directement la survie de l'organisme et qui peut être attribuée à une exposition à une quantité connue de polluant spécifique (Amiard *et al.*, 1998).

L'analogie qui peut être établie entre la séquence des réponses des différents organismes à l'augmentation des charges de polluants et les réponses des populations, des communautés et des écosystèmes entiers aux polluants est évidente. On s'attend à ce que les risques pour l'écosystème et ses composants augmentent à mesure que la quantité de polluants entrant dans le système augmente. (Webster *et al.*, 1975).

Il y aura un certain degré d'auto-compensation dans chaque écosystème qui aura tendance à préserver la structure et le fonctionnement dans une certaine mesure. Ceci est incarné dans le concept de « résistance » de l'écosystème (Harwell *et al.*, 1978), qui est analogue aux « réponses compensatoires » présentées par des organismes individuels exposés à des polluants (Depledge, 1989). Un écosystème résistant peut présenter peu de changement de structure ou de fonction si, par exemple, la perte d'une ou de plusieurs populations de l'écosystème suite à une exposition aux polluants est associée au remplacement par des espèces alternatives qui jouent le même rôle (Kelly & Harwell, 1989). Cependant, si des espèces clés sont perdues ou si leur bien-être est suffisamment altéré pour que la structure et/ou la fonction de l'écosystème soient affectées, alors le changement d'écosystème qui s'ensuit montre que la résistance de l'écosystème a été surmontée (Fig. 6).

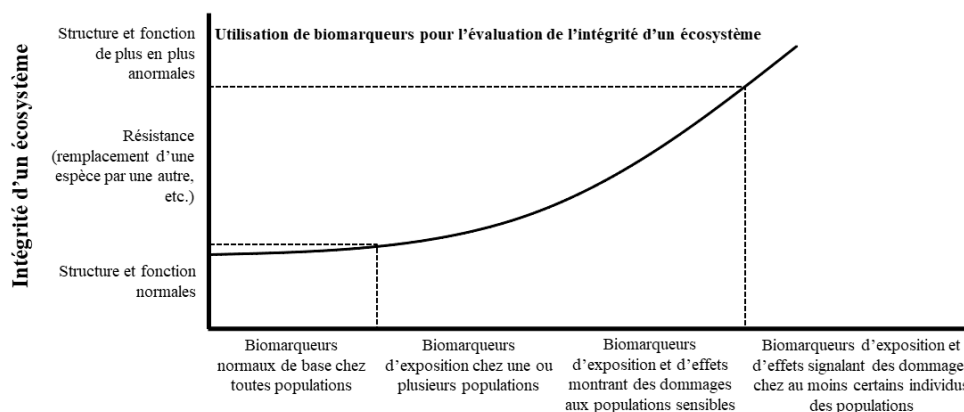


Figure 6. Utilisation des biomarqueurs pour l'évaluation de l'intégrité d'un écosystème (Depledge, 1992, modifiée).

Il est intéressant de noter que le remplacement d'espèces sensibles dans un écosystème par des espèces plus tolérantes sans changements significatifs dans la structure et la fonction de l'écosystème pourrait en soi être interprété comme une alerte précoce d'un impact polluant si la perte de l'espèce peut être directement attribuée à l'exposition à un produit chimique particulier (Depledge, 1993). Si les biomarqueurs devaient être utilisés pour mesurer la toxicité chez une espèce sensible, le déclin de la population pourrait bien être détecté à un stade encore plus précoce. Cela illustre un principe important, à savoir que le suivi des changements dans les populations d'espèces sensibles pourrait fournir un aperçu précieux de l'état de l'ensemble de l'écosystème.

3. MODELE BIOLOGIQUE UTILISE : LES SPONGIAIRES

Les éponges sont des organismes filtreurs sessiles reflétant fortement les différences de l'environnement abiotique et présentant un potentiel de dispersion ou de connectivité relativement faible en raison de leur cycle de développement larvaire planctonique très court. Ainsi, ils sont (i) l'un des groupes les plus appropriés pour soutenir les approches biogéographiques générales (Maldonado & Uriz, 1995) parmi d'autres animaux benthiques ou pélagiques en mouvement actif et (ii) un meilleur outil pour fournir des preuves sur les perturbations anthropiques dans l'espace et temps (Carballo *et al.*, 1996) que d'autres groupes, tels que les polychètes, qui sont très résistants aux conditions de stress environnemental (Arvanitidis *et al.*, 2002). Par conséquent, leur diversité et leur répartition méritent une étude approfondie, surtout au regard des changements auxquels la biodiversité est confrontée en raison de l'impact des actions climatiques et humaines.

3.1. Description et taxonomie

Les éponges, ou Porifera, sont traditionnellement considérées comme l'un des groupes clés pour comprendre l'évolution basale des métazoaires. Ce sont des animaux simples avec un corps contenant relativement peu de types cellulaires supportés par une charpente de fibres de collagène et de spongine et, le cas échéant, des spicules calcaires ou siliceux (Wörheide *et al.*, 2012). La présence et la composition des spicules et de la spongine sont les caractéristiques de différenciation taxonomique chez les éponges (Bayari *et al.*, 2018). Les Porifera sont diversifiés avec

environ 8000 à 9000 espèces décrites (Voultsiadou, 2009), actuellement divisées en quatre classes monophylétiques (Fig.7).



Figure 7. Cliché illustrant la diversité morphologique, des couleurs et des tailles de Porifera, avec quelques exemples parmi les quatre classes. (a) *Aplysina cavernicola*, (b) *Ephydatia fluviatilis*, (c) *Xestospongia muta*, (d) *Sycon ciliatum*, (e) *Clathrina contorta*, (f) *Leucosolenia complicata*, (g) *Rosella nuda*, (h) *Oopsacas minuta* et (i) genre *Oscarella* (*O. tuberculata* et *O. lobularis*) (Renard *et al.*, 2013).

Selon la classification de Linnaean-ranked, les éponges sont désormais divisées en 4 classes au lieu des 3 reconnus avant 2009 (Gazave *et al.*, 2012) (Fig. 8).

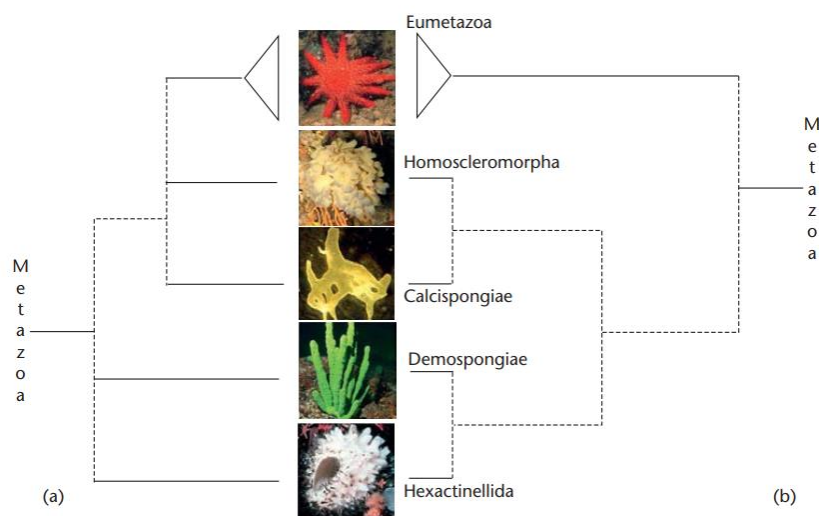


Figure 8. Deux hypothèses principales actuellement proposées sur les relations phylogénétiques non bilatériennes : (a) paraphylie des éponges, (b) monophylie des éponges (Renard *et al.*, 2013).

Ces 4 taxons dénommés Hexactinellida, Demospongiae, Calcarea et Homoscléromorpha se distinguent par des caractéristiques tissulaires, squelettiques et développementales différentes (Tab. 3).

Tableau 3. Description synthétique des principales caractéristiques des Porifères (Brusca & Brusca 2003 ; Base de données Word Porifera, <http://www.marinespecies.org/porifera/> et Gazave *et al.*, (2012).

Caractères	Hexactinellida	Demospongiae	Calcarea	Homoscléromorpha
Nombre d'espèces validéesactuellement	601	6835	676	93
Distribution	Eaux marines, principalement profondes	Eaux marines, saumâtres et douces, toutes profondeurs	Milieus marins	Milieus marins
Nature de spicules	Siliceux	Siliceux quand présents	Carbonate de calcium	Siliceux quand présents
Types de spicules	Mégasclères / microsclères avec généralement 6 ou 3 axes	Mégasclères / microsclères à 1-4 axes	Mégasclères / microsclères à 1-4 axes	Pas de distinction mégasclères / microsclères
Reproduction	Vivipare	Ovipare ou vivipare plus	Larves vivipares de coelo- ou amphiblastula	Larves de cinctoblastula vivipares
Tissus	La plus grande partie des tissus mous est constituée d'un seul syncytium multinucléé	Organisation cellulaire	Organisation cellulaire	Organisation cellulaire, pinacocytes flagellés, présence d'une mbre basale avec du collagène de type IV
Type de système aquifère	Schéma syconoïde, Sylleibide ou leuconoïde	Leuconoïde	Asconoïde, syconoïde ou leuconoïde	Sylleibide ou leuconoïde
Type de symétrie	Radiale	Asymétrique ou radial	Asymétrique ou radial	Asymétrique

3.1.1. Eponges calcaires - Calcarea (Bowerbank, 1862)

Cette classe comprend les espèces dotées d'un squelette composé de spicules de carbonate de calcium (Fig. 9). Ces éponges sont généralement petites, décolorées (Rapp, 2006) et colonisant des environnements ombragés ou cryptiques, comme les surplombs, les grottes et les crevasses (Pérez *et al.*, 2004). D'ailleurs, la plasticité de certains caractères morphologiques rend l'identification des éponges calcaires complexes, nécessitant parfois des approches complémentaires telles que les analyses moléculaires (Azevedo *et al.*, 2015; Klautau *et al.*, 2016). Par conséquent, il est facilement notable que les connaissances sur la diversité des éponges calcaires se limitent aux zones géographiques et à quelques taxonomistes spécialisés (Córdor-luján *et al.*, 2017).

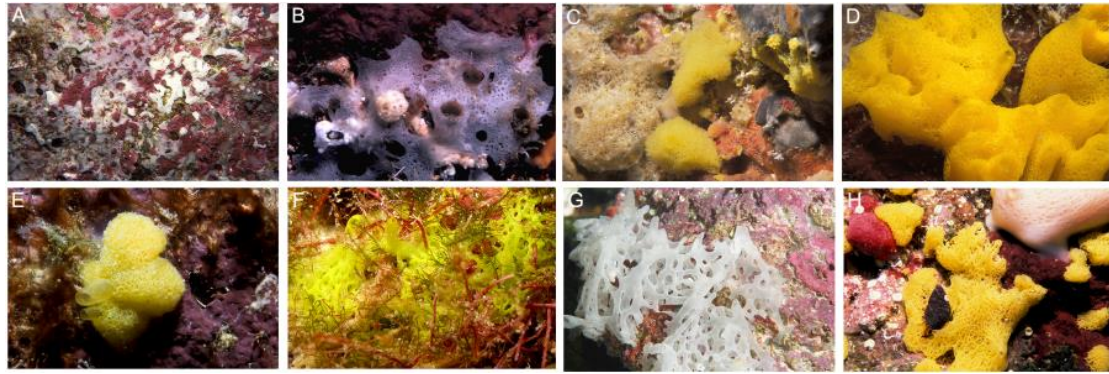


Figure 9. Clichés de quelques éponges calcaires – Calcareia (A- *Arturia trinidadensis* sp. B- *Borojevia trispinata* sp. C- *Clathrina aurea*. D- *Clathrina lutea* sp. E- *Ernstia citrea* sp. F- *Ernstia rocasensis* sp. G - *Ernstia sanctipauli* sp. nov. H- *Ernstia solaris* sp.) (Azevedo *et al.*, 2017).

3.1.2. Démosponges - Demospongiae (Sollas, 1885)

Demospongiae est la classe d'éponges la plus importante et la plus diversifiée (85% des espèces d'éponges) représentant trois ordres : Haplosclerida, Clionaida et Tetractinellida. Leur squelette est variable constitué de spicules siliceux ou uniquement de fibres de collagène, ou de combinaisons des deux à divers degrés (Fig. 10). Les spicules sont constitués de silice inorganique amorphe hydratée ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) autour du filament protéique (silicateine ou protéine éponge) (Müller *et al.*, 2009) et peuvent contenir des traces d'autres éléments, tels que S, Al, K et Ca (Bavestrello *et al.*, 1998). Les spicules de démosponges sont très divers, mais ont toujours 1, 2 ou 4 axes (jamais triaxoniques) (Hooper & Van Soest, 2002). La sous-classe Heteroscleromorpha est le groupe le plus spécifique de démosponges et comprend des éponges avec une grande diversité de types de spicules, dont elle tire son nom (Cardenas *et al.*, 2012). La classification actuelle des Demospongiae est basée sur la forme et la taille des spicules lorsqu'ils sont présents, ainsi que sur la disposition du squelette (Morrow & Cárdenas, 2015).



Figure 10. Clichés de quelques démosponges des côtes est algériennes - Demospongiae (A- *Axinella verrucosa*. B- *Chondrilla nucula*. C- *Chondrosia reniformis*. D- *Crambe crambe*. E- *Ircinia fasciculata*. F- *Petrosia ficiformis*. G - *Sarcotragus foetidus*. I- *Sarcotragus spinosulus*) (In Bensafia 2018, Clichés : Derbal, 2015).

3.1.3. Eponges de verre - Hexactinellida (Schmidt, 1870)

Les éponges de verre (Porifera, Hexactinellida) représentent un groupe dominant de mégafaune benthique des grands fonds marins (Van Soest *et al.*, 2012), en particulier sur les champs de nodules polymétalliques (Kaiser *et al.*, 2017). Ils jouent un rôle fonctionnel fondamental dans les écosystèmes benthiques des grands fonds, d'autant plus qu'ils sont associés à de nombreux autres taxons d'invertébrés des grands fonds (Purser *et al.*, 2016). Bien que les éponges de verre mégabenthiques et les fonds d'éponges de verre soient globalement répartis dans la zone abyssale, leur écologie, leur phylogénie et leur taxonomie restent peu connues (Van Soest *et al.*, 2012). Cela est probablement dû à l'accessibilité limitée des habitats en eau profonde pour l'échantillonnage, aux coûts élevés des navires de recherche et du déploiement des engins, et au faible intérêt commercial pour les éponges de verre (Fig. 11).

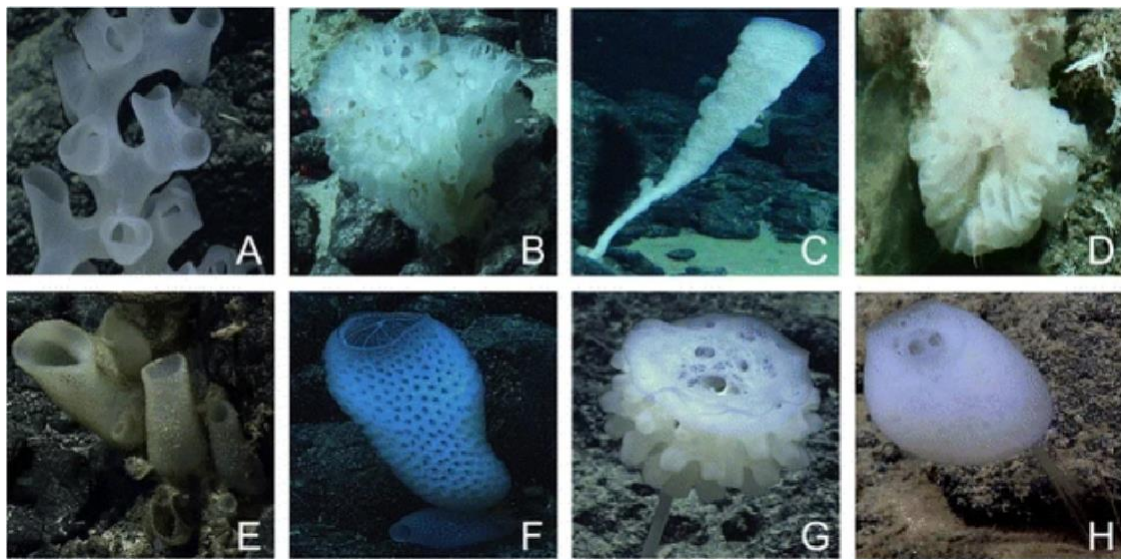


Figure 11. Clichés de quelques éponges en verre - Hexactinellida (A- *Farrea occa* (Farreidae), spécimen de 10–30 cm de haut, 2026 m de profondeur. B- *Heterorete* sp. (Euretidae), spécimen de 30–50 cm de diamètre, 1559 m de profondeur. C- *Tretopleura* sp. (Uncinateridae), spécimen de 51 cm de haut, 888 m de profondeur. D- *Aulocalyx australis* (Aulocalycidae), spécimen ~ 6 cm de diamètre, 770–919 m de profondeur. E- *Lophocalyx* sp. (Rossellidae Lanuginellinae), spécimens de 10–50 cm de hauteur, profondeur de 2247 m. F- *Regadrella* sp. (Euplectellidae Corbitellinae, spécimen de 5–30 cm de haut, 2132 m de profondeur. G- *Saccocalyx* sp. (Euplectellidae Bolosominae), spécimen 30–50 cm de haut, 1557 m de profondeur. H- *Hyalonema* sp. (Hyalonematidae), spécimen de 5–10 cm de haut, 4824 m de profondeur (Dohrmann *et al.*, 2017).

3.1.4. Eponges incrustantes - Homoscleromorpha (Dendy, 1905)

La classe Homoscleromorpha (Fig.12) est un groupe intrigant de Porifera qui partage plusieurs caractéristiques avec les Métazoaires supérieurs, telles qu'une membrane basale en collagène de type IV, une spermatogenèse asynchrone au sein des spermatocytes et la présence d'un acrosome des spermatozoïdes (Ereskovsky, 2010). Ces traits uniques au sein de la Porifera ont conduit à proposer l'Homoscléromorpha comme modèle clé pour étudier l'évolution des Métazoaires (Ereskovsky *et al.*, 2009a). Malgré la pertinence de cette classe d'éponges pour la biologie évolutive, sa diversité est toujours mal connue. Avec seulement 114 espèces actuellement valides, l'Homoscléromorpha est la plus petite des 4 classes de Porifera (Van Soest *et al.*, 2019). Cette faible diversité spécifique reflète peut-être attribuée à la raréfaction des études taxonomiques et aux aléas d'échantillonnage au sein de leurs habitats cryptiques de prédilection : grottes sous-marines, surplombs et dessous des rochers et des coraux (Ruiz *et al.*, 2015). Des efforts considérables dans les techniques

d'échantillonnage ont été déployés récemment pour explorer ces habitats, ce qui a permis une meilleure connaissance de la diversité des Homoscléromorpha. Par exemple, 16 nouvelles espèces et 2 nouveaux genres ont été décrits de 2013 à 2018 uniquement en Atlantique, ce qui représente environ 14% de la diversité totale connue de cette classe (Pérez & Ruiz, 2018). La diversité et la répartition des espèces d'Homoscléromorpha ont été récemment révisées en Méditerranée (25 espèces ; Lage *et al.*, 2018) et en Atlantique occidental tropical (33 espèces; Ruiz *et al.*, 2017).

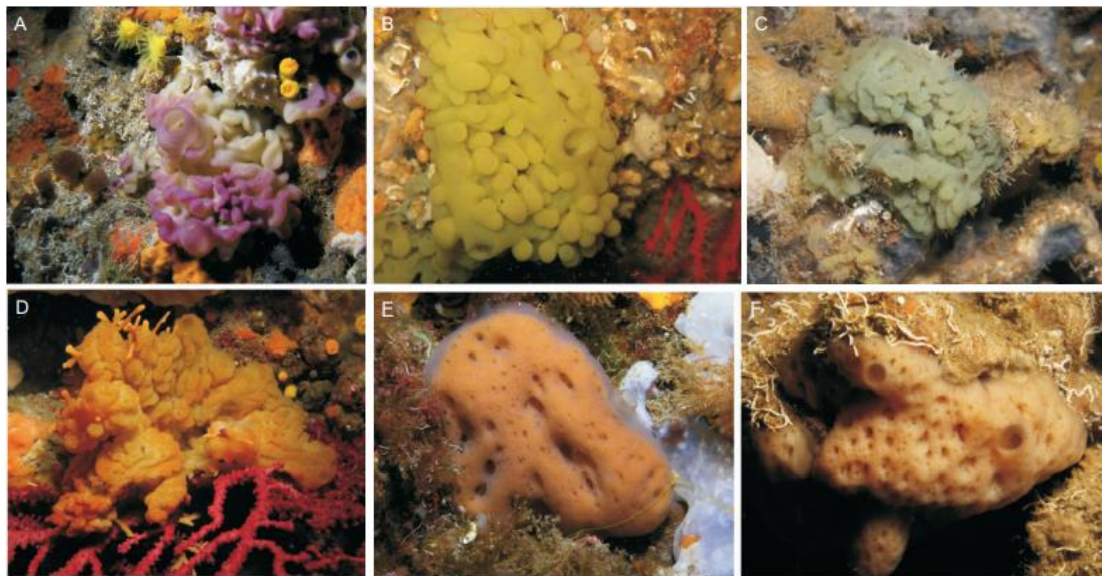


Figure 12. Clichés d'Homoscléromorpha méditerranéens. (A) *Oscarella lobularis*. (B) *Oscarella tuberculata*. (C) *Oscarella viridis*. (D) *Oscarella balibaloii*. (E) *Candelabre corticium*. (F) *Pseudocorticium jarrei* (In Cardenas *et al.*, 2012, Cliché : Pérez, 2012).

3.2. Organisation morphologique et anatomique

3.2.1. Système aquifère

L'activité de filtration chez les éponges (alimentation) est soutenue par un réseau de canaux et de chambres internes appelées système aquifère (Simpson, 1984). Dans sa partie inhalante, l'eau pénètre dans l'éponge par de petites ouvertures appelées ostia, puis passe dans les chambres flagellées, où des cellules spécialisées (choanocytes) pompent et filtrent l'eau. Après filtration, l'eau est pompée dans un réseau de canaux fins qui converge vers des canaux plus grands qui s'ouvrent sur l'extérieur par un osculum (partie exhalante). Il existe principalement trois degrés de complexité différents du système aquifère qui sont appelés asconoïde, syconoïde et leuconoïde (Fig. 13). Dans la structure asconoïde, l'éponge est ovale avec de fines parois corporelles, un osculum sur le dessus et une cavité interne (spongocèle ou

oreillette) bordée de choanocytes (cellules flagellées). Dans la structure syconoïde, les parois du corps de l'éponge s'épaississent en se repliant pour former des chambres flagellées arrondies. Un syconoïde avec des chambres choanocytaires invaginées est appelé sylleibide (Boury-Esnault & Rützler, 1997). Dans la structure leuconoïde, le spongocèle et la formation d'une matrice cellulaire (mésophyle) dans laquelle les chambres et les canaux se développent en réseau (Bergquist, 1978).

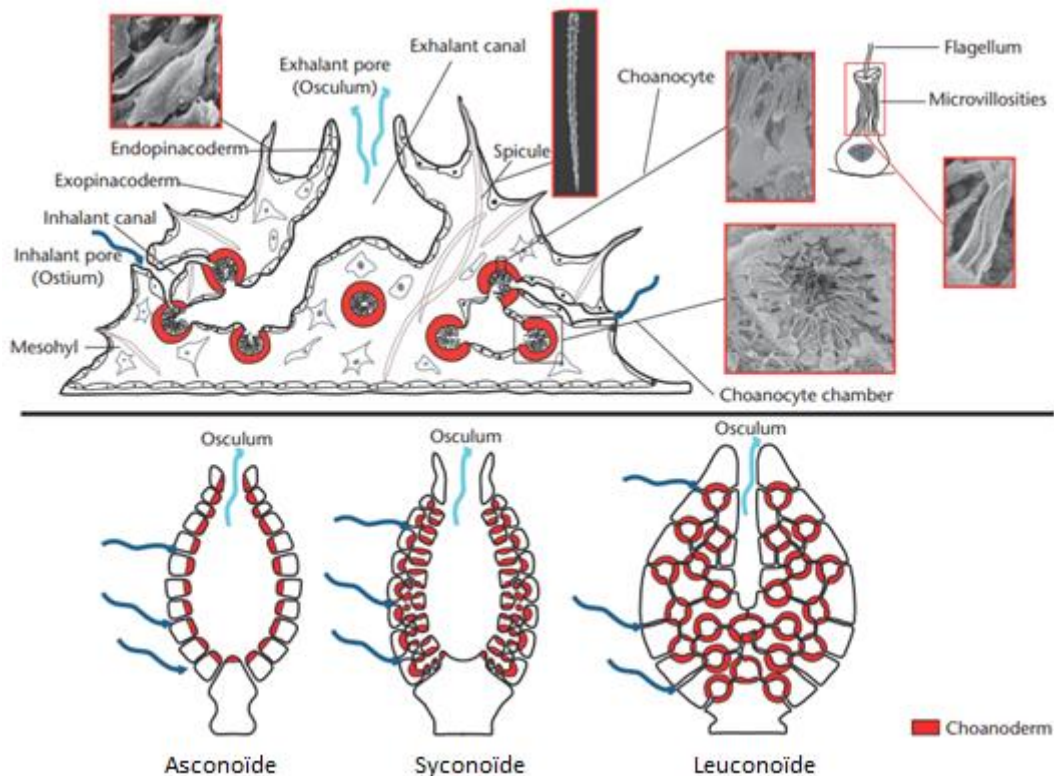


Figure 13. Organisation générale des éponges (en haut) avec les trois principaux niveaux de complexité du système aquifère (en bas) (Renard *et al.*, 2009, modifiée).

3.2.2. Organisation cellulaire

L'organisation cellulaire du mésophyle diffère en fonction de la classe d'éponge. Les démosponges ont un mésophyle bien développé contenant divers types de cellules, qui sont traditionnellement définis principalement en fonction de la morphologie cellulaire (Ereskovsky, 2010). Ces types de cellules comprennent des types tels que les archéocytes (que l'on pense être des cellules souches totipotentes), plusieurs types de cellules exprimant le collagène et des cellules produisant des spicules (sclérocytes). De plus, sur la base des analyses de l'expression génique, il semblait y avoir plus de types de cellules qui ne pouvaient pas être distingués en fonction de leur morphologie

cellulaire dans des études antérieures (Nakayama *et al.*, 2015; Funayama *et al.*, 2018). Les homoscléromorphes et les éponges calcaires sont moins riches en cellules dans le mésohyle que les démosponges.

3.2.3. Spicules

Les éponges sont constituées de scléroblastes supportés par un squelette de spicules. Les spicules peuvent constituer jusqu'à 75% du poids sec de l'organisme (Hooper et van Soest, 2002). Ces structures sont constituées de fibres inorganiques qui peuvent être composées de carbonate de calcium ou de silice (Hooper & van Soest, 2002). Ils fournissent un trait de diagnostic morphologique qui est utilisé pour l'attribution taxonomique en raison de leurs structures complexes et de leurs formes distinctives (Morse, 2000; Müller *et al.*, 2003). Deux types de spicules sont produits : les mégasclères, généralement allongées, qui composent l'architecture principale du squelette de l'éponge, et les microsclères, de forme et de taille très variables (Fig. 14), à fonctions annexes (Croce *et al.*, 2004).

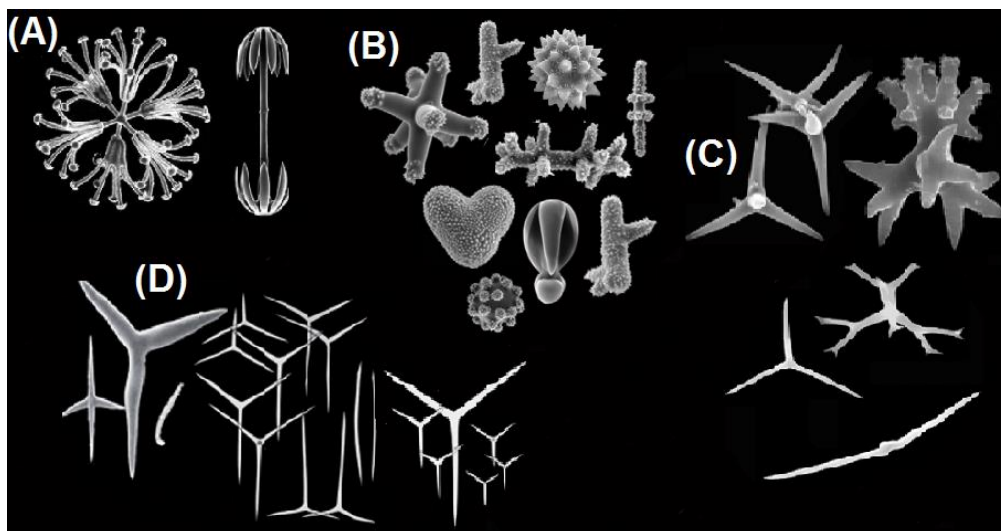


Figure 14. Images MEB montrant la diversité morphologique et linéaire des spicules des 4 classes des spongiaires : A- Hexactinellida. B- Démospongiae. C- Homoscléromorpha. D- Calcarea (Van Soest *et al.*, 2012. Cliché: Vacelet, 2012).

3.3. Reproduction et gamétogenèse

Les éponges, comme de nombreux autres organismes clonaux, peuvent se reproduire sexuellement, par production de gamètes et de manière asexuée, par fission, fragmentation, bourgeonnement et gemmules (Bergquist & Sinclair, 1973;

Fell, 1993). La présence d'une reproduction asexuée chez les éponges a été fortement étayée par l'histocompatibilité, les observations sur le terrain et les études de génétique des populations (Davis *et al.*, 1996; Miller *et al.*, 2001; Duran *et al.*, 2004). Cependant, il n'y a eu, à ce jour, aucune tentative directe d'estimer génétiquement l'étendue de la clonalité chez ce taxon.

En fait, les éponges sont dépourvues de cellules souches germinales. Elles sont remplacées par des gamètes produits à partir de deux types de cellules souches somatiques: les archéocytes (cellules amiboïdes dans l'espace interne du corps) et/ou les choanocytes (Leys & Ereskovsky, 2006). Chez les Démosponges, les ovocytes sont généralement dérivés d'archéocytes et le sperme de choanocytes. Chez les Hexactinellides, les ovocytes sont dérivés de cellules ressemblant à des archéocytes alors que chez les éponges calcaires (archéocytes absents) et les Homoscléromorphes (supposés ne pas contenir d'archéocytes), les ovocytes et les spermatozoïdes sont dérivés des choanocytes. Ainsi, ces deux types de cellules (archéocytes et choanocytes) ont une totipotence, au moins lors de la reproduction sexuée.

Chez les vertébrés, les cellules souches «totipotentes» et «pluripotentes» sont généralement distinguées comme «cellules souches qui peuvent donner naissance à tous les types de cellules, y compris les cellules extra-embryonnaires» et «cellules souches qui peuvent donner naissance à tout type cellulaire sauf les cellules embryonnaires », respectivement (Mitalipov & Wolf, 2009).

Les progrès récents dans la définition et la compréhension du système cellulaire des cellules souches dans chaque classe d'éponges ont conduit à la réalisation que l'organisation cellulaire de chaque classe d'éponges est essentielle pour comprendre les systèmes de cellules souches à la fois dans les différentes classes d'éponges ainsi que dans les éponges globalement.

Malgré les nombreuses études menées sur la reproduction des éponges au cours des dernières décennies (Lanna *et al.*, 2018a), seules quelques espèces ont été étudiées à ce jour, et de nouveaux traits de reproduction spécifiques à l'espèce, qui sont des facteurs déterminants de la distribution et de l'abondance de l'espèce sont révélés (Abdo *et al.*, 2008; Piscitelli *et al.*, 2011; Pérez-Porroet *et al.*, 2012; Koutsouveli *et al.*, 2017). Le manque d'informations sur la biologie et la physiologie de la reproduction des éponges empêchent les généralisations sur les stratégies reproductives à travers les groupes taxonomiques, les formes de croissance ou les caractéristiques de l'habitat.

3.3.1. Facteurs limitants de la gamétogenèse

Le paramètre environnemental déterminant la reproduction chez les éponges est la température (Lanna *et al.*, 2018b). Cependant, d'autres facteurs telles que la photopériode (Abdo *et al.*, 2008), la disponibilité alimentaire (Lanna *et al.*, 2015), l'hydrodynamique (Abdul Wahab *et al.*, 2014), la phase lunaire (Nozawa *et al.*, 2016) ou la présence de facteurs de stress (De Caralt & Cebrian, 2013) peuvent influencer également les cycles de reproduction et la production larvaire des éponges. En Méditerranée, de nombreuses espèces d'éponges se reproduisent au printemps et/ou en été, pendant la période chaude, bien qu'il existe des cas d'espèces libérant des larves en période froide (Mariani *et al.*, 2005).

3.3.2. Dynamique des populations

Les éponges présentent une grande variété de types larvaires (Maldonado & Bergquist, 2002) avec des capacités natatoires diverses (Uriz *et al.*, 2008) qui traduisent probablement dans des capacités de dispersion contrastées sur le terrain et peuvent déterminer la diversité génétique et la viabilité des populations d'éponges. Bien que la reproduction clonale soit fréquente chez les éponges (Calderón *et al.*, 2007), elle est généralement combinée avec la libération de propagules sexuellement produites, ce qui explique la variabilité génétique rapportée chez les populations d'éponges (Pérez-Portela & Riesgo, 2018). La plupart des études génétiques montrent l'existence de populations structurées (Duran *et al.*, 2004; Whalan *et al.*, 2005; Calderón *et al.*, 2007; Blanquer & Uriz, 2010; Guardiola *et al.*, 2012), ce qui suggère un échange extrêmement pauvre de larves et de gamètes, même entre les populations proches. Les traits de reproduction de l'espèce, tels que les caractéristiques larvaires, la fécondité et le moment de la libération des larves, sont des facteurs cruciaux pour contrôler la connectivité entre les populations d'éponges.

3.4. Alimentation

Les éponges sont des filtreurs qui s'alimentent essentiellement de matières organiques particulières, y compris de cellules intactes (Reiswig, 1971). Comme elles ont la faculté aussi d'éliminer les bactéries en suspension avec des rendements compris entre 75 et 99% (Wilkinson, 1978a). Cette efficacité est due à la structure du système aquifère de canaux et aux capacités de filtration fins des chambres choanocytaires (Reiswig, 1975; Johnston & Hildemann, 1982) (Fig. 15). En raison de

cette complexité et du champ d'écoulement qui en résulte, presque toutes les particules de l'eau qui pénètrent sont mises en contact avec les cellules de pinacocytes tapissant les canaux et les choanocytes, qui ont tous les deux des propriétés phagocytaires considérables (Van de Vyver, 1983).

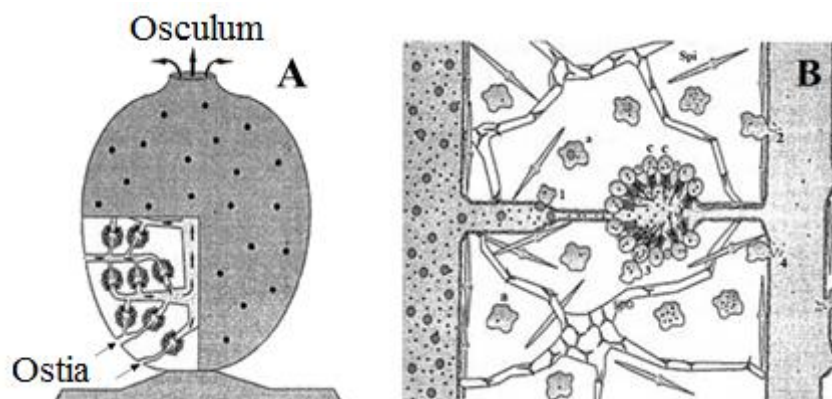


Figure 15. Morphologie et physiologie de l'alimentation chez l'éponge. (A) Apparence globale en forme de vase avec plusieurs ostia inhalants et un osculum exhalant. En microscopie (B) une couche de pinacocytes couvrant la face interne des canaux. Des cellules flagellées (C) ou choanocytes génèrent un courant intrinsèque. Les grosses particules sont phagocytées (1) par les archaeocytes (a) et les parties indigestes sont larguées dans les canaux (2). Les petites particules sont piégées par les choanocytes, digérées puis transférées vers les archaeocytes (3) qui poursuivent leur digestion et libèrent les déchets dans les canaux (4) (Nakhle, 2000, modifié).

3.5. Rôle et niche écologique

Les éponges, qui peuvent coloniser différents hydrosystèmes continentaux et marins, constituent une composante incontournable du macrozoobenthos des fonds accidentés sublittoraux (Vacelet, 1979; Bell, 2008) jusqu'aux abysses (Boury-Esnault *et al.*, 1994) en jouant un rôle primordial dans les processus de transfert d'énergie (De Goeij *et al.*, 2013) et le recyclage des nutriments (Hadas *et al.*, 2009). Leurs diverses structures corporelles fournissent parfois un habitat idéal à de nombreux autres organismes vertébrés et invertébrés (Hultgren & Duffy, 2010). Ces animaux contribuent également et de manière significative au fonctionnement du cycle biogéochimique du carbone, de l'azote et de la silice en raison de leur grande capacité d'alimentation par filtration (Maldonado *et al.*, 2017).

3.6. Valorisation économique

Les éponges de toilette ou de bain sont exploitées à des fins commerciales depuis l'Antiquité. Le marché des spongiaires a toujours été très exigeant et la production d'éponges par la pêche s'est avérée insuffisante pour satisfaire la demande (Verdenal & Verdenal, 1987). La disponibilité des éponges de toilette d'intérêt

commercial méditerranéens a été considérablement réduite par l'épuisement des gisements naturels en raison à la fois de la surexploitation par la pêche et des événements épidémiques dévastateurs (Castritsi-Catharios *et al.*, 2005). En effet, la recherche sur les produits naturels marins s'est développée rapidement au cours des 20 dernières années. Plusieurs travaux soulignent l'importance biotechnologique des éponges marines qui attirent de plus en plus l'attention de la communauté scientifique et de l'industrie biotechnologique (Takur & Muller 2004; Blunt *et al.*, 2005; Mehbub *et al.*, 2014). Ces organismes produisent des composés bioactifs divers et complexes, qui sont souvent la source de nouveaux médicaments (Hu *et al.* 2011). D'autre part, leurs propriétés nanomagnétiques, optiques et mécaniques de leurs squelettes présentent également un intérêt croissant au-delà de leur potentiel biopharmaceutique (Bonini *et al.*, 2007). De nouveaux matériaux peuvent également être facilement conçus et produits à l'aide d'approches biomimétiques acquises par une étude approfondie des éponges (Jensen *et al.*, 2011). Les composés bioactifs d'origine éponge sont déjà sur le marché en tant que produits pharmaceutiques ou au stade d'essais cliniques (Sipkema *et al.*, 2005a). L'intérêt croissant pour satisfaire cette demande à encourager les investigations sur la faisabilité, le potentiel technique et économique des différentes méthodes de production de métabolites d'éponges. Dans le bassin méditerranéen, plusieurs genres, comme *Acanthella*, *Agelas*, *Aplysina*, *Axinella*, *Cacospongia*, *Chondrosia*, *Crambe*, *Dysidea*, *Jaspis*, *Ircinia*, *Petrosia* et *Suberites*, avec un potentiel économique en raison de leurs produits bioactifs, ont été testées pour la culture in situ ou ex situ (Pronzato *et al.*, 1999; Brummer & Nickel 2003; Sipkema *et al.*, 2005b). En Algérie, les éponges ne sont pas exploitées même si elles sont décrites comme étant un produit d'intérêt économique au même titre que d'autres invertébrés, comme c'est le cas du corail rouge *Corallium rubrum* (Bensafia, 2018).

3.7. Diversité des éponges en Algérie

La Méditerranée qui ne représente que 0,8% des surfaces océaniques constitue un pôle de biodiversité marine et côtière appréciable. Avec 28% d'espèces endémiques, 18% de la flore et 7,5% de la faune marine mondiale, elle héberge environ 12 000 espèces macroscopiques (Boudouresque, 2004). Au cours des dernières années, le bassin méditerranéen a connu de nombreuses intrusions d'espèces végétales et animales non indigènes (ENI) originaires d'Atlantique (herculéennes) et

de la mer Rouge (lesseptiennes) et il faut s'attendre que la situation ne fera qu'accroître dans le proche avenir non seulement en raison de ces ENI mais aussi par le manque d'informations sur les taxons "peu visibles" ou affectionnant des habitats complexes et sous-échantillonnés tels que les grottes sous-marines ou les profondeurs (Bianchi & Morri, 2002).

Les espèces dominantes en MED sont au nombre de 681 (Coll *et al.*, 2010) avec une endémicité proche de 40% (Pansini *et al.*, 2011). En termes de richesse spécifique, les éponges représentent presque 12,4% de la diversité spécifique (Coll *et al.*, 2010) et leur distribution zoogéographique est bien connue (Pérès & Picard, 1958; Pansini & Longo, 2003; Voultsiadou, 2009). Toutefois, Voultsiadou-Koukoura et Van Soest (1993) précisent que la diversité des éponges en MED s'affaiblit d'Ouest en Est. Sur les côtes algériennes, quelques travaux anciens de Topsent (1901, 1938) décrivent la diversité des spongiaires d'Algérie. Aucours des ces dernières, Derbal et Kara (2005) et Bensafia (2018) ont dressé un inventaire de la faune spongiaire de l'étage infralittoral en utilisant la plongée sous-marine avec scaphandre et l'apnée. Au total, ces auteurs a pu identifier entre 0 et – 40 m une seule classe Demospongiae comprenant 9 espèces rattachées à 7 genres, 5 familles et 5 ordres (Tab. 4).

Tableau 04. Position taxonomique des éponges inventoriées dans le golfe d'Annaba (selon world porifera database) (Derbal & Kara, 2005; Bensafia, 2018).

Classe	Ordre	Famille	Genre	Espèce
Demospongiae	Chondrosida	Chondrillidae	<i>Chondrosia</i>	<i>C. reniformis</i> (Nardo, 1833)
			<i>Chondrilla</i>	<i>C. nucula</i> (Schmidt, 1862)
	Haplosclerida	Petrosiidae	<i>Petrosia</i>	<i>P. clavata</i> (Esper, 1794)
				<i>P. ficiformis</i> (Poiret, 1789)
	Halichondrida	Axinellidae	<i>Axinella</i>	<i>A. verrucosa</i> (Esper, 1794)
	Poecilosclerida	Crambeidae	<i>Crambe</i>	<i>C. crambe</i> (Schmidt, 1862)
			<i>Ircinia</i>	<i>I. fasciculata</i> (Pallas, 1766)
	Dictyociratida	Irciniidae	<i>Sarcotragus</i>	<i>S. foetidus</i> (Schmidt, 1862)
				<i>S. spinosulus</i> (Schmidt, 1862)

CHAPÎTRE I

ÉLÉMENTS TRACES MÉTALLIQUES

CHAPITRE I. ELEMENTS TRACES METALLIQUES

1. INTRODUCTION

La pollution est l'un des problèmes les plus préoccupants aussi bien pour les décideurs politiques du monde entier que pour la communauté scientifique et la société civile, en particulier dans les pays en voie de développement. Bien qu'elle soit produite par l'homme lui-même et ses activités, elle a des effets délétères sur l'environnement et les ressources humaines (Mendil & Uluözlu, 2007). Ainsi, la pollution et ses effets sont considérés comme l'un des plus grands crimes de l'homme contre lui-même. Les polluants peuvent causer des dommages primaires, avec un impact identifiable direct sur l'environnement, ou des dommages secondaires sous la forme de perturbations mineures dans l'équilibre délicat du réseau trophique biologique qui ne sont détectables que sur de longues périodes (Al Naggar *et al.*, 2014).

Les habitats aquatiques, et en particulier ceux des zones côtières et estuariennes, sont les plus soumis à la pollution en raison de l'utilisation de l'eau dans les processus industriels ainsi que des rejets d'effluents de l'industrie et du développement urbain (Fernandesa *et al.*, 2007). La plupart des hydrosystèmes peuvent faire face à un certain degré de pollution, mais une pollution sévère peut se traduire par une modification et des perturbation sévères de la biodiversité et des habitats (Naggar *et al.*, 2018).

Les ETMs sont considérés comme des contaminants anthropiques majeurs dans les milieux marins côtiers (Ruilian *et al.*, 2008). Ils constituent une menace sérieuse pour la santé humaine, les organismes vivants et les écosystèmes naturels en raison de leurs caractéristiques de toxicité, de persistance et de bioaccumulation (DeForest *et al.*, 2007). De nombreux ions de métaux lourds sont connus pour être toxiques ou cancérigènes pour l'homme (Fu & Wang, 2011). Ces éléments peuvent contribuer à la dégradation des écosystèmes marins en réduisant la diversité et l'abondance des espèces et par l'accumulation dans les organismes vivants et les chaînes alimentaires (Hosono *et al.*, 2011; Naser, 2013). La pollution métallique est secrète, persistante et irréversible (Wang *et al.*, 2001). Ce type de pollution dégrade non seulement la qualité de l'atmosphère, des plans d'eau et des cultures vivrières,

mais menace également la santé et le bien-être des animaux et des êtres humains par l'intermédiaire du réseau trophique (Dong *et al.*, 2011).

Par exemple, le plomb est un élément non essentiel pour le corps humain et une consommation excessive de ce métal peut endommager les système nerveux, squelettique, circulatoire, enzymatique, endocrinien et immunitaire des organismes qui y sont exposés (Zhang *et al.*, 2012). Une exposition chronique au cadmium peut avoir des effets indésirables tels que le cancer et les adénocarcinomes pulmonaires, les lésions prolifératives prostatiques, les fractures osseuses, le dysfonctionnement rénal et l'hypertension, tandis que les effets chroniques de l'arsenic consistent en des lésions cutanées, une neuropathie périphérique, un cancer cutané et les pathologies vasculaires (Żukowska & Biziuk, 2008).

La pollution marine par les métaux lourds est devenue un problème grave dans le monde entier (Solgi *et al.*, 2012). Bien que les métaux lourds puissent être présents naturellement dans l'environnement marin, des contributions supplémentaires proviennent d'activités anthropiques telles que l'agriculture intensive, l'urbanisation anarchique, l'industrialisation et l'exploitation minière non contrôlée (Facchinelli *et al.*, 2001). En effet, de nombreuses études ont montré que les sources de pollution par les ETM dans l'environnement proviennent principalement de ces sources anthropiques (Wei et Yang, 2010) (Tab. 5).

Tableau 5. Principales sources anthropiques de quelques ETM (Abed, 2011).

Eléments	Sources anthropiques
Cr	Aciers et aciers inoxydables
Fe (Alliages)	Aciers et aciers inoxydables
Ni	Aciers et aciers inoxydables
Cu	Electroniques, fongicides
Zn	Galvanisation de l'acier
As	Produits phytosanitaires
Ag	Bijouterie, argenterie, monnaies, miroirs, électriques et électroniques
Cd	Batteries d'accumulateurs
Au	Bijouterie, objets précieux, contacts électriques, dentisterie
Hg	Amalgames dentaires, piles électriques
Ti	Réacteurs chimiques (en raison de son inertie chimique) et confection de prothèses
Pb	Additif dans les carburants, batteries d'accumulateurs, tuyauteries, soudures, anticorrosion et les munitions
U	Quilles de certains bateaux, munitions anti-blindage (uranium appauvri)

Les villes côtières ont souvent été identifiées comme des points chauds de plusieurs types de pollution. La population algérienne a augmenté de 95% au cours des trente dernières années, passant de 22 millions d'habitants en 1985 à 44,6 millions en 2021 (https://fr.wikipedia.org/wiki/D%C3%A9mographie_de_l%27Alg%C3%A9rie). Une aggravation des conditions peut être observée sur de grandes parties du littoral, en particulier dans les golfes proches des plus grandes agglomérations (45% de la population) comme Alger, Oran et Annaba, et à proximité des zones industrielles et portuaires d'Arzew, Bejaia, Ghazaouet et Skikda. Dans la zone côtière algérienne (environ 1622 km), les effluents d'eaux usées domestiques et industrielles non traitées représentent une source majeure de contamination chimique du milieu aquatique local (Inal *et al.*, 2018). Le golfe d'Annaba (nord-est de l'Algérie) qui représente l'un des secteurs économiques et touristiques les plus importants d'Algérie se trouve continuellement affecté par divers contaminants provenant des activités urbaines, agricoles, portuaires et industrielles (Abdenour *et al.*, 2000). Il reçoit non seulement les apports continentaux provenant des oueds Seybouse et Boujemâa mais aussi, les rejets urbains et industriels sans traitement préalable d'une ville fortement industrialisée et urbanisée (Bensafia, 2018). Cette baie a longtemps été le champ d'expérimentation de la plupart des études écotoxicologiques des côtes extrêmes de l'Algérie, en utilisant différents organismes /invertébrés comme bioindicateurs de l'enrichissement anthropique du golfe par les ETM (Tab. 6).

Tableau 6. Compilation des travaux toxicologiques menés sur des invertébrés / organismes marins en tant que « bioindicateurs de pollution » par des ETM dans le golfe d'Annaba entre 2010 et 2018.

Espèces	Tissus	Eléments	Stations (plages)	Références
<i>Sarcotragus spinosulus</i> (SP)	Tissu	Zn, Pb, Cu et Cd	Alzon et Cap de Garde	Bensafia et Khati, (2018)
<i>Mugil cephalus</i> (T)	Muscle	Zn, Cu, Pb, Cd et Hg	/	Ouali <i>et al.</i> (2018)
<i>Donax trunculus</i> (MB)	Chair entière	Cd, Cu, Pb, Zn, Mn	El Battah, Sidi Salem	Amira <i>et al.</i> (2018)
<i>Donax trunculus</i> (MB)	Chair entière	Cd	El Battah	Merad & Soltani, (2017)
<i>Phorcus (Osilinus) turbinatus</i> (GT)	Chair entière	Cd, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn	/	Boucetta <i>et al.</i> (2016)
<i>Posidonia oceanica</i> (PM)	/	Cu, Zn, Ni et Cr	La Caroube, Ain-Achir	Boutabia-Trea <i>et al.</i> (2015)
<i>Perna Perna</i> (MB)	Chair entière	Zn, Cu, Ni, Cr, Mn, Fe, Cd et Pb	Sidi Salem, Sunrise, Saint Cloud, La Kianne (cape de Garde)	Belabed <i>et al.</i> (2013)

<i>Perna perna</i> (MB)	Chair entière	Cd, Cu et Zn	/	Khati <i>et al.</i> (2012)
<i>Donax trunculus</i> (MB)	Chair entière	Pb, Ni, Cu et Zn	Seybouse, Sidi Salem, Chatt, Batah	Abdenmour <i>et al.</i> (2010)
MB * mollusque bivalve. SP * spongiaires Porifera. T * téléostéen. PM * phanérogame marin./ GT * gastéropode, Trochidae				

2. MATERIEL & METHODES

2.1. Choix et localisation des stations d'échantillonnage

Après trois mois de prospection en apnée (plongé libre - sans scaphandre autonome) tout le long de la côte Ouest du golfe, deux sites d'étude ont été retenus pour cette investigation en raison de l'accessibilité de la zone et de l'abondance de l'éponge *Chondrilla nucula* à de faibles profondeurs. Les 2 sites sont deux plages publiques situées en zone périurbaine (Fig. 16).

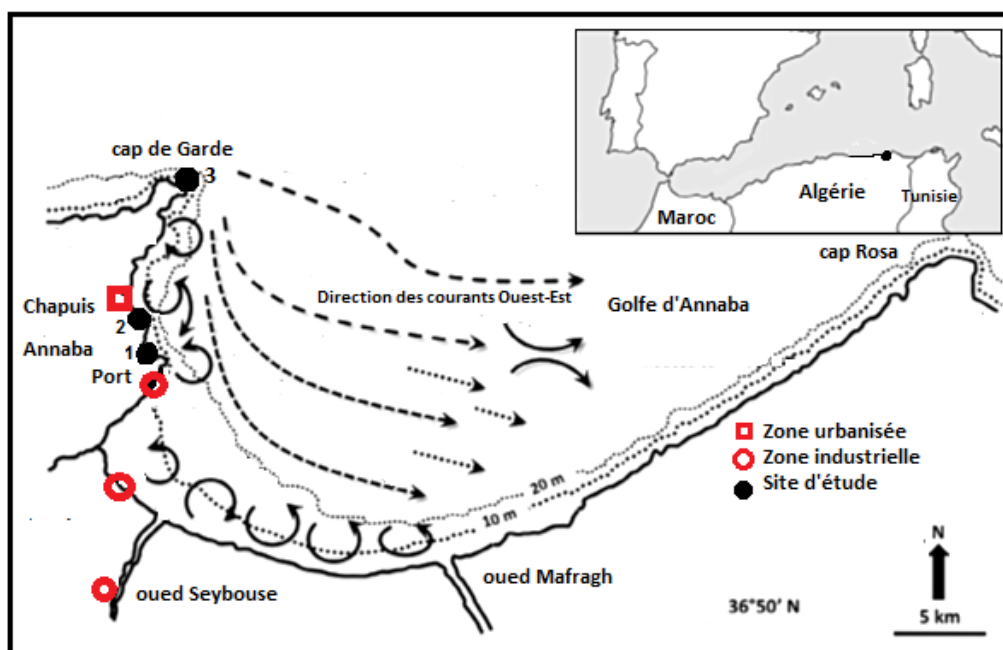


Figure 16. Zone d'étude et site d'échantillonnage (stations 1, 2, 3) dans le golfe d'Annaba (Belabed *et al.*, 2013b modifiée).

➤ **Station 1-** Lever de l'aurore (36°54'57.8"N - 7° 46.14.5"E) est une plage publique située à environ 2 km à l'ouest du port d'Annaba et du complexe algérien de production d'engrais (FERTIAL) situé à Sidi Salem. Cette plage presque sableuse et parsemée de quelques zones rocheuses recouvertes d'éponges (Fig. 17).



Figure 17. Lieu de prélèvement de l'éponge *Chondrilla nucula* au niveau de la station Alzon (cliché : Zerarguia, 2017)

➤ **Station. 2-** La Caravelle ($36^{\circ} 54'33.3''\text{N} - 7^{\circ} 46.26'.3''\text{E}$) est une petite plage rocheuse bordant le port d'Annaba ($36^{\circ}54'07.3''\text{N} - 7^{\circ} 46'22.9''\text{E}$) et fortement polluée par les métaux lourds provenant principalement des carburants des automobilistes et trafics maritimes, des peintures antifouling, des matériaux de réparation et de réaménagement de bateaux (Ouali *et al.*, 2018). Ainsi, le bassin portuaire partage en permanence et directement ses eaux polluées avec cette plage. (Fig. 18).



Figure 18. Lieu de prélèvement de l'éponge *Chondrilla nucula* au niveau de la station La Caravelle (cliché : Zerarguia, 2017)

Initialement, le cap de Garde (Cape de garde 38°58'3.25"N -07°47'28.33"E) fut notre troisième station d'échantillonnage (Fig. 19). Cependant, au cours de notre étude l'espèce avait disparue pour des raisons que nous ignorons.



Figure 19. Site d'étude du cap de Garde (cliché : Zerarguia, 2017).

2.2. Matériel biologique : *Chondrilla nucula*

Notre matériel biologique est le démosponge *Chondrilla nucula* (Classe : Demospongiae, Tetractinomorpha). C'est une éponge épaisse encroûtante, de couleur brune-verte olive appartenant à l'ordre des Chondrosidae (Fig. 20).



Figure 20. Photo de *Chondrilla nucula* (Schmidt, 1862) (cliché : Derbal, 2015).

L'ordre des Chondrosida (Boury-Esnault & Lopès, 1985) n'est représenté que par une seule famille de Chondrillidae (Gray, 1872) avec quatre genres valides *Chondrosia*, *Chondrilla*, *Thymosia* et *Thymosiopsis*.

Chondrilla Schmidt (1862) est le genre le plus largement distribué avec un total de 17 espèces (Van Soest, 2015). Celles-ci sont caractérisées par la présence de spicules siliceux de type aster seuls, abondants dans le cortex et autour des canaux (Boury-Esnault, 2002).

Chondrilla. nucula est considérée comme cosmopolite même si l'absence de caractères taxonomique et morphologiques génèrent de la confusion (Boury Esnault, 2002; Carballo *et al.*, 2003). La même espèce a été récemment subdivisée en cinq formes génétiques différentes réparties dans les Caraïbes et dans l'Atlantique occidental par Klautau *et al.* (1999). Plus récemment, Carballo *et al.* (2003), ont décrit 2 nouvelles espèces de *Chondrilla* le long de la côte Pacifique du Mexique. L'hotype décrit par Schmidt (1862) a été collecté au Quarnero, au nord de la mer Adriatique et seules les espèces appartenant aux populations des côtes méditerranéennes et atlantiques de l'Espagne, du Maroc et du Portugal sont considérées comme valides (Boury-Esnault, 2002; Carballo *et al.*, 2003). *Chondrilla*

nucula a une forme lobée, de 1 cm à 4,5 cm d'épaisseur avec une surface lisse et une consistance cartilagineuse et ferme.

Un cortex riche en collagène avec des spicules sphériques d'environ 20 µm de diamètre investit un mésohyle avec des chambres de choanocytes de 40 à 50 µm de diamètre. Le diamètre du spheraster varie selon les saisons au cours de l'année de 20 à 27 µm. Le choanosom de *C. nucula* héberge un grand nombre de cellules sphéruleuses qui semblent contenir des lectines (Schröder *et al.*, 1990; Boury-Esnault, 2002). Des bactéries symbiotiques intracellulaires et extracellulaires sont présentes et parmi elles, les cyanobactéries occupent principalement la région corticale conférant la couleur caractéristique. Les spécimens cultivés ou transplantés dans des grottes perdent leurs cyanobactéries et deviennent blanchâtres (Gaino *et al.*, 1977). *Condrilla nucula* peut se déplacer sur le substrat, réorganisant complètement sa structure corporelle afin de pouvoir coloniser rapidement de nouveaux substrats en s'adaptant à un large éventail de conditions environnementales (Gaino & Pronzato, 1983; Bond & Harris, 1988). Dans les récifs coralliens des eaux tropicales, l'efficacité de la colonisation et de la prolifération sur d'autres invertébrés a déjà été étudiée, montrant que *C. nucula* est l'agresseur dominant de plusieurs coraux scléactiniens mais, envahit, rarement d'autres espèces d'éponges (Antonius & Ballestreros, 1998). D'un autre côté, les individus isolés se produisent moins souvent que les individus envahis par la végétation (Vicente, 1990). En Méditerranée, *C. nucula* atteint sa distribution maximale dans la zone photique. Dans le nord de la mer Adriatique, elle a été signalée dans de nombreuses régions (Vatova, 1928 ; Rützler, 1965; Müller *et al.*, 1984; Novosel *et al.*, 2002). Cette espèce colonise rapidement le substrat par production de propagules (Gaino & Pronzato, 1983), formant très souvent de grandes parcelles, rivalisant avec les algues et les oursins et envahissant d'autres organismes (Mercurio *et al.*, 2001). Des spécimens en croissance libre ont également été fréquemment observés sur des fonds meubles (Mercurio *et al.*, 2001, Fanelli *et al.*, 2003). La reproduction sexuée a été rarement observée et a lieu en été-automne (Scalera Liaci *et al.*, 1971; Gaino, 1980).

2.3. Mesure des paramètres physico-chimiques de l'eau

La mesure de la température, du pH, de la salinité et l'Oxygène dissout s'est effectuée saisonnièrement au même moment du prélèvement des éponges au moyen d'un multi-paramètre de terrain HANNA (HI-9829) préalablement calibré (Fig. 21).



Figure 21. Mesure des paramètres physicochimiques des eaux de surface (Cliché : Zerarguia, 2017)

2.4. Collecte et traitement des échantillons

2.4.1. Méthode de prélèvement des éponges

Le choix de l'éponge *C. nucula* est justifié par son abondance et son accessibilité en plongée dans les deux zones de prélèvement. Des échantillons, d'environ 5 cm² de tissus et à raison de 6 individus par station, ont été prélevés en plongée libre entre 0 et 2 m au moyen d'un poignard en acier inoxydable bien nettoyé durant quatre saisons (Fig. 22). Les échantillons, une fois prélevés, ont été transportés au laboratoire dans des glacières remplies d'eau de mer. Au laboratoire, des sous-échantillons de 1 gr de chaque individu d'éponge sont pesés, numérotés, étiquetés et stockés à -25°C jusqu'au moment du dosage.

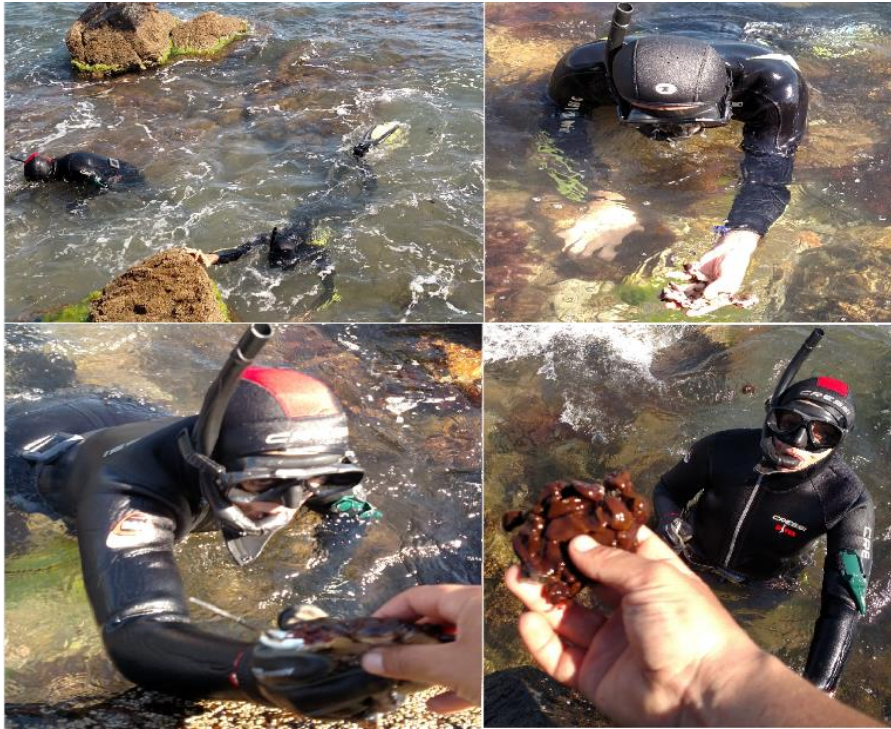


Figure 22. Méthode de prélèvement de l'éponge *Chondrilla nucula* (Cliché : Zerarguia, 2017).

2.4.2. Traitement et analyse chimique des éponges

Le dosage des métaux dans les organismes marins s'est effectué par méthode de SAA (spectrophotométrie d'absorption atomique). L'échantillon doit subir préalablement une minéralisation à chaud puis des fragments de 1 gr sont séchés à l'étuve à 60°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant (Fig. 23).



Figure 23. Echantillons séchés de l'éponge *C. nucula* (mesures en gramme)

Après refroidissement, ces différents échantillons sont minéralisés dans un volume de 4 ml d'acide nitrique (HNO₃) supra pur (trempés pendant au moins 48 h). Le minéralisat est ensuite filtré à l'aide de filtres Wattman N°41 et ajusté à 18 ml d'eau distillée (Amiard *et al.*, 1987). Le produit obtenu est ainsi conservé dans des flacons en verre hermétiquement fermés jusqu'à son analyse. Les analyses ont été effectuées en utilisant un spectrophotomètre de marque Shimadzu, type AA6500 assisté par micro-ordinateur. L'opération a été conduite sous une flamme air acétylène oxydante sous une longueur d'onde qui correspond à chaque métal dosé. L'appareil a été préalablement étalonné avant analyse en faisant passer des solutions étalons. Pour s'assurer de la linéarité de la courbe d'étalonnage, 10 étalons ont été préparés dans la gamme prévue par le constructeur. L'exploitation de cette courbe d'étalonnage tracée en portant l'absorbance en fonction de la concentration a été assurée par l'ordinateur. Cette exploitation a servi pour déterminer la concentration en chaque métal des échantillons à analyser.

Les analyses ont été réalisées au Laboratoire de Génie de l'environnement du Département de Génie des Procédés (Faculté de Technologie, Université de Béjaïa). Les éléments quantifiés (en µg g⁻¹ ps) sont le cuivre, le zinc, le plomb et le cadmium.

2.5. Traitement statistique

Tous les résultats ont été exprimés en moyenne ± erreur standard. Les données ont fait l'objet d'une analyse de variance bidirectionnelle (ANOVA) afin de comparer les concentrations moyennes des éléments traces dans les tissus des éponges. Les différences significatives ($p < 0.05$) ont été déterminées en utilisant le test Tukey.

3. RESULTATS

3.1. Paramètres physico-chimiques

Les résultats des variations saisonnières des paramètres physico-chimiques des eaux côtières prélevées au niveau des stations Alzon (S1) et La caravelle (S2) sont :

3.1.1. Température

Les relevés saisonniers de la température des eaux de surface des deux stations de prélèvement nous ont permis de noter des variations de manière similaire d'une station à l'autre et d'une saison à l'autre. Elle oscille entre 14,20°C et 27,24°C avec un minimum en hiver et un maximum en été (Fig. 24).

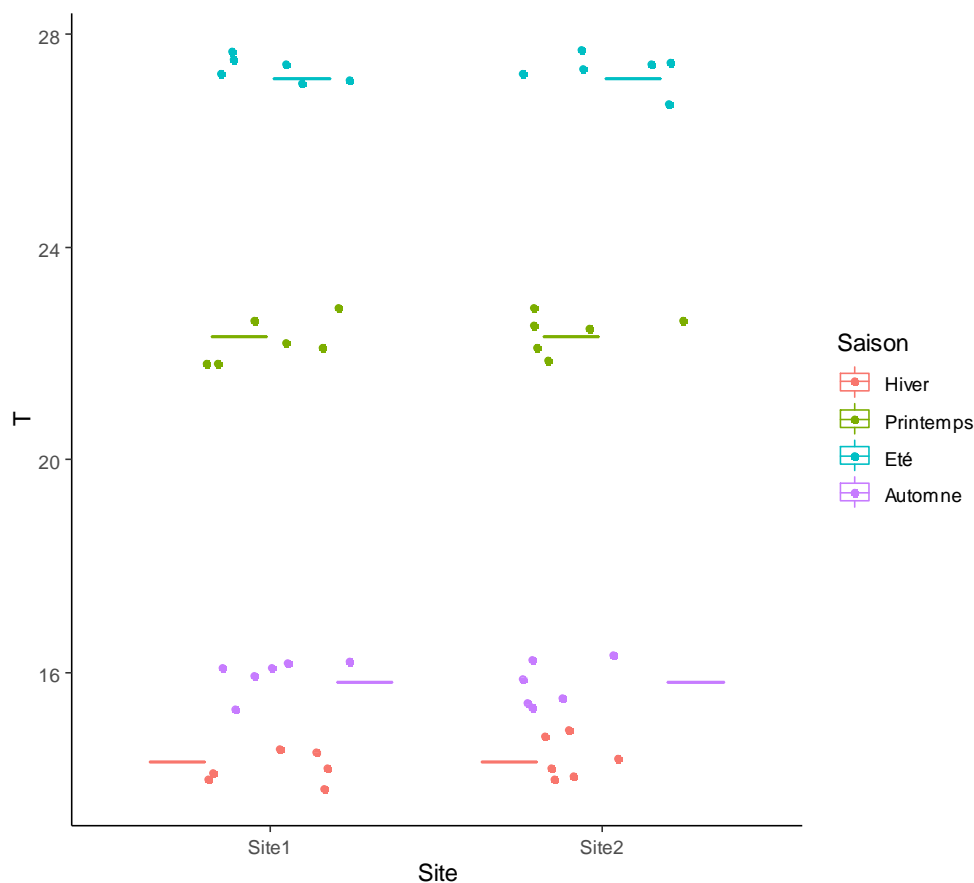


Figure 24. Evolution saisonnière de la température des eaux de surface dans les deux stations prospectées du golfe d'Annaba.

Les résultats de l'ANOVA à un critère de classification appliquée dans la comparaison des variations de la température des eaux des stations d'échantillonnage font apparaître l'existence de différences très hautement significatives entre les saisons et l'absence de différences significatives entre les stations (Tab. 7).

Tableau 7. Résultats de l'ANOVA à un facteur contrôlé des variations de la température des eaux du golfe d'Annaba.

Paramètres	Facteurs					
	Station (ddl = 3)			Saison (ddl = 1)		
	Fobs	P	Signification	Fobs	P	Signification
T°	0	1	ns	6,358	0,000	***

3.1.2. Salinité

Dans les deux stations, la salinité est relativement stable et varie entre 35,78 PSU et 37,61 PSU (Fig. 25).

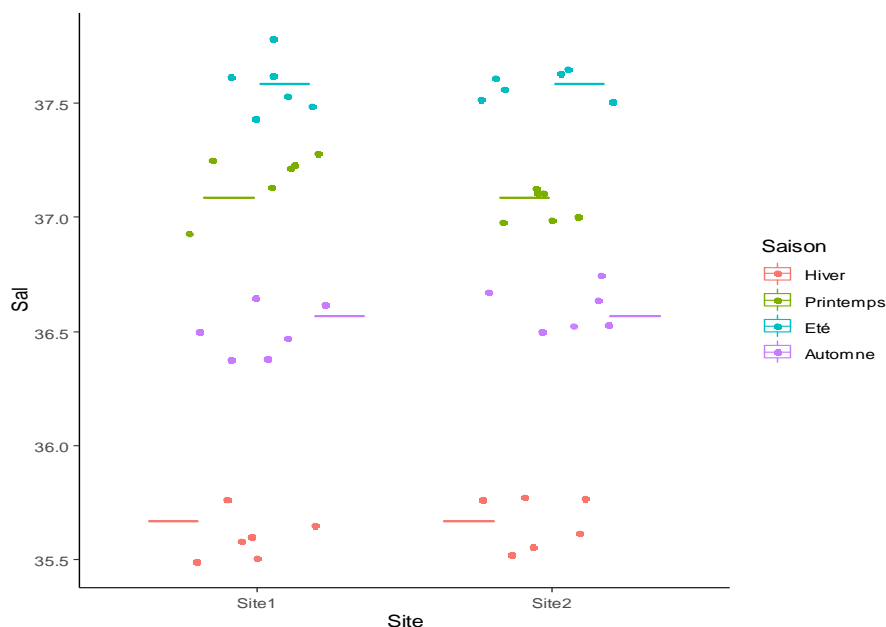


Figure 25. Evolution saisonnière de la salinité des eaux de surface dans les deux stations prospectées du golfe d'Annaba.

L'analyse de la variance à un critère de classification a montré une différence très hautement significative de la salinité entre les quatre saisons. Toutefois, aucune différence significative n'a été enregistrée entre les stations (Tab. 08).

Tableau 8. Résultats de l'ANOVA à un facteur contrôlé des variations de la salinité des eaux du golfe d'Annaba.

Paramètres	Facteurs					
	Station (ddl = 3)			Saison (ddl = 1)		
	Fobs	P	Signification	Fobs	P	Signification
Sal	0	1	ns	9,062	0,000	***

3.1.3. Potentiel d'hydrogène

Les valeurs saisonnières du pH des eaux varient entre 7,18 et 8,51 avec un minimum observé en hiver et un maximum en été dans les deux stations prospectées (Fig. 26).

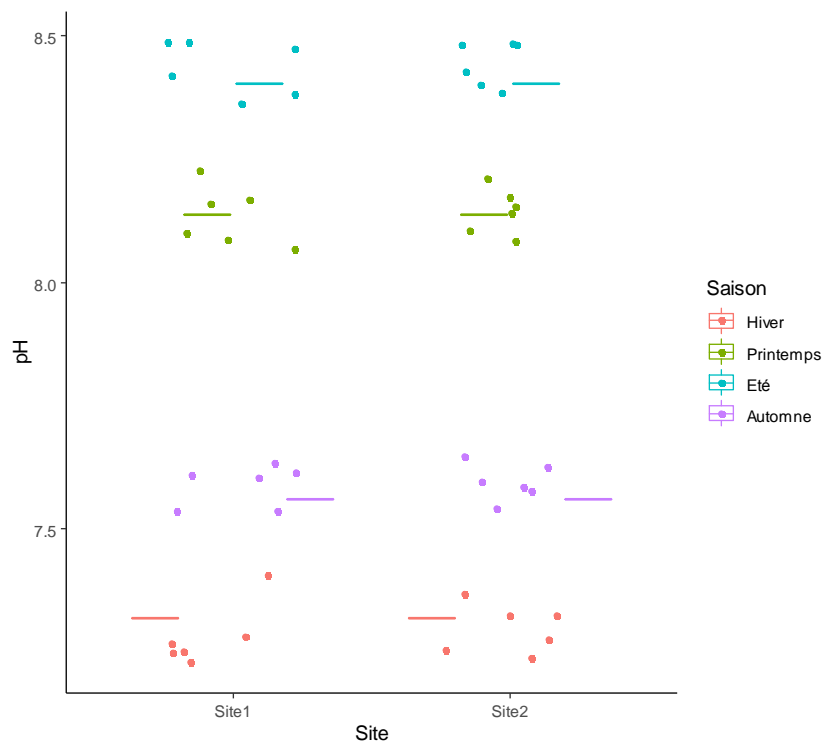


Figure 26. Evolution saisonnière du pH des eaux de surface dans les deux stations prospectées du golfe d'Annaba.

Les résultats de l'ANOVA à un critère de classification appliquée dans la comparaison des valeurs du pH des eaux de surface dans les stations prospectées ont révélé l'existence de différences très hautement significatives et aucune différence entre les saisons et les stations (Tab. 9).

Tableau 9. Résultats de l'ANOVA à un facteur contrôlé des variations du pH des eaux du golfe d'Annaba.

Paramètres	Facteurs					
	Station (ddl = 3)			Saison (ddl = 1)		
	Fobs	P	Signification	Fobs	P	Signification
pH	0	1	ns	2,845	0,000	***

3.1.4. Oxygène dissout

Les valeurs saisonnières de l'oxygène dissout sont comprises entre 5,66 et 7,12 mg.L⁻¹ avec un pic en période printanière et une valeur minimale en période estivale (Fig. 27).

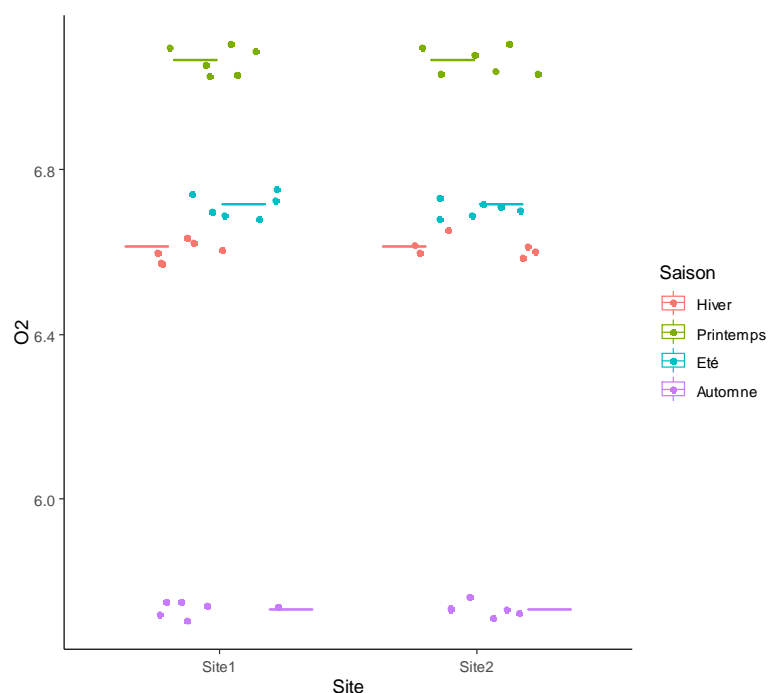


Figure 27. Evolution saisonnière de l'oxygène dissous des eaux de surface dans les deux stations prospectées du golfe d'Annaba.

L'analyse statistique de l'ANOVA à un critère de classification appliquée dans la comparaison des valeurs de l'oxygène dissous des eaux de surface dans les stations prospectées ont révélé l'existence de différences très hautement significatives et aucune différence entre les saisons et les stations (Tab. 10).

Tableau 10. Résultats de l'ANOVA à un facteur contrôlé des variations de l'oxygène dissous des eaux du golfe d'Annaba.

Paramètres	Facteurs					
	Station (ddl = 3)			Saison (ddl = 1)		
	Fobs	P	Signification	Fobs	P	Signification
O₂	0	1	ns	2,425	0,000	***

3.2. Variations saisonnières des ETMs dans les tissus

Les résultats relatifs aux variations saisonnières des concentrations des métaux précités obtenus à partir des échantillons traités sont comme suit :

3.2.1. Cuivre (Cu)

Les teneurs en cuivre dosées dans les tissus de *C. nucula* sont comprises entre $11,82 \pm 0,35 \mu\text{g g}^{-1}$ et $16,02 \pm 0,65 \mu\text{g g}^{-1}$ (ps). Ces valeurs varient d'une saison à une autre avec des teneurs plus élevées en hiver et plus faibles en été (Fig. 28).

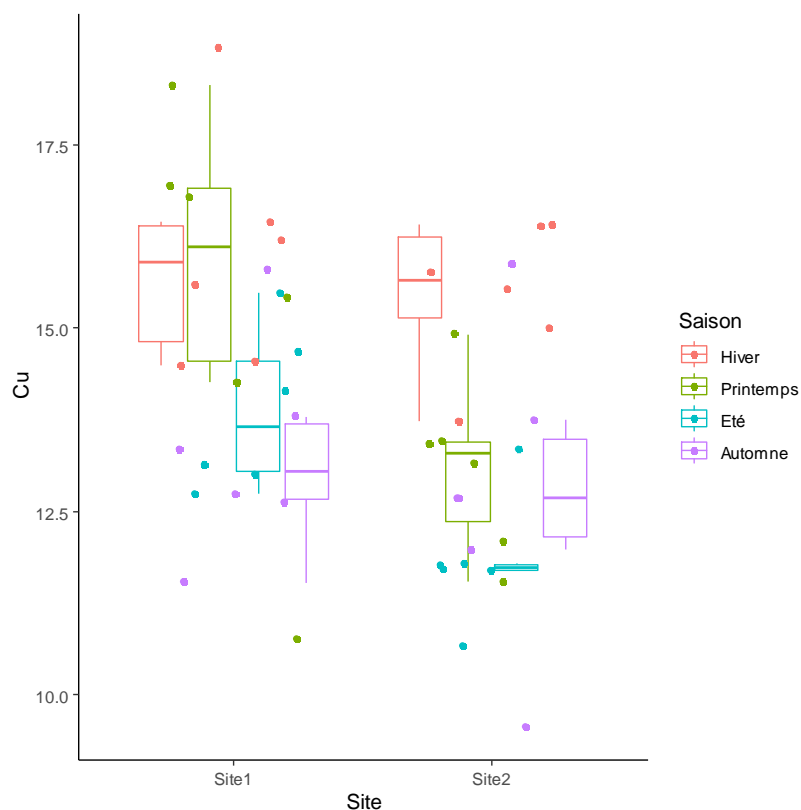


Figure 28. Variations spatio-temporelles des teneurs en cuivre (Cu) dans les tissus de *Chondrilla nucula* du golfe d'Annaba.

L'analyse statistique met en évidence l'existence d'une différence très hautement significative des teneurs en cuivre dans les tissus de *C. nucula* d'une saison à une autre mais aucune différence entre les stations (Tab. 11).

Tableau 11. Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des ETM (Cu) analysés dans les tissus de *Chondrilla nucula* du golfe d'Annaba.

Elements	Facteurs					
	Station (ddl = 3)			Saison (ddl = 1)		
	Fobs	P	Signification	Fobs	P	Signification
Cu	5,891	0,1192	ns	7,159	0,000	***

3.2.2. Zinc (Zn)

Le zinc est présent dans les tissus à des concentrations comprises entre $77,42 \pm 6,94$ et $126,93 \pm 2,73 \mu\text{g g}^{-1}$ ps. Dans les deux stations, le pic a été enregistré en période printanière et les valeurs minimales en période automnale (Fig.29).

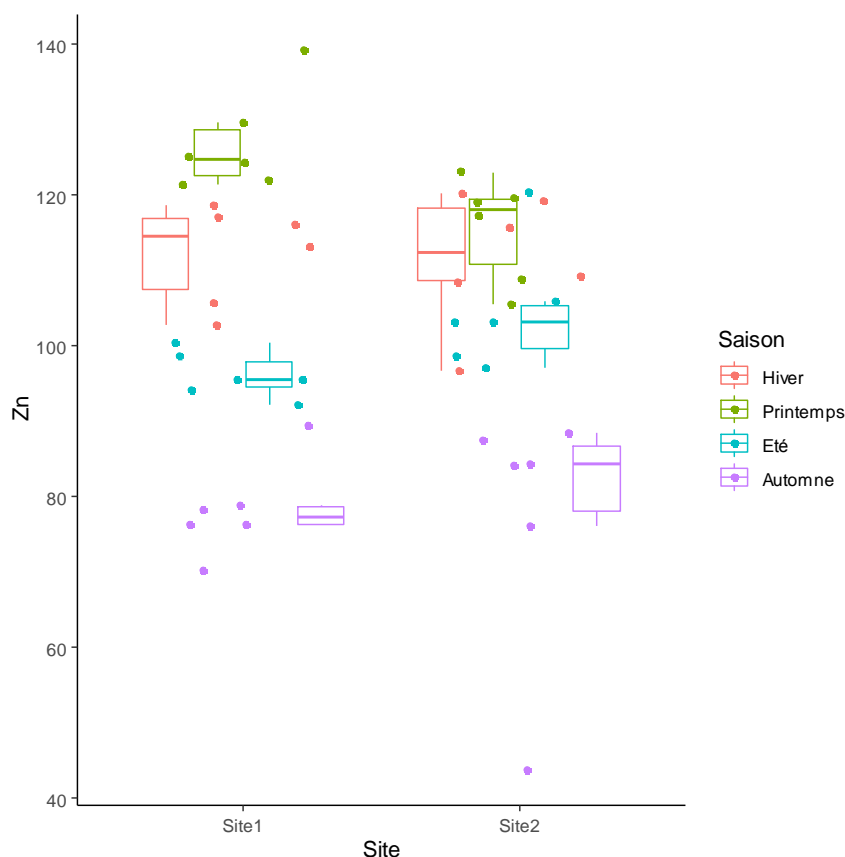


Figure 29. Variations spatio-temporelles des teneurs en zinc (Zn) dans les tissus de *Chondrilla nucula* du golfe d'Annaba.

L'analyse de la variance à un critère de classification (AV1) montre que les teneurs en zinc contenues dans les tissus de l'éponge *C. nucula* varient de manière très hautement significative d'une saison à une autre (Tab. 12).

Tableau 12. Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des ETM (Zn) analysés dans les tissus de *Chondrilla nucula* du golfe d'Annaba.

Elements	Facteurs					
	Station (ddl = 3)			Saison (ddl = 1)		
	Fobs	P	Signification	Fobs	P	Signification
Zn	0,037	0,848	ns	49,87	0,000	***

3.2.3. Plomb (Pb)

Les concentrations en plomb atteignent leur maximum au printemps ($55,3 \pm 11,4 \mu\text{g g}^{-1}\text{ps}$) et en hiver ($71,5 \pm 27,1 \mu\text{g g}^{-1}\text{ps}$) pour les stations 1 et 2 respectivement, tandis que leurs concentrations minimales ($33,89 \pm 3,96 \mu\text{g g}^{-1}\text{ps}$ et $33,89 \pm 3,96 \mu\text{g g}^{-1}\text{ps}$ respectivement) ont été observées pendant l'été dans les deux stations (Fig.30).

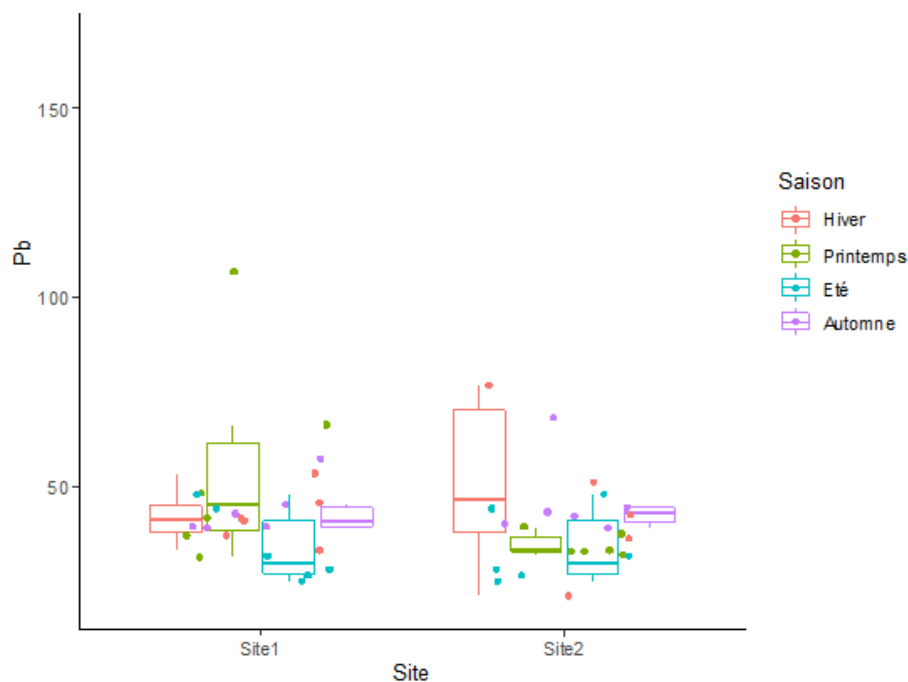


Figure 30. Variations spatio-temporelles des teneurs en plomb (Pb) dans les tissus de *Chondrilla nucula* échantillonné dans le golfe d'Annaba.

La comparaison statistique (ANOVA) des teneurs en plomb dans les tissus de *C. nucula* ne montre aucune différence significative ni entre les saisons ni entre les stations (Tab. 13).

Tableau 13. Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des ETM (Pb) analysés dans les tissus de *Chondrilla nucula* du golfe d'Annaba.

Elements	Facteurs					
	Stations (ddl = 3)			Saison (ddl = 1)		
	Fobs	P	Signification	Fobs	P	Signification
Pb	0,128	0,722	ns	1,443	0,243	ns

3.2.4. Cadmium (Cd)

Dans le cas du Cd, les valeurs les plus élevées ont été enregistrées en hiver ($7,10 \pm 1,44 \mu\text{g g}^{-1}$ ps et $23,3 \pm 13,3 \mu\text{g g}^{-1}$ ps), et les plus faibles en automne ($0,24 \pm 0,15 \mu\text{g g}^{-1}$ et $0,40 \pm 0,12 \mu\text{g g}^{-1}$ ps) pour les deux stations respectivement (Fig. 31).

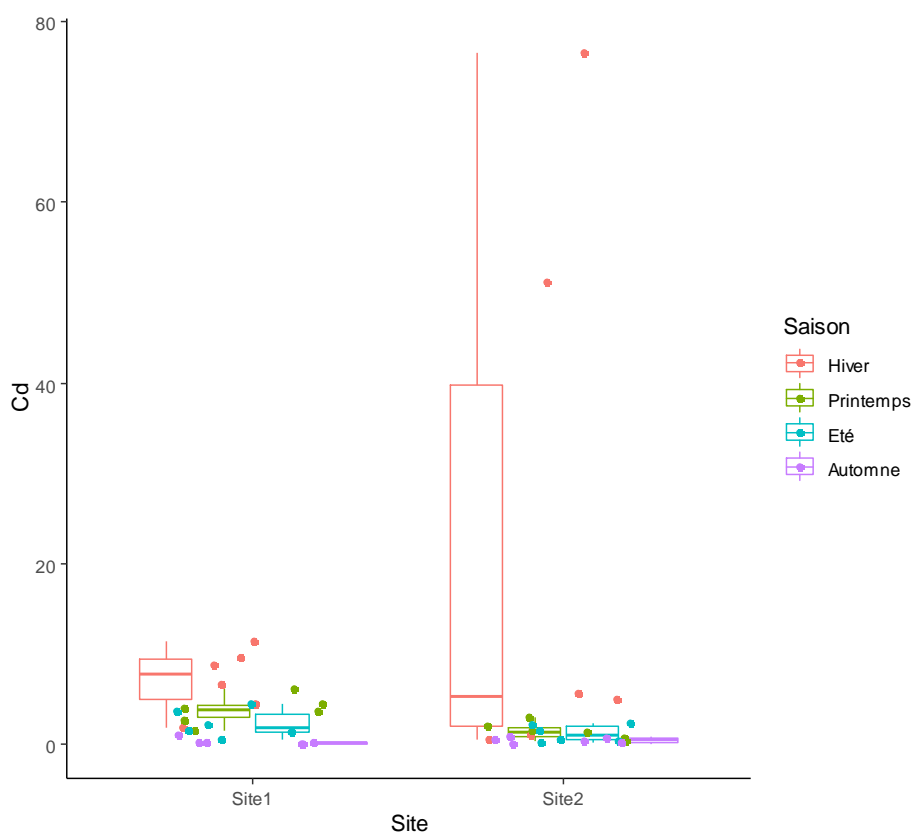


Figure 31. Variations spatio-temporelles des teneurs en cadmium (Cd) dans les tissus de *Chondrilla nucula* du golfe d'Annaba.

Les résultats de l'AV1 montrent que les teneurs en cadmium dans les tissus de *C. nucula* diffèrent de manière hautement significative entre les saisons (Tab. 14).

Tableau 14. Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des ETM (Cd) analysés dans les tissus de *Chondrilla nucula* du golfe d'Annaba.

Elements	Facteurs					
	Station (ddl = 3)			Saison (ddl = 1)		
	Fobs	P	Signification	Fobs	P	Signification
Cd	0,742	0,394	ns	4,063	0,0124	**

4. DISCUSSION

En milieu aquatique, les facteurs abiotiques (température, salinité, oxygène dissous, pH, etc.) jouent un rôle essentiel puisqu'ils influent à la fois sur la forme physico-chimique des métaux (solubilité, état de valence, adsorption désorption, etc.) donc sur leur biodisponibilité, mais également sur les activités métaboliques des organismes vivants (osmorégulation, respiration, reproduction, activité trophique, etc.) dont dépendent en partie les cinétiques d'accumulation et d'excrétion des métaux (Karayücel & Karayücel, 2000 ; Ansari *et al.*, 2004).

Dans les deux zones d'étude, nous avons constaté que l'ensemble des valeurs moyennes des paramètres environnementaux sont similaires avec quelques fluctuations sensibles au cours de la période d'échantillonnage. En effet, le golfe d'Annaba est caractérisé par un climat tempéré intermédiaire où la température des eaux de surface est soumise à des variations saisonnières notables (Boutabia-Trea, 2016 ; Bouzenda *et al.*, 2017 ; Amri, 2018 ; Ayada *et al.*, 2018 ; Ouali *et al.*, 2018), comme nous l'avons aussi constaté durant la période d'échantillonnage où la température moyenne des eaux du golfe montre une variation saisonnière entre l'hiver (14,20 C°) et l'été (27,40 C°). Nos résultats, comme ceux enregistrés par Bensafia (2018) dans la même zone d'étude, mettent aussi en évidence l'existence de deux saisons bien distinctes : l'une chaude (printemps – été) avec une moyenne de 15,01 C° et l'autre froide (automne – hiver) avec une moyenne de 24,73 C°. Dans la région Ouest d'Algérie, les eaux sont encore plus froides en hiver (12 °C) et plus chaudes en été (30,67°C) (Rouane-Hacene, 2013 ; Remili & Kerfouf, 2013). La température des eaux de surface est considérée comme un facteur limitant d'importance capitale qui influence directement ou indirectement sur l'ensemble des activités des organismes marins (Warren & Davis, 1967) ainsi que sur leur répartition biogéographique (Rodier, 1984 ; Cebrian *et al.*, 2007).

Comme la température, la salinité est aussi considérée comme un facteur environnemental primordial qui varie considérablement dans les zones intertidales, notamment dans les hydrosystèmes peu profonds comme les estuaires et les lacs côtiers. Sur le plan biologique, la salinité conditionne la distribution verticale de nombreux organismes marins (Miller *et al.*, 2010) comme elle détermine en grande partie les processus biologiques, mais également les processus chimiques de l'eau comme la biodisponibilité des métaux (Mouneyrac *et al.*, 2009). Dans cette optique, nous avons enregistré les variations spatio-temporelles de la salinité dans les deux

sites. Nos résultats montrent que cette dernière varie fortement en fonction du changement climatique de la région. Le pic halin (37,62 psu) a été enregistré en pleine saison sèche et chaude. De nombreux travaux ont mis en évidence l'effet combiné entre la température élevée qui cause l'évaporation et le manque de précipitation (Ayada *et al.*, 2018; Ouali *et al.*, 2018; Bensafia, 2018). Une très forte élévation de la température à la même saison a été rapportée par Bouzenda *et al.*, 2017 (39,70 et 39,90 psu). Quant aux valeurs minimales enregistrées en hiver dans le golfe d'Annaba, elles semblent être due aux phénomènes de dilution suite à l'intrusion des eaux douces d'origines diverses (pluies, fleuves, ruissellement) (Frehi *et al.*, 2007; Sifi, 2009; Hamdani, 2012).

L'acidification des océans est considérée comme une menace mondiale pour les écosystèmes marins (Doney *et al.*, 2009a; Fabry *et al.*, 2009; Kleypas & Yates, 2009b). Elle est causée par l'augmentation des concentrations atmosphériques de dioxyde de carbone (CO₂), qui entraînent des changements dans la chimie des carbonates de l'eau de mer et réduisent le pH (Gattuso & Buddemeier, 2000). Ce processus d'acidification des océans qui constitue pour la communauté scientifique un sujet de préoccupation majeure (Solomon *et al.*, 2007) à tendance de s'accélérer avec l'augmentation continue des émissions de CO₂ (Caldeira & Wickett, 2003; Meehl *et al.*, 2007). De nombreux organismes marins, du phytoplancton aux poissons, sont sensibles aux changements de la chimie des carbonates, et leurs réponses aux changements prévus pourraient entraîner de sérieux changements écologiques au sein des écosystèmes marins (Doney *et al.*, 2009b). Les organismes marins varient largement dans leurs réponses à l'acidification des océans, en partie en raison de la grande variété de processus affectés (exp : taux de dissolution et de calcification, taux de croissance, développement et survie), ce qui rend difficile de prédire la réaction des écosystèmes marins face à l'acidification. D'autre part les réactions enzymatiques sont très sensibles aux variations de ce facteur (Hinga, 2002).

Dans le golfe d'Annaba, les eaux sont alcalines avec des fluctuations spatio-temporelles observées comme dans la plupart des écosystèmes marins côtiers de Méditerranée (Barnabé, 1991). Cette alcalinité des eaux est favorisée par les processus naturels comme la consommation du CO₂ lors des efflorescences phytoplanctoniques ou sa production lors de la minéralisation de la matière organique (Aminot & Keroual, 2004). La contamination des eaux côtières par les rejets d'origine continentaux peut également être à l'origine des variations du pH come l'ont constaté

de nombreux auteurs dans notre zone d'étude (Khati, 2009; Kerdoussi, 2010; Meghlaoui, 2015; Boucetta, 2016; Boutabia-Trea, 2016; Ouali *et al.*, 2018 ; Bensafia, 2018) et le long des côtes algériennes (Remili & Kerfouf, 2013; Bouhayene, 2015; Rouane-Hacene, 2015). Cette forte alcalinité des eaux côtières favorise la disponibilité des métaux (Onivogui *et al.*, 2013).

Le cycle de Krebs et la chaîne de transport d'électrons sont les principales voies de production d'énergie de la plupart des organismes, y compris les poissons (Driedzic & Hochachka, 1978; Webster & Lim, 2002). Pour les organismes terrestres, la concentration relativement élevée d'oxygène signifie que la limitation d'oxygène n'est probable que pendant les périodes de demande intense ; en général, l'activité est plus susceptible d'être limitée par la nourriture que par l'apport d'oxygène. Cependant, l'oxygène est beaucoup plus susceptible d'être limitant pour les organismes aquatiques que pour les organismes terrestres. Lorsque l'apport en oxygène est insuffisant pour répondre aux besoins énergétiques minimaux des fonctions essentielles, une suffocation se produit. Cela peut se produire dans la nature lorsque les poissons qui vivent normalement dans l'eau sont confrontés à une eau pauvre en oxygène. Quelques espèces peuvent également répondre à des besoins énergétiques minimaux grâce à des voies anaérobies (Hochachka, 1982). Contrairement à la survie, une large gamme de niveaux d'oxygène dissous affecte le taux maximal d'absorption d'oxygène (Fry, 1971). Par conséquent, la disponibilité de l'oxygène dissous peut affecter l'écologie des poissons plus par la disponibilité de l'énergie pour la locomotion, la croissance et la reproduction que par ses effets directs sur la survie. Dans les milieux marins, l'OD est un des deux facteurs (avec le pH) limitant la vitesse de libération et la récupération des ETM du/dans les sédiments (Atkinson *et al.*, 2007).

Dans notre étude, les teneurs les plus élevées de l'OD ont été notées en saison humide et froide marquée par l'arrivage de nouvelles masses d'eau provenant du fond et de la haute mer sous l'effet des courants et tempêtes. Ce brassage vertical et horizontal de la colonne d'eau servirait à l'enrichissement des milieux côtiers. La prolifération des microalgues qui a lieu en hiver et surtout au printemps (Estrada, 1996; Ounissi & Frehi, 1999) peut également être un facteur principal de cette augmentation de l'oxygène dissout. Les faibles teneurs de l'OD ont été enregistrées dès le début de la saison chaude jusqu'à sa fin. Cette situation s'expliquerait par l'augmentation de la température et de la salinité de l'eau, ce qui réduirait la solubilité de l'oxygène (Tlili, 2012). Les faibles taux peuvent même nous renseigner sur une éventuelle pollution

organique (Ben ali, 2007) associé à une prolifération bactérienne et donc une consommation plus accrue de l'oxygène, comme l'ont rapporté de nombreux auteurs dans le golfe d'Annaba (Belabed *et al.*, 2013b; Ouali *et al.*, 2018). Le tableau 15 résume la comparaison des paramètres physico-chimiques précités par rapport à la littérature locale.

Tableau 15. Comparaison des paramètres physico-chimiques dans le golfe d'Annaba.

Température (°C)	Salinité (psu)	pH	O ₂ (mg.L ⁻¹ / %)	Références
14,05 – 26,31	35,95 – 37,61	8,04 – 8,75	-	Bensafia & Khati (2018)
13,9 - 29,43	24 – 36,27	8,03 – 9,36	-	Amir <i>et al.</i> (2018)
14,5 – 30	35 – 37,5	-	-	Ayada <i>et al.</i> (2018)
12,45 – 26,65	34,94 – 37,26	6,96 – 8,36	25.4 - 96.6	Ouali <i>et al.</i> (2018)
12,1 - 28,8	26,6 - 39,9	-	-	Bouzenda <i>et al.</i> (2017)
12 - 29	34 – 38	7,5 - 8,5	-	Boutiba-Trea (2016)
14 - 28	37 - 39	7,6 - 8,8	-	Kadri <i>et al.</i> (2015)
10,09 – 29	36 – 37	7,67 – 7,8	-	Hidouci (2015)
11,05 – 25,35	35,39 – 38,57	6,93 – 8,80	26,00 - 102	Belabed <i>et al.</i> (2013b)
14,25 - 27,20	35,73 - 37,62	7,25 - 8,56	5,66 - 7,12	Présente étude

Les éponges marines sont connues pour leur efficacité à filtrer jusqu'à deux fois leur volume en 3,7 à 20 s pour satisfaire leurs besoins physiologiques et biologiques (Larsen & Riisgård, 1994 *in* Perez, 2004). Par conséquent, ils peuvent absorber et accumuler différents contaminants dans leurs tissus tels que les métaux lourds (Perez *et al.*, 2004). La capacité des éponges à bioaccumuler ces contaminants dans leurs tissus diffère d'une espèce à l'autre en fonction de trois facteurs principaux ; (i) l'élément métallique (certains métaux sont intolérables pour certaines espèces), (ii) sa biodisponibilité dans l'eau, et (iii) le volume relatif du système aquifère de l'éponge qui affecte principalement les taux de filtration et d'élimination (De Mestre *et al.*, 2012).

En comparant nos résultats à ceux de nos prédécesseurs (Belabed *et al.*, 2017 ; Bensafia & Khati, 2018), les variations saisonnières des métaux enregistrées durant la période déchantillonnage concordent avec celles de ces auteurs. En effet, les concentrations les plus élevées des métaux dans les tissus de l'éponge sont enregistrées en hiver pour le Cu et Cd et au début du printemps pour le Zn et Pb, tandis que les plus faibles sont trouvées en été pour le Cu et Pb et au début d'automne

pour le Zn et Cd. Globalement, les concentrations d'ETM dans les tissus de *C. nucula* ont montré des fluctuations saisonnières identiques dans les deux sites d'étude (Lever de l'aurore et La Caravelle) avec une augmentation Zn > Pb > Cu > Cd. Ces concentrations nous paraissent presque similaires entre les deux stations probablement (i) en raison de leur proximité dans le golfe et leurs expositions aux mêmes activités anthropiques, ou encore (ii) à la stratégie de bioaccumulation qui diffère d'une espèce à une autre. Une variation saisonnière hautement significative pour l'ensemble des éléments a été enregistrée à l'exception du Pb qui n'a montré aucune variation spatiale ni temporelle.

La bioaccumulation du Cu, Zn et Cd dans les tissus de *C. nucula* échantillonnée en période hivernale pourrait résulter des apports des eaux usées urbaines et industrielles de la ville d'Annaba. En effet, la ville d'Annaba est le siège d'une forte activité industrielle qui contribue aux rejets de multiples polluants tels que les métaux lourds et les pesticides (Abdenour *et al.*, 2000, 2004; Beldi *et al.*, 2006; Ounissi, 2007; Boyd, 2010), qui ont pour point de convergence le milieu marin (Bouzeraa *et al.*, 2004). De nombreux travaux ont confirmé l'existence d'un gradient décroissant d'Est en Ouest déterminé par l'importance des apports en contaminants métalliques que les divers rejets charrient directement vers le golfe. Belabed *et al.* (2017) ont suggéré que les rejets industriels dans les deux fleuves Seybouse et Maboudja contribuaient considérablement à la contamination des eaux de surface et des sédiments du golfe d'Annaba par le fer, le zinc, le cuivre, le nickel, le chrome, le plomb et le cadmium, au cours des dernières années. Cette contamination a été surtout marquée dans les sédiments des plages Sidi Salem, Joinville, le port et les localités limitrophes (Bensafia, 2018; Laouati, 2021). Elle pourrait même avoir des impacts négatifs sur la santé publique suite à la consommation des produits halieutiques issus de ces zones (Ouali *et al.*, 2018). Très récemment, Oudainia *et al.* (2023) ont montré que les concentrations des métaux lourds Cd, Pd, Cu, Zn et Fe dans les tissus cibles (muscle et oeufs) de la crevette *Edwardsia plesionika edwardsii* sont inférieures aux limites admissibles fixées par la norme internationale, à l'exception du Pb, principalement en été, en automne et au printemps, qui présente des niveaux alarmants.

Dans notre zone d'étude, les deux stations échantillonnées sont situées non seulement à proximité du port mais aussi exposées à la navigation intense des bateaux de pêche et de plaisance ainsi qu'au trafic routier dont les gaz d'échappement

constituent une source non négligeable de pollution métallique surtout par le plomb (Bensafia & Khati, 2018).

L'enrichissement en métaux traces au cours de la saison humide et pluvieuse a pour principale origine l'augmentation des charges polluantes métalliques dans les eaux de ruissellement des premières crues. Le facteur saisonnier est important et de nombreuses études ont montré que les concentrations métalliques mesurées chez les espèces marines varient saisonnièrement (Kaimoussi et al., 2000; Guettaf, 2007). D'après Belabed *et al.* (2008, 2013b), le Cu est fortement présent dans les sédiments du golfe d'Annaba. Ces auteurs ont suggéré que l'enrichissement du biotope par cet élément est probablement lié à la géologie tellurique et pédologique de cette zone où les ruissellements et l'érosion sont à l'origine du transfert de pesticides à base de Cu vers les eaux côtières. Tandis que, Bouzahouan *et al.* (2018) ont suivi la variation annuelle des ETM dans les eaux de surface du golfe et ont suggéré que les poussières du sol, la décomposition des plantes, les incendies de forêt et les rejets du complexe de production de fertilisants d'Algérie (FERTIAL) constituent les principales sources de cet enrichissement en Cu. Nos résultats semblent concorder avec ces travaux de recherche qui ont enregistré des concentrations maximales de Cu pendant la période froide lorsque la température, le pH et la salinité baissent.

Les niveaux de concentration de Zinc les plus élevés ont été observés au printemps, ce qui correspond généralement à une période de libération des ETM dans l'eau après le processus de dégradation des matières organiques corrélées avec l'augmentation de la température (Belabed *et al.*, 2017). En outre, cette stratégie de bioaccumulation du Zn dans les tissus de *Condrosia* peut être liée au stockage des réserves énergétiques qui interviennent généralement quelques mois avant la période de reproduction, comme l'ont constaté Bouzahouan *et al.* (2018). Chez une autre éponge *Sarcotragus spinosulus* partageant le même biotope que *C. nucula* dans le golfe d'Annaba (Derbal, obs. pers.), Bensafia & Khati (2018) ont observé juste au début de la gamétogenèse une forte accumulation de Zinc dans les tissus. En effet, la reproduction sexuée de *C. nucula* est également connue pour se dérouler en été (Sidri *et al.*, 2005), et donc tout processus de stockage de réserve commencerait au printemps y compris l'accumulation du Zn.

Les valeurs de concentration moyenne de Cd dans les tissus des éponges ont montré une grande différence entre l'hiver et les autres saisons, ce qui pourrait être lié à sa biodisponibilité dans la colonne d'eau. En fait, cet élément est presque présent

dans tous les types de produits chimiques utilisés pour les activités industrielles, urbaines et même agricoles. Par conséquent, les sédiments des eaux côtières des zones urbaines sont toujours exposés à la pollution par cet élément non essentiel. Belabed *et al.*, (2013b) ont déjà signalé la présence de quantités considérable de Cd dans les sédiments du golfe. L'emprisonnement de cet élément dans les sédiments tient fin à la saison hivernale. Les fortes tempêtes agissent comme une force majeure de remobilisation et de remise en suspension des sédiments, augmentant ainsi considérablement la concentration de certains ETM dans les eaux de surface y compris le Cd (Boutiba-Trea *et al.*, 2016). Par ailleurs, la quantité de ces polluants augmente encore plus dans le Golfe pendant la saison des pluies lorsque les eaux de ruissellement des premières crues arrivent transportant les polluants de la circulation (Bouzahouan *et al.*, 2018).

En ce qui concerne le Pb, le démosponge *C. nucula* semble capable de réguler cet élément et ne pas l'accumuler dans ses tissus selon les résultats obtenus qui ne montrent aucune différence annuelle significative de ce métal. Les mêmes résultats ont été observés par Ferrante *et al.* (2018) qui ont testé la capacité de cette espèce à accumuler trois ETMs (Cu, Cd et Pb) à travers une expérience in vivo, dans laquelle l'éponge *C. nucula* a été exposée à des concentrations progressivement plus élevées des métaux susmentionnés. Dans le troisième niveau de cette expérimentation, les éponges étaient encore capables d'absorber et d'accumuler plus de Cu et de Cd (le facteur de bioaccumulation étant constant) de l'eau du milieu artificiel, mais pas plus de Pb. Par conséquent, *C. nucula* est probablement moins tolérante au Pb qu'à d'autres métaux. Dans le cadre de la même enquête (capacité des spongiaires à la bioaccumulation des ETMs), les résultats de Cebrian *et al.* (2007) sur certaines éponges prélevées au nord-ouest de la Méditerranée (*Chondrosia reniformis*, *Phorbastencior tenacior* et *Dysidea avara*) étaient comparables aux nôtres. Ces trois espèces accumulaient beaucoup mieux le Cu et étaient moins tolérantes au Pb. Par contre, l'étude de la bioaccumulation effectuée sur le démosponge *S. spinosulus* du golfe d'Annaba a montré que cette espèce présentait une forte capacité d'accumulation de ce métal (Bensafia & Khati, 2018).

Le tableau 16 compare l'accumulation de quelques ETMs par les éponges dans plusieurs localités de la Méditerranée.

Tableau 16 : Comparaison de l'accumulation de métaux lourds par quelques spongiaires dans différentes localités de la Méditerranée.

Espèces	Eléments métalliques	Références
<i>Sarcotragus spinosulus</i>	Cu, Cd, Pb (+) ; Zn (Régulé)	Bensafia & Khati (2018)
<i>Disidea avara</i>	Cu (+) ; Pb (régulé)	Cebrian <i>et al.</i> (2007)
<i>Phorbas tenacior</i>	Cu (+) ; Pb (régulé)	Cebrian <i>et al.</i> (2007)
<i>Crambe crambe</i>	Cu (+) ; Pb (régulé)	Cebrian <i>et al.</i> (2007)
<i>Chondrosia reniformis</i>	ETM (+) ; Cu (régulé) ; Pb (régulé)	Perez <i>et al.</i> (2004), Cebrian <i>et al.</i> (2007)
<i>Spongia officinalis</i>	10 ETM (+) ; Hg et Cd (Régulé)	Perez <i>et al.</i> (2004, 2005)
<i>Spongia aricina</i>	ETM (+)	
<i>Agelas oroides</i>	ETM (+)	Perez <i>et al.</i> (2004)
<i>Cliona viridis</i>	Cd (+)	
<i>Hippospongia communis</i>	ETM (+)	Nakhle (2003)
<i>Suberites domuncula</i>	Cd (+) et autres	Mueller <i>et al.</i> (1998)
<i>Halicondrida panicea</i>	Cd et Cu	Olesen et Weeks (1994), Hansen <i>et al.</i> (1995)
<i>Prostylyssa foetida</i>	17 ETM différents (Var.)	Patel <i>et al.</i> (1985)
<i>Spirastrella cupidifera</i>	17 ETM différents (Var.)	Patel <i>et al.</i> (1985)
<i>Scyphaciliata</i>	ETM (+) ; Cd (+)	Collins <i>et al.</i> (1994)

CHAPÎTRE II
BIOMARQUEURS DU STRESS
OXYDANT

CHAPITRE II. BIOMARQUEURS DU STRESS OXYDANT

1. INTRODUCTION

La qualité des écosystèmes marins côtiers est perturbée en raison des activités anthropiques. En effet, le littoral algérien est particulièrement vulnérable aux contaminations chimiques et organiques, résultant de nombreuses eaux usées urbaines et industrielles qui affectent la qualité des eaux et altèrent la zone marine côtière.

L'impact de la pollution chimique conséquence des différentes activités humaines est désormais plus intense sur les eaux côtières (Giarratano *et al.*, 2010). La présence de substances nocives dans un environnement peut avoir des effets interactifs sur le biote (Fernandez *et al.*, 2010, Khati *et al.*, 2018).

Les effets des polluants sur les écosystèmes peuvent être observés précocement à des niveaux inférieurs (cellules et tissus) de l'organisation biologique. Les biomarqueurs sont des réponses biologiques permettant d'évaluer l'importance biologique et écologique des contaminants présents dans l'environnement (Shugart *et al.*, 1992). En effet, les réponses moléculaires et biochimiques sont activées rapidement (Moreira & Guilhermino, 2005), rendant possible un diagnostic plus précoce de la pollution environnementale (Huschek & Hansen, 2005) avant la perturbation de l'ensemble de la communauté.

Par conséquent, les biomarqueurs peuvent être définis comme tout changement mesurable des paramètres biochimiques, biologiques ou même comportementaux des organismes (Kaiser, 2001) dans un écosystème aussi bien à l'échelle cellulaire qu'à l'échelle de la population. En écotoxicologie, cette surveillance de certains de ces paramètres et, en particulier, les réponses enzymatiques des organismes aux xénobiotiques peuvent fournir des signaux précoces de toute perturbation environnementale (Moore *et al.*, 2004; Viarengo *et al.*, 2007) peuvent s'effectuer par une approche des biomarqueurs.

Dans le domaine de la recherche toxicologique, un certain nombre de biomarqueurs ont été introduits dans des programmes de biosurveillance environnementale pour l'évaluation du stress évalué par la pollution, en particulier chez les organismes aquatiques (Müller *et al.*, 2000). Ces biomarqueurs comprennent deux classes principales (i) des biomarqueurs d'exposition, qui sont (uniquement) indicatifs d'une exposition à un stress environnemental, et (ii) des biomarqueurs d'effet, qui sont indicatifs à la fois de l'exposition et de l'apparition d'effets nocifs

(Sanders, 1990; Fernando *et al.*, 2001, 2007). L'objectif des programmes basés sur les biomarqueurs est la mise en place de systèmes d'alerte précoce permettant de détecter les stress environnementaux avant que des dommages irréversibles ne se produisent. Dans le cadre de nos investigations, trois biomarqueurs ont été étudiés : (i) le glutathion (GSH), tripeptide, capable d'inactiver de manière directe les espèces radicalaires en les neutralisant, la (ii) glutathion S-transférase (GST) est une enzyme de phase II impliquée dans la détoxification des xénobiotiques organiques (Habig *et al.*, 1974; Lee *et al.*, 1988), et, (iii) le Malondialdéhyde (MDA) qui est un agent alkylant puissant dont le dosage présente un intérêt chez les animaux soumis à des contaminations multiples (Pellerin-Massicotte, 1994; Ansarin *et al.*, 2017).

Vue la diversité des espèces et leurs aires de distribution très variées, le compartiment invertébrés est important pour étudier les effets des polluants, car il fait partie intégrante des biomes et biotopes aquatiques (Rickwood & Galloway, 2004). Pour se protéger du stress oxydatif, ces organismes développent un système de défense avec des enzymes antioxydantes (Legeay *et al.*, 2005; Douhri & Sayah 2009). La sélection d'une espèce bioindicatrice appropriée est essentielle pour le résultat d'un suivi environnemental basé sur des biomarqueurs. Des études sur les éponges marines ont montré que ces animaux réagissent au stress d'une manière très sensible et spécifique. Les éponges sont des organismes sessiles, capables de filtrer chaque jour un volume d'eau qui correspond à plusieurs fois leur propre volume corporel (Vogel, 1977; Perez, 2004). Par ce mécanisme, ils accumulent les polluants dissous ou en suspension présents dans l'eau filtrée (Mueller *et al.*, 1998; Cebrian *et al.*, 2007). Par conséquent, les éponges sont exposées à des substances potentiellement nocives plus que toute autre espèce animale métazoaire aquatique. Les éponges ne pourraient pas survivre sans l'existence de mécanismes de défense efficaces leur permettant de faire face à un environnement défavorable. En effet, une variété de mécanismes de protection contre les facteurs de stress environnementaux a été identifiée chez les éponges (Müeller *et al.*, 2000). Sauf que les spongiaires ont été utilisés que très récemment comme bioindicateurs dans l'évaluation des risques environnementaux. En effet, de nombreux travaux ont été menés sur les réponses de ces organismes à l'accumulation métallique dans leur milieu, mais, très peu ont traité les variations des biomarqueurs comme outil biologique dans l'évaluation de la qualité du milieu (Bensafia, 2018). Dans ce contexte de biosurveillance de la qualité des eaux du golfe d'Annaba, nous nous sommes intéressés au système antioxydant de détoxification du

glutathion et les enzymes associées à son métabolisme (activités glutathion S-transférases) dans les tissus de *C. nucula* échantillonnés dans deux sites dans une perspective de validation du protocole expérimental, comme c'est le cas chez nombreux organismes.

2. MATERIEL & METHODES

2.1. Choix et localisation des stations d'échantillonnage

La description du site et la localisation des stations d'échantillonnages ont été déjà décrites précédemment (chapitre. 2 : 2.1). L'échantillonnage s'est effectué durant la même période que celle des mesures des paramètres physico-chimiques à raison d'un prélèvement par saison.

2.2. Matériel biologique

Le matériel biologique a déjà été décrit précédemment (chapitre 2 : 2.2).

2.3. Collecte et traitement des échantillons

La récolte et le traitement des échantillons ont déjà été décrits précédemment (chapitre 2 : 2.4 ; 2.4.1). Toutes les manipulations de dosage des différents biomarqueurs lors du broyage des tissus de l'éponge ont été réalisées dans de la glace.

2.4. Préparation de l'homogénat

Un gramme des tissus d'éponge *C. nucula* a été utilisé. Après broyage à l'aide d'un broyeur à ultrasons puis homogénéisation des tissus dans le tampon phosphate (pH = 7,4; 0,1 M), la suspension cellulaire est centrifugée à (14000 tours/min à 4°C pendant 30 min). Le surnageant obtenu est ensuite aliquoté dans des tubes eppendorfs et conservé immédiatement à -20 °C pour un dosage ultérieur des paramètres du stress oxydatif.

La composition et la préparation des produits nécessaires aux dosages sont annexées à la fin du document.

2.5. Dosage des protéines

Les mesures des protéines totales ont été effectuées par la méthode classique de Bradford (1976), en ajoutant à 100 µl de fraction aliquote un volume de 4 ml de réactif du bleu brillant de commassie (BBC), avant le dosage du GSH et de l'activité GST et du contenu en MDA car les résultats obtenus de ce dosage seront exprimés de manière spécifique par milligramme de protéines.

La méthode de dosage des protéines combine plusieurs avantages :

- Elle est rapide car sans incubation ;
- Sa gamme de sensibilité est inférieure d'un ordre de grandeur à la concentration des protéines que nous testons, et donc les mesures sont précises car il est inutile de diluer fortement les échantillons avant de les mesurer.

Le principe de cette méthode colorimétrique repose sur l'utilisation d'un colorant, le bleu de Coomassie qui, initialement rouge, vire au bleu quand il se lie aux protéines. La couleur bleue résulte de l'interaction des groupements anioniques du colorant avec les groupements aminés des protéines. Le complexe formé est stable pendant environ une heure.

Les protéines ont été quantifiées en utilisant le Bleu Brillant de Coomassie (G 250, Merck) comme réactif (50 mg de bleu brillant de coomassie, 25 ml d'éthanol, 50 ml d'acide orthophosphorique 85% et complété à 500 ml avec de l'eau distillée) et l'albumine sérum de boeuf (BSA, Sigma) comme protéine standard. Les absorbances ont été lues au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. Les concentrations ont été calculées à l'aide d'une gamme d'étalonnage qui a été effectuée à partir d'une solution d'albumine à 1 mg/ml.

2.6. Mesure des biomarqueurs

2.6.1. Dosage du glutathion (GSH)

Les concentrations du glutathion réduit ont été réalisées selon la méthode de Weckbecker & Cory (1988). Le principe de cette dernière repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique qui résulte de la réduction de l'acide 5,5 dithiobis- 2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Afin de garder uniquement les groupements thiol (-SH) spécifique du glutathion, on doit réaliser une déprotéinisation de l'homogénat par l'acide sulfosalicylique (ASS) dilué à 0,25% (0,252 g d'acide sulfosalicylique + 100 ml d'eau distillé).

La déprotéinisation de l'homogénat s'est effectuée comme suit :

- 0,8 ml de l'homogénat auquel a été ajouté 0,2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0,25%.
- Le mélange a été vortexé et incubé pendant 15 min dans un bain de glace puis centrifugé à 1000 tours pendant 5 min.

→ 0,5 ml de surnageant a été récupéré et auquel a été additionné 1 ml de tampon Tris EDTA à 0,02 M ; pH = 9,6 et 0,025 ml de DTNB à 0,01 M dissout dans une solution de méthanol absolu.

→ Laisser pendant 5 min à température ambiante puis lire directement les absorbances affichées par le spectrophotomètre, contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec 0,5 ml d'eau distillée remplaçant le surnageant à une longueur d'onde $\lambda = 412$ nm.

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GSH } (\mu\text{mol GSH / mg de protéines}) = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13,1 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg de protéines}}$$

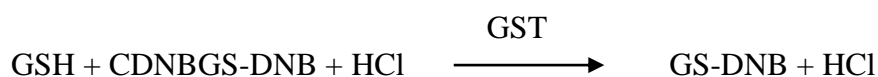
- DO : Densité optique.
- 1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,8 ml homogénat + 0,2 ml de l'acide salicylique).
- 1,525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0,5 ml surnageant+1ml Tris-EDTA + 0,025 ml DTNB).
- 13,1 : Coefficient d'absorbance du groupement –SH à 412 nm.
- 0,8 et 0,5 : Volumes respectifs de l'homogénat et du surnageant.

A noter que la préparation des solutions tampons est comme suit :

- Tampon Tris-EDTA : 19,382 g de Tris ($\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$) + 2,976 g d'EDTA + 400 ml d'eau distillée.
- Solution DTNB 0,01 M : 0,0594 g de DTNB + 15 ml de méthanol absolu.

2.6.2. Dosage du glutathion S-transférase (GST)

L'activité de la glutathion S-transférase (GST) a été mesurée suivant la formation du conjugué entre le glutathion réduit (GSH) et un substrat modèle Habig *et al.* (1974), peu spécifique des différentes isozymes de GST, le 1-Chloro-2,4-Dinitrobenzène (CDNB). La nouvelle molécule de conjugaison est le 1-5 Glutathionyl-2,4-Dinitrobenzène (GS-DNB) permettant de mesurer l'activité de GST selon la réaction suivante :



Le dosage de l'activité spécifique de la GST consiste à ajouter 0,2 ml de surnageant à 1,2 ml du mélange CDNB-GSH (20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate 0,1 M ; pH = 6,5). La lecture des absorbances s'est effectuée chaque 15 s pendant une minute à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions et contenant 0,2 ml d'eau distillée remplaçant le surnageant.

L'activité de la GST, mesurée par rapport à 1 mg de protéines, a été déterminée par la formule suivante :

$$\text{GST } (\mu\text{mol GST / mg de protéines}) = \frac{\text{Do écht / 15 sec} - \text{Do blanc / 15 sec}}{9,6 \times 1 \text{ mg de protéines}}$$

- Do écht : Densité optique de l'échantillon / 15 s.
- Do blanc : Densité optique du blanc / 15 s.
- 9,6 : Coefficient d'extinction du mélange GSH-CDNB.

A noter que la préparation des solutions tampons s'effectue de la manière suivante :

- Tampon phosphate (0,1 M) pH = 6,5 : de la même façon que celui de pH 7,4 sauf que nous ajoutons de l'HCl jusqu'à l'obtention d'un pH de 6,5 à l'aide d'un pH mètre.
- Solution CDNB (0,02 M) : 202,55 mg CDNB + 50 ml d'éthanol absolu.
- Solution GSH (0,1 M) : 153,65 mg GSH + 50 ml d'eau distillée.

2.6.3. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

Le dosage du MDA est basé sur la condensation du malondialdéhyde (MDA) en milieu acide et à chaud avec l'acidethiobarbiturique (TBA) formant un produit à pigmentation rosâtre (Esterbauer *et al.*, 1992). Ce chromogène peut être ainsi mesuré à une longueur d'onde de 530 nm par spectrophotométrie d'absorption.

Le protocole utilisé pour le dosage de la concentration du MDA est le suivant :

- Prélever 0,5 ml de surnageant, ajouter 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) 5 % et 1ml d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 %.
- Mélanger et incuber au bain marié à une température de 90 °C pendant 15 min.
- Refroidir et prélever 0,5 ml de surnageant auquel nous additionnons 4 ml de *n*-butanol.
- Centrifuger pendant 10 min à 2500 tours / min.
- Récupérer le surnageant et lire l'absorbance à 532 n.

Le taux du MDA est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{MDA (mmol MDA / mg de protéines)} = \frac{\text{Do écht} \times 106}{\epsilon \times L \times \chi \times \text{Fd}}$$

- DO : Densité optique lue à 532 nm ;
- ϵ : Coefficient d'extinction molaire du MDA = 1,56 105 M⁻¹ cm⁻¹ ;
- L : Longueur du trajet optique = 0,779 cm ;
- χ : Concentration de l'extrait en protéines (mg / ml) ;
- Fd : Facteur de dilution = 0,2083.

2.7. Analyses statistiques

Tous les résultats ont été exprimés en moyenne \pm erreur standard. Les données ont été analysées à l'aide d'une analyse de variance bidirectionnelle (ANOVA) afin de comparer les moyennes de chaque biomarqueur dans les tissus des éponges. Les différences significatives ont été déterminées au niveau $p < 0.05$ en utilisant un test de type Tukey. La relation entre les éléments traces métalliques, les biomarqueurs de stress environnemental et les paramètres physico-chimiques de l'eau a été conforté par une analyse de coefficients de corrélation de Pearson. Le niveau de signification pour l'ensemble des tests a été fixé à $p < 0,05$. De plus, les résultats des variations spatio-temporelles ont été illustrés par un graphique d'analyse en composantes principales (ACP). Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide des deux logiciels Minitab 17.0 et R, version 3.6.2.

3. RESULTATS

Comme pour les métaux traces et les mesures des paramètres environnementaux, les résultats des biomarqueurs ont également montré des différences inter-saisonnières significatives ($p \leq 0,01$; $p \leq 0,001$) mais aucune différence entre les deux stations. Généralement, les biomarqueurs utilisés ont montré de faibles variations en hiver comparées aux autres saisons (Fig. 32). De plus, la figure 32 montre clairement les tendances des gammes de variations des paramètres limitées entre les valeurs minimales et maximales.

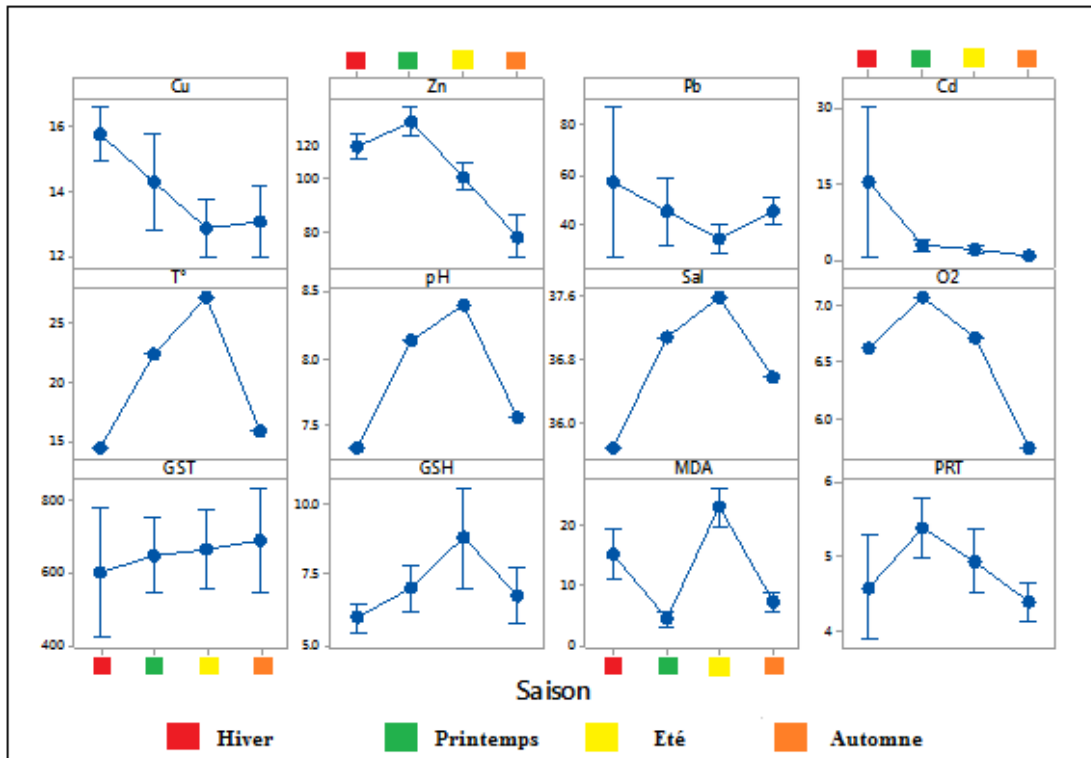


Figure 32. Variations saisonnières des concentrations des biomarqueurs par rapport aux variations des autres paramètres étudiés.

3.1. Concentrations du glutathion (GSH)

La figure 33 illustre les concentrations du glutathion réduit dans les tissus de *C. nucula* dans les deux sites d'étude. Dans la station 1, les valeurs varient entre $5,451 \pm 0,268 \mu\text{mol mg}^{-1}$ protéine en hiver (Léver de l'aurore) à $9,747 \pm 0,373 \mu\text{mol mg}^{-1}$ protéine en été.

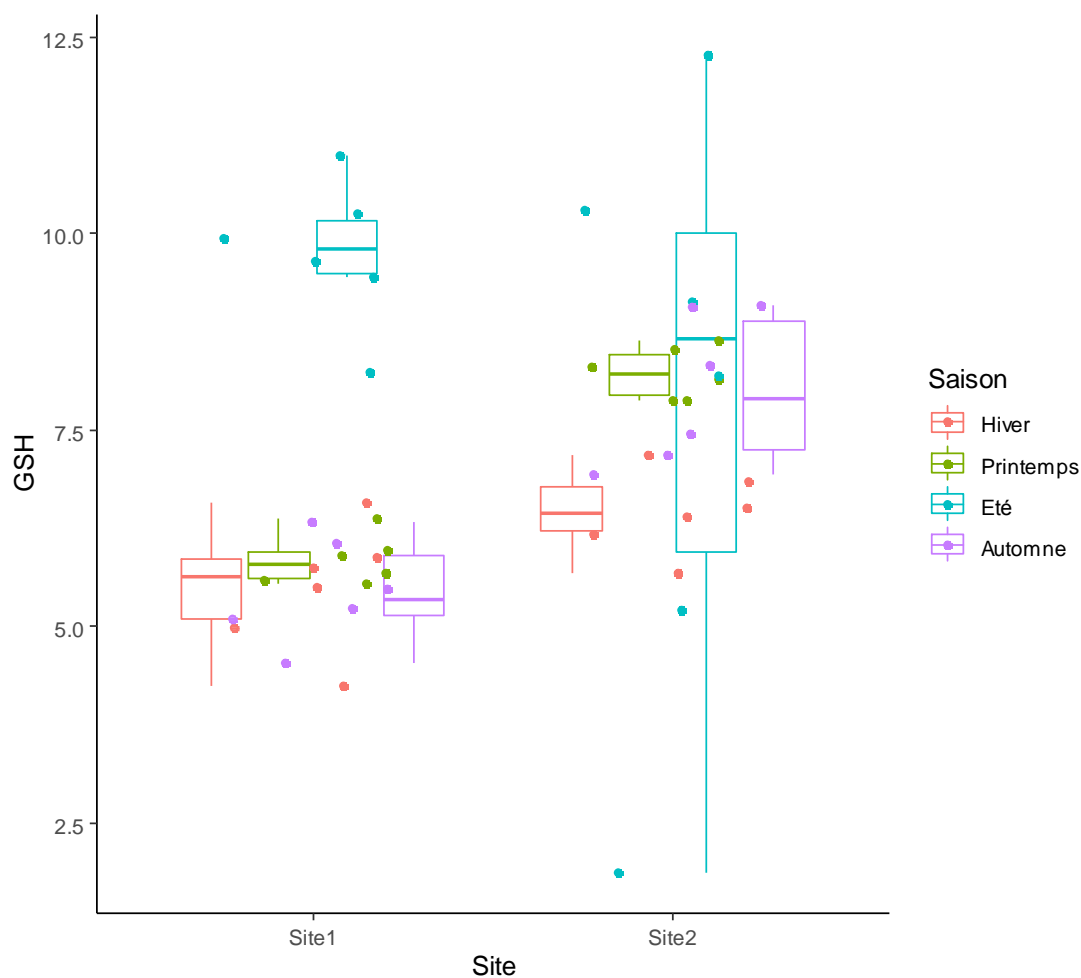


Figure 33. Concentrations saisonnières du glutathion (GSH) dans les tissus de *Chondrilla nucula* dans les deux sites d'étude du golfe d'Annaba.

La comparaison statistique (ANOVA) des valeurs du glutathion réduit dans les tissus de *C. nucula* a révélé la présence de différences hautement significatives entre les saisons et l'absence de différences significatives entre les stations (Tab.17).

Tableau 17. Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) du glutathion réduit dans les tissus de *Chondrilla nucula* échantillonnés dans le golfe d'Annaba.

Biomarqueurs	Facteurs					
	Station (ddl = 3)			Saison (ddl = 1)		
	Fobs	P	Signification	Fobs	P	Signification
GSH	3.136	0.0832	ns	5.465	0.00279	**

3.2. Activité enzymatique du glutathion S-transférase (GST)

Les résultats de l'activité du glutathion S-transférase dans les tissus de *C.nucula* sont présentés sur la figure 34. Les valeurs variaient de $568 \pm 134 \mu\text{mol mg}^{-1}/\text{min}$ en hiver à la station 1 (l'Ever de l'aurore) à $736 \pm 121 \mu\text{mol mg}^{-1}/\text{min}$ en été à la même station.

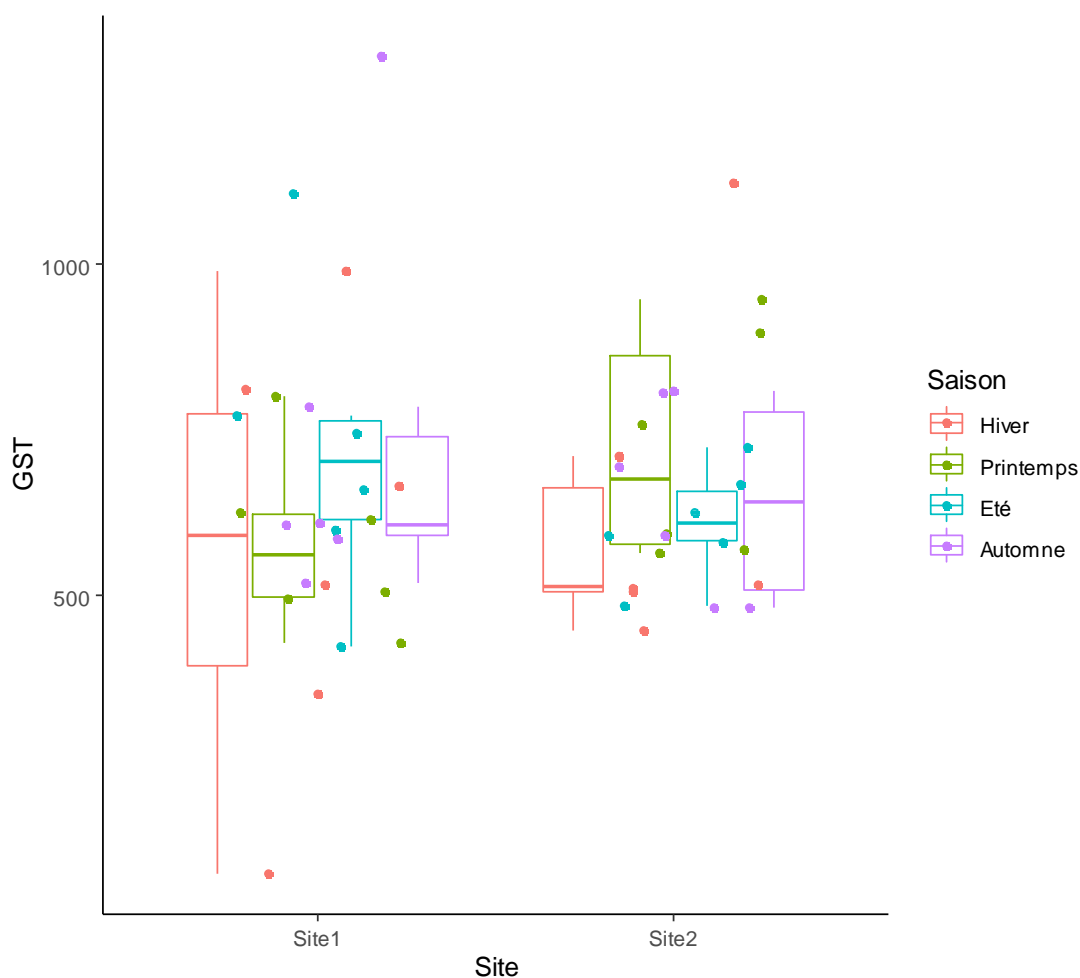


Figure 34. Concentrations saisonnières du glutathionne S- transférase (GST) dans les tissus de *Chondrilla nucula* dans les deux sites d'étude du golfe d'Annaba.

La comparaison statistique (ANOVA) de la variation saisonnière de l'activité spécifique du GST dans les tissus de *C. nucula* a révélé la présence de différences très hautement significatives entre les saisons et aucune différence significative entre les stations (Tab.18, résultats ANOVA).

Tableau 18. Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) du glutathionne S-transférase dans les tissus de *Chondrilla nucula* échantillonnés dans le golfe d'Annaba.

Biomarqueurs	Facteurs					
	Station (ddl = 3)			Saison (ddl = 1)		
	Fobs	P	Signification	Fobs	P	Signification
GST	0.002	0.963	ns	0.349	0.001	***

3.3. Concentration du malondialdéhyde (MDA)

Les variations de la concentration du malondialdéhyde dans les tissus de l'éponge *C.nucula* sont comprises entre $4,083 \pm 0,520$ en période printanière à la station 1 (l'Eever de l'aurore) et $23,77 \pm 2,54$ nmol/mg de protéines en période estivale à la station 2 (la caravelle) (Fig. 35).

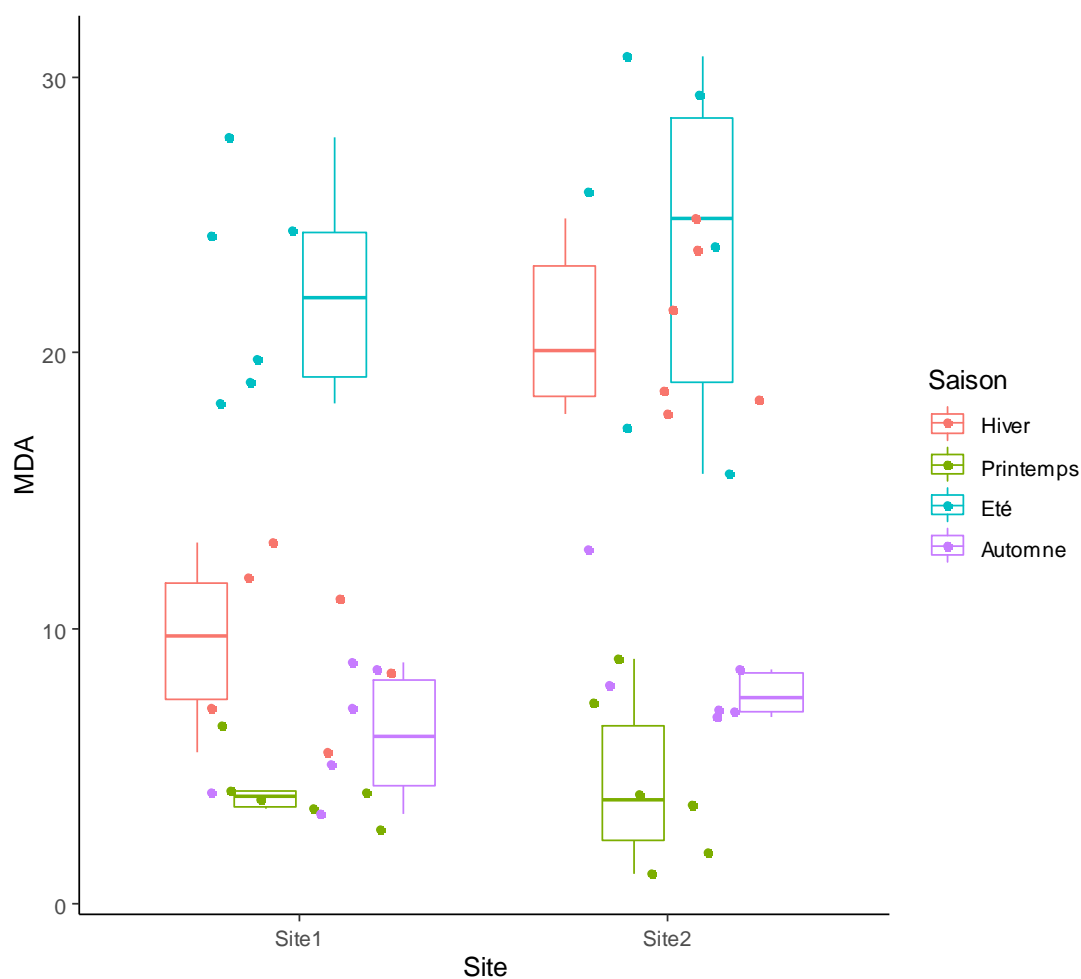


Figure 35. Concentrations saisonnières du malondialdéhyde (MDA) dans les tissus de *Chondrilla nucula* dans les deux sites d'étude du golfe d'Annaba.

La comparaison statistique (ANOVA) de la variation saisonnière de la concentration de MDA dans les tissus de *C. nucula* a révélé la présence de différences significatives entre les saisons mais aucune différence entre les deux stations (Tab.19, résultat ANOVA).

Tableau 19. Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) du malondialdéhyde dans les tissus de *Chondrilla nucula* échantillonnés dans le golfe d'Annaba.

Biomarqueurs	Facteurs					
	Station (ddl = 3)			Saison (ddl = 1)		
	Fobs	P	Signification	Fobs	P	Signification
MDA	2.555	0.117	ns	42.96	0.000	***

3.4. Analyses de corrélations

Afin de mieux caractériser la relation entre la réponse biologique (variation des biomarqueurs du stress) de l'éponge *C.nucula* et le chevauchement spatio-temporel de tous les paramètres étudiés (ETM accumulés et paramètres physicochimiques), nous avons effectué une analyse de coefficients de corrélation par deux méthodes différentes.

3.5. Analyse en composantes principales (ACP)

Les résultats de l'ACP sont illustrés par la figure 36 et le tableau 20. Les deux premiers axes factoriels présentent 71,9% des composantes totales de l'information. L'axe 1 qui explique 44,7% de la variation totale est positivement corrélé à la T° (r ¼ 0,97), le pH (r ¼ 0,98), la salinité (r ¼ 0,99) et l'oxygène dissous (r ¼ 0,53). Le Zn (r ¼ 0,22) et le MDA (r ¼ 0,22), qui participent principalement à la construction de cet axe (cos² ¼ 0,95, cos² ¼ 0,97, cos² ¼ 0,89, cos² ¼ 0,28; cos² ¼ 0,05 et cos² ¼ 0,48 respectivement) et négativement au Cu (r ¼ -0,40), Pb (r ¼ -0,37) et Cd (r ¼ -0,37) qui contribuent aussi considérablement à sa construction (cos² ¼ 0,16; cos² ¼ 0,14 et cos² ¼ 0,14 respectivement).

En revanche, l'axe 2 explique 21,2% de la variation totale. Il est constitué majoritairement par les corrélations positives de T ° (r ¼ 0,58), pH (r ¼ 0,03), O₂ (r ¼ 0,79), Cu (r ¼ 0,66), Zn (r ¼ 0,91), Pb (r ¼ 0,21), Cd (r ¼ 0,44) et MDA (r ¼ 0,04) et négativement à la salinité (r ¼ -0,20), la GST (r ¼ -0,014) et le GSH (r ¼ -0,50),

qui contribuent également à sa construction ($\cos^2 \frac{1}{4} 0,003$; $\cos^2 \frac{1}{4} 0,01$; $\cos^2 \frac{1}{4} 0,62$; $\cos^2 \frac{1}{4} 0,44$; $\cos^2 \frac{1}{4} 0,83$; $\cos^2 \frac{1}{4} 0,045$; $\cos^2 \frac{1}{4} 0,19$; $\cos^2 \frac{1}{4} 0,002$; $\cos^2 \frac{1}{4} 0,04$; $\cos^2 \frac{1}{4} 0,34$ et $\cos^2 \frac{1}{4} 0,28$ respectivement).

L'ACP (Fig. 37) illustre clairement l'absence d'effets des sites sur la contamination par les métaux traces et indiquent ainsi des conditions environnementales similaires dans les deux stations. Cependant, la même figure met nettement en évidence un effet des saisons sur les différentes variables.

L'axe 1 explique évidemment une différence entre le groupe constitué du printemps et de l'été et celui de l'hiver et de l'automne qui se caractérise par des taux élevés de Cu, Cd et Pb, et des valeurs plus faibles de T° , pH, Sal, O_2 , Zn, GSH, GST et MDA. L'axe 2 explique une différence entre le groupe hiver-printemps et le groupe été et automne, qui se caractérise par des niveaux élevés de Sal, GST et GSH.

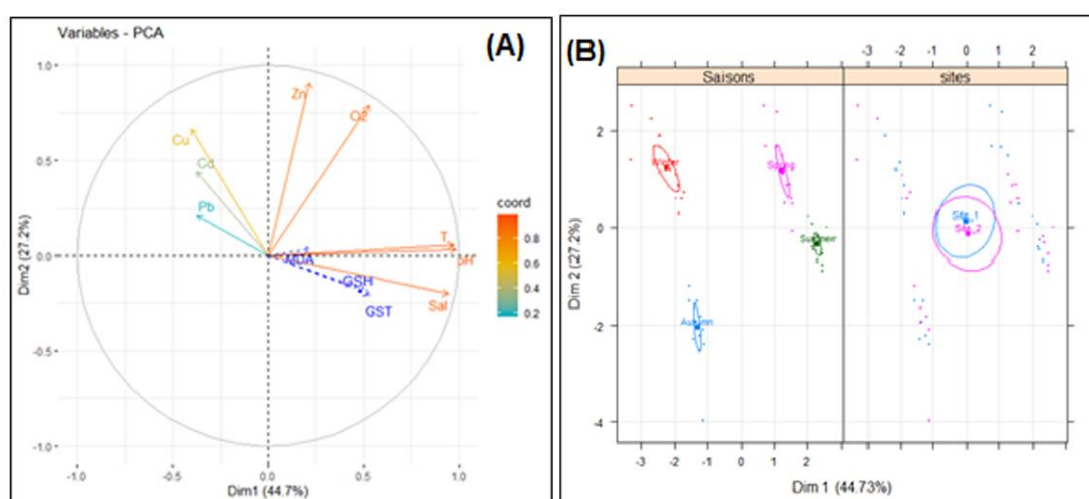


Figure 36. Analyse en composantes principales basée sur la variation spatio-temporelle de l'ensemble des paramètres étudiés. Plan factoriel : D1 : 44,73%, D2 : 27,2. (A) : cercle de corrélation des variables dosées avec les deux premiers axes principaux. (B): Projection des saisons et des sites sur les deux premiers axes principaux.

Pour résumer, l'axe 1 explique principalement la relation entre la bioaccumulation des métaux par les éponges et la variation des caractéristiques de l'eau, tandis que l'axe 2 explique d'avantage la concentration en métaux par rapport à celle des composants de détoxification (biomarqueurs).

Tableau 20. Résultats de l'ACP montrant les valeurs nettes et les pourcentages des deux premiers axes principaux.

Axes	Dim. 1	Dim. 2
Height value	03.57	02.17
Variance	44.72	27.19
Accrued	44.72	71.92

3.6. Corrélation de Pearson

La figure 37 montre la corrélation entre toutes les variables : les concentrations en métaux (Cu, Zn, Pb et Cd) dans les tissus mous de l'éponge *C. nucula*, les caractéristiques de l'eau (T °, pH, Sal et O₂) et les biomarqueurs de stress (GSH, GST et MDA).

Les résultats révèlent des liens notables entre la concentration de métaux et les paramètres physico-chimiques d'une part : corrélation positive du Zn avec T ° et O₂ ($r = 0,54$ et $r = 0,58$ relativement), corrélation négative du Cu avec la T °, Salinité et pH ($r = -0,32$, $r = -0,45$ et $-0,34$ respectivement) et avec les concentrations des biomarqueurs du stress et d'autre part: corrélation négative du Pb avec le GSH et la GST ($r = -0,39$; $r = 0,37$ respectivement).

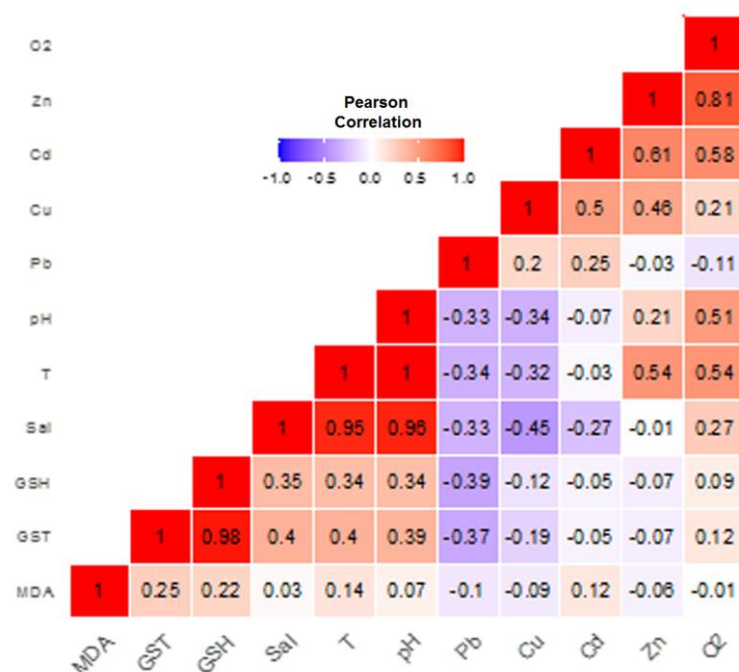


Figure 37. Analyse du coefficient de corrélation de Pearson pour les concentrations de métaux lourds chez *Condrilla nucula* avec les réponses des biomarqueurs du stress oxydatif et les paramètres physico-chimiques.

4. DISCUSSION

La démarche mise en œuvre dans le cadre du programme régional de biosurveillance de la qualité des eaux du golfe d'Annaba consistait à coupler le suivi de la contamination côtière par les ETM avec l'analyse des biomarqueurs, en utilisant comme matériel biologique le démosponge *C. nucula* dans l'objectif d'évaluer la qualité des eaux du golfe d'Annab, une zone soumise à de nombreuses activités anthropiques.

En effet, la pollution chimique résultant de différentes activités humaines a un impact majeur sur les écosystèmes côtiers (Giarratano *et al.*, 2010). La présence de substances nocives dans un environnement peut avoir des effets interactifs sur le biote (Khati *et al.*, 2018). Les biomarqueurs peuvent être définis comme tout changement mesurable des paramètres biochimiques, biologiques ou même comportementaux des organismes (Kaiser 2001; Mistretta & Charlier, 2013) dans un écosystème, aussi bien à l'échelle cellulaire qu'au niveau des populations. La surveillance de certains de ces paramètres, et en particulier les réponses enzymatiques et biochimiques des organismes aux xénobiotiques, peut fournir des signaux précoces de toute perturbation environnementale (Viarengo *et al.*, 2007). Récemment, cette approche est devenue hautement recommandée comme étude complémentaire aux analyses chimiques des diagnostics environnementaux (ICES, 2008).

L'ANOVA n'a montré aucune différence significative pour l'ensemble des biomarqueurs utilisés chez la population de *C. nucula* échantillonné dans les deux sites du golfe d'Annaba, ce qui est conforme aux résultats précédents qui ont révélé des conditions environnementales plus ou moins identiques dans les deux sites d'étude, y compris la contamination par les métaux. Cependant, les résultats ont démontré que la réponse biologique des éponges au stress environnemental variait considérablement d'une saison à l'autre.

Le GSH est un tripeptide (g-L-glutamyl-L-cystéinyglycine) responsable de la protection de l'environnement intracellulaire contre les ROS générés par les xénobiotiques (Beldi, 2006). Il a la capacité de neutraliser les espèces radicalaires et de désactiver leurs capacités à nuire aux différents composants de la cellule (Jozefczak *et al.*, 2012). Par conséquent, l'activité antioxydante de ce composé est utilisée pour estimer si l'organisme est soumis à un stress environnemental ou non, (Gorbi *et al.*, 2008). Les taux de glutathion indiquent une forte variation significative ($p \leq 0,01$) au fil des saisons, et donc des changements des conditions

environnementales dans lesquelles vivaient cette espèce dans les deux sites au cours de l'année. Les tendances de la variation annuelle du GSH chez *C. nucula* semblent suivre celles des métaux. Des résultats similaires rapportant une interconnexion étroite entre les concentrations du GSH et l'exposition à certains métaux (principalement Cu, Pb et Cd) ont été observés chez d'autres invertébrés marins, principalement des filtreurs (*Crassostrea virginica* par Ringwood *et al.*, 2004, *R. decussatus* par Khebbeb *et al.* (2010), dans la glande digestive de *Perna perna* par Khati *et al.* (2012), chez le bivalve *D. trunuculus* par Sifi *et al.* (2013), chez l'éponge *S. spinosulus* par Khati *et al.*, 2018).

La GST est une enzyme de phase II responsable de la détoxification des organismes aux xénobiotiques en contribuant à les rendre plus hydrosolubles, et donc plus faciles à être éliminés du système (Amiard-Triquet *et al.*, 2009; Schmidt *et al.*, 2012). L'activité de défense de cette enzyme en fait, l'un des biomarqueurs les plus importants du stress oxydatif (Lam, 2009) et de l'état de santé d'un organisme y compris la satisfaction de ses besoins biologiques tels qu'une alimentation suffisante et une respiration optimale (Mebarki *et al.*, 2015) qui sont principalement affectées par les conditions environnementales. Chez *C. nucula*, ces conditions semblent évoluer considérablement au fil des saisons en raison de la variation saisonnière importante marquée dans la réponse de la GST. Les fluctuations considérables des facteurs environnementaux et la variation significative de la bioconcentration des métaux enregistrée tout au long de l'année pourraient être à l'origine de la variation de la réponse biologique des éponges. Certains auteurs ont déjà suggéré que l'activité de la GST chez un animal est liée à certains facteurs biotiques (âge et cycle de reproduction) et abiotiques (T°, pH, salinité et oxygène dissous) (Chouahda, 2006; Giarratano *et al.*, 2010), tandis que d'autres travaux proposaient qu'il est d'avantage lié à la concentration des polluants dans l'organisme (Sáenz *et al.*, 2010; Barhoumi *et al.*, 2014; Bensouda & Soltani-Mazouni, 2014; Bouzenda *et al.*, 2017; Maisano *et al.*, 2017; Mejdoub *et al.*, 2017; Bouzahouan *et al.*, 2018; Cappello *et al.*, 2021; Laouati *et al.*, 2021; De Marco *et al.*, 2022; Pillet *et al.*, 2023). Nos observations vont dans ce sens où nous avons enregistré une augmentation significative de la concentration de GST avec les métaux avec un coefficient de corrélation positif élevé avec le GSH ($p \leq 0,001$; $r = 0,98$). Chez l'éponge *S. spinosulus* échantillonnée dans un site anthropisé, Khati *et al.* (2018) ont également trouvé une variation saisonnière très significative de l'activité de la GST. Ces auteurs ont lié l'augmentation de l'activité de la GST dans

l'éponge au processus de désintoxication des polluants accumulés. De part sa morphologie en forme de zone de dépression, le golfe d'Annaba a déjà été signalé comme étant un réceptacle de différents polluants chimiques introduits principalement via les rivières et les oueds (Bougherira *et al.*, 2015; Keblouti *et al.*, 2015; Ziouch *et al.*, 2020) et en particulier, les métaux lourds (Beldi *et al.*, 2006; Abdenour *et al.*, 2010; Belabed *et al.*, 2008, 2010, 2013b; Bouzahouan *et al.*, 2018; Ouali *et al.*, 2018). Des résultats similaires mettant en évidence les liens étroits entre la stimulation de l'activité de la GST et l'exposition à une source de contamination par les métaux lourds ont été rapportés chez d'autres organismes marins comme c'est le cas de la sole sénégalaise *Solea senegalensis* (Funes *et al.*, 2006), les bivalves *Mytilus galloprovincialis* (Canesi *et al.*, 2007) et *Donax trunculus* (Amira *et al.*, 2011; Soltani *et al.*, 2012).

La formation de l'MDA est un signal précoce de l'agression d'espèces radicalaires sur la membrane cellulaire. De plus, la concentration de ce composé dans les tissus peut être utilisée pour estimer le degré de peroxydation lipidique et donc le niveau de stress oxydatif dans un organisme (Lykkesfeldt, 2007). Nos résultats ont révélé le même effet saisonnier ($p \leq 0,01$) sur ce paramètre dans les deux stations. Cette variation de la teneur en MDA dans les tissus de l'éponge au cours des saisons peut être due au niveau de contamination par les ETM, et donc au déséquilibre du système antioxydant. La génération des ROS devient plus importante chez les organismes aquatiques lorsqu'ils sont exposés au ETM (Giarratano *et al.*, 2013) car ces polluants peuvent épuiser les défenses antioxydantes, ce qui permet plus de peroxydation des lipides, et donc plus de dégradation des cellules (Soltani *et al.*, 2012). Des études antérieures ont rapporté l'augmentation de la teneur en MDA dans les tissus des mollusques exposés dans leur habitat à une contamination par des métaux lourds : *Cerastoderma glaucum* (Machreki-Ajmi *et al.*, 2008), *C. edule* (Bergayou *et al.*, 2009), *D. trunculus* (Tlili *et al.*, 2010), *P. perna* (Khati *et al.*, 2012; Laouati *et al.*, 2021), *M. galloprovincialis* (Abbassi *et al.*, 2015) et *S. haemastoma* (Bouzahouan *et al.*, 2018) et *S. spinosulus* (Bensafia, 2018).

CHAPÎTRE III
BÎOLOGIE DE LA
REPRODUCTION

Chapitre III. Biologie reproductive

1. INTRODUCTION

Les processus biologiques et physiologiques des spongiaires, comme c'est le cas chez la majorité des organismes vivants du règne animal, sont souvent contrôlés par divers facteurs environnementaux et endogènes, notamment la reproduction qui est régie par le jeu de substances hormonales et d'un programme génétique qui a constamment évolué au fil du temps avec les différentes générations. Ce contrôle intrinsèque ou endogène de la reproduction est modulé par la combinaison de multiples facteurs externes et les réponses des organismes à ces derniers, en particulier pendant une longue exposition sont variables en fonction des organismes et même au sein de la population (Jura, 1988). C'est ainsi qu'une exposition prolongée à des facteurs anthropiques peut affecter le processus de sélection et modifier définitivement le programme génétique de développement. Un tel phénomène est souvent fréquent chez les invertébrés (Merritt & Bewick,) étant soumis au stress des polluants chimiques et en particulier aux métaux lourds.

Les stratégies de reproduction d'un organisme jouent un rôle majeur dans la dynamique de la population et biogéographie et la pérennité des espèces. De nombreux processus sont impliqués dans la physiologie de la reproduction conduisant à la production de descendants. Bien que divers processus soient impliqués dans l'ovogenèse (production d'ovules) et la spermatogenèse (production de spermatozoïdes), les schémas de base de la gamétogenèse sont presque similaires chez les invertébrés, avec la prolifération et la différenciation des cellules germinales conduisant à la production de gamètes matures. La production de gamètes, en particulier d'œufs, est énergétiquement coûteuse, et donc fortement sensible aux pressions sélectives. Un organisme peut ingérer et assimiler une quantité limitée d'énergie provenant de l'environnement. Les différentes façons dont l'énergie est allouée à la croissance et surtout à la reproduction afin de maximiser la condition constituent la base des différentes stratégies de cycle biologique qui sont rarement développées chez les invertébrés marins (Ramirez LIodra, 2002).

Globalement, il existe une grande variabilité de types de production de gamètes, de développement larvaire, de métamorphose et d'établissement des juvéniles chez les invertébrés marins. Ces processus ont des conséquences écologiques et biogéographiques importantes sur la dynamique des populations et sur

la subsistance de l'espèce (Giangrande *et al.*, 1994). Celles-ci incluent la prolifération, la différenciation, la croissance et la maturation des gamètes, les événements de frai, la fécondation et le développement embryonnaire. Toutes ces étapes de la sexualité peuvent être influencées à la fois par la phylogénie et par les conditions environnementales qui exercent une pression sélective sur les traits du cycle biologique (Giese & Pearse, 1974; Stearns, 1992; Giangrande *et al.*, 1994).

Bien que les processus de la reproduction et leurs implications évolutives soient suffisamment documentés chez de nombreux invertébrés marins sessiles tropicaux, notamment chez les cnidaires (Harrison & Wallace, 1990; Fautin, 2002), les spongiaires restent un taxon peu étudié en comparaison à d'autres espèces macrozoobenthiques comme les bivalves : *Donax trunculus* (Boussoufa *et al.*, 2015; Hafsaoui *et al.*, 2016 a,b; Hamdani *et al.*, 2020), *Mytilus galloprovincialis* (Ortiz-Zarragoitia *et al.*, 2006; Ferman *et al.*, 2010; Rouabhi *et al.*, 2019), Crustacés décapodes : *Aristeus antennatus* (Carbonell *et al.*, 2006), *Parapenaeus longirostris* (Arculeo *et al.*, 2014), *Palaemon macrodactylus*, *P. adspersus*, *P. elegans* (Cavraro *et al.*, 2022) et *P. edwardsii* (Oudainia *et al.*, 2023), Gastéropodes : *Patella rustica* (Zegaoula *et al.*, 2016).

En Méditerranée, les informations sur les cycles de reproduction des éponges concernent essentiellement les Demospongiae de la rive Nord de la Méditerranée (Siribelli, 1962; Scalera Liaci *et al.*, 1973; Corriero *et al.*, 1998; Lepore *et al.*, 2000; Meroz-Fine *et al.*, 2005; Baldaconi *et al.*, 2007; Mercurio *et al.*, 2007, 2013; Riesgo & Maldonado, 2008; Pérez- Porro *et al.*, 2012; Di Camillo *et al.*, 2012; Zarrouk *et al.*, 2013; Ereskovsky *et al.*, 2017). Bien qu'il existe quelques travaux anciens sur la sexualité (ovogénèse et spermatogénèse) de quelques populations de l'éponge *C. nucula* en Italie (Scalera-Liaci, 1971 ; Scalera Liaci & Sciscioli, 1975 ; Gaino, 1980, Sidri *et al.*, 2005), aucune investigation à notre connaissance n'a été menée sur les côtes nord-africaines, notamment sur le littoral algérien

Cette présente investigation a pour objectif de fournir les premières données sur le cycle sexuel de *C. nucula* des côtes est algériennes, notamment du golfe d'Annaba.

2. MATERIEL & METHODES

2.1. Echantillonnage

Entre janvier et septembre 2017, nous avons prélevé mensuellement dans la zone d'étude (Alzon), 6 fragments d'éponge (3 cm²) à partir de 6 colonies différentes. Le prélèvement s'est effectué au moyen de la plongée libre (0 - 2 m) en utilisant un poignard en acier inoxydable avec lequel nous avons sectionné une bouture de l'éponge de chaque colonie. Pour des raisons d'indisponibilité de matériel spécifique et de financement de cette étude, l'étude histologique n'a été réalisée que sur un échantillon de 3 colonies/mois. En raison des conditions météorologiques défavorables (mauvais temps) et de santé, nous n'avons pas pu échantillonner entre octobre et décembre de la même année.

Dans l'éventualité d'une reproduction asexuée, nous avons pris régulièrement des photographies sous-marines des colonies en période de fragmentation.

2.2. Fixation et conservation des échantillons

Tous les échantillons fraîchement prélevés ont été ensuite acheminés vivants au laboratoire dans de l'eau de mer, puis immédiatement placés séparément dans des piluliers contenant du formol à 4 % (solution diluée avec de l'eau de mer et non pas de l'eau distillée) et conservés au réfrigérateur à 4°C, jusqu'au moment de la réalisation de coupes sériées pour l'histologie.

2.3. Histologie

La préparation des échantillons jusqu'aux blocs de paraffine a été réalisée entre l'unité d'anatomie-pathologie du CHU d'El-Tarf et les laboratoires de l'université Badji-Mokhtar, Annaba (Fig.38). Tandis que les coupes histologiques, qui sont une opération très délicate pour les éponges (Bensafia, 2018) ont été réalisées à l'unité d'anatomie-pathologie du CHU de Rio de Janeiro (Brésil) en collaboration avec des experts en histologie des spongiaires.



Figure 38. Principales étapes de préparation des échantillons en blocs de paraffine. A et B : unité anatomie-pathologie CHU d'El -Tarf ; C, D, E, F et G : Laboratoires de l'université de Badji-Mokhtar Annaba.

Etant donné la structure anatomique spécifique des spongiaires, le protocole classique qui est souvent utilisé aux niveaux des unités d'anatomie-pathologie des hôpitaux pour les tissus humains a été modifié comme suit :

➤ *Etape 1* : Réalisation des coupes/fixation dans une salle de macroscopie. Les zones ciblées (corticales et profondes) ont été plongées dans du formol dilué avec de l'eau de mer à 5% durant une durée maximale de 48 h.

➤ *Etape 2* : Traitement des tissus dans un automate (LEICA TP1020) doté de bécques remplis d'éthanol à 90%, de xylène et de paraffine en respectant les bains suivants :

- Alcool 1 → 1 h
- Alcool 2 → 1 h
- Alcool 3 → 1 h 30 min au lieu de 1h
- Alcool 4 → 1 h 30 min au lieu de 1h
- Alcool 5 → 1 h 10 min au lieu de 1h
- Alcool 6 → 6 h
- Xylène 1 → 40 min au lieu de 30 min
- Xylène 2 → 30 min
- Xylène 3 → 1 h 30 min au lieu de 1h
- Paraffine 1 → 2 h
- Paraffine 2 → 2 h

➤ *Etape 3* : Enrobage et froid:

- Enrobage des prélèvements dans des moules en acier inoxydable ;
- Réalisation de coupes de 5 µm à l'aide des lames surgipath leica db80lx leica;
- Etalement des coupes fines sur lame porte objet ;
- Séchage des lames sur plaque chauffante ;
- Mise des paniers de lames dans l'étuve à une température à 70 % au moins pendant 1 h.

➤ *Etape 4* : Déparaffinage et coloration des lames histologiques en respectant les étapes suivantes :

- Xylène → 10 min
- Alcool (95°) → 10 min
- Alcool (95°) → 10 min
- Eau courante (rinçage) → 10 min
- Hémalum de mayer → 10 min
- Rinçage à l'eau courante

2.4. Observation microscopique

Un total de 24 lames (2 lames/colonie x 1 colonie/mois) a été préparé (Fig.39). Les coupes sériées ont été observées au microscope optique WILD M20 du laboratoire de Biosurveillance et santé environnementales de l'Université de Badji-Mokhtar Annaba. Des photos ont été prises aussi avec un microscope de marque Leica DMLB équipé d'un système de capture d'image Evolution LC couleur.

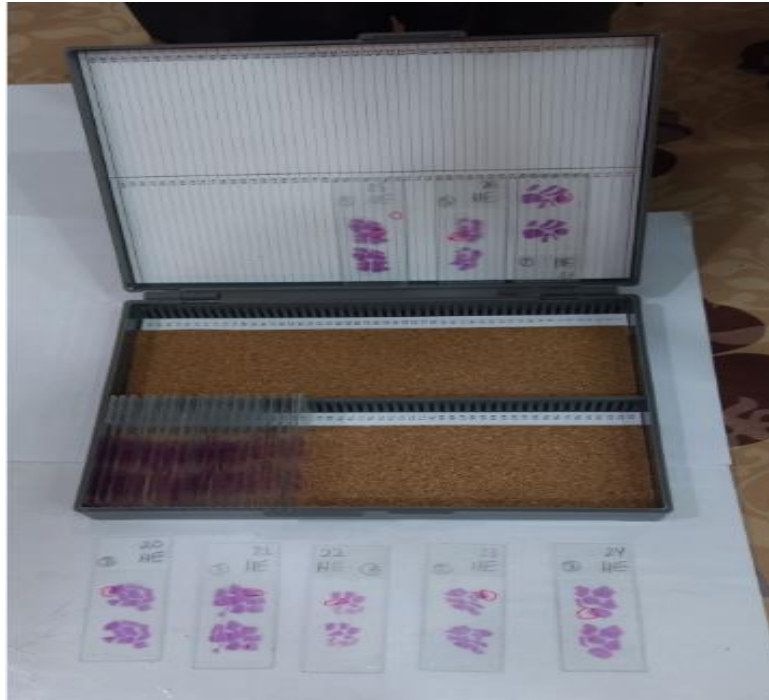


Figure 39. Préparations histologiques colorées de l'éponge *Chondrilla nucula* du golfe d'Annaba.

3. RESULTATS

La coloration à l'hématoxyline et à l'éosine des matrices cytoplasmiques des tissus spongieux ciblés n'a pas permis d'observer des stades de la gamétogénèse entre janvier et septembre. En effet, aucune coupe sériée de *Chondrilla nucula* n'a pu être exploitée pour la compréhension de la biologie de la reproduction en raison de l'absence des différentes cellules reproductrices durant la période d'échantillonnage (Fig.40).

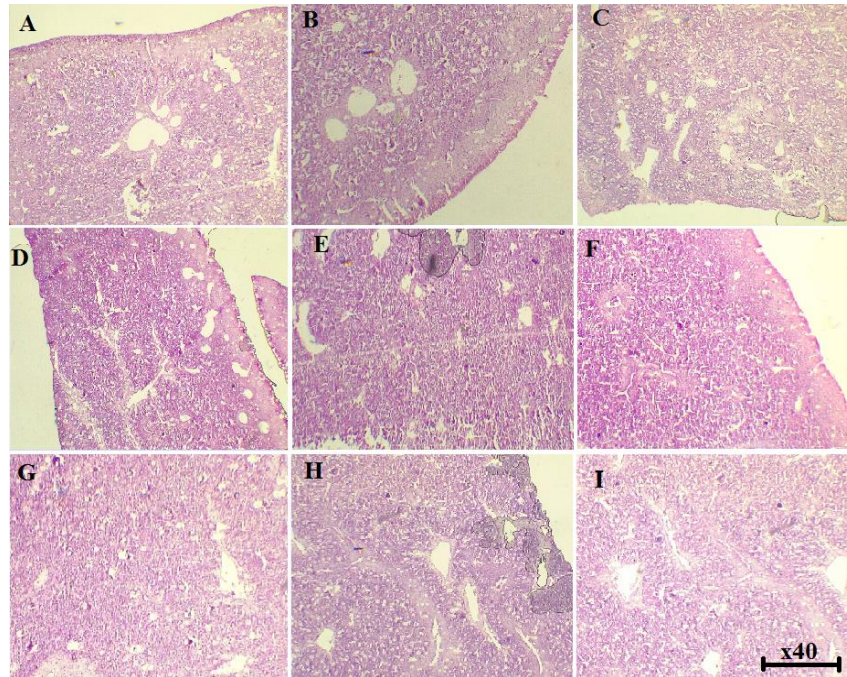


Figure 40. Coupes histologiques mettant en évidence l'absence des éléments reproducteurs des colonies échantillonnées. A : Janvier, B : Février, C : Mars, D : Avril, E : Mai, F : Juin, G: Juillet, H : Aout, I : Septembre. Les parties colorées représentent uniquement la matrice tissulaire.

Par contre, nous avons pu observer, à différentes saisons de l'année, des colonies en pleine fragmentation de l'animal (Fig. 41.A). Comme le montre les deux clichés, le tissu semble s'étirer à la verticale depuis le point d'attachement de l'éponge pour constituer des structures en forme de larmes d'une superficie approximative de 3 - 10 cm² (Fig. 41.B).

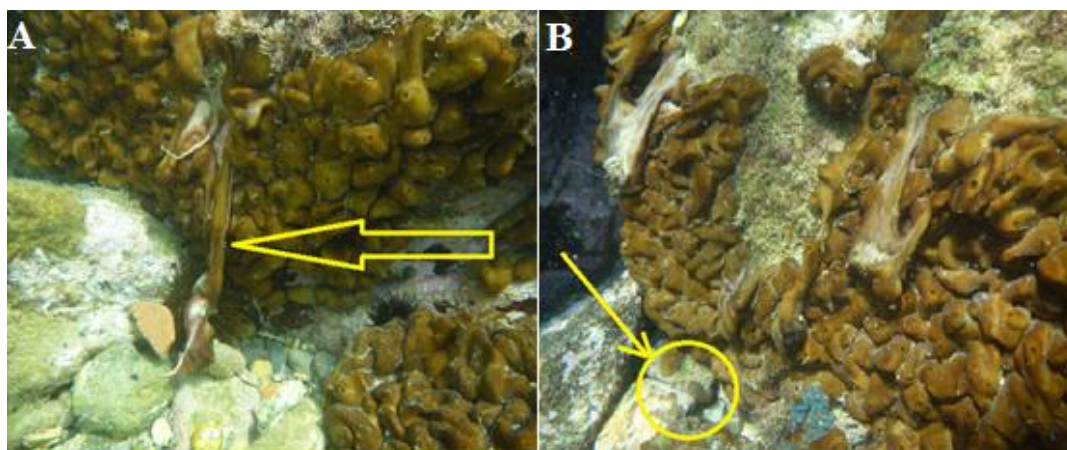


Figure 41. Mécanisme de reproduction asexuée chez l'éponge *Chondrilla nucula* et formation de grandes plaques sur le support rocheux (A : détachement d'une partie de l'individu adulte, B : Un individu en forme de larme nouvellement recruté). (clichés : Derbal, 2017).

4. DISCUSSION

Bien que la reproduction sexuée des démosponges soit bien documentée (Corriero *et al.*, 1998 ; Mercurio *et al.*, 2007 ; Gaino *et al.*, 2009 ; Mastrodonato *et al.*, 2022), la biologie et la physiologie de la reproduction quel soit sexuée et/ou asexuée de nombreuses espèces sont absentes ou peu connues (Simpson, 1984) en raison de la particularité de ces invertébrés marins. En effet, il est difficile de trouver des reproducteurs et à être « au bon endroit au bon moment ». Le frai est fréquemment observé par les plongeurs, en particulier sur les récifs coralliens, où certaines espèces d'éponges se reproduisent toute l'année (Reiswig, 1973), mais dans la plupart des espèces méditerranéennes, la gamétogenèse et le frai est strictement lié à la température et difficilement prévisibles (Sara & Vacelet 1973), ce qui expliquerait la situation chez la population de *C. nucula* du golfe d'Annaba où n'avons pas pu mettre en évidence la présence de cellules reproductrices chez plusieurs colonies échantillonnées sur une période de 9 mois (janvier-septembre). La plupart des études antérieures ont ciblé des éponges vivipares où il est possible de suivre les cycles à travers le développement et la libération des larves (Gaino *et al.*, 1987). Les données sur les espèces ovipares sont encore limités (Mariani *et al.*, 2000), surtout que leur fécondation et le clivage ont rarement été observés (Gallisan, 1981).

En Méditerranée, la reproduction sexuée de *C. nucula* est située entre l'été et le début de l'automne (Scalera Liaci & Sciscioli 1969, 1975). Au cours de l'année, cette espèce peut emprunter aussi le mode asexué, principalement la fragmentation, un processus qui permet aux colonies de recouvrir en formes de plaques (Sidri, 2004) sur de grandes surfaces des rochers au contact et limitrophes, des observations constatées également dans la zone d'étude où cette espèce a envahie la zone d'étude. *Chondrilla nucula* est une éponge gonochoristique ovipare dont le cycle de reproduction est peu connu. La libération des gamètes et le développement larvaire n'ont presque été observés que sporadiquement (Boury - Esnault 2002). Certains auteurs fournissent même des observations microscopiques de la partie reproductrice (Scalera Liaci *et al.*, 1971) et de l'ultrastructure des œufs (Gaino, 1980). Ils précisent que les femelles portent une densité variable d'ovocytes regroupés dans le mésohyle à proximité des canaux exhalant en soulignant le faible pourcentage des géniteurs au profit des femelles (sex-ratio : 5:1) développant des gamètes pendant la saison de reproduction au sein des populations observées (Scalera Liaci *et al.*, 1971).

Chez *C. nuculla*, la gamétogénèse n'est supportée que par quelques colonies au sein d'une population (Scalera Liaci *et al.*, 1971; Gaino 1980 ; Sidri *et al.*, 2005). Tous les reproducteurs meurent juste après le fraie ce qui pourrait être cohérent avec un scénario de dépense énergétique consacrée à la reproduction (Usher *et al.*, 2004). Des investissements énergétiques plus élevés dans la reproduction ont été proposés chez les éponges ovipares par rapport aux espèces vivipares (Garrabou & Zabala, 2001). Ceci est également corroboré par les observations d'Usher *et al.* (2004) pour *C. australiensis*, dans laquelle la reproduction semble épuiser gravement l'état nutritionnel des éponges. D'autre part, la reproduction sexuée de *C. nucula* ne semble pas se produire chaque année dans la même population (Gaino, 1980; Sidri *et al.*, 2005). Ce scénario peut expliquer notre situation où aucune colonie échantillonnée ne présentait de signes de reproduction. L'insuffisance de colonies prélevées mensuellement (n=3) est aussi un paramètre à prendre en considération pour l'étude de la reproduction.

Comme chez les éponges, de nombreux autres invertébrés marins benthiques, comme les coraux et les gorgones sont connus pour combiner la reproduction sexuée et la propagation asexuée (Wulff, 1991; Hunter, 1993; McFadden, 1997). La reproduction asexuée est un moyen efficace de diffuser plusieurs copies d'individus bien adaptés (Ayre & Willis, 1988), en évitant le coût de la méiose qui, par recombinaison, pourrait entraîner la perte de génotypes coadaptés (Maynard-Smith, 1992). La propagation des clones, dans les organismes sessiles, peut également fournir un moyen efficace de rivaliser pour l'espace et de réduire les taux de mortalité en fonction de la taille pendant le recrutement (Hall & Hughes, 1996).

Les éponges constituent un compartiment animal incontournable au sein des communautés marines benthiques et, comme d'autres organismes clonaux, peuvent se reproduire sexuellement, par production de gamètes, et asexuellement, par bouturage, fission, fragmentation, bourgeonnement et gemmules (Fell, 1993). La présence d'une reproduction asexuée chez les éponges a été fortement soutenue par l'histocompatibilité, les études génétiques des populations et les observations sur le terrain (Miller *et al.*, 2001; Duran *et al.*, 2004; Whalan *et al.*, 2005).

Le genre *Chondrilla* (Schmidt 1862) peut constituer un modèle idéal pour déterminer l'étendue de la propagation asexuée des éponges aux niveaux inter et interspécifiques, en raison de leur répartition cosmopolite et de leur reproduction asexuée connue par fission (Usher *et al.*, 2004). Ce phénomène qui est déjà rapporté à

d'autres régions en Méditerranée (Sidri *et al.*, 2005), a été aussi observé par nous même chez la population de *C. nucula* du golfe d'Annaba, ce qui suppose qu'il s'agirait d'une forme de reproduction asexuée par fragmentation passive.

Des individus en forme de larme ont également été observés en période de reproduction chez *Chondrilla australiensis* (Fromont, 1999), comme c'est le cas chez les zoanthides qui sont des organismes clonaux (Acosta *et al.*, 2005). La fragmentation chez ces espèces est probablement passive, de sorte que, à mesure que l'éponge grandit, son propre poids pourrait permettre aux individus de se rompre (Bonasoro *et al.*, 2001). D'autre part, les espèces du genre *Chondrilla* présentent des différences marquées sur l'étendue de la reproduction asexuée et les conditions environnementales semblent également être importantes pour déterminer cet étendue variable (Zilberberg *et al.*, 2006). Néanmoins, la plupart de ces espèces sont capables de produire régulièrement des fragments de larme qui se détachent et se recrutent sur un autre substrat (Fromont, 1999).

Bien qu'imprévisibles, la température et, probablement, le cycle lunaire jouent un rôle fondamental dans le déclenchement du processus de reproduction comme suggéré chez *Chondrilla australiensis* (Usher *et al.*, 2001). Un timing synchronisé pour la libération des gamètes peut être nécessaire pour maximiser le succès et optimiser le coût énergétique élevé de la reproduction sexuée. Compte tenu de cela, il n'est pas surprenant que *C. nucula* se reproduise principalement de manière asexuée par fragmentation (Pronzato, 2002), ce qui se traduit par une très bonne méthode de dispersion qui se produit tout au long de l'année et ne se limite pas à une saison de frai précise et synchronisée. Au fait, ce phénomène de clonage n'est pas exclusif aux espèces du genre *Chondrilla*, puisqu'il a été observé chez d'autres espèces, comme *Chondrosia reniformis* (Sarà & Vacelet, 1973; Bonasoro *et al.*, 2001). Cependant, la caractéristique unique du genre *Chondrilla* est que les colonies en forme de larme sont assez petites et situées en zone rocheuse intertidale exposée (Bonasoro *et al.*, 2001).

CONCLUSION & PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Cette étude est une continuation d'un programme régional de biosurveillance "Sponge Watch" qui a pour objectif d'engager pour la première fois les Spongiaires en qualité de bioindicateurs de la qualité des eaux côtière du golfe d'Annaba avec un intérêt particulier pour la contamination métallique. D'autre part, elle contribue aussi à la connaissance de la biodiversité de l'embranchement des Porifères (spongiaires) qui n'ont jusqu'à ces deux dernières années suscité l'intérêt qu'ils méritent sur le littoral algérien. Appartenant à la classe la plus riche en espèces « Demospongiae », l'éponge *C. nucula* est l'espèce ciblée pour cette étude.

Le suivi des paramètres physicochimiques a révélé que les eaux de surface du golfe d'Annaba présentent presque les mêmes caractéristiques du reste des eaux côtière d'Algérie et de Méditerranée en général. Les variations de la température et de la salinité de l'eau mettent en évidence l'existence de deux saisons distinctes, une saison froide et humide et une autre chaude et sèche. Le pH de l'eau est alcalin et le taux d'oxygène dissout varie considérablement d'une saison à une autre.

Globalement, l'accumulation des éléments traces métalliques étudiés chez *C. nucula* varie d'une saison à une autre, selon les conditions environnementales, mais de la même façon dans les sites de contrôle.

L'analyse de la distribution spatiale des éléments traces métalliques montre une similarité pour l'ensemble des éléments dosés dans les deux stations. Par contre, les variations saisonnières entre les deux stations mettent en évidence des teneurs élevées des métaux dans les tissus de *C. nucula* en période hivernale et printanière à l'exception du plomb qui semble être régulé à une certaine concentration.

Ces résultats préliminaires montrent que *C. nucula* a la capacité de procéder à une bioconcentration particulièrement des métaux mais que les réponses sont très variables en fonction de l'élément trace.

Dans cette étude complémentaire, l'éponge *C. nucula* en particulier et les spongiaires en général peuvent être considérés comme de bons modèles bioindicateurs sensibles aux variations environnementales et qui pourraient être performants dans les programmes de biosurveillance de la perturbation environnementale, associé à l'exploitation des biomarqueurs du stress oxydant qui peuvent rendre compte d'un large spectre de polluants.

L'utilisation des biomarqueurs, comme c'est le cas du glutathion (GSH), le glutathion-S-transférase (GST) et le malondialdéhyde (MDA). est une approche complémentaire de tout diagnostic environnemental parce qu'ils fournissent des signaux d'alarmes précoces sur les effets biologiques des contaminants, d'où leur utilisation à titre indicatif et préventif d'une exposition et/ou d'effets des xénobiotiques. Dans cette présente investigation, nous avons constaté que l'effet des saisons est significativement mis en évidence concernant les biomarqueurs du stress oxydant de phase I et II du système de détoxification, déterminés au niveau des tissus de l'éponge *C. nucula*. Ces organismes marins présentent une variabilité de défense.

Les fluctuations de nos biomarqueurs semblent refléter une perturbation du milieu marin, et peuvent être employés dans les programmes de surveillance métallique chez les organismes sentinelles comme les éponges.

Le cycle reproductif de la démosponge *C. nucula* du golfe d'Annaba étudié entre janvier à octobre 2017 ne nous a pas permis de mettre de comprendre via l'histologie la gamétogénèse et le mode de reproduction emprunté par cette espèce dans la zone d'étude même si nous avons pu constater en plongée des signes de propagation et de colonisation d'espace par reproduction asexuée.

Malgré l'importance des résultats capitalisés, cette étude mérite d'être complétée sur différents aspects afin de mieux comprendre le mode vie de cette espèce et des d'autres spongiaires colonisant les eaux d'Algérie. L'étude de la contamination pourrait être étendue à d'autres éléments toxiques comme le chrome (Cr), le mercure (Hg), l'arsenic (As), le fer (Fe), ainsi que d'autres métaux et éléments chimiques susceptibles de nuire le mode de vie de ces organismes filtreurs et d'avoir une vision plus large de la contamination environnementale dans le golfe d'Annaba et d'évaluer les risques potentiels pour les écosystèmes côtiers et la santé humaine.

Approfondir la compréhension des mécanismes de bioaccumulation des métaux chez *C. nucula*, en se concentrant sur les voies d'entrée, la distribution tissulaire et les mécanismes de régulation interne permettrait aussi de mieux évaluer le rôle de l'éponge en tant que réservoir de contaminants au sein de son écosystème côtier.

L'étude d'exploration d'autres biomarqueurs susceptibles de fournir des informations complémentaires sur la réponse des éponges aux contaminants, tels que les biomarqueurs de l'activité enzymatique, les altérations génétiques ou les réponses immunitaires sont aussi à envisager.

L'étude du cycle de reproduction de cette espèce dont l'aire de distribution est limitée uniquement à quelques secteurs mérite d'être approfondie pour mieux comprendre les modalités de reproduction de cette espèce avec un intérêt particulier pour la reproduction asexuée et la colonisation de l'espace benthique. Cela pourrait fournir des informations précieuses sur la capacité de l'espèce à coloniser de nouveaux habitats et à se rétablir après des événements perturbateurs de l'écosystème.

Enfin, les aspects abordés dans cette présente étude méritent d'être élargis à d'autres spongiaires colonisant les eaux côtières d'Annaba ce qui permettrait de comparer les réponses des différentes espèces aux variations environnementales et de déterminer si certaines espèces sont plus sensibles ou spécifiques à certains contaminants.

BIBLIOGRAPHIE

Bibliographie

Abbassi, N.A., Jaspers, V.L.B, Chaudhry, & M.J.I. (2015).Influence of taxa, trophic level, and location on bioaccumulation of toxic metals in bird's feathers: A preliminary biomonitoring study using multiple bird species from Pakistan. *Chemosphere*, 120, 527–37.

Abdenour, C., Drif, F., Boulakoud, M.S., & Ounissi, M. (2010). Trace metals in the mussel *Donax trunculus* of Annaba estuaries, Algeria. *Oceanography*, 1: 15-20.

Abdenour, C., Smith, B.D., Boulakoud, M.S., Samraoui, B. & Rainbow, P.S. (2000). Trace metals in shrimps and sediments from Algerian water. *Catalogue of Marine Environment*, 3, 9-12

Abdo, D.A., Fromont, J., & McDonald J.L. (2008). Strategies, patterns and environmental cues for reproduction in two temperate haliclionid sponges. *Aquatic Biology*, 1, 291-302

Abdul Wahab, M.A., De Nys, R., Abdo, D., Webster, N., & Whalan, S. (2014). The influence of habitat on post-settlement processes, larval production and recruitment in a common coral reef sponge. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 461:162-172.

Abed, C. (2011). Spongiaires Ircinidae de Méditerranée : chimiotaxonomie, métabolites volatils et bio-indicateurs de pollution par les éléments traces métalliques. Thèse de Doctorat en Océanographie. Université de la Méditerranée Aix-Marseille II. Ecole Doctorale Science de l'environnement. 1-301p.

Acosta, A., Sammarco, P.W., & Duarte, L.F.A. (2005). New fission processes in the zoanthid *Palythoa caribaeorum*: description and quantitative aspects. *Bulletin of Marine Sciences*, 76: 1–26.

Albakjaji M., (2010). La pollution de la mer méditerranée par les hydrocarbures liés au trafic maritime. Economies et finances. Thèse de Doctorat, Université Paris-Est, France, 299p.

Ali, H., & Khan, E. (2018a). Bioaccumulation of non-essential hazardous heavy metals and metalloids in freshwater fish. Risk to human health. *Environmental Chemistry Letters*, 16(3), 903–917.

Ali, H., & Khan E.(2018b). What are heavy metals? Long-standing controversy over the scientific use of the term 'heavy metals' — proposal of a comprehensive definition. *Toxicological Environmental Chemistry*, 100 (1), 6–19.

Ali, H., Khan, E., & Ilahi, I. (2019). Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation. *Journal of Chemistry*, 2019, 1–14.

Allocati, N., Masulli, M., Di Ilio, C., & Federici, L., (2018). Glutathione transferases: substrates, inhibitors and pro-drugs in cancer and neurodegenerative diseases. *Oncogenesis*, 7, 8.

Al Naggar, Y., Naiem, E., Mona, M, Giesy J, Seif, A. (2014). Metals in agricultural soils and plants in Egypt. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 96(5): 730-742.

Amri, S., Bensouilah, M., & Ouali, K. (2017). Variation of the Condition Index and Sexratio of the Sea Urchin *Paracentrotus lividus* in the Southeast Mediterranean. *Journal of Biological Sciences*, 17(2), 76-83.

Amira, A., Sifi, K., Soltani, N., (2011). Measure of environmental stress biomarkers in *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba (Algeria). *EuropienJournal ofExperimentalBiology*,1: 7- 16.

Amiard, J., Amiard-Triquet, C., Berthet, B., & Metayer, C. (1987). Comparative study of the patterns of bioaccumulation of essential (Cu, Zn) and non-essential (Cd, Pb) trace metals in various estuarine and coastal organisms. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 106(1), 73-89.

Amiard-Triquet, C., Berthe, T., Créach, A., Denis, F., Dourou, C., G_evaert, F., Mouneyrac, C., Ramond, J.B., & Petit, F. (2009). Tolerance in organisms chronically exposed to estuarine pollution. In: Amiard-Triquet, C., Rainbow, P.S. (Eds.), *Environmental Assessment of Estuarine Ecosystems, a Case Study*. CRC Press/ Taylor and Francis Group, pp. 135-157.

Aminot, A., & K erouel, R. (2004). Caractéristiques physicochimiques majeures. In : Aminot, A., K erouel, R. (Eds.). *Hydrobiologie des écosystèmes marins : paramètres et analyses. Edition Ifremer. Brest*, 41 - 137.

Aminot, Y., Sayfritz, S.J., Thomas, K.V., Godinho, L., Botteon, E., Ferrari, F., & Readman, J.W. (2019). Environmental risks associated with contaminants of legacy and emerging concern at European aquaculture areas. *Environmental Pollution*, 252, 1301–1310.

Amiard, J., Caquet, T., & Lagadic, L. (1998). Les biomarqueurs parmi les méthodes d'évaluation de la qualité de l'environnement. Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. *Lavoisier Publication Technique & Documentation, Paris*, 320.

Amri, S. (2018). Utilisation de l'oursin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) en tant que bioindicateur général de la qualité du milieu marin. Thèse de Doctorat, Option : Biologie animale, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie. 227p.

Anandkumar, A., Nagarajan, R., Prabakaran, K., Bing, C.H., Rajaram, R. (2018). Human health risk assessment and bioaccumulation of trace metals in fish species collected from the Miri coast, Sarawak, Borneo. *Marine Pollution Bulletin*, 133, 655–663.

Ansari, T.M., Marr, I.L., & Tariq, N. (2004). Heavy metals in marine pollution perspective - a mini review. *Journal of applied sciences*, 4, 1–20.

Ansarin, K., Khoubnasabjafari, M., & Jouyban, A. (2017). Reliability of malondialdehyde as a biomarker of oxidative stress in psychological disorders. *BioImpacts*, 5(3), 123–127. doi:10.15171/bi.2015.20

Antonius, A. & Ballestreros, E. (1998). Epizoism: a new threat to coral health in Caribbean reefs. *Revista de biologia tropical*, 46, 145 156.

Arculeo, M., Cannizzaro, L., Brutto, Sabrina., & Vitale, S. (2014). Growth and reproduction of the deep-water rose shrimp, *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) (Decapoda, Penaeidae), in the Southern Tyrrhenian Sea. *Crustaceana*, 87(10), 1168–1184. doi:10.1163/15685403-00003334

Armstrong, R.N., (1997). Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases. *Chemistry Research in Toxicology*, 10, 2–18.

Arvanitidis, C., Bellan, G., Drakopoulos, P., Valavanis, V., Dounas, C., Koukouras, A., & Eleftheriou, A., (2002). Seascape biodiversity patterns along the Mediterranean and the Black Sea: lessons from the biogeography of benthic polychaetes. *Marine Ecology Progress Series*, 244, 139–152.

Aoyama, K., & Nakaki, T. (2013). Impaired glutathione synthesis in neurodegeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, (10).

Apostoli, P. (2002). Elements in environmental and occupational medicine. *Journal of Chromatogr B*, 778:63–97.

Atkinson, C. A., Jolley, D. F., & Simpson, S. L. (2007). Effect of overlying water pH, dissolved oxygen, salinity and sediment disturbances on metal release and sequestration from metal contaminated marine sediments. *Chemosphere*, 69(9), 1428–1437.

Aut, H. S., Emenike, C., & Fauziah, S. (2017). Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions. *Environment International*, 102, 165–176.

- Authman, M.M., Zaki, M.S., Khallaf, E.A., Abbas, H.H. (2015).** Use of fish as bio-indicator of the effects of heavy metals pollution. *Journal of Aquaculture Research & Development*, 6 (4), 1–13.
- Avery, E.L., Dunstan, R.H., & Nell, J.A. (1996).** The detection of pollutant impact in marine environments: condition index, oxidative DNA damage, and their associations with metal bioaccumulation in the Sydney rock oyster *Saccostrea commercialis*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 31, 192–198.
- Ayada, M., Amira, A.B., Retima, & A.K. (2018).** Distribution of the *Tripos* species (dinoflagellata) from Annaba Bay (Southwestern Mediterranean Sea). *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)*, 12 (2), 40-50.
- Ayre, D.J., & Willis, B.L. (1988).** Population structure in the coral *Pavona cactus*: clonal genotypes show little phenotypic plasticity. *Marine Biology*, 99, 495–505.
- Azam, I., Afsheen, S., Zia, A., Javed, M., Saeed, R., Sarwar, M. K., & Munir, B. (2015).** Evaluating Insects as Bioindicators of Heavy Metal Contamination and Accumulation near Industrial Area of Gujrat, Pakistan. *BioMed Research International*, 2015, 1–11.
- Azarbad, H., Van Gestel, C.A.M., Niklińska, M., Laskowski, R., Roling, W.F.M., & Van Straalen, N.M. (2016).** Resilience of soil microbial communities to metals and additional stressors: DNA-based approaches for assessing ‘stress-on-stress’ responses. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 1–20.
- Azevedo F., Condor-Lujan B., Willenz P., Hajdu E., Hooker, Y., & Klautau, M. (2015).** Integrative taxonomy of calcareous sponges (subclass Calcinea) from the Peruvian coast: morphology, molecules, and biogeography. *Zoological Journal of the Linnean Society* 173, 787-817.
- Azevedo, F., Padua, A., Moraes, F., Rossi, A. L., Muricy, G., & Klautau, M. (2017).** Taxonomy and phylogeny of calcareous sponges (Porifera: Calcarea: Calcinea) from Brazilian mid-shelf and oceanic islands. *Zootaxa*, 4311(3), 301–304.
- Baatrup, E. (1991).** Structural and functional effects of heavy metals on the nervous system, including sense organs, of fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 100(1/2), 253–7.
- Babcock, R.C. (1991).** Comparative demography of three species of scleractinian corals using age and size dependent classic ations. *Ecological Monographs*, 61, 225–244.
- Baldacconi, R., Nonnis-Marzano, C., Gaino, E., & Corriero, G. (2007).** Sexual reproduction, larval development and release in *Spongia officinalis* L.(Porifera, Demospongiae) from the Apulian coast. *Marine biology*, 152(4), 969-979.
- Barakat, MA. (2011).** New trends in removing heavy metals from industrial wastewater. *Arabian Journal of Chemistry*, 4 (4), 361–77.
- Barhoumi, B., Le Menach, K., Clerandeu, C., Ben Ameer, W., Budzinski, H., & Driss, M.R. Cachot, J. (2014).** Assessment of pollution in the Bizerte lagoon (Tunisia) by the combined use of chemical and biochemical markers in mussels, *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Pollution Bulletin*, 84, 379-390.
- Barnabé, G. (1991).** Bases biologiques et écologiques de l’aquaculture. Edition Lavoisier. France. 489p.
- Barriada, J. L. Tappin, A. D., Evans, E. H., & Achterberg E. P. (2007),** Dissolved silver measurements in seawater. *Trac Trends in Analytical Chemistry*. 26, 809-817.
- Barron, M.G. (1990).** Bioconcentration. *Environmental Science and Technology*, 24, 1612-1618.
- Basuyaux, O., Caplat, C., & Mahaut, M.L. (2010).** SPONTOX 2010 - Utilisation des spongiaires comme bioindicateur de l’environnement littoral. Rapport d’étude 2010. 104 pp.

Bavestrello, G., Benatti, U., Calcinai, B., Cattaneo-Vietti, R., Cerrano, C., Favre, A., Giovine, M., Lanza, S., Pronzato, R., Sara, M. (1998). Body polarity and mineral selectivity in the demosponge *Chondrosia reniformis*. *Biology Bulletin* 195(2), 120–125

Begy, R.C., Preoteasa, L., Timar-Gabor, A., Mihaiescu, R., TaNaSelia, C., Kelemen, S., & Simon, H., (2016). Sediment dynamics and heavy metal pollution history of the cruhlig lake (danube delta, romania). *Journal of Environmental Radioactivity*, 153, 167–175.

Beiras, R.(2018). Marine Pollution: Sources, Fate and Effects of Pollutants in Coastal Ecosystems. Chapter 11. vol. 5, pp. 187–204.

Belabed, B.E., Djabourabi, A., Bensouilah, M. (2008). Teneurs en Plomb, Cadmium, Mercure et Zinc relevées dans la chair de la moule, *Perna perna*, dans le littoral d'Annaba. *Revue Synthèse des sciences et de la technologie de l'université Badji Mokhtar-Annaba* 18 : 12-22.

Belabed, B.E., Laffray, X., Dhib, A., Fertouna-Belakhal, M., Turki, S., & Aleya, L. (2013b). Factors contributing to heavy metal accumulation in sediments and in the intertidal mussel *Perna perna* in the Gulf of Annaba (Algeria). *Marine Pollution Bulletin*, 74: 477-489.

Belabed, B.E., Meddour, A., Samraoui, B., & Chenchouni, H. (2017). Modeling seasonal and spatial contamination of surface waters and upper sediments with trace metal elements across industrialized urban areas of the Seybouse watershed in North Africa. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189, 265.

Beldi, H., Gimbert, F., Maas, S., Scheifler, R., & Soltani, N. (2006). Seasonal variations of Cd, Cu, Pb and Zn in the edible mollusc *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba, Algeria. *African Journal of Agricultural Research*, 1(4), 85-90.

Bell, J. J., (2008). The functional roles of marine sponges. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 79, 341–353.

Bensafia, N. (2018). Impact des perturbateurs environnementaux sur un organisme sentinelle dans le golfe d'Annaba (cas des spongiaires). Doctoral dissertation. Université Badji Mokhtar d'Annaba (Algérie). 69p.

Bensafia, N., Khati, W., (2018). Seasonal variations in four trace metals (Cu, Zn, Pb, Cd) in sponges *Sarcotragus spinosulus* of the Gulf of Annaba, Northeast Algeria. *AAACL Bioflux*, 11(3).

Benson, W.H., Baer, K.N., & Watson, C.F. (1990). Metallothionein as a biomarker of environmental metal contamination. In McCarthy, J.F. and Shugart, L.R. eds. *Biomarkers of environmental contamination*, pp. 255-65.

Ben Ali, I. (2007). Utilisation de l'activité de l'acétylcholinestérase chez *Mytilus galloprovincialis* (Lmk, 1819), transplantée en baie d'Oran : biomarqueurs d'exposition à la contamination marine côtière : Thèse de Magister. Université d'Oran SE SENIA. 85p.

Bensouda, L., & Soltani-Mazouni, N. (2014). Measure of oxidative stress and neurotoxicity biomarkers in *Donax trunculus* from the Gulf of Annaba (Algeria): case of the year 2012. *Annual Research & Review in Biology*, 4, 1902-1914.

Bergayou, H., Mouneyrac, C., Pellerin, J., & Moukrim, A. (2009). Oxidative stress responses in bivalves (*Scrobicularia plana*, *Cerastoderma edule*) from the Oued Souss estuary (Morocco). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 765-769.

Berger, V. J., Naumov, A., D. & Babkov, A. I. (1995). Quantity and diversity dependence of marine benthos on environmental salinity. *Biologiya moria*, 21: 45-50.

Bergquist PR. (1978). Sponges. Los Angeles: University of California Press.

- Bergquist, P.R., Sinclair, M.E. (1973).** Seasonal variation in settlement and spiculation of sponge larvae. *Marine Biology*, 20, 35–44.
- Bernard, A., Stolte H., DeBroe, M. E., Mueller P. W., Mason H., & Lash L. H. (1997).** Urinary biomarkers to detect significant effects of environmental and occupational exposure to nephrotoxins. *Renal Failure*, 19:553–566.
- Besse, J.B., Geffard, O., & Coquery, M., (2011).** Development of a methodology for improvement of chemical monitoring of inland waters. State of the art on biomonitoring approaches and application within the framework of the WFD. Summary report. Action 20 Monitoring of priority substances in biota. December 2011 (Cemagref).
- Besser, J.M., Brumbaugh, W.G., May, T.W., Church, S.E., Kimball, B.A. (2001).** Bioavailability of metals in stream food webs and hazards to brook trout (*Salvelinus fontinalis*) in the upper Animas River watershed, Colorado. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 40: 48–59.
- Bianchi, C. N. & C. Morri C., (2002).** La biogeografia marina del Mediterraneo (XXXIV Congresso della Società Italiana di Biogeografia). *Notiziario della Società Italiana di Biologia Marina*, 42, 78–79.
- Birk, S., Bonne, W., Borja, A., Brucet, S., Courrat, A., & Poikane, S. (2012).** Three hundred ways to assess Europe's surface waters: an almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. *Ecological Indicators*, 18, 31–41.
- Blanquer A, Uriz MJ. (2010).** Population genetics at three spatial scales of a rare sponge living in fragmented habitats. *BMC Evolutionary Biology*, 10:13.
- Blunt, JW., Copp, BR., Munro, MHG., Northcot, P.T., & Princep, M.R. (2005).** Marine natural products. *Natural Product Report*, 2, 15–61.
- Bocquene, G., Chantereau, S., Beausir, E., & Raffin, B. (2002).** MONERIKA: monitoring of the biological effects of ERIKA oil on mussels (*Mytilus edulis*) in contaminated areas. Project N°7; IFREMER-MEDD-INERIS contract report, p. 28.
- Bodin, N., Burgeot, T., Stanisière, J. Y., Bocquéné, G., Menard, D., Minier, C., & Budzinski, H. (2004).** Seasonal variations of a battery of biomarkers and physiological indices for the mussel *Mytilus galloprovincialis* transplanted into the northwest Mediterranean Sea. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C, Toxicology & Pharmacology*, 138(4), 411–427.
- Bonanno, G., & Orlando-Bonaca, M. (2018).** Trace elements in Mediterranean seagrasses and macroalgae. A review. *Science of The Total Environment*, 618, 1152–1159.
- Bond C. & Harris A., (1988).** Locomotion of sponges and its physical mechanism. *Journal of Experimental Zoology Part A*. 246, 271-284.
- Bonini, M., Lenz, S., Giorgi, R., & Baglioni, P. (2007).** Nanomagnetic sponges for the cleaning of works of art. *Langmuir*, 23, 17.
- Bonasoro, F., Wilkie, I.C., Bavestrello, G., Cerrano, C., & Candia Carnevali, M.D. (2001).** Dynamic structure of the mesohyl in the sponge *Chondrosia reniformis* (Porifera, Demospongiae). *Zoomorphology*, 121, 109–121.
- Borchardt, T., Burchert, S., Hablzel, H., Karbe, L., & Zeitner, R. (1988).** Trace metal concentrations in mussels: Comparison between estuarine, coastal and offshore regions in the Southern North Sea from 1983-1986. *Marine Ecology Progress Series*, 42, 17- 31.
- Boucetta, S., Beldi, H., & Draredja, B. (2016).** Effects of metal pollution on the activities of Acetylcholinesterase and glutathione-S-transferase in *Phorcus (Osilinus) turbinatus* (Gastropoda, Trochidae) of the coast East-Algerian. *Advances in Environmental Biology*, 10(5), 46-61.
- Boudouresque, C. F. (2004).** Marine biodiversity in the Mediterranean: status of species, populations and communities. *Scientific Reports of Port-Cros National Park* 20: 97–146.

Bougherira, N., Hani, A., Djabri, L., & Chouchane, S. (2015). Assessment of contaminant migration in groundwater from an industrial development area, Annaba District NE Algeria. *Engineering Geology for Society and Territory*.

Bouhayene, S. (2015). Evaluation bactériologique des zones de baignade de la baie de Skikda (N.E Algérien). Thèse de doctorat. Option : biologie marine. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.123.

Boury-Esnault, N. (2002). Order Chondrosida Boury- Esnault and Lopès, Family Chondrillidae Gray, pp. 291–297. In: Hooper, J.N.A. & R.W.M. van-Soest, (eds.). *Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges*, Volume 1. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Boury-Esnault, N., & Lopès, M.T. (1985). Les Demosponges littorales de l'Archipel des Açores. *Annales de l'Institut Océanographique*, 61(2), 149–225.

Boury-Esnault, N., Rützler, K. (1997). Thesaurus of sponge morphology, Smithsonian contributions to zoology 596. Washington, D.C. Smithsonian Institution Press.

Boury-esnault, N., E. HA Jdu, M . Klautau, M. Custo - D IO, AND R. Bo Ro Jevic. (1994). The value of cytological criteria in distinguishing sponges at the species level: The example of the genus *Polymastia*. *Canadian Journal of Zoology*, 7 (2), 795 - 804.

Boussoufa, D., Ghazali, N., Rabeh, I., Soudani, N., Navarro, J.C., & El Cafsi, M. (2015). Reproductive cycle and gonad development of the commercial clam *Donax trunculus* from the Bay of Tunis (Northern Tunisia South Mediterranean coast): effects of environmental variability. *Cahiers de Biologie Marine*. 56, 369–380.

Boutabia-Trea, S. (2016). *Posidonia oceanica* (L) Delile, Bioindicateur de la pollution métallique du golfe d'Annaba (Nord Est Algérien). Thèse de Doctorat., Option : biologie végétale. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. 238p.

Bouzenda, R., Soltani, N., & Khebbeb, M.E.H. (2017). Assessment of pollution in the Gulf of Annaba (Algeria) by monthly measurements of two biomarkers in a fish species *Liza aurata*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(1), 366-372.

Bouzahouane, H., Barour, C., Sleimi, N., & Ouali, K. (2018). Multi-biomarkers approach to the assessment of the southeastern Mediterranean Sea health status: Preliminary study on *Stramonita haemastoma* used as a bioindicator for metal contamination. *Chemosphere*, 207, 725–741.

Box, A., Sureda, A., Galgani, F., Pons, A., & Deudero, S. (2007). Assessment of environmental pollution at Balearic Islands applying oxidative stress biomarkers in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology*, 146, 531-9.

Brummer, F., & Nickel, M. (2003). Sustainable use of marine resources: cultivation of sponges. In: Muller WEG, editor. *Marine Molecular Biotechnology*. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag. p. 143–161.

Brusca, R.C., & Brusca, G.J. (2003). Invertebrates, 2nd edn. Sunderland, MA: Sinaeur.

Cai, L., Li, X., Song, Y., & Cherian, M.G. (2005). Essentiality, toxicology and chelation therapy of zinc and copper. *Current Medicinal Chemistry*, 12, 2753–63.

Cajaraville, M.P., Bebianno, M.J., Blasco, J., Porte, C., Sarasquete, C., Viarengo, A. (2000). The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *Science of the Total Environment*, 247: 201-212.

Calafat, A.M. (2016). Contemporary issues in exposure assessment using biomonitoring. *Current Epidemiology Reports*, 3, 145–153.

- Caldeira, K. & Wickett, M.E. (2003).** Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature*, 425, 365–365.
- Calderón, I., Ortega, N., Duran, S., Becerro, M., Pascual, M., & Turon, X. (2007).** Finding the relevant scale: clonality and genetic structure in a marine invertebrate (*Crambe crambe*, Porifera) *Molecular Ecology*, 16, 1799-1810
- 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.
- Cano-Sancho, G., Marchand, P., Le Bizec, B., & Antignac, J.-P. (2020).** The challenging use and interpretation of blood biomarkers of exposure related to lipophilic endocrine disrupting chemicals in environmental health studies. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 499, 110606.
- Cappello, T., De Marco, G., Oliveri Conti, G., Giannetto, A., Ferrante, M., Mauceri, A. & Maisano, M. (2021).** Time-dependent metabolic disorders induced by short-term exposure to polystyrene microplastics in the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety Journal*, 209, 111780.
- Carballo, J.L., Gómez, P., Cruz-Barraza, J.A. & Flores-Sánchez, D.M. (2003).** Sponges of the family Chondrillidae (Porifera: Demospongiae) from the Pacific coast of Mexico, with the description of three new species. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 116(2), 515-527.
- Carballo, J. L., S. A. Naranjo & J. C. Garcia-Gomez. (1996).** Use of marine sponges as indicators in marine ecosystems at Algeciras Bay (southern Iberian Peninsula). *Marine Ecology Progress Series*, 135, 109–122.
- Carbonell, A., Grau, A., Lauronce, V., & Gómez, C. (2006).** Ovary Development of the Red Shrimp, *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) from the Northwestern Mediterranean Sea. *Crustaceana*, 79(6), 727–743. doi:10.2307/20107699
- Cardenas, P., Pérez, T., & Boury-Esnault, N. (2012).** Sponge Systematics Facing New Challenges. *Advances in Marine Biology*, 79–209.
- Casas, S., (2005).** Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces «Hg, Cd, Pb, Zn et Cu» chez la moule *Mytilus galloprovincialis* en milieu Méditerranéen. Thèse doctorat en Océanologie biologique, Environnement marin, Université du Sud Toulon Var, 356 p.
- Castritsi-Catharios, J., Miliou, H., & Pantelis, J. (2005).** Experimental sponge fishery in Egypt during recovery from sponge disease. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 15, 109–116.
- Castro-González, M. I., & Méndez-Armenta, M. (2008).** Heavy metals: Implications associated to fish consumption. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26(3), 263–271.
- Cavraro, F., Facca, C., & Naseer, M. (2022).** Comparing the reproductive success of three Palaemonid species in a Mediterranean coastal lagoon: native and invasive responses to salinity changes. *Hydrobiologia*, 849, 661–674.
- Cebrian E, Marti, R., Agell, G., & Uriz, MJ. (2006).** Response of the Mediterranean sponge *Chondrosia reniformis* Nardo to heavy metal pollution. *Environnemental Pollution*. 141, 452–458.
- Cebrian E., Uriz M. J., & Turon X. (2007).** Sponges as biomonitors of heavy metals in spatial and temporal surveys in northwestern Mediterranean: multispecies comparison. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26 (11), 2430-2439

Charissou, A.M., Cossu-Leguille, C., & Vasseur, P. (2004). Relationship between two oxidative stress biomarkers, malondialdehyde and 8-oxo-7,8-dihydro- 2'-deoxyguanosine, in the freshwater bivalve *Unio tumidus*. *Science of the Total Environment*, 322, 109–122.

Chakravarthi, S., Jessop, C.E., & Bulleid, N.J. (2006). The role of glutathione in disulphide bond formation and endoplasmic-reticulum-generated oxidative stress. *EMBO Reports*, 7(3), 271-275.

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, Université de Annaba, 76 pp.

Chow T. J. (1976). Barium in Southern California Coastal Waters: A Potential Indicator of Marine Drilling Contamination. *Science*, 193, 57-58.

Cobbina, S. J., Chen, Y., Zhou, Z., Wu, X., Zhao, T., Zhang, Z., & Yang, L. (2015). Toxicity assessment due to sub-chronic exposure to individual and mixtures of four toxic heavy metals. *Journal of Hazardous Materials*, 294, 109–120.

Cóndor-Luján, B., Louzada, T., Azevedo, F., Padua, A., Hajdu, E., & Klautau, M. (2017). Calcareous sponges (Porifera: Calcarea) from Curaçao including Brazilian shared species and phylogenetic remarks. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*.

Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Kaschner, K., Lasram, F.B.R., Aguzzi, J., Ballesteros, E., Bianchi, C.N., Corbera, J., & Dailianis, T., et al. (2010). The biodiversity of the Mediterranean Sea: estimates, patterns, and threats. *PLoS One*, 5, 1–36.

Collins, K. J. Jensen, A. C., Lockwood, A. P. M. Turnpenny, A. W. H. (1994). Evaluation of stabilized coal-fire power station waste for artificial reef construction. *Bullen of Marine Sciences*, 55 : 1251-1262.

Corriero, G., Liaci, L. S., Marzano, C. N., & Gaino, E. (1998). Reproductive strategies of *Mycalecontarenii* (Porifera: Demospongiae). *Marine biology*, 131(2), 319-327.

Cox P. A. (1995). The Elements on Earth - Inorganic Chemistry in the Environment. Oxford university press, Oxford. 287 pp.

Croce, G., Frache, A., Milanesio, M., Marchese, L., Causà, M., Viterbo, D., & Amenitsch, H. (2004). Structural Characterization of Siliceous Spicules from Marine Sponges. *Biophysical Journal*, 86(1), 526–534

Croteau, M.-N.M., Luoma, S.N.S., Stewart, A.R. (2005). Trophic transfer of metals along freshwater food webs: evidence of cadmium biomagnification in nature. *Limnology and Oceanography*, 50: 1511–1519.

Cummins, I., Dixon, D.P., Freitag-Pohl, S., Skipsey, M., & Edwards, R. (2011). Multiple roles for plant glutathione transferases in xenobiotic detoxification. *Drug Metabolism Reviews*, 43, 266–280.

Dallinger, R., Prosi, F., Segner, H., & Back, H. (1987). Contaminated food and uptake of heavy metals by fish: a review and a proposal for further research. *Oecologia*, 73(1), 91–98.

Depledge, W.H., Fossi, & M.C., (1994). The role of biomarkers in environmental assessment (2). *InvertebratesEcotoxicology* 3,161-172.

Davis, A.R., Ayre, D.J., Billingham, M.R., Stylan, C.A., & White, G.A. (1996). The encrusting sponge *Halisarcus laxus*: population genetics and association with the ascidian *Pyura spinifera*. *Mar. Biol.* 126,27–33.

Deavall, D.G., Martin, E.A., Horner, J.M., & Roberts, R. (2012). Drug-induced oxidative stress and toxicity. *Journal of Toxicology*, 2012, 645460.

De Caralt, S., & Cebrian, E. (2013). Impact of an invasive alga (*Womersleyella setacea*) on sponge assemblages: compromising the viability of future populations. *Biological Invasions*, 15:1591-1600.

De Forest, D., Brix, K., & Adams, W. (2007). Assessing metal bioaccumulation in aquatic environments: The inverse relationship between bioaccumulation factors, trophic transfer factors and exposure concentration. *Aquatic Toxicology*, 84, 236–246.

De Goeij, J. M., van Oevelen, D., Vermeij, M. J. A., Osinga, R., Middelburg, J. J., de Goeij, A. F. P. M., & Admiraal, W. (2013). Surviving in a Marine Desert: The Sponge Loop Retains Resources within Coral Reefs. *Science*, 342(6154), 108–110.

De Marco, G., Afsa, S., & Galati, M. (2022). Time- and dose-dependent biological effects of a sub-chronic exposure to realistic doses of salicylic acid in the gills of mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 88161–88171.

De Mestre, C., Maher, W., Roberts, D., Broad, A., Krikowa, F., & Davis, A. R. (2012). Sponges as sentinels: Patterns of spatial and intra-individual variation in trace metal concentration. *Marine Pollution Bulletin*, 64(1), 80–89.

de Montaudouin, X., Paul-Pont, I., Lambert, C., Gonzalez, P., Raymond, N., Jude, F., Legeay, A., Baudrimont, M., Dang, C., Le Grand, F., Le Goïc, N., Bourasseau, L., & Paillard, C. (2010). Bivalve population health: multistress to identify hot spots. *Marine Pollution Bulletin*, 60, 1307–1318.

Depledge, M. H., Amaral-Mendes, J. J., Daniel, B., Halbrook, R. S., Kloepper-Sams, P., Moore, M. N., & Peakall, D. B. (1993). The conceptual basis of the biomarker approach. Biomarkers: Research and Application in the assessment of Environmental Health, NATO ASI Series H: *Cell Biology*. Springer Verlag, Berlin, 68: 15-29.

Depledge, M.H. (1989). The rational basis for detection of the early effects of marine pollution using physiological indicators. *Ambio*, 18, 301-2.

Depledge, M.H. (1992). Conceptual paradigms in marine ecotoxicology. In Bjornstad, E., Hagerman, L. and Jense, K. eds. *Proceedings of the 12th Baltic Marine Biologists Symposium*, pp. 47-52. Fredensborg, Denmark: Olsen & Olsen.

Depledge, M.H. (1993). The rational basis for the use of biomarkers as ecotoxicological tools. In Fossi, M.C. and Leonzio, C. eds. *Nondestructive biomarkers in vertebrates*, pp. 261-85. FL: Lewis.

Depledge, M. H., & Fossi, M. C. (1994). *The role of biomarkers in environmental assessment (2). Invertebrates. Ecotoxicology*, 3(3), 161–172.

Deponte, M. (2013). Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione dependent enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830, 3217–3266.

Derbal F. & Kara M.H. (2005). Contribution à l'inventaire de la faune invertébrée des côtes de l'est algérien. In : INOC & Coastal Protected Areas (Eds. Chouikhi A. & M. Menioui): 237-246.

Derbal F. (2007). L'ichtyofaune des côtes de l'est algérien: écologie de quatre téléostéens (*Diplodus cervinus cervinus*, *D. puntazzo*, *sciaena umbrae*, *epinephelus costae*) et contribution à la biologie du sar tambour *diplodus cervinus cervinus* (lowe, 1838). Thèse de Doctorat d.,Etat en Sciences Naturelles Option: Biologie et écologie des populations, Université Badji Mokhtar d'Annaba : 213 P.

De-Santo, E.M., & Fell, P.E. (1996). Distribution and ecology of freshwater sponges in Connecticut. *Hydrobiologia*, 341, 81–89.

DHWA, (2008). Direction d'hydraulique wilaya d'Annaba. Consultée 20/05/2020 h: 15.00.

Di Camillo, C.G., Coppari, M., Bartolucci, I., Bo, M., Betti F., Bertolino, M., Calcinai, B., Cerrano, C., De Grandis, G., & Bavestrello, G. (2012). Temporal variations in growth and

reproduction of *Tedania anhelans* and *Chondrosia reniformis* in the North Adriatic Sea. *Hydrobiologia*, 687, 299–313.

Dickson, D.A., & Forman, H.J., (2002). Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochemical Pharmacology*, 64, 1019–1026.

Di Leonardo, R., Vizzini, S., Bellanca, A., & Mazzola, A. (2009). Sedimentary record of anthropogenic contaminants (trace metals and PAHs) and organic matter in a Mediterranean coastal area (Gulf of Palermo, Italy). *Journal of Marine Systems*, 78(1), 136-145.

Dohnal, V., Wu, Q., & Kuca, K., (2014). Metabolism of aflatoxins: key enzymes and inter individual as well as interspecies differences. *Archives of Toxicology*, 88, 1635–1644.

Dohrmann, M., Kelley, C., Kelly, M., Pisera, A., Hooper, J. N. A., & Reiswig, H. M. (2017). An integrative systematic framework helps to reconstruct skeletal evolution of glass sponges (Porifera, Hexactinellida). *Frontiers in Zoology*, 14(1).

Doney, S.C., Balch, W.M., Fabry, V.J. & Feely, R.A. (2009a). Ocean acidification: a critical emerging problem for the ocean sciences. *Oceanography*, 22, 16–25.

Doney, S.C., Fabry, V.J., Feely, R.A., & Kleypas, J.A. (2009b). Ocean acidification: the other CO₂ problem. *Annual Review of Marine Science*, 1, 169–192.

Dong, J., Yang, Q.W., Sun, L.N., Zeng, Q., Liu, S.J., & Pan, J. (2011). Assessing the concentration and potential dietary risk of heavy metals in vegetables at a Pb/Zn mine site, China. *Environmental Earth Sciences*, 64, 1317–21.

Douhri, H., & Sayah, F. (2009). The use of enzymatic biomarkers in two marine invertebrates *Nereis diversicolor* and *Patella vulgata* for the biomonitoring of Tangier's bay (Morocco). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(2), 394–399.

Duran, S., Pascual, M., Estoup, A., & Turon, X. (2004). Strong population structure in the marine sponge *Crambe crambe* (Poecilosclerida) as revealed by microsatellite markers. *Molecular Ecology*, 13, 511–522.

Dreosti, I.E. (2001). Zinc and the gene. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 475:161–7.

Driedzic, W.R. & P.W. Hochachka. (1978). Metabolism in fish during exercise, pp. 503-543. In: W.S. Hoar & D.J. Randall (ed.) *Fish Physiology*, Vol. 7, Academic Press, New York.

Dringen, R., Gutterer, J.M., & Hirrlinger, J. (2000). Glutathione metabolism in brain: metabolic interaction between astrocytes and neurons in the defense against reactive oxygen species, *European Journal of Biochemistry*, 267(16), 4912-4916.

Ekong, E.B, Jaar, B.G., & Weaver, V.M. (2006). Lead-related nephrotoxicity: A review of the epidemiologic evidence. *Kidney International*, 70, 2074–84.

EPA, U. (2014). Toxic and Priority Pollutants under the Clean Water Act. (p. Appendix A to Part 423-126 Priority Pollutants). p. Appendix A to Part 423-126. Priority Pollutants.

EPAUS, (2009). Occurrence of Contaminants of Emerging Concern in Wastewater from Nine Publicly Owned Treatment Works.

Ereskovsky, A.V. (2010). The comparative embryology of sponges. Springer-Verlag, Dordrecht, Heidelberg, London, New York, 285 pp.

Ereskovsky, A. V., Geronimo, A., & Pérez, T. (2017). Asexual and puzzling sexual reproduction of the Mediterranean sponge *Haliclona fulva* (Demospongiae): life cycle and cytological structures. *Invertebrate Biology*, 136(4), 403-421.

- Ereskovsky, A.V., Borchiellini, C., Gazave, E., Ivanišević, J., Lapébie, P., Pérez, T., Renard, E. & Vacelet, J. (2009a).** The Homoscleromorph sponge *Oscarella lobularis*, a promising sponge model in evolutionary and developmental biology. *Bio Essays*, 31, 89–97.
- Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., & Jürgens, G. (1992).** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology and Medicine*, 13(4), 341–390.
- Estrada, M. (1996).** Primary production in the northwestern. Mediterranean. *Sci Mar* 60:55–64
- Fabry, V.J., McClintock, J.B., Mathis, J.T. & Grebmeier, J.M. (2009).** Ocean acidification at high latitudes: the Bellwether. *Oceanography*, 22, 160–171.
- Facchinelli, A., Sacchi, E., & Mallen, L. (2001).** Multivariate statistical and GIS-based approach to identify heavy metal sources in soils. *Environmental Pollution*, 114:313–24.
- Fanelli, G., Portacci, G., & Boero, F. (2003).** Patches of *Chondrilla nucula*: high biodiversity spots within low biodiversity barrens. EMBS 38. *Book of abstracts*, 127.
- FAO (Food and Agriculture Organization) Preamble and annexes, (2000).** Codex general standard for contaminants and toxins in food. CODEX-STAN 193–1995 (Rev.1– 1997) Joint FAO/WHO Food Standards Programme. FAO, Rome, Italy
- Fautin, DG. (2002).** Reproduction of Cnidaria. *Canadian Journal of Zoology*, 80:1735–1754.
- Fearman, J., & Moltschanivskyj, N.A. (2010).** Warmer temperatures reduce rates of gametogenesis in temperate mussels, *Mytilus galloprovincialis*. *Aquacultura*. 305, 20–25.
- Fell, P.E., (1993).** Reproductive biology of invertebrates. Asexual propagation and reproductive strategies. In: Adyodi, K.G., Adyodi, R.G. (Eds.), *Porifera. John Wiley & Sons, Chichester*, pp. 1–44.
- Fell, P.E. (1976a).** Analysis of reproduction in sponge populations: an overview with speciWc information on the reproduction of *Haliclona loosano*Y. In: Cowden FW (ed) *Aspects of sponge biology. Academic Press, London*, pp 51–67.
- Fernandes, C., Fontainhas Fernandes, A., Peixotoc, F., & Salgado, M.A. (2007).** Bioaccumulation of heavy metals in *Liza saliens* from the Esmoriz –Paramos coastal lagoon, Portugal. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66(3), 426–431.
- Fernández, B., Campillo, J.A., Martínez-Gómez, C., & Benedicto J. (2010).** Antioxidant responses in gills of mussel (*Mytilus galloprovincialis*) as biomarkers of environmental stress along the Spanish Mediterranean coast. *Aquatic Toxicology*, 99(2), 186–197.
- Fernandez-Maestre, R., Johnson-Restrepo, B., & Olivero-Verbel, J., (2018).** Heavy metals in sediments and fish in the Caribbean coast of Colombia: assessing the environmental risk. *International Journal of Environmental Research*, 1–13.
- Fernando, G., & Antonio, P. (2001).** Biomarkers as biological indicators of xenobiotic exposure. *Journal of Applied Toxicology*. 21(4), 245–255.
- Fernando, R. T., Salibián, A., & Ferrari, L., (2007).** Assessment of the pollution impact on biomarkers of effect of a freshwater fish. *Chemosphere*, 68(8), 0–1590.
- Ferrante, M., Vassallo, M., Mazzola, A., Brundo, M. V., Pecoraro, R., Grasso, A., & Copat, C. (2018).** In vivo exposure of the marine sponge *Chondrilla nucula* Schmidt, 1862 to cadmium (Cd), copper (Cu) and lead (Pb) and its potential use for bioremediation purposes. *Chemosphere*, 193, 1049–1057.
- Fogarasi E, Croitoru MD, Fülöp L, et al. (2016).** Malondialdehyde levels can be measured in serum and saliva by using a fast HPLC method with visible detection / Determinarea printr-o metodă HPLC-VIS rapidă a concentrațiilor serice și salivare ale malondialdehidei. in *Revista Romana de Medicina de Laborator*, 319.

Franco, R., Panayiotidis, M.I., & Cidlowski, J.A. (2007). Glutathione depletion is necessary for apoptosis in lymphoid cells independent of reactive oxygen species formation, *Journal of Biological Chemistry*, 282(42), 30452-30465.

Franco, R., & Cidlowski, J. (2009). Apoptosis and glutathione: beyond an antioxidant. *Cell Death & Differentiation*, 16(10), 1303.

Frehi, H., Ayada, M., Kara, M.H., & Coute, A. (2007). Hydrobiologie de la baie d'Annaba (Algérie nord est): Caractères physico-chimiques et biomasse chlorophyllienne. *Rapp. Comm. int. Mer Méditer.*, 37. 359 p.

Fromont, J. (1999). Reproduction of some demosponges in a temperate Australian shallow water habitat. *Memoirs of Queensland Museum*, 44,185-192

Frid, C.L.J., & Caswell, B.A. (2017). Marine pollution. Oxford University Press, Oxford.

Friberg, N., Bonada, N., Bradley, D. C., Dunbar, M. J., Edwards, F. K., Grey, J., & Woodward, G. (2011). Biomonitoring of Human Impacts in Freshwater Ecosystems. *Advances in Ecological Research*, 1–68.

Fry, F.E.J. (1971). The effect of environmental factors on the physiology of fish. pp. 1-98. In: W.S. Hoar & D.J. Randall (ed.) *Fish Physiology*, Vol. 6, Academic Press, New York.

Fu, F., Wang, Q. (2011). Removal of heavy metal ions from wastewaters: a review. *Journal of Environmental Management*, 92, 407–418.

Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Escriche, I., Serra, J.A. (2009). Comparison of physicochemical parameters and composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk.) from different Spanish origins. *Food Chemistry*, 112: 295–302.

Funayama, N. (2018). The cellular and molecular bases of the sponge stem cell systems underlying reproduction, homeostasis and regeneration. *The International Journal of Developmental Biology*, 62, 513–525.

Funes, V., Asensio, E., Ponce, M., Infante, C., Cañavate, J.P. Manchado, M. (2006). Insulin-like growth factors I and II in the sole *Solea senegalensis*: cDNA cloning and quantitation of gene expression in tissues and during larval development. *General Comparative Endocrinology*, 149, 166–172.

Gallisan, M.F. (1981). Etude ultrastructurale de l'ovogenèse chez quelques éponges calcaires (Porifera, Calcarea). *Archives de zoologie expérimentale et générale*, 122(4), 329–340.

Gaino, E. (1980). Indagine ultrastrutturale sugli ovociti maturi di *Chondrilla nucula* Schmidt (Porifera, Demospongiae). *Cahier de Biologie Marine*, 21, 11-22.

Gaino, E., & Coll, B. (1987). Ultrastructural study of oogenesis and fertilization in *Sycon ciliatum* (Porifera, Calcispongiae). *Invertebrate Reproduction and Development*, 11, 73–82.

Gaino, E., Pansini, M., & Pronzato, R. (1977). Aspects of the association between *Chondrilla* Schmidt microorganisms (Demospongiae) symbionts (cyanophytic bacteria) under natural experimental conditions. *Cahier de Biologie Marine*, 18, 303-310.

Gaino, E., Mercurio, M., Sciscioli, M., & Corriero, G. (2009). Choanocyte chambers in unreleased buds of *Tethya seychellensis* (Wright, 1881) (Porifera, Demospongiae). *Italian Journal of Zoology*. 76, 64–9.

Gaino, E., & Pronzato, R. (1983). Electron microscopy study of the filament of the stretched forms in *Chondrilla nucula* (Porifera, Demospongiae). *Annales des Sciences Naturelles et Zoologie*. 5, 221-234.

- Gall, J. E., Boyd, R. S., & Rajakaruna, N. (2015).** Transfer of heavy metals through terrestrial food webs: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(4), 187- 201
- García-Giménez, J.L., P& allardó, F.V. (2014).** Maintenance of glutathione levels and its importance in epigenetic regulation, *Frontiers in Pharmacology*, 5 (88), 223-445.
- Garcion, E., Wion-Barbot, N., Montero-Menei, C.N., Berger, F., & Wion, D. (2002).** New clues about vitamin D functions in the nervous system. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 13(3), 100-5.
- Garrabou, J., & Zabala, M. (2001).** Growth dynamics of four Mediterranean Demosponges. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 5, 293–303.
- Gazave, E., Lapebie, P., Ereskovsky, A.V. et al. (2012).** No longer Demospongiae: Homoscleromorpha formal nomination as a fourth class of Porifera. *Hydrobiologia* 687(1), 3–10.
- Gherardi, R.K., Plonquet, A., André C., Intrator L., & Coquet M. (2001).**Macrophagic myofasciitis: evidence for chronic local and systemic immune activation associated with persistence of aluminium hydroxide-loaded macrophages in muscle. *Neurology*. 56 (3) : 62.
- Giangrande, A., Geraci, S., & Belmonte, G. (1994).** Life-cycle and life-history diversity in marine invertebrates and the implications in community dynamics. *Oceanography and Marine Biology, an Annual Review* 32, 305-333. *Marine Biology, an Annual Review*, 32, 305-333.
- Giarratano, E., Duarte, C.A., & Amin, O.A. (2010).**Biomarkers and heavy metal bioaccumulation in mussels transplanted to coastal waters of the Beagle Channel. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73, 270-279.
- Giarratano, E., Gil, M. N., & Malanga, G. (2013).** Assessment of antioxidant responses and trace metal accumulation by digestive gland of ribbed mussel *Aulacomya atra atra* from Northern Patagonia. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 92, 39–50.
- Giese, A. C. & Pearse, J. S. (1974).** Introduction: general principles. In *Reproduction of Marine Invertebrates*. Vol. I (A. C. Giese and J. S. Pearse, Eds), pp. 546. Academic Press, London.
- Ghannem S, Touaylia S, and & Boumaiza M. (2018).** Beetles (Insecta: Coleoptera) as bioindicators of the assessment of environmental pollution. *Human and Ecological Risk Assessment*, 24(2), 456–64.
- Gobas, F.A.P.C., & Morrison, H.A. (2000).** Bioconcentration and bio- magnification in the aquatic environment. In: Boethling, R.S., Mackay, D. (Eds.), *Handbook of Property Estimation Methods for Chemicals*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 189-231.
- 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. *Marine Environmental Research*, 65(1), 34–49.
- Gorell J. M., Johnso C. C., & Rybicki B. A. (1999).** Occupational exposure to manganese, copper, lead, iron, mercury and zinc and the risk of Parkinson's disease. *Neurotoxicology*. 20(2-3), 239-247.
- Guettaf, M. (2007).** Aspects chimiques des apports de l'oued Seybouse au littoral d'Annaba. Apports en azote, phosphore et en matières organiques, Magistère, Université d'Annaba.
- Gunel, İ. (2004).** Mediterranean Sea will die, Radikal newspaper <http://www.radikal.com.tr/haber.php?haberno=111649> (in Turkish, last accessed: 30.04.2008) in **Akkartal, A., and F. Sunar. (2008).** “The Usage of RADAR Images in Oil Spill Detection.” *The International Archives of the Photogrammetry, Remote Sensing and Spatial Information Sciences*, 37, 271–277.

- Hopps, H.C. (1977).** The biologic bases for using hair and nail for analyses of trace elements. *Science of the Total Environment*, 7, 71–89.
- Grip, K. (2017).** International marine environmental governance: a review. *Ambio*, 46 (4), 413–427.
- Guardiola, M., Frotscher, J., & Uriz, M.J. (2012).** Genetic structure and differentiation at a short time scale of the introduced calcarean sponge *Paraleucilla magna* to the western Mediterranean. *Hydrobiologia*, 687, 71–84.
- Gattuso, J.P. & Buddemeier, R.W. (2000).** Ocean biogeochemistry: calcification and CO₂. *Nature*, 407, 311–313.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., & Jakoby, B. (1974).** Glutathione-S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249 (22), p. 7130–7139.
- Hadas, E., Shpigel, M., & Ilan, M. (2009).** Particulate organic matter as a food source for a coral reef sponge. *Journal of Experimental Biology*, 212(22), 3643–3650.
- Hafsaoui, I., Draredja, B., Lasota, R., Como, S., & Magni, P. (2016a).** Population dynamics and secondary production of *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) in the Gulf of Annaba (Northeast Algeria). *Mediterranean Marine Science*. 17,738–750.
- Hafsaoui, I., Bouaziz, R., Draredja, B., & Beldi, H. (2016b).** Reproduction cycle of *Donax trunculus* (Mollusca. Bivalvia) in the gulf of Annaba (Northeast Algeria). *Advances in Environmental Biology*. 10(5),82–95.
- Hall, V.R., & Hughes, T.P. (1996).** Reproductive strategies of modular organisms: comparative studies of reef-building corals. *Evolution*, 77, 950–963.
- Hamdani, A. (2012).** La reproduction chez un mollusque bivalve *Donax trunculus* L. dans le golfe d'Annaba. Rapport entre les aspects cytologiques et biochimiques et la pollution. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar d'annaba: 192p.
- Hamdani, A., Soltani, N. & Zaidi, N. (2020).** Growth and reproduction of *Donax trunculus* from the Gulf of Annaba (Northeast Algeria) in relation to environmental conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 41656–41667.
- Hamelink, J.L., Landrum, P.F., Bergman, H.L., & Benson, W.H. (Eds.). (1994).** Bioavailability: Physical, Chemical, and Biological Interactions. SETAC Special Publication. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Hamilton, J.(2010).**What is Itai-Itai disease. <http://www.accessscience.com/studycenter.aspx?main=9&questionID=4978>
- Hansen, I.V., Weeks, J.M., & Depledge, M.H. (1995).** Accumulation of copper, zinc, cadmium and chromium by the Marine sponge *Halichondria panicea* Pallas and the implications for biomonitoring. *Marine Pollution Bulletin*, 31,133–138.
- Harrison, P.L., & Wallace, C.C. (1990).** Reproduction, dispersal and recruitment of scleractinian corals. In: Dubinsky Z (Ed) *Ecosystems of the world: coral reefs*. Elsevier Science, New York, pp 133–207.
- Hayes, J.D., Flanagan, J.U., & Jowsey, I.R., (2005).** Glutathione transferases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45, 51–88.
- Harwell, M.A., Cropper, W.P. & Ragsdale, H.L. (1978).** Nutrient cycling and stability: a reevaluation. *Ecology* 58, 600-6.
- Hayes, J.D., & McLellan, L.I., (1999).** Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a coordinately regulated defense against oxidative stress. *Free Radical Research*, 31, 273–300.

Hochachka, P.W. (1982). Anaerobic metabolism: living without oxygen. pp. 138-150. In: C.R. Taylor, K. Johansen & L. Bolis (ed.) *A Companion to Animal Physiology*, Cambridge University Press, Cambridge.

Hidouci, S. (2015). Impact des rejets urbains et industriels sur la qualité environnementale du littoral d'Annaba. Thèse de Doctorat, Option : sciences de la mer. Université Badji Mokhtar. Annaba. Algérie.124p.

Hinga, K. R. (2002). Effects of pH on coastal marine phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*, 238, 281 - 300.

Ho, E., Karimi Galougahi, K., Liu, C.C., Bhindi, R., & Figtree, G.A. (2013). Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice, *Redox Biol*, 1, 483–491.

Hooper JNA. (1994). Coral reef sponges of the Sahul shelf: a case for habitat preservation. *Mem Queensl Mus*, 36:93–106

Hooper, J. N. A. & R. W. M. van Soest. (2002). *Systema Porifera. A guide to the classification of sponges.* Kluwer Academic/Plenum Publ., New York.

Hosono, T., Su, C., Delinom, R., Umezawa, Y., Toyota, T., Kaneko, S., Taniguchi, M. (2011). Decline in heavy metal contamination in marine sediments in Jakarta Bay, Indonesia due to increasing environmental regulations. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 92, 297–306.

Hryhorczuk, D. O., Moomey, M. A., Burton, A., Runkle, K., Chen, E., Saxer, T., Slightom, J., Dimos, J., McCann, K., & Barr, D. (2002). Urinary p-nitrophenol as a biomarker of household exposure to methyl parathion. *Environmental Health Perspectives*, 110(suppl. 6), 1041–1046.

Huang, D., Ou, H., Wang, D., Chen, J., & Ding, S. (2016). Sexual reproduction of the potentially cultivable sponge *Mycale phyllophila* (Porifera, Demospongiae). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 96(5), 1073-1081.

Hu, G.P., Yuan, J., Sun, L., She, Z.G., Wu, J.H., Lan, X.J., Zhu, X., Lin, Y.C., & Chen, S.P. (2011). Statistical research on marine natural products based on data obtained between 1985 and 2008. *Marine Drugs*, 9(4), 514–525

Hughes, L. (2000). Biological consequences of global warming: is the signal already apparent? *Trends in Ecology & Evolution*. 15, 56–61.

Hultgren, K. M. & J. E. & Duffy. (2010). Sponge host characteristics shape the community structure of their shrimp associates. *Marine Ecology Progress Series*, 407, 1–12.

Hunter, C.L., (1993). Genotypic variation and clonal structure in coral populations with different disturbance histories. *Evolution* 47, 1213–1228.

Huschek, G., & Hansen, P.D. (2005). Ecotoxicological classification of the Berlin river system using bioassays in respect to the European water framework directive. *Environmental Monitoring and Assessment*. 121, 15–31.

Hydes, D. J., de Lange, G. J., & de Baar, H. J. W. (1988). Dissolved Mediterranean. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 52, 2107-2114.

ICES, (2008). Report of the Fourth ICES/OSPAR Workshop on Integrated Monitoring of Contaminants and their Effects in Coastal and Open Sea Areas (WKIMON IV). ICES, Copenhagen, Denmark. ICES CM 2008/ACOM: 49) 71 p.

IFREMER, (2006). Rapport d'activités 2005 du département « biogéochimie et écotoxicologie » .r.int.dcn.-be/2006.05/Nantes.

- Inal, A., Boulahdid, M., Angelleti, B., & Radakovitch, O. (2018).** Levels and ecological risk assessment of heavy metals in surface sediments of fishing grounds along Algerian coast. *Marine Pollution Bulletin*, 136, 322–333.
- Jafarabadi, A.R., Bakhtiyari, A.R., Toosi, A.S., & Jadot, C. (2017).** Spatial distribution, ecological and health risk assessment of heavy metals in marine surface sediments and coastal seawaters of fringing coral reefs of the Persian Gulf, Iran. *Hemisphere*, 185, 1090–1111.
- Järup, L. (2003).** Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin*, 68(1), 167–182.
- Javed, M., & Usmani, N. (2013).** Assessment of heavy metal (Cu, Ni, Fe, Co, Mn, Cr, Zn) pollution in effluent dominated rivulet water and their effect on glycogen metabolism and histology of *Mastacembelus armatus*. *Springer Plus*, 2:Article No. 390.
- Javed, M., & Usmani, N. (2015).** Stress response of biomolecules (carbohydrate, protein and lipid profiles) in fish *Channa punctatus* inhabiting river polluted by Thermal Power Plant effluent. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(2), 237–42.
- Jura, C. (1988).** Biology of insect development as a field of natural sciences. In: Jura, C. (Ed.), *Biology of Insect Development*. PWN, Warszawa, pp. 11–20.
- Jensen, M., Keding, R., & Yue, Y. (2011).** Microscopic features of biologically formed amorphous silica. In: Lilyana P (ed), *On Biomimetic In Technologies*, Chapter 20, Croatia, pp 439–452.
- Johnston, I. S., & Hildemann, W. H. (1982).** Cellular organization in the marine demosponge *Callyspongia diffusa*. *Marine Biology*, 67(1), 1–7.
- Jozefczak, M., Remans, T., Vangronsveld, J., & Cuypers, A. (2012).** Glutathione Is a Key Player in Metal-Induced Oxidative Stress Defenses. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(3), 3145–3175.
- Kadri, S. E. H. (2015).** Qualité bactériologique des eaux du littoral Nord Est Algérien. Thèse de Doctorat. Option : biologie et physiologie des organismes marins. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. 191p.
- Kagley, A.N., Snider, R.G., Krishnakumar, P.K., Casillas, E. (2003).** Assessment of seasonal variability of cytochemical responses to contaminant exposure in the blue mussel *Mytilus edulis* (complex). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 44, 43–52.
- Kaimoussi, A., Chafik, A., Chegour, M., Mouzdahir, A., et Bakka, S. (2000).** Seasonal variation of metal concentration (Cd, Cu, Zn, Fe and Mn) in mussel *Mytilus galloprovincialis* from El Jadida coastline (Morocco), *Marine Life*, 10, 2000, pp. 77-85.
- Kaiser, J. (2001).** Bioindicators and biomarkers of environmental pollution and risk assessment. *Science Publishers*, 45-52
- Kaiser, S., Smith, C. R., & Martínez Arbizu, P. (2017).** Editorial: biodiversity of the Clarion Clipperton Fracture Zone. *Marine Biodiversity*. 47, 259–264 (2017)
- Kapela, W., & Lasker, H.R. (1999).** Size-dependent reproduction in the Caribbean gorgonian *Pseudoplexaura porosa*. *Mar Biol* 135:107–114.
- Karayücel, S & Karayücel, I. (2000).** The effect of environmental factors, depth and position on the growth and mortality of raft-cultured blue mussels (*Mytilus edulis* L.). *Aquaculture Research*, 31, 893-899.
- Keblouti, K., Ouerdachi, K., Berhail, S. (2015).** The use of weather radar for rainfall runoff modeling, case of Seybouse watershed (Algeria). *Arabian Journal of Geosciences*, 8, 1-11.

- Kelly, J.R. & Harwell, M.A. (1989).** Indicators of ecosystem response and recovery. In Levin, S.A., Harwell, M.A., Kelly, J.R. and Kendall, K.P. eds. pp. 9-35. New York: Springer-Verlag.
- Kerdoussi, A. (2010).** La moule *Perna perna* peuplant le gofle d'Annaba : croissance, reproduction et qualité bactériologique: synécologie fonctionnelle des communautés et parasitisme en milieu aquatique. Thèse de Doctoral, Université Badji Mokhtar, Annaba (Algérie), 167p.
- Khan, K., Lu, Y., Khan, H., Zakir, S., Ihsanullah, Khan, S., Wang, T. (2013).** Health risks associated with heavy metals in the drinking water of Swat, northern Pakistan. *Journal of Environmental Sciences*, 25(10), 2003–2013.
- Khati-Hadj Moussa, W. (2009).** Etude de la qualité des eaux du golfe d'annaba par l'utilisation d'un mollusque sentinelle, la moule (*Perna perna*). Thèse de Doctoral, Université Badji Mokhtar, Annaba (Algérie), 177p.
- Khati, W., Bensafia, N., Ouali, K., & Derbal, F. (2018).** Sponges (Porifera) as bioindicator species of environmental stress from de Gulf of Annaba (Algeria). *Biodiversity Journal*, 2018, 9 (4), 319–324.
- Khati, W., Ouali, K., Mouneyrac, C., & Banaoui, A. (2012).** Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use in biomonitoring. *Energy Procedia*, 18, 784-794.
- Khebbeb, M.E.H., Nadji, S., & Amrani, A. (2010).** The effect of cadmium exposure on malonaldehyde and reduced glutathione concentrations in several tissues of a bivalve mollusc (*Ruditapes decussatus*) fished from Mellah lagoon (North East of Algeria). *Annals of Biological Research*, 1, 166-173.
- Klautau, M., Imešek, M., Azevedo, F., Pleše, B., Nikolić, V. & Četković, H. (2016).** Adriatic calcarean sponges (Porifera, Calcarea), with the description of six new species and a richness analysis. *European Journal of Taxonomy*. 178, 1–52.
- Klautau, M., Russo, C.A.M., Lazoski, C., Boury-Esnault, N., Torpe, J., & Solé-Cava A. (1999).** Does cosmopolitanism result from over conservative systematics? A case study using the marine sponge *Chondrilla nucula*. *Evolution*, 53(5), 1414-1422.
- Kleypas, J.A. & Yates, K.K. (2009b).** Coral reefs and ocean acidification. *Oceanography*, 22, 108–117.
- Knox, B., Ladiges, P., & Evans, B. (1994).** Biology. McGraw Hill, Australia.
- Kowalke, J. (2000).** Ecology and energetics of two Antarctic sponges. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 247, 85–97.
- Koutsouveli, V., Taboada, S., Moles, J., Cristobo, J., Ríos, P., Bertran, A., Solà, J., Avila, C., & Riesgo, A. (2017).** Insights into the reproduction of some Antarctic dendroceratid, poecilosclerid, and haplosclerid demosponges. *PLOS ONE*, 13(2), e0192267.
- Koźmińska, A., Wiszniewska, A., Hanus-Fajerska, E., & Muszyńska, E. (2018).** Recent strategies of increasing metal tolerance and phytoremediation potential using genetic transformation of plants. *Plant Biotechnology Reports*, 12, 1–14.
- Kumari, B., Kumar, V., & Sinha, A.K., et al. (2017).** Toxicology of arsenic in fish and aquatic systems. *Environmental Chemistry Letters*, 15(1), 43–64.
- Laborde, E. (2010).** Glutathione transferases as mediators of signaling pathways involved in cell proliferation and cell death. *Cells Death & Differentiation*, 17, 1373–1380.
- Lafabrie, C., Pergent, G., Kantin, R., Pergent-Martini, C., & Gonzalez, J.L. (2007).** Trace metals assessment in water, sediment, mussel and seagrass species–validation of the use of *Posidonia oceanica* as a metal biomonitor. *Chemosphere*, 68 (11), 2033–2039.

- Lagadic, L., Caquet, Th., Amiard, J.C., & Ramade, F. (1997).** Biomarqueurs en écotoxicologie: principes et de`finitions. In: Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., Ramade, F. (Eds.), *Biomarqueurs en Ecotoxicologia, Aspects Fondamentaux*. Masson, Paris, pp. 1–9.
- Lage, A., Gerovasileiou, V., Voultziadou, E., & Muricy, G. (2018).** Taxonomy of Plakina (Porifera: Homoscleromorpha) from Aegean submarine caves, with descriptions of three new species and new characters for the genus. *Marine Biodiversity*, 1– 21.
- Lam, P.K.S., (2009).** Use of biomarkers in environmental monitoring. *Ocean Coast Manag*, 52,348-354.
- Lanna, E., Cajado, B., Santos, D., Cruz, F., Oliveira, F., & Vasconcellos, V. (2018a).** Outlook on sponge reproduction science in the last ten years: are we far from where we should be? *Invertebrate Reproduction & Development*, 1–10.
- Lanna, E., Cajado, B., Santos-da Silva, C., Da Hora, J., Porto, U, & Vasconcellos, V. (2018b).** Is the Orton’s rule still valid? Tropical sponge fecundity, rather than periodicity, is modulated by temperature and other proximal cues. *Hydrobiologia*, 815, 187-205.
- Lanna E, Paranhos R, Paiva PC, & Klautau M. (2015).** Environmental effects on the reproduction and fecundity of the introduced calcareous sponge *Paraleucilla magna* in Rio de Janeiro, Brazil. *Marine Ecology*, 36:1075-1087.
- Lari, E., Gauthier, P., Mohaddes, E., & Pyle, G. G. (2017).** Interactive toxicity of Ni, Zn, Cu, and Cd on *Daphnia magna* at lethal and sub-lethal concentrations. *Journal of Hazardous Materials*, 334, 21–28.
- Larsen, P. S. & Riisgård, H. U. (1994).** The sponge pump. *Journal of Theoretical Biology*, 168, 53-63.
- Laouati, I (2021).** Evaluation des risques toxiques des rejets industriels et urbains sur la santé via un indicateur biologique la moule Africaine *Perna perna* : utilisation de la méthode caging. Thèse de Doctorat LMD, Université Badji Mokhtar, Annaba, 78 p.
- Laouati, I., Rouane-Hacene, O., Derbal, F. & Ouali, K. (2021).** The mussel caging approach in the assessment of trace metal contamination in southern Mediterranean coastal waters: a multibiomarker study. *Environmental Science and Pollution Research*. 28(44), 63032-63044.
- Lee, R. F., Keeran, W. S., & Pickwell, G. (1988).** Marine invertebrate glutathione-Stransferases: Purification, characterization and induction. *Marine Environmental Research*, 24, 97-100.
- Legeay, A., Achard-Joris, M., Baudrimont, M., Massabuau, J.-C., & Bourdineaud, J.-P. (2005).** Impact of cadmium contamination and oxygenation levels on biochemical responses in the Asiatic clam *Corbicula fluminea*. *Aquatic Toxicology*, 74(3), 242–253.
- Lepore, E., Sciscioli, M., Scalera Liaci, L., Santarelli, G., & Gaino, E. (2000).** Sexual reproduction of *Cinachyra tarentina* (Porifera, Demospongiae). *Italian Journal of Zoology*, 67, 153–158.
- Leys, S.P., & Ereskovsky, A.V. (2006).** Embryogenesis and larval differentiation in sponges. *Canadian Journal of Zoology*, 84, 262–287.
- Li, G.H., Cao, Z.M., Lan, D.Z., Xu, J., Wang, S.S., & Yin, W.H. (2007).** Spatial variations in grain size distribution and selected metal contents in the Xiamen Bay, China. *Environmental Geology*, 52, 1559–1567.
- Li, J., He, M., Han, W., & Gu, Y. (2009).** Analysis and assessment on heavy metal sources in the coastal soils developed from alluvial deposits using multivariate statistical methods. *Journal of Hazardous Materials*. 164, 976–981.

- Li, W., Busu, C., Circu, M. L., & Aw, T. Y. (2012).** Glutathione in Cerebral Microvascular Endothelial Biology and Pathobiology: Implications for Brain Homeostasis. *International Journal of Cell Biology*, 2012, 1–14.
- Liu, J.J., Ni, Z.X., Diao, Z.H., Hu, Y.X., & Xu, X.R. (2018).** Contamination level, chemical fraction and ecological risk of heavy metals in sediments from Daya Bay, South China Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 128, 132–139.
- Liu, J., McCauley, L., Yan, C., Shen, X., & Pinto-Martin, J. A. (2012).** Low blood lead levels and hemoglobin concentrations in preschool children in China. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 94(2), 423–426.
- Llanos, R.M., & Mercer, J.F.B. (2002).** The molecular basis of copper homeostasis and copper-related disorders. *DNA and Cell Biology*, 21, 259–70.
- Loutfy, N., Mentler, A., Shoeb, M., Ahmed, M. T., & Fuerhacker, M. (2012).** Analysis and exposure assessment of some heavy metals in foodstuffs from Ismailia city, Egypt. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 94, 78–90.
- Luoma S. N., & Rainbow P. S. (2008).** Metal contamination in Aquatic Environments - Science and Lateral Management. Cambridge University Press, New York. 588 pp.
- Luo, J., Ye, Y., Gao, Z., & Wang, W. (2014).** Essential and nonessential elements in the red-crowned crane *Grus japonensis* of Zhalong Wetland, northeastern China. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 96(7), 1096–1105.
- Lushchak, V.I. (2012).** Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. *Journal of Amino Acids*, 736837.
- Luzzatto, L., & Mehta, A. (1989).** Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. In *The metabolic basis of inherited disease*, eds. C. R. Scriver, A. L. Beaudet, W. S. Sly, and D. Valle, pp. 2237–2254. New York: McGraw-Hill.
- Lykkesfeldt, J. (2007).** Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. *Clinica Chimica Acta*, 380, 50–58.
- 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.
- Mahmood, T., Qadosi, I.Q., & Fatima, H., et al. (2016).** Metal concentrations in common skittering frog (*Euphyctis cyanophlyctis*) inhabiting Korang River, Islamabad, Pakistan. *Basic and Applied Herpetology*, 30, 25–38.
- Mahmood, A., & Malik, R. N. (2014).** Human health risk assessment of heavy metals via consumption of contaminated vegetables collected from different irrigation sources in Lahore, Pakistan. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(1), 91–99.
- Maisano, M., Cappello, T., Natalotto, A., Vitale, V., Parrino, V., Giannetto, A., Oliva, S., Mancini, G., Cappello, S., Mauceri, A. and Fasulo, S. (2017).** Effects of petrochemical contamination on caged marine mussels using a multi-biomarker approach: Histological changes, neurotoxicity and hypoxic stress. *Marine Environmental Research*, 128, 114–123.
- Malik, R.N. & Zeb, N. (2009).** Assessment of environmental contamination using feathers of *Bubulcus ibis L.*, as a biomonitor of heavy metal pollution, Pakistan. *Ecotoxicology*, 18(5), 522–36.
- Maldonado, M. (1992).** Demosponges of the red coral bottoms from the Alboran Sea. *Journal of Natural History*, 26, 1131–1161.
- Maldonado, M., Aguilar, R., Bannister, R.J., Bell, J.J., Conway, K.W., Dayton, P.K., Díaz, C., Gutt, J., Kelly, M., & Kenchington, E.L. (2017).** Sponge grounds as key marine habitats: a synthetic

review of types, structure, functional roles, and conservation concerns. *Marine Animal Forests: The Ecology of Benthic Biodiversity Hotspots*, pp. 145–183.

Maldonado, M., & Bergquist, P. (2002). Phylum Porifera. In Young, C. M. (ed.), *Atlas of marine invertebrate larvae*. Academic Press, Elsevier: 21–50.

Maldonado, M., & Uriz, M. J. (1995). Biotic affinities in a transitional zone between the Atlantic and the Mediterranean: a biogeographical approach based on sponges. *Journal of Biogeography*, 22, 89–110.

Marchand, M. (2002). Pollution marine et contamination chimique. Peut-on éliminer les substances chimiques dangereuses du milieu ? IFREMER, DEL/PC

Marchand, M., & Kantin, R. (1997). Les métaux traces en milieu aquatique. *Océanis*, 23(4), 595-629

Mari, M., Morales, A., Colell, A., García-Ruiz, C., & Fernández-Checa, J.C. (2009). Mitochondrial glutathione, a key survival antioxidant. *Antioxidants & Redox Signaling*, 11(11), 2685-2700.

Mariani, S, Uriz, M.J, & Turon, X. (2000). Larval bloom of the oviparous sponge *Cliona viridis*: coupling of larval abundance and adult distribution. *Marine Biology*, 137, 783–790.

Mariani, S., Uriz, M.J., & Turon, X. (2005). The dynamics of sponge larvae assemblages from northwestern Mediterranean nearshore bottoms. *Journal of Plankton Research* 27, 249-262.

Markert, B. (2008). From biomonitoring to integrated observation of the environment – the multi-markered bioindication concept. *Ecological Chemistry and Engineering*, 15 (3), 315–333.

Mastrodonato, M., Scillitani, G., & Trani, R. (2022). Sexual and asexual reproduction in a Mediterranean Tethya (Porifera, Demospongiae) species. *BMC Zool* 7, 41.

Mayer, F.L., Versteeg, D.J., McKee, M.J., Folmar, L.C., Graney, R.L., McCume, D.C. & Ratner, B.A. (1992). Huggert, R.J., Kimerle, R.A., Mehrle, P.M. and Bergman, L.H. eds. Biomarkers: biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress, pp. 5-85. FL: Lewis.

McCarthy, J.F. & Shugart, L.R. (eds) (1990). Biomarkers of Environmental Contamination. Boca Raton, FL: Lewis.

McEdward, L.R. (1997). Reproductive strategies of marine benthic invertebrates revisited: facultative feeding by planktotrophic larvae. *The American Naturalist*, 150, 48–72

McFadden, C.S. (1997). Contribution of sexual and asexual reproduction to population structure in the clonal soft coral, *Alcyonium rudyi*. *Evolution*, 51, 112–126.

Mebarki, R., Khebbab, M.E.H., & Soltani, N. (2015). Biomonitoring of El Mellah lagoon (Northeast, Algeria): seasonal variation of biomarkers in *Cerastoderma glaucum* (mollusc, Bivalvia). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 3, 408-413.

Meehl, G.A., Stocker, T.F., Collins, W.D., Friedlingstein, P., Gaye, A.T., & Gregory, J.M. et al. (2007). Global climate projections. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (eds Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K.B. et al.). Cambridge University Press, Cambridge.

Meghlaoui, Z. (2015). Stress environnemental et biodiversité des Polychètes dans le littoral Est Algérien : Analyse phylogénétique. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba : 193p.

- Mehbub, M., Lei, J., Franco, C., & Zhang, W. (2014).** Marine Sponge Derived Natural Products between 2001 and 2010: *Trends and Opportunities for Discovery of Bioactives. Marine Drugs*, 12(8), 4539–4577.
- Mejdoub, Z., Fahd, A., Loutfi, M., & Kabine, M. (2017).** Oxidative stress responses of the mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to emissary's pollution in coast al areas of Casablanca. *Ocean Coast Manag*, 136, 95-103.
- Mendil, D., & Uluözlu, Ö.D. (2007).** Determination of trace metal levels in sediment and five fish species from lakes in Tokat, Turkey', *Food Chemistry*, 101(2), 739-745.
- Meroz-Fine, E., Shefer, S., & Ilan, M. (2005).** Changes in morphology and physiology of an East Mediterranean sponge in different habitats. *Marine Bioogy*,. 147: 243–250.
- Merad, I., & Soltani, N. (2017).** Sublethal effects of cadmium on energy reserves in the edible Mollusk *Donax trunculus*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, , 5(1), 100-105.
- Mercurio M, Corriero G, Gaino E. (2007).** A 3-year investigation of sexual reproduction in *Geodia cydonium* (Jameson 1811) (Porifera, Demospongiae) from a semi-enclosed Mediterranean bay. *Marine Biology*,151:1491–500.
- Merritt, T.J.S., Bewick, A.J. (2017).** Genetic diversity in insect metal tolerance. *Frontiers in Genetics*, 8, 1–6.
- Mercurio, M., Corriero, G., Gherardi, M., Baldaconi, R., & Gaino, E. (2013).** Sexual reproduction in *Sarcotragus spinosulus* from two different shallow environments. *Marine Ecology*. 34, 394–408.
- Mercurio, M., Corriero, G., & Gaino, E. (2007).** A 3-year investigation of sexual reproduction in *Geodia cydonium* (Jameson 1811)(Porifera, Demospongiae) from a semi-enclosed Mediterranean bay. *Marine biology*, 151(4), 1491-1500.
- Mercurio, M., Scalera-Liaci, L., & Corriero, G. (2001).** The poriferous fauna of the strea basin of Porto Cesareo (Le). *Biologia marina mediterranea*, 8 (1), 403-412.
- Metcalf, S. W., & Orloff, K. G. (2004).** Biomarkers of Exposure in Community Settings. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 67(8-10), 715–726.
- Miller, G. A. D., Suzuki, N., Ciftci- Yilmaz, S. U. L. T. A. N., & Mittler, R. O. N. (2010).** Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. *Plant, cell & environment*, 33(4), 453-467.
- Miller, K., Alvarez, B., Battershill, C., Northcote, P., & Parthasarathy, H. (2001).** Genetic, morphological, and chemical divergence in the sponge genus *Latrunculia* (Porifera: Demospongiae) from New Zealand. *Marine Biology*, 139, 235–250.
- Mishra, M., Zhong, Q., & Kowluru, R.A. (2014).** Epigenetic modifications of Nrf2-mediated glutamate–cysteine ligase: implications for the development of diabetic retinopathy and the metabolic memory phenomenon associated with its continued progression. *Free Radical Biology & Medicine*, 75, 129-139.
- Mistretta, V., & Charlier, C. (2013).** La surveillance biologique de l'exposition aux produitschimiques en toxicologie industrielle et de l'environnement. *Annales de Biologie Clinique*, 71 (3), 257-267
- Mitalipov, S., & Wolf, D. (2009).** Totipotency, Pluripotency and Nuclear Reprogramming. In *Engineering of Stem Cells* (Ed. U Martin). Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 185–199.

- Monferran, M.V., Garnero, P.L., Wunderlin, D.A., & de los Angeles Bistoni, M., (2016).** Potential human health risks from metals and as via *Odontesthes bonariensis* consumption and ecological risk assessments in a eutrophic lake. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 129, 302–310.
- Moore, M. N., Depledge, M. H., Readmana, J. W., & Leonard, D. R. P. (2004).** An integrated biomarker-based strategy for ecotoxicological evaluation of risk in environmental management. *Mutation Research*, 552, 247–268.
- Moreira, S.M., & Guilhermino, L. (2005).** The use of *Mytilus galloprovincialis* acetylcholinesterase and glutathione-S-transferases activities as biomarkers of environmental contamination along the northwest Portuguese coast. *Environmental Monitoring and Assessment*, 105, 309–325.
- Morley, N. H., Burton, J. D., Tankere, S. P. C., & Martin, J. M. (1997).** Distribution and behaviour of some dissolved trace metals in the western Mediterranean Sea. *Deep Sea Research Part II: Tropical Studies in Oceanography*. 44, 675-691.
- Morris, A. W. (1975).** Dissolved molybdenum and vanadium in the northeast Atlantic Ocean. *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts*. 22, 49-54.
- Morris, G., Anderson, G., Dean, O., Berk, M., Galecki, P., Martin-Subero, M., & Maes, M. (2014).** The glutathione system: a new drug target in neuroimmune disorders, *Molecular Neurobiology*. 50(3), 1059-1084.
- Morrow, C., & Cárdenas, P. (2015).** Proposal for a revised classification of the Demospongiae (Porifera). *Frontiers in Zoology*, 12(1).
- Morse, D. E., Stuckey, G. D., Deming, T. D., Cha, J., Shimuzu, K., & Zhou. Y. (2000).** Methods, Compositions, and Biomimetic Catalysts for in Vitro Synthesis of Silica, Polysilsequioxane, Polysiloxane, and Polymetallo-Oxanes. Worldwide Patent WO 00/35993 A1.
- Mouneyrac, C., Geffard, A., Amiard, J., & Amiard-Triquet, C. (2009).** Metallothioneinlike proteins in *Macoma balthica*: effects of metal exposure and natural factors. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57(1), 34-42.
- Mueller W.E.G., Batel R., Lacorn M., Steinhart H., Simat T., Lauenroth S., Hassanein H. & Schroeder H.C. (1998).** Accumulation of cadmium and zinc in the marine sponge *suberites domuncula* and its potential consequences an single strand breaks and on expression of heat shock protein: a natural field study. *Marine Ecology Progress Series*, (167), pp. 127-135.
- Müller, W. E.G., Koziol, C., Wiens, M., & Schröder, H. C. (2000).** Stress response in marine sponges: genes, molecules involved, and their use as biomarkers. In: Storey, K.B., Storey, J. (Eds.), *Environmental Stressors and Gene Responses*. Elsevier, Amsterdam, pp. 193–208.
- Müller, W. E. G., Krasko, A., Le Pennec, G., & Schröder, H. C. (2003).** *Biochemistry and cell biology of silica formation in sponges*. *Microscopy Research and Technique*, 62(4), 368–377.
- Müller, W.E.G., Wang, X., Cui, F.Z., Jochum, K.P., Tremel, W., Bill, J., Schroder, H.C., Natalio, F., Schlomacher, U., & Wiens, M. (2009).** Sponge spicules as blueprints for the biofabrication of inorganic–organic composites and biomaterials. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 83, 397–413.
- Müller W.E.G., Zahn R.K., Kurelec B. & Müller I. (1984).** A catalogue of the sponges near Rovinj. *Thalassia Jugoslavica*, 20 (1), 13-23.
- Mueller W. E. G., Batel R., Lacorn M., Steinhart H., Simat T., Lauenroth S., Hassanein H., & Schroeder H. C. (1998).** Accumulation of cadmium and zinc in the marine sponge *Suberites domuncula* and its potential consequences on single strand breaks and on expression of heat shock protein: a natural field study. *Marine Ecology Progress Series*, 167, 127-135.

- Mulk, S., Korai, A.L., Azizullah, A., et al. (2016).** Decreased fish diversity found near marble industry effluents in River Barandu, Pakistan. *Ecotoxicology*, 25(1),132–40.
- Maynard-Smith, J. (1992).** Age and the unisexual lineage. *Nature*, 356, 661– 662.
- Naggar, Y. A., Khalil, M. S., & Ghorabm, M. A. (2018).** Environmental pollution by heavy metals in the aquatic ecosystems of Egypt. *Open Access Journal of Toxicology*, 03(01), 01–09.
- Nakayama, S., Arima, K., Kawai, K., Mohri, K., Inui, C., Sugano, W., Koba, H., Tamada, K., Nakata, Y.J., Kishimoto, K., Arai-shindo, M., Kojima, C., Matsumoto, T., Fujimori, T., Agata, K., & Funayama, N. (2015).** Dynamic transport and cementation of skeletal elements build up the pole-and-beam structured skeleton of sponges. *Current Biology*, 25(19), 2549– 2554.
- Nakhle, K. F. (2003).** Mercury, cadmium and lead in Lebanese coastal waters: inputs and monitoring using quantitative bioindicators (sponges, bivalves and gastéropods). Doctoral thesis at the University of Paris. 7. 246 pp.
- Naser, H. A. (2013).** Assessment and management of heavy metal pollution in the marine environment of the Arabian Gulf: *Marine Pollution Bulletin*, 72(1), 6–13.
- National Research Council, (1987).** Biological markers in environmental health. *Environmental Health Perspectives*, 74, 3–9.
- Neff, J. M. (1997).** Ecotoxicology of arsenic in the marine environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16, 917-927.
- Ng, J.C., Wang, J., & Shraim, A. (2003).** A global health problem caused by arsenic from natural sources. *Chemosphere*, 52(9), 1353–9.
- Ngo, H.T.T. (2008).** Effects of Cadmium on Calcium Homeostasis and Physiological Conditions of the Freshwater Mussel *Anodonta anatina*. DR. RER. NAT. Thesis, University of Bayreuth, Germany, Bayreuth, 108 pp
- Nica, D.V, Bura, M., & Gergen, I., et al. (2012).**Bioaccumulative and conchological assessment of heavy metal transfer in a soil-plant-snail food chain. *Chemistry Central Journal*, 6, Article No. 55.
- Noone, K.J., Sumaila, U.R., Diaz, R.J., Wilhelmsson, D., Thompson, R.C., Holmström, K., & Eriksson-Hägg, H. (2013).** Marine pollution. *Managing Ocean Environments in a Changing Climate*, pp. 127–169.
- Noureen, A., De Marco, G., Rehman, N., Jabeen, F and Cappello, T. (2022).** Ameliorative Hematological and Histomorphological Effects of Dietary *Trigonella foenum-graecum* Seeds in Common Carp (*Cyprinus carpio*) Exposed to Copper Oxide Nanoparticles. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 19(20), 13462
- Novosel M., Bakran-Petricioli T., Požar Domac A., Kružić P. & Radic I. (2002).** The benthos of the Northern part of the Velebit channel (Adriatic Sea, Croatia). *Natura Croatica*, 11(4), 387-409.
- Norton, B.S., Cormier, S.M., Smith, M., & Jones, R.C. (2000).** Can biological assessments discriminate among types of stress? A case study from the eastern corn belt plains ecoregion. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19, 1113–1119.
- Nozawa, Y., Huang, Y.S., & Hirose, E. (2016).** Seasonality and lunar periodicity in the sexual reproduction of the coral-killing sponge, *Terpios hoshinota*. *Coral Reefs*, 35, 1071-1081
- Oja, S., Jenei, Z., Janáky, R., Saransaari, P., & Varga, V. (1994).**Thiol reagents and brain glutamate receptors. *Western Pharmacology Society*, p. 59.

- Olesen, T. M. E. & Weeks, J. M. (1994).** Accumulation of Cd by the marine sponge *Halichondria panacea* Pallas: effects upon filtration rate and its relevance for biomonitoring. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 52, 722-728.
- Onivogui, G., Balde, S., Bangoura, K., & Barry, M. K. (2013).** Évaluation des risques de pollution en métaux lourds (Hg, Cd, Pb, Co, Ni, Zn) des eaux et des sédiments de l'estuaire du fleuve Konkouré (Rep. de Guinée). *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 9(3), 36-44.
- Oremland, R.S. & Stolz, J.F. (2003).** The ecology of arsenic. *Science*, 300(5621), 939-44.
- Oropesa, A.L., Garcia-Camero, J.P. & Soler, F. (2009).** Glutathione and malondialdehyde levels in common carp after exposure to simazine. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 27, 30-8.
- Ortiz-Zarragoitia, M., Cajaraville, M.P. (2006).** Biomarkers of exposure and reproduction-related effects in mussels exposed to endocrine disruptors. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 50, 361-369
- Ouali, N., Belabed, B.E., & Chenchouni, H. (2018).** Modelling environment contamination with heavy metals in flathead grey mullet *Mugil cephalus* and upper sediments from north African coasts of the Mediterranean Sea. *Science of The Total Environment*, 639, 156-174.
- Oudainia, S.E., Derbal, F., Alik, O. et al. (2023).** Seasonal and Sexual Variations of Trace-Metal Elements (Cd, Pb, Cu, Zn, Fe) in Muscle and Eggs of the Deep-Water Pandalid Shrimp *Plesionika edwardsii* (Brandt 1851) from Northeast Algeria. *Thalassas* 39, 263-271.
- Ounissi, M., & Fréhi, H. (1999).** Variabilité du microplancton et des Tintinnida (protozoaires ciliés) d'un secteur eutrophe du golfe d'Annaba (Méditerranée sud-occidentale), *Cahier de Biologie Marine*, 40, 141-153
- Oursel, B. (2013).** Transferts et dynamique des contaminants métalliques en zone côtière : Impact d'une grande agglomération méditerranéenne. Thèse de Doctorat en Chimie de l'Environnement. Université de Toulon école doctorale Mer et Sciences. 1. 233p.
- Ozden, O., Ulusoy, S., Erkan, N. (2010).** Study on the behavior of the trace metal and macro minerals in *Mytilus galloprovincialis* as a bioindicator species: the case of Marmara Sea. *Turkey Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 5: 407-412.
- Pal, M. & Ghosh, M. (2013).** Assay of biochemical compositions of two Indian fresh water eel with special emphasis on accumulation of toxic heavy metals. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 22(1), 27-35.
- Pansini, M., & Longo, C. (2003).** A review of Mediterranean Sea sponge biogeography with, in appendix, a list of the demosponges hitherto recorded from this sea. *Marine Biogeography of the Mediterranean Sea: patterns and dynamics of biodiversity*. *Biogeographia*, 24(1), 59-90.
- Pansini, M., Manconi, R., & Pronzato, R. (2011).** Porifera I. Calcarea, Demospongiae (partim), Hexactinellida, Homoscleromorpha. Fauna d'Italia vol. 46, Calderini-II Sole 24 Ore, Bologna, 554 pp. ISBN, 978-88-506-5395-9
- Park, J.C., Hagiwara, A., Park, H.G., & Lee, J.S. (2020).** The glutathione S-transferase genes in marine rotifers and copepods: identification of GSTs and applications for ecotoxicological studies. *Marine Pollution Bulletin*, 156, 111080.
- Patel, B., Balani, M.C., & Patel, S. (1985).** Sponge "sentinel" of heavy metals. *Science of Total Environment*, 41, 143-152.
- Patra, P., Mohandass, C., & Chakraborty, P. (2019).** Snapshot of environmental condition in different tropical estuarine systems by using *S. cucullata* (an edible oyster) as bioindicator. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-13.

- Pellerin-Massicotte, J. (1994).** Oxidative processes as indicators of chemical stress in marine bivalves. *Journal Of Aquatic Ecosystem Health*, 3(2), 101–111.
- Pedrajas, J.R., Peinado, J., Lopez-Barea, J. (1995).** Oxidative stress in fish exposed to model xenobiotics. Oxidatively modified forms of Cu, Zn superoxide dismutase as potential biomarkers. *Chemico-Biological Interactions*, 98, 267–282.
- Pillet, M., Dabrowski, M., Marengo, M. et al. (2023).** Preliminary inter-port study of the quality of environments using physiological responses of invertebrates exposed to chronic trace element and organic contamination in Corsica (Mediterranean Sea). *Ecotoxicology*, 32, 243–260.
- Pellerin-Massicotte, J. (1994).** Oxidative processes as indicators of chemical stress in marine bivalves. *Journal of Aquatic Ecosystem Health*, 3(2), 101-111.
- Peres, J., & Picard, J.M. (1958).** Recherches sur les peuplements benthiques de la Mediterranee nord-orientale. *Annales de l'Institut océanographique*, 34, 213–291 (in French).
- Pérez, T., Díaz, M.-C., Ruiz, C., Córdor-Luján, B., Klautau, M., Hajdu, E., & Boury-Esnault, N. (2017).** How a collaborative integrated taxonomic effort has trained new spongiologists and improved knowledge of Martinique Island (French Antilles, eastern Caribbean Sea) marine biodiversity. *PLoS One*, 12(3), e0173859.
- Perez, T., Harmelin, G., Vacelet, J., & Sartoretto, S. (2003).** Bioévaluation de la qualité littorale par les peuplements de substrats durs Spongiaires, Gorgonaires et Bryozoraires comme indicateurs de pollution. Ministère de l'écologie et du développement durable programme Liteau - gestion du Littoral thème 4 – Gestion des zones littorales et patrimoine naturel.
- Perez, T., Longet, D., Schembri, T., Rebouillon, P., & Vacelet, J. (2005).** Effects of 12 years' operation of a sewage treatment plant on trace metal occurrence within a Mediterranean commercial sponge (*Spongia officinalis*, Demospongiae). *Marine Pollution Bulletin*, 50, 301–309.
- Pérez T., Vacelet J., & Rebouillon P. (2004).** In situ comparative study of several Mediterranean sponges as potential biomonitors of heavy metals. *Boll Mus Ist Biology*. University of Genova. Vol. 1, 517-525.
- Pérez-Portela, R., & Riesgo, A. (2018).** Population genomics of early-splitting lineages of metazoans. In: Marjorie F. Oleksiak, Rajora P Om, eds. *Population genomics: marine organisms*. Basel: Springer International Publishing AG.
- Pérez-Porro, A., González, J., & Uriz, M.J. (2012).** Reproductive traits explain contrasting ecological features in sponges: the sympatric poecilosclerids *Hemimycale columella* and *Crella elegans* as examples. *Hydrobiologia*, 687, 315-330.
- Perez, T., & Ruiz, C. (2018).** Description of the first Caribbean Oscarellidae (Porifera: Homoscleromorpha). *Zootaxa*, 4369, 501–514.
- Pérez, T., & Vacelet, J. (2013).** Effect of Climatic and Anthropogenic Disturbances on Sponge Fisheries. *The Mediterranean Sea*, 577–587.
- Pettersson, P.L., Thoren, S., & Jakobsson, P.J., (2005).** Human microsomal prostaglandin E synthase 1: a member of the MAPEG protein superfamily. *Methods in Enzymology*, 401, 147–161.
- Piscitelli M, Corriero G, Gaino E, & Uriz MJ. (2011).** Reproductive cycles of the sympatric excavating sponges *Cliona celata* and *Cliona viridis* in the Mediterranean Sea. *Invertebrate Biology*, 130, 1-10.
- Pocernich, C.B., & Butterfield, D.A. (2012).** Elevation of glutathione as a therapeutic strategy in Alzheimer disease, *Biochim. Biophys. Acta - Molecular Basis of Disease*, 1822(5), 625-630.

Poisson, E., Fisson, C., Amiard-Triquet, C., Burgeot, T., Couteau, J., Dur, G., Durand, F., Forget-Leray, J., Letendre, J., Souissi, S., & Benoit Xuereb, B. (2011). "Effets de la contamination chimique : des organismes en danger ?" Fascicule Seine-Aval 2: 69p.

Prabhakaran, K., Nagarajan, R., Franco, F.M., & Kumar, A.A., (2017). Biomonitoring of Malaysian aquatic environments: a review of status and prospects. *Ecohydrology & Hydrobiology*, 17 (2), 134–147.

Prazeres, M., Martínez-Colón, M., & Hallock, P. (2019). Foraminifera as bioindicators of water quality: The ForAM Index revisited. *Environmental Pollution*, 113612.

Pronzato, R. (1999). Sponge-fishing, disease and farming in the Mediterranean Sea. Aquatic Conservation. *Marine and Freshwater Ecosystems*, 9, 485–493.

Pronzato, R. (2002). A climber sponge. *Boll. Mus. Istit. Biol. Univ. Genova* 159: 66–67.

Psarra, A., Nikolaou, A., Kokotou, M. G., Limmios, D., & Kokotos, G. (2017). Microsomal prostaglandin E2 synthase-1 inhibitors: a patent review. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 27(9), 1047–1059.

Purser, A., Marcon, Y., Hoving, H. J. T., Vecchione, M., Piatkowski, U., Eason, D., Bluhm, H., & Boetius, A. (2016). Association of deep-sea incirrate octopods with manganese crusts and nodule fields in the Pacific Ocean. *Current Biology*, 26, R1268–R1269.

Quinn, M.R., Feng, X., Folt, C.L., Chamberlain, C.P. (2003). Analyzing trophic transfer of metals in stream food webs using nitrogen isotopes. *Science of Total Environment*, 317: 73–89.

Rabaoui, L., El Zrelli, R., Balti, R., Mansour, L., Courjault-Radé, P., Daghbouj, N., & Tlig-Zouari, S. (2016). Metal bioaccumulation in two edible cephalopods in the Gulf of Gabes, South-Eastern Tunisia: environmental and human health risk assessment. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(2), 1686–1699.

Rainbow, P.S. (2002). Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: Why and so what? *Environmental Pollution*, 120(3), 497–507.

Rainbow, P.S. (2007). Trace metal bioaccumulation: models, metabolic availability and toxicity. *Environment International*, 33, 576–582.

Ramirez Llodra, E. (2002). Fecundity and life history strategies in marine invertebrates. *Advances in Marine Biology*, 87–170.

Rapp, H. T. (2006). Calcareous sponges of the genera *Clathrina* and *Guancha* (Calcinea, Calcarea, Porifera) of Norway (north-east Atlantic) with the description of five new species. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 147(3), 331–365.

Rapport Afee n°3. (1998). Repris in : Revue du Palais de la découverte, vol. : 26, n° : 255.

REFA, (1990). Réseau Francophone sur l'Eau et l'Assainissement. Les types de pollution. Fiche d'information.

Remili, S., & Kerfouf, A. (2013). Évaluation de la qualité physico-chimique et du niveau de contamination métallique (Cd, Pb, Zn) des rejets d'eaux usées d'Oran et de Mostaganem (littoral Ouest algérien). *Physio-Géo. Géographie physique et environnement*, 7, 165-182.

Renard, E., Gazave, E., Fierro-Constain, L., Schenkelaars, Q., Ereskovsky, A., Vacelet, J., & Borchiellini, C. (2013). Porifera (Sponges): Recent Knowledge and New Perspectives. eLS.

Reiswig, H. M. (1971a). In situ pumping activities of tropical Demospongiae. *Marine Bid*, Vol. 9, pp. 38-50.

- Reiswig, H. M. (1973).** Population dynamics of three Jamaican Demospongiae. *Bulletin of Marine Science*, 23, 191–226.
- Reiswig, H. M. (1975b).** The aquiferous systems of three marine demospongiae. *Journal of Morphology*, 145(4) : 493–502.
- Ribes, M., Coma, R., & Gili, J.M. (1999).** Natural diet and grazing rate of the temperate sponge *Dysidea avara* (Demospongiae, Dendroceratida) throughout an annual cycle. *Marine Ecology Progress Series*, 176, 179–190.
- Richie, J.P., Nichenametla, S., Neidig, W., Calcagnotto, A., Haley, J.S., Schell, T.D., & Muscat, J.E. (2015).** Randomized controlled trial of oral glutathione supplementation on body stores of glutathione. *European Journal of Nutrition*, 54(2), 251-263.
- 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. *Aquatic Toxicology*, 67, 45–56.
- Riesgo, A., & Maldonado, M. (2008).** Differences in reproductive timing among sponges sharing habitat and thermal regime. *Invertebrate Biology*, 127(4), 357-367.
- Riesgo, A., & Maldonado, M. (2009).** An unexpectedly sophisticated, V-shaped spermatozoon in Demospongiae (Porifera): reproductive and evolutionary implications. *Biological Journal of the Linnean Society*, 97, 413–426.
- Ringwood, A.H., Hoguet, J., Keppler, C., & Gielazyn, M. (2004).** Linkages between cellular biomarker responses and reproductive success in oysters *Crassostrea virginica*. *Marine Environmental Researches*, 58, 151-155.
- Roberts, D.E., & Davis, A.R. (1996).** Patterns in sponge (Porifera) assemblages on temperate coastal reefs of Sydney, Australia. *Marine and Freshwater Research*, 47, 897–906.
- Rocha, L., Rodrigues, S.M., Lopes, I., Soares, A.M.V.M., Duarte, A.C., & Pereira, E. (2011).** The water-soluble fraction of potentially toxic elements in contaminated soils: relationships between ecotoxicity, solubility and geochemical reactivity. *Chemosphere*, 84, 1495-1505.
- Rouabhi, Y.L., Grosjean, P., Zitouni, B., Rouane Hacene, O., & Richir, J. (2019).** Reproductive cycle and follicle cleaning process of *Mytilus galloprovincialis* (Mollusca, Bivalvia) from a polluted coastal site in Algeria. *Invertebrate Reproduction & Development*, 1–13.
- Rodier, J. (1984).** L'analyse de l'eau : eaux naturels, eaux résiduaires et Eaux de mer. 7eme édition. Paris. 1365 p.
- Rouane-Hacene, O. (2013).** Biosurveillance de la qualité des eaux côtières du littoral occidental algérien, par le suivi des indices biologique, de la biodisponibilité et la bioaccumulation des métaux lourds (Zn, Cu, Pb et Cd) chez la moule *Mytilus galloprovincialis* et l'oursin *Paracentrotus lividus*. Thèse de Doctorat. Option : Sciences de l'environnement. Université d'Ahmed Ben Bella. Oran. Algérie. 249 p.
- Rouane-Hacene, O., Boutiba, Z., Belhaouari, B., Guibbolini-Sabatier, M. E., Francour, P., & Risso-de Faverney, C. (2015).** Seasonal assessment of biological indices, bioaccumulation and bioavailability of heavy metals in mussels *Mytilus galloprovincialis* from Algerian west coast, applied to environmental monitoring. *Oceanologia*, 57(4), 362-374.
- Rosenberg, R., Blomqvist, M., Nilsson, H.C., Cederwall, H., & Dimming, A. (2004).** Marine quality assessment by use of benthic species abundance distributions: A proposed new protocol within the European Union Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, 49, 728–739.
- Ruilian, Y., Xing, Y., Yuanhui, Z., Gongren, H., & Xianglin, T. (2008).** Heavy metal pollution in intertidal sediments from Quanzhou Bay, *China Journal of Environmental. Sciences*, 20,664–669.

Ruiz, C., Ivanišević, J., Chevaldonné, P., Ereskovsky, A.V., Boury-Esnault, N., Vacelet, J., Thomas, O. & Pérez, T. (2015). Integrative taxonomic description of *Plakina kanaky*, a new polychromatic sponge species from New Caledonia (Porifera: Homoscleromorpha). *Marine Ecology*, 36, 1129–1143.

Ruiz, C., Muricy, G., Lage, A., Domingos, C., Chenesseau, S. & Pérez, T. (2017). Descriptions of new sponge species and genus, including aspiculate Plakinidae, overturn the Homoscleromorpha classification. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 179, 707–724.

Rützler, K. (1965). Systematics and ecology of the Porifera from littoral shadow areas of the northern Adriatic. *ZooMorphology Ökol of Animals*, 55: 1-82.

Sarker, S., Vashistha, D., Saha Sarker, M., & Sarkar, A. (2018). DNA damage in marine rock oyster (*Saccostrea Cucullata*) exposed to environmentally available PAHs and heavy metals along the Arabian Sea coast. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 151, 132–143.

Sanders, B.M. (1990). Stress proteins: Potential as multitiered biomarkers. In: L. Shugart and J. McCarthy (Eds), *Biomarkers of Environmental Contamination*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL. pp. 165-191.

Sáenz, L.A., Seibert, E.L., Zanette, J., Fiedler, H.D., Curtius, A.J, Ferreira, J.F., De Almeida, E.A., Marques, M.R.F., & Bainy, A.C.D. (2010). Biochemicals biomarkers and metals in *Pernaperna* mussels from mariculture zones of Santa Catarina, Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73, 796-804.

Sarà, M., & Vacelet, J. (1973). Ecologie des Demosponges. In Grasse P-P, Ed, *Traité de Zoologie*, Vol 1, Spongiaires. Masson, Paris, France, pp 462–576.

Sarma, K., Kumar, A.A., Krishnan, P., George, G., Prabakaran, K., Roy, S.D., Srivastava, R.C. (2013). Impact of coastal pollution on biological, biochemical and nutritional status of edible oyster in Phoenix Bay Jetty and North Wandoor of Andaman. *Indian Journal of Animal Sciences*, 83, (3), 321–325.

Sarker, P.K., Gamble, M.M., Kelson, S., Kapuscinski, A.R. (2015). Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) show high digestibility of lipid and fatty acids from marine Schizochytrium sp. and of protein and essential amino acids from freshwater Spirulina sp. feed ingredients. *Aquaculture Nutrition*, 33, 222-345.

Scalera-Liaci, L., & Sciscioli, M. (1969). La riproduzione sessuale di alcuni Tetractinellidi (Porifera). *Bollettino di Zoologia*, 36, 61–70.

Scalera Liaci, L., Sciscioli, M. & Matarrese, A. (1971). The sexual reproduction of some Tetractinomorpha (Porifera). *Annale Istituto museo di Zoologia dell Università Napoli*, 17 (3-4), 235-245.

Scalera Liaci, L., Sciscioli, M., & Matarrese, A. (1973). Raffronto tra il comportamento sessuale di alcune Ceractinomorpha. *Rivista di Biologia*, 66, 135-162.

Scalera Liaci, L., & Sciscioli M. (1975). Sexual reproduction of some marine Porifera. *Pubblicazione Stazione Zoologica del Napoli*, 39, 307–316.

Schmidt, I. (1970). Phagocytose et pincytose chez les Spongillidae. Etude in vivo de l'ingestion de bactéries et de protéines marquées à l'aide d'un colorant fluorescent en lumière ultra-violette. *Zeitschrift für Vergleichende Physiologie*, 66, 398–420.

Schmidt, O. (1862). The sponges of the Adriatic Sea. Engelmann W. (Ed.), Leipzig: 88 pp.

Schmidt, W., O'Shea, T., & Quinn, B. (2012). The effect of shore location on biomarker expression in wild *Mytilus* spp. and its comparison with long line cultivated mussels. *Marine Environmental Research*, 80, 70-76.

Schröder, H. C., Kljajić, Z., Weiler, B. E., Gasić, M., Uhlenbruck, G., Kurelec, B., & Müller, W. E. G. (1990). The Galactose-Specific Lectin from the Sponge *Chondrilla nucula* Displays Anti-Human Immunodeficiency Virus Activity in vitro via Stimulation of the (2'-5') Oligoadenylate Metabolism. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 1(2), 99–105.

Seth, R., Mackay, D., & Muncke, J. (1999). Estimating the organic carbon partition coefficient and its variability for hydrophobic chemicals. *Environmental Science and Technology*, 33, 2390–2394.

Sheehan, D., Meade, G., Foley, V.M., & Dowd, C.A., (2001). Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochemical Journal*, 360, 1–16.

Shugart, L.R., McCarthy, J.F., & Halbrook, R.S.(1992). Biological markers of environmental and ecological contamination: an overview. *Risk Analysis*, 12 (3), 353–360.

Sidri, M. (2004). *Chondrilla nucula* (Porifera, Demospongia): an example of successful plasticity. Ecological and morphological aspects. Thèse de Doctorat. Biologisches Institut der Universität Stuttgart. 34p.

Sidri, M., Milanese, M., & Bümmer, F. (2005). First observations on egg release in the oviparous sponge *Chondrilla nucula* (Demospongiae, Chondrosida, Chondrillidae) in the Mediterranean Sea. *Invertebrate Biology*, 124(2), 91–97.

Sifi, K. (2009). Biosurveillance de la qualité des eaux du golfe d'Annaba : croissance, composition biochimique et dosage de biomarqueurs du stress environnemental chez *Donax trunculus* (Mollusque, Bivalve). Thèse de Doctorat en Ecotoxicologie., Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie, 229p.

Sifi, K., Amira, A., & Soltani, N. (2013). Oxidative stress and biochemical composition in *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba (Algeria). *Advances in Environmental Biology*, 7, 595-604.

Simpson, T.L. (1984). *The Cell Biology of Sponges*. Springer Verlag, New York. 662 pp.

Sogabe, S., Nakanishi, N., & Degnan, B.M. (2016). The ontogeny of choanocyte chambers during metamorphosis in the demosponge *Amphimedon queenslandica*. *Evodevo*, 7, 6.

Singh, S. (2015). Cytoprotective and regulatory functions of glutathione S-transferases in cancer cell proliferation and cell death. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 75, 1–15.

Singh, U.K. & Kumar, B.(2017). Pathways of heavy metals contamination and associated human health risk in Ajay River Basin, India. *Chemosphere*, 174, 183.

Sipkema, D., Franssen, M.C.R., Osinga, R., Tramper, J., & Wijffels, R.H. (2005a). Marine sponges as pharmacy. *Marine Biotechnology*, 7, 142–162.

Sipkema, D., Osinga, R., Schatton, W., Mendola, D., Tramper, J., & Wijffels, R.H. (2005b). Large-scale production of pharmaceuticals by marine sponges: sea, cell, or synthesis? *Biotechnology and Bioengineering*, 90, 201–222.

Siribelli, L. (1962). Differenze nel ciclo sessuale di popolazioni coneventi di *Axinella damicornis* (Esper) ed *Axinella verrucosa* O.S. (Demospongiae). *Annale Istituto museo di Zoologia dell Università Napoli*, 14, 1–8.

Smolders, R., Bervoets, L., De Boeck, G., Burst, R. (2002). Integrated condition indices a measure of whole effluent toxicity in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21, 87–93.

Sohail, M., Khan, M.N., & Qureshi, N.A., et al. (2017). Monitoring DNA damage in gills of freshwater mussels (*Anodonta anatina*) exposed to heavy metals. *Pakistan Journal of Zoology*, 49(1), 305–11.

Sohrin Y., Matsui M., & Nakayama E. (1999). Contrasting behavior of tungsten and molybdenum in the Okinawa Trough, the East China Sea and the Yellow Sea. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 63, 3457-3466

Sole, M., Lobera, G., Aljinovic, B., Rios, J., Garcia de la Parra, L.M., Maynou, F. & Cartes, J.E. (2008). Cholinesterases activities and lipid peroxidation levels in muscle from shelf and slope dwelling fish from the NW Mediterranean: its potential use in pollution monitoring. *Science of the Total Environment*, 402, 306-17.

Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M. & Averyt, & K.B., et al. (2007). Climate Change 2007: The Physical Science Basis: Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, New York.

Solgi, E., Esmaili-Sari, A., Riyahi-Bakhtiari, A., & Hadipour, M. (2012). Soil contamination of metals in the three industrial estates, Arak, Iran. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88, 634–8.

Soltani, N., Amira, A., Sifi, K., & Beldi, H. (2012). Environmental monitoring of the Annaba gulf (Algeria): measurement of biomarkers in *Donax trunculus* and metallic pollution. *Bulletin de la Société zoologique de France*, 137, 47-56.

Soto-Jiménez, M.F. (2011). Transferencia de elementos traza en tramas tróficas acuáticas. *Hidrobiologica*, 21: 239–248.

Statham P.J., & Burton J. D. (1986). Dissolved manganese in the North Atlantic Ocean, 0-35°N. *Earth and Planetary Science Letters*. 79, 55-65.

Stoepler M., Burow M., Backhaus F., Schramm W., & Nürnberg H. W. (1986). Arsenic in seawater and brown algae of the Baltic and the North Sea. *Marine Chemistry*, 18, 321-334.

Spacie, A., McCarty, L.S., & Rand, G.M. (1995). Bioaccumulation and bioavailability in multiphase systems. In: Rand, G.M. (Ed.), *Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate, and Risk*.

Stearns, S. C. (1992). "The Evolution of Life Histories". Oxford University Press, Oxford.

Strbac S, _Sajnovi_c A, & Budakov L, et al. (2014). Metals in the sediment and liver of four fish species from different trophic levels in Tisza River, Serbia. *Chemical Ecology*, 30(2), 169–86.

Sugiyama M., Matsui M., & Nakayama E. (1984). Direct determination of barium in Sea water by inductively coupled plasma emission spectrometry. *Journal of Oceanography*, 40, 295-302.

Sundaramanickam, A., Shanmugam, N., Cholan, S., Kumaresan, S., Madeswaran, P., & Balasubramanian, T. (2016). Spatial variability of heavy metals in estuarine, mangrove and coastal ecosystems along Parangipettai, Southeast coast of India. *Environmental Pollution*, 218, 186–195.

Szmant, A.M. (1986). Reproductive ecology of Caribbean reef corals. *Coral Reefs* 5, 43–54.

Szczewski, P., Siepak, J., Niedzielski, P., Sobczynski, T. (2009). Research on heavy metals in Poland. *Polish Journal of Environmental Studies*, 5: 755–768

Takur, N.L., & Muller WEG. (2004). Biotechnological potential of marine sponges. *Current Science*, 86, 1506–1512.

Tartu, S., Goutte, A., Bustamante, P., Angelier, F., Moe, B., Clement-Chastel, C., & Chastel, O. (2013). To breed or not to breed: endocrine response to mercury contamination by an Arctic seabird. *Biology Letters*, 9(4), Article No. 20130317.

Taweel, A., Shuhaimi-Othman, M., Ahmad, A.K. (2013). Assessment of heavy metals in tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) from the Langat River and Engineering Lake in Bangi, Malaysia, and evaluation of the health risk from tilapia consumption. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 93: 45–51.

Thiboutot, S., Ampleman, G., Marois, A., Gagnon, A., Bouchard, M., Hewitt, A., & Ramsey, C. (2004). Environmental Conditions of Surface Soils, CFB Gagetown Training Area: Delineation of the Presence of Munitions Related Residues (Phase 3, Final Report): Engineer research and development center hangover of cold regions research and engineering lab.

Tlili, S. (2012). Approche multi-marqueurs pour l'évaluation de l'état de santé du golfe de Tunis: Etude des réponses biochimiques, physiologiques et cytologiques des mollusques bivalves exposés aux effluents des oueds. Thèse de Doctorat. Université de Monastir, *Institut supérieur de biotechnologie*, 92p.

Tlili, S., Metais, I., Boussetta, H., & Mouneyrac, C. (2010). Linking changes at subindividual and population levels in *Donax trunculus*: assessment of marine stress. *Chemosphere*, 81, 692-700.

Topsent. (1901). Considérations sur la faune des Spongiaires des côtes d'Algérie. Eponges de la Calle. *Archives de zoologie expérimentale et générale*, 3, 327-370.

Topsent. (1938). Contribution nouvelle à la connaissance des Eponges des côtes d'Algérie. Les espèces nouvelles d'O. Schmidt, 1868. *Bulletin de l'Institut océanographique de Monaco*, 758, 1-32.

Tsangaris, C., Kormas, K., Stroglyoudi, E., Hatzianestis, I., Neofitou, C., Andral, B., & Galgani, F. (2010). Multiple biomarkers of pollution effects in caged mussels on the Greek coastline. *Comparative Biochemistry & Physiology*, 151C, 369–378.

Ullah, K., Hashmi, M.Z., & Malik, R.N. (2014). Heavy-metal levels in feathers of cattle egret and their surrounding environment: A case of the Punjab Province, Pakistan. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 66 (1), 139–53.

UNEP, (1997). Report of the Meeting of Experts to Review the MED POL Biomonitoring Programme. UNEP(OCA)/MED WG. 132/7. Athens, pp. 8.

UNEP, Chemicals, (2002). Regionally Based Assessment of Persistent Toxic Substances. Mediterranean Regional Report. UNEP, Geneva, 148 pp.

UNEP/RAMOGGE, (1999). Manual on the Biomarkers Recommended for the MED POL Biomonitoring Programme. UNEP, Athens, 39 pp.

United Nations, U.(1982). United Nations Convention on the Law of the Sea. Available at https://www.un.org/depts/los/convention_agreements/texts/unclos/unclos_e.pdf.

Uriz, M.J., Turon, X., Becerro, M.A., Galera, J., & Lozano, J. (1995). Patterns of resource allocation to somatic, defensive, and reproductive functions in the Mediterranean encrusting sponge *Crambe crambe* (Demospongiae, Poecilosclerida) *Marine Ecology Progress Series*, 124, 159-170.

Uriz, M.J., Turon, X., & Mariani, S. (2008). Ultra structure and dispersal potential of sponge larvae: tufted versus evenly ciliated parenchymellae. *Marine Ecology*, 829, 280-297.

U.S. EPA. Environmental Pollution (1979). Control Alternatives: Economics of Wastewater Treatment Alternatives for the Electroplating Industry. EPA 625/5 79-016, Cincinnati, Ohio.

Usher, K.M., Kuo, J., Fromont, J., & Sutton, D.C. (2001). Vertical transmission of cyanobacterial symbionts in the marine sponge *Chondrilla australiensis* (Demospongiae). *Hydrobiologia*, 461, 15–23.

Usher, K.M., Sutton, D.C., Toze, S., Kuo, J., & Fromont, J. (2004). Sexual reproduction in *Chondrilla australiensis* (Porifera: Demospongiae). *Marine and Freshwater Research*, 55, 123–134.

Vacelet, J. (1979). La place de spongiaires dans les écosystèmes trophiques marins. In *Biologie Des Spongiaires*. Boury-Esnault, N. (ed.). Paris, France: CNRS, pp. 259–270.

Vacelet J. (1985). Coralline sponges and the evolution of Porifera. In : The origins and relationships of lower invertebrates. 28. Morris S. C., George R., Gibson R. et Platt H. M. (ed.). The Systematics Association, Clarendon Press, Oxford. 1-13 pp.

Van den Berg C. M. G., Boussemart M., Yokoi K., Prartono T., Campos M. L. A. M. (1994). Speciation of aluminium, chromium and titanium in the NW Mediterranean. *Marine Chemistry*, 45, 267-282

Van der Oost, H., Beyer, J., Vermeulen, P.E. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13, 57–149.

Van de Vyver, G., & Barbieux. B. (1983). Cellular aspects of allograft rejection in marine sponges of the genus *Polymastia*. *Journal of Experimental Zoology*, 227:1-7.

Van Soest, R. (2015). Chondrilla Schmidt, 1862. In: **Van Soest, R.W.M., N., Boury-Esnault, J.N.A., Hooper, K., Rützler, N.J., de Voogd, B.A., de Glasby, E., Hajdu, A.B., Pisera, R., Manconi, C. Schoenberg, D. Janussen, K.R. Tabachnick, M. Klautau, B. Picton, M. Kelly, J., Vacelet, M., Dohrmann, M.C., Díaz & Cárdenas, P. (2015).** World Porifera database at <http://www.marinespecies.org/porifera/porifera.php?p=taxdetails&id=132021> on 2015-05-28.

Van Soest, R. W. M., Boury-Esnault, N., Vacelet, J., Dohrmann, M., Erpenbeck, D., De Voogd, N. J., & Hooper, J. N. A. (2012). *Global Diversity of Sponges (Porifera)*. *PLoS ONE*, 7(4), e35105.

Van Soest, R.W.M., Boury-Esnault, N., & Hooper, J.N.A, et al. (2019). World Porifera database. In: World Porifera database. <https://www.marin.especies.org/porifera>.

Vatova, A. (1928). Compendium of Flora and Fauna of the Adriatic Sea near Rovinj. Mem. R. *Italian Thalassographic Committee*, 143, 613 pp.

Vargas-Angel, B., Colley, S.B., Hoke, S.M., Thomas, J.D. (2006). The reproductive seasonality and gametogenic cycle of *Acropora cervicornis* off Broward County, Florida. *Coral Reefs*, 25, 110–122

Varrault, G. (2011). Les contaminants dans les milieux récepteurs sous forte pression urbaine. Mémoire d'HDR, Université Paris-Est, Créteil Val De Marne, France, 90 p.

Venkateswara Rao, J., Srikanth, K., Pallela, R., & Gnaneshwar Rao, T. (2008). The use of marine sponge, *Haliclona tenuiramosa* as bioindicator to monitor heavy metal pollution in the coasts of Gulf of Mannar, India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 156(1-4), 451–459.

Ventura, M.G., Freitas, M.C., & Pacheco, A.M.G. (2005). Selenium levels in mainland Portugal. *Water Air Soil Pollution*, 166, 167–79.

Verdenal, B., & Verdenal, M. (1987). Evaluation de l'intérêt économique de la culture d'éponges commerciales sur les côtes Méditerranéennes Françaises. *Aquaculture*, 64, 9–29.

Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullou, M.J. & Valavanidis, A. (2007). Integrated use of biomarkers (superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation) in mussels *Mytilus galloprovincialis* for assessing heavy metals' pollution in coastal areas from the Saronikos Gulf of Greece. *Marine Pollution Bulletin*, 54, 1361-71.

Viarengo, A., Lowe, D., Bolognesi, C., Fabbri, E., & Koehler, A. (2007). The use of biomarkers in biomonitoring: A 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 146(3), 281–300.

Vicente, V.P. (1990). Overgrowth activity by the encrusting sponge *Chondrilla nucula* on a coral reef in Puerto Rico. In: Rützler K (ed) *New perspectives in sponge biology*. Smithsonian Institution Press Washington DC London, pp 436-442

Vogel, S. (1977). Current-induced flow through living sponges in nature. *Proceedings of National Academy of Science USA* 74, 2069–2071.

Voultsiadou, E. (2009). Reevaluating sponge diversity and distribution in the Mediterranean Sea. *Hydrobiologia* 628, 1–12.

Voultsiadou-Koukoura, & Van Soest, R.W.M. (1993). Suberitidae (Demospongiae, Hadromerida) from the North Aegean Sea. *Beaufortia*, 43, 176–186.

Waalkes MP. (2003). Cadmium carcinogenesis. *Mutation Research*, 533,107–20.

Wang, Q.R., Dong, Y., Cui, Y., & Liu, X. (2001). Instances of soil and crop heavy metal contamination in China. *Soil Sediment Contamination*, 10, 497–510.

Waring, J., & Maher, W. (2005). Arsenic bioaccumulation and species in marine polychaeta. *Applied Organometallic Chemistry*, 19(8), 917–29.

Warren, C. E. & Davis, G. E. (1967). Laboratory studies on the feeding, bioenergetics, and growth of fish. *The biological basis of freshwater fish production*. S.D. Gerking. Oxford, UK, Blakwell Scientific Publications, 175-214.

Waseem, A., & Arshad, J. (2016). A review of Human Biomonitoring studies of trace elements in Pakistan. *Chemosphere*, 163, 153–176.

Weber, F.A., Voegelin, A., & Kretzschmar, R. (2009). Multi-metal contaminant dynamics in temporarily flooded soil under sulfate limitation. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 73(19), 5513-5527.

Web link : www.periodictable.com

Webster, J.R., Waide, J.B. & Patten, B.C. (1975). Nutrient cycling and the stability of ecosystems. In Howell, F.G., Gentry, J.B. and Smith, M.H. eds. *Mineral cycling in southeastern ecosystems*, Springfield, VA: ERDA.

Webster, C.D. & Lim, C. (2002). Introduction to fish nutrition. In: *Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture* (Webster, C.D. & Lim, C. eds), pp. 1–27. CABI Publishing, New York, NY

Weckbecker, W., & Cory, J. G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letters*, 40(3), 257-264.

Wei, B.G., & Yang, L.S. (2010). A review of heavy metal contaminations in urban soils, urban road dusts and agricultural soils from China. *Microchemical Journal*, 94, 99–107.

Whalan, S., Johnson, M.S., Harvey, & E., Battershill, C. (2005). Mode of reproduction, recruitment, and genetic subdivision in the brooding sponge *Haliclona sp.* *Marine Biology*. 146, 425–433.

Whitney M & Cristol D. (2017). Rapid depuration of mercury in songbirds accelerated by feathermolt. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 36(11), 3120–26.

WHO, (1993). IPCS Environmental Health Criteria Series No. 155. Biomarkers and risk assessment: concepts and principles, Geneva.

WHO - Boron in drinking water, http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/wsh0304_54/en/index4.html, consulté le 20/09/11.

- Wilkinson, C. R. (1978a).** Microbial associations in sponges. I. Ecology, physiology and microbial populations of coral reef sponges. *Marine Biology*, 49, 161-167.
- Wilkinson, C. R. (1978b).** Microbial associations in sponges. III. Ultrastructure of the in situ associations in coral reef sponges. *Marine Biology*, 49, 177-185.
- Wingfors, H., Selden, A., Nilsson, C., & Haglund, P. (2006).** Identification of markers for PCB exposure in plasma from Swedish construction workers removing old elastic sealants. *Annals of Occupational Hygiene*, 50(1), 65-73.
- Witman, J.D., & Sebens, K.P. (1990).** Distribution and ecology of sponges at a subtidal rock ledge in the central gulf of Maine. In: Rutzler, K. (Ed.), *New Perspectives in Sponge Biology*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, pp. 391–396.
- Wood, J.M. (1974).** Biological cycles for toxic elements in the environment. *Science*, 183:1046–1052
- Wörheide, G. & Hooper, J.N.A. (1999).** Calcarea from the Great Barrier Reef. 1: Cryptic Calcinea from Heron Island and Wistari Reef (Capricorn-Bunker Group). *Memoirs of the Queensland Museum*, 43 (2), 859–892.
- Wulff, J.L. (1991).** Asexual fragmentation, genotype success, and population dynamics of erect branching sponges. *Journal of Exponential Marine Biology & Ecology*, 149, 227–247.
- Xu, F.J., Qiu, L.W., Cao, Y.C., Huang, J.L., Liu, Z.Q., Tian, X., Li, A.C., & Yin, X.B. (2016).** Trace metals in the surface sediments of the intertidal Jiaozhou Bay, China: sources and contamination assessment. *Marine Pollution Bulletin*, 104, 371–378.
- Yarsan, E., & Yipel, M. (2013).** The important terms of marine pollution “Biomarkers and Biomonitoring, Bioaccumulation, Bioconcentration, Biomagnification”. *Journal of Molecular Biomarkers & Diagnosis*, S1, 003.
- Yeganeh, M., Afyuni, M., Khoshgoftarmanesh, A.-H., Khodakarami, L., Amini, M., Soffyanian, A.-R., & Schulin, R. (2013).** Mapping of human health risks arising from soil nickel and mercury contamination. *Journal of Hazardous Materials*, 244-245, 225–239.
- Yousafzai, A.M., Douglas, P., Chivers, K.A.R, Ahmad, I., & Siraj, M. (2010).** Comparison of heavy metals burden in two freshwater fishes Wallago attu and Labeo dyocheilus with regard to their feeding habits in natural ecosystem. *Pakistan Journal of Zoology*, 42, 537–544.
- Yousafzai, A.M., Khan, A.R., & Shakoori, A.R. (2009).** Trace metal accumulation in the liver of an endangered South Asian fresh water fish dwelling in sub-lethal pollution. *Pakistan Journal of Zoology*, 41(1), 35–41
- Zarrouk, S., Ereskovsky, A. V., Ben Mustapha, K., El Abed, A., & Perez, T. (2013).** Sexual reproduction of *Hippospongia communis* (Lamarck, 1814) (Dictyoceratida, Demospongiae): comparison of two populations living under contrasting environmental conditions. *Marine Ecology*, 34, 432–442
- Zegaoula, B., Beldi, H., Draredja, B., & Soltani, N. (2016).** Reproduction of *Patella rustica* (Mollusca, Gastropoda) in the gulf of Annaba (Algeria, Mediterranean South Western). *Advances in Environmental Biology*. Vol. 10, Issue 11. 10(11), 42-51.
- Zhang, X.W., Yang, L.S., Li, YH, Li, H.R., Wang, W.Y., & Ye, B.X. (2012).** Impacts of lead/zinc mining and smelting on the environment and human health in China. *Environmental Monitoring Assessment*, 184, 2261–73.
- Zhao, G., Lu, Q., Ye, S., Yuan, H., Ding, X., Wang, J. (2016).** Assessment of heavy metal contamination in surface sediments of the west Guangdong coastal region, China. *Marine Pollution Bulletin*, 108 (1–2), 268–274.

Zilberberg, C., Solé-Cava, A. M., & Klautau, M. (2006). The extent of asexual reproduction in sponges of the genus *Chondrilla* (Demospongiae: Chondrosida) from the Caribbean and the Brazilian coasts. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 336(2), 211–220.

Ziouch, O.R., Laskri, H., Chenak, H., Ledjdel, N., Daifallah, T. & Ounissi, M. (2020). Transport of nutrients from the Seybouse River to Annaba Bay (Algeria, SW Mediterranean). *Marine pollution Bulletin*. 156, 111231.

Żukowska J, Biziuk M. (2008). Methodological evaluation of method for dietary heavy metal intake. *Journal of Food Sciences*, 00: R1–9.

Cette thèse est supportée par une :

1. Communication nationale

ZERARGUIA Islem, KHATI Wyllia, DERBAL Farid, 2018. Biosurveillance de l'environnement marin par l'utilisation du macrozoobenthos du golfe d'Annaba (cas des spongiares). 1^{er} séminaire national sur l'Eau, l'Environnement et Santé (SNEES, 2018) organisé le 06 et 07 Mars 2018. Université de Chadli Bendjedid el Tarf (Communication par affichage).

2. Communication internationale

ZERARGUIA Islem, LAOUATI Imèn, KHATI Wyllia, DERBAL Farid, 2018. Utilisation du macrozoobenthos dans la biosurveillance de la qualité de l'environnement marin côtier dans le golfe d'Annaba (cas des Spongiares). 6^{ème} *Congrès Franco-Maghrébin de Zoologie 119^{ème} Journées annuelles de la SZF*. Paris (France) à La Maison de la Tunisie 21-23 Novembre (Communication par affichage).

3. Publication internationale

Zerarguia Islem, Khati Willia., Derbal Farid., Laouati Imen., Sammar Mouhamed Faouzi. (2022). Evaluation of metallic pollution of north eastern Algerian coasts using the demosponge *Chondrilla nucula* Schmidt, 1862. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries*. 26(5): 851 – 878.

ANNEXES

ANNEXES

Annexe I

Tableau 01. Concentrations ubiquitaires des éléments traces métalliques dans les mers et les océan (Luoma et Rainbow, 2008; Cox 1995; The chemical elements and water).

Eléments	Concentrations		Méditerranée	Autres	Références
	Ubiquitaires	Unité			
Ag	0,06 – 100	Ppt	-	0,03 – 26 (milieu marin)	Barriada et al., 2007
Al	0,01 – 5	Ppb	0,27 – 4,05	-	Van den Berg et al., 1994 Hydes et al., 1988
As	1,1 – 4	Ppb	-	1,7 (océans) ; 0,45 – 1,1 (Baltique)	Neff, 1997 ; Stoeppler et al., 1986
B	4 – 5	Ppm	-	4,5 (océans)	WHO – Born in drinking water
Ba	-	Ppb	-	4,1 – 22 (Pacifique, Californie)	Sugiyama et al., 1984 ; Chow 1976
Be	-	Ppt	-	-	
Ca	400	Ppm	-	-	
Cd	0,1 – 130	Ppt	3,37 – 8,66	-	Morley et al., 1997
Co	0,2 – 18	Ppt	1,3 - 5	-	Morley et al., 1997
Cr	0,1 – 0,6	Ppb	-	-	
Cu	8 - 390	Ppt	72 – 44	-	Morley et al., 1997
Fe	1 - 3000	Ppt	56 – 250-	-	Morley et al., 1997
Mn	4 - 170	Ppt	8,24 – 203	60 – 174 (milieu marin)	Morley et al., 1997 Statham et Burton 1986
Mo	-	Ppb		10,3 (océans)	Sohrin et al., 1999 ; Morris 1975
Ni	0,1 - 2	Ppt	0,11 – 0,26	-	Morley et al., 1997
Pb	0,6 - 38	Ppb	12 - 76	-	Morley et al., 1997
Si	0,03 – 2	Ppm	-	-	
Ti	1	ppb	-	-	Van den Berg et al., 1994
V	1	Ppt		1,19 (Atlantique nord)	Morris, 1975
Zn	3 - 5000	Ppt	-	-	

Tableau 02. Localisation des stations de relevage des eaux usées de la wilaya d'Annaba (DHWA 2008).

N°	Station de pompage	Localisation	Nature de rejets
1	Cap de Garde	Annaba	Eaux usées
2	Ain Achir	Annaba	Eaux usées
3	Belvédère	Annaba	Eaux usées
4	Refes Zahouane (Toche)	Annaba	Eaux usées
5	La Caroube	Annaba	Eaux usées
6	Rizi Amor (SP4) Chapuis	Annaba	Eaux usées
7	Levée de l'Aurore (cité Enasr)	Annaba	Eaux usées
8	Ancien gare (SP2)	Annaba	Eaux usées + pluviales
9	Sid Brahim (SP1)	Annaba	Eaux usées + pluviales
10	Bouzered Hocine (SP7)	Annaba	Eaux usées
11	Eliza (SP3)	Annaba	Eaux usées + pluviales
12	Plaine Ouest 1(SF1)	Annaba	Eaux usées
13	Plaine Ouest 2(SF2)	Annaba	Eaux usées
14	Cité Rym	Annaba	Eaux usées
15	El Bouni	El Bouni	Eaux usées
16	Allalik	El Bouni	Eaux usées
17	Gharbi Aissa	El Bouni	Eaux usées
18	Sidi Salem 2	El Bouni	Eaux usées
19	Boukhmira	El Bouni	Eaux usées
20	Boukhadra 5	El Bouni	Eaux usées
21	El Hadjar 4	El Bouni	Eaux usées
22	Chetaibi	Chetaibi	Eaux usées
23	Oued El Anab	Oued El Anab	Eaux usées
SP : Station de pompage			
SF : Station de forage			

Tableau 03. Principales unités industrielles déversant dans le golfe d'Annaba (DEWA, 2002).

Unité industrielle	Lieu d'implantation	Nature des effluents liquides
FERTIAL (ex ASMIDAL)	El-Bouni	Eaux de process (Chargées de résidus chimique) Eaux de refroidissement
FERPHOS	Port	Eaux usées domestiques
SONALGAZ	Port	Eaux de refroidissement
ENCG	Port	Eaux usées domestiques Eaux usées industrielles
ONAB N° 1	Port	Eaux usées domestiques
ENTPL	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées domestiques
Carreaux-Granito	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées domestiques (ponçage)
ORELAIT	Lallelick (El Bouni)	Eaux usées industrielles (lactosérum)
ENCC	Z.I. Pont Bouchet	Eaux de refroidissement
FERROVIAL	Lallelick (El Bouni)	Eaux usées domestiques Eaux usées industrielles
HYDRO-CANAL	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées domestiques
14 EN SIDER	Sidi Amar	Eaux usées domestiques Eaux usées industrielles
PROSIDER (Chaiba)	Sidi Amar	Eaux usées industrielles
ERWA	Z.I. Meboudja	Eaux de lavages
SNLB	Annaba	Eaux usées domestiques
EMIB	Annaba	Eaux usées industrielles (germe et levure)
SARL PROCOMAC (Carrelage)	Z.I. Meboudja	Eaux usées industrielles (ponçage)
SARL CHOCOTRK	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées industrielles Eaux de lavage
SAEL BELKIRI (Confiserie)	Z.I. Pont Bouchet	Eaux usées domestiques Eaux usées industrielles
CONSERVERIE DE TOMATE	Annaba	Eaux usées domestiques Eaux usées industrielles

Tableau 04. Principaux polluants et leurs effets (RFEA, 1990).

Nature	Parametres	Symbole	Effets	Origine
MECANIQUE	Matière en suspension Turbidité	MES	Colmatage du lit de la rivière, des zones de reproduction des poissons (frayères).	Erosion des sols (orages), travaux en rivière, vidanges de retenues
ORGANIQUE	Oxygène dissous Demande biochimique en oxygène Demande chimique en oxygène	O2 dissous DBO5 DCO	Diminution de la photosynthèse Consommation d'oxygène dissous au détriment des poissons	Rejets domestiques et industriels Élevages intensifs
THERMIQUE	Température	°T	Diminution de l'oxygène dissous Perturbe les poissons	Eau de refroidissement des grosses usines
AZOTE	Azote organique Ammoniaque Nitrites Nitrates	N-org NH4 NO2 NO3	Perturbe la production d'eau potable Toxique pour les poissons Toxique pour les poissons Perturbe la production d'eau potable si fortes concentrations Contribue à l'eutrophisation	Rejets domestiques et industriels Elevages intensifs excès d'engrais, rejets domestiques
PHOSPHORE	Phosphore total Phosphates	P PO4	Augmente les risques d'eutrophisation = asphyxie de la rivière par prolifération d'algues	Rejets domestiques essentiellement Elevages et excès d'engrais
TOXIQUES & MICRO-POLLUANTS	Cyanures Métaux lourds : cadmium, mercure, chrome, plomb, ... Solvants et divers : phénols, fluor, solvants chlorés Micropolluants organiques : organo- halogénés (ex : chloroforme) Pesticides (atrazine, lindane, ...) (La mesure des toxiques se fait parfois par des tests biologiques globaux (ex : test daphnie))	CN Cd, Hg, Cr, Pb <i>métox</i> P-OH, F AOx <i>équitox</i> Bq	Inhibiteur de la vie aquatique Compromettent la fabrication d'eau potable si normes réglementaires dépassées Risque de toxicité immédiate et/ou de toxicité différée par accumulation dans les chaînes alimentaires Risques d'effets mutagènes et cancérogènes Risques mutagènes et cancérogènes	: Rejets d'industries - traiteurs desurfaces - utilisateurs de solvants divers Résultat de l'action du chlore sur les matières organiques Rejets diffus provenant du traitement des cultures, des abords des routes et voies de chemin de fer.
RADIOACTIVITE	Activité globale Analyses spécifiques			Rejets des hôpitaux, activités nucléaires
-BACTERIOLOGIQUE	Analyses : microbiologiques Bactéries - Virus -	MES	Turbidité Contamination qui nécessite une stérilisation de l'eau potable Limite l'usage de la baignade	Rejets domestiques Elevages intensifs

Tableau 05. Représentations des rejets domestiques de la wilaya d'Annaba et de leurs milieux récepteurs (DEWA, 2002).

Agglomération W.A	Milieux récepteurs
Sidi Amar	Oued meboudja vers Oued Seybouse puis la mer.
El Hadjar	Oued meboudja vers Oued Seybouse puis la mer.
El Bouni	Une partie des rejets se déversent vers l'Oued Seybouse et L'autre partie vers la mer en passant par Oued Boujemâa.
Annaba Ville	Les rejets passent par le réseau principal, se déversent vers la mer en passant par la station de pompage Sidi Brahim.

Tableau 06. Substances chimiques prioritaires notifiées dans la directive cadre sur l'eau (DCE, 2000).

Famille chimique	Substances	Usages
Métaux	Cadmium Mercure Nickel Plomb	Alliages, pigments, batteries, colorants, équipements électriques, peintures, amalgames dentaires, thermomètres, électrolyse des chlorures alcalins, acier inoxydable, tuyaux, additifs à l'essence.
Solvants chlorés	Chloroforme Dichloroéthane Dichlorométhane	Intermédiaire de synthèse, production de chlorure de vinyle, solvant, aérosol, agent d'expansion des mousses
Hydrocarbures aromatiques	Benzène Naphtalène Anthracène Fluoranthène 5 autres HAP	Intermédiaire de la synthèse chimique, onservateur du bois (créosote), sous-produits de la combustion
Chlorobenzènes	Trichlorobenzène Pentachlorobenzène Hexachlorobenzène	Intermédiaires chimiques, solvant
Biocides	Pentachlorophénol TBT	
Pesticides	Alachlore Atrazine Diuron Isoproturon Simazine Trifluraline Chlorfenvinphos Chlorpyrifos Endosulfan Lindane	Herbicides, insecticides
Divers	Diphénylétherbromés Chloro-alcanes DEHP phtalate Hexachlorobutadiène Nonylphénols Octylphénols	Retardeurs de flamme, fluides de travail des métaux, plastifiant du PVC, production involontaire dans les processus industriels, intermédiaires dans la fabrication de détergents

Tableau 07. Les normes de limite maximale de contamination par les ETM (MCL).
(USEPA ; www.periodictable.com)

Elements	Numéro atomique	Toxicité	MCL (mg.L⁻¹)
Arsenic (Ar)	33	Manifestations cutanées, cancers viscéraux, maladies vasculaires	0,05
Cadmium (Cd)	48	Lésions rénales, troubles rénaux, cancérigène pour l'homme	0,01
Chromium (Cr)	24	Maux de tête, diarrhée, nausées, vomissements, cancérigène	0,05
Cuivre (Cu)	29	Lésions hépatiques, maladie de Wilson, insomnie	0,25
Nickel (Ni)	28	Dermatite, nausée, asthme chronique, toux, cancérogène pour l'homme	0,20
Zinc (Zn)	38	Dépression, léthargie, signes neurologiques et augmentation de la soif	0,80
Plomb (Pb)	82	Endommager le cerveau fœtal, les maladies des reins, du système circulatoire et du système nerveux	0,006
Mercuré (Hg)	80	Polyarthrite rhumatoïde et maladies des reins, système circulatoire.	0,0003

Annexe II : Gamme d'étalonnage des éléments traces métalliques dosés

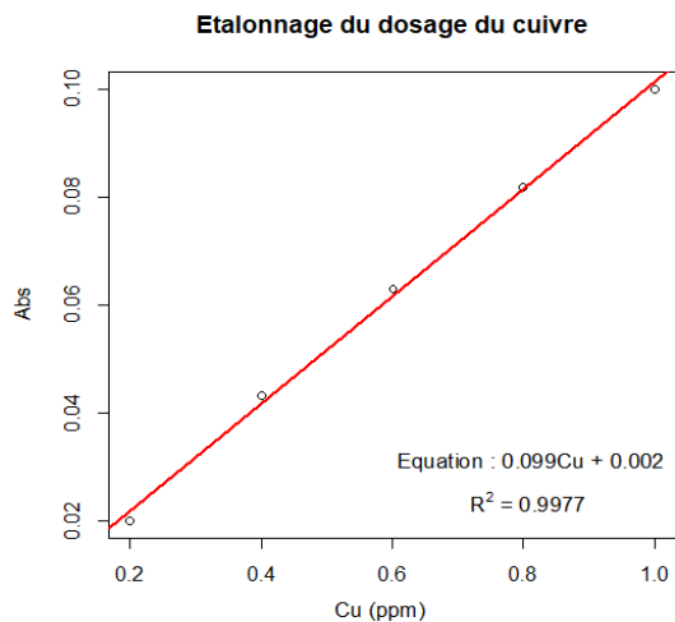


Figure 1. Courbe d'étalonnage du cuivre

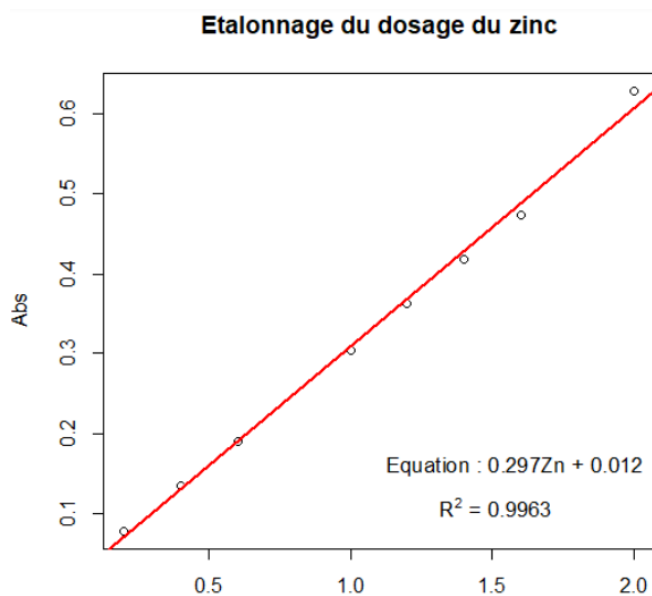


Figure 2. Courbe d'étalonnage du zinc

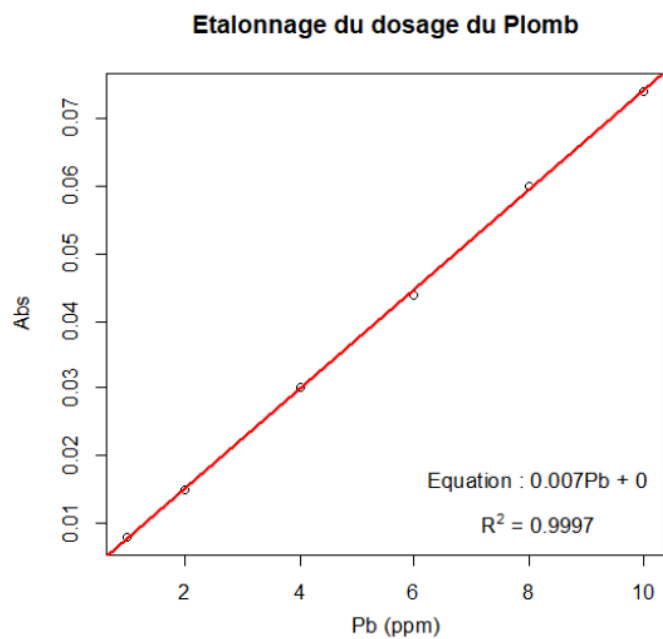


Figure 3. Courbe d'étalonnage du plomb.

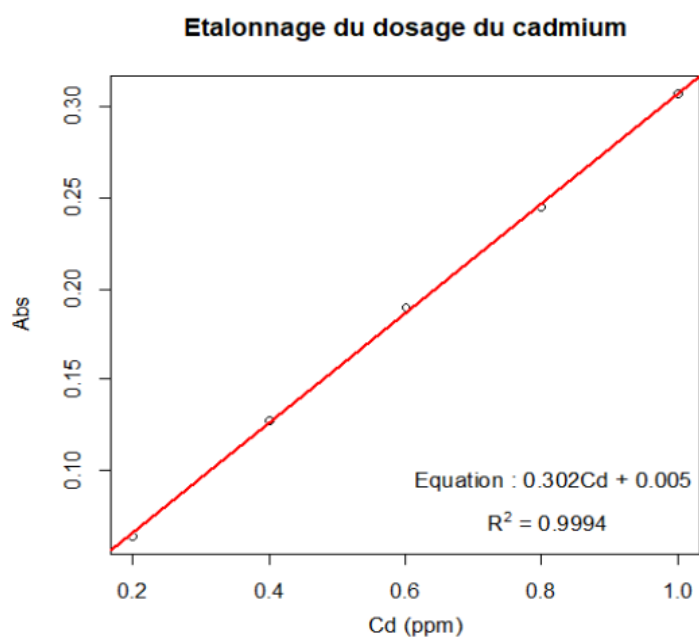


Figure 4. Courbe d'étalonnage du cadmium.

Annexe III : Composition des produits nécessaires aux dosages des biomarqueurs

Tampons d'homogénéisation

Tampon Tris à 20 mM (pH = 7.6)

Produits utilisés Hydroxyméthyl aminométhane (Tris).....	20 mM
- Acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA).....	1 mM
Saccharose.....	0.5 M
- Chlorure de potassium (KCl).....	0.15 M
- Dithiothréitol (DTT).....	1 mM
- Fluorure de phénylméthylsulfonyle (PMSF).....	0.1mM

- Solubiliser le PMSF dans de l'isopropanol à raison 200 mM ;
- Aliquoter dans des tubes Eppendorf à raison 50 µl ;
- Solution stable pendant 6 mois à - 20 ° C.

Préparation

- Pour la préparation de 100 ml de tampon Tris, dissoudre dans 80 ml d'eau distillée 24 g de Tris ; 0.029 g d'EDTA ; 17.11 g de saccharose ; 1.11 g KCl ; 0.015 g DTT et le contenu d'un tube Eppendorf de PMSF ;
- Mélanger puis compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.
- Tampon à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Protéines Composition et préparation du réactif nécessaire au dosage

Réactif protéique

Produits utilisés

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

Préparation

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

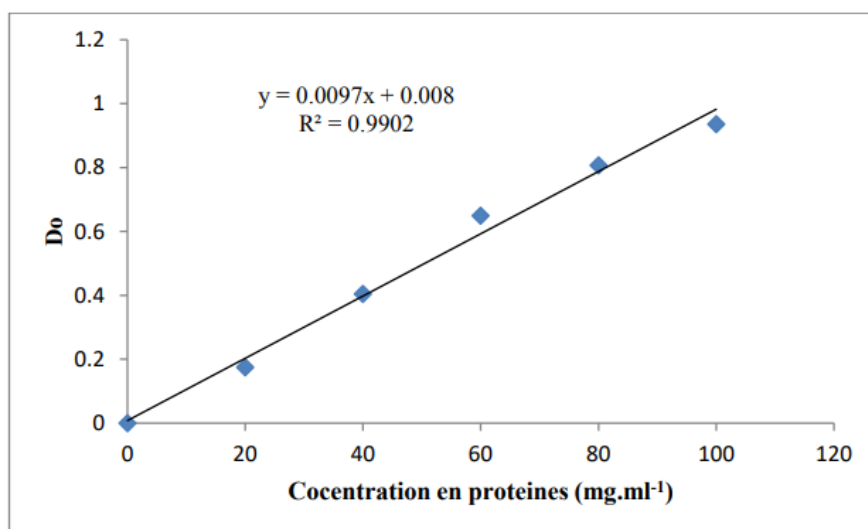


Figure 5. Représentation graphique de la courbe d'étalonnage des protéines.

Glutathion réduit (GSH)
Composition et préparation des produits nécessaires au dosage

Solution d'acide sulfosalicylique à 4 %

Produit utilisé

- Acide sulfosalicylique.

Préparation

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

Réactif d'Ellman à 10 mM

Produits utilisés

- Acide 5.5'-dithio-bis-2 nitrobenzoïque (DTNB).
- Méthanol absolu. Préparation
- Dissoudre 0.0396 g de DTNB dans 10 ml de méthanol absolu.
- Solution instable à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Tampon Tris-HCl à l'EDTA (pH = 9.6)

Produits utilisés

- Tris 0.4 M - EDTA 20 mM
- Acide chlorhydrique (HCl) 37%

Préparation

- Pour la préparation de 500 ml de tampon, dissoudre 24.22 g de Tris dans 400 ml d'eau distillée. - Ajouter 2.92 g d'EDTA.
- Mélanger puis compléter à 500 ml avec de l'eau distillée.
- Ajuster le pH à 9.6 avec quelques gouttes d'HCl.
- Solution à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Glutathion S-transférase

Composition et préparation des produits nécessaires au dosage

Produits utilisés

- Dihydrogénophosphate de potassium (KH₂PO₄).
- Hydrogénophosphate de potassium (K₂HPO₄).

Préparation

- Dissoudre 13.6 g de KH₂PO₄ dans 1000 ml d'eau distillée (Solution A).
- Dissoudre 17.4 g de K₂HPO₄ dans 1000 ml d'eau distillée (Solution B).
- Ajuster le pH de la solution (A) à l'aide de la solution (B).
- Solution stable pendant plusieurs semaines à 4 °C.

Solution 1-chloro -2.4 - dinitrobenzène à 20 mM

Produits utilisés

- 1- Chloro-2.4-dinitrobenzène (CDNB).
- Ethanol absolu.

Préparation

- Dissoudre 0.04 g de CDNB dans 10 ml d'éthanol absolu.
- Solution instable à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Solution de glutathion réduit à 20 mM

- Glutathion réduit (GSH).

Préparation

- Dissoudre 0.06 g de GSH dans 10 ml d'eau distillée.
- Solution instable à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.

Malondialdéhyde
Composition et préparation des produits nécessaires au dosage

Solution TCA 5 %

Produits utilisés :

- Acide trichloroacétique (TCA) Préparation
- Dissoudre 5 g de TCA dans 100 ml d'eau distillée

Solution TBA 0.67 %

Produits utilisés

- Acide thiobarbiturique (TBA) Préparation
- Dissoudre 0.67 g de TBA dans 100 ml d'eau distillée.