

Écotoxicologie

EFFETS DE LA POLLUTION PAR LES MÉTAUX SUR LE POTENTIEL REPRODUCTEUR DE LA PALOURDE *RUDITAPES DECUSSATUS* (L.) ISSUE DU GOLFE DE GABÈS (TUNISIE)

par

W. SMAOUI-DAMAK¹, B. BERTHET^{2,3},
T. REBAI⁴ et A. HAMZA-CHAFFAI¹

Ce travail est réalisé dans un objectif de surveillance de la qualité de l'environnement en utilisant la palourde *Ruditapes decussatus* comme support biologique.

Dans un premier temps, nous avons réalisé une étude préliminaire qui nous a permis l'identification et le choix de deux sites de prélèvements dans le Golfe de Gabès, sites différents par leur degré de contamination par les rejets industriels. Les sites en question sont : « El Hofra » qui est fortement contaminé par les métaux (en particulier le cadmium), et « Bordj d'Ungha », relativement moins contaminé et, de ce fait, il a été considéré comme site témoin.

Dans un deuxième temps, les cycles de reproduction des palourdes *Ruditapes decussatus* prélevées dans les deux sites Bordj d'Ungha et El Hofra ont été étudiés sur une période annuelle (juin 2001-juin 2002) par un suivi mensuel des stades de reproduction et des indices de maturité. Pour cela, une étude histologique a été établie avec pour buts, d'abord de suivre les différentes étapes de la gamétogenèse et ensuite de comparer les indices de maturité des gamètes chez les palourdes issues des deux sites. Les résultats obtenus ont montré que la gamétogenèse se déroule depuis mars jusqu'à décembre avec une seule phase d'émission des gamètes (octobre/décembre) et une courte phase d'inactivité sexuelle (janvier/février). La comparaison du déroulement du cycle reproducteur entre les palourdes des deux sites a révélé une absence de synchronisation entre les pontes femelles et la spermiation principale des mâles chez les individus du site El Hofra. Par ailleurs, un prolongement de la durée des stades de développement des gamètes chez les individus du site El Hofra a été observé. Nous avançons l'hypothèse que la pollution par les métaux pourrait perturber l'activité de la gonade en créant un déséquilibre hormonal. Le décalage observé entre les périodes de maturité des mâles et des femelles pourrait, à terme, avoir une influence sur le potentiel reproducteur de l'espèce.

Bulletin de la Société zoologique de France 133 (1-3)**Effects of metal pollution on the reproductive cycle of the clam
Ruditapes decussatus (L.) from the Gulf of Gabès (Tunisia)**

The bio-indicator, clam *Ruditapes decussatus*, was monitored to provide information about the variation of pollutants.

First, we conducted a preliminary study based on metal analysis in *Ruditapes decussatus* after which we identified two sites : the first site « El Hofra » proved to be the most contaminated (especially with Cd) and the second « Bordj d'Ungha » was less contaminated. The latter site was therefore considered as the control site.

The gametogenic cycle of the clam was also investigated by histological examination over a period of 12 months (from June 2001 to June 2002). Results showed that gametogenesis occurred from March to December in clams from both sites, with a short inactive period (January-February). Males and females from the reference site of Bordj d'Ungha were synchronous. However, for clams at El Hofra, spawning of both sexes was asynchronous. Clams from El Hofra also showed a longer period of development. It is hypothesized that metal pollution could disturb the activity of the gonads by creating an hormonal imbalance. The shift of the period of maturity of males and females from the El Hofra site could influence the reproductive potential of this species.

Introduction

La région du golfe de Gabès est une zone à faible courantologie où les marées sont importantes, la salinité et la température sont assez élevées. Cette zone est réputée pour sa richesse en ressources halieutiques (65% de la production nationale). Cependant, cette région connaît depuis un certain temps une activité industrielle assez intense qui se développant le long du littoral, engendre une pollution de l'écosystème. L'espèce *Ruditapes decussatus*, de par son régime filtreur, sa sédentarité et son abondance dans le golfe de Gabès constitue un support biologique adéquat pour l'étude de la pollution (HAMZA-CHAFFAI *et al.*, 1999, 2000)

Dans le présent travail, nous avons choisi 2 sites du golfe de Gabès : le site « El Hofra » situé à proximité du port de pêche de Sfax, qui est très riche en métaux, en particulier le cadmium. Le site « Bordj d'Ungha », situé à 44 km du sud de Sfax, qui est relativement moins contaminé par les métaux. Le choix de ces deux sites est le résultat d'une étude préliminaire qui a été réalisée sur une population naturelle de palourdes issue de différentes régions du golfe de Gabès (SMAOUI-DAMAK *et al.*, 2003).

Afin d'étudier les effets de la pollution par les métaux sur le potentiel reproducteur de la palourde, nous avons :

- comparé, par l'intermédiaire d'une étude histologique, l'évolution du cycle reproducteur de palourdes récoltées dans ces 2 sites ;
- comparé les indices de maturité des gamètes entre les animaux de ces deux sites d'étude.

Pollution par les métaux

Matériels et méthodes

Étude du cycle reproducteur

Des prélèvements mensuels de 15 individus, de taille comprise entre 37 et 40 mm ont été réalisés dans chacun des deux sites (« Bordj d'Ungha », site de référence et « El Hofra », site riche en Cd) pendant une période de douze mois (de juin 2001 à juin 2002).

Pour chaque individu, un morceau de gonade a été fixé pendant 48 h dans du réactif du Bouin, puis passées directement dans des bains d'alcool de titre croissant (70° à 95°) afin d'être déshydratées. Les échantillons ont ensuite été trempés dans 3 bains successifs de toluène (solvant intermédiaire), puis imprégnés par la paraffine liquide (transportées d'un bain de paraffine à l'autre sur une platine chauffante tiède). Des coupes de 3µm d'épaisseur ont été réalisées avec un microtome mécanique type HM 315, colorées à l'hématoxyline puis à l'éosine avant d'être montées pour être examinées au microscope.

Identification des stades reproducteurs

L'identification des stades reproducteurs se base sur les caractéristiques morphologiques décrivant la gonade (tubule gonadique, produits sexuels) (LUBET, 1959). Nous avons identifié 7 stades chez la femelle et 7 stades chez le mâle, ainsi que des cas d'hermaphrodisme (Tableau 1).

Une fois, les différents stades de développement identifiés, la maturation sexuelle a été représentée pour chaque mois en terme de pourcentage relatif de chaque stade. Des numéros de 1 à 7 ont ainsi été attribués pour les mâles et les femelles. Un indice de maturité (IM) a été aussi déterminé pour chaque mois en utilisant la formule suivante :

$$IM = 1a_1 + 2a_2 + 3a_3 + 4a_4 + 5a_5 + 6a_6 + 7a_7$$

$a_1, a_2, a_3, \dots, a_7$ représentant les pourcentages d'individus pour chaque stade, en progressant du stade indifférencié jusqu'au stade passé.

Une analyse de variance (ANOVA, $P < 0,05$) a été effectuée pour comparer les stades de développement de la gonade. Des comparaisons des moyennes ont été effectuées par le calcul des intervalles de confiance (risque de 5 %).

Résultats

Cycle reproducteur

Les variations saisonnières des stades de reproduction chez les mâles et femelles des sites Bordj d'Ungha et El Hofra sont présentées sur la figure 1.

Site de référence Bordj d'Ungha (figure 1)

En janvier et février 2002, 100 % des femelles ont une gonade inactive (stade indifférencié + stade passé). En avril, la composition de la population est hétérogène avec la présence de 4 stades (35,5 % pré-vitellogénèse, 35,5 % vitellogénèse, 12,5 %

Bulletin de la Société zoologique de France 133 (1-3)

post-vitellogénèse et 12,5 % passé). En juin 2002, plus de la moitié de la population (77%) est au stade mûr (post-vitellogénèse). En octobre 2001, a lieu l'émission des gamètes (60% en émission). Toutefois, 40 % des femelles sont encore en ponte.

Chez les mâles, le stade mûr prédomine pendant tout le cycle sexuel sauf en décembre, janvier, février et mars. En octobre, 80 % des gonades sont en spermiation, stade qui se poursuit en décembre, janvier et s'achève en février. En décembre a lieu l'émission des gamètes pour 57 % des mâles. En janvier-février, 70 à 80 % des mâles ont une gonade inactive (stade indifférencié + stade passé). En mars-avril, 30 à 70 % des gonades mâles sont au début du stade de développement (stade 2). En juin 2001, 60 % des gonades mâles sont au stade de développement avancé (stade 3) et 40 % sont à l'état mûr.

En conclusion, en septembre, octobre et décembre une grande proportion de mâles et de femelles sont en phase de ponte et d'émission des gamètes, il y a donc synchronisation entre mâles et femelles.

En juin 2002, 6,6 % d'individus apparaissent à l'état hermaphrodite montrant des mâles et des femelles au stade mûr.

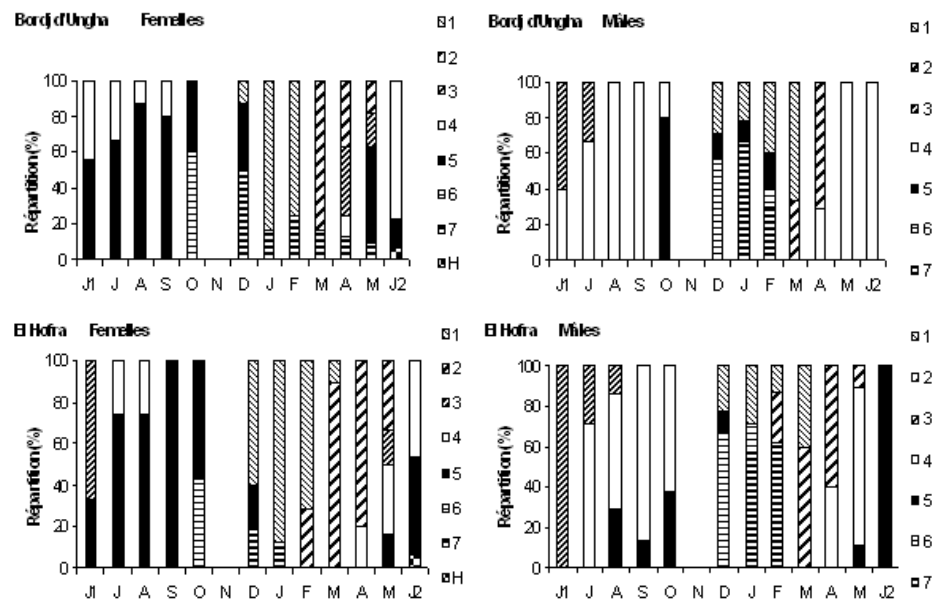


Figure 1

Déroulement de la gamétogenèse chez les palourdes femelles et mâles issues des 2 sites, de juin 2001 (J1) à juin 2002 (J2) (n=15). Stades de reproduction : 1 : indifférencié, 2 : pré-vitellogénèse (femelle) ou développement précoce (mâle), 3 : vitellogénèse (femelle) ou développement avancé (mâle), 4 : post-vitellogénèse (femelle) ou mûr (mâle), 5 : ponte ou spermiation, 6 : émission, 7 : passé, H : hermaphroditisme.

Gonad stages of males and females of Ruditapes decussatus from both sites, from June (J1) 2001 to June (J2) 2002 (n=15). Reproductive stages: 1: undifferentiated; 2: pre-vitellogenic stage for female or early development for male; 3: vitellogenic stage for female or late development for male; 4: post-vitellogenic stage/ripe; 5: spawning; 6: emission; 7: spent; H: hermaphroditism.

Pollution par les métaux

Site El Hofra (figure 1)

Les femelles du site El Hofra sont en ponte toute l'année, sauf en janvier, février, avril et mai, avec des valeurs supérieures à 50 % de juillet à septembre (100 % en septembre). En janvier, 100% des femelles ont une gonade inactive (stade indifférencié + stade passé). Le stade pré-vitellogénèse s'étale sur 4 mois (28,5 % en février, 90 % en mars, 80 % en avril et 33 % en mai). En avril, les stades de reproduction ne s'enchaînent plus. En effet, 80 % des gonades femelles sont au stade pré-vitellogénèse, 20 % apparaissent à l'état mûr (post-vitellogénèse), tandis que le stade vitellogénèse n'a pas été observé. Cependant, le stade vitellogénèse apparaît en juin 2001 (66,6 %) puis en mai 2002 avec une faible proportion de 16 %.

En juin (J1) 100 % des gonades mâles sont au stade de développement avancé (stade 3). Chez les mâles du site El Hofra deux périodes de spermiation ont été enregistrées pendant le cycle annuel : une spermiation principale a lieu en juin 2002 (100 % des mâles sont en spermiation), la deuxième d'août à octobre est moins importante (28,6 à 37,5 % en spermiation) et suivie en décembre d'une phase d'émission des gamètes (66,6 %). En janvier-février, la gonade est inactive (stade indifférencié + stade passé) avec une proportion de 86 % en janvier et 75 % en février. En mars, la gonade mâle est au début de son développement (60 % en stade 2 et 40 % indifférencié). En avril le développement de la gonade se poursuit (avec 60 % des mâles en stade 2 et 40 % à l'état mûr).

La spermiation principale qui a lieu en juin 2002 chez les mâles du site El Hofra ne coïncide pas avec la période de ponte et d'émission des gamètes chez les femelles (septembre-octobre). Les mâles et les femelles du site El Hofra sont donc dans leur majorité asynchrones, avec une coïncidence qui ne se produit que pour la spermiation secondaire des mâles (octobre).

En juin 2002, 6,6% des gonades sont hermaphrodites avec des mâles et des femelles aux stades mûrs.

Indice de maturité

Les indices de maturité des mâles et des femelles des palourdes issues des sites Bordj d'Ungha et El Hofra sont présentés sur la figure 2.

Chez les femelles du site Bordj d'Ungha l'indice de maturité se maintient élevé de juin 2001 (4,5) à décembre (5,1). Il est maximum en octobre (5,6) et minimum en janvier (1,9). De février à mai sa valeur augmente de 2 à 4,2.

L'indice de maturité ne montre pas de différence significative entre les femelles des deux sites de juillet à octobre. En revanche, chez les femelles du site El Hofra cet indice est significativement inférieur à celui des femelles du site Bordj d'Ungha en juin 2001, décembre, février, mars, avril et mai.

Contrairement aux femelles, les indices de maturité des mâles des sites Bordj d'Ungha et El Hofra ne présentent pas de différence significative entre eux, sauf en juin 2002 où la maturité des gamètes des individus du site El Hofra est plus précoce. Ces indices sont élevés dans les 2 sites de juin (3-3,4) à février (4,1-4,9). Ils chutent en mars (1,4-1,8) puis augmentent de nouveau d'avril (1,3-1,6) à juin 2002 (3,7-4,6).

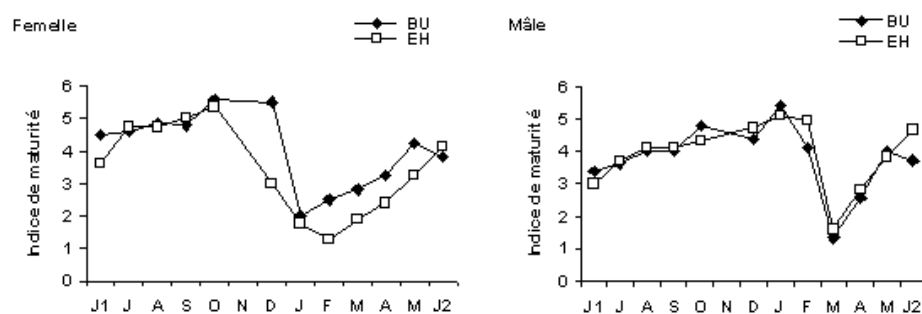


Figure 2

Indices de maturité chez les mâles et femelles des sites Bordj d'Ungha (BU) et El Hofra (EH) (n=15). Mois : de juin 2001 (J1) à juin 2002 (J2).

Maturity index of clams (males and females) from Bordj d'Ungha (BU) and El Hofra (EH) sites (n=15). Months: from June (J1) to June (J2) 2002.

Tableau 1

Description et critères des stades de développement et de l'hermaphroditisme des gonades de *Ruditapes decussatus*.

Description and criteria for development stages and the hermaphroditism of the gonads of Ruditapes decussatus.

Coefficient des stades	Mâle	Femelle	Description
1	Indifférencié		Tubules gonadiques vides
2	Développement précoce	Pré-vitellogenèse	Apparition des spermatogonies ou ovogonies (dont la taille reste <20 µm) sur le bord de la paroi des tubules
3	Développement avancé	Vitellogenèse	Prolifération des spermatocytes chez le mâle et d'ovocytes chez la femelle dont la taille est comprise entre 20 et 40 µm de diamètre.
4	Maturité	Post-vitellogenèse	Les spermatozoïdes ont des flagelles dirigés vers le centre des tubules. Les ovocytes sont peu nombreux et ont un diamètre > 40 µm.
5	Ponte		Libération partielle des gamètes
6	Emission		Tubules gonadiques vides
7	Passé		Tubules gonadiques dégénèrent
Hermaphroditisme			Présence à la fois des spermatozoïdes et des ovocytes à l'état mûr.

Pollution par les métaux

Discussion

Le déroulement de la gamétogenèse a lieu pendant la même période de l'année (mars à décembre, avec une petite variation selon les sexes) pour les palourdes des sites Bordj d'Ungha et El Hofra. Ceci est en accord avec les observations de TRIGUI-EL MENIF (1995) qui a montré que, d'une manière générale, chez la palourde tunisienne *Ruditapes decussatus* la gonade est en pleine activité de mars à décembre, et entre en phase de repos en janvier-février. Cet auteur a observé deux émissions principales des gamètes, l'une en été (mai-juin) et l'autre en automne (septembre-octobre). Pour les palourdes des sites Bordj d'Ungha et El Hofra toutefois, une seule phase d'émission a été observée en octobre pour les femelles et en décembre pour les mâles.

Le cycle reproducteur de la palourde *Ruditapes decussatus* du golfe de Gabès (présente étude) ressemble à celui des individus vivant dans d'autres régions méditerranéennes. En effet, chez des populations de palourdes *R. decussatus* du nord de l'Espagne, la gamétogenèse a lieu depuis le mois d'avril jusqu'au mois d'octobre avec une seule phase d'émission de gamètes (URRUTIA *et al.*, 1999). De même, le cycle reproducteur de *R. decussatus* (du NW de l'Espagne) décrit par OJEA *et al.* (2004) est caractérisé par une courte période d'inactivité sexuelle durant l'hiver suivie par un développement rapide et la prolifération des gonades pendant le reste de l'année. En revanche, le cycle de reproduction de la population marocaine *R. decussatus* est marquée par deux périodes de ponte, en mai-juin et septembre-octobre (SHAFFEE & DAOUDI, 1991), ce cycle étant conditionné par les variations annuelles de température (13-28°C) de la lagune où a lieu le prélèvement de ces palourdes.

R. decussatus est généralement gonochorique et ne présente pas de dimorphisme sexuel. Dans les sites Bordj d'Ungha et El Hofra des cas d'hermaphrodisme (6,6 %) ont été identifiés en juin 2002. Ces individus avaient une taille comprise entre 37 et 40 mm et avaient des gamètes mâles et femelles en phase de maturité et prêts à être émis. Cet hermaphrodisme semble être non lié à la pollution puisqu'il se retrouve chez les palourdes des deux sites, pendant la même période de l'année et montrant des gamètes au même stade de développement. Un hermaphrodisme juvénile occasionnel a été aussi observé chez quelques palourdes *R. decussatus* d'origine européenne, ayant une taille comprise entre 10 et 20 mm (LUCAS, 1969). Plus récemment, DELGADO & CAMACHO (2002) ont identifié un cas d'hermaphrodisme chez *R. decussatus* représentant 1 % de la population étudiée. Les deux individus hermaphrodites qui ont été identifiés étaient respectivement de taille 24,4 mm et 39,2 mm et avaient des gonades femelles au stade de développement alors que les gonades mâles étaient au stade mûr.

L'évolution saisonnière de l'indice de maturité des mâles dans les sites Bordj d'Ungha et El Hofra montre que leurs gamètes sont à l'état mûr pratiquement toute l'année, sauf en mars. D'autre part, ces indices ne présentent pas de différence significative entre les individus issus des sites Bordj d'Ungha et ceux d'El Hofra, sauf en juin 2002 où la maturité des gonades des palourdes du site contaminé El Hofra est atteinte plus tôt. Ceci est à l'origine de la ponte précoce observée à cette période chez ces individus. Néanmoins, des différences au niveau des stades de reproduction ont été observées entre les mâles des deux sites. En effet, chez les individus du site Bordj d'Ungha, une spermiation totale (80 % d'individus) a lieu en octobre alors que chez les individus du site

Bulletin de la Société zoologique de France 133 (1-3)

El Hofra la spermiation complète (100 % d'individus) s'est produite en juin 2002. En revanche, les femelles du site El Hofra présentent un retard de maturité sexuelle au cours des mois de juin 2001, décembre, février, mars, avril et mai. Le retard observé au niveau des gamètes femelles de ce site se traduit aussi par des perturbations au niveau des stades de reproduction. En effet, chez les palourdes du site contaminé, la continuité entre les stades de reproduction est interrompue au mois d'avril. Le stade vitellogenèse qui se situe entre les stades pré-vitellogenèse et post-vitellogenèse (ovocytes prêts à être pondus) n'existe pas. D'autre part, les stades de développement pré-vitellogenèse chez les femelles, ainsi que développement (stades 2 et 3) chez les mâles sont de durée plus longue chez les palourdes du site El Hofra que chez celles du site Bordj d'Ungha.

Des résultats similaires ont été aussi observés chez la palourde *Mya arenaria*. En effet GAGNE *et al.* (2002) ont montré que des individus provenant d'un site pollué par les rejets industriels et domestiques avaient une proportion plus importante d'individus au stade de développement que des palourdes du site de référence. D'après CERVERA *et al.* (2004), la prolongation du stade larvaire pourrait représenter une sorte de compensation contre l'effet nuisible du cadmium sur la croissance des individus. GAUTHIER-CLERC *et al.* (2002) ont aussi observé un retard dans la maturité des gamètes chez *Mya arenaria*, ainsi qu'une perturbation du métabolisme énergétique, dus à la pollution du site de prélèvement par les métaux traces (Cu, Hg, Pb et Zn). Cette perturbation a abouti à un déséquilibre dans la consommation et le stockage des réserves en glycogène et en lipides.

Conclusion

L'étude des cycles reproducteurs durant 12 mois de l'année a montré que la gamétogenèse se déroule depuis mars jusqu'en décembre, avec une seule phase d'émission des gamètes (octobre/décembre) et une courte phase d'inactivité sexuelle (janvier/février) chez les palourdes issues des deux sites. La comparaison du déroulement du cycle reproducteur entre les palourdes des deux sites fait apparaître quelques différences. Tout d'abord, l'absence de synchronisation entre les pontes femelles (en septembre) et la spermiation principale des mâles (en juin 2002) des individus du site contaminé d'El Hofra. Toutefois, en octobre-décembre, au moment de la spermiation secondaire, la synchronisation subsiste. Par ailleurs, un prolongement de la durée des stades de développement et un retard au niveau de la maturité des gamètes femelles des individus du site El Hofra ont été observés, tandis que chez les mâles, aucune différence significative n'a été observée entre la maturité des gamètes pour les palourdes issues des deux sites.

Nous pouvons donc supposer que la pollution par les métaux a engendré une perturbation du cycle reproducteur des palourdes ainsi qu'un retard de la maturation des gamètes. Ce décalage pourrait à terme avoir des conséquences sur le recrutement de l'espèce ainsi que sur son potentiel reproducteur.

Pollution par les métaux

1. Écotoxicologie Marine, UR 09-03, Université de Sfax,
IPEIS, BP 805, 3018 Sfax, Tunisie.
amel.chaffai@ipeis.rnu.tn ; wafa.damak@tunet.tn
2. Service d'Écotoxicologie, SMAB, Pôle Mer et Littoral, 2 rue de la Houssinière,
BP 92208, 44322 Nantes Cedex 3, France.
3. ICES, La Roche-sur-Yon, France. brigitte.berthet@univ-nantes.fr
4. Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, 3029 Sfax, Tunisie.
Tarek.Rebai@fmsf.rnu.tn

RÉFÉRENCES

- CERVERA, A., MAYMO, A.C., SENDRA, M., MARTINEZ-PARDO, R. & GARCERA, M.D. (2004).- Cadmium effects on development and reproduction of *Oncopeltus fasciatus* (Heteroptera : Lygaeidae). *J. Insect. Physiol.*, **50**, 737-749.
- DELGADO, M. & CAMACHO, A.P. (2002).- Hermaphroditism in *Ruditapes decussatus* (L.) (Bivalvia) from the Galician coast (Spain). *Sci. Mar.*, **66** (2), 183-185.
- GAGNE, F., BLAISE, C., PELLERIN, J. & GAUTHIER-CLERC, S. (2002).- Alteration of the biochemical properties of female gonads and vitellins in the clam *Mya arenaria* at contaminated sites in the Saguenay Fjord. *Mar. Environ. Res.*, **53**, 295-310.
- GAUTHIER-CLERC, S., PELLERIN, J., BLAISE, C. & GAGNE, F. (2002).- Delayed gametogenesis of *Mya arenaria* in the Saguenay Fjord (Canada): a consequence of endocrine disruptors? *Comp. Biochem. Physiol.*, **131C** (4), 457-467.
- HAMZA-CHAFFAI, A., AMIARD, J.C. & COSSON, R.P. (1999).- Relationship between metallothionein and metals in a natural population of the clam *Ruditapes decussatus* from Sfax coast: a non linear model using Box-Cox transformation. *Comp. Biochem. Physiol.*, **123C**, 153-163.
- HAMZA-CHAFFAI, A., AMIARD, J.C., PELLERIN, J., JOUX, L. & BERTHET, B. (2000).- The potential use of metallothionein in the clam *Ruditapes decussatus* as a biomarker of in situ metal exposure. *Comp. Biochem. Physiol.*, **127C**, 185-197.
- LUBET, P.E. (1959).- Recherches sur le cycle et l'émission des gamètes chez les pectinidés et les mytilidés. *Rev. Trav. ISTPM Paris*, **23** (4), 396-545.
- LUCAS, A. (1969).- Remarques sur l'hermaphrodisme juvénile de quelques vénérïdés (Bivalvia). *Malacologia*, **9** (1), 275-276.
- OJEA, J., PAZOS, A.J., MARTINEZ, D., NOVOA, S., SANCHEZ, J.L. & ABAD, M. (2004).- Seasonal variation and biochemical composition of the tissues of *Ruditapes decussatus* in relation to the gametogenic cycle. *Aquaculture*, **238**, 451-468.
- SHAFEE, M.S. & DAOUDI, M. (1991).- Gametogenesis and spawning in the carpet-shell clam, *Ruditapes decussatus* (L.) (Mollusca: Bivalvia), from the Atlantic coast of Morocco. *Aquacul. Fish. Manage.*, **22**, 203-216.
- SMAOUI-DAMAK, W., HAMZA-CHAFFAI, A., BERTHET, B. & AMIARD, J.C. (2003).- Preliminary study of the clam *Ruditapes decussatus* exposed in situ to metal contamination and originating from the Gulf of Gabès, Tunisia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **71**, 961-970.
- TRIGUI-EL MENIF, N. (1995).- *La palourde* (*Ruditapes decussatus*) *des côtes Tunisiennes : biométrie, reproduction et impact de l'environnement sur la bioaccumulation en métaux traces*. Thèse de 3^{ème} cycle. Université de Tunis II, 261 p.
- URRUTIA, M.B., IBARROLA, I., IGLESIAS, J.I.P. & NAVARRO, E. (1999).- Energetics of growth and reproduction in a high-tidal population of the clam *Ruditapes decussatus* from Urdaibai Estuary (Basque Country, N. Spain). *J. Sea. Res.*, **42**, 35-48.

