

EFFET DU BENZO(A)PYRENE SUR LA COMMUNAUTE PHYTOPLANKTONIQUE DU CANAL ET DE LA LAGUNE DE BIZERTE

Hiba BEN OTHMAN^{1*}, M. MEDDEB¹, H. HADJ MABROUK¹
et A. SAKKA HLAILI¹

¹Laboratoire de Cytologie Végétale & Phytoplanktonologie, Faculté des Sciences de Bizerte,
Université de Carthage, Zarzouna, 7021, Tunisie
benothmanhiba@yahoo.fr

ملخص

تأثير البنزو(أ)بيرين على الطحالب المجهرية في القنال وبحيرة بنزرت : تعتبر بحيرة بنزرت ملقحة للعديد من الملوثات السامة التي يمكن أن تشكل تهديدا لتوازن هذا النظام الإيكولوجي. من بين هذه الملوثات نذكر: الهيدروكربونات عطرية متعددة الحلقات وهي مصنفة من بين الملوثات ذات الأولوية. تأثير البنزو (أ) بيرين، ملوث عضوي من عائلة الهيدروكربونات العطرية متعددة الحلقات، على العوالق النباتية قد درس في بحيرة وقناة بنزرت خلال شهر جويلية ونوفمبر 2009. في كل تاريخ وفي كل محطة جُمعت عينات من المياه، وبعد ثلاثة أيام من التأقلم، أُستخدِمت لتحقيق تجارب مخبرية، فقمنا بثلاثة معالجات: المعالجة الأولى تعرف بالشاهدة وهي غير ملوثة، المعالجة الثانية (1) وهي ملوثة بـ 0,5 ملغرام في اللتر الواحد والمعالجة الثالثة (2) وهي ملوثة بـ 1 ملغرام في اللتر الواحد من البنزو (أ) بيرين. إتباع تركيز الكلوروفيل (أ) على مدة ستة أيام من الحضنة أظهرت أن البنزو(أ) بيرين في بحيرة بنزرت خلال شهر جويلية لم يؤثر لا على الكتلة الحيوية ولا على نمو العوالق النباتية بل بالعكس فخلال شهر نوفمبر بينت نسبة الكلوروفيل (أ) بعد المعالجتين (1) و (2) هبوطا واضحا (من 3,22 إلى 2,44 ميكروغرام في اللتر الواحد في ما يتعلق بـ (1) ومن 3,22 إلى 1,33 ميكروغرام في اللتر الواحد في ما يتعلق بـ (2)) مقارنة بالشاهدة التي بينت ازديادا في تركيز الكلوروفيل (أ) (من 3,22 إلى 12,57 ميكروغرام في اللتر الواحد) كما أظهرت العوالق النباتية نسبة نمو أقل بكثير في المعالجتين الملوثتين (0,0058 يومياً بالنسبة لـ (1) و 0,2- يومياً بالنسبة لـ (2)) مقارنة بالشاهدة (0,37 يومياً). أما في ما يتعلق بالقناة، فخلال شهر جويلية لاحظنا ازديادا واضحا في تركيز الكلوروفيل (أ) بمعدل مرتين بعد المعالجة (2) (من 3,2 إلى 20,02 ميكروغرام في اللتر الواحد) مقارنة بكل من المعالجة (1) (من 3,2 إلى 5,56 ميكروغرام في اللتر الواحد) والشاهدة (من 3,2 إلى 4,44 ميكروغرام في اللتر الواحد) وبذلك فإن نسبة النمو بالنسبة للمعالجة (2) والمقدرة بـ 0,5 يومياً قد تجاوزت نسبة النمو بالنسبة لـ (1) والمقدرة بـ 0,33 يومياً وكذلك الشاهدة والمقدرة بـ 0,28 يومياً. أما خلال شهر نوفمبر، لم يلاحظ وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين المعالجات الثلاثة ((1) و (2) و الشاهدة) وهذا ليس على الكلوروفيل (أ) ولا على نمو العوالق النباتية أيضا. هذه النتائج بينت أن العوالق النباتية لمياه قناة بنزرت هي أكثر مقاومة للتركيزات العالية للبنزو (أ) بيرين، لأن تلك المحطة الواقعة أمام مصنع اسمنت بنزرت تعدّ من بين المناطق الأكثر تلوثا بالبنزو (أ) بيرين، بالإضافة إلى ذلك فإن الاختلاف في إجابة العوالق النباتية للتلوث بالبنزو (أ) بيرين بين الموسمين يبدو أن له علاقة بالتقلبات الموسمية لمكونات الأنواع من مجتمعات الطحالب المجهرية. الكلمات المفتاحية : الكلوروفيل (أ)، قنال و بحيرة بنزرت، البنزو (أ) بيرين، نسبة نمو.

RESUME

La lagune de Bizerte devient un récepteur privilégié des micropolluants dont certains sont toxiques et peuvent constituer une menace pour l'équilibre de cet écosystème. Parmi ces polluants, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont retenus comme des polluants prioritaires. La présente étude est une première investigation de l'effet d'un HAP, le Benzo(a)pyrène [B(a)py], sur la communauté phytoplanctonique au niveau d'une station lagunaire (station plus ou moins polluée par le B(a)py) et une station au niveau du canal (station la plus polluée par le B(a)py) en été (juillet) et automne (novembre) 2009. Pour cela, des communautés phytoplanctoniques, collectées des deux stations, ont été maintenues en culture pendant 6 jours sous trois différents traitements, un témoin (non contaminé) et deux contaminations avec 0,5 mg l⁻¹ (traitement B1) et 1 mg l⁻¹ (traitement B2) du B(a)py. Au cours des incubations, la chlorophylle *a* (Chl *a*), le taux de croissance phytoplanctonique ont été déterminés. Les résultats ont révélé qu'au niveau de la station canal, les deux contaminations par le B(a)py n'ont induit aucun effet ni sur la Chl *a* ni sur la croissance microalgale en novembre. La forte contamination a été même suivie par une stimulation de la prolifération du phytoplancton en juillet. Ceci suggère que le phytoplancton des eaux du canal serait plus résistant aux fortes concentrations en B(a)py, car cette station, située en face de la cimenterie de Bizerte, est parmi les zones les plus polluées par ce contaminant. Par contre, au niveau de la station lagune, au cours des deux mois, les taux de croissance du

phytoplancton, après les deux contaminations, ont baissé. Ceci indique que les microalgues présentes dans cette station, milieu moins pollué que la station canal, seraient sensibles au B(a)py.

Mots clés: Lagune et canal de Bizerte- B(a)py- phytoplancton- chlorophylle *a*- croissance.

ABSTRACT

effect of Benzo(a)pyrene on phytoplankton community from channel and lagoon of Bizerta (Tunisia) : The Bizerte lagoon is becoming a key receptor for several micro-pollutants, which are sometimes toxic and may pose a threat to the ecosystem. Among these pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) were selected as priority pollutants. The present study investigated for the first time the effect of Benzo(a)pyrene [B(a)py] on phytoplankton community in a lagoonal station (station moderately polluted by the B(a)py) and a station at the channel (station highly polluted by B(a)py) of Bizerte in summer (July) and autumn (November) 2009. For this, phytoplankton communities collected from these stations were maintained in culture for 6 days under three different treatments: a control (uncontaminated) and two contaminations with 0.5 mg l⁻¹ (treatment B1) and 1 mg l⁻¹ (treatment B2) of B(a)py. During the incubations, chlorophyll *a* (Chl *a*), the growth rate of phytoplankton were measured for the three treatments. The results showed that at the channel, both contaminations with B(a)py did not induce any effect neither on Chl *a* nor on microalgal growth in November. High B(a)py contamination was even followed by a stimulation of phytoplankton growth in July. This suggests that the phytoplankton originated from the channel was more resistant to high concentrations of B(a)py, because this area, located approximately of cement industry is among the most polluted areas by B(a)py. However, at the lagoonal station, the growth rates of phytoplankton declined after both PAH contaminations. This indicates that the microalgae present in this station, environment less polluted than the channel, were sensitive to B(a)py.

Key words: Bizerte lagoon and channel- B(a)py- phytoplankton- chlorophyll *a*- algal growth.

INTRODUCTION

Les écosystèmes côtiers, source de biens et services remarquables (Costanza *et al.*, 1997), font face à une pression démographique croissante (Small et Nicholls 2003) entraînant une contamination accrue par les polluants métalliques, organiques et inorganiques. Les contaminants sont en transit ou stockés dans ces milieux d'interface entre le continent et les océans (James, 2002). Parmi les polluants organiques ayant des impacts sur les écosystèmes marins, on trouve les hydrocarbures aromatiques cycliques (les HAP) (Jones et Voogt, 1999; Wild et Jones, 1995). Ces polluants organiques peuvent avoir trois origines dont la plus importante est la source pyrolytique qui correspond à la combustion incomplète de la matière organique à la haute température. Cette source peut être naturelle (feux de forêts, éruptions volcaniques, fuites de réserves naturelles de pétrole,...) (Juhasz et Naidu, 2000; Wilcke, 2000), comme elle peut être anthropique (activités industrielles, incinération des déchets, automobiles et combustion du pétrole, du charbon, du gaz naturel). La seconde source est pétrogénique, qui correspond à tous les déversements de pétrole dans le milieu naturel (Hill et Goshal, 2002) soit par des déversements pétroliers (naufrage, dégazage,...) soit par des fuites des réservoirs naturels à travers l'écorce terrestre. Enfin, la dernière source est d'origine diagénétique, issue de la maturation lente de la matière organique lors de la diagénèse et la catagenèse dans le milieu sédimentaire profond (Rababah et Matsuzawa, 2002). Les HAP sont des contaminants ubiquistes de l'environnement, c'est-à-dire qu'ils sont présents dans tous les compartiments de celui-ci: air, eau et sol (Meinesz *et al.*, 1995). Le

milieu aquatique constitue le réceptacle privilégié des HAP qui l'atteignent par la pluie, le ruissellement et le lessivage des routes et des sols (La Rocca *et al.*, 1996). En 1979, on estimait à 230.000 tonnes la quantité des HAP atteignant chaque année le milieu aquatique (Neff, 1979). Selon les milieux et les HAP considérés, les concentrations sont très variables, les plus légers (exemple: Naphtalène, Acénaphthène, Phénanthrène) ayant des teneurs de l'ordre de µg l⁻¹ alors que les plus lourds (exemple: Chrysène, B(a)py, Pyrène) de l'ordre de ng l⁻¹. Les HAP se fixent préférentiellement sur les particules et se concentrent dans les sédiments des milieux marins et ceci en raison de leur hydrophobie. Ce phénomène et d'autant plus accentué que les HAP sont lourds et hydrophobes et que les HAP sont souvent fixés sur des particules au moment de leur émissions (EPA, 1990). Du fait de leurs faibles solubilités dans l'eau et de leurs faibles densités, les hydrocarbures rejetés s'étalent à la surface avant de subir une série de modification suite à l'action des facteurs abiotiques et biologiques et on note que l'action simultanée de ces différents facteurs aboutit à l'élimination de cette pollution.

Plusieurs travaux ont étudié l'effet des HAP sur les espèces marines tel que les poissons. Ces polluants peuvent entraîner un dysfonctionnement cellulaires, des mutations génétiques et une formation des tumeurs cancérogènes provoquant des modifications physiologiques qui peuvent altérer les performances de la nage et la respiration (McLeod *et al.*, 1991). D'autre recherche ont montré qu'au cours des processus de biotransformation des HAP tel que le B(a)py, certains intermédiaires sont révélés actifs et capables de se lier de manières covalentes avec des

constituants cellulaires comme l'ADN, l'ARN ou des protéines, révélant alors des propriétés mutagènes et cancérogènes (Cerniglia, 1992). Quelques travaux ont étudié l'effet des HAP sur la communauté phytoplanctonique. Hong *et al.* (2008) ont étudié l'effet de deux types de HAP (phénanthrène et la fluoranthène) sur deux types de diatomées à savoir : *Skeletonema costatum* et *Nitzschia sp.* Les résultats ont montré que les deux types de HAP ont un effet synergique, de plus, ils ont un effet inhibiteur sur la croissance et la production. Wang *et al.* (2008) a montré que différents HAP (phénanthrène, anthracène, pyrène et fluoranthène) ont un effet inhibiteur sur la croissance d'une diatomée *Pheodactylum tricornutum* et que la toxicité de ces polluants augmente en présence des radiations UV. Une étude récente a reporté aussi un effet négatif du pyrène et du phénanthrène sur la croissance, l'abondance, la biomasse et la viabilité des microalgues en culture mais aussi des communautés naturelles phytoplanctoniques (Echeveste *et al.*, 2010). Selon ces auteurs, les espèces de petite taille (tels que les cyanobactéries *Prochlorococcus marina* et *Synechococcus sp.*) sont les plus vulnérables aux HAP alors que celles de grande taille (telle que la diatomée *Thalassiosira sp.*) sont plus résistantes.

De nos jours, les hydrocarbures aromatiques polycycliques sont les plus étudiés à cause de leurs teneurs relativement élevées au niveau de la colonne d'eau et des sédiments dans divers écosystèmes aquatiques tel le port d'Albia en Italie (160-770 ng l⁻¹), la lagune de Venise (1,3-4800 ng l⁻¹), le port de Sydney en Australie (100-380 ng l⁻¹), la zone côtière de Trieste en Italie (34,67-682,29 ng l⁻¹), la Baie de Caso en USA (16-21000 ng l⁻¹), la mer de Crête (14,7-161,5 ng l⁻¹) et les zones côtières de la Corée (8,80-18500 ng l⁻¹). En Tunisie, certaines côtes sont soumises à une forte pollution par les hydrocarbures, c'est le cas des côtes de la région de Sfax au sud (113-10720 ng l⁻¹) et de lagune de Ghar El Melh au nord (39,59-655,28 ng l⁻¹) (La Rocca *et al.*, 1996; Mc Cready *et al.*, 2000; Louati *et al.*, 2001; De Luca *et al.*, 2005; Zaghdien *et al.*, 2007; Sprovieri *et al.*, 2007; Ben Ameer, 2008). Au niveau de la lagune de Bizerte, Trabelsi et Driss (2004) ont distingué trois niveaux de contamination des sédiments par les HAP totaux. Ainsi, une zone faiblement contaminée (20,41-127,88 ng g⁻¹ sédiment sec) couvre le secteur Est de la lagune; une zone moyennement contaminée (116,16-141,12 ng g⁻¹ sédiment sec), est localisée sur les bordures côtières Nord-Est; une zone fortement contaminée (235,56-449,26 ng g⁻¹ sédiment sec) couvre les secteurs Nord, Ouest et Sud-Ouest. Au niveau de cette lagune, les études concernant les HAP sont rares et se sont limitées au compartiment sédimentaire et aux communautés benthiques liées à ce compartiment (Ouakad, 1982; Yoshida *et al.*, 2004; Trabelsi et Driss, 2004; Ben

Said *et al.*, 2007). Cependant, aucun travail n'a étudié l'effet des HAP sur les communautés planctoniques de la lagune, tel que le phytoplancton. A part sa production de la matière organique qui alimente l'ensemble du réseau trophique (Carlotti *et al.*, 1993), le phytoplancton joue un rôle crucial dans le fonctionnement de la pompe biologique du CO₂, gaz à effet de serre, de l'air (Carmack *et al.*, 2004).

Comme il a été mentionné, les HAP peuvent affecter les espèces phytoplanctoniques de différentes manières ce qui va nécessairement se répercuter sur l'ensemble du système planctonique. Dans le cadre de la présente étude on s'est intéressé donc à examiner l'effet d'un HAP dominant et fréquent au niveau de la lagune de Bizerte, à savoir le B(a)py (Trabelsi et Driss, 2004) sur la communauté phytoplanctonique pendant deux saisons (été et automne 2009) pour tenir compte de la variabilité saisonnière du phytoplancton (Sahraoui *et al.*, 2009).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Site d'étude

La lagune de Bizerte s'étend sur 11 km de largeur et 13 km de longueur, avec une superficie de 150 km². Elle s'inscrit entre les longitudes 9°48'-9°56'E et les latitudes 37°8'-37°14'N. Sa profondeur moyenne est de 8 m. Les vents y constituent le principal facteur hydrodynamique, avec une dominance du secteur nord-ouest (Mansouri, 1996). La lagune est un bassin récepteur et représente un écosystème aquatique influencé par les eaux marines et douces. Cette lagune communique au nord en permanence avec la Méditerranée par l'intermédiaire d'un chenal appelé communément le canal de Bizerte (7 km de longueur, 300 m de largeur et 12 m de profondeur) et à l'ouest avec le lac Ichkeul par l'oued Tinja. Ce dernier constitue le plus important des sept oueds alimentant la lagune en eau douce. En plus des effets de l'urbanisme, (162 900 habitants se trouvant dans des agglomérations autour de la lagune) (Derouiche *et al.*, 2004), la lagune de Bizerte est influencée par un grand nombre d'unités industrielles recouvrant plusieurs secteurs tel que les activités portuaires, les raffineries de pétrole, la sidérurgie, la construction navale, la pétrochimie et plusieurs autres industries (textile, l'agro-alimentaire, etc.). La lagune est le siège d'une forte production halieutique et conchylicole, essentiellement des moules (90%) mais aussi des huîtres et des palourdes. Cette lagune supporte une forte biomasse (1-7 µg Chl *a* l⁻¹) et une active production phytoplanctonique (50-360 µg C m⁻³ d⁻¹) (Sakka *et al.*, 2007). Ceci peut être dû à une disponibilité nutritive assez élevée (NO₂-+ NO₃- : 0,8-11 µM; PO₄³⁻ : 0,14-0,48 µM). Les concentrations du B(a)py dans les sédiments de la lagune varient entre 20 et 449 ng g⁻¹ de poids sec (Trabelsi et Driss, 2004).

2. Échantillonnage

L'échantillonnage a été effectué au niveau de deux stations: une station lagunaire (L) et une station au niveau du canal de Bizerte (C) durant les mois de juillet (été) et novembre (automne) 2009 (Figure 1).

A chaque station, la température de l'eau et la salinité ont été mesurées par un salinomètre muni d'un thermomètre de type WTW LF 197 et le pH a été déterminé à l'aide d'un pH-mètre de terrain. La turbidité de l'eau a été aussi mesurée à l'aide d'un

néphélomètre portable de type TURB 350 IR et la transparence de l'eau a été estimée en utilisant un disque de Secchi de 30 cm de diamètre relié à un câble gradué. En plus de ces mesures *in situ*, des échantillons d'eau ont été collectés sur toute la colonne d'eau. Ces échantillons ont permis de déterminer les concentrations en sels nutritifs (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , PO_4^{3-} et Si(OH)_4) et les teneurs en chlorophylle *a* (Chl *a*) ainsi que pour identifier et dénombrer les cellules phytoplanctoniques.

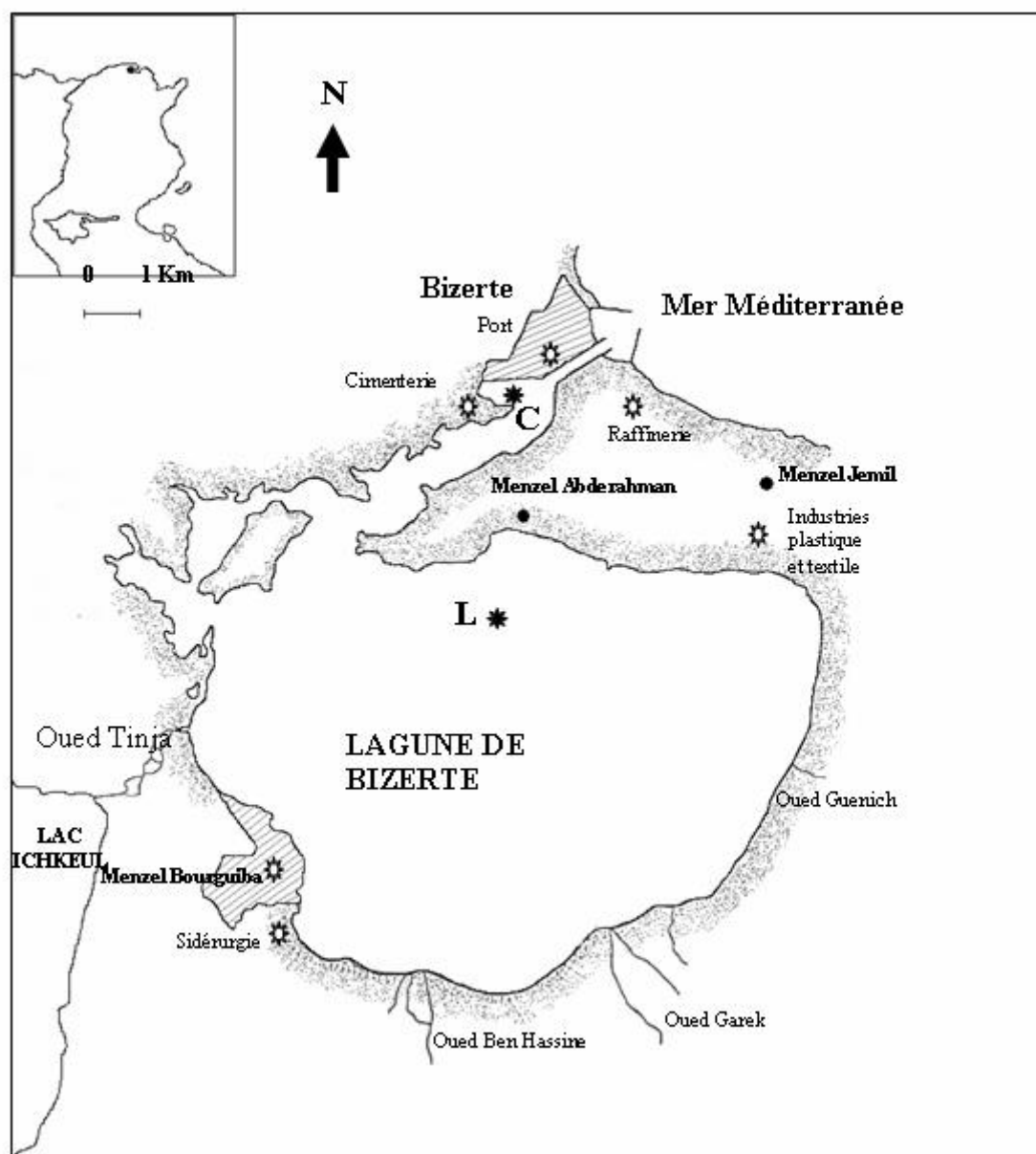


Figure 1. Lagune de Bizerte : Localisation des stations d'étude

3. Expériences de contamination

Parallèlement aux échantillonnages, des expériences de contamination par le B(a)py ont été menées afin d'étudier l'effet de cet HAP sur la biomasse et la croissance du phytoplancton au niveau de chaque station d'étude (C et L) et durant les deux mois (juillet et novembre 2009). Deux solutions de B(a)py de différentes concentrations (0,5 mg l⁻¹ et 1 mg l⁻¹) ont été préparées dans l'acétone à 0,1% (v/v). A chaque station, l'eau prélevée (2 l) a été préfiltrée sur un filet Nitex (200 µm). Cette eau a été mélangée avec 20 l d'eau de mer libre de toutes particules (filtrée sur 0,2 µm) et autoclavée. Le mélange a été acclimaté pendant 3 jours dans des conditions bien déterminées de température (25°C), de luminosité (100 µE m⁻² s⁻¹) et de photopériodicité (12 h lumières et 12 h obscurité). Des solutions nutritives de NO₃⁻, PO₄³⁻ et de Si ont été ajoutées au mélange tout en respectant le rapport de Redfield (16N : 16Si : 1P) afin de permettre une prolifération phytoplanctonique. Après les trois jours d'acclimatation, le mélange a été mis dans plusieurs bouteilles en polycarbonates de 2 l dont deux bouteilles ont été prises pour faire des analyses immédiates. Le reste du mélange a été subdivisé en trois lots: un lot de bouteilles (6 bouteilles) a été contaminé par la solution de B(a)py à une concentration finale de 0,5 mg l⁻¹ (traitement B1), un second lot (6 bouteilles) a reçu la solution de B(a)py à une concentration finale de 1 mg l⁻¹ (traitement B2) et un troisième lot (6 bouteilles) non traité par le B(a)py a servi comme témoin (traitement T).

Toutes les bouteilles ont été incubées pendant 6 jours sous un plafond lumineux aux mêmes conditions décrites précédemment. Durant l'incubation, les bouteilles des traitements B1 et B2 ont reçu la solution de B(a)py aux concentrations finales 0,5 mg l⁻¹ et 1 mg l⁻¹ respectivement. Des solutions nutritives de N, P et Si ont été aussi ajoutées aux trois lots au début et à chaque jour de l'incubation afin de maintenir la croissance phytoplanctonique. Deux bouteilles de chaque traitement ont été prises au début, au 2ème, 4ème et 6ème jour de l'incubation et ont servi pour analyser la Chl *a*.

4. Analyse au laboratoire

Pour analyser les nutriments, des échantillons de 1000 ml ont été filtrés sur des filtres en polycarbonate de 0,2 µm. Les filtrats ont été conservés à -20°C jusqu'à l'analyse. Les nitrites et les nitrates ont été dosés selon le procédé de Wood *et al.* (1967). L'ammonium a été mesuré suivant la technique de Koroleff (1969). Les analyses des phosphates et de l'acide orthosilicique ont été basées sur les méthodes de Murphy et Riley (1962) et de Mullin et Riley (1955), respectivement. Les limites de détection des méthodes analytiques de NO₂⁻, NO₃⁻, NH₄⁺, PO₄³⁻

et Si(OH)₄ sont 0,01 ; 0,05 ; 0,05 ; 0,02 et 0,1 µM, respectivement.

Pour doser la Chl *a*, des échantillons de 1000 ml ont été filtrés sur des filtres Whatman GF/F. L'extraction de la Chl *a* a été réalisée dans l'acétone 90% pendant 30 h dans l'obscurité et à 5°C. Les concentrations des pigments ont été estimées en utilisant la méthode spectrophotométrique de Lorenzen (1976) telle que décrite par Parsons *et al.* (1984).

Pour dénombrer et identifier le phytoplancton, des échantillons d'eau (100 ml) ont été fixés avec une solution de Lugol acide (concentration finale de 4%). Les abondances cellulaires ont été déterminées sous microscope inversé à l'immersion (Uthermöhl, 1931; Lund *et al.*, 1958). Dans chaque échantillon, au moins 200 cellules ont été comptées.

5. Calcul

Pour les différents traitements (T, B1, B2), les concentrations de la Chl *a*, mesurées au cours des incubations, ont été utilisées pour calculer le taux de croissance phytoplanctonique en utilisant le modèle exponentiel de Landry et Hassett (1982) selon l'équation:

$$N_t = N_0 e^{\mu t}$$

Soit

$$\ln(N_t / N_0) = \mu t$$

où N₀ et N_t sont la biomasse en Chl *a* initiales et au temps t, respectivement; µ (j⁻¹) est la pente de la régression linéaire ln(N_t/N₀) en fonction du temps.

6. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS version 14.0 pour Windows. Une analyse des variances (ANOVA) a été utilisée pour tester l'effet du B(a)py sur les différentes variables déterminées au cours des expériences de contamination (Chl *a*, taux de croissance). Lorsque l'effet est significatif, un test *a posteriori* de comparaison multiple (test de Tuckey) a été réalisé pour comparer les traitements deux à deux. Lorsque la normalité de la distribution des données (test de Kolmogorov-Smirnov) et/ou l'homogénéité des variances (test de Bartlett-Box) n'ont pas été vérifiées, une analyse ANOVA non paramétrique (Kuskal-Wallis) a été employée.

RÉSULTATS

1. Variabilité temporelle et spatiale du milieu naturel

1.1. Variabilité de la physico-chimie

La majorité des facteurs physico-chimiques ont été similaires entre les deux stations à chaque mois, mais ont montré une variation temporelle prononcée (Tableau I). La température de l'eau moyenne estivale (27,30°C) a été largement supérieure à celle

Tableau I : Facteurs physico-chimiques des eaux naturelles des deux stations d'étude au début de chaque expérience de contamination en juillet et novembre 2009 (Nd : non détecté)

	Station C		Station L	
	Juillet	Novembre	Juillet	Novembre
Température (°C)	27,50	19,40	27,10	19,50
Salinité (PSU)	34,10	35,60	33,90	36,00
pH	8,23	8,12	8,18	8,08
Turbidité (NTU)	3,57	12,00	2,68	10,00
NO₃⁻ + NO₂⁻ (µM)	12,55±0,46	17,19±0,23	0,36±0,13	1,81±0,44
NH₄⁺ (µM)	1,36± 0,20	3,70±0,11	1,79±0,07	2,35±1,63
PO₄³⁻ (µM)	0,93± 0	0,06±0,03	0,15±0,1	2,35±1,63
Si(OH)₄ (µM)	Nd	0,62±0,037	Nd	Nd

automnale (19,45°C). La salinité a oscillé entre 33,9 et 34,10 PSU en juillet et entre 35,6 et 36 PSU en novembre. Le pH, qui a peu varié, a accusé une valeur moyenne de 8,15. Par ailleurs, les eaux des deux stations ont été plus turbides en novembre (10-12 NTU) qu'en juillet (2,68-3,57 NTU).

Contrairement aux facteurs environnementaux précédents, les concentrations nutritives ont montré des variations spatiales et temporelles (Tableau I). Les teneurs en NO₃⁻ + NO₂⁻ ont été remarquablement plus élevées au niveau de la station C (juillet: 12,55 µM; novembre: 17,19 µM) qu'à la station L (juillet: 0,36 µM; novembre: 1,81 µM). La concentration en Si(OH)₄, enregistrée à la station C en novembre, a été de l'ordre de 0,62 µM. Les teneurs de ce nutriment ont été inférieures au seuil de détection (0,1 µM) pour les autres échantillons. Les PO₄³⁻ ont fluctué avec une concentration maximale à la station L (2,35 µM) en novembre et une minimale (0,06 µM) à la station C pendant le même mois. Les teneurs les plus élevées en NH₄⁺ ont été détectées en novembre aux deux stations (L: 2,35 µM; C: 3,70 µM) et les plus faibles en juillet (L: 1,79 µM; C: 1,36 µM).

1.2. Variabilité de la communauté phytoplanctonique

En juillet, la concentration de la Chl *a* au niveau de la station L s'élevait à 8,45 µg l⁻¹ mais elle n'était que de 4,89 µg l⁻¹ au niveau de la station C. Durant le mois de novembre, les teneurs en Chl *a* dans les deux stations étaient similaires (3,33-3,47 µg l⁻¹) (Figure 2a).

Au niveau de la station C, l'abondance du phytoplancton enregistrée en novembre (24 105 cellules l⁻¹) a dépassé celle accusée en été

(14 105 cellules l⁻¹). La densité phytoplanctonique en automne dans les eaux de la station L s'élevait à 20 105 cellules l⁻¹ (Figure 2b).

La communauté naturelle du phytoplancton aux deux stations a été composée de divers groupes taxinomiques qui ont montré des différentes contributions relatives à l'abondance phytoplanctonique totale au cours des deux mois (Figure 3). Au niveau de la station C, la communauté estivale des autotrophes a été dominée par les ultra-flagellés dont la taille est inférieure à 5 µm (36% de l'abondance totale). Ce groupe a aussi présenté une fraction aussi importante (26%) en automne. Les diatomées étaient dominantes en novembre (40%) alors qu'elles ne contribuaient qu'à 7% de la densité cellulaire en été. Au contraire, les dinoflagellés ont montré une contribution relative plus élevée en été (16%) qu'en automne (5%).

Aux deux stations, les diatomées ont été représentées essentiellement par *Skeletonema costatum*, *Bacterosira* sp., *Leptocylindrus danicus* et *Leptocylindrus minimus*. Quant aux dinoflagellés, ils ont été dominés par *Gyrodinium spirale*, *Gyrodinium fusiforme*, *Alexandrium* sp. et *Gymnodinium* sp. En juillet, les dictyochophycées (*Meringosphaera* et *Pseudopedinella*), les cryptophycées (*Teleaulax*, *Chroomonas*, *Plagioselmis*, *Rhodomonas*, *Hemiselmis* et *Hillea*) et les raphidophycées (*Heterosigma* et *Imantonia*) ont été présents aussi avec des contributions respectives de 17%, 9%, 9% respectivement. En novembre, se sont les dictyochophycées (*Dictyocha*, *Meringosphaera* et *Pseudopedinella*) et les ciliés autotrophes (*Mesodinium rubrum*) qui ont accusé une présence

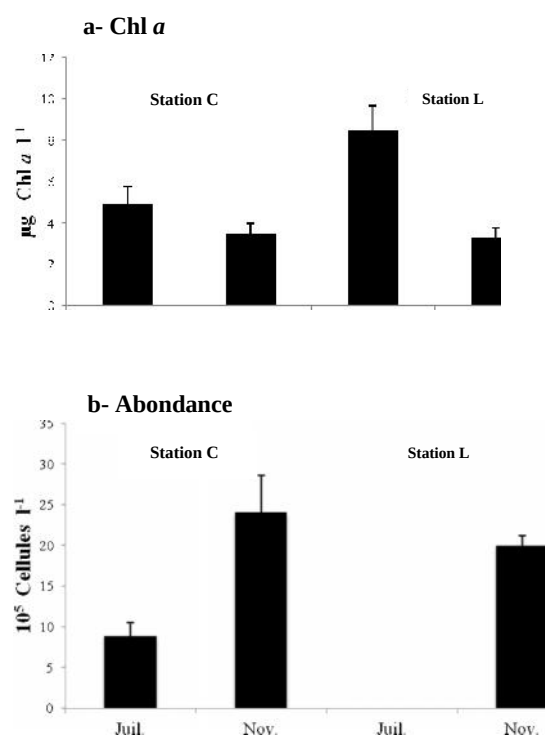


Figure 2 : Variation estivo-automnale de la biomasse chlorophyllienne (a) et de l'abondance du phytoplancton (b) au niveau des deux stations d'étude en 2009 (Moyennes $\pm$ écart-types)

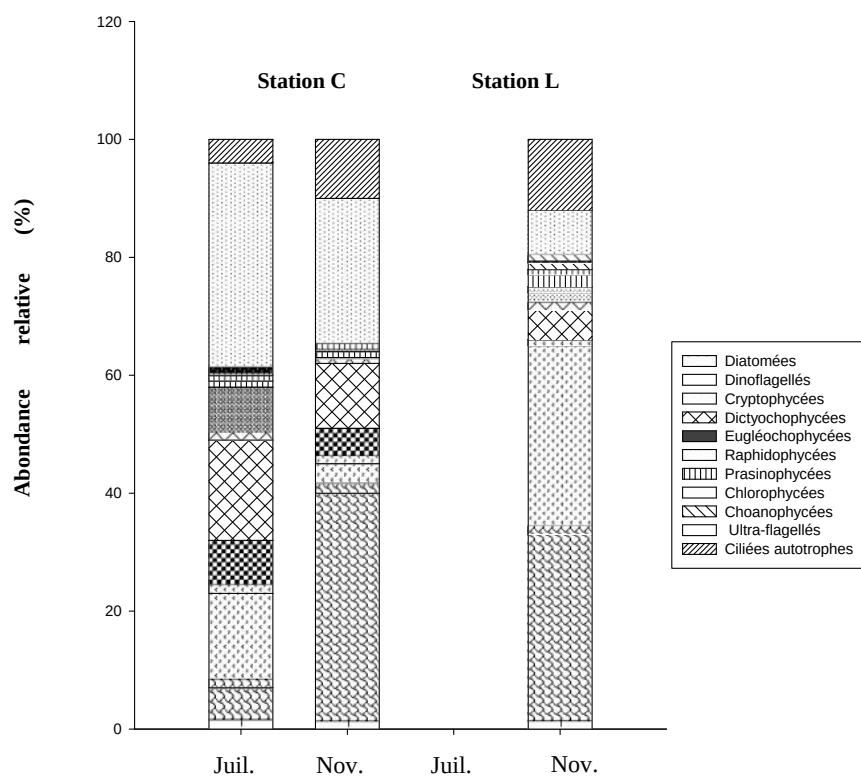


Figure 3 : Composition taxinomique du phytoplancton au niveau des deux stations d'études en juillet et novembre 2009

assez importante (11-10%) dans la communauté algale de la station C.

Au niveau de la station L en novembre, les diatomées (*Skeletonema costatum* et *Bacterosira* sp.) et les dinoflagellés (*Gymnodinium* sp. et *Gyrodinium* sp.) ont été les plus dominants (33-32%) suivis par les ciliés autotrophes (*Mesodinium rubrum*) et les ultra-flagellés (12-9%). Les autres classes taxinomiques ont, par contre, montré des contributions faibles ne dépassant pas 5%.

2. Effet du B(a)py sur la communauté phytoplanctonique

Au niveau du canal et durant le mois de juillet, les teneurs en Chl *a* ont augmenté, de deux fois, après contamination B2 (de 3,2 à 20,02 µg l⁻¹) par rapport aux deux autres traitements (Figure 3a). Ainsi, la croissance des microalgues contaminées avec 1 mg l⁻¹ de B(a)py (B2:0,50 j⁻¹) a dépassé celles estimées dans les deux autres traitements (T: 0,28 j⁻¹; B1 :0,33 j⁻¹) (Tableau II). Pendant le mois de novembre, aucune différence significative n'a été signalée entre les trois traitements et ceci ni pour la Chl *a* (Figure 4b) ni pour la croissance phytoplanctonique (Tableau II).

Tableau II. Taux de croissance du phytoplancton (j⁻¹) après les différents traitements [T, B1, B2] au cours des expériences menées en juillet et novembre 2009 au niveau des stations C et L (Moyennes ± écart-types)
Les valeurs en gras sont significativement (P< 0,05) différentes du témoin (T)

	Station C			Station L		
	T	B1	B2	T	B1	B2
Juillet	0,28± 18	0,33±0,14	0,50±0,014	0,03±0,07	-0,12±0,08	-0,13±0,009
Novembre	0,22±0,04	0,24±0,1	0,20±0,01	0,37±0,3	0,006±0,31	-0,20±0,19

Au cours des expériences menées au niveau de la station L, le B(a)py a induit un effet négatif sur la biomasse et sur la croissance du phytoplancton. En effet, à la fin des incubations de juillet, les concentrations en Chl *a* dans les traitements B1 et B2 ont chuté (B1: de 5,34 à 3,34 µg l⁻¹; B2: de 5,34 à 3,15 µg l⁻¹) par rapport au témoin, où la Chl *a* a augmenté (de 5,34 à 6,65 µg l⁻¹) (Figure 4c). En outre, une décroissance du phytoplancton a été observée dans les deux contaminations (-0,13 - -0,12 j⁻¹) (Tableau II). Pendant le mois de novembre, à la station L, les teneurs en Chl *a*, après les deux contaminations, ont chuté tout au long de l'expérience d'une façon remarquable par rapport au témoin. A la fin de cette expérience, les concentrations en Chl *a* dans les traitements B1(2,44 µg l⁻¹) et B2 (1,33 µg l⁻¹) étaient 6 fois plus faibles que celle du témoin (12,57 µg l⁻¹) (Fig. 4d). Parallèlement, le phytoplancton a montré des taux de croissance beaucoup plus faibles dans les

traitements B1 (0,006 j⁻¹) et B2 (-0,20 j⁻¹) que dans les échantillons non contaminés (0,37 j⁻¹) (Tableau II).

DISCUSSION

1. Communauté phytoplanctonique naturelle au niveau des stations C et L en été et automne 2009

Au cours de cette étude, les concentrations en Chl *a* mesurées aux deux stations ont varié entre 3,33 et 8,45 µg l⁻¹ (Figure 2a). Ces teneurs sont similaires à celles reportées par des études précédentes dans la lagune de Bizerte (Aliwa, 2007; Chikhaoui *et al.*, 2008; Sahraoui *et al.*, 2009). Selon les valeurs de la Chl *a*, les stations d'étude peuvent être caractérisées comme étant des eaux mésotrophes. Les fortes concentrations nutritives mesurées au niveau des stations (Tableau I) peuvent supporter une production phytoplanctonique importante et par la suite une biomasse élevée.

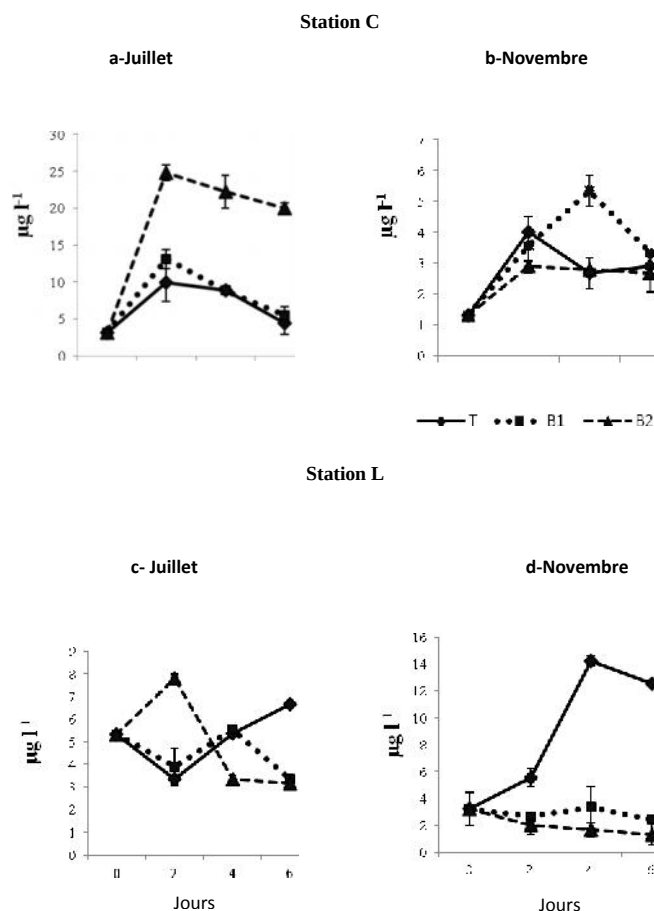


Figure 4. Évolution temporelle des concentrations de la Chl *a* dans les différents traitements [T, B1, B2] au cours des expériences menées en juillet et novembre 2009 au niveau des stations C et L (Moyennes $\pm$ écart-types)

L'abondance phytoplanctonique a montré une variation temporelle à la station C mais aussi une fluctuation spatiale au mois de novembre (Figure 2b). Le maximum d'abondance (24 105 cellules l⁻¹) observé à la station C en novembre ne coïncide pas avec la teneur maximale de la Chl *a* enregistré en juillet (Figure 2a). La teneur de la Chl *a* dépend généralement de la taille des cellules et des espèces. La composition taxinomique a aussi fluctué entre les deux mois et les deux saisons (Figure 3). Cette fluctuation a été évidemment reliée au changement des facteurs abiotiques tels que la température (Buford et Pearson, 1998), la turbulence (Berdalet, 1992), la lumière (Mostajir *et al.*, 1999), la salinité (Macedo *et al.*, 2001) et les nutriments (Granéli *et al.*, 1999). Au niveau du canal, le phytoplancton a été dominé par les ultra-flagellés (36%) et plusieurs classes de nano-algues (37%), en juillet (Figure 3). Au contraire, les diatomées étaient dominantes en novembre (40%). À la station L, ces microalgues ont aussi largement contribué (33%) à la communauté microalgale.

D'autres travaux ont également détecté des pullulations automnales de diatomées dans la lagune de Bizerte (Bouchouicha, 2008; Sahraoui *et al.*, 2009). La prolifération importante des diatomées en novembre peut être reliée à l'augmentation des concentrations des nutriments azotés (NH₄⁺⁺ NO₂⁻ + NO₃⁻) par rapport à celles mesurées en juillet (Tableau I). En effet plusieurs travaux ont montré que la dynamique des diatomées dans la lagune est tributaire du N (Sakka Hlaili *et al.*, 2006; Chikhaoui *et al.*, 2008). Les concentrations en Si peuvent aussi stimuler la croissance des diatomées à la station C pendant le mois de novembre, le seul mois durant lequel le Si(OH)₄ a accusé des concentrations mesurables (Tableau I).

Les dinoflagellés ont été présents dans la communauté naturelle du phytoplancton des deux stations, mais leur plus importante contribution a été observée en novembre à la station L. Les concentrations fortes en PO₄³⁻ (2,35 µM) détectées à cette station et au cours de ce mois peuvent stimuler

la croissance des dinoflagellés qui sont connus à être très dépendant de l'élément P (Sakka Hlaili *et al.*, 2006).

2. Effet du B(a)py sur la communauté phytoplanctonique

Au niveau de la station C, les contaminations par le B(a)py (B1 et B2) n'ont induit aucun effet ni sur la biomasse du phytoplancton (Figure 4 a-b) ni sur sa croissance (Tableau II) au cours des expériences de novembre. Au contraire, une stimulation du phytoplancton a été observée dans le traitement B2 en juillet (Figure 4 a, Tableau II). Ce résultat indique que le phytoplancton au niveau de la station C n'est pas affecté négativement par la contamination, puisqu'il peut maintenir une croissance normale (effet observé en novembre) et accentuée (effet observé en juillet) sous une contamination. Ce résultat suggère que les espèces étaient résistantes au contaminant dans les eaux de la station C, milieu recevant différents types de polluants à des concentrations assez élevées, tel que les HAP (Σ HAP: 421 ng g⁻¹ de sédiment sec dans la station C, Σ HAP: 141,12 ng g⁻¹ de sédiment sec dans la station L) (Trabelsi et Driss, 2004). Par la suite, les microalgues, au niveau de la station C, sont plus adaptées à la pollution et ont nécessairement développé une résistance aux fortes concentrations en B(a)py. Ceci leur permet de maintenir leur croissance sous des conditions de pollution. Une récente étude a montré que *Thalassiosira sp.* est une espèce résistante au pyrène et au phénanthrène et que sa croissance ne chute pas en augmentant la concentration de ces HAP (Echeveste *et al.*, 2010).

Contrairement à ce qui a été observé à la station C, les taux de croissance, après les deux contaminations par le B(a)py, ont baissé par rapport au milieu T au cours des expériences menées à la station L (Tableau II). Les concentrations en Chl *a* ont aussi diminué surtout en novembre (Figure 4 c-d). Ces résultats suggèrent que les microalgues dans la station L, milieu moins pollué que la station C, étaient sensibles au B(a)py. Ainsi, les espèces présentes de cette station semblent ne pas avoir des mécanismes de résistance au contaminant, et par conséquent, ont diminué leur croissance.

Plusieurs d'autres travaux ont reporté l'effet inhibiteur de plusieurs HAP (pyrène, phénanthrène, fluoranthène, B(a)py...) sur la croissance des différentes espèces phytoplanctoniques (*Prochlorococcus marina*, *Synechococcus sp.*, *Micromonas pusilla*, *Chlorella sp.*, *Phaeodactylum tricorinitum*, *Chlamydomonas sanguosa*, *Scelenastrum capricornitum* et *Chlorella vulgaris*...) (Soto *et al.*, 1975; Kaiser *et al.*, 1985; Warshawsky *et al.*, 1988; Baun *et al.*, 2002; Hong *et al.*, 2008; Echeveste *et al.*, 2010;). L'effet inhibiteur du B(a)py sur la croissance du phytoplancton pourrait être le

résultat de la perturbation de certains processus physiologiques tel que la photosynthèse. En effet, les HAP agissent en s'incorporant au système de transfert d'électrons situé dans la membrane des thylakoïdes. Ils se comportent comme de véritables barrages du courant d'électron au niveau de la plastoquinone. Ces composés agissent donc par compétition avec la plastoquinone pour un site d'affinité localisé dans une protéine, la protéine B. Ainsi dans le cadre de la chaîne de transfert d'électron, la plastoquinone réduite ne peut plus utiliser le site d'affinité situé sur la protéine-cible et elle ne transmet pas son électron à l'accepteur suivant, le transfert étant donc bloqué. L'énergie lumineuse reçue par la chlorophylle n'est plus convertie en énergie électrochimique, mais elle est dissipée sous forme de chaleur et de fluorescence (Oettmeier *et al.*, 1988). D'ailleurs, il a été montré que, après absorption de l'énergie solaire, les HAP excités cèdent leurs énergies à l'oxygène moléculaire qui induit la formation de radicaux libres. L'impact de ces radicaux libres sur la photosynthèse, la croissance et les divisions cellulaires a été étudié chez *Lemna gibba* (Babu *et al.*, 2001) et *Haematococcus pluvialis* (Boussiba, 2000).

CONCLUSION

Les expériences de contaminations par le B(a)py menées dans les deux stations d'étude, ont révélé que les espèces phytoplanctoniques présentes dans les eaux de la station C étaient tolérantes et résistantes aux fortes concentrations en B(a)py. Cette station, située en face de la cimenterie de Bizerte, est parmi les zones les plus polluées par le B(a)py. Par contre au niveau de la station L, le taux de croissance et la biomasse du phytoplancton ont chuté en réponse à la contamination. Ceci suggère que les microalgues dans la station L, milieu moins pollué que les eaux de la station C, étaient sensibles et intolérantes aux fortes concentrations en B(a)py.

BIBLIOGRAPHIE

- Aliwa, S., 2007. Variation spatiale (verticale et horizontale) du phytoplancton dans la lagune de Bizerte. *Mastère, Faculté des sciences de Bizerte Univ 7 Nov-Carthage*. 85 p.
- Babu, T.S., Marder, J.B., Tripuranthakman, S., Dixon, D.G., Greenberg, B.M., 2001. Synergistic effects of a photooxidized polycyclic aromatic hydrocarbons and cooper on photosynthesis and plant growth: evidence that *in vivo* formation of reactive oxygen species is a mechanism of cooper toxicity. *Environ, Toxicol.Chem.*, 20: 1351-1358.
- Baun, A., Justesen, K.B., Nyholm, N., 2002. Algae tests with soil suspensions and elutriates: a

- comparative evaluation for PAH-contaminated soils. *Chemo.*, 46: 251-258.
- Berdalet, E., 1992. Effects of turbulence on the marine dinoflagellate *Gymnodinium nelsonii*. *J. Phycol.* 28: 267-272.
- Bouchouicha, D., 2008. Suivre des diatomées *Pseudo-nitzschia* et des autres microalgues potentiellement nuisibles dans la lagune de Bizerte durant l'été et l'automne 2006. *Mastère. Fac. Sci. Bizerte*. 155p.
- Ben Ameer, W., 2008. Contribution à l'évaluation du niveau de contamination des sédiments superficiels de la lagune de Ghar El Melh par les hydrocarbures aromatiques polycycliques. *Mémoire de mastère en Hydrobiologie*, Faculté des Sciences de Bizerte. 74p.
- Ben Said, O., Goni, M.S., Duran, R., El Bour, M., Aissa, P., 2007. Diversité des bactéries capables de dégrader les hydrocarbures aromatiques polycycliques isolées à partir des sédiments de la lagune de Bizerte, Tunisie. *REMISE (Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnemental)*. 54 : 385-402p.
- Burford, M. A., Pearson, D. C., 1998. Effect of different nitrogen sources on phytoplankton composition in aquaculture ponds. *Aquat. Microb. Ecol.* 15: 277-284.
- Boussiba, S., 2000. Carotenogenesis in green algae *Haematococcus pluvialis*: cellular physiology and stress response. *Physiol. Plant.*, 108: 111-117.
- Carlotti, F., Krause, M., Radach, G., 1993. Growth and development of *Calanus finmarchicus* related to the influence of temperature: Experimental results and conceptual model. *Limnol. Oceanogr.*, 38: 1125-1134.
- Carmack, E.C., Macdonald, R.W., Jasper, S., 2004. Phytoplankton productivity on the Canadian Shelf of the Beaufort Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 277: 37-50.
- Cerniglia, C.E., 1992. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation*, 3: 351-368.
- Costanza, R., Arge, R., Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., Oneill, R.V., Paruelo, J., Raskin, R.G., Sutton, P., van den Belt, M., 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature* 387:253-260
- Chikhaoui, M.A., Sakka Hlaili, A., Hadj Mabrouk, H., 2008. Réponses saisonnières du phytoplancton aux rapports d'enrichissements N: Si: P dans la lagune de Bizerte (Sud-Ouest de la Méditerranée) *C.R. Biologies*, 331: 389-408.
- Derouiche, A., Sanda, Y.G., Driss, M.R., 2004. Polychlorinated biphenyls in sediments from Bizerte Lagoon, Tunisia. *Bull Environ Contam Toxicol* 73:810-817.
- De Luca, G., Furesi, A., Leardi, R., Micear, G., Panzanelli, A., Piu, P.C. et Sanna, G., 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbons assessment in the sediments of the of the porto Torres Harbor (Northern Sardinia, Italy). *Mar. Chem.*, 86: 15-32.
- Echeveste, P., Agusti, S., Dachs, J., 2010. Cell size dependent toxicity thresholds of polycyclic aromatic hydrocarbons to natural and cultured phytoplankton populations. *Env. Pollut.* 158: 299-307.
- EPA (Environmental Protection Agency), 1990. Chemical Fate Rate Constants for SARA Section 113 Chemicals and Superfund Health Evaluation Manual Chemicals, Office of Toxic Substances, EPA6-02-4254, Washington, DC.
- Granéli, E., Carlsson, P., Turner, J. T., Tester, P.A., Béchemin, C., Dawson, R. Funari, E., 1999. Effects of N: P: Si ratios and zooplankton grazing on phytoplankton communities in the Northern Adriatic sea. I. Nutrients, Phytoplankton biomass and polysaccharide production. *Aqua. Microb. Ecol.* 18: 37-54.
- Hill, A.J., Ghoshal, S., 2002. Micellar solubilization of naphthalene and phenanthrene from nanoaqueous-phase liquids, *Environ. Sci. Technol.*, 36: 3901-3907.
- Hong, Y.W., D.X., Lin, Q.M., Yang, T.L., 2008. Accumulation and biodegradation of phenanthrene and fluoranthene by the algae enriched from a mangrove aquatic ecosystem. *Mar. Pollut. Bull.*, 56: 1400-1405.
- James, ID., 2002. Modelling pollution dispersion, the ecosystem and water quality in coastal waters: a review. *Environ Model Software* 17:363-385.
- Jones, K.C., Voogts, P., 1999. Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environ. Pollut.* 100: 209-221.
- Juhasz, A.L., Naidu, R., 2000. Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo(a)pyrene, *Inter. Biodeter. Biodegr.* 45(1-2): 57-88.
- Kaiser, K.L.E., Comba, M.E., Hunter, H., Maguir, R.J., Tkacz, R. J., Platford, R.F., 1985. Trace Organic Contaminants in the Detroit River, *J. Great Lakes Res.*, 11: 386-399.
- Landry, M. R., Hassett, R. P., 1982. Estimating the grazing impact of marine micro-zooplankton. *Mar. Biol.*, 67: 283-288.
- La Rocca, C., Conti, L., Crebelli, R., Crochi, B., Icovella, N., Rodriguez, F., Turrio-Baldassarri, L., Didomenico, A., 1996. PAH content and mutagenicity of marine sediments from the Venice Lagoon. *Ecotoxicol. Environ. Safe*, 33: 236-245.

- Lorenzen, C.J., 1967. Determination of chlorophyll and pheopigments by spectrophotometric equations, *Limnol. Oceanogr.* 12 : 343–346.
- Louati, A., Elleuch, B., Kallel, M., Saliot, A., Dagaut, J., Oudot, J., 2001. Hydrocarbon contamination of coastal sediments from the Sfax area (Tunisia), Mediterranean sea. *Mar. Pollut. Bull.*, 42: 444–451.
- Lund, J.W., Kipling, G., Le Gren, E.D., 1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologica*, 11: 143–170.
- Mansouri, T., 1996. Application de la télédétection et des systèmes d'information géographiques à l'étude du fonctionnement hydrologique du lac de Bizerte et son bassin versant. *D.E.A., Géologie appliqué à l'environnement. Fac. Sci. Tunis*: 101p.
- Macedo, M.F., Duarte, P., Mendes, P., Ferreira, J.G., 2001. Annual variation of environmental variables, phytoplankton species composition and photosynthetic parameters in a coastal lagoon. *J. Plankton Res.*, 23: 719–732.
- McLeod, M.C., Daylong, A., Adair, G., Humphrey, R.M., 1991. Differences in the rate of DNA adduct removal and the efficiency of mutagenesis for two benzo(a)pyrene diol epoxides in CHO cells. *Mutat. Res.*, 261: 267–279.
- Mc Gready, S., Slee, D.J., Brich, G.F., Taylor, S.E., 2000. The Distribution of polycyclic of Radio-labeled Substrates by Soil Microbial Communities, *Microbiol. Ecol.*, 15:257–273.
- Meinész, A., Benichou, L., Blachier, J., Komatsu, T., Lemée, R., Molenaar, H., Mari, X., 1995. Variations in the structure, morphology and biomass of *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean. *Bot. Mar.* 38:499–508.
- Mostajir, B., Demers, S., De Mora, S., Belzile, C., Chanut, J.P., Gosselin, M., Roy, S., Villegas, P.Z., Fauchot, J., Bouchard, J., Bird, D., Monfort, P., Levasseur, M., 1999. Experimental test of the effect of ultraviolet-B in a planktonic community. *Limnol. Oceanogr.*, 44(3): 586–596.
- Mullin, J.B., Riley, J.P., 1955. The colorimetric determination of silicate with special reference to sea and natural waters, *Anal. Chem. Acta* 12:162–176.
- Murphy, J., Riley, J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters, *Anal. Chem. Acta* 27: 31–36.
- Neff, J.M., 1979. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment. Sources, Fates and Biological Effects, Applied Science Publishers Ltd., Essex, England, 262p.
- Ottmeier, W., Masson, K., Donner, A., 1988. Anthraquinone inhibitors of photosystem II electron transport, *FEBS Lett.*, 321:259–262.
- Ouakad, M., 1982. Evolution sédimentologique et caractères géochimiques des dépôts récents de la Garaet El Ichkeul (Tunisie septentrionale). Thèse. Doct. Univ. Toulouse: 162 p.
- Parsons, T. P., Maita, Y., Lalli, C. M., 1984. A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis. *Pergamon Press*. 241p.
- Rababah, A., Matsuzawa, S., 2002. Treatment system for solid matrix contaminated with fluoranthene. II-Recirculating photodegradation technique, *Chem.*, 46: 49–57.
- Sakka Hlaili, A., Chikhaoui, M.A., Grami, B., Hadj Mabrouk, H., 2006. Effect of N and P supply on phytoplankton in Bizerte lagoon (Western Mediterranean). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 14:281–288.
- Sakka Hlaili, A., Grami, B., Hadj Mabrouk, H., Gosselin, M., Hamel, D., 2007. Phytoplankton growth and microzooplankton grazing rates in a restricted Mediterranean lagoon (Bizerte Lagoon, Tunisia). *Marine Biologie* 151: 767–783.
- Sahraoui, I., Sakka Hlaili, A., Hadj Mabrouk, H., Léger, C., Bates, S.S., 2009. Blooms of the diatom /genus *pseudo-nitzschia* H. peragallo in Bizerte lagoon (Tunisia, SW MEDITERRANEAN). *Diatom Research* 24:175–190.
- Small, C., Nicholls, R.J., 2003. A global analysis of human settlement in coastal zones. *J Coastal Res* 19:584–599.
- Sprovieri, M., Feo, M.L., Prevedello, L., Salvaggio Manta, D., Sammartino, S., Tamburrino, S., Marsella, E., 2007. Heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in surface sediments of the Naples harbour (southern Italy). *Chemo.* 67: 998–1009.
- Soto, C., Hellebust, J.A., Hutchinson, T.C., 1975. Effect of naphthalene and aqueous crude oil extracts on the green flagellate *Chlamydomonas angulosa* growth. *Can. J. Botany*, 53: 109–117.
- Trabelsi, S., Driss, M.R., 2004. Distribution polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from Bizerte Lagoon, Tunisia. *Resear. Promot. Prog.* (RPP-SEPMCL). Study on Environmental pollution of Bizerte Lagoon, Final Report: 81–86.
- Utermöhl, H., 1931. Neue wege in der quantitativen erfassung des planktons (mit besonderer berücksichtigung des ultraplanktons). *Verh int Ver thor angew limnol.*, 5: 567–596.
- Wang, L., Zheng, B., Meng, W., 2008. Photo-induced toxicity of four polycyclic aromatic hydrocarbons, singly and in combination, to the

- marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* . *Eco. Tox. Envir Safety.*, 71: 465-472.
- Warshawsky, D., Radike, M. Jayasimhulu, K., Cody, T., 1988. Metabolism of benzo(a)pyrene by dioxygenase enzyme system of the freshwater green algae *Selenastrum capricornutum*. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 152: 540-544.
- Wild, S.R., JONES, K.C., 1995. Polynuclear aromatic hydrocarbons in the United Kingdom environment a preliminary source inventory and budget, *Environ. Poll*, 88: 91-108.
- Wilcke, W., 2000. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in soils. A review, *J. Plant. Nutr. Soil. Sci.*, 163,229-248.
- Wood, E.D., Armstrong, F.A.J., Richards, F.A., 1967. Determination of nitrate in sea water by cadmium-copper reduction to nitrite. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 47: 23-31.
- Ye, B., Siddiqui, M., Amaccubin, A., Kumar, E., SandSikka, H.C., 1996. Degradation of polynuclear aromatic hydrocarbons by *Sphingomonas paucimaubilis*. *Environ. Sc. Technol.*, 30:136-142.
- Yoshida , M., Hamdi, H., Abdul Nasser , I., Jedidi, N., 2004. Contamination of potentially toxic elements (PTEs) in Bizerte lagoon bottom sediments, surface sediment and sediment repository. Research Programme (RPP-SEPMCL). Study on environmental pollution of Bizerte Lagoon, Final Report: 31-54.
- Zaghden, H., Kallel, M., Elleuch, B., Oudot, J., Salot, A., 2007. Sources and distribution of aliphatic and polyaromatic hydrocarbons in sediments of Sfax, Tunisia, Mediterranean sea. *Mar. Chem.*, 105: 70-89.