

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر و تهيئة الساحل  
Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



**Mémoire**

En vue de l'obtention du Diplôme de Magister

Spécialité : Sciences de la Mer

Option : Pollution Marine et Ecotoxicologie

Présenté par

**BOUDEFOUA Nassima**

**Contribution à l'étude des variations des teneurs  
en composés phénoliques chez la Magnoliophyte  
marine *Posidonia oceanica* (L.) Delile**

Soutenu le 13 / 01 / 2011 devant le jury composé de :

<b>HAMDI Boualem</b>	Professeur (ENSSMAL)	Président
<b>BOUSSAHEL Rachdi</b>	Professeur associé (ENSSMAL)	Examineur
<b>SERIDI Halima</b>	Maître de Conférences (USTHB)	Examinatrice
<b>OUAFI Saida</b>	Maître de Conférences (USTHB)	Examinatrice
<b>SEMROUD Rachid</b>	Professeur (ENSSMAL)	Promoteur
<b>BOUMAZA Salima</b>	Maître-Assistante A (ENSSMAL)	Invitée

*A mes parents*  
*A mes frères et ma sœur*

## REMERCIEMENTS

*Je tiens tout d'abord à exprimer ma reconnaissance à tous les membres de ce jury, pour l'honneur qu'ils me font en acceptant de juger ce travail :*

*Professeur HAMDI Boualem, je vous remercie pour vos précieux conseils et pour le temps consacré à répondre à mes innombrables questions.*

*Professeur BOUSSAHHEL Rachdi, je tiens à vous exprimer ma reconnaissance pour toutes vos remarques et vos conseils qui m'ont été très profitables.*

*Docteurs SERIDI Halima et OUAFI Saïda, je vous remercie d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*C'est avec émotion que je remercie le Professeur SEMROUD Rachid pour m'avoir accueillie, une seconde fois, au sein de son laboratoire et de m'avoir offert la possibilité de travailler dans un domaine qui me passionne et de réaliser ce mémoire dans les meilleures conditions. Je vous remercie pour votre confiance, vos encouragements et pour m'avoir guidée.*

*M<sup>me</sup> Boumaza Salima, merci de m'avoir permis d'intégrer ne serait-ce qu'une petite partie de votre travail de recherche de Doctorat. Merci de m'avoir suivie pas à pas dans la réalisation de ce travail, de m'avoir toujours soutenue, écoutée et trouvé du temps pour moi. Un grand merci également pour les publications mises à ma disposition et pour la révision du document.*

*EDDALJA Nabila, je te remercie du fond du cœur pour ta gentillesse, ta disponibilité, ta patience et tes explications. Toi qui m'as appris toutes les ficelles du dosage...*

*AZZOUZ Mekki, je te remercie vivement pour ta gentillesse, tes conseils avisés et ton aide, pour toutes les fois où j'ai crié au secours. Avec la Tisane et le Fahelin il y a toujours de ??????????*

*A MATOUK Youcef, merci pour ta gentillesse et ta patience. Merci pour les produits, le matériel et l'eau distillée, surtout l'eau distillée !!!*

*A Mlle Amarouche Nassima qui a consacré beaucoup de son temps pour la relecture du manuscrit, je lui témoigne toute ma reconnaissance pour avoir amélioré la qualité de ce manuscrit.*

*Un grand merci pour OUNADI Fariza, BOUSLIMANE Djamel et BOUNDJELLEL Benyahia, pour votre aide et vos encouragements.*

*Merci au Dr HEMIDA Farid pour son aide en statistique et ses conseils.*

*Merci au Dr KACHER Mohamed pour le logiciel de traduction, qui m'a été d'une grande utilité.*

*KHAZIMMO Oussama, je te remercie beaucoup pour ta gentillesse et pour toutes les astuces du Word, surtout le sommaire.*

*Je tiens à adresser des remerciements très chaleureux à Bahidja et Fatima pour leur soutien et leurs encouragements. Merci 1000 fois de m'avoir supportée durant 2 ans malgré ma mauvaise humeur, surtout les derniers temps.*

*Je ne saurais terminer sans remercier du fond du cœur le "troupeau de PG" pour tous les moments qu'on a passés ensemble, bons et durs. Merci pour vos conseils, votre bonne humeur, les pauses café et déjeuner-bavardage, surtout quand les neurones chauffent un peu trop... Vous avez été un véritable rayon de soleil.*

*Et bien sûr mes parents, mes frères et ma sœur qui ont été présents à chaque étape, toujours à m'encourager. Ce mémoire, c'est aussi grâce à vous ! Merci de me soutenir dans mes études (que je n'espère pas finies !!!) et d'avoir accepté de ne pas m'avoir vue souvent.*

*Merci à tous ceux que je n'ai pas cités ici mais à qui je pense quand même !!!*

# *Sommaire*

## Sommaire

<b>1. Introduction</b> .....	1
1.1. Objectifs de l'étude .....	3
<b>2. Généralités</b> .....	4
2.1. Présentation de <i>Posidonia oceanica</i> .....	4
2.2. Distribution de <i>Posidonia oceanica</i> .....	4
2.3. Morphologie et biologie de <i>Posidonia oceanica</i> .....	5
2.4. Rôles des herbiers à <i>Posidonia oceanica</i> .....	7
2.4.1. Rôles au niveau structural .....	7
2.4.2. Rôles au niveau fonctionnel .....	8
2.5. Fragilité et menaces des herbiers à <i>Posidonia oceanica</i> .....	8
2.6. <i>Posidonia oceanica</i> : bioindicateur de la qualité des eaux.....	9
2.7. Composés phénoliques .....	9
<b>3. Matériel et méthodes</b> .....	12
3.1. Localisation et caractéristiques des sites d'étude .....	12
3.1.1. Site de Bou Ismaïl .....	12
3.1.2. Site de Kouali .....	13
3.2. Récolte des échantillons .....	14
3.3. Etude des paramètres de vitalité des herbiers.....	14
3.3.1. Densité des herbiers .....	14
3.3.2. Analyse biométrique .....	15
3.3.3. Biomasse des feuilles et des épiphytes des feuilles.....	16
3.4. Etude des composés phénoliques totaux .....	17
3.4.1. Tri et lyophilisation des échantillons.....	17
3.4.2. Extraction .....	17
3.4.3. Dosage des composés phénoliques totaux.....	18

3.4.4. Validation de la méthode de dosage.....	21
3.4.4.1. Estimation de la limite de détection et de quantification .....	21
3.4.4.2. La limite et le domaine de linéarité .....	21
3.4.4.3. Fidélité.....	22
3.5. Traitements statistiques .....	23
3.5.1. Paramètres descriptifs.....	23
3.5.2. Analyse de la variance.....	24
3.5.3. Tests non paramétriques .....	24
3.5.3.1. Test de KRUSKAL-WALLIS .....	24
3.5.3.2. Test du Khi-deux ( $\chi^2$ ) .....	25
<b>4. Résultats et discussion.....</b>	<b>26</b>
4.1. Densité.....	26
4.2. Biométrie foliaire .....	26
4.2.1. Nombre de feuilles par faisceau .....	26
4.2.1.1. Feuilles adultes .....	26
4.2.1.2. Feuilles intermédiaires .....	26
4.2.2. Longueur des feuilles .....	27
4.2.2.1. Feuilles adultes .....	27
4.2.2.2. Feuilles intermédiaires .....	27
4.2.3. La largeur des feuilles .....	28
4.2.3.1. Feuilles adultes.....	28
4.2.3.2. Feuilles intermédiaires .....	28
4.2.4. Coefficient A de Giraud .....	29
4.2.4.1. Feuilles adultes.....	29
4.2.4.2. Feuilles intermédiaires .....	29
4.2.5. Surface foliaire .....	30
4.2.5.1. Feuilles adultes.....	30

4.2.5.2. Feuilles intermédiaires .....	30
4.2.6. Biomasse .....	31
4.2.6.1. Feuilles adultes .....	31
4.2.6.2. Feuilles intermédiaires .....	31
4.2.6.3. Epiphytes des feuilles adultes .....	32
4.2.6.4. Epiphytes des feuilles intermédiaires .....	32
4.3. Synthèse des résultats et discussion .....	33
4.3.1. Au niveau de l'herbier .....	33
4.3.2. Au niveau du faisceau .....	33
4.3.2.1. Nombre de feuilles par faisceau .....	34
4.3.2.2. Longueur des feuilles .....	34
4.3.2.3. Largeur des feuilles .....	35
4.3.2.4. Coefficient A de Giraud .....	35
4.3.2.5. Surface foliaire .....	36
4.3.2.6. Biomasse .....	36
4.4. Les composés phénoliques .....	38
4.4.1. Validation de la méthode de dosage .....	38
4.4.2. Teneurs de <i>Posidonia oceanica</i> en composés phénoliques totaux .....	39
4.5. Synthèse des résultats et discussion .....	41
<b>Conclusion</b> .....	<b>45</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>48</b>
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	

# Introduction

## 1. Introduction

*Posidonia oceanica* (L.) Delile, à l'instar des autres Magnoliophytes marines, constitue un bon indicateur biologique de la qualité des eaux littorales (PERGENT *et al.*, 1995 ; PERGENT-MARTINI et PERGENT, 2000 ; BOUDOURESQUE *et al.*, 2006 ; PNUE-CAR/ASP, 2007). Les potentialités de *Posidonia oceanica* en tant que bioindicateur sont appréciées dans diverses situations : rejets d'effluents urbains (AVON *et al.*, 1991), rejets industriels (PERGENT-MARTINI et GUERRINI, 1995) et activités aquacoles (CANCEMI *et al.*, 1998 ; LEONI *et al.*, 2006). Outre leur capacité à enregistrer certains paramètres physico-chimiques, les herbiers à *Posidonia oceanica* intègrent également d'autres paramètres susceptibles de les dégrader : aménagement du littoral, pression de mouillage, chalutage, turbidité, modification de l'hydrodynamisme (PERGENT, 1993). Cette plante est par conséquent utilisée en routine pour traduire la qualité du milieu côtier méditerranéen, et ce, par la mise en œuvre de nombreux descripteurs, susceptibles de répondre à une variété de perturbations du milieu marin. L'aptitude de *Posidonia oceanica* à intégrer la qualité de l'environnement peut se mesurer :

**(i) Au niveau de la population** : la position bathymétrique de la limite inférieure de l'herbier à *Posidonia oceanica* est un bon indicateur de la turbidité moyenne des eaux qui dérivent au-dessus de lui (MEINESZ et LAURENT, 1978) ; lorsque la turbidité augmente, cette limite recule. La limite supérieure de l'herbier est également une zone tout particulièrement sensible, car elle est directement exposée aux agressions engendrées par les aménagements littoraux et aux rejets d'origine urbaine et industrielle (ASTIER et TAILLIEZ, 1984).

**(ii) Au niveau de l'individu** : la biométrie foliaire peut apporter des renseignements quant à la qualité globale de l'eau. En milieu pollué, la longueur moyenne des feuilles peut subir une réduction importante (MAGGI *et al.*, 1977). La biomasse des épiphytes des feuilles peut témoigner quant à elle de la richesse de l'eau en nutriments (LEONI *et al.*, 2006).

**(iii) Au niveau anatomique** : l'abondance des cellules à tannin, qui sont des cellules riches en composés phénoliques, semble augmenter à l'approche du rejet en mer d'un effluent (PERGENT, 1988).

Par ailleurs, *Posidonia oceanica* possède, d'une part, un turnover relativement lent : des feuilles avec une longévité de près de 12 mois (PERGENT, 1988; BOUMAZA et SEMROUD, 2000 ; GOBERT *et al.*, 2006), des rhizomes de plus de 30 ans (MARBA *et al.*, 1996) et des herbiers qui peuvent persister durant des millénaires (MATEO *et al.*, 1997) et

d'autre part, cette espèce peut accumuler des composés de réserve au niveau des rhizomes (GOBERT *et al.*, 2006 ; ROMERO *et al.*, 2006) qui lui permettent, durant des périodes relativement longues, de maintenir une phénologie stationnaire, malgré des changements environnementaux (MARBA *et al.*, 1996 ; ZUPO *et al.*, 1997).

La nécessité de trouver des outils de diagnostic précoce des perturbations du milieu oriente actuellement les études vers l'identification et la validation de biomarqueurs de stress pertinents chez *Posidonia oceanica* tels l'activité photosynthétique, les processus enzymatiques de la nutrition, les mécanismes de stress oxydant et/ou de détoxification et la synthèse de métabolites secondaires (FERRAT *et al.*, 2003 ; CANNAC *et al.*, 2006).

Les composés phénoliques, en tant que métabolites secondaires, jouent un rôle majeur dans l'interaction des plantes avec leur environnement et sont soumis à d'importantes fluctuations face aux agressions biotiques et abiotiques du milieu (SWAIN, 1977 ; WATERMAN et MOLE, 1984 ; RAGAN et GLOMBITZA, 1986 ; MACHAIX *et al.*, 2005).

Pour ce qui est des Magnoliophytes marines, les potentialités des composés phénoliques à servir de défense chimique ont été peu étudiées (ARNOLD et TARGETT, 2002). Actuellement, seules leurs potentialités à servir d'agents antimicrobiens et de défense contre les herbivores sont relevées (HARRISON et CHAIN, 1980 ; HARRISON, 1982 ; RAVN *et al.*, 1989 ; VERGEER *et al.*, 1995 ; VERGEER et DAVELI, 1997 ; STEEL *et al.*, 2005 ; VERGES *et al.* 2007 *a et b* ; 2008 ; ARNOLD *et al.*, 2008).

Chez *Posidonia oceanica*, peu de choses sont connues sur le rôle des composés phénoliques, hormis dans le cas de la compétition interspécifique avec les algues *Caulerpa taxifolia* et *Caulerpa racemosa*. De plus, les études menées n'ont pas permis de préciser l'implication des composés phénoliques dans ce type de stress. En effet, si CUNY *et al.* (1995) signalent une augmentation non significative de la quantité de composés phénoliques hydrosolubles dans un site à forte compétition par rapport à un site dépourvu de Caulerpales, AGOSTINI *et al.* (1998) observent une tendance opposée. Quant à FERRAT (2001), elle a noté que le stress engendré par la compétition avec *Caulerpa taxifolia* a un impact limité sur la production des composés phénoliques. Par ailleurs, l'enrichissement du milieu en azote par les activités aquacoles entraîne une augmentation de la teneur en composés phénoliques hydrosolubles (LEONI *et al.*, 2007) et en flavonoïdes (CANNAC *et al.*, 2006). La contamination par le mercure semble également induire une augmentation de la synthèse en composés phénoliques (FERRAT *et al.*, 2003). La teneur en phénols totaux des rhizomes de *Posidonia oceanica* semble répondre à des variations des conditions environnementales (MILGIORE *et al.*, 2007).

## 1.1. Objectifs de l'étude

Ce travail s'intègre dans un projet de recherche intitulé « Mise en place d'un réseau de surveillance des herbiers à *Posidonia oceanica* dans la baie de Bou Ismaïl ». Il vise à identifier des signaux précoces de la dégradation des herbiers à *Posidonia oceanica* à travers la mise en place de structures fixes au niveau des limites inférieures des herbiers, l'étude d'un certain nombre de descripteurs relatifs à la biométrie foliaire et enfin la quantification des composés phénoliques, dans la mesure où ils jouent un rôle dans l'interaction des plantes avec leur environnement.

Ce travail comporte trois volets : **(i)** la caractérisation de la vitalité de deux herbiers à *Posidonia oceanica* soumis à des conditions environnementales différentes à travers un certain nombre de descripteurs relatifs à la biométrie et à la biomasse foliaire, et ce, sur un cycle annuel. En outre et afin de mieux cerner leur impact, nous avons choisi une bathymétrie particulière : la limite inférieure (profondeur d'extension bathymétrique maximale de l'herbier à *Posidonia oceanica*), zone où l'herbier est particulièrement sensible à toute variation des conditions environnementales ; **(ii)** le suivi des fluctuations saisonnières de la teneur en composés phénoliques au niveau de différents compartiments de *Posidonia oceanica* (limbes des feuilles adultes, bases des feuilles adultes et feuilles intermédiaires), **(iii)** l'étude du rôle des composés phénoliques dans la résistance de *Posidonia oceanica* contre le broutage et l'épiphytisme.

# Généralités

## 2. Généralités

### 2.1. Présentation de *Posidonia oceanica*

Les Magnoliophytes marines, plantes continentales retournées dans le milieu marin au Crétacé, il y a 100 millions d'années (DEN HARTOG, 1970), sont représentées par 60 espèces réparties en 12 genres (KUO et DEN HARTOG, 2001). Si les Magnoliophytes marines sont peu nombreuses, en revanche leur poids écologique est considérable dans la mesure où elles sont des espèces structurantes, à même de constituer des écosystèmes majeurs (BOUDOURESQUE, 2006). L'importance économique qui dérive des services écologiques des Magnoliophytes marines est estimée à 19 000 dollars par hectare et par an, soit trois fois plus que les récifs coralliens (COSTANZA *et al.*, 1997).

En Méditerranée, cinq espèces de Magnoliophytes marines sont recensées : *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile, *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson, *Zostera noltii* Hornemann, *Zostera marina* (Linnaeus), ainsi qu'une espèce de la mer Rouge entrée en Méditerranée par le canal de Suez, *Halophila stipulacea* (Forsskal) Ascherson. Cependant, seule *Posidonia oceanica* appartenant à la famille des Posidoniaceae (Tableau 1) est endémique méditerranéenne stricte (KUO et DEN HARTOG, 2001).

**Tableau 1** : Classification de la Magnoliophyte marine *Posidonia oceanica* (KUO et DEN HARTOG, 2001).

Phylum	Chlorophyta
Embranchement	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Sous-classe	Alismatidae
Ordre	Potamogetonales
Famille	Posidoniaceae
Genre	<i>Posidonia</i>
Espèce	<i>oceanica</i>

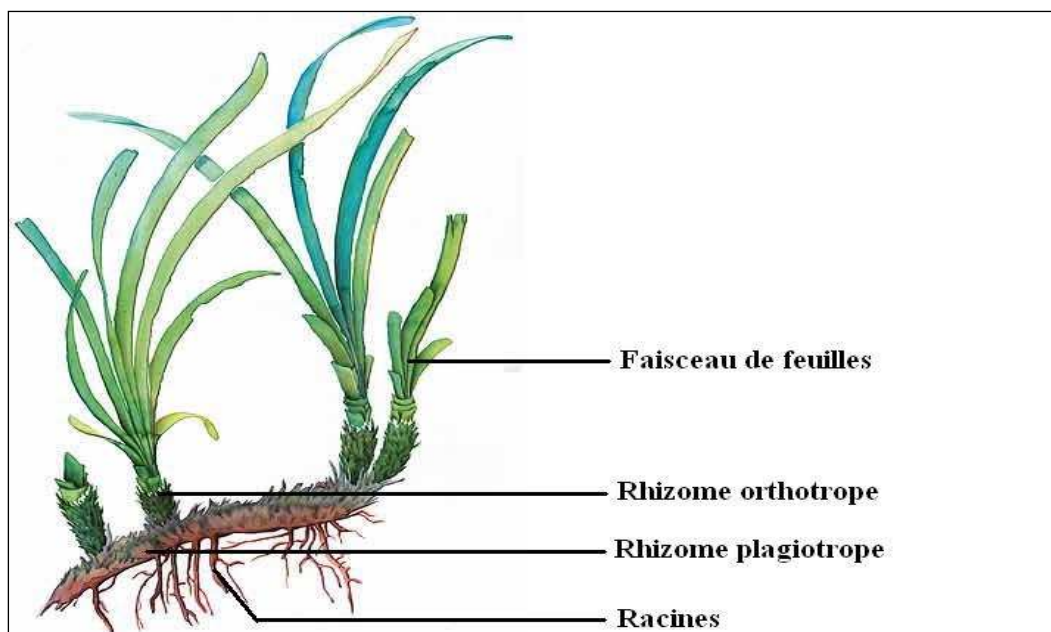
### 2.2. Distribution de *Posidonia oceanica*

*Posidonia oceanica* est largement répandue sur tout le pourtour du bassin méditerranéen, à l'exception du secteur de Gibraltar (influence atlantique), de la Mer de Marmara, des côtes d'Israël, des côtes du Liban, la Haute Adriatique et aux débouchés des grands fleuves (Rhône, Pô, Nil), du fait des contraintes abiotiques (salinité principalement : espèce sténohaline)

(SHORT *et al.*, 2001). Elle colonise aussi bien les substrats meubles que les substrats durs préparés par une succession de peuplements benthiques, et constitue entre la surface et 40 m de profondeur, au niveau de l'étage infralittoral, de vastes prairies sous-marines appelées «herbiers» (MOLINIER et PICARD, 1952). Les herbiers à *Posidonia oceanica* occupent une surface restreinte, 1 à 2% des fonds de la Méditerranée, soit 2,5 à 5 million hectares (PASQUALINI *et al.*, 1998).

### 2.3. Morphologie et biologie de *Posidonia oceanica*

*Posidonia oceanica* est formée de tiges de consistance ligneuse totalement ou partiellement enfouies dans le sédiment appelées rhizomes. Les rhizomes présentant une croissance horizontale sont dits plagiotropes, ils permettent l'extension linéaire de l'herbier, et les rhizomes à croissance verticale sont dits orthotropes, ils permettent l'élévation de l'herbier vers la surface (MOLINIER et PICARD, 1952 ; CAYE, 1980) (Figure 1). La différenciation entre ces deux types de rhizomes n'est pas définitive ; en fonction de l'espace disponible et de la lumière, un rhizome orthotrope peut devenir plagiotrope et vice-versa (CAYE, 1980, 1989a). Les rhizomes plagiotropes présentent des racines adventives qui fixent la plante au sédiment et permettent de puiser les gaz et les nutriments nécessaires à la croissance et au développement de la plante (PERGENT-MARTINI, 1994).



**Figure 1** : Un rhizome plagiotrope de *Posidonia oceanica* portant des racines ainsi que des rhizomes orthotropes avec des faisceaux de feuilles à leurs extrémités (d'après BOUDOURESQUE et MEINESZ, 1982).

Les rhizomes présentent des nœuds de croissance et se terminent par des groupes de 4 à 8 feuilles en forme de lanières rubanées de 7 à 12 mm de large et de 300 à 800 mm de long, groupées en faisceaux (PANAYOTIDIS et GIRAUD, 1981). La base des feuilles ou « pétiole », est engainante, séparée du reste de la feuille par une petite languette ligneuse appelée ligule (CAYE, 1980). Lorsque les limbes des feuilles sénescents tombent, la base reste attachée au rhizome. Elle est alors appelée improprement « écaille » (GRENIER, 1860) et peut persister des milliers d'années (plus de 4000 ans) (BOUDOURESQUE *et al.*, 1980 ; BOUDOURESQUE et JEUDY de GRISSAC, 1983).

Le renouvellement des feuilles est continu chez *Posidonia oceanica*. Tout au long de l'année, des feuilles se mettent en place au centre du faisceau tandis que les vieilles feuilles tombent à sa périphérie (PANAYOTIDIS et GIRAUD, 1981 ; ROMERO, 1989).

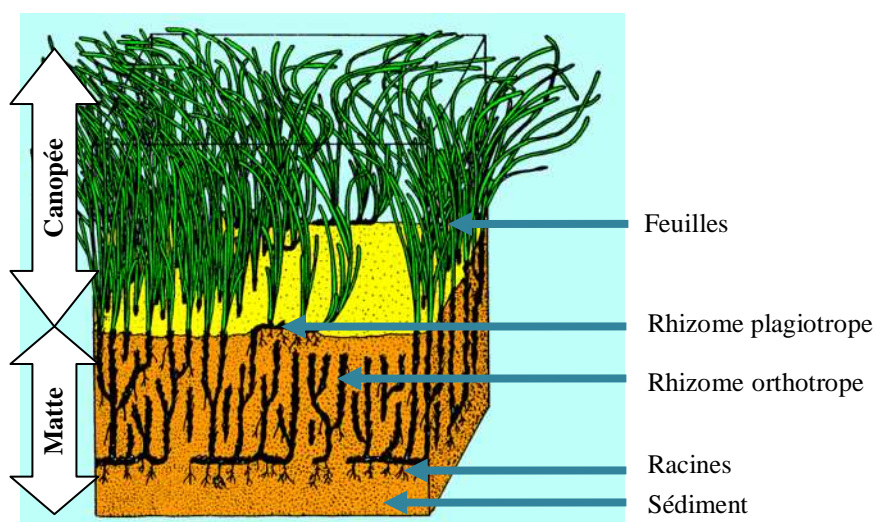
*Posidonia oceanica* a l'aptitude de se multiplier de façon végétative ou de se reproduire de façon sexuée. La floraison de *Posidonia oceanica* se produit à l'automne (septembre-novembre). Quatre à dix fleurs hermaphrodites sont groupées en une inflorescence au sommet d'un pédoncule floral de 10 à 30 cm de long (GIRAUD, 1977a) ; elles peuvent donner naissance à des fruits appelés « olives de mer » qui contiennent une seule graine (BOUDOURESQUE et MEINESZ, 1982). Il faut six à neuf mois aux fruits de *Posidonia oceanica* pour mûrir. Entre mai et juillet, ils se détachent et flottent un certain temps. Selon l'orientation des courants, ils s'échouent sur la plage ou s'ouvrent libérant la graine qui coulera vers le fond où elle germera, sans période de dormance si les conditions du substrat et les facteurs physico-chimiques sont favorables (BOUDOURESQUE et MEINESZ, 1982 ; CAYE et MEINESZ, 1984). Bien que le potentiel de germination des graines soit élevé et que de jeunes plants issus de graines ont été observés *in situ*, la reproduction sexuée n'aboutit que rarement à l'installation de nouveaux individus en milieu naturel (BALESTRI *et al.*, 1998). Par conséquent, la multiplication de *Posidonia oceanica* se fait principalement de façon asexuée (MOLINIER et PICARD, 1952 ; MEINESZ et LEFEVRE, 1984). Elle se fait par bouturage, correspondant à une fragmentation naturelle des rhizomes de la plante, terminés par un faisceau vivant, à la suite de tempêtes ou de courants marins (MEINESZ et LEFEVRE, 1984). Toutefois, ce mode de multiplication nécessite des contraintes importantes pour l'implantation des boutures et reste donc peu fréquent. Ainsi, la multiplication par accroissement des axes constitue le mode de reproduction privilégié de l'espèce (MOLINIER et PICARD, 1952).

## 2.4. Rôles des herbiers à *Posidonia oceanica*

Comme la majeure partie des peuplements édifiés par les Magnoliophytes marines, les herbiers à *Posidonia oceanica* assument un rôle écologique majeur en Méditerranée à la fois sur les plans structural et fonctionnel.

### 2.4.1. Rôles au niveau structural

Les herbiers à *Posidonia oceanica* sont des bâtisseurs de fonds. Cette aptitude est directement liée à sa morphologie et à son mode de croissance. D'une part, les feuilles constituent de véritables pièges à sédiment qui favorisent la décantation des particules en suspension dans la colonne d'eau, et, d'autre part, la croissance verticale des rhizomes aboutit à la formation d'un substratum compact appelé «matte» (MOLINIER et PICARD, 1952) (Figure 2).



**Figure 2:** Bloc diagramme montrant la structure d'une matrice (d'après BOUDOURESQUE et MEINESZ, 1982).

Cette dernière est constituée par un lavis de rhizomes, morts et/ou vivants, de racines et de sédiment hétérogène (d'origine autochtone et/ou allochtone) qui colmate les interstices. L'élévation de la matrice est estimée à 1 m par siècle (MOLINIER et PICARD, 1952 ; BOUDOURESQUE et MEINESZ, 1982). Par ailleurs, la matrice souterraine stabilise les fonds meubles en agissant comme un piège à sédiments (MOLINIER et PICARD, 1952). Elle peut aboutir, après un certain temps, dans les zones abritées, à l'affleurement de l'herbier à la surface de l'eau formant ainsi un récif-barrière (AUGIER et BOUDOURESQUE, 1970). En outre, la taille des feuilles de *Posidonia oceanica*, leur densité et les épiphytes qu'elles supportent réduisent efficacement l'action hydrodynamique des houles et des courants, ce qui a pour conséquence une diminution nette de l'érosion au niveau du fond mais également au niveau de la frange côtière (JEUDY de GRISSAC et BOUDOURESQUE, 1985). Cette

dernière profite également de l'effet antiérosif engendré par les banquettes, constituées de feuilles de *Posidonias* rejetées sur les plages (BOUDOURESQUE et MEINESZ, 1982). Par ailleurs, le retrait régulier de ces laisses dans le cadre du nettoyage des plages, durant la saison estivale, s'accompagne d'un recul significatif du trait de côte (PASQUALINI *et al.*, 1997).

#### **2.4.2. Rôles au niveau fonctionnel**

Les herbiers à *Posidonia oceanica* sont le lieu d'une production primaire importante (DREW, 1971 ; BAY, 1979 ; OTT, 1980 ; PERGENT *et al.*, 1994 ; BOUMAZA et SEMROUD, 2000), comparable à celle des forêts tropicales (PERGENT, 2006). Cette grande quantité de matière végétale est utilisée au sein de l'herbier, mais une part importante (30 à 35%) est exportée vers d'autres écosystèmes où elle constitue la base de nombreux réseaux trophiques (RICO-RAIMONDINO, 1995 ; PERGENT *et al.*, 1997).

Les feuilles et les algues épiphytes associées, assurent une large part de la production d'oxygène de l'étage infralittoral (BAY, 1978 ; FRANKIGNOULLE et DISTECHE, 1984).

Les herbiers constituent un lieu de frayère, de nurserie, d'abris vis-à-vis des prédateurs et d'habitat permanent pour des milliers d'espèces animales et végétales (VELIMIROV, 1984 ; MAZZELLA *et al.*, 1989 ; VERLAQUE, 1990 ; HARMELIN-VIVIEN et FRANCOUR, 1992 ; VIZZINI *et al.*, 2002). Au total, plusieurs centaines d'espèces végétales et plusieurs milliers d'espèces animales peuplent ces herbiers, et font de ces prairies sous-marines un véritable «pôle de biodiversité» (FRANCOUR, 1990 ; 2000).

#### **2.5. Fragilité et menaces des herbiers à *Posidonia oceanica***

De part leur localisation en bordure littorale, les herbiers à *Posidonia oceanica* ont considérablement régressé, en particulier aux alentours des grands centres urbains et portuaires (BOUDOURESQUE et MEINESZ, 1982). Les activités humaines constituent le principal facteur de régression de ces herbiers ; elles agissent le plus souvent en synergie (LERICHE *et al.*, 2006 ; TUNESI et BOUDOURESQUE, 2006).

Les herbiers à *Posidonia oceanica* sont particulièrement sensibles aux rejets anthropiques qui véhiculent une large gamme de contaminants tels que les détergents, les hydrocarbures, les pesticides, les herbicides et les métaux lourds qui réduisent la vitalité des herbiers à *Posidonia oceanica* (AUGIER *et al.*, 1987). Les actions mécaniques liées aux ancrages, la modification des apports par les fleuves, l'impact des fermes aquacoles et les problèmes liés à la compétition avec les espèces introduites *Caulerpa taxifolia* et *Caulerpa racemosa* sont à même d'amplifier ce phénomène de régression (DELGADO *et al.*, 1999 ; PERGENT *et al.*,

1999 ; TUNESI et BOUDOURESQUE, 2006). La sensibilité des herbiers à *Posidonia oceanica* à ces différentes agressions en fait un bon indicateur biologique, à l'instar des autres Magnoliophytes (PERGENT *et al.*, 1995).

## **2.6. *Posidonia oceanica* : bioindicateur de la qualité des eaux**

Depuis quelques années, un intérêt croissant pour l'utilisation des végétaux marins dans les études d'évaluation de la contamination du milieu est noté (PERGENT-MARTINI et PERGENT, 2000 ; FERRAT *et al.*, 2003 ; LAFABRIE, 2007). L'utilisation de plusieurs espèces de Magnoliophytes marines qualifiées de bioindicatrices, dans une optique de surveillance et de gestion des écosystèmes littoraux, est de plus en plus mise en œuvre (BRIX *et al.*, 1983 ; AUGIER, 1985 ; WARD, 1987 ; MASERTI *et al.*, 1988 ; PERGENT, 1991).

En Méditerranée, l'herbier à *Posidonia oceanica* constitue un puissant intégrateur de la qualité globale des eaux marines (PERGENT, 1991 ; PERGENT *et al.*, 1995 ; PERGENT-MARTINI, 1998 ; PERGENT-MARTINI *et al.*, 2005). Très largement distribué sur tout le littoral, particulièrement «réceptif» à la pollution et aux agressions liées aux activités humaines (MEINESZ et LAURENT, 1978 ; BOUDOURESQUE et MEINESZ, 1982), solidaire du fond, il rend compte, par sa présence et sa vitalité, de la qualité des eaux qui dérivent au-dessus de lui. L'empreinte de la qualité des eaux sur les herbiers à *Posidonia oceanica* est permanente, et de nombreux paramètres sont à même d'être enregistrés par l'herbier : **(i)** turbidité moyenne des eaux (matérialisée par la position de sa limite inférieure et par la densité des faisceaux), **(ii)** courants et hydrodynamisme (matérialisés par les structures érosives qui affectent la matre), **(iii)** taux de sédimentation (matérialisé par la vitesse de croissance des rhizomes et, en cas de déficit, par leur déchaussement), **(iv)** polluants stables (concentration et mémorisation des teneurs au cours du temps), **(v)** dessalure aux débouchés de fleuves côtiers ou de nappes phréatiques (matérialisée par la disparition de l'herbier), **(vi)** matière organique et nutriments (matérialisés par les épiphytes des feuilles et la composition chimique de la plante) (PERGENT-MARTINI *et al.*, 2005 ; PERGENT, 2006). Par conséquent, *Posidonia oceanica* est utilisée en routine pour évaluer l'état de santé du milieu marin méditerranéen, et ce, par la mise en œuvre de nombreux descripteurs qui fournissent des informations fiables et reproductibles (PERGENT-MARTINI *et al.*, 2005).

## **2.7. Composés phénoliques**

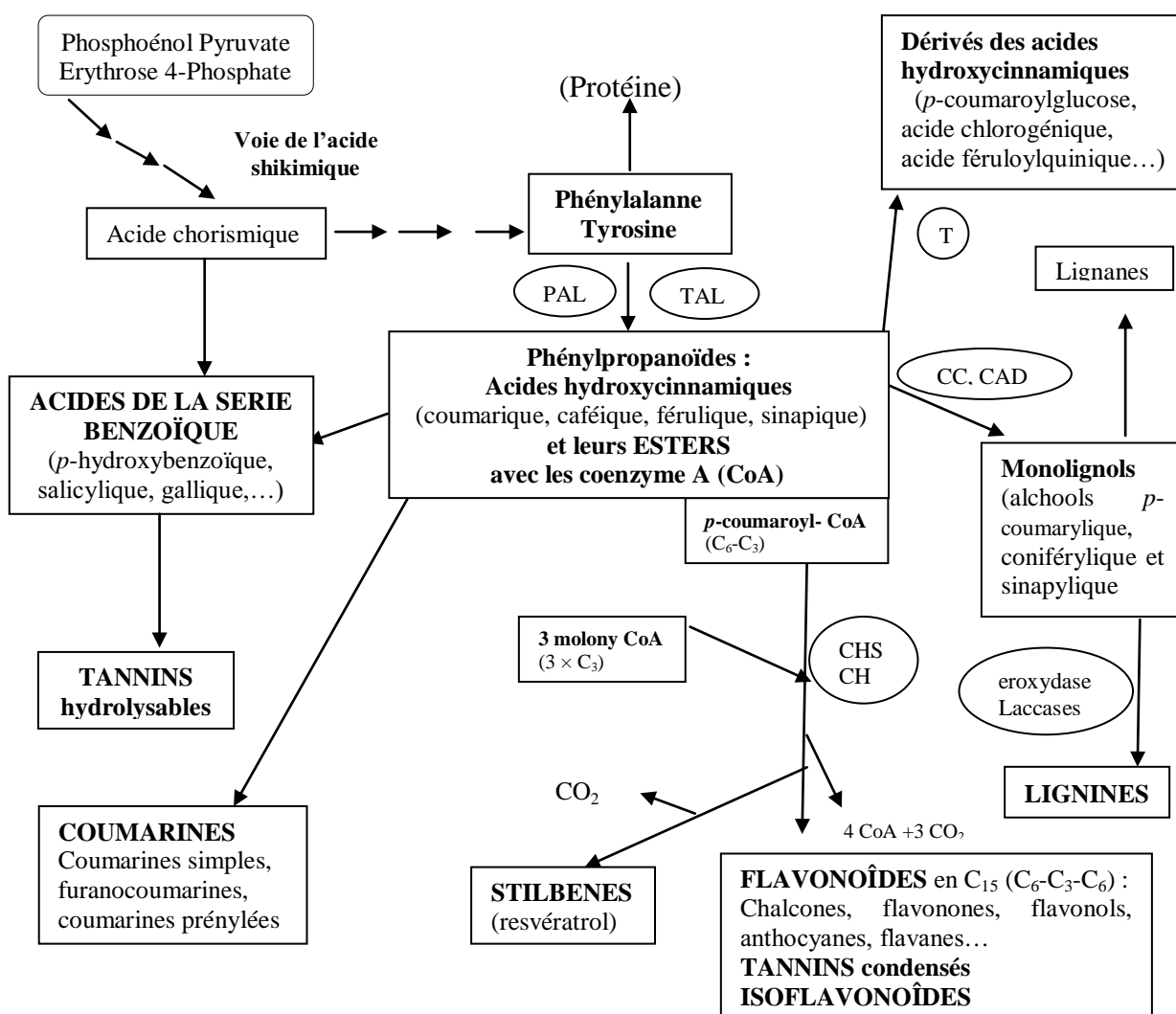
Les composés phénoliques forment un groupe hétérogène de métabolites secondaires dont l'élément structural fondamental est la présence d'un noyau benzénique lié à un ou plusieurs

groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (WATERMAN et MOLE, 1994). L'une des propriétés importantes des groupements hydroxyles phénoliques est leur acidité, qui leur confère un pouvoir de chélation des métaux, un rôle d'antioxydant, propriété sur laquelle est basé leur dosage (RIBEREAU-GAYON et PEYNAUD, 1968 ; WATERMAN et MOLE, 1994). D'un point de vue biosynthétique, la majeure partie des composés phénoliques des Magnoliophytes marines est constituée de la famille des Phénylpropanoïdes (ARNOLD et TARGET, 2002), qui dérivent d'un acide aminé aromatique, la phénylalanine, issu du métabolisme primaire, par la voie du shikimate (ARNOLD et TARGET, 2002 ; MACHEIX *et al.*, 2005). La désamination de cet acide aminé par une enzyme clé, la phénylalanine ammonia-lyase (PAL), conduit à la formation des acides cinnamique et *p*-coumarique, desquels dérivent des composés phénoliques plus complexes (SEIGLER, 1998) (Figure 3). La PAL est soumise à de nombreux contrôles endogènes (phytohormones) et exogènes (lumière, température, agent pathogène) (MEYER *et al.*, 2004).

Les Magnoliophytes marines sont riches en divers composés phénoliques, depuis les simples acides phénoliques jusqu'aux grands polymères que sont les tannins condensés et les lignines (ZAPATA et MC MILLAN, 1979 ; ARNOLD et TARGET, 2002). Les acides phénoliques constituent la part la plus importante dans la mesure où ils représentent 50% des composés phénoliques mesurés (VERGEER *et al.*, 1995). Néanmoins, cette proportion varie beaucoup en fonction de la population, de l'espèce et du tissu considéré (ARNOLD et TARGET, 2002). Chez *Posidonia oceanica*, un total de 24 acides phénoliques est identifié (CARIELLO et ZANETTI, 1979 ; CARIELLO *et al.*, 1979 ; CUNY *et al.*, 1995 ; AGOSTINI *et al.*, 1998 ; FERRAT *et al.*, 2001 ; DUMAY *et al.*, 2004) ainsi que divers flavonoïdes (CANNAC *et al.*, 2006). *Posidonia oceanica* renferme des cellules à tannin spécialisées dans la production de composés phénoliques (CARRIELLO et ZANETTI, 1979 ; PELLEGRINI et PELLEGRINI, 1992 ; 1993). L'élaboration des cellules à tannin semble être influencée dans certains cas par des facteurs externes telle la pollution (PERGENT, 1988 ; HAMOUL et MOKEDDEM, 2002) et lors de la compétition de *Posidonia oceanica* avec les algues invasives *Caulerpa taxifolia* et *Caulerpa racemosa* (CUNY *et al.*, 1994 ; DE VILLELE et VERLAQUE, 1995 ; DUMAY *et al.*, 2004). Par ailleurs, CUNY *et al.* (1994) et DE VILLELE et VERLAQUE (1995) ont mis en évidence une corrélation entre le nombre de cellules à tannin et la teneur en composés phénoliques au niveau des feuilles de *Posidonia oceanica*.

Les potentialités des composés phénoliques à servir de défense chimique sont abondamment décrites chez les algues brunes. En effet, elles produisent une quantité importante de

phlorotannins, soit environ 25% de leur poids sec (RAGAN et GOMBITZA, 1986 ; ARNOLD et TARGETT, 2002). Ces derniers possèdent des propriétés astringentes pour se défendre des herbivores (ANDERSON et VELMIROV, 1982 ; STEINBERG, 1984 ; 1985 ; RAGAN et GOMBITZA, 1986 ; TARGETT et ARNOLD, 1998 ; KORPINEN *et al.*, 2007), de l'épiphytisme (RAGAN et GOMBITZA, 1986 ; KORPINEN *et al.*, 2007), des organismes pathogènes (RAGAN et GOMBITZA, 1986 ; ARNOLD et TARGETT, 2002), du fouling (WIKSTRÖM et PAVIA, 2004), des radiations UV (PAVIA *et al.*, 1997 ; HENRY et VAN ALSTYNE, 2004), de l'émersion (PAVIA et BROCK, 2000) et de l'enrichissement en nutriments (YATES et PECKOL, 1993 ; HEMMI *et al.*, 2005 ; KORPINEN *et al.*, 2007). Les phlorotannins sont également des substances médiatrices dans la compétition interspécifique (MC LACHLAN et CRAGIE, 1996).



**Figure 3 :** Les grandes lignes de la biosynthèse des principaux groupes des composés phénoliques. PAL : phénylalanine ammonialyase ; TAL : tyrosine ammonialyase ; CCR : chalcone flavanone CoA réductase ; CAD : cinnamyl alcool déshydrogénase ; CHS ; chalcone synthase ; CHI : chalcone flavanone isomérase ; TR ; transférases (*in* MACHEIX *et al.*, 2005).

# Matériel et Méthodes



22 m de profondeur en moyenne. L'extension de l'herbier vers le large est freinée par les remaniements sous-marins auxquels sont soumises ces zones de fortes pentes, selon BRAÏK (1989). L'herbier se développe sur un substrat constitué par un platier rocheux recouvert d'une couche de sable d'origine biogène. Il présente une limite inférieure de type érosif, selon la classification de MEINESZ et LAURENT (1978), conséquence d'un hydrodynamisme important. La présence de structures érosives (chenaux, cuvettes intermattes) au sein de l'herbier résulte de l'exposition de ce secteur aux vents dominants (ouest et nord-ouest) (BRAÏK, 1989). En outre, cette limite se caractérise par des rhizomes majoritairement orthotropes, sans édification de matte. En effet, la composition granulométrique du substrat (sable grossier d'origine biogène et peu compact) au niveau de cette limite témoigne d'un faible apport sédimentaire, surtout en sable fin, nécessaire à la constitution et à l'élévation de la matte. L'observation de l'herbier au niveau de sa limite inférieure montre des rhizomes plagiotropes, totalement déchaussés, dont la plupart présente des faisceaux morts. La régression de l'herbier de Bou Ismaïl est déjà signalée par BRAÏK (1989), imputée selon cet auteur à une augmentation de la turbidité moyenne des eaux. Afin de suivre à long terme la dynamique évolutive de cette limite et l'état de vitalité de cet herbier, des structures fixes ont été mises en place (SEMROUD et BOUMAZA, 2007).

### 3.1.2. Site de Kouali

L'herbier à *Posidonia oceanica* de Kouali s'étend entre 0,3 et 20 m de profondeur en moyenne et se développe sur substrat dur (BOUMAZA, 1995). L'herbier est identifié comme un herbier de référence dans la baie de Bou Ismaïl, sa productivité primaire étant l'une des plus importantes enregistrées en Méditerranée (BOUMAZA et SEMROUD, 2000). En outre, ce site est caractérisé par la présence d'un certain nombre de paysages marins remarquables et menacés en Méditerranée : le récif-barrière à *Posidonia oceanica* et les trottoirs à vermetes (PNUE-UICN-GIS Posidonie, 1990). La limite inférieure de l'herbier est qualifiée de franche, selon la classification de MEINESZ et LAURENT (1978). En effet, les rhizomes sont essentiellement orthotropes, mais sans édification de matte. Ce type de limite témoigne de la stabilisation des conditions du milieu : la transparence des eaux et/ou la nature du substrat (BOUDOURESQUE *et al.*, 2006). L'herbier ne présente pas de dynamique de colonisation du substrat vers le large, la nature du substrat semble être à l'origine de ce type de limite. Un réseau de surveillance est mis en place au niveau de cette limite afin de suivre à long terme la dynamique évolutive de cette limite et l'état de vitalité de l'herbier (SEMROUD et BOUMAZA, 2007).

### 3.2. Récolte des échantillons

Les faisceaux orthotropes (à croissance verticale) de *Posidonia oceanica* sont récoltés en scaphandre autonome, entre juillet 2002 et mars 2003 (Tableau 2). Le prélèvement de décembre à Kouali, n'a pu être réalisé en raison de conditions météorologiques défavorables.

Les faisceaux sont récoltés distants d'environ 1 m les uns des autres, afin d'éviter les individus rattachés à un même rhizome plagiotrope (PERGENT, 1987). Les faisceaux sont conservés dans une glacière et à l'obscurité durant leur transport jusqu'au laboratoire, afin de réduire l'activité cellulaire et limiter la dégradation des composés phénoliques (RIBEREAU-GAYON et PEYNAUD, 1968).

**Tableau 2 :** Calendrier des prélèvements de *Posidonia oceanica* au niveau des deux sites d'étude.  
DM = données manquantes.

Biométrie foliaire			Dosage des composés phénoliques		
Date des prélèvements	Nombre de faisceaux		Date des prélèvements	Nombre de faisceaux	
	Kouali	Bou Ismaïl		Kouali	Bou Ismaïl
23 juillet 2002	30	30	29 mai 2002	45	45
02 octobre 2002	30	30	27 août 2002	45	45
17 décembre 2002	DM	30	17 décembre 2002	DM	45
26 mars 2003	30	30	26 mars 2003	45	45

### 3.3. Etude des paramètres de vitalité des herbiers

#### 3.3.1. Densité des herbiers

La densité correspond au nombre de faisceaux par m<sup>2</sup> et est déterminée par des comptages *in situ*, au moyen d'un carré de 20 cm de côté (BOUDOURESQUE *et al.*, 1990). Au niveau de chaque station, 12 comptages sont réalisés. Les herbiers sont ensuite caractérisés selon deux grilles de lecture établies par GIRAUD (1977b) (Tableau 3) et par PERGENT *et al.* (1995) (Tableau 4).

**Tableau 3 :** Classification des herbiers à *Posidonia oceanica* en fonction de la densité des faisceaux foliaires (d'après GIRAUD, 1977b).

	Densité par m <sup>2</sup>	Type d'herbier
<b>Type I</b>	Plus de 700 faisceaux/m <sup>2</sup>	Herbier très dense
<b>Type II</b>	De 400 à 700 faisceaux/m <sup>2</sup>	Herbier dense
<b>Type III,</b>	De 300 à 400 faisceaux/m <sup>2</sup>	Herbier clairsemé
<b>Type IV</b>	De 150 à 300 faisceaux/m <sup>2</sup>	Herbier très clairsemé
<b>Type V</b>	De 50 à 150 faisceaux/m <sup>2</sup>	Semi-herbier
–	Moins de 50 faisceaux/m <sup>2</sup>	Faisceaux isolés

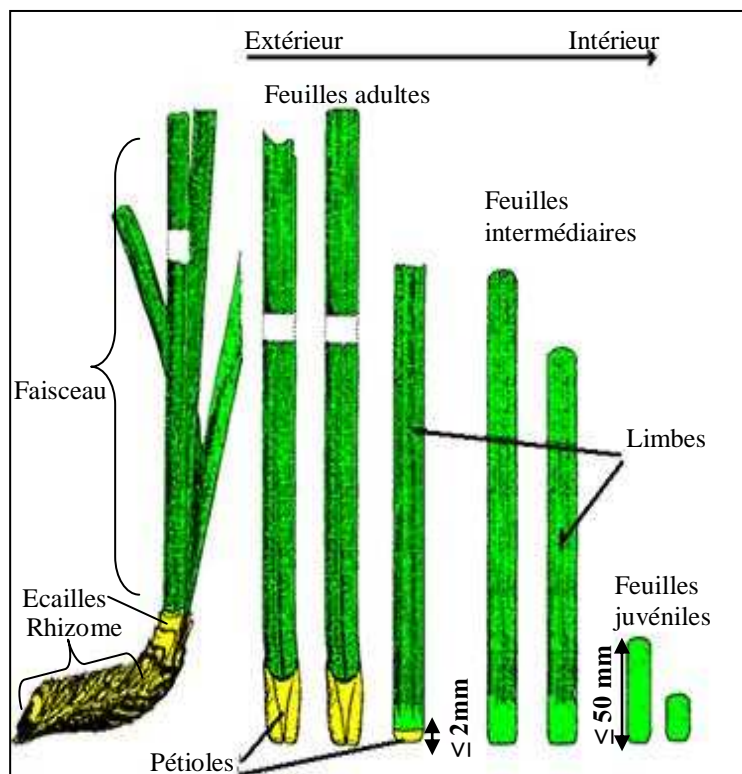
**Tableau 4 :** Classification de l'herbier en fonction de la densité des faisceaux et de la profondeur, pour les stations profondes (PERGENT *et al.*, 1995). DA = densité anormale, DN = densité normale, DSI = densité subnormale inférieure, DSS = densité subnormale supérieure.

Profondeur (m)	DA	DSI	DN	DSS
<b>18</b>	← 88	↔	<b>200 ↔ 424</b>	→
<b>19</b>	← 74	↔	<b>186 ↔ 410</b>	→
<b>20</b>	← 61	↔	<b>173 ↔ 397</b>	→
<b>21</b>	← 48	↔	<b>160 ↔ 384</b>	→
<b>22</b>	← 37	↔	<b>149 ↔ 373</b>	→
<b>23</b>	← 25	↔	<b>137 ↔ 361</b>	→
<b>24</b>	← 14	↔	<b>126 ↔ 350</b>	→

### 3.3.2. Analyse biométrique

Les faisceaux conservés dans le formol sont réhydratés et nettoyés de façon à retirer le sédiment, puis décortiqués feuille par feuille en respectant l'ordre distique de leur insertion. Les caractéristiques morphologiques et l'âge des feuilles d'un faisceau diffèrent selon la position de la feuille dans le faisceau (Figure 5). Au sein de chaque faisceau, les feuilles se forment au centre et sont d'autant plus âgées qu'elles sont situées vers l'extérieur (GIRAUD, 1979 ; CAYE, 1989b). L'acquisition d'un pétiole (ou base) par les feuilles ne se fait qu'avec leur vieillissement (GIRAUD, 1979). Les feuilles sont ensuite regroupées en trois catégories, selon le protocole de GIRAUD (1979):

- Les feuilles adultes, pourvues d'un pétiole (supérieure ou égale à 2 mm).
- Les feuilles intermédiaires, dépourvues de pétiole (ou dont le pétiole est inférieur ou égal à 2 mm) et de longueur supérieure à 50 mm.
- Les feuilles juvéniles, sans pétiole et de longueur n'excédant pas 50 mm.



**Figure 5 :** Dissection phénologique de *Posidonia oceanica* (d'après PERGENT, 1987).

Dans ce travail, seules les feuilles adultes et intermédiaires sont prises en compte. Pour chaque feuille, la longueur totale et la largeur sont mesurées. Les différents paramètres relatifs à la phénologie sont déterminés :

- Le nombre moyen de feuilles par faisceau.
- La longueur et la largeur moyennes des feuilles par faisceau.
- Le Coefficient A de Giraud (pourcentage de feuilles ayant perdu leur apex, GIRAUD, 1979).
- La surface foliaire (cm<sup>2</sup>) (surface des feuilles par faisceau, PERGENT-MARTINI, 1994).

### 3.3.3. Biomasse des feuilles et des épiphytes des feuilles

Les épiphytes des feuilles adultes et intermédiaires sont récoltés séparément, à l'aide d'une lame de rasoir. Les tissus foliaires et les épiphytes correspondants sont séchés à l'étuve pendant 48 h à 70°C, puis pesés sur une balance de type Denver instrument M-220 D (précision de 0,1 mg). La biomasse est exprimée en mg Ps (poids sec) par faisceau.

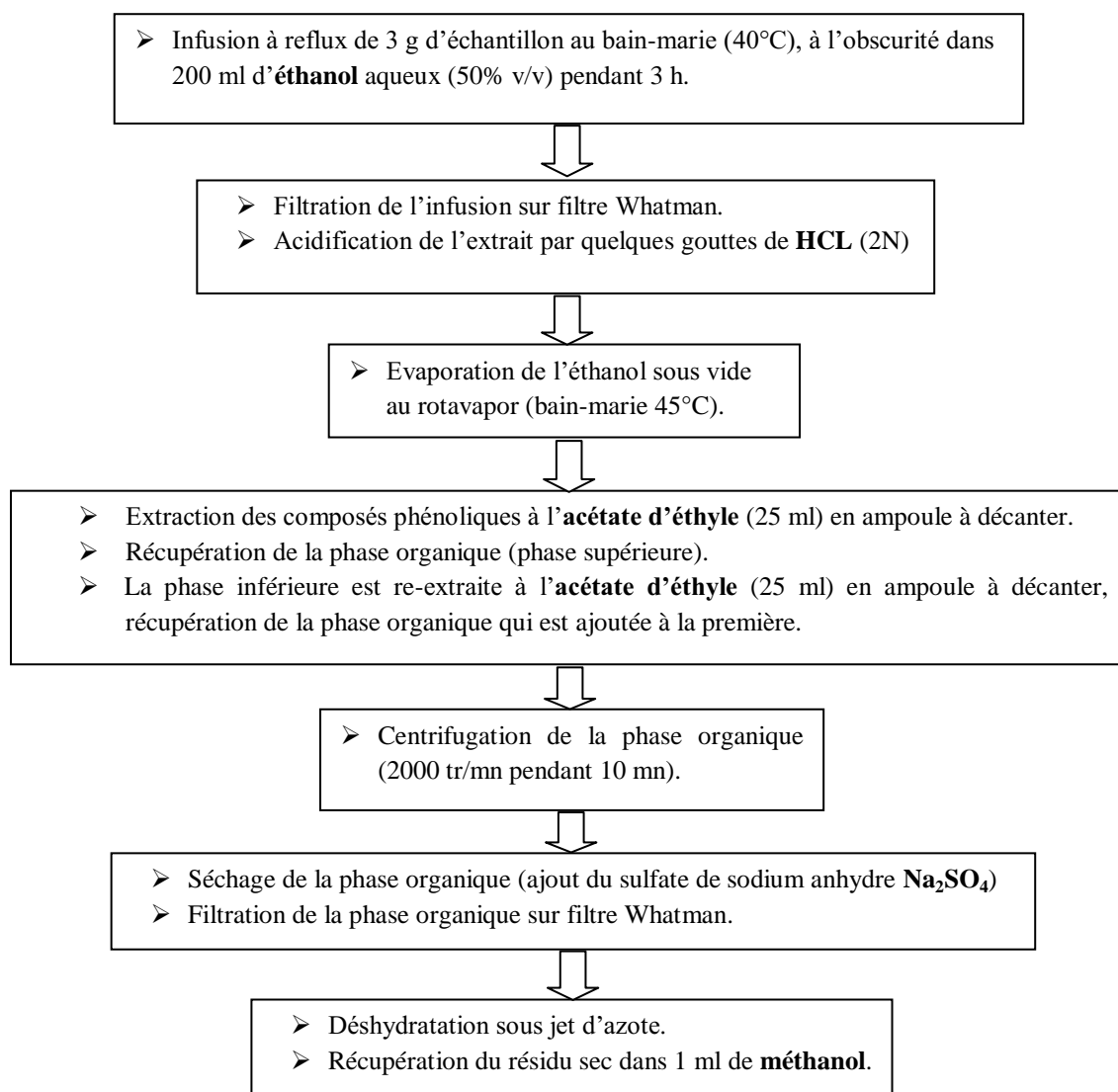
### 3.4. Etude des composés phénoliques totaux

#### 3.4.1. Tri et lyophilisation des échantillons

Un fois au laboratoire et à l'abri de la lumière, les faisceaux destinés au dosage des composés phénoliques sont immédiatement séparés en 3 lots de 15 faisceaux, puis disséqués selon le protocole de GIRAUD (1979). Les feuilles sont débarrassées de leurs épiphytes, à l'aide d'une lame de verre puis rincées à l'eau distillée. Les différents types de tissus : limbes des feuilles adultes, feuilles intermédiaires et bases, sont déshydratés par sublimation à basse température (-55°C) et sous vide ( $10^{-3}$  mbar) à l'aide d'un lyophilisateur (modèle SHAIST®, BETA-1-8). Au bout de 72 heures, les échantillons sont retirés du lyophilisateur, puis stockés à l'abri de l'humidité et de la lumière dans des flacons opaques et hermétiquement clos. Ainsi conditionnés, les teneurs en composés phénoliques restent constantes (HARBORNE, 1983).

#### 3.4.2. Extraction

Le protocole adopté pour l'extraction des composés phénoliques est celui élaboré par SAUVESTY *et al.* (1992) pour les végétaux terrestres, et adapté pour la Magnoliophyte marine *Posidonia oceanica* par CUNY *et al.* (1995). Pour chaque lot, **3 g** de poids sec de chacun des tissus sont mis à infuser pendant 3 heures dans **200 ml** d'éthanol aqueux (50% v/v ; éthanol – 99,8%, Riedel-de Haën). L'infusion se fait à reflux, à l'obscurité et au bain-marie (40°C). Les échantillons sont ensuite placés sous vide, au bain-marie à 45°C (rotavapor – BÜCHI R-114 et B-480), et l'éthanol ainsi distillé est séparé par condensation le long d'une colonne de refroidissement. L'extraction se fait à l'aide d'acétate d'éthyle (**2 × 25 ml**; acétate d'éthyle – 99,8% Carlo-Erba). Les phases aqueuse et organique sont séparées dans une ampoule à décanter. La phase organique des échantillons est alors asséchée par ajout de sulfate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  – SIGMA@) afin d'éliminer toute présence d'eau, puis filtrée (filtre Whatman, Macherey-Nagel). Le séchage se fait ensuite sous jet d'azote jusqu'à l'obtention d'un résidu sec, qui est repris dans **1 ml** de méthanol (99,5%, Fluka) dans des ampoules ambrées (Figure 6). En outre, afin de soustraire le bruit de fond lié au mode opératoire, chaque série de 6 échantillons est accompagnée d'un blanc ; il est préparé de la même manière que les échantillons, sauf qu'aucun échantillon n'est ajouté. Les échantillons sont ensuite conservés au réfrigérateur jusqu'à leur dosage.



**Figure 6 :** Synopsis du protocole utilisé pour l'extraction des composés phénoliques (CUNY *et al.*, 1995).

### 3.4.3. Dosage des composés phénoliques totaux

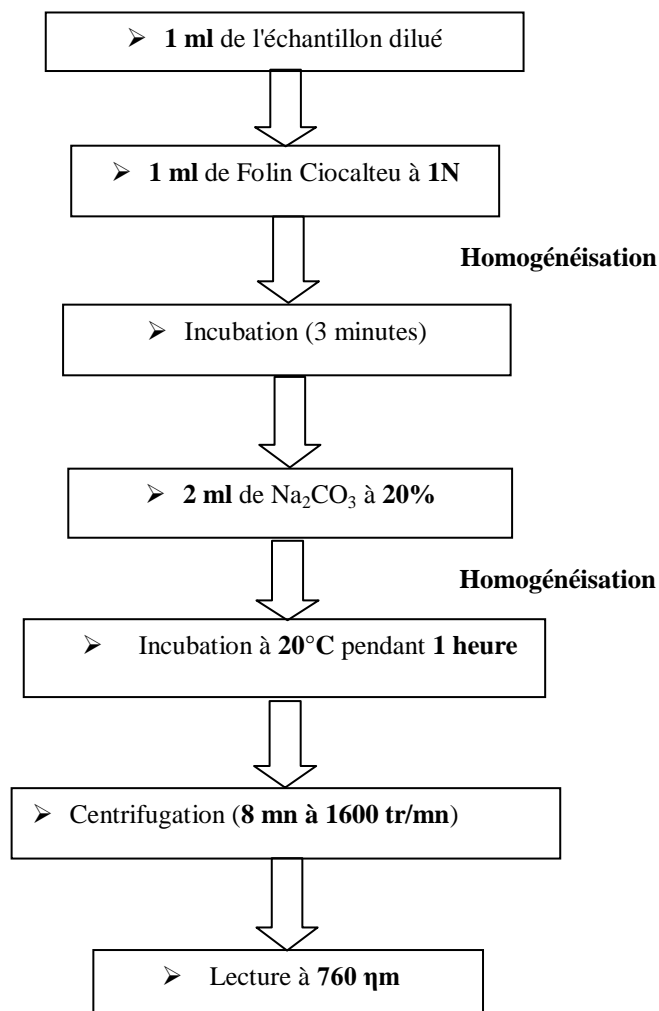
Le protocole utilisé est celui mis au point par WATERMAN et MOLE (1994) et modifié par KOIVIKKO *et al.* (2005). Le principe du dosage est basé sur l'emploi du réactif de Folin-Ciocalteu, décrit dès 1965 par SINGLETON et ROSSI. Depuis, son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines diverses. Ce réactif est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique auquel a été additionné du sulfate de lithium, qui élimine le problème de précipitation. En milieu basique, il oxyde les groupements oxydables des composés polyphénoliques présents dans l'échantillon. Le produit de la réduction, nommé chromophore, est un oxyde métallique de couleur bleue, présentant un maximum

d'absorption, dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de phénols totaux présents dans l'échantillon (WATERMAN et MOLE, 1994).

A l'obscurité, l'échantillon à doser est dilué en tenant compte de la gamme mesurable du spectrophotomètre (ex : **40 µl** de l'extrait sont mélangés à **3960 µl** d'eau bi-distillée). **1 ml** de l'échantillon dilué est mélangé dans un tube à essai avec **1 ml** de réactif Folin-Ciocalteu à 1N (SIGMA@, 2N), puis mélangé au vortex. Après 3 mn d'incubation à température ambiante et pour rendre le milieu basique, **2 ml** d'une solution de carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (SIGMA@, 20%) sont ajoutés, puis agités au vortex. Les échantillons sont incubés à 20°C pendant 1 heure (incubateur de marque Nüve, EN : 400), puis centrifugés (centrifugeuse de type SIGMA@ 1-6P) pendant 8 mn à 1600 tr/mn (Figure 7). Les dosages sont effectués sur trois réplicats de chaque extrait et la moyenne est calculée avec les mesures, dont la différence ne dépasse pas 10% (CUNY *et al.*, 1994).

Les teneurs en composés phénoliques sont déterminées par colorimétrie à l'aide d'un spectrophotomètre à UV-visible à double faisceau de marque SHIMADZU UV-1800. La technique à double faisceau aide à éliminer l'absorbance du blanc et donne directement la densité optique de l'échantillon.

Le phloroglucinol (Fluka) est utilisé pour l'élaboration des courbes étalons (RAGAN et CRAIGIE, 1978). Un blanc, ne contenant pas de composé à doser, est réalisé pour annuler l'absorbance due aux réactifs eux-mêmes, il est considéré comme le point 0 de la gamme. Pour déterminer la longueur d'onde adéquate, un balayage est effectué en utilisant la solution la plus concentrée de la gamme étalon. Le domaine du spectre choisi est délimité entre la longueur d'onde 640 et 800 nm en fonction des valeurs relevées dans la littérature. Deux pics sont enregistrés, l'un à 645 nm et l'autre à 760 nm. La mesure de l'absorbance des échantillons est basée sur le chromophore situé vers la plus grande longueur d'onde, afin de diminuer le risque de superposition des absorptions propres aux différents composés (ROUESSAC et ROUESSAC, 2004). Les concentrations en composés phénoliques présentés dans les échantillons sont exprimées en µg équivalent de phloroglucinol ml<sup>-1</sup>.



**Figure 7 :** Synopsis du protocole utilisé pour le dosage des composés phénoliques (WATERMAN et MOLE (1994) modifié par KOIVIKKO *et al.* (2005).

La quantité de composés phénoliques (p) dans l'échantillon est calculée en utilisant la formule établie par WATERMAN et MOLE (1994):

$$P = \frac{V_{\text{solvant}}}{V_{\text{extrait}}} * \left[ \frac{V_{\text{extrait}} + V_{\text{eau}}}{V_{\text{traité}}} \right] * Z \quad (1)$$

Avec :  $V_{\text{solvant}}$  = volume [ml] du solvant dans lequel Ps (= le poids sec [g] de l'échantillon) est dilué.

$V_{\text{extrait}}$  = volume [ml] pris du  $V_{\text{solvant}}$  pour le dosage [ml].

$V_{\text{eau}}$  = volume d'eau [ml] avec lequel le  $V_{\text{extrait}}$  est dilué.

$V_{\text{traité}}$  = volume [ml] de la fraction de l'échantillon dilué ( $V_{\text{extrait}} + V_{\text{eau}}$ ) qui est utilisé dans le dosage.

Z = quantité [mg] de composés phénoliques dans le  $V_{\text{traité}}$  calculé on utilisant la courbe d'étalonnage.

P= quantité [mg] de composés phénoliques dans l'échantillon.

Les résultats sont ensuite convertis en quantité de composés phénoliques par poids sec (Ps) de l'échantillon (= P/Ps).

### 3.4.4. Validation de la méthode de dosage

Dans le but d'utiliser cette méthode sur une nouvelle matrice, en l'occurrence la Magnoliophyte *Posidonia oceanica*, nous avons procédé à la validation de la méthode, afin de produire des résultats fiables et reproductibles. Dans ce cas les critères de validation comprennent les limites de détection et de quantification, la linéarité et la fidélité (MA-F-AS1-13-SINVAL, 2005 ; CEAEQ, 2009).

#### 3.4.4.1. Estimation de la limite de détection et de quantification

La limite de détection de la méthode (LDM) correspond à la plus petite teneur ou concentration de l'analyte pouvant être détectée, avec une incertitude acceptable, mais non quantifiée nécessairement. Elle est déterminée par la lecture directe de 10 mesures de blancs d'analyse (échantillons contenant l'ensemble des constituants, à l'exception de la substance à rechercher).

$$\text{LDM} = 3 * \sigma \quad (2)$$

où  $\sigma$  : l'écart-type sur les 10 mesures de blancs d'analyse.

Le calcul du ratio de conformité ( $R_c$ ) permet de valider la méthode de détermination de la LDM, il doit être compris entre 4 et 10 pour accepter la LDM.

$$R_c = \frac{m}{\text{LDM}} \quad (3)$$

où  $m$  : la moyenne sur les 10 mesures de blancs d'analyse.

La limite de quantification de la méthode (LQM) correspond à la plus petite teneur ou concentration de l'analyte pouvant être quantifiée.

$$\text{LQM} = 10 * \sigma \quad (4)$$

où  $\sigma$  : l'écart-type sur les 10 mesures de blancs d'analyse.

#### 3.4.4.2. La limite et le domaine de linéarité

La limite de linéarité (LL) correspond à la concentration la plus élevée de l'analyte quantifiable. Le domaine de linéarité est l'étendue de concentration compris entre la LQM et

LL ; il correspond à la zone quantifiable dans une méthode d'analyse. Le coefficient de corrélation  $R^2$  doit être supérieur à 0,995 pour respecter le critère de la limite de linéarité.

### 3.4.4.3. Fidélité

La fidélité de la méthode d'analyse est l'étroitesse de l'accord entre les résultats obtenus en appliquant un procédé expérimental à plusieurs reprises. Elle s'exprime sous forme de réplicabilité, de répétabilité ou de reproductibilité pour une méthode.

**La réplicabilité** correspond à l'étroitesse de l'accord entre les résultats obtenus sur le même échantillon soumis à l'essai dans le même laboratoire, le même analyste, le même appareil et même jour.

$$\text{Réplicabilité} = \frac{t_{(0,975, n-1)} * \sigma_1}{\sqrt{n}} \quad (5)$$

où :  $\sigma_1$  : écart-type de la série de mesures.

n : nombre de réplicas.

$t_{(0,975, n-1)}$  : valeur tabulée de la loi t de Student à (n-1) degré de liberté et à un niveau de signification  $\alpha$  de 0,05.

**La répétabilité** correspond à l'étroitesse de l'accord entre les résultats obtenus sur le même échantillon soumis à l'essai dans le même laboratoire et au moins l'un des éléments suivants est différent : l'analyste, l'appareil ou le jour. Dans notre cas nous avons opté pour un jour différent.

$$\text{Répétabilité} = \frac{t_{(0,975, n-1)} * \sigma_2}{\sqrt{n}} \quad (6)$$

où :  $\sigma_2$  : écart type de la série de mesures.

n : nombre de réplicas.

$t_{(0,975, n-1)}$  : valeur tabulée de la loi t de Student à (n-1) degré de liberté et à un niveau de signification  $\alpha$  de 0,05.

**La reproductibilité** correspond à l'étroitesse de l'accord entre les résultats obtenus sur le même échantillon soumis à l'essai dans un autre laboratoire avec un analyste et un appareil différents.

$$\text{Reproductibilité} = \frac{t_{(0,975,n-1)} * \sigma_3}{\sqrt{n}} \quad (7)$$

où  $\sigma_3$  : écart type de la série de mesures.

n : nombre de répliquas.

$t_{(0,975, n-1)}$  : valeur tabulée de la loi t de Student à (n-1) degré de liberté et à un niveau de signification  $\alpha$  de 0,05.

La réplicabilité et la répétabilité sont effectuées au niveau du Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire (LBCM) à l'aide d'un spectrophotomètre à UV visible à double faisceaux (SHIMADZU UV-1800), alors que la reproductibilité est réalisée au niveau du Laboratoire de Chimie et Pollution (LCP) à l'aide d'un spectrophotomètre à UV visible à monofaisceau (SHIMADZU UV- 1240).

L'intervalle de confiance (IC) ainsi que le coefficient de variation (CV) sont déterminés comme suit :

$$IC = m \pm \frac{t_{(0,975,n-1)} * \sigma}{\sqrt{n}} \quad (8)$$

$$CV = 100 * \frac{\sigma}{m} \quad (9)$$

### 3.5. Traitements statistiques

Après la saisie des données dans des tableaux sous format Microsoft-Excel, les tests statistiques sont réalisés à l'aide du logiciel **R. 2.10.1** (logiciel d'analyse statistique).

#### 3.5.1. Paramètres descriptifs

Les mesures quantitatives (comptage et mensurations) sont réduites sous forme de quelques paramètres (moyenne, écart-type, intervalle de confiance) (DAGNELIE, 1975).

La moyenne (m) est un paramètre de position qui sert à caractériser l'ordre de grandeur des observations.

$$m = \frac{\sum x_i}{n} \quad (10)$$

L'écart-type est ( $\sigma$ ) un paramètre de dispersion qui permet de chiffrer les variations observées autour de la moyenne.

$$\sigma = \frac{\sqrt{\sum(x_i - m)^2}}{(n-1)} \quad (11)$$

L'estimation de la moyenne est précisée par la détermination d'un intervalle de confiance (IC) qui recouvre la véritable moyenne.

$$IC = m \pm t_{(0,95,n-1)} * \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \quad (12)$$

### 3.5.2. Analyse de la variance

L'analyse de la variance à un seul facteur (« one way analysis of variance » = 'ANOVA') a pour but de comparer les moyennes de plusieurs populations supposées normales et de même variance, à partir d'échantillons aléatoires, simples et indépendants (DAGNELIE, 1975). Cette méthode est fondée sur la comparaison de deux types de variation : les écarts existants entre les différents échantillons (variation factorielle) et les écarts existants à l'intérieur des échantillons (variation résiduelle). Le rapport des deux variances est comparé à la valeur F donnée par la table de distribution F de FISCHER-SNEDECOR à 5%. Si la valeur de la table correspondant au nombre de degrés de liberté est inférieure à la valeur calculée, le facteur contrôlé est considéré comme introduisant des différences significatives (SCHWARTZ, 1992). L'hypothèse de normalité et d'homoscédasticité (égalité des variances) doit être vérifiée au préalable à l'aide de tests appropriés :

(i) Pour vérifier la normalité des distributions, le test de KOLMOGOROV-SMIRNOV est utilisé.

(ii) Pour vérifier l'homoscédasticité, le test de BARTLETT est utilisé, celui-ci s'applique indifféremment à des échantillons d'effectifs égaux ou inégaux. L'hypothèse nulle d'égalité des variances est rejetée si le  $\chi^2$  calculé est supérieur au  $\chi^2$  théorique donné par la table à 5%.

### 3.5.3. Tests non paramétriques

Lorsque les conditions d'application de l'ANOVA ne sont pas réunies, un test non paramétrique est appliqué. Les méthodes non paramétriques sont des méthodes simples et ne sont basées sur aucune hypothèse particulière relative aux distributions des populations. Ces tests présentent l'inconvénient d'être moins puissants ; ils font appel dans la plupart des cas aux rangs des données classées par ordre croissant (FRONTIER, 1981).

#### 3.5.3.1. Test de KRUSKAL-WALLIS

Les observations sont classées par ordre croissant sans tenir compte de leur appartenance aux échantillons. Un rang est attribué à chaque observation. La distribution du test est celle d'un  $\chi^2$  avec comme degré de liberté  $ddl = p - 1$  (p étant le nombre d'échantillons). L'hypothèse nulle ( $h_0$ ) d'identité des deux populations est rejetée si la valeur calculée est libérée.

### **3.5.3.2. Test du Khi-deux ( $\chi^2$ )**

Le test d'indépendance du  $\chi^2$  vise à déterminer si deux variables observées sur un échantillon sont indépendantes ou non. Ce test permet d'ajuster une distribution empirique à une distribution théorique. La valeur du  $\chi^2$  calculée est comparée à la valeur donnée par la table du  $\chi^2$ . L'hypothèse d'égalité des distributions est rejetée si le  $\chi^2$  calculé est supérieur au  $\chi^2$  donné par la table du Khi-deux à 5% correspondant au nombre de degrés de liberté.

# Résultats et Discussion

## 4. Résultats et discussion

### 4.1. Densité

La densité moyenne mesurée au niveau de Kouali est de  $252,1 \pm 43,7$  faisceaux par  $m^2$ , elle est plus élevée que celle mesurée à Bou Ismaïl qui est de  $222,8 \pm 20,4$  faisceaux par  $m^2$ . Toutefois, ces valeurs ne présentent pas de différence significative (ANOVA,  $p > 0,05$ ). D'après GIRAUD (1977b), ces deux herbiers sont classés dans la même catégorie et correspondent au type très clairsemé (type IV). Par ailleurs et selon la classification de PERGENT *et al.* (1995), les valeurs relevées au niveau des deux stations correspondent à une densité normale (DN) pour de telles profondeurs.

### 4.2. Biométrie foliaire

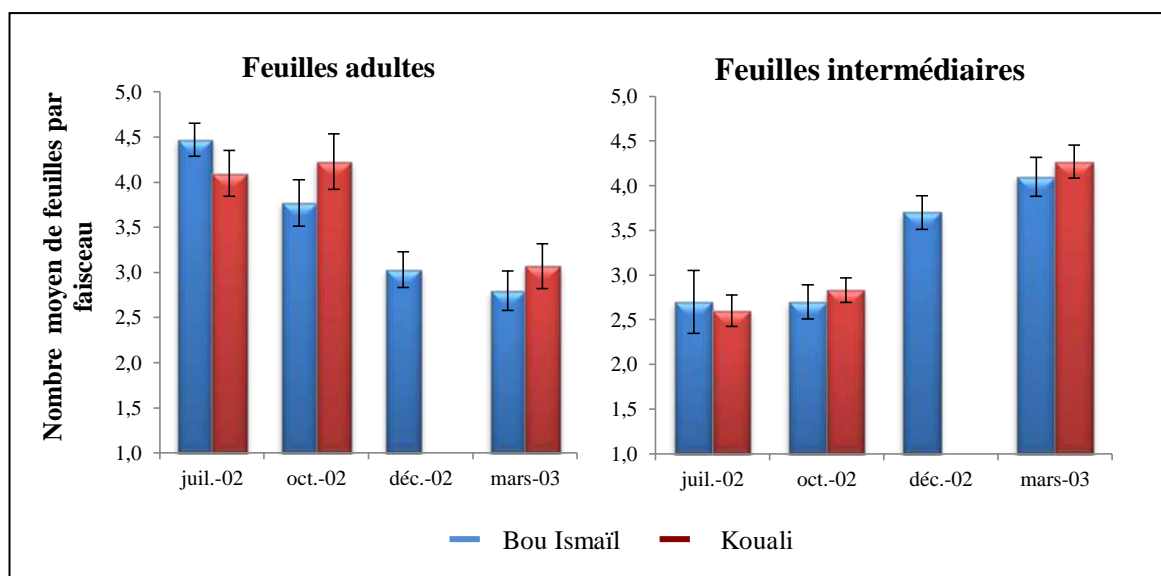
#### 4.2.1. Nombre de feuilles par faisceau

##### 4.2.1.1. Feuilles adultes

Le nombre moyen annuel de feuilles adultes par faisceau est de  $3,5 \pm 0,2$  à Bou Ismaïl et  $3,8 \pm 0,2$  à Kouali, ces valeurs diffèrent de façon significative (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Par ailleurs, des variations saisonnières significatives sont observées au sein des deux stations (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Le nombre moyen de feuilles adultes est maximal en été (juillet) à Bou Ismaïl ( $4,5 \pm 0,2$ ) et en automne (octobre) à Kouali ( $4,2 \pm 0,2$ ). Quant au minima sont enregistrés à la fin de l'hiver (mars) au sein des deux stations, soit  $2,8 \pm 0,2$  à Bou Ismaïl et  $3,1 \pm 0,2$  à Kouali (Figure 8).

##### 4.2.1.2. Feuilles intermédiaires

Le nombre moyen annuel de feuilles intermédiaires par faisceau est de  $3,3 \pm 0,2$  à Bou Ismaïl et  $3,2 \pm 0,2$  à Kouali, ces valeurs ne montrent pas de différence significative (ANOVA,  $p > 0,05$ ). Au sein des deux stations, les variations saisonnières sont significatives (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Les valeurs extrêmes sont enregistrées à la même période : un maximum à la fin de l'hiver (mars) :  $4,1 \pm 0,6$  à Bou Ismaïl et  $4,3 \pm 0,2$  à Kouali, tandis que le minimum est enregistré en été (juillet) :  $2,7 \pm 0,3$  pour Bou Ismaïl et  $2,6 \pm 0,2$  pour Kouali (Figure 8).



**Figure 8 :** Evolution saisonnière du nombre moyen des feuilles adultes et intermédiaires au niveau des deux stations étudiées.

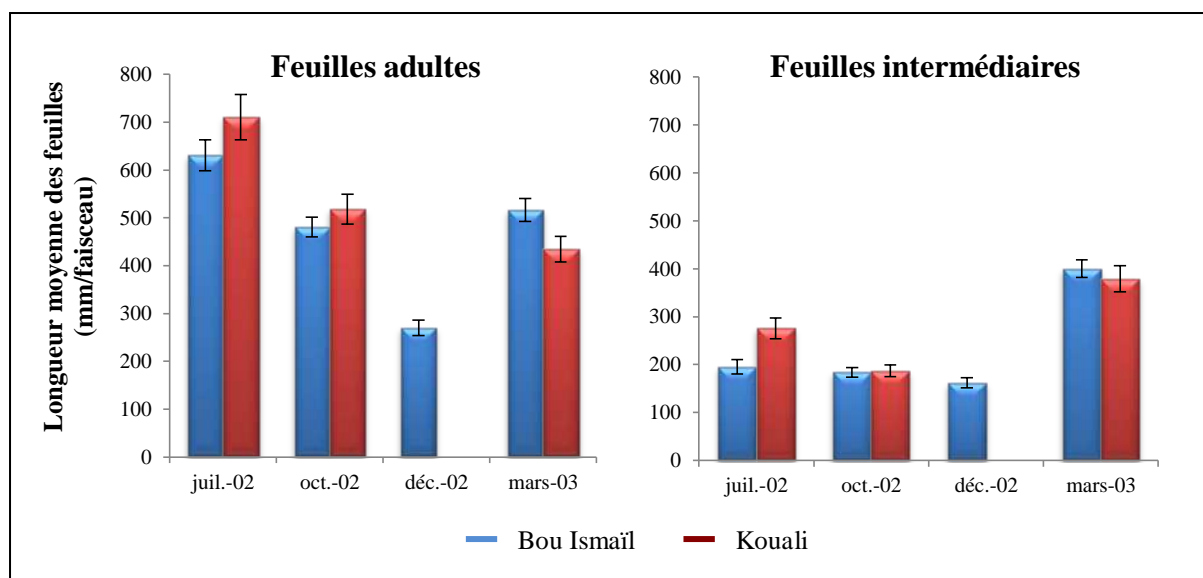
## 4.2.2. Longueur des feuilles

### 4.2.2.1. Feuilles adultes

La longueur moyenne annuelle des feuilles adultes, exprimée en mm par faisceau, est de  $474,8 \pm 26,3$  à Bou Ismaïl et  $554,4 \pm 31,7$  à Kouali, présente une différence significative (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Les variations saisonnières de la longueur moyenne des feuilles adultes enregistrées au sein des deux stations sont significativement différentes (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Pour les deux stations, les feuilles adultes les plus longues apparaissent en été (juillet) :  $630,9 \pm 32,8$  à Bou Ismaïl et  $710,4 \pm 47,6$  à Kouali, tandis que les feuilles les plus courtes s'observent à la fin de l'automne (décembre) à Bou Ismaïl ( $270,3 \pm 16,4$ ) et à la fin de l'hiver (mars) à Kouali ( $434,4 \pm 27,1$ ) (Figure 9).

### 4.2.2.2. Feuilles intermédiaires

La longueur moyenne annuelle des feuilles intermédiaires, exprimée en mm par faisceau, est de  $235,5 \pm 18,5$  à Bou Ismaïl et  $280,8 \pm 20,4$  à Kouali, valeurs significativement différentes (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Des variations saisonnières significatives sont également notées au niveau des deux stations (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Pour les deux stations, le maximum de longueur est enregistré à la fin de l'hiver (mars), soit  $400,5 \pm 18,1$  à Bou Ismaïl et  $379,1 \pm 27,5$  à Kouali, tandis que le minimum est noté en automne (octobre) à Bou Ismaïl ( $161,5 \pm 10,5$ ) à Kouali ( $187,3 \pm 12,4$ ) (Figure 9).



**Figure 9 :** Evolution saisonnière de la longueur moyenne des feuilles adultes et intermédiaires au niveau des deux stations étudiées.

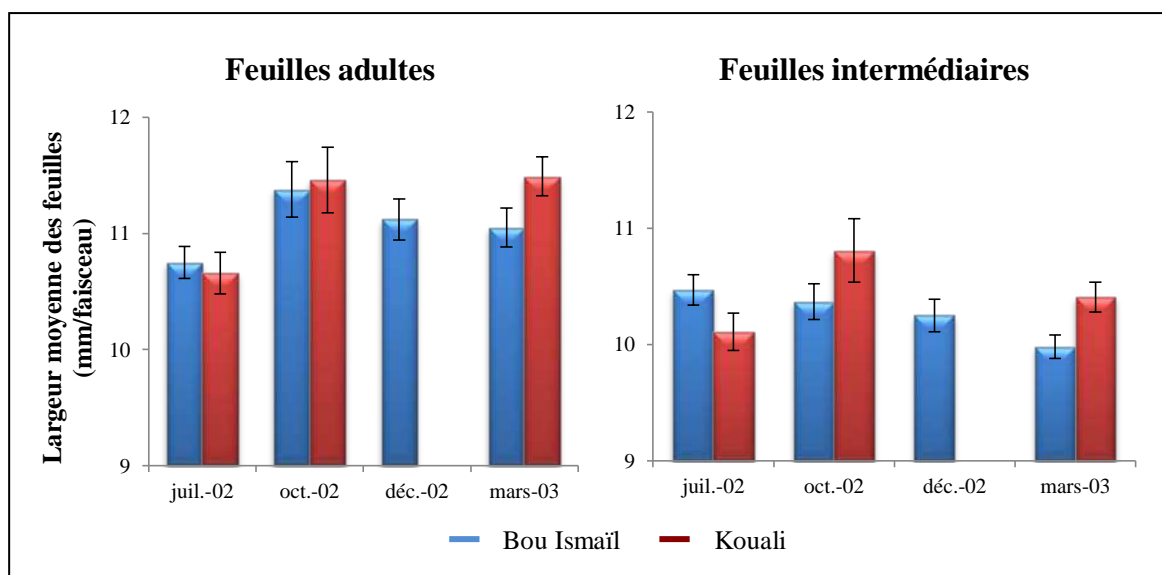
### 4.2.3. La largeur des feuilles

#### 4.2.3.1. Feuilles adultes

La largeur moyenne annuelle, exprimée en mm par faisceau, des feuilles adultes est de  $11,1 \pm 0,1$  à Bou Ismaïl et  $11,2 \pm 0,1$  à Kouali, ces moyennes ne montrent pas de différence significative (ANOVA,  $p > 0,05$ ). Par ailleurs, au sein des deux stations des variations saisonnières significatives apparaissent (ANOVA,  $p < 0,05$ ). A Bou Ismaïl comme à Kouali, les feuilles adultes les moins larges sont enregistrées en été (juillet) ( $10,7 \pm 0,1$  et  $10,6 \pm 0,2$  respectivement), alors que les feuilles les plus larges sont rencontrées en automne (octobre) à Bou Ismaïl ( $11,4 \pm 0,2$ ) et à la fin de l'hiver (mars) à Kouali ( $11,5 \pm 0,2$ ) (Figure 10).

#### 4.2.3.2. Feuilles intermédiaires

La largeur moyenne annuelle, exprimée en mm par faisceau, des feuilles intermédiaires est de  $10,3 \pm 0,1$  à Bou Ismaïl et  $10,4 \pm 0,1$  à Kouali, sont significativement différentes (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Les variations saisonnières au sein des deux stations sont également significatives (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Les maxima sont observés en été (juillet) à Bou Ismaïl ( $10,5 \pm 0,1$ ) et en automne (octobre) à Kouali ( $10,8 \pm 0,3$ ). Quant aux minima, ils sont enregistrés à la fin de l'hiver (mars) à Bou Ismaïl ( $9,9 \pm 0,1$ ) et en été (juillet) à Kouali ( $10,1 \pm 0,2$ ) (Figure 10).



**Figure 10 :** Evolution saisonnière de la largeur moyenne des feuilles adultes et intermédiaires au niveau des deux stations étudiées.

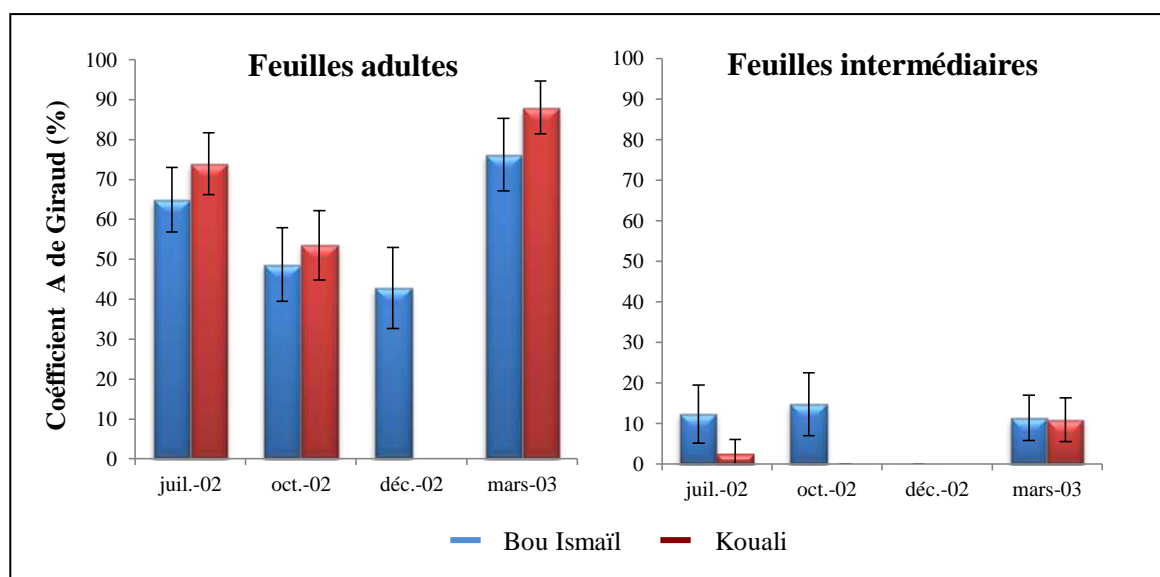
#### 4.2.4. Coefficient A de Giraud

##### 4.2.4.1. Feuilles adultes

La moyenne annuelle du Coefficient A de Giraud des feuilles adultes, exprimé en %, est de  $57,9 \pm 9,1$  à Bou Ismaïl et  $71,8 \pm 7,7$  à Kouali, ces valeurs diffèrent de façon significative ( $\chi^2$ ,  $p < 0,05$ ). Des variations saisonnières significatives sont également enregistrées au niveau des deux stations ( $\chi^2$ ,  $p < 0,05$ ). Le maximum est enregistré durant la fin de l'hiver (mars) au niveau des deux stations :  $76,2 \pm 9,1$  à Bou Ismaïl et  $88,1 \pm 6,6$  à Kouali. Quant au minima ils sont notés à la fin de l'automne (décembre) à Bou Ismaïl ( $42,9 \pm 10,2$ ) et en automne (octobre) à Kouali ( $53,5 \pm 8,7$ ) (Figure 11).

##### 4.2.4.2. Feuilles intermédiaires

La moyenne annuelle du Coefficient A de Giraud des feuilles intermédiaires, exprimé en %, est de  $9,1 \pm 5,1$  à Bou Ismaïl et  $4,2 \pm 2,9$  à Kouali, ces moyennes significativement différentes ( $\chi^2$ ,  $p < 0,05$ ). Des variations saisonnières significatives sont enregistrées au sein des deux stations ( $\chi^2$ ,  $p < 0,05$ ). Le maximum est observé en automne (octobre) à Bou Ismaïl ( $14,8 \pm 7,7$ ) et à la fin de l'hiver (mars) à Kouali ( $10,9 \pm 5,4$ ). Quant au minimum, il est enregistré à la fin de l'automne (décembre) à Bou Ismaïl et en automne (octobre) à Kouali avec des valeurs nulles au niveau des deux stations (Figure 11).



**Figure 11** : Evolution saisonnière du Coefficient A de Giraud (%) des feuilles adultes et intermédiaires au niveau des deux stations.

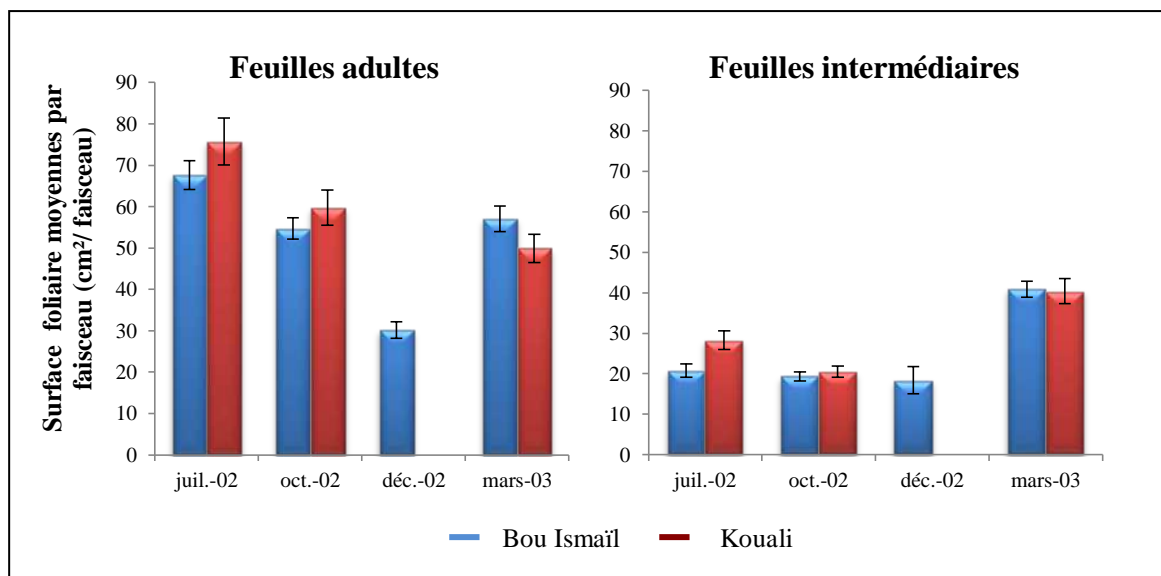
#### 4.2.5. Surface foliaire

##### 4.2.5.1. Feuilles adultes

La moyenne annuelle de la surface foliaire des feuilles adultes, exprimée en  $\text{cm}^2/\text{faisceau}$ , est de  $52,4 \pm 2,8$  à Bou Ismaïl et  $61,8 \pm 3,4$  à Kouali, ces valeurs présentent des différences significatives (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Quant aux variations saisonnières, celles-ci diffèrent également de façon significative (ANOVA,  $p < 0,05$ ) au sein de la même station. Le maximum est enregistré en été (juillet) :  $67,6 \pm 3,5$  à Bou Ismaïl et  $75,7 \pm 5,7$  à Kouali, et le minimum à la fin de l'automne (décembre) à Bou Ismaïl ( $30,2 \pm 2,1$ ) et la fin de l'hiver (mars) à Kouali ( $49,9 \pm 3,3$ ) (Figure 12).

##### 4.2.5.2. Feuilles intermédiaires

La moyenne annuelle de la surface foliaire des feuilles intermédiaires, exprimée en  $\text{cm}^2/\text{faisceau}$ , est de  $24,8 \pm 1,9$  à Bou Ismaïl et  $29,7 \pm 2,2$  à Kouali, ces valeurs présentent des différences significatives (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Par ailleurs, des variations saisonnières sont enregistrées au sein des deux stations (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Le maximum est observé à la fin de l'hiver (mars) :  $40,9 \pm 1,9$  à Bou Ismaïl et  $40,4 \pm 3,1$  à Kouali et le minimum à la fin de l'automne (décembre) à Bou Ismaïl ( $18,4 \pm 3,4$ ) et en automne (octobre) à Kouali ( $20,5 \pm 1,4$ ) (Figure 12).



**Figure 12 :** Evolution saisonnière de la surface foliaire moyenne des feuilles adultes et intermédiaires au niveau des deux stations étudiées.

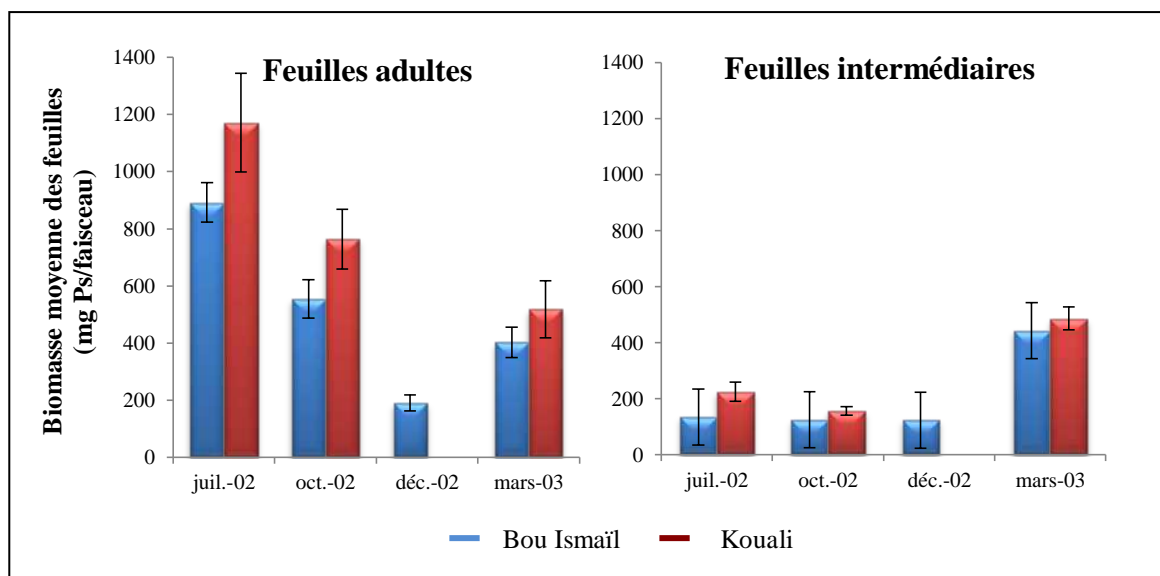
#### 4.2.6. Biomasse

##### 4.2.6.1. Feuilles adultes

La biomasse moyenne annuelle des feuilles adultes, exprimée en mg Ps/faisceau, est de  $509,6 \pm 53,8$  à Bou Ismaïl et  $817,9 \pm 93,2$  à Kouali, moyennes significativement différentes (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Des variations saisonnières significatives sont enregistrées au sein des deux stations (ANOVA,  $p < 0,05$ ), aussi bien à Bou Ismaïl qu'à Kouali, la biomasse maximale est enregistrée en été (juillet) ( $891,9 \pm 68,9$  et  $1171,9 \pm 173,3$  respectivement). Tandis que le minimum est observé à la fin de l'automne (décembre) à Bou Ismaïl avec  $189,7 \pm 28,6$  et à la fin de l'hiver (mars) à Kouali, avec  $517,8 \pm 100,4$  (Figure 13).

##### 4.2.6.2. Feuilles intermédiaires

La biomasse moyenne annuelle des feuilles intermédiaires, exprimée en mg Ps/faisceau, est de  $207,2 \pm 26,62$  à Bou Ismaïl et  $289,8 \pm 34,6$  à Kouali, valeurs significativement différentes (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Des variations saisonnières significatives sont également enregistrées au niveau deux stations (ANOVA,  $p < 0,05$ ), le maximum est enregistré à la fin de l'hiver (mars) :  $444,2 \pm 18,1$  à Bou Ismaïl et  $486,6 \pm 40,9$  à Kouali. Quant au minimum, il est enregistré à la fin de l'automne (décembre) à Bou Ismaïl avec  $123,9 \pm 13,6$  et en automne (octobre) à Kouali avec  $157,2 \pm 14,8$  (Figure 13).



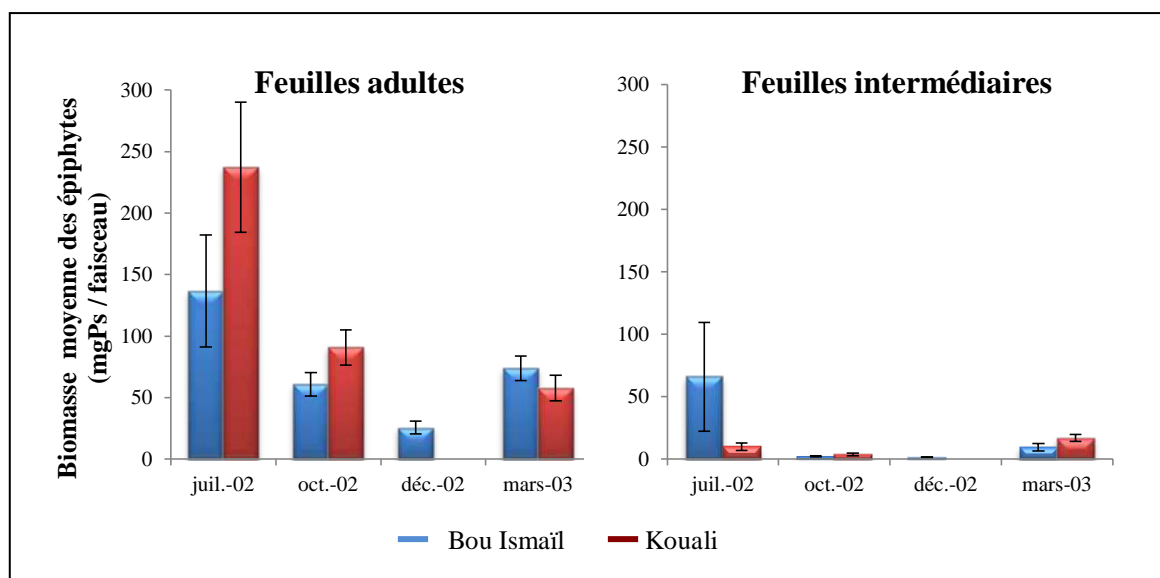
**Figure 13** : Evolution saisonnière de la biomasse moyenne des feuilles adultes et intermédiaires au niveau des deux stations étudiées.

#### 4.2.6.3. Epiphytes des feuilles adultes

La biomasse moyenne annuelle des épiphytes des feuilles adultes, exprimée en mg Ps/faisceau, est de  $74,2 \pm 13,9$  à Bou Ismaïl et  $128,7 \pm 24,5$  à Kouali, valeurs significativement différentes (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Des variations saisonnières significatives sont également enregistrées au niveau des deux stations (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Pour les deux stations le maximum est enregistré en été (juillet) :  $136,6 \pm 45,7$  à Bou Ismaïl et  $237,4 \pm 52,9$  à Kouali. Alors que le minimum est enregistré à la fin de l'automne (décembre) à Bou Ismaïl ( $25,6 \pm 5,2$ ) et à la fin de l'hiver (mars) à Kouali ( $57,8 \pm 10,3$ ) (Figure 14).

#### 4.2.6.4. Epiphytes des feuilles intermédiaires

La biomasse moyenne annuelle des épiphytes des feuilles intermédiaires, exprimée en mg Ps/faisceau, est de  $19,8 \pm 11,8$  à Bou Ismaïl et  $10,1 \pm 5,6$  à Kouali, ces valeurs ne présentent pas de différence significative (ANOVA,  $p > 0,05$ ). Tandis qu'au sein de chaque station, des variations saisonnières sont enregistrées (ANOVA,  $p < 0,05$ ). A la station de Bou Ismaïl le maximum est enregistré en été (juillet) ( $65,9 \pm 45,7$ ) et le minimum à la fin de l'automne (décembre) ( $1,4 \pm 0,4$ ). Quant à Kouali le maximum est noté à la fin de l'hiver (mars) ( $16,7 \pm 2,8$ ) et le minimum en automne (octobre) ( $3,8 \pm 1,1$ ) (Figure 14).



**Figure 14 :** Evolution saisonnière de la biomasse moyenne des épiphytes des feuilles adultes et intermédiaires au niveau des deux stations étudiées.

### 4.3. Synthèse des résultats et discussion

#### 4.3.1. Au niveau de l'herbier

Les mesures de densité obtenues sont comparables aux valeurs observées sur d'autres sites de Méditerranée à des profondeurs équivalentes (RICO-RAIMONDINO, 1995). La caractérisation des herbiers étudiés en tenant compte de l'échelle de PERGENT-MARTINI *et al.* (2005) qui permet de décliner les herbiers en 5 classes : « Très bonne », « Bonne », « Normale », « Médiocre », « Mauvaise », montre que les herbiers de Kouali et de Bou Ismaïl traduisent une densité « Normale » qui correspond à des valeurs de vitalité de *Posidonia oceanica* satisfaisantes, que l'on observe lorsqu'il n'existe pas de pression anthropique marquée (PNUE-CAR/ASP, 2007). Par ailleurs, même si la profondeur joue un rôle important sur la densité (ALCOVERRO *et al.*, 2001), d'autres facteurs comme le type de substrat (AUGIER et CRISTIANI, 1984), la topographie (ZUPO *et al.*, 2006) et la dynamique de l'herbier (SCARDI *et al.*, 1989) ainsi que les constructions côtières (RUIZ et ROMERO, 2003) peuvent affecter ce paramètre.

#### 4.3.2. Au niveau du faisceau

L'ensemble des paramètres biométriques mesurés présentent des variations saisonnières caractéristiques et similaires au niveau des deux stations. Elles correspondent à celles enregistrées dans différentes régions de Méditerranée (BOUMAZA, 1995 ; BUIA *et al.*, 2000 ; DUMAY *et al.*, 2002). La saisonnalité marquée des feuilles de *Posidonia oceanica*

est complexe, il existe un rythme pour la formation des feuilles et un autre pour leur croissance qui sont contrôlés par divers facteurs environnementaux et/ou par un rythme interne (ROMERO, 1989). En effet la croissance de *Posidonia oceanica* est contrôlée par le cycle solaire qui détermine la température de l'eau et la disponibilité de la lumière ainsi que les ressources en nutriments (ALCOVERRO *et al.*, 1995).

#### 4.3.2.1. Nombre de feuilles par faisceau

Au sein des deux stations, l'évolution saisonnière des feuilles adultes est inversée par rapport à celle des feuilles intermédiaires. Par ailleurs, la proportion des feuilles intermédiaires reste inférieure à celle des feuilles adultes durant l'été et l'automne et la tendance s'inverse dès la fin de l'automne et persiste jusqu'à la fin de l'hiver, ce qui correspond au rajeunissement des faisceaux (GIRAUD, 1979). Selon MAZZELLA et OTT (1984) et CAYE (1989b), la proportion des feuilles adultes est directement liée à l'agitation des eaux. En été, en raison du calme des eaux, les feuilles adultes les plus âgées restent longtemps attachées sur les axes, ce qui se traduit par un accroissement de leur nombre. C'est avec les premières tempêtes automnales que la chute des feuilles adultes est amorcée (CAYE, 1982). Ceci est illustré au sein de la station de Kouali où le nombre de feuilles adultes est plus important en automne, contrairement à Bou Ismaïl où la chute est amorcée à cette période, en raison du facteur hydrodynamique, plus marquée dans ce secteur.

#### 4.3.2.2. Longueur des feuilles

Les valeurs enregistrées pour la longueur des feuilles sont du même ordre de grandeur que celles observées en Méditerranée pour des profondeurs similaires (PERGENT et PERGENT-MARTINI, 1988 ; RICO-RAIMONDINO, 1995). Toutefois, les valeurs moyennes enregistrées au sein de la station de Kouali sont significativement plus élevées que celles enregistrées à Bou Ismaïl. La diminution de la longueur des feuilles de *Posidonia oceanica* constitue, pour une large part, une réponse aux actions anthropiques (PERGENT, 1993). A l'instar de ce qui est observé pour l'évolution saisonnière du nombre de feuilles adultes et intermédiaires, un décalage dans le temps est observé pour les valeurs extrêmes. L'évolution saisonnière marquée des longueurs de feuilles est enregistrée par de nombreux auteurs (BOUMAZA, 1995 ; RICO-RAIMONDINO, 1995 ; AMAROUICHE, 2005). La croissance des feuilles est influencé par de nombreux facteurs, la lumière disponible (ZUPO *et al.*, 1997), la température et la concentration en nutriment du milieu (ALCOVERRO *et al.*, 2001). La longueur des feuilles est également contrôlée par des facteurs locaux : la pression de broutage et l'hydrodynamisme.

#### 4.3.2.3. Largeur des feuilles

La largeur des feuilles augmente généralement dans un faisceau de la feuille la plus centrale, rang le plus faible, la plus jeune, à la feuille la plus externe, rang le plus, la plus âgée, élevé et ce quelque soit la saison. Les feuilles adultes sont donc toujours plus larges que les feuilles intermédiaires (THELIN et GIORGI, 1984). Ce paramètre biométrique est traditionnellement considéré comme un des paramètres les plus stables de *Posidonia oceanica*. A ce titre, WITTMANN (1984) le propose comme un intégrateur des conditions du milieu. Les valeurs mesurées au sein des deux stations sont du même ordre de grandeur et sont similaires à celles mesurées dans différentes localités de Méditerranée (PERGENT et PERGENT-MARTINI, 1988 ; RICO-RAIMONDINO, 1995). Toutefois, elles demeurent inférieures à celles mesurées par SEMROUD *et al.* (1992) à la Marsa, ces auteurs proposent ce paramètre comme un critère de discrimination d'une population à feuilles larges.

#### 4.3.2.4. Coefficient A de Giraud

L'état des apex apporte des renseignements, pour un site donné, sur le taux de broutage et sur l'action de l'hydrodynamisme (WITTMANN *et al.*, 1981 ; NEDELEC, 1982 ; ZUPO et FRESI, 1984). Il est plus important au niveau des feuilles adultes par rapport aux intermédiaires, ces dernières sont plus récentes d'une part, et vu leur position à l'intérieur du faisceau d'autre part, par conséquent elles sont mieux protégées de l'action des consommateurs et de l'action de l'hydrodynamisme (BUIA *et al.*, 1985 ; PERGENT et PERGENT-MARTINI, 1988).

Les variations saisonnières du Coefficient A de Giraud sont à mettre en relation avec la couverture épiphytique qui entraîne une consommation accrue par les herbivores, particulièrement au printemps (VERLAQUE, 1987 ; MAZZELLA *et al.*, 1992) et qui fragilise les apex des feuilles de *Posidonia oceanica* (WITTMANN *et al.*, 1981). Au niveau de Kouali le Coefficient A de Giraud des feuilles intermédiaires présente la même tendance saisonnière que celle de la biomasse des épiphytes. Les maxima de ce paramètre des feuilles adultes, notés en fin hiver (mars), indiqueraient en outre l'impact du facteur hydrodynamisme, particulièrement important en automne et en hiver, ce qui entraîne une cassure au niveau des apex de ces feuilles vu leur position à la périphérie du faisceau.

Les fluctuations saisonnières du Coefficient A de Giraud des deux types de feuilles présentent la même tendance au niveau de Kouali alors qu'elles sont moins synchrones à Bou Ismaïl. Les valeurs du Coefficient A de Giraud enregistrées au sein des deux stations

sont cohérentes avec celles observées par SEMROUD (1993), BOUMAZA (1995) et AMAROUCHE (2005).

#### 4.3.2.5. Surface foliaire

La surface foliaire intègre à la fois la longueur, la largeur et le nombre des feuilles par faisceau de chaque type de feuilles considéré (adultes et intermédiaires); c'est un paramètre synthétique de la physionomie de la plante (SILVESTRI, 1993). Les valeurs de surface foliaire relevées dans les deux stations sont du même ordre de grandeur que celles rencontrées pour des profondeurs similaires (PERGENT, 1987 ; RICO-RAIMONDINO, 1995). Les variations saisonnières notées au cours de l'année sont mises en évidence par plusieurs auteurs (SEMROUD, 1993 ; BOUMAZA, 1995 ; RICO-RAIMONDINO, 1995).

#### 4.3.2.6. Biomasse

La biomasse des feuilles et des épiphytes des feuilles présente des variations saisonnières très marquées au niveau des deux stations étudiées. Les grands écarts notés entre le minimum et le maximum des biomasses des feuilles au sein des deux stations, pourrait être attribué au facteur hydrodynamique. Ce facteur qui joue un rôle prépondérant, en provoquant un remaniement continu du sédiment, induit une atténuation des rayons lumineux en profondeur et l'arrachement des feuilles de *Posidonia oceanica*, comme le soulignent MAZZELLA et OTT (1984). La biomasse maximale des feuilles adultes observée en été s'explique par le fait qu'à cette saison les eaux sont plus calmes, il y'a alors persistance des feuilles sénescents sur les rhizomes, et la quantité de la lumière qui pénètre en profondeur est beaucoup plus importante. Comme le montre BAY (1984) dans la baie de Calvi, les valeurs élevées de la biomasse foliaire s'observent toujours en été. En plus des paramètres écologiques (hydrodynamisme) des paramètres biologiques (l'arrêt de la croissance, le broutage par les herbivores et l'épiphytisme) peuvent intervenir également dans la variation saisonnière de la biomasse des feuilles (SEMROUD, 1993).

La variation saisonnière de la biomasse des épiphytes est à mettre en relation avec les changements de la température et de la lumière liés au cycle solaire ainsi que la consommation par les herbivores (ALCOVERRO *et al.*, 1995). Au sein des deux stations étudiées, le maximum et le minimum des biomasses des épiphytes des deux types de feuilles superpose avec ceux de la surface foliaire à l'exception du maximum des épiphytes des feuilles intermédiaires de la station de Bou Ismaïl. La croissance des feuilles conditionne la vie et la croissance des épiphytes (OTT, 1980), en effet, cette dernière est limitée dans le

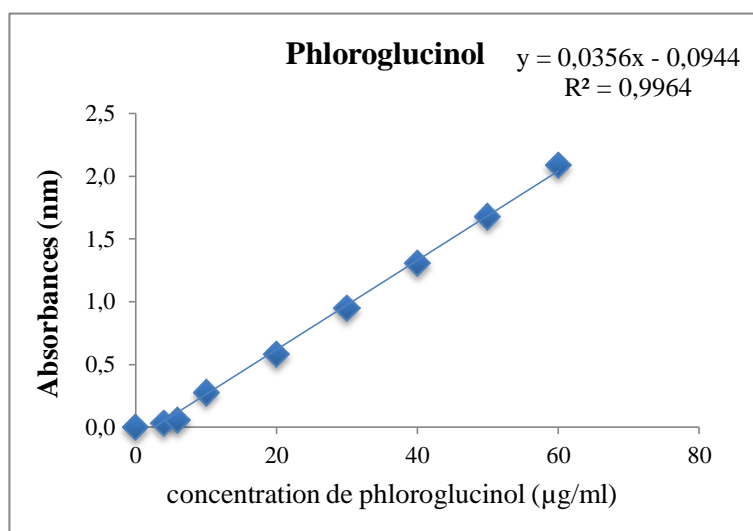
temps car les feuilles sont caduques, elles ont une durée de vie comprise entre 5 et 13 mois (PERGENT et PERGENT-MARTINI, 1990) et se forment et tombent toute l'année (CAYE, 1989b). À l'exception de la valeur de l'été à Bou Ismail, les valeurs de la biomasse des épiphytes des feuilles intermédiaires est relativement faible, du fait leur position à l'intérieur du faisceau. Le pic estivale enregistré dans les deux stations est dû vraisemblablement à une poussé importante de certaines espèces dominantes dressées sur les feuilles longues et anciennes de *Posidonia oceanica* (BEN, 1971 ; PANAYOTIDIS, 1980 ; THELIN et BEDHOMME, 1983 ; CINELLI et al., 1984). La chute des feuilles avec leurs épiphytes est responsable de la diminution rapide et importante de la biomasse des épiphytes des feuilles de *Posidonia oceanica* en automne. Le minimum apparaît à ce moment là et se maintient tout l'hiver (THELIN et BEDHOMME, 1983 ; MAZZELLA et al., 1984). En effet les tempêtes éliminent les feuilles séniles sur lesquelles les épiphytes sont au maximum de leur développement.

#### 4.4. Les composés phénoliques

##### 4.4.1. Validation de la méthode de dosage

Les critères de validation de la méthode utilisée pour la quantification des composés phénoliques chez *Posidonia oceanica* comprennent les seuils de détection (LDM) et de quantification (LQM), la linéarité et la fidélité.

La LDM obtenue est égale à 1,14 µg/ml, la LQM à 3,80 µg/ml avec un ratio de conformité égal à 5,07 et la limite de linéarité est de 60 µg/ml. La réponse est linéaire entre 0 et 60 µg/ml avec un  $R^2$  de 0,996 et une équation :  $y = 0,035x - 0,094$  (Figure 15).



**Figure 15** : Domaines de linéarité obtenus pour le phloroglucinol.

Les paramètres liés à la fidélité de la méthode sont consignés dans le Tableau 5 avec les coefficients de variation (CV) correspondants. Ils dénotent une bonne précision de la méthode de dosage utilisée, dans la mesure où il est inférieur à 20% (*in* SOUMANI, 2007)

**Tableau 5** : Test de fidélité de la méthode avec une probabilité de 95%. IC : intervalle de confiance.

	Valeurs	IC (µg/ml)	CV (%)
<b>Répliquabilité (µg/ml)</b>	5,13	1220,28 - 1228,41	0,58
<b>Répétabilité (µg/ml)</b>	13,46	1664,18 - 1691,11	1,12
<b>Reproductibilité (µg/ml)</b>	9,81	670,74 - 690,37	2,01

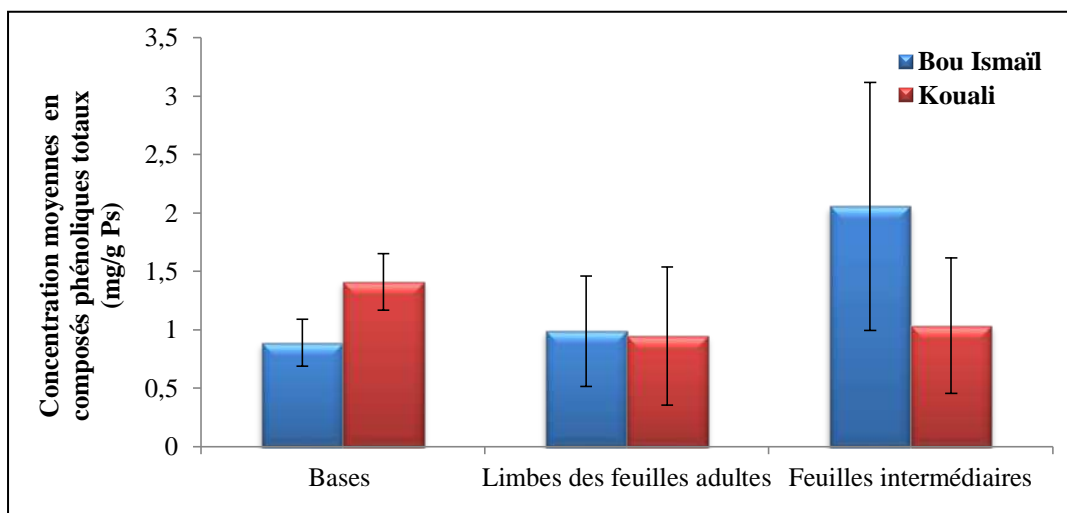
#### 4.4.2. Teneurs de *Posidonia oceanica* en composés phénoliques totaux

Les teneurs moyennes en composés phénoliques totaux enregistrées au niveau des différents tissus de *Posidonia oceanica* sont influencées à la fois par la station et la saison (Tableau 6).

**Tableau 6 :** Résultats de l'ANOVA des concentrations en phénols totaux des différents types de tissu en fonction des types d'interaction.

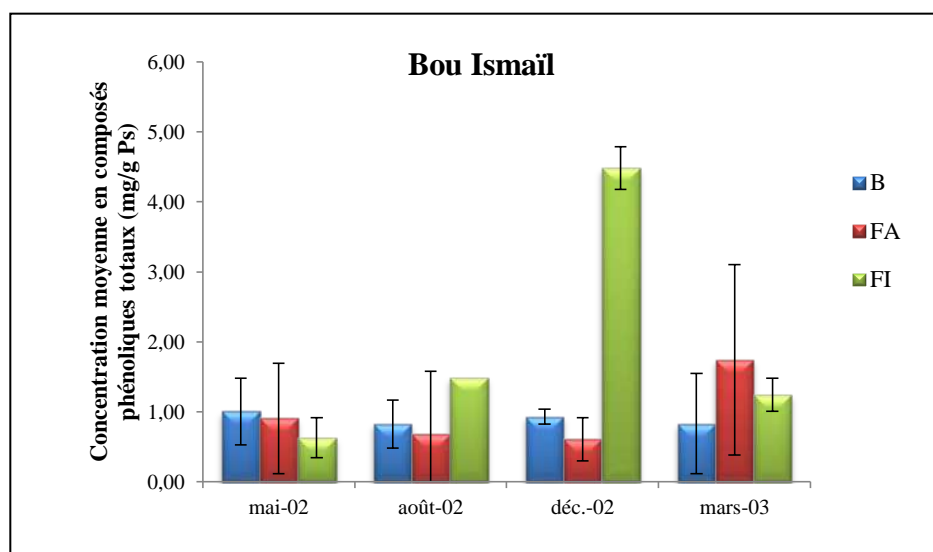
Type de tissus	Facteur d'interaction	F	P
Limbes des feuilles adultes	Saison	1,064	0,390
	Station	0,012	0,912
Feuilles intermédiaires	Saison	35,172	<b>4,993e<sup>-07</sup></b>
	Station	2,575	0,127
Bases	Saison	0,281	0,838
	Station	10,56	<b>0,004</b>

Au sein de la station de Bou Ismaïl, les taux moyens les plus élevés sont mesurés au niveau des feuilles intermédiaires ( $2,05 \pm 1,71$  mg/g Ps), puis des limbes des feuilles adultes ( $1,40 \pm 0,37$  mg/g Ps) et enfin des bases ( $0,98 \pm 0,83$  mg/g Ps). Tandis qu'à Kouali, les bases présentent les teneurs les plus élevées ( $1,02 \pm 0,89$  mg/g Ps) par rapport aux feuilles intermédiaires ( $0,94 \pm 0,90$  mg/g Ps) et aux limbes des feuilles adultes ( $0,89 \pm 0,34$  mg/g Ps) (Figure 16). Toutefois, la variabilité tissulaire n'est significative qu'au sein de la station de Bou Ismaïl entre les feuilles intermédiaires et les bases (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ). Par ailleurs, la comparaison entre les moyennes enregistrées au niveau des différents tissus entre les deux stations ne montre de différence significative que pour les bases (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ).



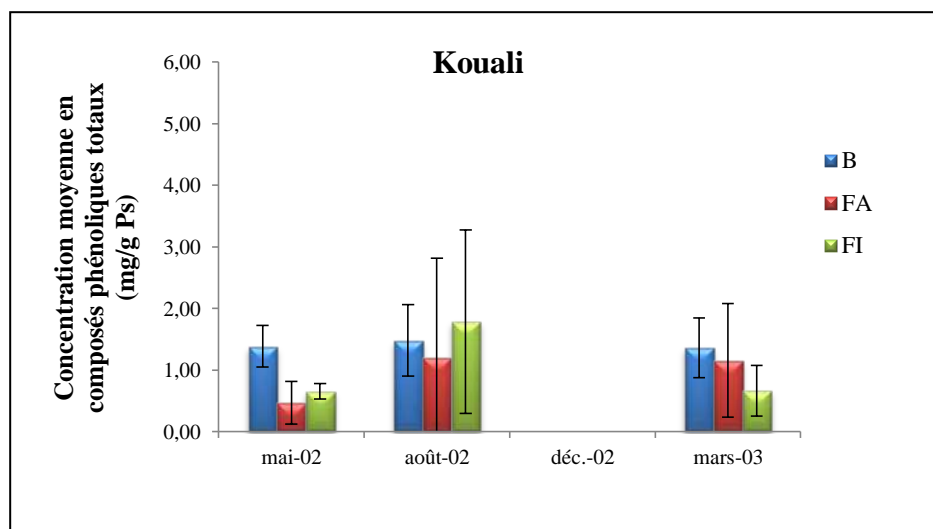
**Figure 16 :** Concentrations moyennes en composés phénoliques totaux (mg/g Ps) des différents tissus de *Posidonia oceanica* dans les deux stations. L'intervalle de confiance à 95% est figuré.

En outre, les teneurs moyennes en composés phénoliques totaux mesurées au niveau des différents tissus de *Posidonia oceanica* montrent des variations saisonnières. Elles ne sont cependant significatives que pour les feuilles intermédiaires au sein de la station de Bou Ismaïl (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ), elles sont maximales en décembre ( $4,48 \pm 0,30$  mg/g Ps) et minimales en mai ( $0,63 \pm 0,28$  mg/g Ps) (Figure 16). Au sein de la même station, les bases présentent une teneur maximale en mai ( $1,01 \pm 0,47$  mg/g Ps) et minimale en août ( $0,83 \pm 0,34$  mg/g Ps), tandis que pour les limbes des feuilles adultes, le maximum est enregistré en mars ( $1,74 \pm 1,36$  mg/g Ps) et le minimum en décembre ( $0,61 \pm 0,31$  mg/g Ps) (Figure 17).



**Figure 17 :** Concentrations moyennes en composés phénoliques totaux (mg/g Ps) dans les bases (B), les limbes des feuilles adultes (FA) et les feuilles intermédiaires (FI) de *Posidonia oceanica* dans la station de Bou Ismaïl. L'intervalle de confiance à 95% est figuré.

Au niveau de la station de Kouali, en l'absence de données pour le mois de décembre, les maxima de concentration sont enregistrés durant le mois d'août pour les trois types de tissu, soit  $1,48 \pm 0,58$  mg/g Ps dans les bases,  $1,21 \pm 1,61$  mg/g Ps dans les limbes des feuilles adultes et  $1,78 \pm 1,49$  mg/g Ps dans les feuilles intermédiaires. Quant au minimum, il est noté durant le mois de mars pour les bases ( $1,36 \pm 0,48$  mg/g Ps) et en mai pour les limbes des feuilles adultes et les feuilles intermédiaires ( $0,47 \pm 0,34$  mg/g Ps et  $0,65 \pm 0,13$  mg/g Ps, respectivement) (Figure 18).



**Figure 18** : Concentrations moyennes en composés phénoliques totaux (mg/g Ps) dans les bases (B), les limbes des feuilles adultes (FA) et les feuilles intermédiaires (FI) de *Posidonia oceanica* dans la station de Kouali. L'intervalle de confiance à 95% est figuré.

#### 4.5. Synthèse des résultats et discussion

Les teneurs moyennes en composés phénoliques totaux mesurées au niveau des différents tissus de *Posidonia oceanica* se situent entre 0,47 mg/g Ps et 4,48 mg/g Ps. Ces valeurs sont comprises dans l'intervalle habituellement rencontré dans la littérature. FERRAT (2001) a relevé, dans le même compartiment, des concentrations en phénols totaux comprises entre 3,16 mg/g et 17,98 mg/g dans un site où *Posidonia oceanica* était en compétition avec *Caulerpa taxifolia*. Quant à LEONI *et al.* (2007), ils ont enregistré des valeurs comprises entre 35 µg/mg et 48 µg/mg dans un site soumis à un enrichissement en nutriments suite à des activités aquacoles. Par ailleurs, VERGEER *et al.* (1995) rapportent chez *Zostera marina* des teneurs d'environ 30 mg/g. L'utilisation d'une autre technique d'analyse qu'est l'HPLC reposant sur la quantification des produits en fonction de leur temps de rétention a permis de mesurer des teneurs en composés phénoliques chez *Posidonia oceanica* comprises entre 16,2 et 40,9 mg/g (AGOSTINI *et al.*, 1998), et DUMAY et PERGENT (2002) notent une valeur moyenne de 0,21 mg/g.

Au sein de la station de Bou Ismaïl, les teneurs moyennes en phénols totaux dans les feuilles intermédiaires sont supérieures à celles enregistrées au niveau des limbes des feuilles adultes. Ceci est en accord avec les résultats obtenus par CARIELLO et ZANETTI (1979) ; AGOSTINI *et al.* (1998) et DUMAY *et al.* (2004) qui constatent que la teneur en composés phénoliques diminue avec l'âge des feuilles chez *Posidonia oceanica*. Il en est de même chez *Zostera marina* (HARRISON, 1982 ; RAVN *et al.*, 1994). CARIELLO et ZANETTI (1979) et DUMAY *et al.* (2004) suggèrent que les composés phénoliques seraient présents dans les feuilles jeunes où le métabolisme est le plus actif, et particulièrement au niveau des parties apicales. Par ailleurs, c'est dans les feuilles – siège de la photosynthèse – que le processus de biosynthèse des composés phénoliques est le plus intense (FERRAT, 2001).

Tandis qu'au niveau de la station de Kouali, ce sont les bases, parties non chlorophylliennes, qui concentrent plus de composés phénoliques que les feuilles. En outre, la teneur moyenne en composés phénoliques des bases est significativement plus importante qu'à Bou Ismaïl. L'origine probable de cette variation est le pouvoir de chélation des phénols avec les métaux lourds (WATREMAN et MOLE 1994). Une étude portant sur le dosage des métaux lourds chez *Posidonia oceanica* au niveau de ces deux sites, réalisée par AMAROUCHE (2005), a révélé des concentrations moyennes en mercure dans les bases à Bou Ismaïl supérieures à celles mesurées à Kouali. FERRAT (2001) a noté la même tendance avec des teneurs dans les bases moins importantes au niveau d'un site soumis à des apports industriels, riches en mercure, que celles mesurées au niveau d'un site de référence. Cet auteur suggère que les composés phénoliques seraient des biomarqueurs négatifs de la qualité des eaux, ou bien ils sont complexés au mercure et deviennent alors indétectables par leur méthode de mesure.

L'étude des variations saisonnières a montré que les concentrations en composés phénoliques totaux ne varient pas de manière significative au niveau des deux stations, à l'exception de celles des feuilles intermédiaires provenant de Bou Ismaïl. Selon les données de la littérature, ces variations peuvent être soit significatives pour l'ensemble des tissus de *Posidonia oceanica* (FERRAT, 2001), ou bien seulement pour les feuilles adultes (DUMAY *et al.*, 2004) ; enfin, certains auteurs n'observent pas de variations significatives au cours de l'année (AGOSTINI *et al.*, 1998). RAGAN et GLOMBITZA (1986) suggèrent que les variations saisonnières des teneurs en composés phénoliques seraient plus fortement corrélées avec les paramètres environnementaux locaux, régionaux, qu'avec les mois de l'année eux-mêmes. Quant à VERGEER *et al.* (1995), ils lient ces variations saisonnières aux variations de la température : les teneurs en composés phénoliques baissent lorsque les

températures sont élevées. Le pic hivernal enregistré dans les feuilles intermédiaires au sein de la station de Bou Ismaïl est également noté au niveau des stations superficielles au sein de ces deux sites (BOUMAZA, sous-presse). Ces résultats sont en accord avec ceux relevés par FERRAT (2001), DUMAY *et al.* (2004) qui enregistrent des teneurs en composés phénoliques élevées en automne/hiver au niveau des feuilles et des bases. En effet, le cycle annuel de *Posidonia oceanica* est caractérisé par une période automne/hiver durant laquelle l'azote disponible excède la demande nécessaire à la croissance ; il en résulte un stockage, dans les tissus, des réserves superflues, comme les métabolites secondaires (INVERS *et al.*, 2002). Tandis qu'à la période printemps/été, la demande excède la disponibilité de l'azote dans le milieu, d'où une mobilisation des réserves (ALCOVERRO *et al.*, 1995 ; 2001 ; INVERS *et al.*, 2004). Par ailleurs, en termes de stratégie d'allocation d'énergie, au printemps et en été, les plantes allouent plus d'énergie pour la croissance et de ce fait moins pour la synthèse de métabolites secondaires (YATES et PECKOL, 1993). Quant à RAVN *et al.* (1994) et RAVN *et al.* (1989), ils ont noté une concentration élevée en composés phénoliques en hiver chez *Zostera marina* et l'expliquent par l'action de l'hydrodynamisme importante en cette période de l'année, qui induit des dommages physiques aux feuilles.

Par ailleurs, la biosynthèse des composés phénoliques, sur un cycle annuel, ne semble pas induite par l'épiphytisme des feuilles ou par le broutage. La teneur en phénols totaux des limbes des feuilles adultes et intermédiaires est corrélée de façon négative à la biomasse des épiphytes et au Coefficient A de Giraud (BOUMAZA, sous presse). En effet, les teneurs les plus élevées en phénols totaux enregistrées au niveau des différents types de feuilles correspondent aux feuilles les moins épiphytées et les moins broutées. Il apparaît donc que les composés phénoliques joueraient un rôle dans la défense chimique de *Posidonia oceanica* contre les brouteurs et les épiphytes. Par ailleurs, HEMMI *et al.* (2005) et LEONI *et al.* (2007) précisent que l'augmentation de la biomasse des épiphytes suite au processus d'eutrophisation, en termes d'enrichissement nutritif, n'a pas un effet direct sur la production des composés phénoliques. En outre, selon KORPINEN *et al.* (2007), l'envahissement des feuilles par les épiphytes induit une diminution de l'intensité lumineuse à la surface des feuilles et donc de la photosynthèse. Les concentrations en carbohydrates diminuent et par conséquent celles des composés phénoliques également, dans la mesure où les carbohydrates sont à l'origine de leur synthèse (WATERMAN et MOLE, 1994).

Le rôle des composés phénoliques dans la lutte des végétaux marins contre les herbivores est ambigu : certains auteurs démontrent que les composés phénoliques sont des composés de

défense contre le broutage (VAN ALSTYNE, 1988 ; YATES et PECKOL, 1993 ; PAVIA *et al.*, 1997 ; STIGER *et al.*, 2004) alors que ce rôle est controversé par d'autres (STEINBERG, 1984 ; 1985 ; STEINBERG *et al.*, 1991 ; ARNOLD *et al.*, 2008). Le rôle des composés phénoliques dans la lutte contre l'épiphytisme est également discuté (RAGAN et GAMBITZA, 1986 ; KORPINEN *et al.*, 2007).

*Conclusion*

## Conclusion

Cette étude comporte deux approches complémentaires : l'évaluation des paramètres de vitalité de *Posidonia oceanica* et la quantification des composés phénoliques totaux au niveau de différents compartiments de la plante. Pour ce faire, deux sites présentant des conditions environnementales différentes ont été choisis : Bou Ismail, site sensible, et Kouali, site de référence. Deux stations situées en limite inférieure, correspondant à l'extension bathymétrique maximale des herbiers à *Posidonia oceanica*, sont désignées pour mener cette étude sur un cycle annuel.

Les résultats obtenus montrent que l'ensemble des variations enregistrées au niveau des paramètres liés à la biométrie foliaire sont influencés à la fois par le facteur saison et le facteur site. Les longueurs des feuilles adultes et intermédiaires enregistrent une diminution significative au sein de la station de Bou Ismail. En effet, ce paramètre constitue une réponse aux actions anthropiques et a déjà été signalé dans différentes localités soumises à des pressions anthropiques en Méditerranée (PERGENT, 1993 ; DUMAY et PERGENT, 2002 ; LEONI *et al.*, 2006). Au sein de la station de Bou Ismail, l'impact de l'enrichissement sur le développement des épiphytes est principalement observé en été sur les feuilles intermédiaires, résultats déjà observés dans des herbiers soumis à des apports anthropiques (DELGADO *et al.*, 1999 ; CANCEMI *et al.*, 2003). Par ailleurs, le nombre et la largeur des feuilles intermédiaires durant la saison estivale est plus élevé que celui enregistré à Kouali à la même période, il pourrait constituer une réponse adaptative de la plante visant à augmenter sa surface photosynthétique selon DALLA VIA *et al.* (1998). Ces résultats indiquent une perturbation du système au sein de la station de Bou Ismail, probablement de type enrichissement en nutriments et/ou une diminution de l'irradiation, comme le suggèrent LEONI *et al.* (2007).

La teneur moyenne en composés phénoliques enregistrée dans les bases à Bou Ismail est significativement inférieure à celle mesurée à Kouali. FERRAT (2001) a noté le même résultat au niveau d'un site soumis à des apports industriels riches en mercure ; elle émet deux hypothèses : soit les composés phénoliques sont affectés par la contamination par les métaux lourds et seraient des biomarqueurs négatifs de la qualité des eaux, soit ils sont chélatés aux métaux et deviennent indétectables par la méthode de mesure utilisée. Les teneurs faibles en composés phénoliques traduiraient donc l'implication de ces composés dans la protection de la plante contre les métaux. Quant aux variations saisonnières de la biosynthèse des composés phénoliques, elles ne semblent pas induites par un broutage ou un

développement en épiphytes important au niveau des feuilles, dans la mesure où ces deux paramètres sont corrélés de façon négative aux concentrations en phénols totaux. Les teneurs maximales notées en automne/début hiver correspondent à une période où le rythme de croissance de *Posidonia oceanica* est faible, par conséquent la plante alloue plus d'énergie à la synthèse des composés phénoliques. Par contre durant la période printemps/été, le rythme de croissance est plus important, ce qui induit une mobilisation des ressources existantes ; les composés phénoliques ne sont donc plus utilisés pour la défense mais pour la croissance. La régulation de la synthèse des composés phénoliques peut être mise en relation avec des facteurs internes (cycle de croissance, reproduction, développement) ou externes (hydrodynamisme, température, lumière) (RAVN *et al.*, 1994 ; MACHEIX, 1996 ).

Les informations apportées par les descripteurs morphologiques de *Posidonia oceanica*, et plus particulièrement la longueur des feuilles et la biomasse épiphytique, semblent constituer de bons indicateurs de l'enrichissement en nutriments du milieu. Le recours à un descripteur physiologique, en l'occurrence le dosage des composés phénoliques, a permis de mettre en évidence l'impact de l'enrichissement du milieu sur la teneur en composés phénoliques durant la saison hivernale. Ce résultat est en concordance avec celui obtenu par LEONI *et al.* (2007) dans une étude basée sur un enrichissement artificiel du milieu. Il se pourrait que la réaction de *Posidonia oceanica* aux perturbations du milieu se manifeste par l'augmentation des tannins condensés (CUNY *et al.*, 1994), sans que cela puisse être mis en évidence par le protocole d'extraction utilisé dans cette étude. En effet, l'augmentation du nombre de cellules à tannin est considérée comme étant un indicateur de stress de la plante, il augmente dans les zones polluées (PERGENT, 1988) et dans les herbiers envahis par *Caulerpa taxifolia* (DE VILLELE et VERLAQUE, 1995 et DUMAY *et al.*, 2004).

Enfin, au regard de la variété des composés phénoliques produits par *Posidonia oceanica*, la prise en compte d'une classe de composés peut dévoiler une réponse spécifique à un type d'influence, mais cette réponse sera probablement masquée si les composés phénoliques sont considérés dans leur totalité. Une étude plus approfondie des composés phénoliques, qu'ils soient simples ou complexes, hydrosolubles ou non, et la prise en compte d'une classe de composés permettraient peut-être de connaître l'implication de certains d'entre eux dans les mécanismes de réponse à un type de stress précis (FERRAT, 2001 ; CANNAC *et al.*, 2006 ; LEONI *et al.*, 2007).

Il est évident que les résultats de cette étude sont préliminaires, néanmoins, ils laissent entrevoir la complexité des phénomènes régissant les réponses de *Posidonia oceanica* aux

perturbations du milieu. Une étude similaire au niveau des limites supérieures des herbiers à *Posidonia oceanica* de Kouali et de Bou Ismaïl, actuellement en cours de réalisation, permettra de préciser si les actions anthropiques identifiées sur le littoral de Bou Ismaïl affectent les herbiers de façon plus importante au niveau de cette limite (BOUMAZA, sous presse).

Quoi qu'il en soit, l'herbier à *Posidonia oceanica* de Bou Ismaïl présente au niveau de sa limite inférieure une bonne vitalité au regard de l'ensemble des paramètres phénologiques mesurés et des teneurs en composés phénoliques totaux mesurés, dont les valeurs sont du même ordre de grandeur que celles obtenues à Kouali (site de référence). Néanmoins, les résultats du suivi de la limite inférieure de l'herbier de Bou Ismaïl, réalisée en juillet 2010 (KHAZIMI, 2010) montrent un recul de cette limite, imputable essentiellement à l'action de l'hydrodynamisme enregistrée au niveau de ce secteur. Par ailleurs, cette étude confirme l'effet de l'enrichissement du milieu en termes de biomasse des épiphytes, plus important en 2010 comparativement à 2002. Par ailleurs, la densité de l'herbier enregistrée en 2010 est significativement inférieure à celle de 2002. La confrontation de ces différents descripteurs confirme le caractère vulnérable de l'herbier à *Posidonia oceanica* de Bou Ismaïl, et plus particulièrement au niveau de sa limite inférieure.

# Références Bibliographiques

## Références bibliographiques

- AGOSTINI S., DESJOBERT J.M., PERGENT G., 1998.** Distribution of phenolic compounds in the seagrass *Posidonia oceanica*. *Phytochemistry*, 48(4): 611-617.
- ALCOVERRO T., CERBIAN E., BALLESTEROS E., 2001.** The photosynthetic capacity of the seagrass *Posidonia oceanica*: influence of nitrogen and light. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 261: 107-120.
- ALCOVERRO T., DUARTE C.M., ROMERO J., 1995.** Annual growth dynamics of *Posidonia oceanica*: contribution of large-scale versus local factors to seasonality. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 130: 203-210.
- AMAROUCHE N., 2005.** Contribution à l'étude de l'accumulation et de la mémorisation des métaux traces (Hg, Zn, Cu) par *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile dans la baie de Bou Ismail. Thèse de Magister, USTHB., Alger : 1-140.
- ANDERSON R.J., VELMIROV B., 1982.** An experimental investigation of palatability of kelp bed alga to the sea urchin *Parechinus angulosus* Leske. *Mar. Ecol.*, 3(4): 357-373.
- ARNOLD T.M., TARGETT N.M., 2002.** Marine tannins: the importance of a mechanistic framework for predicting ecological roles. *Journal of Chemical Ecology*. 28: 1919-1934.
- ARNOLD T.M., TANNER C.E., ROTHEN M., BULLINGTON J., 2008.** Wound-induced accumulations of condensed tannins in turtlegrass, *Thalassia testudinum*. *Aquat., Bot.*, 89: 27-33.
- ASTIER J.M., TAILLIEZ P., 1984.** Pour un plant d'occupation des fond marins : inventaire des herbiers de posidonies du littoral du Var. *Ann. Soc. Sci. Nat. Archéol. Toulon et Var*, 36 : 35-46.
- AUGIER H., 1985.** L'herbier à *Posidonia oceanica*, son importance pour le littoral méditerranéen, sa valeur comme indicateur biologique de l'état de santé de la mer, son utilisation dans la surveillance du milieu, les bilans écologiques et les études d'impact. *Vie marine*, 7 : 85-113.
- AUGIER H., BOUDOURESQUE C.F., 1970.** Végétation marine de l'île de Port-cros (Parc national). V : la baie de Port-Man et le problème de la régression de l'herbier de Posidonies. *Bull.Mus. Hist. Nat. Marseille*, 30 : 135-164.
- AUGIER H., CRISTIANI G., 1984.** Indice foliaire et biomasse de l'herbier de Posidonie de la zone de Carry Sausset (Côte Bleue, Bouches-du Rhône, France). *International Workshop Posidonia oceanica Beds Boudouresque C.F., Jeudy de Grissac A. et Olivier J. Edit., GIS Posidonie publ., Fr.*, 1: 245-254.
- AUGIER H., RAMONDA G., GIGLIO Y., TAGLIONI F., 1987.** Pollution métallique et herbier à *Posidonia oceanica*. Echantillonnage et reproductibilité des mesures. *Group. Rech. Biol. Ecol. Nuis. Gest Ocean. et GIS Posidonies Edit., Faculté des sciences de Marseille-Luminy, Fr.*, 1-27.
- AVON M., PERGENT-MARTINI C., CIAPETTI N., 1991.** Naphtachimie – Anse d'Auguette : évaluation de l'impact des rejets liquides sur le milieu marin. Audit de l'Environnement. High-Tech Environnement, Marseille : 1-82 + annexes.
- BALESTRI E., PIAZZI L., CINELLI F., 1998.** In vitro germination and seedling development of *Posidonia oceanica*. *Aquat. Bot.*, 60 : 83-93.
- BAY D., 1978.** Etude "in situ" de la production primaire d'un herbier de Posidonie (*Posidonia oceanica* (L.) Delile) de la baie de Calvi, Corse. *Progr. Rép. Stn. Océanogr. Stareso*, Univ. Liège, Belg., 18 : 1-251 + 6p non num.
- BAY D., 1979.** Etude "in situ" de la production primaire d'un herbier de Posidonies *Posidonia oceanica* (L.) Delile dans la baie de Calvi, Corse. *Rapp. P.V. Réunion. Commiss. internation. Explor. Sci. Médit.*, Monaco, 25-26 (4): 201-202.
- BAY D., 1984.** A field study of the growth dynamics and productivity of *Posidonia oceanica* (L.) Delile in Calvi Bay, Corsica. *Aquat. Bot.*, 20: 43-64.

- BEN D. Van der, 1971.** Les épiphytes des feuilles de *Posidonia oceanica* Delile sur les côtes françaises de la Méditerranée. *Mém. Inst. Rech. Sci. Nat. Belgique*, Belg., 168 : 1-101.
- BOUDOURESQUE, C.F., 2006.** Les herbiers à *Posidonia oceanica*. In : Préservation et conservation des herbiers à *Posidonia oceanica*. Boudouresque, C.F., Bernard, G., Bonhomme, P., Charbonnel, E., Diviacco, G., Meinesz, A., Pergent, G., Pergent-Martini, C., Ruitton, S., Tunesi, L., Edit., RAMOGE pub., France, 10-24.
- BOUDOURESQUE, C.F., BERNARD, G., BONHOMME, P., CHARBONNEL, E., DIVIACCO, G., MEINESZ, A., PERGENT, G., PERGENT-MARTINI, C., RUITTON, S., TUNESI, L., 2006.** Préservation et conservation des herbiers à *Posidonia oceanica*. Edit., RAMOGE pub., France, 204p.
- BOUDOURESQUE C.F., GIRAUD G., PANAYOTIDIS P., 1980.** Végétation marine de l'île de Port-Cros (Parc national. XIX) : mise en place d'un transect permanent. *Trav. Sci. Parc nation. Port-Cros* : 207-221.
- BOUDOURESQUE C.F., JEUDY DE GRISSAC A., 1983.** L'herbier à *Posidonia oceanica* : les interactions entre la plante et le sédiment. *J. Rech. Océanogr.*, 8 (99) : 122.
- BOUDOURESQUE, C.F., MEINESZ, A., 1982.** Découverte de l'herbier de Posidonie. *Cahiers du Parc national de Port-Cros*, 4 : 1-79.
- BOUDOURESQUE C.F., PERGENT G., FRANCOUR P., HARMELIN-VIVIEN M., JANGOUX M., MAZZELLA L., PANAYOTIDIS P., PERGENT-MARTINI C., RAMOS-ESPLA R., ROMERO J., SCOPIONE M.B., 1990.** Le COST 647. *Posidonia Project. Newsletter*, Fr., 3 (2) : 27-34.
- BOUMAZA S., 1995.** *Pénologie, biomasse, lépidochronologie et production primaire de l'herbier à Posidonia oceanica (L.) Delile de l'anse de Kouâli, Tipaza (Algérie)*. Thèse de Magister en océanologie, ISMAL, Alger : 1-125 + annexes.
- BOUMAZA S., SEMROUD R., 2000.** Evaluation of past and present primary production in *Posidonia oceanica* beds from the cove of Kouâli (Tipaza, Algeria) using the lepidochronological method. *Biol. Mar., Médit.*, 7 (2) : 26-30.
- BUIA M.C., CORMACI M., FURNARI G., MAZZELLA L., 1985.** Osservazione sulla struttura delle praterie di *Posidonia oceanica* (L.) Delile di Capo Passero (Siracusa) e studio della macroflora epifita delle foglie. *Boll. Accad. Gioenia Sci. Nat. Catania, Ital.*, 463-484.
- BUIA M.C., GAMBI M.C., ZUPO V., 2000.** Structure and functioning of mediterranean seagrass ecosystems: an overview. *Biol. Mar. Medit.*, 7 (2) : 167-190.
- BRAÏK D., 1989.** *Etude de la dynamique sédimentaire devant Bou Ismaïl: sédimentologie, morphologie, problème d'érosion du littoral, aménagement*. Thèse de Magistère, Inst. Sci. De la terre. USTHB., Alger, 1-174.
- BRIX H., LYNGBY J.E., SCHIERUP H.H., 1983.** Eelgrass (*Zostera marina* (L.)) as an indicator organism of trace metals in the Limfjord, Denmark. *Marine Environmental Research*, 8: 165-181.
- CANCEMI G., DE FALCO G., PERGENT G., 2003.** Effects of organic matter input from a fish farming facility on a *Posidonia oceanica* meadow. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 56 : 961-968.
- CANCEMI G., VILLEDIEU S., PERGENT-MARTINI C., 1998.** Relation entre les niveaux en nutriments et la biomasse des épiphytes dans un herbier à *Posidonia oceanica*. *Rapp. Comm. Int. Mer. Médit.*, 35 : 526-527.
- CANNAC M., FERRAT L., PERGENT-MARTINI C., PERGENT G., PASQUALINI V., 2006.** Effects of fish farming on flavonoids in *Posidonia oceanica*. *Science of the Total Environment*, 370: 91-98.
- CARIELLO L., ZANETTI L., 1979.** Distribution of chicoric acid during leaf development of *Posidonia oceanica*. *Bot. Mar.*, XXII: 359-360.

- CARIELLO L., ZANETTI L., DE STEFANO S., 1979.** POSIDONIA ECOSYSTEM-V. Phenolic compounds from marine phanerogames, *Cymodocea nodosa* and *Posidonia oceanica*. *Biochem. Physiol.*, 628: 159-161.
- CAYE G., 1980.** Analyse du polymorphisme caulinaire chez *Posidonia oceanica* (L.) Delile. (2) *Bull. Soc. Bot. Fr. Lett. Bot.*, 127 (3): 257-262.
- CAYE G., 1982.** Etude sur la croissance de la Posidonie, *Posidonia oceanica* (L.) Delile, formation des feuilles et croissances des tiges au cours d'une année. *Thétys, Fr.*, 10 (3) : 229-235.
- CAYE G., 1989a.** Mise en évidence d'un polymorphisme sur les jeunes plants de *Posidonia oceanica*. *International workshop on Posidonia oceanica Beds*. Boudouresque C.F., Meinesz A., Fresi E. et Gravez V. Edit., GIS Posidonie publ., Fr., 2 : 77-84.
- CAYE G., 1989b.** Sur la morphogenèse, le cycle végétatif et la reproduction de deux phanérogames: *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile et *Cymonodocea nodosa* (Ucria) Ascherson. Thèse d'habilitation à diriger des recherches, Univ. Nice, Fr., 1-229.
- CAYE G., MEINESZ A., 1984.** Observation sur la floraison et la fructification de *Posidonia oceanica* dans la baie de Villefranche et en Corse du Sud. *First International Workshop on Posidonia oceanica Beds*, Boudouresque C.F., Jeudy De Grissac A et Olivier J. Edit., GIS Posidonie publ., Fr., 1: 193-201.
- CEAEQ (Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec), 2009.** Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie, programme d'accréditation des laboratoires d'analyse. DR-12-VMC. 30p.
- CINELLI F., CORMACI M., FURNARI G., MAZZELLA L., 1984.** Epiphytic macroflora of *Posidonia oceanica* (L.) Delile leaves around the island of Ischia (Gulf of Naples). *International Workshop Posidonia oceanica Beds*, Boudouresque C.F., Jeudy de Grissac A. et Olivier J. Edit., GIS Posidonie publ., Fr., 1 : 91-99.
- COSTANZA R., ARGE R., DE GROOT R., FARBER S., GRASSO M., HANNON B., LIMBURG K., NAEEM S., O'NEILL 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.
- CUNY P., SERVE L., JUPIN H., BOUDOURESQUE C.F., 1994.** Les composés phénoliques hydrosolubles de *Posidonia oceanica* (phanérogame marine) dans une zone colonisée par la chlorophyte introduite *Caulerpa taxifolia* (Alpes Maritime, France, Méditerranée). *First International Workshop on Caulerpa taxifolia*. Boudouresque C.F., Meinesz A. et Gravez V. Edit., GIS Posidonie publ., Fr., 355-364.
- CUNY P., SERVE L., JUPIN H., BOUDOURESQUE C.F., 1995.** Water soluble phenolic compounds of the marine phanerogam *Posidonia oceanica* in Mediterranean area colonised by the introduced chlorophyte *Caulerpa taxifolia*. *Aquat Bot.*, 52: 237-242.
- DAGNELIE P., 1975.** Théorie et méthodes statistiques : applications agronomiques (vol 2.). Les presses agronomiques de Gomblox publ., Belg., 1-463.
- DALLA VIA J., STURMBAUER C., SCHÖNWEGER G., SÖTZ E., MATHEKOWITSCH S., STIFTER M., REIGER R., 1998.** Light gradients and meadow structure in *Posidonia oceanica*: ecomorphological and functional correlates. *Mar. Ecol. Progr. Series*, 163: 267-278.
- DELGADO O., RUIZ J., PEREZ M., ROMERO J., BALLESTEROS E., 1999.** Effects of fish farming on seagrass (*Posidonia oceanica*) in a Mediterranean bay: seagrass decline after organic loading cessation. *Oceanol. Acta.*, Fr., 22 (1): 109-117.
- DEN HARTOG C., 1970.** The sea-grasses of the world. North Holland publ. Co, Amsterdam, Pays-Bas: 1-275 + 63 pl. h.t.

- DE VILLELE X., VERLAQUE M., 1995.** Changes and degradation in a *Posidonia oceanica* bed invaded by the introduced tropical alga *Caulerpa taxifolia* in the north western Mediterranean. *Bot. Mar.*, 38 (1): 79-87.
- DREW E.A., 1971.** Botany. Underwater science. An introduction to experiments by divers. Woods & Lithogoe Edit., London: 1-59.
- DUMAY O., COSTA J., DESJOBERT J.M., PERGENT G., 2004.** Variations in the concentration of phenolic compounds in the seagrass *Posidonia oceanica* under conditions of competition. *Phytochemistry*, 65: 3211-3220.
- DUMAY O., FERNANDEZ C., PERGENT G., 2002.** Primary production and vegetative cycle in *Posidonia oceanica* when in competition with the green algae *Caulerpa taxifolia* and *Caulerpa racemosa*. *J. Mar. Biol. Ass. UK.*, 82 : 379-387.
- DUMAY O., PERGENT G., 2002.** Strategies d'interaction entre la magnoliophyte indigène *Posidonia oceanica* et les bryopsydophytes invasives *Caulerpa racemosa* et *Caulerpa taxifolia* Congrès International Environnement et Identité en Méditerranée. Univ. de Corse Pascal-Paoli., 4 : 196-213.
- FERRAT L., 2001.** Réactions de la magnoliophyte marine *Posidonia oceanica* en réponse à des stress environnementaux. Thèse de Doct. Ecol. Mar. Univ. Corse. 1-187.
- FERRAT L., FERNANDEZ C., DUMAY O., 2001.** Analyses of the phenolic compounds in *Posidonia oceanica* from sites colonized *Caulerpa taxifolia*. *Fourth International Workshop on Caulerpa taxifolia*. Gravez V., Ruitton S., Boudouresque C.F., Ledreac'h L., Meinesz A., Scabbia G et Verlaque M. Edit. GIS Posidonie publ. Fr., 185-194.
- FERRAT L., PERGENT-MARTINI C., ROMEO M., 2003.** Assessment of the use of biomarkers in aquatic plants for the evaluation of environmental quality : application to seagrasses. *Aquatic Toxicology*, 65 : 187-204.
- FRANCOUR P., 1990.** Dynamique de l'écosystème à *Posidonia oceanica* dans le Parc national de Port-Cros. Analyse des compartiments mat, litière, faune vagile, échinodermes et poissons. Thèse Doct. océanol., Univ. P. et M. Curie, Paris, Fr., 1-32.
- FRANCOUR P., 2000.** Evolution spatio-temporelle à long terme des peuplements de poissons des herbiers à *Posidonia oceanica* de la réserve naturelle de Scandola (Corse, Méditerranée Nord-Occidentale). *Cybium*. 24 (3): 85-95.
- FRANKIGNOULLE M., DISTECHE A., 1984.** CO<sub>2</sub>(sub) chemistry in the water column above a *Posidonia* seagrass bed and related air-sea exchanges. *Oceanol. Acta*, Fr., 7 (2): 209-218.
- FRONTIER S., 1981.** Méthode statistique. Applications à la biologie, la médecine et à l'écologie. Collection Abrégés, Mosson edit. Fr., 1-246.
- GIRAUD G., 1977a.** Recensement des floraisons de *Posidonia oceanica* (L.) Delile en Méditerranée. *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, Monaco, 24 (4) : 126-130.
- GIRAUD G., 1977b.** Essai de classement des herbiers de *Posidonia oceanica* (Linné) Delile. *Botanica Marina*, 20 (8): 487-491.
- GIRAUD G., 1979.** Sur une méthode de mesure et de comptage des structures foliaires de *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile. *Bull. Mus. Hist. Nat. Marseille (France)*, T. XXXIX : 33-39.
- GOBERT S., CAMBRIDGE M.L., VELIMIROV B., PERGENT G., LEPOINT G., BOUQUEGNEAU J.M., DAUBY P., PERGENT-MARTINI C., WALKER D.I., 2006.** Biology of *Posidonia*. Seagrasses : Biology, Ecology and conservation (eds.): 387-408.
- GRENIER C., 1860.** Recherches sur le *Posidonia caulini* Koenig. *Bull. Soc. bot. Fr.*, 7 (5-6): 448-456.

- HAMOUL N., MOKEDDEM Z., 2002.** Contribution à l'étude de de la variation des teneurs en phénol totaux chez la phanérogame marine *Posidonia oceanica* (L.) Delile. Mémoire DEUA. Benthos. ISMAL, Alger: 50p.
- HARBORNE J.B., 1983.** Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analyses. 2<sup>nd</sup> Edit. 99p.
- HARME LIN-VIVIEN M.L., FRANCOUR P., 1992.** Trawling or visual censuses? Methodological bias in the assessment of fish populations in seagrass beds. *Marine Ecology*, P S Z N I 13 (1): 41-51.
- HARRISON P.G., 1982.** Control of microbial growth and amphipod grazing by water-soluble compounds from the leaves of *Zostera marina*. *Mer. Biol.*, 67: 225-230.
- HARRISON P.G., CHAN A.T., 1980.** Inhibition of the growth of micro-algae and bacteria by extracts of eelgrass (*Zostera marina*) leaves. *Mar. Biol.*, 61: 21-26.
- HEMMI A., MÄKINEN A., JORMALAINEN V., HONKANEN T., 2005.** Responses of growth and phlorotannins in *Fucus vesiculosus* to nutrient enrichment and herbivory. *Aquat Ecol.*, 39: 201–211.
- HENRY B.E., VAN ALSTYNE K.L., 2004.** Effects of UV radiation on growth and phlorotannins in *Fucus gardneri* (phaeophyceae) juveniles and embryos. *J. Phycol.*, 40: 527–533.
- INVERS O., PEREZ M., ROMERO J., 2002.** Seasonal nitrogen speciation in temperate seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 273: 219–240.
- INVERS O., KRAEMER G.P., PEREZ M., ROMERO J., 2004.** Effects of nitrogen addition on nitrogen metabolism and carbon reserves in the temperate seagrass *Posidonia oceanica*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 303 : 97–114.
- JEUDY DE GRISSAC A., BOUDOURESQUE C.F., 1985.** Rôle des herbiers de phanérogames marines dans les mouvements des sédiments côtiers : les herbiers à *Posidonia oceanica*. *Colloq. Fr-Jap. Oceanogr.*, Marseille, Fr., 1 :143-151.
- KHAZIMI O., 2010.** Surveillance de la limite inférieure de l'herbier à *Posidonia oceanica* de Bou Ismail. Mémoire DEUA. ENSSMAL Alger. 63p.
- KOIVIKO R., LOPONEN J., HONKANEN T., JORMALAINEN V. 2005.** Contents of soluble, Cell-Wall-Bound and exuded phlorotannins in the brown alga *Fucus vesiculosus*, with implicationson their ecological functions. *J. Chem. Ecol.*, 31: 195-212.
- KORPINEN S., HONKANEN T., VESAKOSKI O., HEMMI A., KOIVIKKO R., LOPONEN J., JORMALAINEN V., 2007.** Macroalgal Communities Face the Challenge of Changing Biotic Interactions: Review with Focus on the Baltic Sea. *Ambio.*, 36: 2–3.
- KUO J., DEN HARTOG C., 2001.** Seagrass taxonomy and identification key. In “*Global Seagrass Research Methods*”, F.T. Short and Coles (editors): 31-58.
- LAFABRIE C., 2007.** Utilisation de *Posidonia oceanica* (L.) Delile comme bio-indicateur de la contamination métallique. Thèse doct. Unvi. Di Corsica Pasquale Paoli, 1-158.
- LEONI V., PASQUALINI V., PERGENT-MARTINI C., VELA A., PERGENT G., 2006.** Morphological responses of *Posidonia oceanica* to experimental nutrient enrichment of the canopy water. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 339: 1–14.
- LEONI V., PASQUALINI V., PERGENT-MARTINI C., VELA A., PERGENT G., 2007.** Physiological responses of *Posidonia oceanica* to experimental nutrient enrichment of the canopy water. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 339: 1–14.
- LERICHE A., PASQUALINI V., BOUDOURESQUE C.F., BERNARD G., BONHOMME P., CLABAUT P., DENIS J., 2006.** Spatial, temporal and structural variations of a *Posidonia oceanic* seagrass meadow facing human activities. *Aquatic Botany*, 84: 287–293.

- MACHEIX J.J., 1996.** Les composés phénoliques des végétaux : quelles perspectives à la fin du XXème siècle? *Acta Bot. Gallica*, 143(6) : 473-479.
- MACHEIX J.J., FLEURIET A., JAY-ALLEMAND C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, CH-1015. Edit. Lausanne : 192p.
- MA-F-AS1-13-SINVAL, 2005.** Recommandations harmonisées pour la validation des méthodes d'analyse par un seul laboratoire. Recueil des méthodes internationales d'analyses – OIV validation par un seul laboratoire. Rapport Technique. Résolution Oeno 8. 41p.
- MAGGI P., GREUT Y., LASSUS P., 1977.** Influence de la pollution urbaine sur la vitalité des herbiers à Posidonies dans le golf de Giens. *Sci. Pêche marit.*, Fr., 269 : 5-13.
- MARBA N., DUARTE C.M., CEBRIAN J., GALLEGOS M.E., OLESEN B., SAND-JENSEN K., 1996.** Growth and population dynamics of *Posidonia oceanica* on the Spanish Mediterranean coast: elucidating seagrass decline. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 137: 203-213.
- MASERTI B.E., FERRARA R., PATERNO P., 1988.** *Posidonia* as an indicator of mercury contamination. *Marine Pollution Bulletin*, 19: 381-382.
- MATEO M.A., ROMERO J., PEREZ M., LITTLER M.M., LITTLER D.S., 1997.** Dynamics of millenary organic deposits resulting from the growth of the Mediterranean Seagrass *Posidonia oceanica*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 44 (1): 103-110.
- MAZZELLA L., BUIA M., GAMBI M.C., LORENTI M., RUSSO G.F., SCIPIONE M.B., ZUPO V., 1992.** Plant-Animal Interactions in the Marine Benthos. John D.M., Hawkins S.J. et Price J.H. Éds, 46: 165-187.
- MAZZELLA L., GAMBI M.C., RUSSO G.F., BUIA M.C., 1984.** Deep flowering and fruiting of *Posidonia oceanica* Beds around the island of Ischia (Gulf of Naples, Italy). *Frist International Workshop on Posidonia oceanica Beds*, Boudouresque C.F., Jeudy de Grissac A. et Olivier J. edit., GIS Posidonie publ., Fr., 1: 203-209.
- MAZZELLA L., OTT J., 1984.** Seasonal changes in some features of *Posidonia oceanica* (L.) Delile leaves and epiphytes at different depths. *International Workshop on Posidonia oceanica Beds*, Boudouresque C.F., Jeudy de Grissac A. et Olivier J. Edit., GIS Posidonie publ., Fr., 1 : 119-127.
- MAZZELLA L., SCIPIONE M.B., BUIA M.C., 1989.** Spatio-Temporal distribution of algal and animal communities in a *Posidonia oceanica* meadow. *Marine Ecology*, P S Z N I. 10 (2): 107-129.
- MC LACHLAN J., CRAIGIE J.S., 1996.** Antilga activity of simple phenols. *J. Phycol.*, 2: 133-135.
- MEINESZ A., LAURENT R., 1978.** Cartographie et état de la limite inférieure de l'herbier de *Posidonia oceanica* dans les Alpes-Maritimes. Campagne Poséidon 1976. *Botanica Marina*, 21(8) : 513-526.
- MEINESZ A., LEFEVRE J.R., 1984.** Régénération d'un herbier de *Posidonia oceanica* quarante années après sa destruction par une bombe dans la rade de Villefranche (Alpes maritimes, France). *International workshop on Posidonia oceanica Beds*, Boudouresque C.F., Jeudy de Grissac A. et Olivier J. Edit., Gis Posidonie publ., Fr., 1 : 39-44.
- MEYER S., REEB C., BOSDEVEIX R., 2004.** Botanique, biologie et physiologie végétales. Collection Sciences fondamentales. Edit Maloine Paris. 444p.
- MILGIORE L., ROTINI A., RANDAZZO D., ALBANESE N., GIALLONGO A., 2007.** Phenols content and 2-D electrophoresis protein pattern: a promising tool to monitor *Posidonia* meadows health state. *BMC Ecology*. 7 (6) : 1-8.
- MOLINIER R., PICARD J., 1952.** Recherches sur les herbiers de phanérogames marines du littoral méditerranéen français. *Ann. Inst. Océanogr.* Paris, 27: 157-234.

- NEDELEC H., 1982.** *Ethologie alimentaire de Paracentrotus lividus dans la baie de Galéria (Corse) et son impact sur les peuplements phytobenthiques.* Thèse Doct. 3<sup>ème</sup> cycle. océanogr. Biol., Univ. Paris 6, Fr., 1-175.
- OTT J.A., 1980.** Growth and production in *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Mar. Ecol.*, 1: 47-64.
- PAC., 2005.** Lutte contre la pollution liée aux déchets solides – diagnostic – Programme d'Aménagement Côtier (PAC) « Zone Côtière Algéroise ». PAP-PAC. ALG/DS/04-04.
- PANAYOTIDIS P., 1980.** *Contribution à l'étude qualitative et quantitative de l'association Posidonietum oceanicae Funk, 1927.* Thèse 3<sup>ème</sup> cycle, Univ. Aix-Marseille II, Fr., 1-213.
- PANAYOTIDIS P., GIRAUD G., 1981.** Sur un cycle de renouvellement des feuilles de *Posidonia oceanica* (L.) Delile dans le golfe de Marseille. *Vie milieu*, Fr., 31 (2) : 129-136.
- PASQUALINI V., PERGENT-MARTINI C., PERGENT G., 1997.** Mediterranean coastal resources management: the example of the Island of Corsica. In: *Proceedings of the Fourth International Conference: Remote sensing for marine and coastal environments, technology and applications.* Orlando, Florida, USA, 1: 632-640.
- PASQUALINI V., PERGENT-MARTINI C., CLABAUT P., PERGENT G., 1998.** Mapping of *Posidonia oceanica* using Aerial Photographs and Side Scan Sonar: Application off the Island of Corsica (France) *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 47: 359–367.
- PAVIA H., BROCK E., 2000.** Extrinsic factors influencing phlorotannin production in the brown algae *Ascophyllum nodosum*. *Ecology* 81: 3212-3225.
- PAVIA H., CERVIN G., LINDGREN A., ABERG P., 1997.** Effect of UV-B radiation and simulated herbivory on phlorotannins in the brown alga *Ascophyllum nodosum*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 157: 139-146.
- PELLEGRINI L., PELLEGRINI L., 1992.** Fine structural observations of the leaf blade of the marine phanerogam *Posidonia oceanica* (L.) Delile, in relation to leaf development. *Cytobios*, 72: 47-61.
- PELLEGRINI L., PELLEGRINI L., 1993.** Ultrastructural differentiation of the tanniniferous cells in the marine phanerogam *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Bot. Mar.*, 36: 179-187.
- PERGENT G., 1987.** *Recherche lipidochronologiques chez Posidonia oceanica (Potamogetonaceae). Fluctuations des paramètres anatomiques et morphologiques des écailles des rhizomes.* Thèse doct. Océanol., Univ. Aix-Marseille, II : 1-853.
- PERGENT G., 1988.** Variabilité de l'abondance des cellules à tanin dans les écailles de *Posidonia oceanica*. *Rapp. P. V. Réun. Commiss. Internation. Explor. Sci. Médit.*, Monaco, 31 (2) B-19 : 7-7.
- PERGENT G., 1991.** Les indicateurs écologiques de la qualité du milieu marin en Méditerranée. *Oceanis*, 17(4) : 341-350.
- PERGENT G., 1993.** *L'herbier à Posidonia oceanica (L.) Delile : approche structurelle, fonctionnelle et appliquée.* Diplôme d'Habilitation à Diriger des Recherches. Univ., Corte, Corse, 1-158.
- PERGENT G., 2006.** Le rôle des herbiers à *Posidonia oceanica*. In : *Préservation et conservation des herbiers à Posidonia oceanica.* Boudouresque, C.F., Bernard, G., Bonhomme, P., Charbonnel, E., Diviacco, G., Meinesz, A., Pergent, G., Pergent-Martini, C., Ruitton, S., Tunesi, L., Edit., RAMOGE pub, 25-31.
- PERGENT G., MENDEZ S., PERGENT-MARTINI C., PASQUALINI V., 1999.** Preliminary data on the impact of fish farming facilities on *Posidonia oceanica* meadows in the Mediterranean. *Oceanologica*, 22: 195-107.
- PERGENT G., PERGENT-MARTINI C., 1988.** Phénologie de *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile dans le bassin méditerranéen. *Ann. Inst. océanogr.*, 61 (2) : 79-190.
- PERGENT G., PERGENT-MARTINI C., 1990.** Some applications of lepidochronological analysis in the seagrass *Posidonia oceanica*. *Bot. Mar.*, 33 : 299-310.

- PERGENT G., PERGENT-MARTINI C., BOUDOURESQUE C.F., 1995.** Utilisation de l'herbier à *Posidonia oceanica* comme indicateur biologique de la qualité du milieu littoral en Méditerranée : état des connaissances. *Mésogée*, Fr., 54: 3-27.
- PERGENT G., RICO-RAIMONDINO V., PERGENT-MARTINI C., 1997.** Fate of primary production in *Posidonia oceanica* meadows of the Mediterranean. *Aquat. Bot.*, 59: 3-4.
- PERGENT G., ROMERO J., PERGENT-MARTINI C., MATEO M.A., BOUDOURESQUE C.F., 1994.** Primary production, stocks and fluxes in the Mediterranean seagrass *Posidonia oceanica*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 106: 139-146.
- PERGENT-MARTINI C., 1994.** Impact d'un rejet d'eaux usées urbaines sur l'herbier à *Posidonia oceanica* avant et après la mise en service d'une station d'épuration. Thèse Doct. océanol., Univ. Corse, Fr. : 1-190.
- PERGENT-MARTINI C., 1998.** *Posidonia oceanica*: a Biological Indicator of Past and Present Mercury Contamination in the Mediterranean Sea. *Marine Environmental Research*, 45 (2): 101-111.
- PERGENT-MARTINI C., GUERRINI P., 1995.** Concentration of mercury in marine phanerogam *Posidonia oceanica*. Preliminary results. *Rapp. Comm. Int. Mer. Médit.*, 34: 143-143.
- PERGENT-MARTINI C., PERGENT G., 2000.** Marine phanerogames as a tool in the evaluation of marine trace-metal contamination: an exemple from the Mediterranean. *Journal. Environmental. Pollution*. 13 (1-6): 126-147.
- PERGENT-MARTINI C., LEONI V., PASQUALINI V., ARDIZZONE G.D., BALESTRI E., BEDINI R., BELLUSCIO A., BELSHER T., BORG J., BOUDOURESQUE C.F., BOUMAZA S., BOUQUEGNEAU J.M., BUIA M.C., CALVO S., CEBRIAN J., CHARBONNEL E., CINELLI F., COSSU A., DI MAIDA G., DURAL B., FRANCOUR P., GOBERT S., LEPOINT G., MEINESZ A., MOLENAAR H., MANSOUR H.M., PANAYOTIDIS P., PEIRANO A., PERGENT G., PIAZZI L., PIRROTTA M., RELINI G., ROMERO J., SANCHEZ-LIZASO J.L., SEMROUD R., SHEMBRI P., SHILI A., TOMASELLO A., VELIMIROV B., 2005.** Descriptors of *Posidonia oceanica* meadows: Use and application. *Ecological Indicators*, 5: 213-230.
- PNUE-CAR/ASP, 2007.** Lignes directrices pour les études d'impacts sur les herbiers marins. Pergent-Martini C., Le Ravallec C. 54p.
- PNUE-UICN-GIS Posidonie, 1990.** Des végétaux, peuplements et paysages marins menacés de méditerranée. Gerard V., Livre rouge. Rapports 43 sur les aires spécialement protégées (PNUE). Athènes. 247p.
- RAGAN M.A., CRAIGIE J.S., 1978.** Phenolic compounds in brown and red algae. Handbook of phycological methods. J. Helleburst and J.S. Graigie, Eds. Cambridge Univ. Press, Cambridge. Vol., 2: 157-179.
- RAGAN M.A., GLOMBITZA K.W., 1986.** Phlorotannins, brown algal polyphenols. *Progr. Phycol. Res.*, 4: 129-241.
- RAVN H., ANDARY C., KOVACS G., MOLGAARD P., 1989.** Caffeic acid esters as in vitro inhibitors of plant pathogenic bacteria and fungi. *Biochem. Syst. Ecol.*, 17: 175-184.
- RAVN H., PEDERSEN M.F., BORUM J., ANDARY C., ANTHONI U., CHRISTOPHEN C., NIELSEN P.H., 1994.** Seasonal Variation and Distribution of Two Phenolic Compounds, Rosmarinic Acid and Caffeic Acid, in Leaves and Roots-Rhizomes of Eelgrass (*Zostera marina* L). *Ophelia*, 40 (1) : 51-61.
- RIBEREAU-GAYON J., PEYNAUD E., 1968.** Les composés phénoliques des végétaux. Edit. DUNOD, Paris: 1-154.
- RICO-RAIMONDINO V., 1995.** Contribution à l'étude des stocks et flux d'éléments dans les herbiers à *Posidonia oceanica*. Thèse Doctorat en écologie, Univ. Aix-Marseille II, Fr., 1-248.

- ROMERO J., 1989.** Premières données sur la production primaire d'un herbier de *Posidonia oceanica* en Méditerranée occidentale (côtes catalanes). *Rapp. P.V. Commiss. internation. Explor. sci. Médit.*, Monaco, 28 (3) : 129-130.
- ROMERO J., LEE K.S., PÉREZ M., MATEO M.A., ALCOVERRO T., 2006.** Nutrient dynamics in seagrass ecosystems. In: Larkum A, Orth RJ, Duarte CM (eds) *Seagrasses: biology, ecology and conservation*. Springer, Heidelberg.
- ROUESSAC F., ROUESSAC A., 2004.** Analyse chimique : méthodes et techniques instrumentales modernes. 6<sup>e</sup> édition. DUNOD. Col SCIENCES SUP. 462p.
- RUIZ J.M., ROMERO J., 2003.** Effects of disturbances caused by coastal constructions on spatial structure, growth dynamics and photosynthesis of the seagrass *Posidonia oceanica*. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 1523–1533.
- SAUVESTY A., PAGE F., HOUT J., 1992.** A simple method for extracting plant phenolics compounds. *Can. J. For. Res.*, 22: 654-659.
- SCARDI M., FRESI E., ARDIZZONE G.D., 1989.** Cartographic representation of sea-grass beds: application of a stochastic interpolation technique (Kriging). In: *Second International Workshop on Posidonia oceanica Beds*. Boudouresque C.F., Jeudy de Grissac A., Olivier J. (Eds.) GIS Posidonie publ., Fr. 2: 19–27.
- SCHWARTZ D., 1992.** Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Edit. Médecine Sciences Flammarion : 1-306.
- SEMROUD R., 1993.** Contribution à la connaissance de l'écosystème à *Posidonia oceanica* (L.) Delile dans la région d'Alger (Algérie) : étude de quelques compartiments. Thèse de Doctorat. USTHB., Alger: 1-218.
- SEMROUD R., BOUMAZA S., 2007.** Surveillance de la qualité du milieu marin par la mise en place d'un système de surveillance au niveau des limites de l'herbier à *Posidonia oceanica* (L.) Delile : le balisage. *Workshop International sur la Biodiversité et Ecosystèmes Littoraux BEL01*. Univ. Oran Es Senia : 27-29.
- SEMROUD R., VERLAQUE R., CROUZET A., BOUDOURESQUE F.C., 1992.** On a broad-leaved form of the seagrass *Posidonia oceanica* (Posidoniaceae) from Algiers (Algeria). *Aquat. Bot.*, 43: 181-198.
- SEIGLER D.S., 1998.** Plant secondary metabolism. Kluwer Academic Publishers, 1-759.
- SILVESTRI C., 1993.** Studio sinecologico sulla prateria di *Posidonia oceanica* (L.) Delile di Monterosso al mare (SP) : cartografia quali-quantitativa e dinamica stagionale. Tesi, Univ. Roma, Ital., 1-97.
- SINGLETON V.L., ROSSI J.A.Jr., 1965.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.* 16:144-58.
- SHORT F.T., COLES R.G., PERGENT-MARTINI C., 2001.** Global seagrass distribution. In "Global Seagrass Research Methods", F.T. Short and Coles (editors): 5-30.
- STEELE L.T., CALDWELL M., ANNE BOETTCHER A., ARNOLD T., 2005.** Seagrass-pathogen interactions: 'pseudo-induction' of turtlegrass phenolics near wasting disease lesions. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, (303): 123–131.
- STEINBERG P.D., 1984.** Algal chemical defense against herbivores: Allocation of phenolic compounds in the kelp *Alaria marginata*. *Science*, 223: 405-407.
- STEINBERG P.D., 1985.** Feeding preferences of *Tegula funebris* and chemical defenses of marine brown algae. *Ecol. Monographs*, 55 (3): 333-349.
- STEINBERG P.D., EDYVANE K., DE NYS R., BIRDSEY R., VAN ALTENA L.A., 1991.** Lack of avoidance of phenolic-rich brown algae by tropical herbivorous fishes. *Mar. Biol.*, 109: 335-343.

- STIGER V., DESLANDES E., PAYRI C.E., 2004.** Phenolic contents in two brown algae, *Turbinaria ornata* and *Sargassum mangarevense* on Tahiti (French Polynesia): interspecific, ontogenique and spatio temporal. *Bot. Mar.*, 47: 402-409.
- SOUMANI K., 2007.** Mise au point et optimisation d'une méthode d'extraction en phase solide de pesticides présents dans l'eau. Mémoire de magistère. ISMAL, Alger : 52p.
- SWAIN T., 1977.** Secondary compounds as protective agents. *Annu. Rev. plant physiol.*, 28: 479-501.
- TARGETT N.M., ARNOLD T.M., 1998.** Predicting the effects of brown alga phlorotannins on marine herbivores in tropical and temperate oceans. *J. Phycol.*, 34 : 195-205.
- THELIN I., BEDHOMME A.L., 1983.** Biomasse des épiphytes des feuilles de *Posidonia oceanica* dans un herbier superficiel. *Rapp. P.V. Réun. Commiss. internation. Explor. sci. Médit.*, Monaco., 28 (3): 125-126.
- THELIN I., GIORGI J., 1984.** Production de feuilles dans un herbier superficiel à *Posidonia oceanica*, évaluée par une méthode dérivée de la méthode de Zieman. *International Workshop on Posidonia oceanica Beds*, Boudouresque C.F., Jeudy de Grissac A. et Olivier J. Edit., GIS Posidonie publ., 1 : 271-276.
- TUNESI L., BOUDOURESQUE F.C., 2006.** Les causes de la régression des herbiers à *Posidonia oceanica*. In : Préservation et conservation des herbiers à *Posidonia oceanica*. Boudouresque C.F., Bernard G., Bonhomme P., Charbonnel E., Diviacco G., Meinesz A., Pergent, G., Pergent-Martini C., Ruitton S., Tunesi L., Edit., RAMOGE publ., 25-31.
- VAN ALSTYNE K.L., 1988.** Herbivore grazing increases polyphenolic defenses in the intertidal brown *Fucus distichus*. *Ecology*, 69: 655-663.
- VELMIROV B., 1984.** Grazing of *Sarpa salpa* (L.) on *Posidonia oceanic* and utilization of soluble compounds. *International Workshop on Posidonia oceanica Beds*. Boudouresque C.F., Jeudy de Grissac A. et Olivier J. Edit GIS Posidonie publ., Fr., 1: 381-387.
- VERLAQUE M., 1987.** Relations entre *Paracentrotus lividus* (Lamarck) et le phytobenthos de Méditerranée occidentale. *Colloq. Intern. Sur P. lividus et les oursins comestibles*. Boudouresque C.F. Edit., GIS Posidonie publ., Marseille, Fr., 5-36.
- VERLAQUE M., 1990.** Relation entre *Sarpa salpa* (Linnaeus, 1758) (Téléostéen Sparridae), les autres poissons brouteurs et les phytobenthos algal méditerranéen. *Oceanol. Acta.*, 13: 373-388.
- VERGEER L.H.T., AARTS T.L., GROOT J.D., 1995.** The « wasting disease » and the effect of abiotic factors (light intensity, temperature, salinity) and infection with *Labyrinthula zosterae* on the phenolic content of *Zostera marina* shoots. *Aquat. Bot.*, 52: 35-44.
- VERGEER L.H.T., DEVELI A., 1997.** Phenolic acids in healthy and infected leaves of *Zostera marina* and their growth-limiting properties towards *Labyrinthula zosterae*. *Aquat. Bot.*, 58 (1): 65-72.
- VERGES A., BECERRO M.A., ALCOVERRO T., ROMERO J., 2007a.** Variation in multiple traits of vegetative and reproductive seagrass tissues influences plant-herbivore interactions. *Oecologia.*, 151: 675-686.
- VERGES A., BECERRO M.A., ALCOVERRO T., ROMERO J., 2007b.** Experimental evidence of chemical deterrence against multiple herbivores in the seagrass *Posidonia oceanica*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 343: 107-114.
- VERGES A., PEREZ M., ALCOVERRO T., ROMERO J., 2008.** Compensation and resistance to herbivory in seagrasses: induced responses to simulated consumption by fish. *Oecologia.*, 155:751-760.
- VIZZINI S., SARA G., MICHENER R., MAZZOLA A., 2002.** The role and contribution of the seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile organic matter for secondary consumers as revealed by carbon and nitrogen stable isotope analysis. *Acta Oecologica*, 23: 277-285.

- WARD T.J., 1987.** Temporal variation of metals in the seagrass *Posidonia australis* and its potential as a sentinel accumulator near a lead smelter. *Marine Biology*, 95: 315-321.
- WATERMAN P.G., MOLE S., 1994.** Analysis of phenolic plant metabolites. Blackwell Scientific Publications: Oxford, Great Britain. 237p.
- WIKSTÖM S.A., PAVIA H., 2004.** Chemical settlement inhibition versus post-settlement mortality as an explanation for differential fouling of two congeneric seaweeds. *Oecologia* 138: 223-230.
- WITTMAN K.J., 1984.** Temporal and morphological variations of growth in a natural stand of *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Marine Ecology*, P.S Z N I 5 4: 301-316.
- WITTMAN K.J., MAZZELLA L., FRESI E., 1981.** Age specific patterns leaf growth: their determination and importance epiphytic colonization in *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Rapp. P.V. Réunion. Commiss. internationale. Explor. sci. Médit.*, 27: 189-19.
- YATES J.C., PECKOL P., 1993.** Effects of nutrient availability and herbivory on polyphenolics in the seaweed *Fucus vesiculosus*. *Ecology*, 74: 1757-1766.
- ZAPATA O., MC MILLAN C., 1979.** Phenolic acids in seagrasses. *Aquat. Bot.*, 7: 307-317.
- ZUPO V., BUIA M.C., MAZZELLA L., 1997.** A production model for *Posidonia oceanica* based on temperature. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 44: 483-492.
- ZUPO V., FRESI E., 1984.** A study of the food web of the *Posidonia oceanica* ecosystem: analysis of the gut contents of echinoderms. *International Workshop on Posidonia oceanica beds*, Boudouresque C.F., Jeudy de Grissac A. et Olivier J. Edit., GIS Posidonie publ., Fr., 1: 373-379.
- ZUPO V., MAZZELLA L., BUIA M.C., GAMBI M.C., LORENTI M., SCIPIONE M.B., CANCEMI G., 2006.** A small-scale analysis of the spatial structure of a *Posidonia oceanica* meadow off the Island of Ischia (Gulf of Naples, Italy): Relationship with the seafloor morphology. *Aquat. Bot.*, 84: 101-109.

# Liste Des Figures

## Liste des figures

- Figure 1 :** Un rhizome plagiotrope de *Posidonia oceanica* portant des racines ainsi que des rhizomes orthotropes avec des faisceaux de feuilles à leurs extrémités (D'après BOUDOURESQUE et MEINESZ, 1982).....5
- Figure 2 :** Bloc diagramme montrant la structure d'une matte. (D'après BOUDOURESQUE et MEINESZ, 1982).....7
- Figure 3 :** Les grandes lignes de la biosynthèse des principaux groupes des composés phénoliques. PAL : phénylalanine ammonialyase ; TAL : tyrosine ammonialyase ; CCR : chalcone flavanone CoA réductase ; CAD : cinnamyl alcool déshydrogénase ; CHS ; chalcone synthase ; CHI : chalcone flavanoneisomérase ; TR ; transférases (in MACHEIX *et al.*, 2005).....11
- Figure 4 :** Localisation des stations étudiées avec les principaux points de rejets d'eaux usées dans la baie de Bou Ismaïl (PAC, 2005, modifiée).....12
- Figure 5 :** Dissection phénologique de *Posidonia oceanica*. (D'après PERGENT, 1987).....16
- Figure 6 :** Synopsis du protocole utilisé pour l'extraction des composés phénoliques (CUNY *et al.*, 1995).....18
- Figure 7 :** Synopsis du protocole utilisé pour le dosage des composés phénoliques (WATERMAN et MOLE (1994) modifié par KOIVIKKO *et al.*, (2005).....20
- Figure 8 :** Evolution saisonnière du nombre moyen des feuilles adultes et intermédiaires au niveau des deux stations étudiées.....27
- Figure 9 :** Evolution saisonnière de la longueur moyenne des feuilles adultes et intermédiaires au niveau des deux stations étudiées.....28
- Figure 10 :** Evolution saisonnière des largeurs moyennes des feuilles adultes et intermédiaires au niveau des deux stations étudiées.....29
- Figure 11 :** Evolution saisonnière du Coefficient A de Giraud (%) des feuilles adultes et intermédiaires au niveau des deux stations étudiées .....30
- Figure 12 :** Evolution saisonnière de la surface foliaire moyenne des feuilles adultes et intermédiaires au niveau des deux stations étudiées.....31

- Figure 13 :** Evolution saisonnière de la biomasse moyenne des feuilles adultes et intermédiaires au niveau des deux stations étudiées.....**32**
- Figure 14 :** Evolution saisonnière de la biomasse moyenne des épiphytes des feuilles adultes et intermédiaires au niveau des deux stations étudiées .....**33**
- Figure 15 :** domaines de linéarité obtenus pour le phloroglucinol.....**38**
- Figure 16 :** Concentration moyenne en composés phénoliques totaux (mg/g Ps) des différents tissus de *Posidonia oceanica* dans les deux stations. L'intervalle de confiance à 95% est figuré.....**40**
- Figure 17 :** Concentration moyenne en composés phénoliques totaux (mg/g Ps) dans les bases (B), feuilles adultes (FA) et les feuilles intermédiaires (FI) de *Posidonia oceanica* dans la station de Bou Ismaïl. L'intervalle de confiance à 95% figuré.....**40**
- Figure 18 :** Concentration moyenne en composés phénoliques totaux (mg/g Ps) dans les bases (B), feuilles adultes (FA) et les feuilles intermédiaires (FI) de *Posidonia oceanica* dans la station de Kouali. L'intervalle de confiance à 95% figuré .....**41**

# Liste Des Tableaux

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Classification de la Magnoliophyte marine <i>Posidonia oceanica</i> (KUO et DEN HARTOG, 2001).....	<b>4</b>
<b>Tableau 2 :</b> Calendrier des prélèvements au niveau des deux sites. K = Kouali ; BI = Bou Ismaïl ; DM = données manquantes. ....	<b>14</b>
<b>Tableau 3 :</b> Classification des herbiers à <i>Posidonia oceanica</i> en fonction de leur densité de faisceaux foliaires (d'après GIRAUD, 1977a).....	<b>15</b>
<b>Tableau 4 :</b> Classification de l'herbier en fonction de la densité des faisceaux et de la profondeur (d'après PERGENT <i>et al.</i> , 1995). DA = densité anormale, DN = densité normale (en gras), DSI = densité sub-normale inférieure, DSS = densité sub-normal supérieure.....	<b>15</b>
<b>Tableau 5 :</b> Test de fidélité de la méthode avec une probabilité de 95%. IC : intervalle de confiance.....	<b>38</b>
<b>Tableau 6 :</b> Résultats de l'ANOVA de la concentration en phénols totaux des différents types de tissu en fonction des différents types d'interaction.....	<b>39</b>

## Résumé :

Cette étude est menée au niveau de la limite inférieure de deux herbiers à *Posidonia oceanica* situés à Bou Ismaïl (site anthropisé) et à Kouali (site de référence). Ils ont fait l'objet d'un suivi annuel entre mai 2002 et mars 2003. Différents paramètres liés à la vitalité de *Posidonia oceanica* sont considérés. Parallèlement, une étude portant sur la quantification des composés phénoliques au niveau de différents compartiments de la plante (bases, limbes des feuilles adultes et feuilles intermédiaires) est réalisée. Les résultats obtenus montrent l'influence du site et de la saison sur les variations des différents paramètres phénologiques. La réduction de la longueur des feuilles et l'augmentation de la biomasse épiphytique des feuilles intermédiaires en saison estivale semblent constituer de bons indicateurs de l'enrichissement en nutriments de la station de Bou Ismaïl, particulièrement durant la saison estivale. Par ailleurs, les teneurs en composés phénoliques au niveau des différents compartiments révèlent une différence significative au niveau des bases des feuilles adultes entre les deux stations. Les teneurs faibles en composés phénoliques enregistrées à Bou Ismaïl traduiraient l'implication de ces composés dans la protection de la plante contre les métaux lourds. Quant aux variations saisonnières de la biosynthèse des composés phénoliques, elles ne semblent pas induites par un broutage ou un développement en épiphytes important au niveau des feuilles, dans la mesure où ces deux paramètres sont corrélés de façon négative aux concentrations en phénols totaux.

## Abstract:

This study is carried out at the lower limit of two *Posidonia oceanica* seagrass beds located in Bou Ismail (anthropic site) and Kouali (reference site). They have been monitored annually between May 2002 and March 2003. Different parameters related to the vitality of *Posidonia oceanica* are considered. In parallel, a study relating to the quantification of phenolic compounds in different compartments of plant (bases, limb of adult leaves and intermediate leaves) are carried out. The results obtained show the influence of site and season on variations in different phenological parameters. The reduction of leaf length and increasing the biomass of epiphytic intermediate leaves in summer seem to be good indicators of nutrient enrichment of the station of Bou Ismail, particularly during the summer. Moreover, levels of phenolic compounds in the various compartments reveal a significant difference in the bases between the two stations. The low content of phenolic compounds recorded in Bou Ismail would reflect the involvement of these compounds in plant protection against heavy metals. For seasonal variation in the biosynthesis of phenolic compounds, they do not seem induced by grazing or development epiphytes important in the leaves, since these two parameters are negatively correlated with concentrations of total phenols.

## ملخص:

Kouali في بوسماعيل (موقع الملوث) و *Posidonia oceanica* أجريت هذه الدراسة على الحد الأدنى لعشب بحري أخذ بعين الاعتبار المعايير المختلفة المتعلقة بحيوية ما بين مايو 2002 ومارس 2003. وتم (موقع المرجعي) و في نفس الوقت تم تقدير تركيزات مركبات الفينول الكلية في ثلاثة أنواع من الأنسجة (*Posidonia oceanica* القواعد، الأوراق المكتملة النمو والأوراق الوسطية). وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها على تأثير الموقع والموسم على الأوراق épiphytique على تغيرات مختلف المعايير الفينولوجية المدروسة. انخفض طول الأوراق وزيادة الكتلة الوسطية خاصة في الصيف ما يشير إلا تخصيص محطة بوسماعيل ، خصوصا خلال فصل الصيف. وعلاوة على ذلك ، تركيز القواعد بين المحطتين. إن المحتوى مستويات مركبات الفينول في مختلف الأنسجة أظهرت وجود اختلاف كبير في المنخفض في المركبات الفينولية المسجلة في بوسماعيل تعكس مشاركة هذه المركبات في وقاية النبات ضد المعادن علي epiphytes الثقيلة. أما تغيرات الموسمية في التركيب الحيوي لمركبات الفينول ، لا يبدو أنها بفعل نمو هام في الأوراق أو بفعل اكيالات العشب ، كون هذان العاملين يرتبطان سلبا مع تركيز الفينولات الكلية.