

PERTURBATIONS DE LA REPRODUCTION  
CHEZ *ZOSTERISESSOR OPHIOCEPHALUS* (PISCES, GOBIIDAE)  
DANS UNE LAGUNE MÉDITERRANÉENNE POLLUÉE (BIZERTE, TUNISIE)

Ibtissem LOUIZ<sup>a,b\*</sup>, Mossadok BEN-ATTIA<sup>b</sup> & Oum Kalthoum BEN HASSINE<sup>a</sup>.

<sup>a</sup> Université de Tunis-El-Manar, Faculté des Sciences de Tunis, Biologie Intégrative et Écologie Évolutive et Fonctionnelle des Milieux Aquatiques (UR11/ES08), 2092 El Manar, Tunisie. E-mails: louiz.ibtissem@gmail.com; kalthoum.benhassine@gmail.com

<sup>b</sup> Université de Carthage, Faculté des Sciences de Bizerte, Laboratoire de Biosurveillance de l'Environnement (LR01/ES14), 7021 Zarzouna, Tunisie. E-mail: benattia.mossa@gmail.com

**SUMMARY.**— *Reproductive disorders in Zosterisessor ophiocephalus* (Pisces, Gobiidae) in a polluted lagoon (Bizerta, Tunisia).— Gonad histopathology data are increasingly being used as indicators of reproductive disorders since they provide a definite biological end-point of historical exposure to endocrine disruptors. Here, a comparative study of some reproduction biological aspects, such as gonad histology, gonadosomatic index (GSI), hepatosomatic index (HSI) and condition index (CI) of mature Grass Goby (*Zosterisessor ophiocephalus*), was carried out in Bizerta lagoon where chemical contamination is proven and in a reference station free of this type of contamination. For this purpose, female and male gobies were collected during the breeding season (April 2006) in three stations in Bizerta lagoon (Menzel-Abderrahemen, Menzel-Bourguiba and Menzel-Jemil), differently impacted by contaminants, including PAHs, PCBs, DDT, organotins and heavy metals, and in the seaward entrance of Ghar el Melh lagoon (reference station). In both sexes, we detected the presence of an overall weaker GSI in Bizerta lagoon than in control fish. These GSI alterations were accompanied by most pathological changes. In females, a higher incidence of oocyte lesions (atretic oocytes and cytoplasmic retraction) was found in stations located near agricultural activity zones. Histologic observation of the testes revealed, as well, abnormalities in Bizerta lagoon fish such as germ cells syncytia, vacuolated germ cells and increase of gaps in the interstitium between lobules. These abnormalities were detected with a high prevalence in stations influenced by industrial and/or urban activities. This study provides insights on the effects of various environmental stressors on *Z. ophiocephalus* reproductive health. Nevertheless, much research is needed to understand the cause of observed changes and their long-term effect on fish reproductive health, on population fitness and on this species survival in Bizerta lagoon.

**RÉSUMÉ.**— Une étude comparée des indices de reproduction tels le rapport gonado-somatique (RGS), le rapport hépatosomatique (RHS), l'indice de condition (IC) et de l'histologie des gonades de *Zosterisessor ophiocephalus*, a été réalisée au niveau de trois stations dans la lagune de Bizerte (ML, MB et MJ) dont la contamination chimique est avérée et d'une station de référence (GH) exempte de ce type de contamination située au niveau de la passe de communication entre la lagune de Ghar El Melh et la mer. Les résultats ont montré une importante prévalence des anomalies histologiques des gonades, aussi bien mâles que femelles, des poissons capturés dans la lagune de Bizerte. Celles-ci sont associées à des faibles valeurs du RGS et à une augmentation du RHS. Les stations les plus touchées par la pollution, due aux activités industrielles et/ou urbaine, présentent les plus fortes prévalences d'anomalies histologiques des gonades.

---

La lagune de Bizerte, une des plus grandes lagunes tunisiennes, subit de nombreuses pressions anthropiques du fait de sa localisation dans une zone urbanisée du nord de la Tunisie (Fig. 1), abritant d'importantes activités agricoles et industrielles. De ce fait, les rejets directs et indirects de déchets ont conduit à la contamination chimique de la lagune par divers composés toxiques comme les métaux lourds (Yoshida *et al.*, 2002 ; Ben-Garali *et al.*, 2010), les pesticides organochlorés (Cheikh *et al.*, 2002), les Composés aromatiques halogénés comme les

polychlorobiphényles (PCB) (Derouiche *et al.*, 2004 ; Barhoumi *et al.*, 2014a), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (Louiz *et al.*, 2008 ; Louiz 2010 ; Barhoumi *et al.*, 2014b) et les organoétains (Mzoughi *et al.*, 2005). Cette contamination a eu pour conséquences une eutrophisation, voire une hypereutrophisation, de certaines zones de ce plan d'eau (Sakka-Hlaili *et al.*, 2003 ; Bellakhal-Fartouna & Bellakhal, 2013) et surtout de nombreux effets biologiques chez les organismes qui y vivent dont il convient de citer le phénomène d'imposexe observé chez certaines espèces de Mollusques (Lahbib *et al.*, 2008, 2012 ; Abidli *et al.*, 2013), les anomalies vertébrales chez les poissons Gobiidés (Louiz *et al.*, 2007) et les troubles de la reproduction chez l'espèce de poissons *Gobius niger* (Louiz *et al.*, 2009).

Par conséquent, nous avons décidé d'étudier l'impact de cette contamination sur la reproduction d'une espèce de poissons appartenant à la famille des Gobiidés, à savoir la Gobie-lote *Zosterisessor ophiocephalus* (Pallas, 1811), moyennant l'analyse comparée des indices de reproduction (rapport gonadosomatique RGS, Indice de condition IC, Rapport hépatosomatique RHS) et de l'histologie des gonades chez des poissons capturés au niveau de sites pollués de cette lagune, mais aussi au niveau d'une station de référence exempte de pollution chimique (Mahmoudi, 2003). En effet, certains paramètres de la reproduction, à l'instar du RGS, ont été utilisés pour évaluer la santé reproductive des poissons (Adams *et al.*, 1993) et apprécier les effets chroniques de la pollution (Holm *et al.*, 2006). Quant à l'analyse histologique, elle est souvent employée pour détecter des éventuelles anomalies et pathologies tissulaires (Pieterse, 2004).

De plus, le choix des Gobiidés a été guidé par le fait qu'il s'agit de poissons téléostéens benthiques sédentaires dont la durée de vie est relativement longue, ce qui permet d'apprécier les interactions des individus avec l'environnement. De plus, ces poissons peuplent pratiquement tous les écosystèmes aquatiques (Miller, 1986). Dans la mer Méditerranée, les Gobiidés montrent une grande diversité spécifique et écologique (Kovačić, 2005). En outre, certains aspects de la biologie de la reproduction de l'espèce *Z. ophiocephalus* ont été décrits dans ce milieu anthropisé (Louiz *et al.*, 2013). Ainsi, la détermination de la taille à la première maturité sexuelle des mâles et des femelles (respectivement  $L_s = 56,5$  mm et 53 mm) et celle des mâles parentaux ( $L_s = 90$ mm) nous a permis de cibler, dans le cadre de la présente étude, les poissons déjà matures. Quant à la période de reproduction, qui commence au mois de février avec une ponte unique débutant au mois d'avril et se poursuivant jusqu'au mois de mai, elle a orienté le choix de la période d'échantillonnage.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### MILIEU D'ÉTUDE ET CHOIX DES STATIONS

La lagune de Bizerte occupe une superficie d'environ 150 km<sup>2</sup> (Fig. 1). Sa profondeur varie de 0,5 à 12 m avec une moyenne de 7 m (Ghrabi *et al.*, 2002). Trois stations de même bathymétrie ont été prospectées en avril 2006 (Fig. 1). Ces stations ont été choisies comme étant représentatives des activités anthropiques présentes dans la zone d'étude. Menzel Bourguiba (MB) est situé près d'une zone fortement industrialisée (industrie métallurgique, chantier naval, usines de fabrication de pneus, etc.) ; la station de Menzel Abderrahmen (ML) est influencée par les activités urbaines, industrielles et de pêche alors que la station de Menzel Jemil (MJ) est impactée par des activités agricoles, conchylicoles et industrielles. Les niveaux de contamination des sédiments par les métaux lourds, les hydrocarbures polycycliques aromatiques, les biphényles polychlorés (Derouiche *et al.*, 2004) et les composés organochlorés (Cheikh *et al.*, 2002), au niveau des différentes stations prospectées sont donnés dans le tableau I. Quant à la station de référence, nous l'avons choisie dans la lagune de Ghar El Melh, au niveau d'un secteur proche de la mer, caractérisé par une turbidité modérée et des contenus plus faibles de substances et présente de ce fait un bon état écologique (Nourisson *et al.*, 2013). Cette station, localisée au niveau de la passe de communication de la lagune de Ghar El Melh avec la mer, montre un très faible niveau de contamination chimique (Mahmoudi 2003 ; Louiz *et al.*, 2008 ; Nourisson *et al.*, 2013) (Fig. 1).

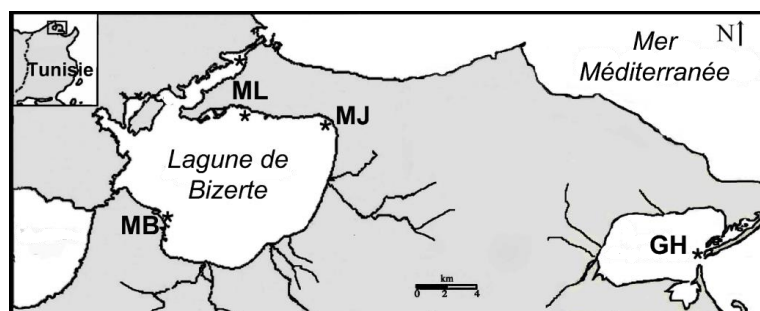


Figure 1.— Localisation des stations prospectées dans la lagune de Bizerte (MJ : Menzel Jemil ; ML: Menzel Abderrahman et MB: Menzel Bourguiba.) et dans le site témoin GH : Ghar el Melh.

TABLEAU I

Le niveau de contamination du sédiment au niveau des stations prospectées : Menzel Bourguiba (MB), Menzel Abderrahmane (ML), Menzel Jemil (MJ) et Ghar el Melh (GH). HAPs : hydrocarbures aromatiques polycycliques ; DDT : dichlorodiphényltrichloroéthane ; PCBs : Biphényles polychlorés

	MB	MJ	ML	GH	Références
<b>Métaux lourds et métalloïdes</b>					
Al (ng/g)	13,35	11,69	6,67	-	Yoshida <i>et al.</i> (2002)
Sb (µg/g)	1,061	0,207	0,329	-	Yoshida <i>et al.</i> (2002)
As (µg/g)	41,293	12,388	16,517	-	Yoshida <i>et al.</i> (2002)
Co (µg/g)	7,821	4,345	6,925	-	Yoshida <i>et al.</i> (2002)
Cu (µg/g)	68,772	17,193	17,193	-	Yoshida <i>et al.</i> (2002)
Fe (ng/g)	51,082	15,324	25,541	-	Yoshida <i>et al.</i> (2002)
Mn (µg/g)	568,77	227,51	455,017	-	Yoshida <i>et al.</i> (2002)
Ni(µg/g)	22,468	8,987	17,975	-	Yoshida <i>et al.</i> (2002)
Se (µg/g)	2,10	0,47	0,93	-	Yoshida <i>et al.</i> (2002)
Ag (µg/g)	0,63	0,103	0,178	-	Yoshida <i>et al.</i> (2002)
Ti (µg/g)	0,395	0,132	0,176	-	Yoshida <i>et al.</i> (2002)
U (µg/g)	1,96	0,87	1,09	-	Yoshida <i>et al.</i> (2002)
V (µg/g)	58,50	23,40	46,80	-	Yoshida <i>et al.</i> (2002)
Pb (µg/g)	286,86	35,86	71,72	0,074	Yoshida <i>et al.</i> (2002) ; Mahmoudi (2007)
Cr (µg/g)	>46,2	18,48	36,96	0,057	Yoshida <i>et al.</i> (2002) ; Mahmoudi (2003)
Hg (µg/g)	0,42	0,074	0,112	2 10 <sup>-4</sup>	Yoshida <i>et al.</i> (2002) ; Mahmoudi (2003)
Zn (ng/g)	1,508	0,242	0,242	0,098	Yoshida <i>et al.</i> (2002) ; Mahmoudi (2003)
Cd (µg/g)	1,32	0,369	0,369	0,5	Yoshida <i>et al.</i> (2002) ; Chouba <i>et al.</i> , (2007)
<b>Biphényles Polychlorés (ng/g)</b>	4,77	2,48	4,68	1,20	Derouiche <i>et al.</i> (2004) ; Ben Ameer <i>et al.</i> (2011)
<b>Composés organochlorés</b>					
DDT (ppb)	1,78	0,92	0,48	-	Cheikh <i>et al.</i> (2002)
Pesticides (ppb)	1,83	1,18	0,65	-	
<b>Organosatoin µg (Sn) kg<sup>-1</sup></b>	200	90	117	-	Mzoughi <i>et al.</i> (2005)
<b>HAPs (ng/g)</b>	209,1	10,9	48,3	4,4	Louiz <i>et al.</i> (2008)

## RÉCOLTE DES ÉCHANTILLONS ET COLLECTE DES DONNÉES

Les poissons ont été collectés pendant la période de reproduction (durant la troisième semaine du mois d'avril 2006) au moyen d'un petit chalut benthique. Immédiatement après leur capture, les poissons ont été sexés. En effet, le sexe des individus est déterminé par l'observation de la forme de la papille urogénitale généralement conique chez les mâles et cylindrique chez les femelles des Gobiidés (Miller, 1984). Les spécimens pêchés vivants ont été destinés à l'étude histologique. Les autres sont ramenés, dans des glacières, au laboratoire pour effectuer les différents mesures et prélèvements. Dans ce travail, nous n'avons utilisé que des femelles adultes de longueur totale supérieure à 53 mm et des mâles parentaux d'une longueur totale supérieure à 90 mm (Louiz *et al.*, 2013). Les principales caractéristiques des poissons collectés sont données dans le tableau II.

Dès l'arrivée au laboratoire, les échantillons sont examinés à l'état frais. Pour chaque individu, la longueur standard (Ls) et la longueur totale (Lt) ont été mesurées à  $\pm 0.01$  mm près. De même, les paramètres pondéraux, à savoir la masse

éviscérée (Pe ; ± 0,01 g), la masse du foie (Pf ± 0,001 g) et la masse des gonades (Pg ; ± 0,001 g) ont été aussi relevés. Ces paramètres ont été ensuite utilisés pour calculer les différents indices de reproduction.

TABLEAU II

*Effectif (N), poids éviscéré We (g) et longueur standard Ls (mm) des mâles (M) et des femelles (F) Zosterisessor ophiocephalus capturés au niveau du site de référence (GH) et des sites de la lagune de Bizerte (MB, MJ et ML)*

	Sexe	Sites			
		GH	MB	MJ	ML
N	M	25	32	12	56
	F	58	45	11	64
Ls Moyenne (Min - Max)	M	130 (108-145)	109 (94-123)	100 (92-108)	111 (102-140)
	F	103 (78-128)	71 (52-109)	67 (55-84)	69 (50-102)
We Moyenne (Min - Max)	M	41 (21-54)	26 (17-36)	18 (16-21)	21 (12-29)
	F	20 (8-42)	7 (2-24)	6 (3-10)	6 (2-19)

Au moment de la capture des poissons, les valeurs des principaux paramètres physico-chimiques de l'eau ont été relevées à une profondeur de la colonne d'eau de 20 cm. La température et la salinité ont été mesurées à l'aide d'un conductimètre de type Cond 315i/SET, WTW. De même, le potentiel hydrogène a été évalué à l'aide d'un pH-mètre de type pH 315i/SET, WTW. La teneur en oxygène dissous a été appréciée à l'aide d'un oxymètre de type Oxi 315i/SET, WTW. Les principales caractéristiques physicochimiques du milieu sont données dans le tableau III.

TABLEAU III

*Caractéristiques physico-chimiques des stations prospectées. DO: teneur en oxygène dissous*

	GH	MB	MJ	ML
Température (°C)	22,5	23,8	24,0	24,0
pH	8,3	8,2	8,4	8,1
Salinité	36,5	31,0	30,0	30,3
DO (mg/L)	10,3	9,7	9,7	7,6

#### CALCUL DES INDICES DE REPRODUCTION

Le rapport gonado-somatique (RGS), le rapport hépatosomatique (RHS) et l'indice de condition (IC) ont été calculés pour les mâles et les femelles.

##### - Rapport gonado-somatique

Le rapport ou indice gonadosomatique, qui fournit une évaluation de l'état de développement des gonades d'un poisson, est le rapport du poids des gonades sur le poids somatique.

$$RGS = (Wg / We) \times 100.$$

Il est considéré comme étant un bon coefficient de maturité des poissons (Lahaye, 1980).

##### - Rapport hépatosomatique

Chez les poissons, la gamétogenèse demande un important apport d'énergie. Le rapport ou indice hépatosomatique, qui fournit une estimation des réserves énergétiques du poisson, est le rapport du poids du foie sur le poids somatique d'un poisson. Le calcul de l'indice hépatosomatique s'effectue selon la formule suivante :

$$RHS = (Wf/We) \times 100,$$

##### - Indice de condition

Le facteur ou coefficient de condition (K) ou indice de condition (IC), qui permet de déterminer l'embonpoint du poisson (Tesch, 1971; Lalèye *et al.*, 1995), est défini par le rapport entre le poids et la taille du poisson. Il est donné par la formule ci-dessous :

$$IC = (We/Lt^b) \times 100, b = 3$$

## TECHNIQUES HISTOLOGIQUES

Seuls les poissons vivants, à savoir 37 spécimens de *Z. ophiocephalus* dont 20 mâles et 17 femelles provenant des stations prospectées, ont été utilisés pour l'étude histologique. Ces poissons vivants ont été sacrifiés. Les gonades ont été fixées au liquide Dubosq-Brasil, déshydratées et imprégnées par la paraffine (Martoja & Martoja-Pierson, 1967). Des sections histologiques de 7  $\mu\text{m}$  et 5  $\mu\text{m}$  d'épaisseur ont été confectionnées à partir des ovaires et des testicules, respectivement. Les sections ont été colorées à l'hématoxyline-éosine, observées et photographiées au moyen d'un microscope Olympe (CX41), équipé d'un appareil-photo numérique (Olympe Sp-51ouz). Le tissu gonadique a été, en termes de types cellulaires, analysé sur la base des descriptions de Wallace & Selman (1981).

Vingt coupes histologiques par individu ont été analysées pour les calculs statistiques. Chez les mâles, le nombre de cellules germinales syncytiales et celui de cellules de Sertoli hypertrophiées ont été déterminés dans le champ d'observation microscopique à un grossissement de 1000 X (cellules/champ). La superficie de l'espace interstitiel entre les lobules a été mesurée et le pourcentage de cet espace dans le total de la surface de la section a été déterminé en utilisant le logiciel Mesurim 2.4 pour Windows (Académie d'Amiens, Amiens, France). De même chez les femelles, les pourcentages relatifs des follicules en atresie ont été déterminés. Toutes les éventuelles autres anomalies structurales dans les ovaires ont également été notées. Le pourcentage des ovocytes altérés, présentant une atresie folliculaire ou une rétraction cytoplasmique et/ou une condensation caryoplasmique, a été déterminé dans chaque section d'ovaire.

## ANALYSES STATISTIQUES

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SPAW 18 (version d'évaluation). La normalité de la distribution a été vérifiée à l'aide du test de Kolmogorov-Smirnov. L'homogénéité des variances, au risque  $\alpha = 5\%$ , a été vérifiée par le test de Levene. La comparaison des moyennes (le nombre de cellules CSyn et SeCH par champ, les pourcentages moyens des ovocytes altérés par champ et le pourcentage de la superficie de l'espace interstitiel entre les lobules) a été effectuée au moyen de l'analyse de variance unifactorielle (ANOVA), suivie du test post-ANOVA de Gabriel (échantillons de tailles différentes). La comparaison des prévalences des lésions gonadiques entre les stations a été réalisée par le test exact de Fisher ; ce test est utilisé dans l'analyse des tableaux de contingence où la taille des échantillons est petite.

## RÉSULTATS

### ANALYSE COMPARÉE DES INDICES SOMATIQUES OU DE REPRODUCTION

En comparant les rapports gonado-somatiques pour les mâles et les femelles ayant atteint la taille de la première maturité sexuelle dans les différentes stations d'étude, nous avons remarqué une valeur moyenne du RGS des femelles au niveau de la station de référence (GH) plus élevée (9,5 %) que celles relevées dans les trois stations de la lagune de Bizerte. Cette différence n'est statistiquement significative (Fig. 2A) que pour la station (ML) (test post-ANOVA de Gabriel ;  $p < 0,05$ ). Pour les mâles, aucune différence significative n'a été trouvée (test post-ANOVA de Gabriel ;  $p > 0,05$ ) (Fig. 2B). Toutefois, les RGS des gobies collectés dans la lagune de Bizerte ont des valeurs plus faibles que celles des RGS des poissons pêchés au niveau de la station de référence.

L'analyse comparative du rapport hépatosomatique (RHS) a révélé des valeurs plus élevées chez les mâles et les femelles provenant des trois stations de la lagune de Bizerte (MB, ML et MJ) en comparaison avec celles des RHS des poissons pris à la station de référence (GH). Néanmoins, cette différence n'est statistiquement significative (Fig. 2D) que chez les mâles (test post-ANOVA de Gabriel ;  $p < 0,05$ ).

Les valeurs des indices de condition (IC) des poissons issus des différentes stations de la lagune de Bizerte ne sont pas significativement différentes (Fig. 2C) de celles obtenues au niveau de la station de référence (GH) (test d'ANOVA,  $p > 0,05$ ).

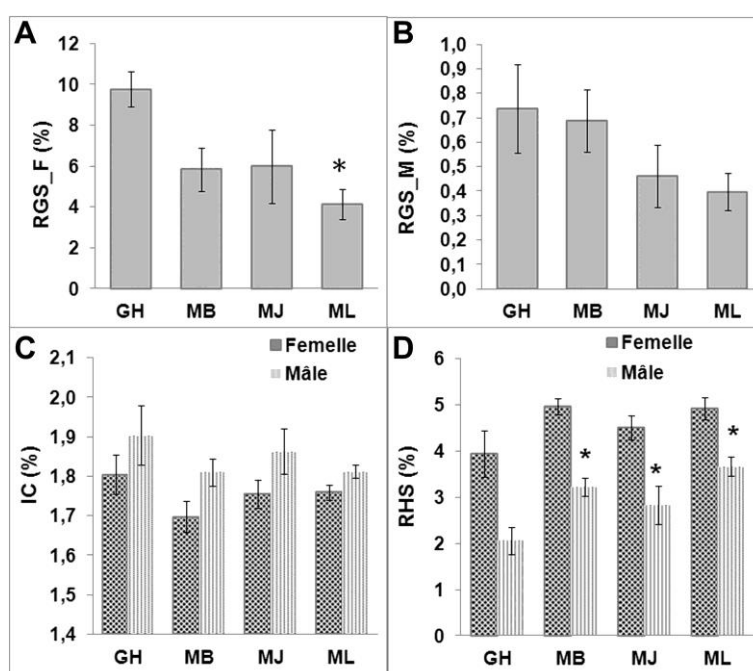


Figure 2.— Variations inter-sites (A) du rapport gonado-somatique des femelle, (B) du rapport gonado-somatique des mâle, (C) de l'indice de condition et (D) du rapport hépatosomatique chez les mâles et les femelles de *Zosterisessor ophiocephalus*. Moyenne  $\pm$  SEM.

#### ANALYSE COMPARÉE DE L'HISTOLOGIE DES GONADES MÂLES ET FEMELLES

Les testicules des poissons, provenant de la station de référence, ont une structure et une apparence normale (Fig. 3).

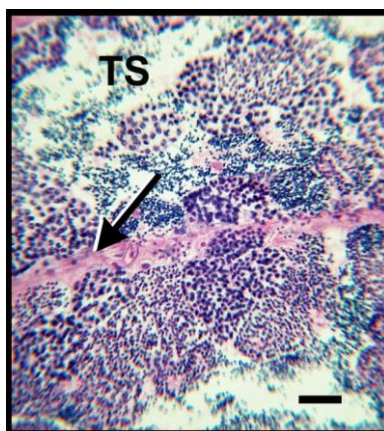


Figure 3.— Section histologique des testicules de *Zosterisessor ophiocephalus* provenant de la station de référence montrant une structure normale : tubes séminifères (TS) ; tissu interlobulaire mince et un noyau de cellule de Sertoli normale (flèche) ; la barre indique 25  $\mu$ m.

Les lobules des testicules sont divisés en cystes dans lesquels se déroule le processus de maturation des cellules germinales. Au niveau des testicules des individus matures, tous les stades de maturation, des spermatogonies aux spermatozoïdes, ont été observés. Les spermatozoïdes sont abondants dans la lumière du tube séminal. Les tubes séminifères sont entourés par des cellules myoïdes formant un tissu interlobulaire mince, par des cellules de Sertoli, des cellules de Leydig et par des vaisseaux sanguins (Fig. 3). Normalement, un petit nombre de cellules de Sertoli enveloppe les cellules spermatiques. Ces cellules restent en contact avec la lame basale qui sépare le compartiment germinal du tissu interstitiel. Elles peuvent être identifiées par leur contour anguleux et leur noyau irrégulier.

L'analyse des sections testiculaires des gobies de la lagune de Bizerte a mis en évidence plusieurs types de lésions histologiques, liées à des changements dégénératifs et une forte prévalence de centres mélanomacrophages (Fig. 4 ; Tab. IV). Les anomalies histopathologiques diagnostiquées dans les testicules des poissons collectés dans la station (MB) sont importantes. Elles incluent une prévalence très élevée de syncytiums cellulaires (100 %) ( $p < 0,05$ ), CSyn avec une moyenne de 5,5 syncytiums par champ (Tab. IV). Ces anomalies sont souvent associées à des altérations au niveau des tubes séminifères et une vacuolisation des cellules germinales (Fig. 4C).

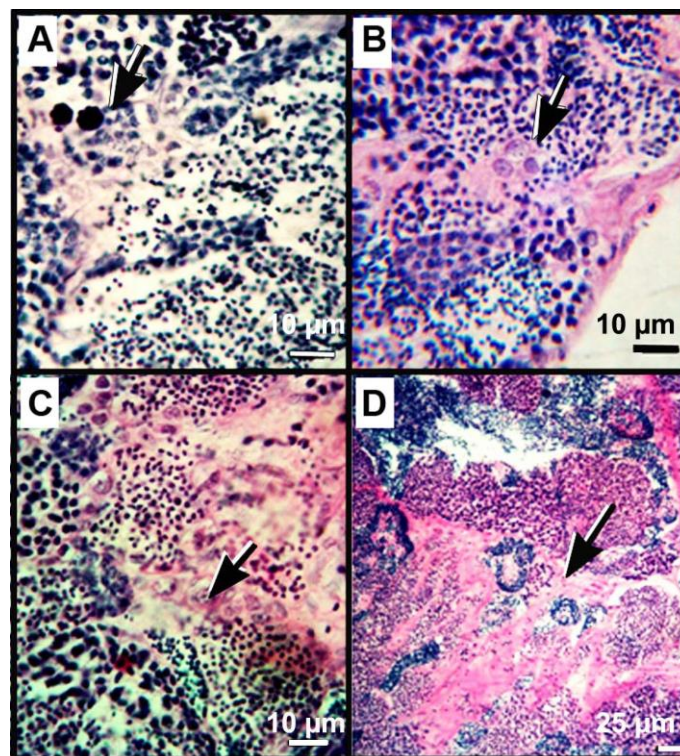


Figure 4.— Sections histologiques de testicules de *Zosterisessor ophiocephalus*, prélevés au niveau de la lagune de Bizerte et montrant certains types d'anomalies dégénératives : (A) des agrégats cellulaires (syncytium) ; (B) hypertrophie et hyperplasie des noyaux des cellules de Sertoli (pointe de flèche) (C) une vacuolisation des cellules germinales et (D) un énorme tissu inter- interstitiel.

TABLEAU IV

Prévalence (P%), intensité (cellules /champ) et pourcentage moyen (PM) des différentes lésions histologiques observées au niveau des testicules et des ovaires chez *Zosterisessor ophiocephalus* (Moyenne  $\pm$  SEM)

Sites	N (M;F)	Mâles			Femelles					
		CSyn	SeC P%	CMM	CSyn (Cellules/champ)	SeCH	IG % (PM)	AO%	CK % (PM)	RC %
GH	(4; 2)	0	0	0	0	8 ( $\pm$ 0,4)	4 ( $\pm$ 0,3)	0,03 ( $\pm$ 0,3)	0,11 ( $\pm$ 0,07)	0,10 ( $\pm$ 0,06)
MB	(3; 4)	100*	67*	33*	5,5 * ( $\pm$ 0,1)	11* ( $\pm$ 0,9)	4 ( $\pm$ 0,5)	0,34, ( $\pm$ 7)	4,8 ( $\pm$ 0,01)	1,9 ( $\pm$ 0,5)
MJ	(3; 2)	50*	0	50*	2,3 ( $\pm$ 0,3)	9 ( $\pm$ 0,2)	10 ( $\pm$ 3,1)	9,64* ( $\pm$ 3,8)	5,95 ( $\pm$ 1,1)	11,5* ( $\pm$ 0,6)
ML	(10; 9)	30*	60*	40*	0,2 ( $\pm$ 0,1)	13 * ( $\pm$ 0,7)	13* ( $\pm$ 1,4)	0,57 ( $\pm$ 0,2)	7,7 ( $\pm$ 0,01)	4,8 ( $\pm$ 0,1)

N : Taille de l'échantillon ; M : mâles ; F : Femelles ; CSyn : syncytium cellulaire ; SeC : cellule de Sertoli, SeCH : cellule de Sertoli hypertrophiée ; CMMs : centres mélanomacrophages ; IG : élargissement de l'espace interstitiel par rapport à la surface totale ; OA : ovocyte atrésique ; RC : rétraction cytoplasmique ; CK : condensation caryoplasmique ; P % : pourcentage des coupes histologiques présentant des lésions ; PM % : pourcentage moyen d'ovocytes altérés par champ. \* : p < 0,05



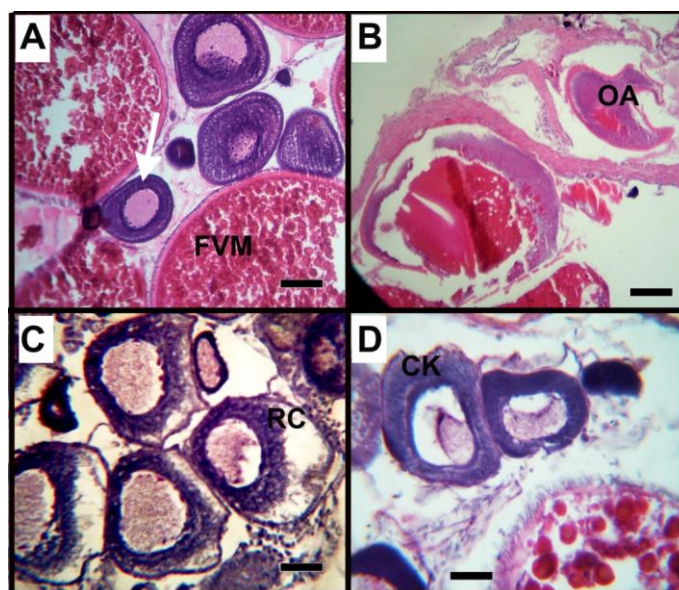


Figure 5.— Sections transversales des ovaires de poissons provenant : (A) de la station de référence et montrant des follicules alvéolaires corticaux (FAC : flèche) et des follicules vitellogéniques matures (FVM) et normaux ; (B, C, D) de la lagune de Bizerte, présentant (en B, à la station MJ) un ovocyte atrésique (OA) et (en C et D ; respectivement stations ML et MB) des follicules alvéolaires corticaux avec une rétraction cytoplasmique (RC) et une condensation caryoplasmique (CK). La barre indique 25 µm.

Contrairement aux gobies de la station de référence, les mâles collectés au niveau des stations (MB) et (ML) ont montré un nombre moyen élevé de noyaux hypertrophiés des cellules de Sertoli par champ (11 et 13 cellules/champ) (Fig. 4B ; Tab. IV). De plus, nous avons noté une forte prévalence d'hyperplasie des cellules de Sertoli pour les poissons capturés au niveau des stations MB (67 %) et ML (60 %) ( $p < 0,05$ ) (Fig. 4B ; Tab. IV).

Les testicules témoins sont constitués de tubes séminifères serrés, avec un espace interstitiel (IG) étroit (Fig. 3). Ces espaces sont plus larges avec une augmentation des composants interstitiels chez les poissons pris dans les stations ML (13 %) et MJ (10 %) ( $p < 0,05$ ). En outre, chez les spécimens collectés à la station ML, la structure de la paroi des tubes séminifères apparaît fortement perturbée avec, au sein des lobules séminifères, d'énormes travées remplies de tissu conjonctif (Fig. 4 D).

L'examen histologique des ovaires de femelles collectées à la station de référence (GH) a révélé une structure normale montrant des ovocytes bien développés, caractérisés par un épithélium folliculaire et un zona radiata intacts (Fig. 5A).

Les principales anomalies histopathologiques des ovaires de poissons collectés dans la lagune de Bizerte sont représentées par une rétraction du cytoplasme (RC) des cellules folliculaires, une condensation du caryoplasme (CK) et une atrésie ovocytaire (AO) (Fig. 5B,C,D). Les différentes lésions observées dans l'ovaire de *Z. ophiocephalus* sont consignées dans le tableau IV. Les ovaires des poissons provenant de la station MJ ont montré des pourcentages d'atrésie folliculaire plus élevés que ceux des gobies collectés au niveau de la station de référence et qui sont de l'ordre de 9,6 %. En outre, dans cette station MJ, le pourcentage des ovocytes présentant une rétraction cytoplasmique est d'environ 11 % ( $p < 0,05$ ). Quant au pourcentage des ovocytes présentant une condensation du caryoplasme, il est plus important au niveau de la station ML (Tab. IV).

## DISCUSSION

Au cours de ce travail, nous avons effectué, sur la base d'une analyse comparée des paramètres somatiques de la reproduction et de la structure histologique des gonades, une étude comparative du statut reproducteur de *Z. ophiocephalus* peuplant d'une part, un milieu caractérisé par une contamination chimique chronique (lagune de Bizerte) et, d'autre part, un site de référence, faiblement contaminé (Mahmoudi, 2003 ; Louiz *et al.*, 2008) (Tab. I). Nos résultats ont mis en évidence de faibles valeurs des RGS et des IC, d'une part et, d'autre part, une augmentation des RHS chez les gobies collectés dans la lagune de Bizerte. Même si les différences relevées entre les valeurs des paramètres somatiques (RGS, RHS, IC) ne sont pas souvent statistiquement significatives, nous pouvons tout de même conclure à la présence d'une perturbation de la fonction reproductrice ainsi qu'une altération de la condition générale des gobies. En effet, le rapport hépatosomatique (RHS) et l'indice de condition (IC) sont des indicateurs des variations des paramètres abiotiques qui reflètent l'état physiologique des poissons. Ainsi, si leurs fluctuations peuvent être attribuées à divers facteurs tels que le statut reproducteur, la disponibilité de la nourriture (Chellappa *et al.*, 1995), plusieurs études ont mentionné l'intérêt de l'utilisation de ces paramètres dans l'évaluation des effets d'un stress environnemental au niveau d'un organe cible ou d'un organisme entier (Barton *et al.*, 1987 ; Eastwood & Couture, 2002 ; Lloret & Planes, 2003).

Des anomalies histologiques semblables à celles trouvées dans la présente étude ont été déjà décrites dans la littérature (Dutta *et al.*, 1994, 2006 ; Miles-Richardson *et al.*, 1999a,b ; Dutta & Maxwell, 2003 ; Dutta & Dalal, 2008). Toutefois, ces auteurs ont soumis, au cours d'expérimentations, les poissons ciblés par leurs recherches à des doses sublétales de xénobiotiques alors que nous nous sommes intéressés à des poissons sauvages vivant dans un milieu naturel, la lagune de Bizerte, contaminé par différentes sources de pollution.

Ainsi, dans ce milieu, la prédominance des lésions histopathologiques semble considérablement varier d'une station à une autre, selon probablement la nature et la quantité des polluants. En effet, nous avons mis en évidence de graves atteintes au niveau de la structure testiculaire des gobies capturés au niveau de la station de Menzel Bourguiba (MB). Ces atteintes se caractérisent par la présence d'anomalies dégénératives comprenant des syncytiums cellulaires et une vacuolisation des cellules germinales. Cette reprotoxicité semble être la conséquence d'une exposition à des contaminants à effet perturbateur endocrinien. En effet, des syncytiums cellulaires semblables ont été observés chez des mâles exposés aux composés oestrogéniques (17  $\beta$ -œstradiol et 4-Nonylphénol) (Miles-Richardson *et al.*, 1999a,b). Or, nous avons déjà montré la présence d'une activité oestrogénique significative dans l'extrait organique du sédiment prélevé dans la lagune de Bizerte, au niveau de la station MB (Louiz *et al.*, 2008). Cela suggère que de tels contaminants organiques auraient contribué à la présence des syncytiums cellulaires chez les poissons capturés au niveau de ce site. De plus, la forte contamination de cette station par les métaux lourds et organoétains (Yoshida *et al.*, 2002 ; Mzoughi *et al.*, 2005) (Tab. I) peut être aussi la cause de l'apparition d'anomalies dégénératives dans les testicules des gobies. En effet, les métaux lourds ont déjà été signalés comme étant des composés chimiques à effet perturbateur endocrinien (Dyer, 2007) et Pieterse (2004) a mis en rapport la contamination par les métaux lourds avec la présence des dommages au niveau des tubes séminifères chez les poissons.

Le lien entre les faibles valeurs du RGS et les altérations histologiques semble également évident chez les mâles de la station de Menzel Abderrahmen (ML) qui ont montré, au niveau de leurs gonades, un élargissement de l'espace interstitiel et la présence de centres mélanomacrophages (MMCs). Ces derniers sont des cellules qui appartiennent au système

immunitaire non spécifique. Généralement, cette anomalie est associée aux lésions inflammatoires chroniques. Sans compter que l'augmentation de la taille et du nombre des CMMs a été corrélée à une exposition à des hydrocarbures aromatiques polycycliques (Marty *et al.*, 2003). Dans la présente étude, l'existence de CMMs, dans le tissu interstitiel désorganisé, indique que cette dégénérescence a une origine *ante-mortem* (avant la mort).

En outre, la forte prévalence de l'hypertrophie et de l'hyperplasie des noyaux des cellules de Sertoli, enregistrée au niveau des gonades de poissons provenant de la station MB, semble être associée à la contamination du sédiment. Des anomalies similaires au niveau des cellules de Sertoli (hypertrophie et hyperplasie) ont été décrites par Miles-Richardson *et al.* (1999a). Dans les conditions normales, les cellules de Sertoli ont un rôle nourricier, de transfert des métabolites et des hormones (Billard *et al.*, 1972 ; Andrade *et al.*, 2001). Elles sont également impliquées dans l'élimination par phagocytose des débris de cellules germinales qui dégènèrent au cours de la spermatogenèse et dans le nettoyage des cellules germinales apoptotiques (Billard, 1983 ; Russell *et al.*, 1990 ; Andrade *et al.*, 2001 ; Cruz-Landim *et al.*, 2005). La prolifération des cellules de Sertoli, observée au cours de cette étude, pourrait être interprétée par la nécessité d'éliminer les cellules germinales dégénérées, suite à l'effet toxique de certains agents délétères tels que les organoétains, des métaux lourds ou des composés oestrogéniques (Chen *et al.*, 2008 ; Dyer, 2007 ; Miles-Richardson *et al.*, 1999a,b).

Les ovaires présentent également de nombreuses anomalies. En effet, les résultats de l'analyse histologique des ovaires suggèrent que les faibles valeurs du RGS, enregistrées au niveau de la station ML, sont probablement dues, d'une part, à la présence d'ovocytes atrésiques pendant la saison de ponte et, d'autre part, à la désintégration du cytoplasme ovocytaire. Des lésions, semblables à celles observées dans nos échantillons, ont été rapportées chez des poissons exposés à des doses sublétales d'insecticides ou à des métaux lourds (Sioson & Herrera, 1996 ; Dutta & Maxwell, 2003 ; Dutta & Dalal, 2008). Ces données suggèrent que la plus grande incidence des lésions au niveau des ovocytes, chez les femelles peuplant la station (MJ) située près de la zone agricole, est probablement due à l'exposition prolongée aux pesticides et/ou à des insecticides. Néanmoins, l'implication d'autres facteurs environnementaux, non examinés au cours de cette étude, est aussi probable.

Ces résultats montrent aussi que les effets des différents groupes de polluants semblent être liés au sexe. Ainsi, dans les stations MB et ML, zones contaminées par les métaux lourds (Yoshida *et al.*, 2002), les organoétains (Mzoughi *et al.*, 2005) et les HAPs (Louiz *et al.*, 2008), les testicules apparaissent plus sensibles que les ovaires. En revanche, les ovaires des gobies femelles, habitant des sites localisés à proximité des zones agricoles (MJ) et contaminés par les DDTs (Cheikh *et al.*, 2002), semblent être les plus affectés. En effet, il est bien connu qu'une exposition chronique à des composés aromatiques, à des composés organochlorés ou aux métaux lourds peut influencer sur le succès de la reproduction en affectant la qualité des gamètes et des œufs, ce qui provoque une diminution de la fécondité (Johnson *et al.*, 1997 ; Trigui El Menif *et al.*, 2006).

L'ensemble des résultats obtenus a donc mis en évidence une perturbation du potentiel reproducteur des gobies de la lagune de Bizerte et nous a fourni de nouvelles informations sur la présence d'altérations gonadiques chez des gobies exposés à une pollution anthropogénique. Nos observations nous ont conduits à émettre l'hypothèse d'une exposition à des polluants chimiques à pouvoir perturbateur de la fonction reproductrice. Cette hypothèse n'exclut pas d'autres facteurs ou polluants non étudiés dans le cadre de ce travail et on ne peut négliger d'éventuels phénomènes de synergie. En effet, il est bien connu que les xénobiotiques peuvent occasionner des anomalies au niveau de la structure des gonades des poissons et des perturbations de leur fonction (Linderoth *et al.*, 2006 ; Marchand *et al.*, 2008), ce qui constitue une menace pour la fitness de la population

et la survie de l'espèce dans le milieu. De ce fait, certaines recherches se sont alors intéressées à la détermination de l'impact de ces substances sur des populations de poissons en milieu naturel (Fossi *et al.*, 2002 ; Hinck *et al.*, 2008). Ainsi, diverses perturbations ont été rapportées comme la présence d'anomalies histologiques au niveau des gonades, la présence d'ovocytes dans les testicules de poissons mâles (Hecker *et al.*, 2006 ; Louiz *et al.*, 2009) ou l'inhibition du développement des gonades (Snyder *et al.*, 2004) ainsi qu'une synthèse anormale de la vitellogénine chez les femelles, les mâles et les juvéniles, induite par de nombreux xénobiotiques pouvant mimer l'action du 17 $\alpha$ -œstradiol. Ce biomarqueur, la vitellogénine, est utilisé chez différentes espèces aquatiques pour caractériser la contamination œstrogénique des milieux (Flammarion *et al.*, 2000 ; Kleinkauf *et al.*, 2004).

## CONCLUSION

La présente étude a permis de mettre en évidence, pour la première fois, des altérations histologiques des gonades chez *Zosterisessor ophiocephalus* dans la lagune de Bizerte qui représente un environnement lagunaire fortement anthropisé. Nos observations nous ont conduits à émettre l'hypothèse d'une exposition à des polluants chimiques à pouvoir perturbateur de la fonction reproductrice. Cette hypothèse n'exclut pas d'autres facteurs et on ne peut négliger d'éventuels phénomènes de synergie. Ces résultats laissent ainsi présager de graves conséquences sur le recrutement des poissons de la lagune de Bizerte. Néanmoins, il est nécessaire de compléter ces observations préliminaires par des études en condition contrôlée afin de confirmer la relation action-effet des polluants sur le potentiel reproducteur des gobies.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions le Pr. Néziha Ghanem-Boughanmi (Faculté des Sciences de Bizerte, Tunisie) et le Pr. Ahmed Rejeb (École Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi-Thabet) pour avoir fourni une assistance technique en histologie et pour leur aide dans l'identification des anomalies histologiques. Nous remercions aussi les relecteurs anonymes pour leurs critiques qui ont contribué à améliorer le manuscrit.

## RÉFÉRENCES

- ABIDLI, S., LAHBIB, Y., GONZALEZ, P.R., ALONSO G.J.I. & TRIGUI EL-MENIF, N. (2013).— Imposex and butyltin burden in *Bolinus brandaris* (Mollusca, Gastropoda) and sediment from the Tunisian coast. *Hydrobiologia*, 714: 13-24.
- ADAMS, S.M., BROWN, A.M. & GOEDE, R.W. (1993).— A quantitative health assessment index for rapid evaluation of fish condition in the field. *Trans. Am. Fish Soc.*, 122: 63-73.
- ANDRADE, R.F., BAZOLLI, N., RIZZO, E. & SATO, Y. (2001).— Continuous gametogenesis in the neotropical freshwater teleost, *Bryconops affinis* (Pisces: Characidae). *Tiss. Cell.*, 33: 524-532.
- BARHOUMI, B., LEMENACH, K., DÉVIER, M.-H., BEN AMEUR, W., ETCHEBER, H., BUDZINSKI, H., CACHOT, J. & DRISS, M.R. (2014b).— Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediments from the Bizerte Lagoon, Tunisia: levels, sources, and toxicological significance. *Environ. Monit. Assess.*, 186: 2653-2669.
- BARHOUMI, B., LEMENACH, K., DÉVIER, M.-H., EL MEGDICHE, Y., HAMMAMI, B., BEN AMEUR, W., BEN HASSINE, S., CACHOT, J., BUDZINSKI, H. & DRISS, M.R. (2014a).— Distribution and ecological risk of polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides (OCPs) in surface sediments from the Bizerte lagoon, Tunisia. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 21: 6290-302.
- BARTON, B.A., SCHRECK, C.B. & BARTON, L.D. (1987).— Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress on growth, physiological conditions, and stress responses in juvenile rainbow trout. *Dis. Aquat. Org.*, 2: 173-185.
- BELLAKHAL-FARTOUNA, M. & BELLAKHAL, M. (2013).— Fluctuations spatio-temporelles du peuplement phytoplanctonique au niveau d'un écosystème lagunaire au nord de la Tunisie. In : *Rapp. Comm. Int. Mer Médit., Proceedings of a symposium, 40th CIESM Congress, 28 Oct- 1 Nov 2013, Marseille, France.*

- BEN AMEUR, W., TRABELSI, S., EL BEDOUI, B. & DRISS, M.R. (2011).— Polychlorinated biphenyls in sediments from Ghar El Melh lagoon, Tunisia. *Bull Environ Contam Toxicol.*, 86: 539-544.
- BEN-GARALI, A., OUAHAD, M. & GUEDDARI, M. (2010).— Contamination of superficial sediments by heavy metals and iron in the Bizerte lagoon, northern Tunisia. *Arab. J. Geosci.*, 3: 295-306.
- BILLARD, R. (1983).— Spermiogenesis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Cell. Tissue Res.*, 233: 265-284.
- BILLARD, R., JALABERT, B. & BRETON, B. (1972).— Les cellules de Sertoli des poissons-téléostéens I. Étude ultrastructurale. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 12: 19-32.
- CHEIKH, M., DEROUICHE, A. & DRISS, M.R. (2002).— Détermination par (CPG-ECD) des résidus de pesticides organochlorés dans les sédiments de la lagune de Bizerte. *Bull. Inst. Nat. Sci. Tech. Mer.*, 7: 160-163.
- CHELLAPPA, S., HUNTINGFORD, F.A., STRANG, R.H.C. & THOMSON, R.Y. (1995).—Condition factor and hepatosomatic index as estimates of energy status in male three-spined stickleback. *J. Fish Biol.*, 47: 775-787.
- CHEN, Y., ZUO, Z., CHEN, S., YAN, F., CHEN, Y., YANG, Z. & WANG, C. (2008).— Reduction of spermatogenesis in mice after tributyltin administration. *Toxicology*, 251: 21-27.
- CHOUBA, L., KRAIEM, M., NJIMI W, TISSAOUI, C.H., THOMPSON, J.R. & FLOWER, R.J. (2007).— Seasonal variation of heavy metals (Cd, Pb and Hg) in sediments and in mullet, *Mugil cephalus* (Mugilidae), from the Ghar El Melh Lagoon (Tunisia). *TWB, Transit. Waters Bull.*, 4: 45-52.
- CRUZ-LANDIM, C., ABDALLA, F.C. & CRUZ-HÖFLING, M.A. (2005).— Morphological changes of Sertoli cells during the male reproductive cycle of the teleost *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Braz. J. Biol.*, 65: 241-249.
- DEROUICHE, A., SANDA, Y.G. & DRISS, M.R. (2004).— Polychlorinated biphenyls in sediments from Bizerte lagoon, Tunisia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 73: 810-817.
- DUTTA, H.M. & DALAL, R. (2008).— The effect of endosulfan on the ovary of Bluegill Sunfish: A most pathological study (*Lepomis macrochirus*). *Int. J. Environ. Res.*, 2: 215-224.
- DUTTA, H.M. & MAXWELL, L.B. (2003).— Histological examination of sublethal effects of diazinon on ovary of bluegill, *Lepomis macrochirus*. *Envir. Poll.*, 121: 95-102.
- DUTTA, H.M., MISQUITTA, D. & KHAN, S. (2006).— The effects of endosulfan on the testes of Bluegill Fish, *Lepomis macrochirus*: A histopathological study. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 51: 149-156.
- DUTTA, H.M., NATH, A., ADHIKARI, S., ROY, P.K., SINGH, N.K. & DATTA MUNSHI, J.S. (1994).— Sublethal malathion induced changes in the ovary of an air-breathing fish, *Heteropneustes fossilis*: a histological study. *Hydrobiologia*, 294: 215-218.
- DYER, C.A. (2007).— Heavy metals as endocrine-disrupting chemicals. Pp 111-133 in: A.C. Gore (ed.), *Endocrine-disrupting chemicals: From basic research to clinical practice*. Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- EASTWOOD, S. & COUTURE, P. (2002).— Seasonal variations in condition and liver metal concentrations of yellow perch (*Perca flavescens*) from a metal-contaminated environment. *Aquat. Toxicol.*, 58: 43-56.
- FLAMMARION, P., BRION, F., PALAZZI, X., BABUT, M., GARRIC, J., MIGEON, B., NOURY, P., THYBAUD, E. & TYLER, C.R. (2000).— Induction of fish vitellogenin and alterations in testicular structure: preliminary results of estrogenic effects in chub (*Leuciscus cephalus*). *Ecotoxicology*, 9: 127-135.
- FOSSI, M.C., CASINI, S., MARSILI, L., NERI, G., MORI, G., ANCORA, S., MOSCATELLI, A., AUSILI, A. & NOTARBARTOLO-DI-SCIARA, G.V. (2002).— Biomarkers for endocrine disruptors in three species of Mediterranean large pelagic fish. *Mar. Environ. Res.*, 54: 667-671.
- GHRABI, A., YOSHIDA, M. & SHIPBOARD SCIENTISTS TEAM OF RPP-SEPMCL LEG BIZERTE, (2002).— Off-shore sampling survey of Bizerte Lagoon, March 2002. Leg-related information and *in situ* observation data. Étude de la pollution environnementale des lagunes côtières en Tunisie (RPP-SEPMCL). Cas du lac de Bizerte. *RPP-SEPMCL Initial Report*: 1-12.
- HECKER, M., MURPHY, M.B., COADY, K.K., VILLENEUVE, D.L., JONES, P.D., CARR, J.A., SOLOMON, K.R., SMITH, E.E., KRAAK, G.V.D., GROSS, T., PREEZ, L.D., KENDALL, R.J. & GIESY, J.P. (2006).— Terminology of gonadal anomalies in fish and amphibians resulting from chemical exposures. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 187: 103-131.
- HINCK, J.E., BLAZER, V.S., DENSLow, N.D., ECHOLS, K.R., GALE, R.W., WIESER, C., MAY, T.W., ELLERSIECK, M., COYLE, J.S.J. & TILLITT, D.E. (2008).— Chemical contaminants, health indicators, and reproductive biomarker responses in fish from rivers in the Southeastern United States. *Sci. Total Environ.*, 390: 538-557.
- HOLM, G., NORRGREN, L. & LINDÉN, O. (2006).— Reproductive and histopathological effects of long-term experimental exposure to bis(tributyltin)oxide (TBTO) on the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus. *J. Fish Biol.*, 38: 373-386.

- JOHNSON, L.L., SOL, S.Y., LOMAX, D.P., NELSON, G.M., SLOAN, C.A. & CASILLAS, E. (1997).— Fecundity and egg weight in English sole, *Pleuronectes vetulus*, from Puget Sound, Washington: influence of nutritional status and chemical contaminants. *Fish. Bull. U. S.*, 95: 231-49.
- KLEINKAUF, A., SCOTT, A.P., STEWART, C., SIMPSON, M.G. & LEAH, R.T. (2004).— Abnormally elevated VTG concentrations in flounder (*Platichthys flesus*) from the Mersey Estuary (UK) a continuing problem. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 58: 356-364.
- KOVAČIĆ, M. (2005).— An annotated checklist of the family Gobiidae in the Adriatic Sea. *Ann. Ser. Hist. Nat.*, 15: 1-24.
- LAHAYE, J. (1980).— Les cycles sexuels chez les poissons marins, *Oceanis*, 6: 637-654.
- LAHBIB, Y., ABIDLI, S. & TRIGUI EL MENIF, N. (2012).— TBT pollution in Tunisian coastal lagoons as indicated by imposex in *Hexaplex trunculus* (Gastropoda: Muricidae). *Transit. Waters Bull.*, 6: 34-41.
- LAHBIB, Y., BOUMAIZA, M. & TRIGUI EL MENIF, N. (2008).— Imposex expression in *Hexaplex trunculus* from the North Tunis Lake transplanted to Bizerta channel (Tunisia). *Ecol. Indic.*, 8: 239-245.
- LALËYÈ, P., PHILIPART, J.C. & HEYMANS, J.C. (1995).— Cycle annuel de l'indice et de la condition chez deux espèces de *Chrysiichthys* (*Siluriformes, Bagridae*) au lac Nokoué et la lagune de Porto-Novo. *Cybium*, 19: 131-142.
- LINDEROTH, M., HANSSON, T., LIEWENBORG, B., SUNDBERG, H., NOAKSSON, E., HANSON, M., ZEBÜHR, Y. & BALK, L. (2006).— Basic physiological biomarkers in adult female perch (*Perca fluviatilis*) in a chronically polluted gradient in the Stockholm recipient (Sweden). *Mar. Pollut. Bull.*, 53: 437-450.
- LLORET, J. & PLANES, S. (2003).— Condition, feeding and reproductive potential of white seabream *Diplodus sargus* as indicators of habitat quality and the effect of reserve protection in the northwestern Mediterranean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 248: 197-208.
- LOUIZ, I. (2010).— *Caractérisation d'outils diagnostiques pour la biosurveillance de l'environnement aquatique : les poissons gobiidés de la lagune de Bizerte*. PhD thesis. University of Tunis El Manar, Tunisia.
- LOUIZ, I., BEN-ATTIA, M. & BEN-HASSINE, O.K. (2013).— Cycle de reproduction et maturité sexuelle de *Zosterisessor ophiocephalus* (Gobiidae) sur les côtes nord de la Tunisie (lagune de Bizerte). *Revue F. S. B.*, 11: 86-99.
- LOUIZ, I., BEN-ATTIA, M. & BEN-HASSINE, O.K., (2009).— Gonadosomatic index and gonad histopathology of *Gobius niger* (Gobiidae, Teleost) from Bizerta lagoon (Tunisia): Evidence of reproduction disturbance. *Fish. Res.*, 100: 266-273.
- LOUIZ, I., KINANI, S., GOUZE, M.E., BEN ATTIA, M., MENIF, D., BOUCHONNET, S., PORCHER, J.M., BEN HASSINE O.K. & AÏT-AÏSSA, S. (2008).— Monitoring of dioxin-like, estrogenic and anti-androgenic activities in sediments of the Bizerta lagoon (Tunisia) by means of in vitro cell-based bioassays: contribution of low concentrations of polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs). *Sci. Total Environ.*, 402: 318-329.
- LOUIZ, I., MENIF, D., BEN ATTIA, M. & BEN HASSINE, O.K. (2007).— Incidence des déformations squelettiques chez trois espèces de Gobiidae de la lagune de Bizerte (Tunisie). *Cybium*, 31: 209-216.
- MAHMOUDI, E. (2003).— *La méiofaune de deux lagunes perturbées : Ghar El Melh et Boughrar*. Thèse de doctorat, Université 7 Novembre, Carthage.
- MARCHAND, M.J., PIETERSE, G.M. & BARNHOORN, I.E.J. (2008).— Preliminary results on sperm motility and testicular histology of two feral fish species, *Oreochromis mossambicus* and *Clarias gariepinus*, from a currently DDT-sprayed area, South Africa. *J. App. Ichthyol.*, 24: 423-429.
- MARTOJA, R. & MARTOJA-PIERSON, M. (1967).— *Initiation aux techniques de l'histologie animale*. Ed. Masson, Paris.
- MARTY, G.D., HOFFMANN, A., OKIHIRO, M.S., HEPLER, K. & HANES, D. (2003).— Retrospective analyses: bile hydrocarbons and histopathology of demersal rockfish in Prince William sound, Alaska, after the Exxon Valdez oil spill. *Mar. Environ. Res.*, 56: 569-584.
- MILES-RICHARDSON, S.R., KRAMER, V.J., FITZGERALD, S.D., RENDER, J.A., YAMINI, B., BARBEE, S.J. & GIESY, J.P. (1999a).— Effects of waterborne exposure of 17  $\beta$ -estradiol on secondary sex characteristics and gonads of fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Aquat. Toxicol.*, 47: 129-145.
- MILES-RICHARDSON, S.R., PIERENS, S.L., NICHOLS, M., KRAMER, V.J., SNYDER, E.M., SNYDER, S.A., RENDER, J.A., FITZGERALD, D. & GIESY, J.P. (1999b).— Effects of waterborne exposure to 4-nonylphenol and nonylphenol ethoxylate on secondary sex characteristics and gonads of Fathead Minnows (*Pimephales promelas*). *Environ. Res. Section A*, 80: 122-137.
- MILLER, P.J. (1984).— The tokology of Gobioid fishes. Pp 120-153 In: G.W. Potts & R.J. Wootton (eds), *Fish reproduction: Strategies and tactics*. Academic Press, London.
- MILLER, P.J. (1986).— Gobiidae. Pp 1019-1085 In: P.J.P Whitehead, M.L. Bauchot, J.C. Hureau, J. Nielsen & E. Tortonese (eds), *Fishes of the Northeastern Atlantic and the Mediterranean*. Vol.3. UNESCO, Paris.
- MZOUGH, N., LESPE, G., BRAVO, T.M., DACHRAOUI, M. & POTIN-GAUTIER, M. (2005).— Organotin speciation in Bizerte lagoon (Tunisia). *Sci. Total Environ.*, 349: 211-222.

- NOURISSON, D.H., SCAPINI, F., MASSI, L. & LAZZARA, L. (2013).— Optical characterization of coastal lagoons in Tunisia: Ecological assessment to underpin conservation. *Ecol. Inform.*, 14:79-83.
- PALLAS, P.S. (1811).— Zoographia rosso-asiatica, sistens omnium animalium in extenso Imperio Rossico et adjacentibus maribus observatorum recensionem, domicilia, mores et descriptiones anatomen atque icones plurimorum. *Petropoli*, 3: 428.
- PIETERSE, G.M. (2004).— *Histopathological changes in the testis of Oreochromis mossambicus (Cichlidae) as a biomarker of heavy metal pollution*. PhD thesis, The Rand Afrikaans University.
- RUSSELL, L.D., ETLIN, R.A., HIKIM, A.P.S. & CLEGG, E.D. (1990).— *Histological and histopathological evaluation of the testis*. Cache River Press, Clearwater, Florida.
- SAKKA HLAILI, A., CHIKHAOUI M.A., EL GRAMI, B. & MABROUK, H. (2003).— Variation hiverno-estivale de la communauté phytoplanctonique de la lagune de Bizerte en milieux naturel et fertilisé en nutriments. *Revue F. S. B.*, 2: 37-49.
- SIOSON, L.C. & HERRERA, A.A. (1996).— Impact of nickel intoxication on ovarian histology in *Oreochromis mossambicus*. *Sci. Diliman (Philippines)*, 7 & 8: 14-21.
- SNYDER, E.M., SNYDER, S.A., KELLY, K.L., GROSS, T.S., VILLENEUVE, O.D.L., FITZGERALD, S.D., VILLALOBOS, S.A. & GIESY, J.P. (2004).— Reproductive responses of Common Carp (*Cyprinus carpio*) exposed in cages to influent of the Las Vegas Wash in Lake Mead, Nevada, from late winter to early spring. *Environ. Sci. Technol.*, 38: 6385-6395.
- TESCH, F.W. (1971).— Age and growth. Pp 99-130 In: WE Ricker (ed.). *Methods for assessment of fish production in fresh waters*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- TRIGUI EL MENIF, N., LAHBIB, Y., LE PENNEC, M., FLOWER, R. & BOUMAIZA, M. (2006).— Intensity of the imposex phenomenon: impact on growth and fecundity in *Hexaplex trunculus* (Mollusca: Gastropoda) collected in Bizerte lagoon and channel (Tunisia). *Cah. Biol. Mar.*, 47:165-175.
- WALLACE, R.A. & SELMAN, K. (1981).— Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in Teleosts. *Am. Zoo.*, 21: 325-343.
- YOSHIDA, M., HAMDI, H., ABDULNASSER, I. & JEDIDI, N. (2002).— Contamination of potentially toxic elements (PTEs) in Bizerte lagoon bottom sediments, surface sediment and sediment repository, Pp 13-48 In: A. Ghrabi & M. Yoshida (eds.). *Study on environmental pollution of Bizerte Lagoon. Tunisia: INRS- JICA Publishers*.