

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Mohammed Seddik Ben Yahia- Jijel

Faculté des Sciences de la

Nature et de la Vie

Département de Biologie

Moléculaire et Cellulaire



كلية العلوم الطبيعية والحياة

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du Diplôme : **Master Académique en Biologie**

Option : Toxicologie Fondamentale et Appliquée

Thème

Contribution à l'étude d'un produit de pêche destiné à la consommation humaine : la carpe commune (*Cyprinus carpio*)

Membres de Jury

Président : Dr. Derdoux W.

Examineur : Dr. Mohdeb R.

Encadreur : Dr. Ghorab I.

Présenté par :

Bouhali Hanane

Boumekik Sara

Année Universitaire 2020-2021

Numéro d'ordre (bibliothèque).....

Remerciements

On remercie Allah Le tout Puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

*Nous tenons à exprimer toute nos reconnaissances à notre directrice de mémoire **Mme Ghorab Ismahene**. Pour ses précieux conseils et son assistance tout au long de la période de travail.*

*Nous exprimons nos chaleureux remerciements à : **Mme Derdoukh Wafa**. Pour l'honneur qu'elle nous a fait en présidant ce jury.*

*Nous remercions sincèrement : **Mme Mohdeb Rima** pour avoir accepté d'examiner notre travail. Nous adressons aussi nos remerciements à tous les enseignants de notre département. Nos très chers parents, nos familles et nos amis pour leur soutien constant et leurs encouragements.*

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit possible, nous vous disons merci.

*Nous tenons à remercier **Mme S.Bouceta** et ses étudiantes de l'université de Skikda(département SNV) **Amel Belksier** et **Ahlam Babouri** pour leur contribution à ce travail.*

Dédicaces

A ceux qui m'ont toujours entourée d'amour et de tendresse.

*A ceux qui m'ont apporté aide et assistance afin que je puisse réussir dans ma
vie.*

A ceux qui sont pour moi le symbole de la force et de l'assistance.

*A ceux qui ont supporté mes caprices et m'ont permis de vivre dans un milieu
riche en connaissances, m'ont appris à aimer la science et à connaître le sens de la
fierté.*

A mes très chères parents « Papa et Maman », que Dieu les gardes et les protèges.

A mon fiancé khaled

A mes très chers frères : wael et aymen

A mes adorables sœurs : Malek, Nardjessa, Sara, Ilhem et Nora

A mon époux

A mon cher

HANANE

Dédicaces

A l'aide d'Allah, le tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A ma chère mère et à mon cher père lumière de ma vie qui m'ont soutenu tout au long de ma vie dans les moments difficiles et dans mes études.

Vous m'avez apporté soutien, écoute et encouragements qui ont été essentiels pendant ces années.

Ce mémoire est le vôtre car grâce à vos aides et ce travail a le jour pu voir.

A mes chères sœurs : zahra et soumia

A mes frères : adel, nadir et sohibe

A toute ma famille.

A tous mes amis Que Allah le tout puissant nous accorde un avenir meilleur.

SARA

Sommaire.....	i
Liste des tableaux.....	v
Liste des figures.....	vi
Liste des photos.....	vii
Liste des abréviations.....	viii
Introduction.....	01

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : La carpe et le produit de pêche

I.1. Généralités sur le produit de pêche.....	04
I.2. Production et Consommation des produits de pêche.....	04
I.2.1. A l'échelle nationale.....	04
I.3. L'espèce étudiée.....	05
I.3.1. Carpe commune (<i>Cyprinus carpio</i>)	06
I.3.2. Caractéristiques biologiques.....	06
I.3.3. Systématique.....	07
I.3.4. Régime alimentaire.....	08
I.3.5. Croissance.....	08
I.3.6. Reproduction.....	08
I.3.7. Habitat.....	09

Chapitre II : Les métaux lourds

II.1. Généralités sur les métaux lourds.....	10
II.2. Définition des métaux lourds.....	10
II.3. Principales propriétés physico-chimiques des métaux lourds.....	10
II.3.1. Solubilité.....	10
II.3.2. Persistance.....	10
II.3.3. Vaporisation.....	11
II.4. Classification des métaux lourds.....	11
II.4.1. Les métaux lourds essentiels.....	11
II.4.2. Les métaux lourds non essentiels.....	12
II.5. Sources des métaux lourds.....	12
II.5.1. Sources naturelles.....	12
II.5.2. Sources anthropiques.....	13

II.6. La pollution du milieu aquatique par les métaux lourds.....	14
II.7. Bioaccumulation des métaux lourds.....	15
II.8. Plomb.....	16
II.8.1. Sources d'exposition au plomb.....	17
II.8.1.1. Sources naturelles.....	17
II.8.1.2. Sources anthropogéniques.....	17
II.8.2. Utilisation du plomb.....	18
II.8.3. Toxicité du plomb.....	18
II.8.3.1. Voies d'exposition.....	18
II.8.4. Effet du plomb sur l'environnement.....	19
II.8.5. Effet du plomb sur la santé.....	19
Chapitre III : Les biomarqueurs	
III.1. Généralités sur les biomarqueurs.....	21
III.2. L'utilisation des biomarqueurs.....	21
III.3. Les différentes classes des biomarqueurs.....	22
III.3.1. Biomarqueurs d'exposition.....	22
III.3.2. Biomarqueurs d'effets.....	22
III.3.3. Biomarqueurs transcriptomiques qui intègrent l'exposition et les effets.....	22
III.4. Etude du stress oxydant.....	23
III.4.1. Définition du stress oxydant.....	23
III.4.2. Rôle physiologique de stress oxydant.....	24
III.4.3. Les radicaux libres.....	24
III.4.4. Les antioxydants cellulaires et le système de défense.....	25
III.5. Les biomarqueurs étudiés.....	26
III.5.1. Catalase (CAT).....	26
III.5.2. Glutathion s-transférase (GST).....	27
III.5.3. Glutathion (GSH).....	27
III.5.4. Malondialdéhyde (MDA).....	28

Partie II : Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Provenance des échantillons.....	30
---------------------------------------	----

I.1.1. Présentation de lac-Oubeira (EL-Kala)	31
I.1.2. Principe De L’essai.....	31
I.1.3. Choix des métaux.....	31
I.1.4. Critères de validité de l’essai.....	32
I.1.5. Description de la méthode.....	32
I.1.5.1. Récipients d’essai.....	32
I.1.5.2. Choix de matériel biologique (Bio-essaie)	33
I.1.5.2.1 Âge et taille des poissons.....	33
I.1.5.2.2. Maintenance des poissons.....	34
I.1.5.2.3 Eau (eau de dilution, milieu d’essai)	34
I.1.6. Procédure de l’expérience.....	35
I.1.6.1 Conditions d’exposition.....	35
I.2. Analyses effectuées.....	38
I.3. Dosage des métabolites.....	38
I.3.1. Préparation des échantillons.....	38
I.3.2. Extraction des métabolites.....	38
I.4. Dosage des métaux lourds.....	42
I.4.1. Analyse des métaux traces par spectrométrie d’absorption atomique SAA.....	42
I.4.2. Dosage des métaux dans le foie, les branchies et les muscles de la carpe.....	43
I.5. Les biomarqueurs du stress oxydant.....	44
I.5.1. Extraction de la fraction « S9 »	44
I.5.2. Dosage de l’activité de catalase.....	45
I.5.3. Dosage de glutathion (GSH).....	46
I.5.4. Dosage de l’activité de la glutathion-S-transférase (GST).....	47
I.5.5. Dosage du malondialdéhyde (MDA).....	48
I.6. Analyse statistique.....	49
I.6.1 Régression linéaire.....	49
I.6.2. Test t de student.....	49
I.6.3. L’analyse de variance à un seul critère.....	49
I.6.4. Le seuil de signification.....	50
Chapitre II : Résultats et interprétations	
II.1. Dosage des métabolites.....	51

II.1.1 Les protéines.....	51
II.1.2. Les glucides.....	52
II.1.3. Les lipides.....	54
II.2. Taux de métaux lourds.....	55
II.2.1. Concentration en Plomb.....	55
II.3. Dosage des bio-marqueurs.....	56
II.3.1. Activité catalase (CAT).....	56
II.3.3. L'activité de la glutathion (GSH).....	57
II.3.4. Activité de glutathion -S- transférase (GST).....	58
II.3.2. L'activité de malondialdéhyde (MDA).....	59

Chapitre III : Discussion

Discussion.....	61
Conclusion.....	66
Références bibliographiques.....	68

Annexes

Tableau	Titre	Page
01	Principaux éléments métalliques essentiels et non-essentiels.	12
02	Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement.	13
03	Propriétés physico-chimiques du plomb.	16
04	Différentes doses servant aux bio-essais.	35
05	Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides.	40
06	Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.	40
07	Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.	41
08	Réalisation de la gamme étalon de GSH.	47
09	Les teneurs en protéines (mg/100 mg de tissu) dans le foie, les branchies et les muscles de la carpe (<i>Cyprinus carpio</i>) (m±s, n= 3-5)	52
10	Les teneurs en glucides (mg/100 mg de tissu) dans le foie, les branchies et les muscles de la carpe (<i>Cyprinus carpio</i>) (m±s, n= 3-5)	53
11	Les teneurs en lipides (mg/100 mg de tissu) dans le foie, les branchies et les muscles de la carpe (<i>Cyprinus carpio</i>) (m±s, n= 3-5)	54
12	Les concentrations moyennes du plomb dans les organes de la carpe (<i>Cyprinus carpio</i>) traitée à différentes doses. (m ± s, n=3-5)	56
13	L'activité de la catalase (µM/min/mg de protéine) dans les organes (foie, branchie, muscle) de la carpe (<i>Cyprinus carpio</i>) (m±s, n=3-5)	57
14	Taux du glutathion (µM/min/mg de protéine) dans les organes (foie, branchies, muscle) de la carpe (<i>Cyprinus carpio</i>) (m±s, n=3-5).	58
15	Activité de glutathion S-transférase (µM/ml) dans les trois organes (foie, branchie, muscle) de la carpe (<i>Cyprinus carpio</i>) (m±s, n=3-5).	59
16	Taux de malonedialdehyde (µM/min/mg de protéine) dans les organes (foie, branchies et muscles) de la carpe (<i>Cyprinus carpio</i>) (m±s, n=3-5)	60

Figure	Titre	Page
01	La carpe commune (<i>cyprinus carpio</i>).	07
02	La croissance de la carpe commune	08
03	Cycle géochimique simplifié des métaux lourds	13
04	Schéma résumant le processus de bioaccumulation	16
05	La balance d'équilibre de stress oxydatif	23
06	La formation des radicaux libres	25
07	Système de défense enzymatique	26
08	Les défenses antioxydantes : systèmes non enzymatiques	26
09	La structure chimique de glutathion	28
10	Situation géographique de la zone d'échantillonnage de lac oubeira (Al kala)	31
11	Schéma récapitulatif expliquant les différentes analyses effectuées sur les carpes	37
12	Extraction et dosage des métabolites	39
13	La teneur en protéines dans les différents organes de la carpe (<i>Cyprinus carpio</i>) témoins et traitée (mg/100mg de tissu)	52
14	La teneur en glucides dans les différents organes de la carpe (<i>Cyprinus carpio</i>) témoins et traitée (mg/100mg de tissu)	53
15	La teneur en lipides dans les différents organes de la carpe (<i>Cyprinus carpio</i>) témoins et traitée (mg/100mg de tissu)	55
16	La concentration en plomb ($\mu\text{g/g}$) dans les organes des carpes étudiées.	56
17	L'activité de la Catalase ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) dans les trois organes des carpes étudiées.	57
18	Taux du glutathion ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) dans les organes (foie, branchies, muscle) des carpes	58
19	Activité de glutathion S-transférase ($\mu\text{M}/\text{ml}$) dans les trois organes (foie, branchie, muscle) des carpes étudiées	59
20	Taux de malonedialdéhyde ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) dans les trois organes (foie, branchies et muscle) des carpes étudiées	60

Photo	Titre	Page
01	Les échantillons au laboratoire (SNV-université 20 août 1955-skikda)	30
02	La mise en place de l'Aquari- expérimentation (Cliché Personnels. Laboratoire SNV-université du 20 août 1955).	33
03	Spectrophotomètre d'absorption atomique au laboratoire. (Université Mohammed Seddik Ben Yahia - Jijel).	43

µg : Micro gramme

µl : Micro litre

Abs : Absorbance

ANOVA : L'analyse de variance

ATSDR : Agence du registre des substances toxique et des maladies

BBC : bleu brillant de Coomassie

BSA : Bovine Sérum Albumine

CAT : Catalase

Cd : cadmium

CDNB : 1-Choro-2,4-dinitrobenzène

DO : Densité Optique

DTNB : Dithiobisnitrobenzoate

EDTA : Acide éthylène-diamine-tétracétique

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

ETM : Eléments Traces Métalliques

FAO : Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

GPx : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion

GSSG : Glutathion (forme oxydée)

GST : Glutathion S-transférase

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

HCl : Acide chloridrique

HNO₃ : Acide nitrique

K₂HPO₄ : Di-potassium hydrogénophosphate

KDa : Unité de masse atomique unifiée, Le kilodalton

KH₂P0₄ : Hydrogénophosphate de potassium

M : Molaire.

m±s : La moyenne ± L'écart type

MDA : Malondialdéhyde

Mg/l : Milligramme par litre

Min : minute

ml : millilitre

mM : Mili molaire

MPRH : Ministère de la pêche et des ressources halieutiques

NAD PH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide

OIML : organisation internationale de métrologie légale

OMS : Organisation mondial de la santé

ONS : Office national des statistiques

Pb : Plomb

pH : Potentiel hydrogène

Prot : Protéine

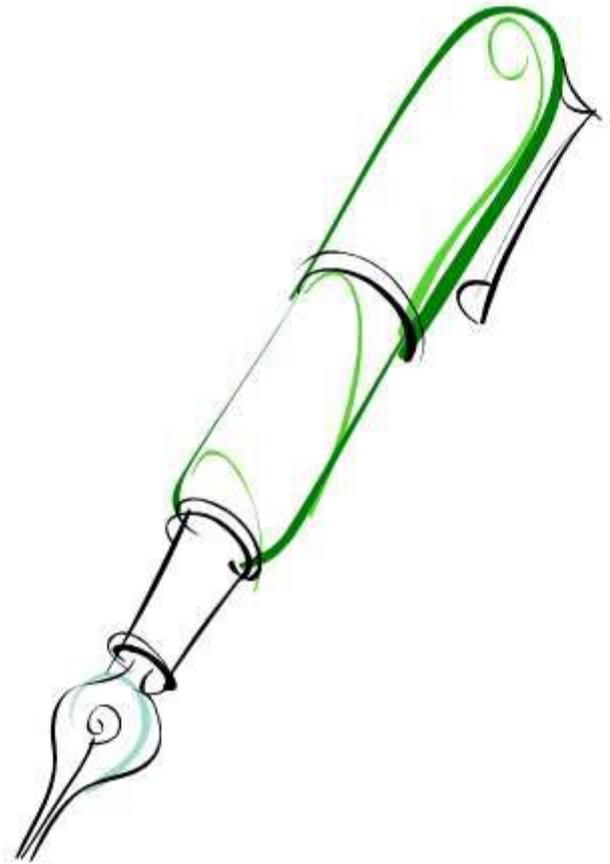
SAA : Spectrophotométrie d'absorption atomique

SOD : Superoxyde dismutase

TBA : Acide thiobarbiturique

TCA : Trichloracétat

Introduction



Les métaux lourds dans les écosystèmes aquatiques sont capables de persister dans l'environnement, et d'être incorporer dans les chaînes alimentaires. Ils pénètrent dans ces systèmes aquatiques principalement par des intrants naturels tels que l'altération et l'érosion des roches et des sources anthropiques, y compris les activités urbaines, industrielles et agricoles, le ruissellement terrestre et l'élimination des eaux usées (**Amira et Leghouchi, 2017**). Leurs multiples usages industriels, domestiques, agricoles, médicales et les applications technologiques ont conduit à leur large diffusion dans l'environnement (**Tchounwou et al., 2012**).

Les milieux aquatiques sont très sensibles aux éléments traces métalliques par la coexistence des phénomènes de bioaccumulation et de bioamplification. En effet, ces éléments traces se concentrent dans l'eau et les microorganismes aquatiques entraînant ainsi leur bioaccumulation dans les ressources aquatiques. Ces organismes vivants peuvent accumuler les polluants (dont les éléments traces) à des concentrations supérieures à celles de leur biotope (**Ouro-Sama et al., 2014**).

Les ETM sont la troisième source de risque pour l'alimentation humaine et animale après les mycotoxines et les micro-organismes. Ce rang est principalement dû aux contaminations détectées pour les poissons et les fruits de mer, selon les chiffres du système d'alerte rapide de l'Union européenne. Contrairement aux contaminants organiques, les ETM ne sont pas biodégradables. Ils s'accumulent durablement dans les sols et dans les organismes vivants. En conséquence, il est nécessaire d'appréhender leur flux dans un système sol-plante-animal (**Dauguet et al., 2011**).

Le plomb est un métal utilisé depuis l'antiquité dans de nombreuses applications. L'intoxication aigue au plomb peut être le résultat d'une exposition brève à des quantités très élevées de plomb (**Lghabi et al., 2018**). Ce métal est un élément très réactif dans l'environnement (**Cossa et al., 1993**) comme de nombreux autres métaux, il est bioconcentré par les organismes vivants en particulier par les organismes marins (**Davis et Svendsgaard, 1987**). L'effet toxique du plomb (Pb) dépend du cycle de vie du poisson, du pH, de la dureté de l'eau et de la présence des matières organiques. Le Pb est classé parmi les métaux les plus toxiques pour l'homme et pour les animaux (**Dione et al., 2018**).

Le terme « bio marqueur », qui est généralement utilisé dans un sens large pour inclure presque toute mesure reflétant une interaction entre un système biologique et un danger potentiel, qui peut être chimique, physique ou biologique. Un biomarqueur est défini comme

un changement dans une réponse biologique qui peut être lié à l'exposition aux effets toxiques de substances chimiques environnementales (**Van der Oost et al., 2003**).

L'évaluation des risques environnementaux éco-toxicologiques implique l'utilisation de bio marqueurs destinés à mettre en évidence un stade précoce de pollution. De nombreux bio marqueurs biochimiques et cellulaires ont été étudiés chez les organismes aquatiques et en particulier chez les poissons. Ces biomarqueurs incluent ceux spécifiques au stress oxydatif, recommandés pour la biosurveillance de la qualité du milieu aquatique (**Van der Oost et al., 2003**).

Le poisson est de plus en plus utilisé comme sentinelle de l'environnement car il se révèle un excellent indicateur de la qualité des milieux aquatiques et, aujourd'hui, de nombreuses méthodes (méthodes basées sur l'étude des communautés ; méthodes basées sur les réponses physiologiques des individus ; méthodes utilisant les réactions métaboliques et cellulaires). Parmi différents indicateurs, l'état sanitaire apparaît comme un indicateur pertinent de l'environnement, mais il reste peu usité et n'est qu'exceptionnellement intégré dans les programmes de surveillance des milieux aquatiques. Or, s'intéresser à la santé des écosystèmes sans prendre en compte la santé des poissons est difficilement concevable. (**Girard, 1998**).

À ce titre, nous avons choisi la carpe, un poisson d'eau douce (*Cyprinus carpio*), qui est l'espèce la plus répandue dans le lac Oubeira. C'est un excellent poisson d'élevage, consommé par une grande partie de la population et aussi c'est une espèce indicatrice de la pollution (**Billard et al, 1995**).

Bien que le toxique altère les activités métaboliques et physiologiques des organismes. Les études physiologiques seules ne satisferont le stress toxique. Seul les Tests de toxicité aiguë utilisé pour déterminer la concentration d'un effet délétère d'un toxique sur un groupe d'organismes d'essai lors d'une exposition à court terme dans des conditions contrôlées ; (**Luoma et Rainbow, 2008**). Toutes les substances toxiques sont capables d'interférer à plusieurs reprises les systèmes biologiques et, en fin de compte, à sa survie. Les tests de toxicité aiguë ne constituent qu'un des nombreux outils mis à la disposition des toxicologues aquatiques, mais ils sont le moyen de base de provoquer un rapide, relativement peu coûteux de l'estimation reproductible des effets toxiques sur un bio-essai (**Luoma et Rainbow, 2008**).

Ce travail a été réalisé dans l'optique de déterminer les altérations métaboliques et physiologique survenues lors d'une exposition aiguë au plomb d'un poisson d'eau douce : la carpe commune (*cyprinus carpio*). Afin de réaliser cet objectif, nous avons effectué :

- Aquari-expérimentation (élevage, toxicité aigue 96h)
- Dosage du plomb dans les différents tissus à savoir : les branchies, le foie et le muscle
- Dosage des métabolites (glucides, protéines et lipides) et évaluation des biomarqueurs du stress oxydant (CAT, GSH, GST et MDA) dans différents tissus

Ce travail s'articule autour de deux grandes parties :

Une partie de synthèse bibliographique comportant trois chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à la carpe et le produit de pêche,
- Le deuxième chapitre est consacré aux métaux lourds.
- Le troisième chapitre conçoit une explication de la biosurveillance, bio marqueurs, ainsi que le stress oxydant,

Et une partie expérimentale composée de trois chapitres aussi :

- Le premier chapitre traite matériel et méthodes.
- Le deuxième chapitre, cadre les résultats obtenus avec interprétations statistiques.
- Le troisième chapitre est consacré pour la discussion des résultats, suivi par une conclusion générale comportant des recommandations et des perspectives.

Chapitre I

La carpe et le produit de pêche



I.1. Généralités sur le produit de pêche

Le secteur halieutique regroupe un ensemble d'activités économiques dont principalement, les activités de pêche, et les activités de commercialisation des produits de la pêche. Ce système économique repose sur quatre principaux piliers représentés par la ressource, l'Homme, les moyens de production et le marché. Ces quatre piliers interfèrent selon certaines relations pour produire des sous-systèmes imbriqués, interagissant à leur tour entre eux pour donner naissance aux différentes activités du secteur halieutique. L'Etat est un centre de décision composé de diverses institutions (ministères, instituts de recherche et de formation, entreprises publiques, etc.) **(Doukkali et Kamili, 2018)**.

Le secteur de la pêche a un rôle économique important puisqu'il contribue à la sécurité alimentaire des populations, mais également à la création d'emplois. En 2006, les inscrits maritimes étaient environ 40 millions au niveau mondial, dont 90 % pratiquant la pêche artisanale **(Chikhi, 2018)**.

La mer méditerranéenne se caractérise par une ressource halieutique riche et diversifiée. Cette diversification concerne aussi les populations qui partagent et exploitent cette ressource. En effet, plus de 23 pays la bordent avec une population avoisinant les 470 millions répartis autour d'un littoral de 45 500 km de longueur. Elle dispose d'un plateau continental de 526 600 km² permettant ainsi une production de 300 000 t de poissons bleus par an et d'un volume d'importations allant jusqu'à 4,4 millions de tonnes **(Chikhi, 2018)**.

En Algérie, les inscrits maritimes algériens représentent 20% du total des inscrits dans la région, alors que la production halieutique ne représente que 12% de la production globale de la région, soit environ 120 000t par an **(Chikhi, 2018)**.

I.2. La production et la consommation des produits de pêche

I.2.1. A l'échelle nationale

Les algériens ont dépensé pour la consommation du poisson pour l'année 2011, 26.45 milliards Dinars Algériens (DA) soit, près de 1,5% de l'ensemble des dépenses alimentaires, dont 75% sont dépensés en milieu urbain **(ONS, 2014)**.

Plus de 80% de la consommation apparente des produits de la pêche est issue de la production nationale **(MPRH, 2014)**.

En Algérie, le secteur de la pêche a un rôle stratégique dans le renforcement de la souveraineté alimentaire. Il contribue à la croissance économique et à l'emploi, notamment au développement des systèmes productifs localisés (Maouel et al., 2014).

L'observation de l'évolution de la production de pêche nationale sur une longue période 1960-2013 (53 ans) indique que : la production nationale a pris plus de 20 ans à partir de 1960 pour dépasser le cap des 50 000 tonnes en 1982 (Maouel et al., 2014).

Le secteur de la pêche étant monopolisé par les colons a pris du temps pour être maîtrisé par les algériens au lendemain de l'indépendance en 1962. La production a pris plus de 40 ans pour arriver à 100 000 tonnes dans les années 1990. Une tendance lourde est observée au cours des 20 dernières années pour une relative stabilisation de la production au-delà de 100 000 tonnes avec un pic de production de 146/147 mille tonnes enregistré en 2006/2007 (Maouel et al., 2014).

La structure de la production nationale de pêche par groupe d'espèces montre la dominance des petits pélagiques dans le volume de production avec 87%. Suivis des démersaux avec 8%, Mollusques 2%, crustacées 2% et grands pélagiques 1% (MPRH, 2014).

L'évolution de la structure de la production nationale de pêche montre pour la période 2000 à 2013, la domination des petits pélagiques avec un taux qui varie entre 80 et 90 pour cent. Les démersaux viennent en deuxième place avec une part autour de 10 pour cent. Le reste est réparti entre grands pélagiques, crustacés et mollusques avec des quantités annuelles presque identiques. Le consommateur dispose potentiellement de 3 sources d'approvisionnement en matière de produits de la pêche : la production de capture, la production aquacole et l'importation, soit à des fins de consommation (frais, réfrigéré, congelé) ou de transformation pour la consommation humaine. La différence avec les exportations représente la disponibilité alimentaire, appelée également consommation apparente ; elle est exprimée ici en kg/an/hab. (MPRH, 2014).

I.3. L'espèce étudiée

I.3.1. Carpe commune (*Cyprinus carpio*)

Cyprinus carpio (Linnaeus, 1758) est communément appelé carpe commune ou européenne carpe. Il a été introduit de la France et des pays européens en Inde (Kumaresan et

al., 2018). La carpe est également l'un des ravageurs vertébrés les plus destructeurs au monde (Stuart, 2021). Il est un gros poisson, grandissant jusqu'à 30 pouces de long et soixante livres. Il a un corps "lourd" avec une couleur olive foncé dos, ventre jaunâtre, deux barbillons sur leur lèvre supérieure et a également une grande nageoire dorsale. La carpe vit dans les ruisseaux, les lacs, les étangs et les rivières, partout où il y a beaucoup de plantes aquatiques. Bien qu'il s'agisse d'un poisson d'eau douce, il pousse bien dans les eaux saumâtes et même légèrement salines. La carpe commune est riche en vitamines (A, E, C, D, K1, B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9, B12), minéraux (calcium, Cuivre, Iode, Magnésium, Manganèse, Phosphore, Potassium, Sélénium, Sodium et Zinc), protéines (18g / 100g) et acides aminés (Alanine, Arginine, Acide aspartique, Cystine, Acide glutamique, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, proline, sérine, thréonine, tryptophane, tyrosine et valine) (Kumaresan et al., 2018).

La carpe commune est la troisième espèce de poisson d'eau douce la plus cultivée et la plus importante sur le plan commercial au monde. Dans certains pays européens, ce poisson représente plus de 80% de la production totale de poisson (Kolek et al., 2021).

I.3.2. Caractéristiques biologiques

La carpe commune a une forme de corps profond et un aspect lourd. Les caractéristiques distinctives comprennent une tête courte, un museau arrondi, une seule longue nageoire dorsale, une queue fourchue et des écailles relativement grandes (Schultz, 2010).

La bouche est édentée et en forme de ventouse, adaptée à l'alimentation du bas, et la mâchoire supérieure se projette légèrement au-delà de la mâchoire inférieure (Schultz, 2010).

Il a une seule épine dentelée à l'avant des nageoires dorsale et anale et deux paires de barbillons charnus de chaque côté de sa bouche (Schultz, 2010).

La pigmentation de la carpe commune va de l'or à l'olive en passant par le brun, avec une coloration jaunâtre sur les côtés inférieurs et le ventre et une teinte rougeâtre sur les nageoires inférieures. Chaque écaille sur les côtés supérieurs du poisson a une tache sombre concentrée à sa base et un bord sombre bien visible (Schultz, 2010).

Les juvéniles et les mâles reproducteurs sont généralement d'un vert ou d'un gris plus foncé, avec un ventre sombre au lieu d'un ventre jaunâtre, et les femelles sont plus claires. Les

mâles développent de minuscules tubercules, que l'on trouve dans un motif aléatoire sur la tête et les nageoires pectorales (Schultz, 2010).

Les nageoires sont sombres, ventre avec une nuance rouge. La carpe dorée est reproduite pour un but ornemental (Figure 1) (FAO, 2009).

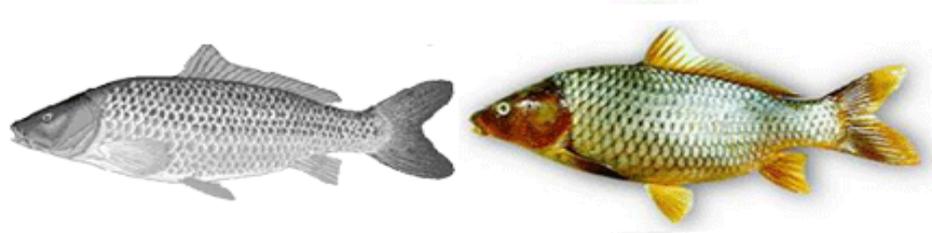


Figure 01 : La carpe commune (*cyprinus carpio*) (FAO, 2009).

I.3.3. Systématique

La classification adoptée est celle de (Nelson ,1994).

- Embranchement : Chordata.
- Sous-embranchement : Vertebrata.
- Classe : Actinoptérygii.
- Sous-classe : Neopterygii.
- Infra-classe : Téléostéen.
- Super-ordre : Ostariophysii.
- Ordre : Cypriniformes.
- Super-famille : Cyprinoidea.
- Famille : Cyprinidae.
- Genre : *Cyprinus*

Espèce : *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758).

I.3.4. Régime alimentaire

La carpe commune est une des espèces de poissons omnivores qui consomment les animaux (insectes aquatiques, macro invertébrés et zooplancton) et les végétaux (phytoplancton, macrophytes) (Tessema *et al.*, 2020).

I.3.5. Croissance

La croissance est rapide dans des eaux tièdes : 14.7 cm à 1 ans, 26.2 cm à 2 ans, 33.1 cm à 3 ans, 38.2 cm à 4 ans, 40.8 cm à 5 ans, 43.6 cm à 6 ans, 46.2 cm à 7 ans, 48.4 cm à 9 ans (**figure 02**). L'optimum thermique de la croissance se situe en générale à 28-30 °C. Une amélioration de la croissance a été obtenue expérimentalement par traitement des carpes par une hormone de croissance (GH bovine : 12,5 à 100 µg/g) et l'optimum d'efficacité s'est situé à 35 °C (Bruslé et Quignard, 2013).

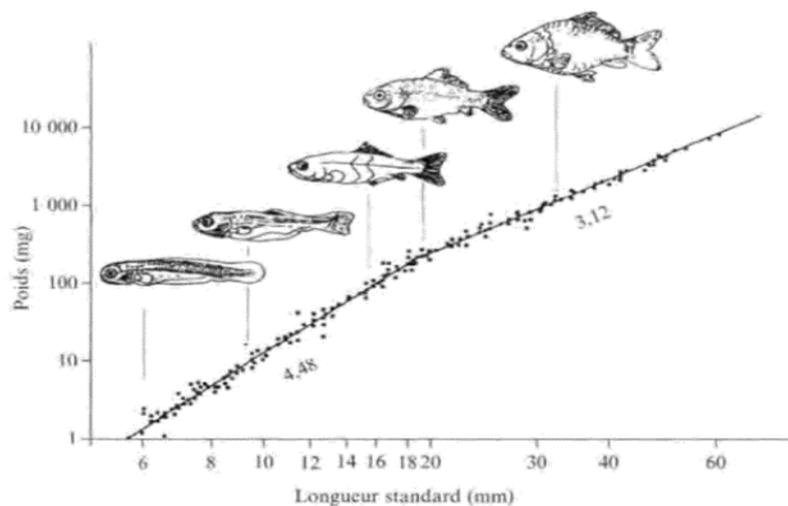


Figure 02 : La croissance de la carpe commune (Bruslé et Quignard, 2013).

I.3.6. Reproduction

À leur deuxième année, les mâles sont capables de se reproduire, tandis que les femelles sont capables de le faire une fois qu'elles ont 3 ans. La carpe fraie au printemps et en été, selon la latitude, et devient active lorsque les températures atteignent 60 °F. Pendant la journée ou la nuit, plusieurs mâles accompagneront une ou deux femelles dans des eaux peu profondes et végétalisées, ainsi que des éclaboussures et du trash à mesure que les œufs seront libérés et fécondés (Schultz, 2010).

Les femelles pondent de 80000 à 120000 œufs par kg de poids, le diamètre de l'œuf gonflé est de 1,5 mm. La ponte est tributaire de la photopériode dont la diminution de l'intensité lumineuse provoque la diminution de la fréquence du frai (**Hajlaoui et al., 2016**).

Ces lieux de fraies permettent aux carpes de protéger les œufs d'éventuels prédateurs mais aussi de les exposer à la lumière nécessaire pour leur éclosion (**Hajlaoui et al., 2016**).

Après une période d'incubation de 4 à 8 jours, les alevins voient le jour et grossissent rapidement à condition que le milieu soit riche en nourriture et la température adaptée (**Hajlaoui et al., 2016**).

En fonction des étangs et des lacs, les conditions peuvent être différentes et donc faire varier les délais d'incubation et de développement des alevins. Les principales variétés de carpes peuvent se croiser pour donner naissance à des carpes hybrides. Par exemple, la carpe peut se croiser avec un poisson rouge ou même avec un carassin, poisson de la même famille que les carpes (famille des cyprinidés) mais qui a un gabarit plus petit et qui ne dispose pas de barbillons autour de la bouche. Pour ce qui est de sa longévité, la carpe peut vivre plusieurs dizaines d'années si les conditions de son milieu de vie le permettent. Généralement, elle vit une vingtaine d'années au maximum (**Rahman, 2015**).

I.3.7. Habitat

La carpe commune habite généralement les milieux d'eau douce, en particulier les étangs, les lacs et les rivières, et habite aussi rarement les milieux d'eau saumâtre. Elle est largement distribuée dans presque tous les pays du monde, mais il est très populaire en Asie et dans certains pays européens. En raison de sa grande popularité, sa distribution a été largement étendue par l'introduction humaine (**Rahman, 2015**).

La carpe commune réside naturellement dans une eau neutre. Le sol est généralement constitué de sable, d'humus et de vase. C'est un poisson typique des zones inférieures (zone à brême) et des milieux lentiques (étangs, bras morts). Elle se complaît dans les eaux à fonds vaseux où la végétation est dense. C'est un migrateur holobiotique qui se déplacent des eaux peu profondes des zones de frai (prairies inondées) jusqu'aux eaux profondes, en hiver, où de nombreux congénères se rassemblent (**Feunteun et al., 2011**).

Chapitre II

Les métaux lourds



II.1. Généralités sur les métaux lourds

Le terme métal lourd désigne tout élément chimique métallique qui a une densité relativement plus élevée et qui est toxique même à faible concentration. Les métaux lourds sont des composants naturels de la croûte terrestre. Ils ne peuvent pas être dégradés ou détruits. Ces dernières années, les métaux lourds dans les eaux usées constituent un problème majeur dans l'environnement, car le risque élevé est associé aux écosystèmes et à la santé humaine, même à très faible concentration. En raison de sa flexibilité, l'accumulation, non biodégradable et l'endurance (Asati *et al.*, 2016).

II.2. Définition des métaux lourds

Les métaux lourds peuvent être définis comme un groupe de quarante éléments naturels qui ont un poids atomique élevé et une densité à au moins 5 fois supérieure à celle de l'eau. Ils sont dits dangereux en raison de leur toxicité même à faibles concentrations. Les contaminants des métaux lourds les plus courants sont le mercure (Hg), l'arsenic, le cadmium (Cd), le plomb (Pb), le chrome (Cr), le zinc (Zn) et le cuivre (Cu). En outre, ils sont non biodégradables donc, ils restent dans l'environnement et les systèmes biologiques (Huët et Puchooa, 2017).

II.3. Principales propriétés physico-chimiques des métaux lourds

II.3.1. Solubilité

Le comportement d'un micro polluant est conditionné par sa forme physico-chimique. Les éléments en trace vont être plus ou moins mobiles, plus ou moins solubles. Dans l'eau, les métaux sont présents sous forme d'oxyde ou de sel, selon les métaux d'origine. Les composés de plomb sont peu solubles, sauf les chlorures. Le chlorure, le nitrate et le sulfate de cadmium sont solubles dans l'eau, tandis que les sulfures et l'oxyde de cadmium sont pratiquement insolubles. Les composés insolubles sont de préférence absorbés par les sédiments, d'où la présence parfois très forte de cadmium dans les vases de certaines rivières, les lacs et les canaux (Miquel, 2001).

II.3.2. Persistance

Contrairement aux polluants organiques, les métaux lourds ne peuvent pas être dégradés biologiquement ou chimiquement, ils sont persistants. Les métaux sont transportés sur des grandes distances par l'air ou l'eau sans subir de transformation. Une des conséquences les plus sérieuses de la persistance des métaux est leur accumulation dans les chaînes alimentaires. Au bout de ces chaînes, les métaux peuvent atteindre des concentrations qui sont supérieures de plusieurs puissances de dizaines à celles trouvées dans l'eau ou dans l'air (**Beliefert et Perraud, 2009**).

II.3.3. Vaporisation

Les métaux lourds possèdent une tension de vapeur élevée et un faible point d'ébullition sont généralement retrouvés dans les gaz et les cendres volantes. Des études ont montré que le cadmium est le métal le plus volatil et qu'il existe principalement dans les gaz, tandis que le nickel reste dans les cendres. La vaporisation des métaux lourds analysés diminue dans l'ordre suivant : $Cd > Pb > Zn > Cu > Ni$. La majorité des études sur la vaporisation des métaux lourds a confirmé que le mercure, le cadmium, le zinc et le plomb sont les métaux les plus volatils. Cependant, la fraction de ces métaux dans les gaz ou dans les cendres volantes dépend de plusieurs paramètres (**Said, 2016**).

II.4. Classification des métaux lourds

Les métaux lourds sont des composants naturels qui ne peuvent être dégradés ou détruits biologiquement. Les oligo-éléments pour désigner les éléments qui se produisent en faibles concentrations dans les systèmes biologiques naturels sont préoccupés par la détérioration de la qualité de l'environnement a conduit à un oligo-élément. Les constituants élémentaires de la vie végétale, animale et humaine peuvent être classés comme éléments principaux et oligo-éléments, ce dernier groupe comprenant à la fois des éléments essentiels et des éléments non essentiels (y compris des éléments toxiques) (**Tableau 01**) (**Asati et al., 2016**).

II.4.1. Les métaux lourds essentiels

Ces métaux sont importants pour la vie des organismes vivants et peuvent être nécessaires dans le corps en concentrations assez faibles. Cependant, les métaux lourds

essentiels peuvent être toxiques pour les êtres vivants lorsque la concentration dépasse la limite tolérable pour les organismes dont le Mn, Fe, Cu et Zn sont les plus utilisés (Izah et al., 2017).

II.4.2. Les métaux lourds non essentiels

Leurs rôles biologiques ne sont pas connus dans les organismes vivants. Ils sont très toxiques comme : Le Cd, le Pb et le Hg, tandis que le Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn et Mo sont des micronutriments ou oligo-éléments pour les plantes. Ils sont essentiels pour la croissance et la résistance au stress ainsi que pour la biosynthèse et les fonctions de différentes biomolécules comme les glucides, la chlorophylle, les acides nucléiques, les produits chimiques de croissance, et les métabolites secondaires. (Hazrat et al., 2019).

Ces éléments qui ne présentent pas une fonction métabolique, sont connus comme « non essentiels » et généralement ont un seuil de concentration beaucoup plus bas pour devenir toxiques. Dans l'écosystème aquatique, les métaux lourds ne sont pas dégradés (Vivien, 2011).

Tableau 01 : Principaux éléments métalliques essentiels et non-essentiels (Hopkin, 1989).

Eléments essentiels Majeurs	Oligo-éléments Essentiels	Eléments « essentiels'' en ultra trace	Eléments non-essentiels
Calcium, Phosphore, Potassium, Soufre Magnésium, Chlore, Sodium.	Fer, Iode, Cuivre, Manganèse, zinc, Cobalt, Molybdène, Sélénium, Chrome, Nickel, Vanadium, Silicone, Arsenic.	Lithium, Fluor, Aluminium, Étain, Plomb, Zinc.	Cadmium, Mercure.

II.5. Source des métaux lourds

Une quantité importante de métaux lourds est introduite dans l'environnement par l'intermédiaire de sources naturelles et humaines (Gouin et al., 2016).

II.5.1. Sources naturelles

Les sources naturelles de métaux lourds comprennent principalement l'altération géologique, l'érosion des sols et les poussières en suspension dans l'air (**Shen et al., 2019**).

La contribution des volcans peut se présenter sous forme d'émissions volumineuses dues à une activité explosive, ou d'émissions continues de faible volume, résultant notamment de l'activité géothermique et du dégazage du magma (**David et Tamsin, 2003**).

Parmi les importantes sources naturelles, citons l'activité volcanique, l'altération des continents et les incendies des forêts (**Figure 03**).

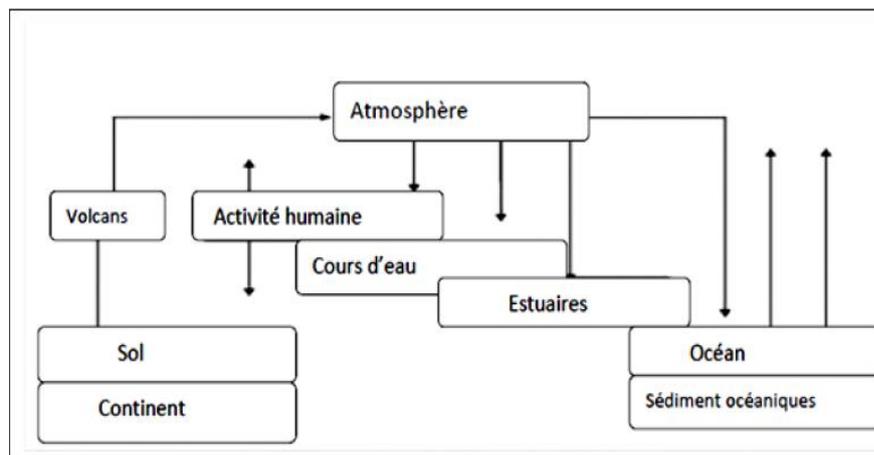


Figure 03 : Cycle géochimique simplifié des métaux lourds (**Miquel, 2001**).

II.5.2. Sources anthropiques

Le développement humain a toujours été à l'origine du progrès accompli, mais il n'en va pas sans impacts. Certes, l'homme a toujours été au contact des métaux de son environnement naturel, avant d'en faire la matière première de ses outils. Toutefois, au XXème siècle sont apparues des pollutions d'origine industrielle, domestique et agricole, liées à l'augmentation massive de la production des métaux (**Bouchouta et al., 2012**).

Les métaux provenant d'apports anthropiques sont les métaux lourds comprenant les activités agricoles, telles que l'application de pesticides et d'herbicides, l'eau d'irrigation contaminée, les déchets municipaux utilisés pour la fertilisation, et même les engrais minéraux contenant des traces de métaux lourds (**Tableau 02**). D'autres sources anthropiques de métaux lourds comprennent l'élimination directe des déchets sur les terres agricoles, les activités

minières, l'utilisation du plomb comme anti-accroc dans l'essence, les émissions dues au trafic, le tabagisme, la métallurgie et la fonte, les bombes aérosols, les rejets d'eaux usées et les matériaux de construction, tels que les peintures (**Onakpa et al., 2018**).

La source anthropique englobe les activités pétrochimiques, l'utilisation de combustibles fossiles (centrales électriques au charbon, chaudières, fours à ciment), les activités industrielles, le transport (véhicules et moteurs routiers et non routiers, embarcations), (**Mckenzie, 1997 ; Gouin et al., 2016**).

Tableau 02 : Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement (**Yahya et al., 2018**).

Métal	Sources
Fe	Pigments et peintures ; le carburant ; raffineries ; textile.
Mn et Zn	Batteries et électricité ; pigments et peintures ; alliages et soudures ; pesticides ; verre ; les engrais ; raffineurs ; le carburant.
Pb	Batteries et électricité ; pigments et peintures ; alliages et soudures ; pesticides ; verre ; engrais ; raffineurs ; le carburant ; Plastique.
Cd	Batteries et électricité ; pigments et peintures ; alliages et solides ; le carburant ; Plastique ; les engrais
Ni	Batteries et électricité ; pigments et peintures ; alliages et solides ; le carburant ; catalyseurs ; les engrais.
Cu	Batteries et électricité ; pigments et peintures ; alliages et solide ; le carburant ; catalyseurs ; les engrais ; pesticides.
Cr	Pigments; les engrais; textile.

II.6. La pollution du milieu aquatique par les métaux lourds

La pollution par les métaux lourds est un problème mondial qui préoccupe toutes les régions soucieuses de maintenir leur patrimoine hydrique à un haut degré de qualité. Dans certains écosystèmes, ces produits chimiques peuvent être à l'origine de la disparition de certaines espèces animales et/ou végétales et par conséquent, entraîner le dysfonctionnement de la chaîne trophique (**Dimon et al., 2014**).

Les métaux présents dans l'eau peuvent exister sous forme complexes, particules ou en solutions. Les principaux processus qui gouvernent la distribution et la répartition des métaux lourds sont la dilution, la dispersion, la sédimentation et l'adsorption/désorption (**Baby et al., 2010**).

La contamination des systèmes d'eau de surface par les métaux lourds constitue un important problème environnemental des eaux de surface. Les métaux lourds dans les systèmes d'eau de surface peuvent être d'origine naturelle ou sources anthropiques. En effet, les déchets industriels, les eaux usées agricoles, les ruissellements et les dépôts atmosphériques sont les principales sources de contamination de nombreuses eaux de surface (**Adesiyan et al., 2018**).

Les métaux lourds contaminent les eaux de surface et souterraines, entraînant une détérioration de la qualité de l'eau potable et de l'eau d'irrigation et peuvent pénétrer dans la chaîne alimentaire humaine, ce qui pose un risque pour la santé humaine. Certains métaux sont des éléments très toxiques pour les humains et la vie aquatique, causant des problèmes hépatiques et rénaux en plus des cancérogènes génotoxiques. D'autres sont des éléments essentiels qui jouent un rôle important dans le métabolisme biologique à de très faibles concentrations (**Adesiyan et al., 2018**).

II.7. Bioaccumulation des métaux lourds

Le processus de bioaccumulation dans un environnement aquatique est très important en toxicologie (**Noël-Anselme et al., 2017**). La bioaccumulation est la somme de deux processus : la bioconcentration et la bioamplification. La bioconcentration est l'absorption directe d'une substance par un organisme vivant à partir du milieu (l'eau) par la peau, les branchies ou les poumons, tandis que la bioamplification résulte de l'absorption alimentaire. Les poissons qui filtrent activement des grandes quantités d'eau à travers leurs branchies sont soumis à une bioconcentration beaucoup plus élevée. En outre, la bioamplification a lieu dans les organismes prédateurs. Les métaux lourds de la proie sont transférés au prédateur (**Baby et al., 2010**).

Les métaux lourds qui s'accumulent dans l'environnement et dans la chaîne alimentaire menacent les ressources en eau douce utilisées à des fins de consommation et de loisirs. S'accumulent à une concentration toxique et causent des dommages écologiques. , Ces métaux

peuvent affecter sérieusement le biote en vue de leur potentiel de persistance et de bioaccumulation (**Figure 04**) (**Derradj et al., 2015**).

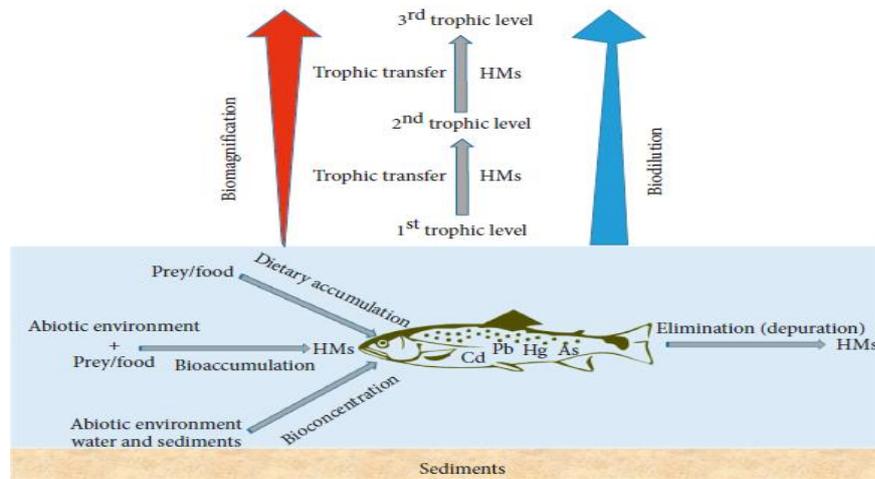


Figure 04 : Schéma résumant le processus de bioaccumulation (**Hazrat et al., 2019**).

II.8. Plomb

Le plomb (Pb) est un métal lourd qui se trouve dans la croûte terrestre sous forme de métal gris bleuâtre (**Naranjo et al., 2020 ; Chaouali et al., 2018**) utilisé dans plusieurs industries. Il est facilement moulé et très résistant à la corrosion, ne se dégrade pas en d'autres substances, et s'accumule au fil du temps (**Tableau 03**). Au cours du siècle dernier, le plomb a contaminé l'environnement à cause de l'activité humaine. Au cours des dernières décennies, il est devenu évident que l'exposition aiguë et chronique à tous les niveaux est nocive, avec des effets néfastes sur le développement neurologique et la cognition (**Naranjo et al., 2020**).

Tableau 03 : Propriétés physico-chimiques du plomb (**Miquel, 2001**).

Plomb	Propriétés
Masse atomique	207.2g/mol
Masse volumique	11.35g/cm ³
Température de fusion	327°
Température d'ébullition	1740°
Symbole chimique	Pb
Minerais d'origine	Galène

II.8.1. Source d'exposition au plomb

II.8.1.1. Source naturelle

Des petites quantités de plomb atteignent l'environnement de surface par des processus naturels d'altération et des émissions volcaniques, donnant ainsi une exposition environnementale de base. Cependant, la présence abondante et répandue de plomb est en grande partie une conséquence de l'activité anthropique. Les sources naturelles (les émissions volcaniques, les sources biogéniques, feux de forêts sauvages, et les particules de sol transportées par le vent) combinées émettent 19 000 tonnes de plomb dans l'air chaque année **(US. EPA, 2006)**.

II.8.1.2. Sources anthropogéniques

Les sources d'exposition les plus communes représentant un facteur de risque d'une intoxication au plomb sont :

L'écaillage et la poussière provenant de la peinture à base de plomb dans les anciens logements constituent une source importante, surtout chez les enfants. Le plomb peut s'accumuler dans la poussière, le sol et les sédiments aquatiques, surtout à proximité des zones urbaines et des sites miniers et industriels **(Naranjo et al., 2020)**.

L'eau potable peut également être une source d'exposition au plomb en raison de son rejet par la surface interne des canalisations en plomb. De plus, l'eau est clairement fondamentale pour soutenir toute ville ou société et est une marchandise qui doit de plus en plus être absolument gérée. Une compréhension globale du cycle de contamination par le plomb est donc considérée comme cruciale **(El Fadeli et al., 2014)**.

Une activité professionnelle ou de loisir exposant au plomb : restauration de vitraux, travail des métaux, fabrication de céramiques ou d'objets émaillés (tagines et vaisselles artisanales) fabrication des objets en plomb **(El Hari et al., 2012)**.

L'alimentation, via la contamination des sols et de l'air par le plomb, Sont en particulier concernés les aliments qui proviennent des régions irriguées par des eaux usées ou proche des décharges municipales **(El Fadeli et al., 2014)**.

II.8.2. Utilisation du plomb

Le plomb est le numéro 2 de la « **Liste des 20 premiers cas** » de l'ATSDR. Le plomb est responsable de la plupart des cas d'intoxication aux métaux lourds. C'est un métal très doux (**Baby et al., 2010**). Qui a été utilisé depuis de nombreuses années dans de nombreuses applications agricoles et industrielles ainsi qu'à des fins domestiques. Un certain nombre d'activités anthropiques entraînent une augmentation de l'exposition au Pb, comme l'exploitation minière, la combustion de combustibles fossiles et divers procédés de fabrication (**Chaouali et al., 2018**).

Des millions de maisons construites avant 1940 contiennent encore du plomb, ce qui entraîne une exposition chronique aux intempéries, aux flocons, à la craie et à la poussière. Chaque année, les industries produisent environ 2,5 millions de tonnes de plomb dans le monde. La révolution industrielle a entraîné de nouvelles utilisations massives et une augmentation exponentielle depuis un siècle tout en se transformant radicalement. Pendant la première moitié du siècle, le plomb a été utilisé dans l'industrie, l'imprimerie et les pigments de peinture et les plastiques en PVC, le blindage aux rayons X, la production de verre cristallin et les pesticides. Dans la seconde moitié du siècle, l'utilisation dominante était liée aux carburants automobiles. Les organes cibles sont les os, le cerveau, le sang, les reins et la glande thyroïde (**Baby et al., 2010 ; Miquel, 2001**).

II.8.3. Toxicité du plomb

II.8.3.1. Voies d'exposition

Le plomb peut pénétrer dans l'organisme humain par trois voies :

Voie cutanée : plus rarement ; peuvent être considérées comme une voie importante principalement pour les populations professionnellement exposées (**Miquel, 2001**).

Voie digestive : essentiellement via les aliments et l'eau de boisson ; (**Sedki, 2018**) La voie d'exposition la plus courante dans la population non exposée professionnellement est l'ingestion orale. Des études ont montré que 35 à 50 % de l'absorption du plomb se produit par l'utilisation d'eau potable avec des taux d'absorption accrus pour les enfants qui sont supérieurs à 50% (**Rahman et al., 2018**).

Voie aérienne : (inhalation des poussières atmosphériques contaminées). C'est la voie la plus dangereuse car le plomb atteint directement la circulation sanguine (**Sedki, 2018**).

II.8.4. Effet du plomb sur l'environnement

Le développement industriel, agricole et urbain s'est accompagné lors des dernières décennies de véritables problèmes sanitaires liés à la pollution de l'environnement. En effet, les sociétés industrielles, grandes productrices et consommatrices des métaux, relargissent dans l'environnement des quantités considérables des métaux lourds ou des éléments traces métalliques (ETM) principalement le plomb (Pb), élément susceptible de contaminer l'environnement (eau, air, sol, végétaux. . .) et d'avoir un impact réel sur la santé humaine (**Chaouali et al., 2018**).

Les effets toxiques des oligo-éléments libérés dans l'environnement peuvent être inattendus dans le présent alors qu'ils pourraient causer des graves dommages à long terme. Les composés métalliques restent indéfiniment même s'ils subissent le cycle de la nature dans la matière vivante, et avec les quantités nouvellement extraites viennent s'ajouter à leur stock dans l'environnement. Ces métaux méritent une attention particulière en raison de leur permanence dans les organismes vivants et des phénomènes de concentration qui peuvent se produire dans certaines chaînes alimentaires, conduisant à terme à l'homme (**Sebban et al., 2016**).

II.8.5. Effet du plomb sur la santé

Les effets nocifs du plomb sur la santé sont corrélés à l'importance de l'imprégnation dans l'organisme. Toutefois, il est aujourd'hui établi que le plomb est toxique pour les enfants, les femmes enceintes et les adultes, même à de faibles concentrations (**Sedki, 2018**).

Le plomb est particulièrement dangereux pour le développement du cerveau de l'enfant. Il peut entraîner une baisse du quotient intellectuel et de la faculté de concentration, des difficultés d'apprentissage ainsi qu'un risque accru de problèmes comportementaux. Il n'existe pas de seuil d'exposition au plomb qui soit sans danger. Même un faible niveau d'exposition peut entraîner des problèmes de santé tout au long de la vie (**OMS, 2019**).

Le plomb est toxique pour de multiples systèmes de l'organisme, dont le système nerveux central et le cerveau, l'appareil reproducteur, les reins, le système cardiovasculaire, le système sanguin et le système immunitaire (**OMS, 2019**).

Le plomb exerce sa toxicité sur de nombreux organes et peut entraîner des symptômes variés. Les douleurs abdominales et l'anémie font partie des symptômes les plus fréquents, mais il n'est pas rare d'observer fatigue, irritabilité, myalgies, insuffisance rénale et troubles neurologiques. La majorité des intoxications par le plomb est liée à des expositions professionnelles (métallurgie, fabrication de batteries et d'accumulateurs) ou environnementales (canalisations en plomb des réseaux de distribution de l'eau, peintures à base de céruse) (Cariou *et al.*, 2013)

Chapitre III

Les biomarqueurs



III.1. Généralités sur les biomarqueurs

De plus en plus, les toxicologues environnementaux empruntent au domaine de la médecine pour prédire la santé et le fonctionnement des écosystèmes (**Hook et al., 2014**). Le développement historique de l'approche biomarqueur est étroitement lié aux avancées en médecine et en biologie des vertébrés. De plus, dans la publication du National Research Council (NRC, 1987 ;1989), Les auteurs soulignent que les marqueurs biologiques peuvent être utilisés à la fois pour la surveillance biologique et la surveillance de la santé (**Amiard et Claude, 2008**). Le terme biomarqueur se réfère à tous les paramètres biochimiques, cellulaires, physiologiques ou comportementaux qui peuvent être mesurés dans les tissus ou les fluides d'un organisme ou sur l'organisme entier, pour mettre en évidence l'exposition à, ou les effets, d'un ou plusieurs contaminants. Contrairement au domaine de la santé humaine où des biomarqueurs sont également utilisés, nous n'incluons pas les mesures dans les tissus des contaminants chimiques eux-mêmes et/ou de leurs métabolites. (**Garric et al., 2010**).

Les réponses des biomarqueurs peuvent être mesurées dans des organismes prélevés ou déployés sur des sites de terrain, afin d'intégrer les effets des facteurs de stress chimiques et non chimiques, réduisant ainsi le besoin de scénarios d'exposition complexes en laboratoire (**Hook et al., 2014**).

III.2. L'utilisation des biomarqueurs

L'usage des biomarqueurs s'intègre dans les diverses méthodologies utilisées dans l'étude de l'impact écotoxicologique des polluants (**Karray, 2015**).

L'utilisation de biomarqueurs dans le but de la biosurveillance des systèmes aquatiques naturels par l'utilisation d'espèces bioindicatrices est nécessaire pour mesurer efficacement le degré d'exposition des organismes aquatiques aux contaminants chimiques, ainsi que l'importance de l'utilisation de biomarqueurs en complément de l'analyse physico-chimique de l'eau, cette étude vise à faire le point sur l'utilisation des biomarqueurs dans l'évaluation de la santé des écosystèmes aquatiques (**Dalzochio et al., 2016**).

III.3. Les différentes classes des biomarqueurs

Les biomarqueurs ont été classés selon la mesure dans laquelle ils reflètent l'exposition à des facteurs de stress environnementaux ou les effets néfastes sur la santé d'expositions à des contaminants. (Taylor et Maher, 2010).

III.3.1. Biomarqueurs d'exposition

Les biomarqueurs de l'exposition à des contaminants uniques ou multiples avec des modes d'action similaires peuvent montrer une réponse précoce aux contaminants et sont généralement spécifiques à une classe particulière de contaminants, par exemple, les composés aromatiques fluorescents biliaires (FAC) pour l'exposition au pétrole, ou l'induction de la protéine précurseur du jaune d'œuf vitellogénine (vtg) pour les œstrogènes environnementaux (Hook et al., 2014).

III.3.2. Biomarqueurs d'effets

Des exemples de biomarqueurs d'effets, c'est-à-dire des indicateurs de changements physiologiques ou biochimiques à la suite d'une exposition. Ces indices peuvent être des mesures directes (par exemple, dommages à l'ADN, inhibition de l'Ache) ou des mesures indirectes telles que l'impact sur les lysosomes subcellulaires. Théoriquement, un organisme avec un changement quantitatif dans un biomarqueur d'effet subira une certaine perte de fitness. Cependant, ces associations peuvent être difficiles à démontrer quantitativement (Hook et al., 2014).

III.3.3. Biomarqueurs transcriptomiques qui intègrent l'exposition et les effets

L'incorporation de biomarqueurs transcriptomiques ou génomiques est de plus en plus reconnue comme une approche puissante qui peut fournir des informations à la fois sur l'exposition et les voies de blessure (c'est-à-dire les effets biologiques), et ainsi fournir en quelque sorte un pont entre l'exposition et les effets (Cajarville et al., 2000).

III.4. Etude du stress oxydant

III.4.1. Définition du stress oxydant

Le terme « stress oxydatif » a commencé à être utilisé fréquemment dans les années 1970, mais ses origines conceptuelles remontent aux années 1950 aux chercheurs qui réfléchissent aux effets toxiques des rayonnements ionisants, des radicaux libres et des effets toxiques similaires de l'oxygène moléculaire, et à la contribution potentielle de ces processus au phénomène du vieillissement (Hybertson *et al.*, 2011).

Le concept de stress oxydatif dans les maladies signifie qu'un stimulus environnemental est capable de créer un RL (radical libre) par hasard. Le nombre de « coups » par jour est estimé à 100 000 provenant des mitochondries à mesure que l'oxygène moléculaire se déplace dans la chaîne respiratoire des électrons et du rayonnement environnemental. Les RL sont caractérisés par la perte d'une espèce fabriquant des électrons hautement réactifs à d'autres substances biochimiques entraînant des dommages cellulaires. (Figure 05) (Armstrong et Stratton, 2016). Dans les systèmes biologiques, il est la conséquence d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la défense antioxydante (Diaconu, 2019).

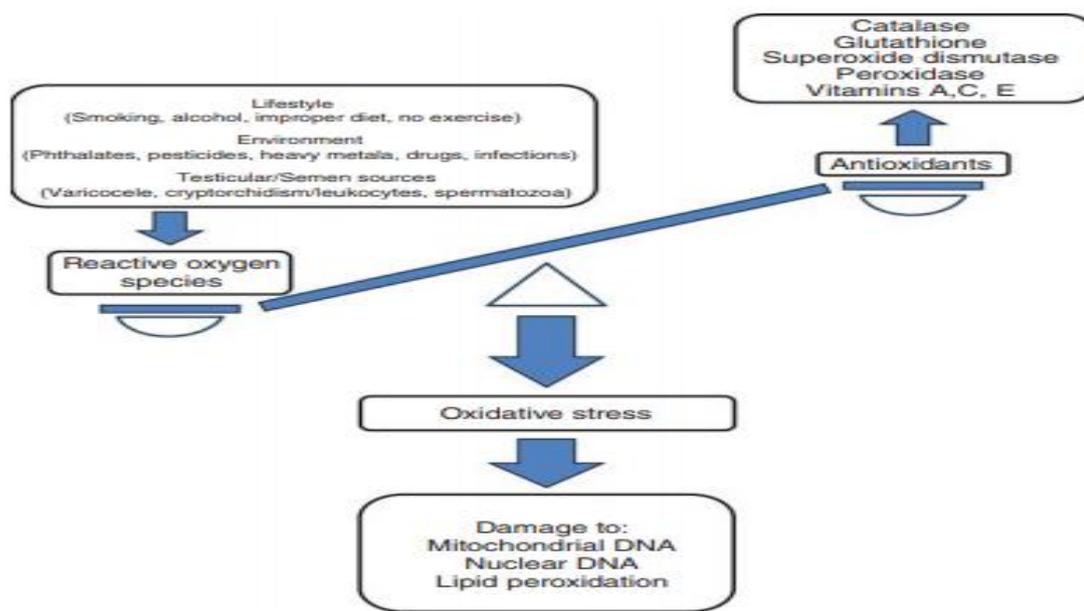


Figure 05 : La balance d'équilibre de stress oxydatif (Armstrong et Stratton, 2016).

Plusieurs facteurs influencent le stress oxydatif, certains augmentant la production des ERO comme la consommation élevée d'O₂ au cours d'une activité sportive intense

consommatrice d'énergie, d'autres réduisent les capacités antioxydantes tels que le déficit enzymatique congénital en G6PD. **(Bensakhria, 2018).**

III.4.2. Rôle physiologique de stress oxydant

Le stress a un rôle écologique important et peut aider à comprendre les interactions fonctionnelles entre les traits d'histoire de vie. Le stress entraîne un certain nombre de changements physiologiques dans le corps, notamment une altération de l'activité locomotrice et un comportement exploratoire général **(Rahal et al., 2014)**

Le rôle physiologique des ROS est associé à presque tous les processus corporels, par exemple aux processus de reproduction, irremplaçable dans la phagocytose en tant que l'un des systèmes microbicides importants, ou dans plusieurs réactions biochimiques. Tout stress émotionnel entraîne une diminution du flux sympathique ainsi que de la production d'énergie des tissus **(Rahal et al., 2014)**

III.4.3. Les radicaux libres

On définit par le terme de radicaux libres, tout atome, groupe d'atomes ou molécules qui possède sur son orbital externe un électron célibataire non apparié **(Garrel et Bigard, 2017).**

Les radicaux libres sont des substances chimiques très instables, de durée de vie très courte (10^{-9} à 10^{-6} s) et très réactives par rapport à leur électron célibataire qui va chercher à se réappairier. Un radical libre va, en effet, chercher à se stabiliser au détriment des structures environnantes **(Garrel et Bigard, 2017).**

Ces électrons sont animés d'un mouvement de rotation à la fois autour du noyau et sur eux-mêmes. On appelle ce dernier le spin. **(Figure 06)** Ces mouvements correspondent à une énergie importante qui rend ces composés instables, c'est-à-dire très réactifs avec les éléments voisins. Dans la matière, ces électrons sont le plus souvent stabilisés grâce à la formation de couples ou paires d'électrons **(Leverve, 2009).**

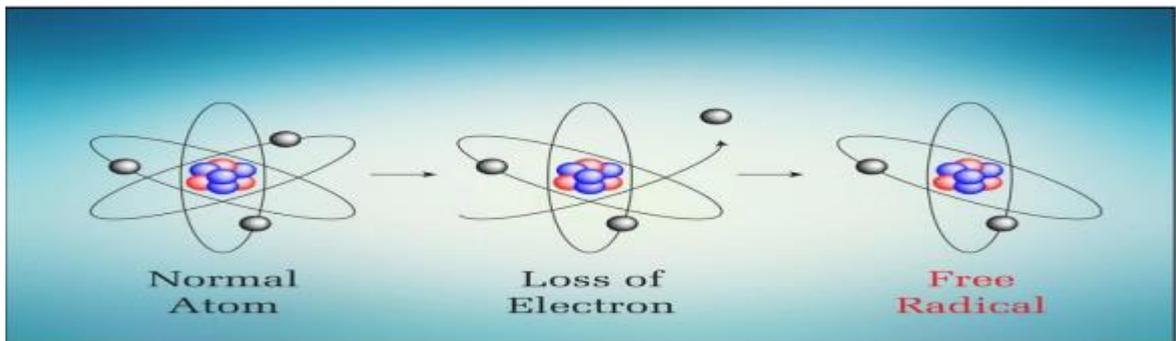


Figure 06 : La formation des radicaux libres (Pillou, 2014).

En les êtres vivants, les radicaux libres proviennent principalement de l'oxygène et de l'azote. Ceux-ci radicaux libres peuvent réagir chimiquement avec des lipides, des protéines, des glucides et des acides nucléiques (Gutiérrez-Salinas *et al.*, 2014).

III.4.4. Les antioxydants cellulaires et le système de défense :

Le concept d'antioxydant biologique désigne tout composé qui, lorsqu'il est présent à une concentration inférieure à celle d'un substrat oxydable, est capable de retarder ou d'empêcher l'oxydation du substrat. Ces fonctions impliquent une diminution du stress oxydatif, des mutations de l'ADN, des transformations malignes, ainsi que d'autres paramètres des dommages cellulaires (Pisoschi et Pop, 2015). Ceux-ci peuvent être divisés en 2 catégories : enzymatiques et non enzymatiques (Birben *et al.*, 2012).

L'antioxydant enzymatique comprennent la superoxyde dismutase (SOD), qui détoxifie l'ion superoxyde, la catalase et le système de peroxydase GSH, les peroxyd-oxyxines, qui inactivent le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), et la glutathion peroxydase, dont la fonction est de détoxifier les peroxydes cellulaires. (Figure 07) De plus, la céruléoplasmine et la ferritine aident à éliminer les métaux, comme le fer, qui favorisent les réactions oxydatives (Ha *et al.*, 2010).

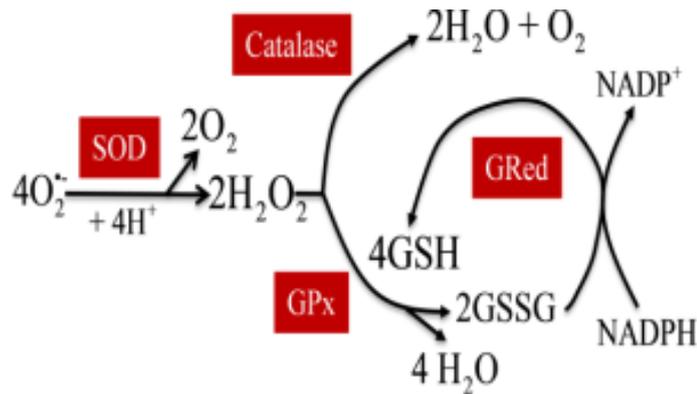


Figure 07 : Système de défense enzymatique (Kunwar et priyadarsim, 2011).

Il existe également des antioxydants non enzymatiques de faible poids moléculaire, comme le GSH, la vitamine E, ascorbate (vitamine C), vitamine A, ubiquinone, acide urique et bilirubine. (Figure 08) (Ha et al., 2010).

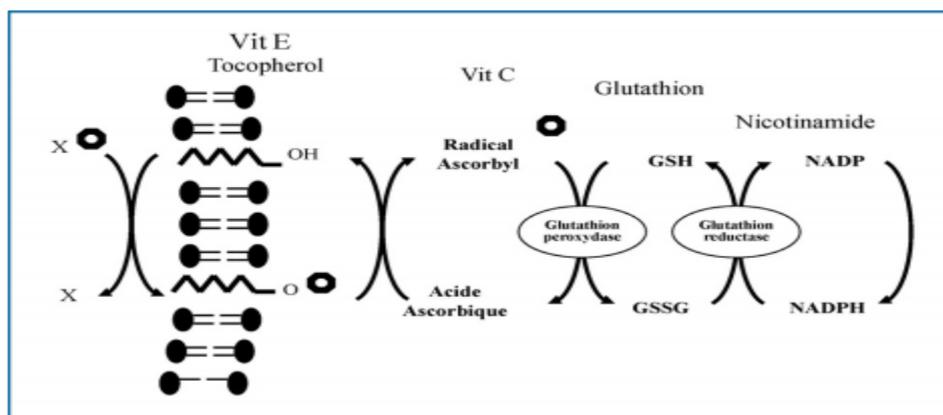


Figure 08 : Les défenses antioxydantes : systèmes non enzymatiques (Leverve, 2009)

III.5. Les biomarqueurs étudiés

III.5.1. Catalase

Le peroxyde d'hydrogène qui est produit par l'action de SODs ou l'action d'oxydases, comme la xanthine oxydase, est réduit à l'eau par la catalase et le GSH-Px (Birben et al., 2012).

La catalase se trouve principalement dans les peroxysomes ; elle catalyse une réaction entre deux molécules de H_2O_2 , entraînant la formation d'eau et d' O_2 (Ha et al., 2010).



Il existe sous la forme d'un tétramère composé de 4 monomères identiques, chacun contenant un groupe hémique au site actif. Coordiné à l'eau et le composé I (fer complexé avec un atome d'oxygène). La catalase lie également le NADPH en tant qu'équivalent réducteur pour prévenir l'inactivation oxydative de La dégradation du H₂O₂ s'effectue par la conversion entre 2 conformations de catalase-ferricatalase (fer l'enzyme (formation du composé II) par H₂O₂ comme il est réduit à l'eau. (Birben et al., 2012).

III.5.2. Glutathion s-transférase (GST)

Les GST une autre famille d'enzymes antioxydantes, inactivent les métabolites secondaires, tels que les aldéhydes insaturés, les époxydes et les hydroperoxydes. Trois grandes familles de GST ont été décrites : la GST cytosolique, la GST mitochondriale et la GST microsomale associée à la membrane qui joue un rôle dans le métabolisme du GSH. Sept classes de cytosolique sont identifiées chez les mammifères, désigné Alpha, Mu, Pi, Sigma, Beta, Omega et Zeta. Dans des conditions non stressées, les GST de classe Mu et Pi interagissent avec les kinases Ask1 et JNK, respectivement, et inhibent ces kinases. Il a été montré que GSTP1 se dissocie de JNK en réponse au stress oxydatif. GSTP1 interagit également physiquement avec PRX VI et conduit à la récupération de l'activité de l'enzyme PRX via la glutathionylation de la protéine oxydée (Birben et al., 2012).

L'analyse comparative détaillée de la séquence d'acides aminés et de la structure des isoenzymes cytosoliques de la TPS, compte tenu de la présence de certains résidus d'acides aminés dans leur site actif, a permis leur division en deux sous-groupes : Y-GST, isoenzymes utilisant un résidu de tyrosine pour l'activation de GSH (classes α , μ , π et σ), et S/C-GST, isoenzymes liant GSH par une sérine (classes ϕ , τ , θ et ζ) ou un résidu de cystéine (classes β et ω) (Kalinina et al., 2014).

III.5.3. Le glutathion (GSH)

Le glutathion, un tripeptide formé de glutamate, de glycine et de cystéine avec un groupe thiol actif, est impliqué dans la formation de liaisons disulfures (Armstrong et Stratton, 2016).

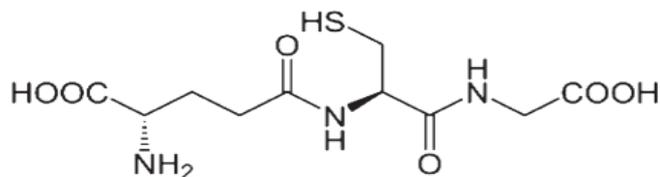


Figure 09 : La structure chimique de glutathion (Birben et al., 2012).

Le glutathion est l'un des principaux composés intracellulaires de faible poids moléculaire qui est synthétisé dans presque toutes les cellules eucaryotes. En raison de sa structure et de sa forte concentration intracellulaire, le GSH agit comme antioxydant et est également impliqué dans le maintien du statut redox cellulaire, dans le travail du système de désintoxication, dans la synthèse des eicosanoïdes, et dans la régulation de nombreux mécanismes de signalisation cellulaire, y compris la régulation du cycle cellulaire, l'expression des gènes et l'apoptose. Le glutathion est présent dans la cellule principalement sous forme réduite, tandis que la teneur en glutathion du GSSG ne dépasse pas 1 % de sa teneur intracellulaire totale. Environ 85 à 90% du GSH se trouve dans le cytoplasme, mais une partie du GSH après synthèse dans le cytoplasme se trouve dans les mitochondries, le noyau, les peroxysomes, et réticulum endoplasmique (Kalinina et al., 2014).

Le rapport GSH/GSSG est un déterminant majeur du stress oxydatif. Le GSH montre ses effets antioxydants de plusieurs façons. Il détoxifie le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques par l'action du GSH-Px. GSH donne son électron à H₂O₂ pour le réduire en H₂O et O₂. Le GSSG est à nouveau réduit en GSH par la réductase GSH qui utilise le NAD(P)H comme donneur d'électrons. Les GSH-Pxs sont également importants pour la protection de la membrane cellulaire contre la peroxydation lipidique. Le glutathion réduit donne des protons aux lipides membranaires et les protège des attaques oxydantes (Birben et al., 2012).

III.5.4. Malondialdéhyde (MDA)

Malondialdéhyde (MDA) ou 1,3-propanedial (OHC-CH₂-CHO) ; C₃H₄O₂ ; est un composé solide (fusion point, 72-74 °C), facilement libéré, soluble dans l'eau, méthanol et éthanol, modérément solubles dans le chlorure de méthylène et insolubles dans le diéthyle éther. Le MDA authentique n'est pas disponible sur le marché. À partir de précurseurs disponibles dans le commerce comme le 1,1,3,3-tétraéthoxypropane par hydrolyse catalysée acide. En

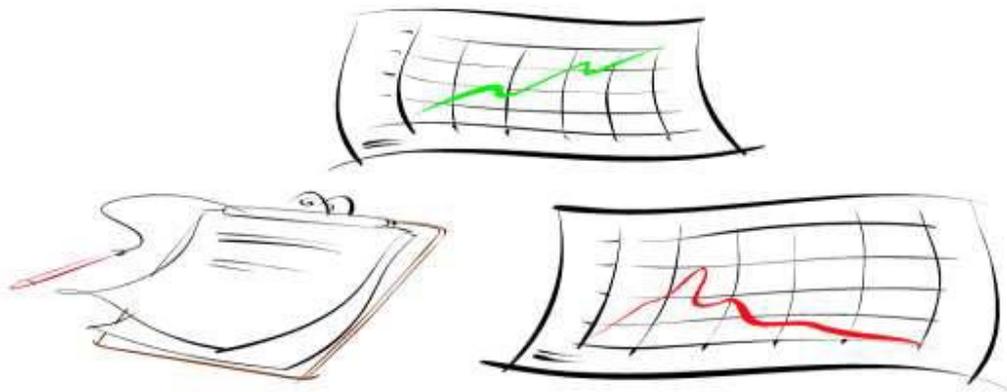
solution aqueuse, le MDA existe sous deux formes avec deux valeurs UV en fonction du pH : la longueur d'onde d'absorption maximale est 245 nm pour pH3 et 267 nm pour pH>7 (Tsikas, 2017).

Le malondialdéhyde est un produit final de la décomposition oxydative d'origine radicale des acides gras polyinsaturés et, par conséquent, il s'agit d'un biomarqueur fréquemment mesuré du stress oxydatif (Giera *et al.*, 2012).

Hamberg et Samuelsson ont identifié la MDA au moyen de la réaction au TBA, ainsi que sous la forme de δ -N-2(pyrimidiny)-L-ornithine après avoir réagi à la MDA avec la L-arginine dans des conditions acides fortes (Tsikas, 2017).

Chapitre I

Matériel et méthodes



I.1. Provenance des échantillons

Ce travail a été mené sur la carpe commune (*Cyprinus carpio. L*) ; ces carpes proviennent d'un concessionnaire en aquaculture de Sétif (Hammam Sokhna).

Selon le témoignage des concessionnaires, elles ont été pêchées du lac-Oubeira (EL-Kala) de petites tailles, subissant un grossissement (élevage) à la ferme aquacole privé de Hammam –Sokhna (Sétif). Les individus de la carpe (14 individus) ont été achetés durant le mois **de janvier 2021**. Puis transportées dans des bacs tout en brassant l'eau de temps à autre parce que les carpes disposent d'une vessie gazeuse qui lui permet de respirer quelques heures sans eau. Arrivées au laboratoire de l'université (SNV Université 1955 Skikda) (**Photo 01**), les carpes sont installées dans de grands aquariums puis nous avons identifié l'espèce et la sex-ratio à l'aide des clés d'identification (**FAO, 2000**), Les spécimens de *Cyprinus carpio. L* sont majoritairement des mâles.



Photo 01 : Les échantillons au laboratoire (SNV-université août 1955-skikda).

I.1.1. Présentation de de lac-Oubeira (EL-Kala)

Le lac Oubeira est un lac d'eau douce naturel endorhéique situé dans le nord-est de l'Algérie, dans le parc national El-Kala (PNEK) créé en 1983 et a une altitude moyenne de 25 m au-dessus du niveau de la mer. Il s'agit du premier lac d'eau douce d'Algérie, d'une superficie estimée à 2200 ha et d'une profondeur maximale d'environ 4m (Sehili et al., 2020).

Les coordonnées géographiques au centre du plan d'eau sont (Lat. 36 50'E; Long. 8 23' N) (Figure 10) ; il est alimenté par quatre cours d'eau :

- l'oued Demnet Rihana au Nord ;
- l'oued Boumer chene au Nord-Est ;
- l'oued Dey L'Grâa à l'Est ;
- et l'oued Messida au Sud. (Djabouri et al., 2014).

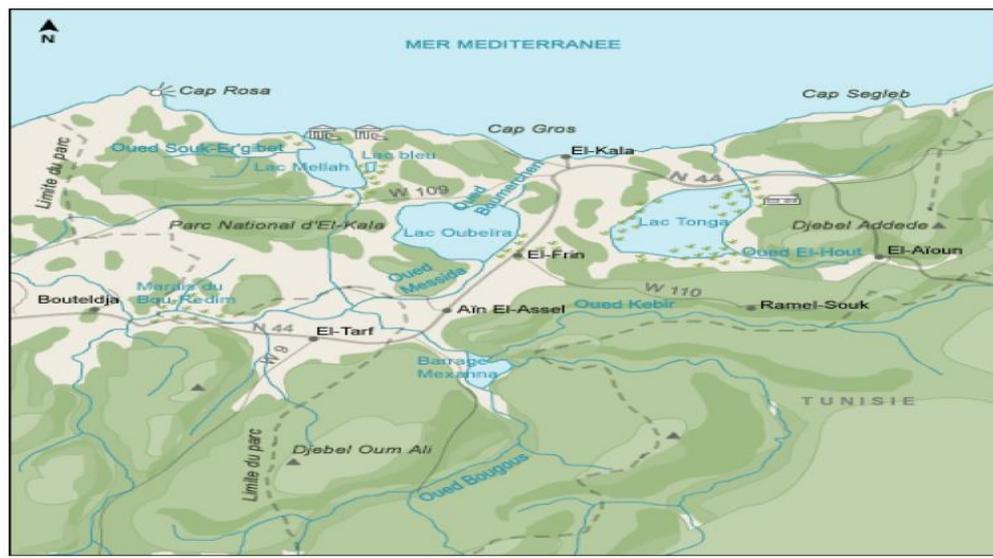


Figure 10 : Situation géographique de la zone d'échantillonnage de lac oubeira (Al kala) (Google Maps, 2021).

I.1.2. Principe De L'essai

Les poissons sont exposés au produit chimique testé pour une période de 96 heures en conditions statiques, semi-statiques ou d'écoulement-traversant. Les mortalités, et les anomalies visibles relatives à l'apparence et au comportement sont enregistrées. Dans la mesure du possible, les concentrations qui tuent 50 % des poissons (CL50) sont déterminées. La carpe

commune (*Cyprinus carpio. L*) est l'un des poissons faciles à transporter résistant aux conditions difficiles.

I.1.3. Choix des métaux

Dans cette étude on s'intéresse à un élément métallique : **le dioxyde de plomb (Pb O₂)**, Ce choix a été motivé par la grande persistance dans l'environnement, sa faculté à s'accumuler dans les tissus adipeux des organismes vivants et se propager le long de la chaîne trophique, en plus de sa toxicité potentielle pour les écosystèmes et santé humaine, qui constitue une préoccupation mondiale.

I.1.4. Critères de validité de l'essai

Les critères de validité de l'essai sont les suivants :

1) Dans le témoin (témoin avec l'eau de dilution, témoin avec solvant), la mortalité ne doit pas dépasser 10 % (soit un poisson, si moins de 10 poissons témoins sont testés) à la fin de l'exposition ;

2) La concentration d'oxygène dissous est ≥ 60 % de la valeur de saturation en air dans tous les récipients d'essai pendant toute la durée de l'exposition ;

I.1.5. Description de la méthode

I.1.5.1. Récipients d'essai

Des aquariums en verre monobloc ont été conçus pour cette expérience. Les dimensions des récipients sont suffisamment grandes pour éviter aux poissons tout stress (autre que celui causé par le produit chimique testé) et pour satisfaire aux critères de taux de charge indiqués au (OCDE, 2019). Les récipients d'essai sont placés de manière aléatoire dans la zone d'essai et protégés des perturbations indésirables (bruit excessif, vibrations, lumière (OCDE, 2019) (Photo 02).



Photo 02 : La mise en place de l'Aquari- expérimentation (Cliché Personnels. Laboratoire SNV- université du 20 août 1955).

I.1.5.2. Choix de matériel biologique (Bio-essaie)

L'espèce cyprinidés : (*Cyprinus carpio. L*) a été choisie en raison de sa valeur nutritionnelle, et de sa considération comme aliment très consommable par de nombreuses populations. Ces espèces de poissons sont facilement accessibles, faciles à entretenir, et la plupart d'entre elles sont utilisées depuis longtemps dans les essais de sécurité des produits chimiques. Elles peuvent être élevées et se reproduire dans des fermes aquacoles ou en laboratoire, où elles sont protégées des maladies, fournissant des animaux sains de provenance connue pour les essais.

I.1.5.2.1. Âge et taille des poissons

Les poissons Juvéniles, proviennent de la même source et de la même population dans un souci d'uniformité (Tableau 5). Les poissons sont du même âge (estimer d'après leur taille) ayant une apparence normale.

Tableau 05 : Taille en (cm) des *Cyprinus carpio* envisagés pour l'expérimentation).

Aquariums	Taille (cm)
Aquariums témoins	26
	20
Aquariums A	30
	30
	30
	30
Aquariums B	25
	23

	20
	24
Aquariums C	40
	40
	30
	30

I.1.5.2.2. Maintenance des poissons

Tous les poissons sont conservés au laboratoire pendant au moins neuf jours avant d'être utilisés. Les 48 premières heures constituent une période d'installation. Ensuite, les poissons sont acclimatés pendant au moins sept jours (48 heures d'installation + sept jours d'acclimation = neuf jours) dans une eau similaire à l'eau servant à l'essai immédiatement avant le début de l'essai. La conservation des poissons doit se faire dans les conditions suivantes :

- Photopériode : adaptée à l'espèce ;
- Température : adaptée à l'espèce ;
- Concentration d'oxygène : au moins 80 % de la valeur de saturation de l'air ;
- Alimentation : trois fois par semaine ou quotidiennement jusqu'à 24-48 heures

avant le début de l'exposition. La nourriture peut être donnée à satiété. Les surplus de nourriture et les fèces doivent être retirés en tant que de besoin pour éviter l'accumulation de déchets.

Pendant la période d'acclimation, on note la mortalité et on applique les critères suivants :

❖ Mortalité supérieure à 10 % de la population en (07) sept jours : rejet du lot entier. Mortalité entre 5 et 10 % de la population : acclimation poursuivie pendant (07) sept jours supplémentaires et s'il y'a plus de 5% de mortalité pendant la seconde période des sept (07) jours, le lot entier est rejeté.

❖ Mortalité de moins de <5 % de la population en sept jours : acceptation du lot.

Etant donné que le taux de mortalité est Zéro, nous avons accepté tout le lot.

I.1.5.2.3. Eau (eau de dilution, milieu d'essai)

L'eau utilisée est une eau reconstituée propre (ISO, 1996), bien que de l'eau potable déchlorée puisse également être utilisée si nécessaire. L'eau est de qualité constante pendant toute la durée de l'essai. La qualité de l'eau est considérée comme bonne du moment que les

poissons survivent pendant toute la durée de l'élevage, de l'acclimatation et de l'essai sans montrer de signes de stress. La dureté totale et le pH doivent se situer dans la plage optimale pour carpes.

I.1.6. Procédure de l'expérience

I.1.6.1. Conditions d'exposition

Durée : 96 heures.

Chargement : Nous avons mis, une charge maximale de 0.8 g de poids frais/L selon les recommandations de (**l'OCDE 2019**), soit (04) quatre individus pour chaque aquarium de 70 L avec un débit de cinq volumes par 24 heures, un total de 50 L passe dans la cuve en 24 heures. Avec 250 g de poisson).

Lumière : Elle est située dans les plages de photopériode spécifiées pour les carpes testées une intensité de 10-20 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$, 540-1 000 lux ou 50-100 fc (niveaux ambiants du laboratoire).

Température : La température de l'eau ne doit pas varier de plus de 21°C et 25 °C entre les récipients d'essai ou d'un jour sur l'autre à tout moment pendant l'exposition, et elle est située dans les plages de température spécifiées pour les carpes testées.

Concentration d'oxygène : l'oxygénation est effectuée pas moins de 60 % de la valeur de saturation de l'air, à condition que cela n'entraîne pas une perte significative de produit chimique testé,

Perturbation : les perturbations (vibrations ou bruit excessifs, par exemple) qui pourraient modifier le comportement des poissons sont évitées ou réduites autant que possible.

Concentrations expérimentales : Pour l'essai (**Tableau 04**), on a utilisé trois concentrations à savoir : 2 mg/l, 10 mg/l et 20 mg/l (**Rufli et Springer, 2011**).

Tableau 04 : Différents doses servant aux bio-essais.

Pb O2	CL [10]	CL [50]	CL [90]	Références
Aquarium témoin				
Aquarium A	2 mg/l			

				Rajeshkumar, et Li, 2018
Aquarium B		10 mg/l		
Aquarium C			20 mg/l	

Après les 96 h d'exposition, les carpes sont retirées des aquariums et mises dans un emballage, étiquetées puis congelées. Les carpes congelées ont été transportées au laboratoire de l'université de Jijel dans une glacière vers le début du mois d'Avril où nous avons effectué les différentes analyses.

I.2. Analyses effectuées

Les différentes analyses effectuées au laboratoire sont représentées dans ce diagramme (Figure 11)

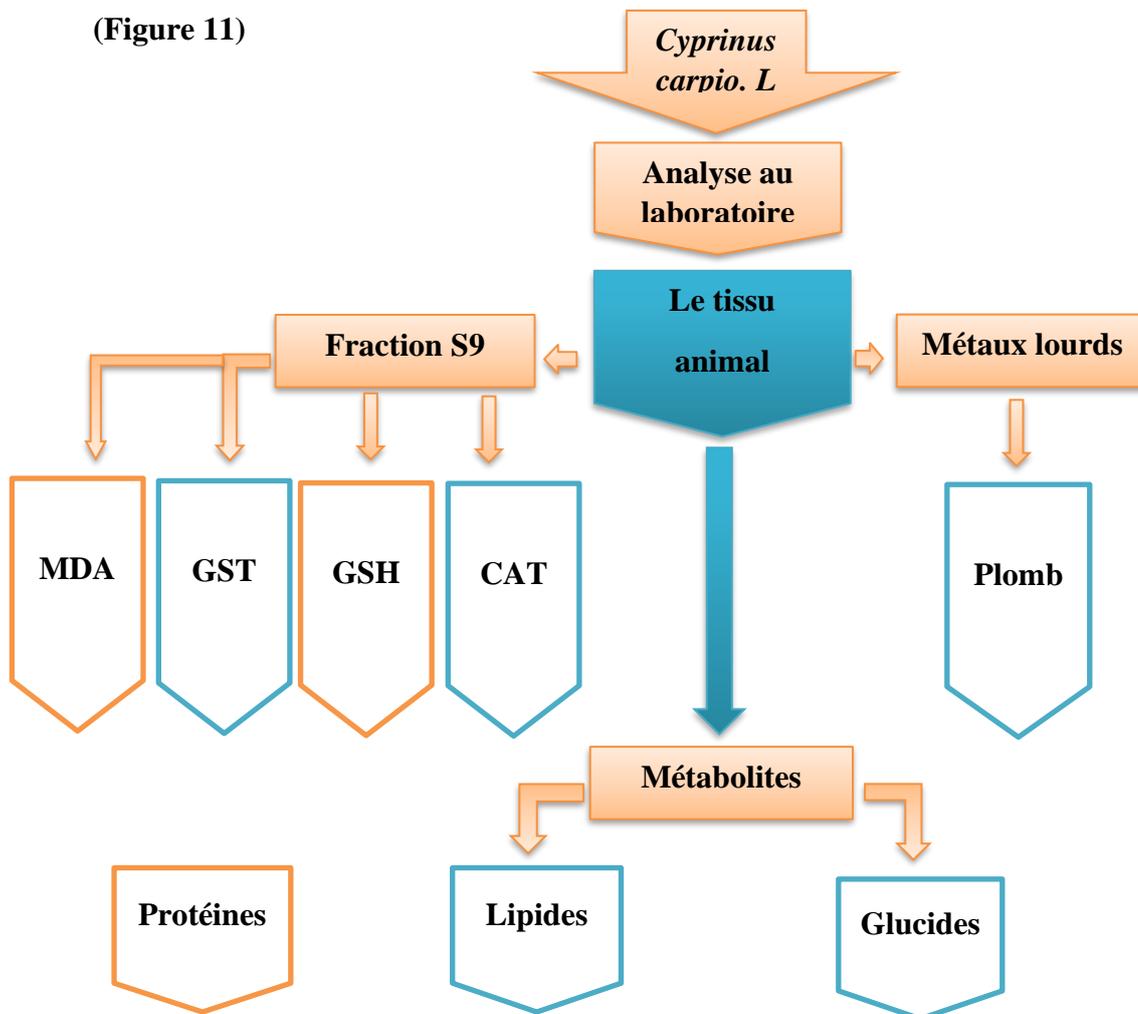


Figure 11 : Schéma récapitulatif expliquant les différentes analyses effectuées sur les carpes.

I.3. Dosage des métabolites

I.3.1. Préparation des échantillons

Le tissu de chaque individu (le foie, les branchies et les muscles), après pesés, sont met dans des tubes eppendorfs additionné de 1ml de TCA (20%) puis étiquetés et conservés au congélateur en attendant les dosages.

I.3.2. Extraction des métabolites

L'extraction des métabolites des échantillons a été réalisée selon le procédé de (**Shibko et al, 1966**), les fragments de l'échantillon additionné de 1ml TCA (20%) sont broyés manuellement à l'aide d'un mortier. Le broyat est centrifugé à 5000 trs/min pendant 10 minutes, ce qui permet l'obtention du surnageant I qui renferme des glucides. Le culot I est ensuite additionné de 1ml d'éther/chloroforme (1V/1V). Une deuxième centrifugation est réalisée à 5000 trs/min pendant 10 minutes permettant ainsi l'obtention du surnageant II qui contient les lipides, tandis que le culot II, dissout dans 1ml de NaOH (0.1N), sera utilisé pour le dosage des protéines totales (**Figure 12**).

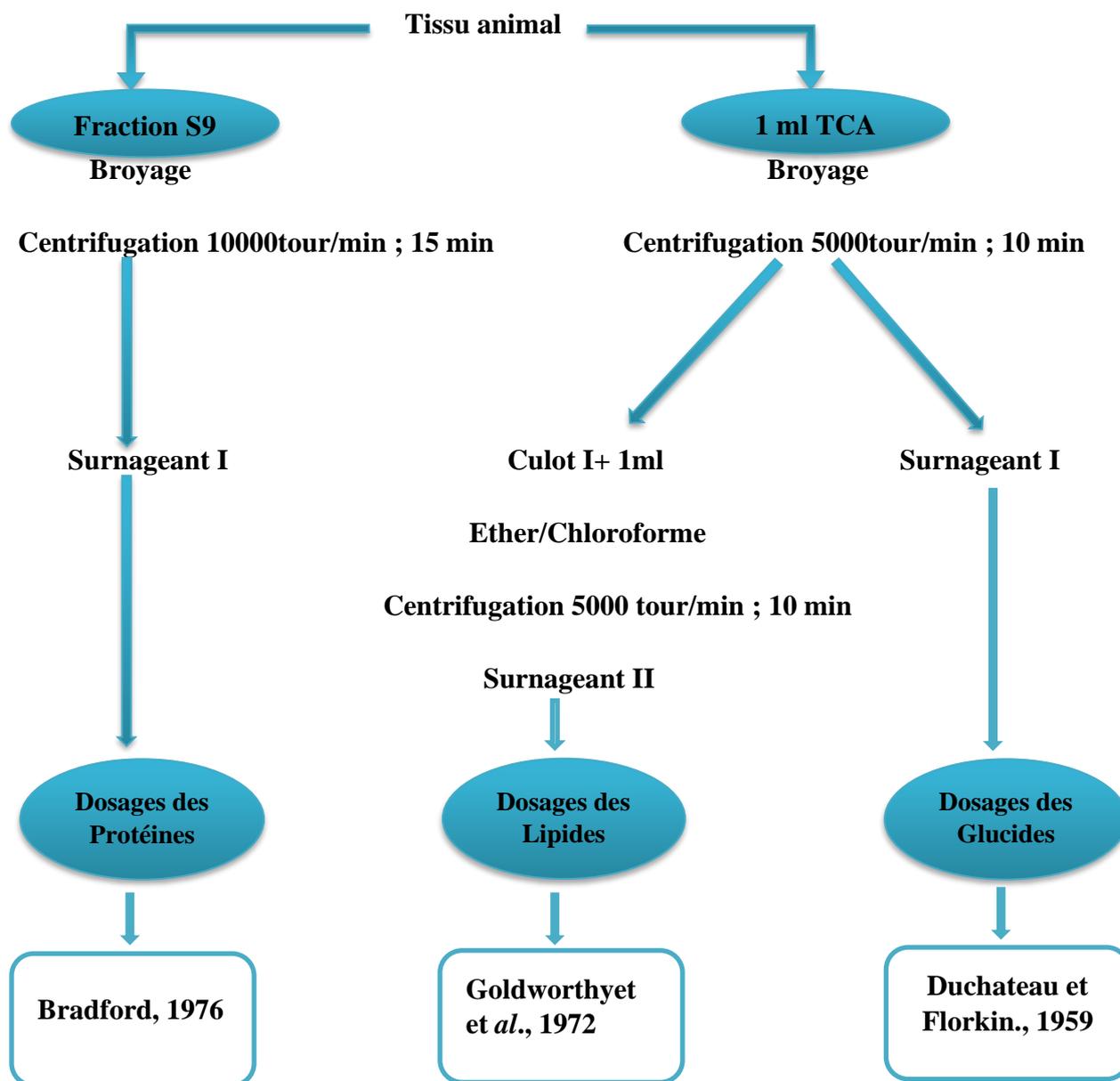


Figure 12 : Extraction et dosage des métabolites (Shibko *et al.*, 1966).

a- Dosage des glucides

Le dosage des glucides a été réalisé selon la méthode de **Duchateau et Florkins (1959)** cette méthode repose sur les propriétés chimiques spécifiques des oses. Une voie très générale est la déshydratation des groupements hydroxyles à chaud dans un milieu acide conduisant à la formation intermédiaire de furfural pour les pentoses et de 5-hydroxyméthyl furfural pour les hexoses (**Dauvillier, 1998**).

Cette méthode utilisant l'Anthrone comme réactif (**annexe A-1**), Les dérivés furfuraliques condensés à l'Anthrone donnent des composés bleu-vert dont l'absorption est mesurée à 620 nm (**Dauvillier, 1998**), en utilisant comme standard le glucose (2g/ml). La courbe d'étalonnage a été réalisée à partir du (**Tableau 05**).

Tableau 05 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides.

Tubes	Blanc	2	3	4	5	6
Glucose (µl)	0	100	200	300	400	500
Eau distillée (µl)	500	400	300	200	100	0
Anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité des glucides (µg)	0	100	200	300	400	500

Les glucides des échantillons ont été dosés dans une aliquote de 100 µl d'extrait glucidique, additionné de 4 ml d'Anthrone, chauffé au bain-marie à 80°C pendant 10 minutes.

b- Dosage des lipides

La quantification des lipides a été faite selon la méthode de **Goldsworthy (1972)**. Les lipides développent à chaud avec l'acide sulfurique concentré un complexe rose dont l'intensité de coloration est mesurée à une longueur d'onde de 530 nm qui est proportionnelle à la concentration des lipides.

La solution mère de lipide est préparée en utilisant l'huile de tournesol qui contient plus de 85% de triglycérique ; 25mg l'huile sont pesés dans un tube eppendorf, et repris dans 10ml d'un mélange Ether/Chloroforme (1V/1V) la courbe d'étalonnage est réalisée à partir de (**Tableau 06**).

Tableau 06 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.

Tubes	Blanc	2	3	4	5	6
Solution mère de lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Ether /Chloroforme (µl)	100	80	60	40	20	0
Acide sulfurique (ml)	1	1	1	1	1	1
Vanilline (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Quantité des lipides (µg)	0	50	100	150	200	250

Une aliquote de 100 μ l de l'extrait lipidique a été additionné de 1ml d'acide sulfurique concentré (98%). Après agitation, les tubes sont chauffés à 100°C pendant 10min, après refroidissement, prendre 200 μ l de chaque tube puis additionner 2.5 ml de vanilline (**annexe A-2**). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, faire la lecture.

c- Dosage des protéines

La technique utilisée est celle décrite par **Bradford (1976)**, c'est un dosage colorimétrique basé sur le changement d'absorbance à une longueur d'onde 595 nm ; se manifestant par le changement de la couleur du bleu brillant de Coomassie (BBC : G250) ;(**annexe A-3**) après des liaisons avec les acides aminés aromatique (tryptophane, tyrosine et phénylalanine) et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans les protéines. Le changement d'absorbance est proportionnel à la quantité du colorant lié, indiquant donc la concentration en protéines dans l'échantillon.

La réalisation de ce dosage nécessite l'élaboration d'une gamme d'étalonnage des protéines standards. Les résultats sont exprimés en équivalent-albumine (l'albumine de sérum du bœuf BSA 2mg/ml) produit de référence servant à la standardisation (**Dauvillier, 1998**), la courbe d'étalonnage est réalisée à partir du (**Tableau 07**).

Tableau 07 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.

Tubes	Blanc	2	3	4	5	6
BSA (μl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (μl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité des protéines (μg)	0	200	400	600	800	1000

Les protéines des échantillons ont été dosées dans une aliquote de 100 μ l additionné de 4ml de BBC. La lecture des absorbances a été effectuée à 595 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

I.4. Dosage des métaux lourds

I.4.1. Analyse des métaux traces par spectrométrie d'absorption atomique SAA

La spectrométrie d'absorption atomique s'applique à l'analyse quantitative et qualitative d'environ 70 éléments. Sa solubilité couvre un domaine qui s'étend de la ppm au ppb. Sa rapidité, sa simplicité, sa sélectivité exceptionnellement élevée et le cout modéré de son appareillage constitue autant d'atouts supplémentaire de la méthode **Skoog et al (1997)**.

Le principe de la SAA est le phénomène nommée absorption par résonance dans le gaz : si l'on fait passer un rayonnement lumineux polychromatique à travers un gaz à l'état d'atomes dispersés, Une lampe à cathode creuse (LCC), ayant pour cathode l'élément étudié, produit un spectre d'émission caractéristique de l'élément sous l'effet d'une décharge électrique. Sur le parcours du rayement se situé un atomiseur (unité permettant le passage à l'état d'atome) contenant l'échantillon à analyser à l'état gazeux dont les atomes absorbent dans le domaine de résonance. L'intensité de la lumière primaire sera donc atténuée les raies spectrales qui ne sont pas absorbées, ne sont pas atténuées (**Schwedt, 1993**).

La chaleur l'état gazeux nécessaire pour faire passer l'échantillon a l'état gazeux est générée par une flamme (la SAA de flamme analyse seulement les solutions). Un atomiseur de flamme consiste en un nébuliseur qui convient l'échantillon en un aérosol, qui est alimenté dans le bruleur.

L'atomisation se produit dans la flamme qui est habituellement alimentée par l'acétylène et du protoxyde d'azote ($N_2O-C_2H_2$) 3100k ou de l'air comprimé (air- C_2H_2) 2500k (**OIML, 1991**).

Les solutions de référence sont préparées des solutions pures (Cadmium chloride in water (100 mg/Cd) ; Lead standard (100mg/Pd) Lead II nitrate in water $Pb(NO_3)_2$ - $Pb(NO_3)_2$) achetées pour l'absorption atomique par Merk. La lampe cathodique émet son rayonnement au travers d'une lentille focalisant le faisceau au travers de la flamme.

Un monochromateur reçoit le signal et mesure l'absorbance. L'échantillon en solution est aspiré par un capillaire dans la chambre d'injection qui conduit au bruleur (**Schwedt, 1993**).

L'absorbance obéit à une loi de proportionnalité du type de loi de **Beer-Lambert** :

$$\text{Abs} = K L N_0$$

Où :

K : coefficient d'absorption ou de la section de capture d'un photon ;

L : longueur du chemin optique dans l'atomiseur ;

N₀ : nombre d'atome d'atomes à l'état fondamental par unité de volume dans l'atomiseur.

L'appareil utilisé dans notre travail est du modèle AA-6200 (SCHIMADZU-CORPORTION) caractérisé par une limite de détection (concentration d'un élément qui donne un signal égal à trois l'écart type du bruit de fond) varie de 0.001 à 0.02 ppm avec une exactitude de 1 à 2% d'erreur relative.



Photo 03 : Spectrophotomètre d'absorption atomique au laboratoire. (Université Mohammed Seddik Ben Yahia - Jijel).

I.4.2. Dosage des métaux dans le foie, les branchies et les muscles de la carpe

Les organes de carpe congelés auparavant sont décongelés puis portés à l'étuve à 105°C pendant 48 heures pour les faire séchés totalement, la matière séchée est ensuite broyée puis tamisée sur des mailles de 2 mm .La poudre ainsi obtenue va subir une digestion non humide avec de l'eau régale (HCL/HNO₃, 3V/1V) ; cette technique consiste en une digestion de la matière organique dans un milieu très oxydant puisqu'on ne peut faire appel à des catalyseurs minéraux, l'opération est brutale, présente des risques mais elle est rapide et à la fin le milieu

de minéralisation renferme la totalité des éléments minéraux en solution, sans risque de perte par volatilisation (Dauvillier, 1998).

Dans un ballon, un gramme de l'extrait sec en poudre est additionné de 16 ml de l'eau régale puis porté à l'ébullition sous la haute dans un bain de sable. Au cours de cette phase, l'évaporation des acides s'accompagne du dégagement d'une fumée brune indiquant que la digestion de la matière organique n'est pas terminée, nous veillons alors à rajouter 12 ml lorsque le contenu du ballon atteint 2 à 3 ml. Au fur et à mesure la couleur de la fumée devienne blanchâtre ce qui prouve que la minéralisation est terminée. On laisse l'opération se poursuivre jusqu'à l'obtention d'un résidu de 3 à 4 ml qui sera filtré sur papier puis complété à 25 ml par l'eau bidistillée. Une deuxième filtration s'effectue sur membrane (pore de 4-5µm), le filtrat final est conservé à froid (4 à 8°C pendant 30 jours au maximum) dans des flacons en polyéthylène pour éviter tout transfert ou diffusion de minéraux entre l'emballage et la préparation dans un sens ou dans un autre.

N.B : toutes ces étapes doivent se dérouler sous la hotte.

La concentration des éléments en (**µg/g**) de tissu égale à la concentration lue (**µg/l**) en ppm divisée par la masse de l'échantillon multipliée (le volume total de l'échantillon moins le volume de l'échantillon acide après la digestion).

$$[\text{Métaux ug/g}] = \frac{[\text{ppm}]}{1\text{g} * (\text{Vt ech} - \text{Vt ech acid})}$$

Où :

1g : la masse de la prise d'essai.

Vt ech : volume total de l'échantillon 25ml.

Vt ech acid : volume total de l'échantillon après la digestion= 3 ml.

I.5. Les biomarqueurs du stress oxydant

I.5.1. Extraction de la fraction « S9 »

Les dosages enzymatiques (relatifs aux suivis de biomarqueurs de stress et de neurotoxicité) nécessitent que les tissus biologiques fassent l'objet préalable d'une homogénéisation et d'un fractionnement subcellulaire. L'ensemble de ces procédures se

déroulent dans un tampon adapté dont la composition est la suivante : tampon phosphate 100 Mm (8.44 ml), glycérol 20% (1.56) et phénylméthanesulfonylfluoride (PMSF) 0.2 Mm (2µl).

Une fois l'organe prélevé, il doit donc être placé dans un tube lequel un volume déterminé de ce tampon aura préalablement être déposé (environ 500 µl pour 100 mg de tissu).

Le broyage des tissus doit être réalisé directement dans un tube où il se trouve, et cela afin d'éviter une perte trop importante de matériel lors de transvasements successifs. La vitesse de rotation de l'homogénéisateur doit être assez faible pour ne pas réchauffer l'échantillon mais suffisante pour minimiser le temps de broyage et ainsi éviter une détérioration de l'échantillon.

Une fois les tissus correctement homogénéisés dans le tampon, on procède à leur centrifugation (15min ; 10 000 g ; 4°C) en vue de l'obtention de la fraction dite « **S9** ».

La fraction S9 est en effet utile pour l'étude du métabolisme cellulaire puisqu'elle contient les enzymes microsomales et cytosoliques. Une fois cette fraction obtenue, elle est aliquotée (généralement en deux aliquots) et stockée à -20°C jusqu'à quelques semaines avant l'analyse (**Barillet, 2007**).

I.5.2. Dosage de l'activité de catalase

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus, ce sont des enzymes tétramétriques à groupement hème. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en catalysant la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) toxique en eau et en oxygène (**Regoli et Principato, 1995**).

L'activité catalase est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 240 nm par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène en faisant réagir dans le tampon phosphate (100 mM ; PH 7.5), selon les étapes suivantes pendant 1minute :

- ✓ **780µl tampon phosphaté (0.1M ; PH 7.5).**
- ✓ **200µl H₂O₂ (0.5).**
- ✓ **20µl homogénat.**
- ✓ **La lecture après 15sec durant 1min.**

A une température d'incubation de 25°C. Les résultats sont exprimés en μmole d' H_2O_2 par minute dans un mg de protéines.

Pour le blanc on utilise **800 μl de tampon phosphaté (0.1M ; PH 7.5) et 200 μl H_2O_2 (0.5).**

L'activité de la catalase décroît rapidement, il est important de mettre toujours le même temps entre le pipetage et le moment de la lecture qui se fait après 15 secondes de mesure. L'activité CAT est calculée par la formule suivante :

$$\text{Activité CAT } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g mg de port}) = \frac{\Delta \text{DO} * 10}{(\epsilon * L * x * 0.05)}$$

Où :

DO : densité optique ;

L : longueur de la cuve utilisée

X : la lecture des ϵ protéines ;

ϵ : coefficient d'extraction= $0.004\text{mM}^{-1}.\text{cm}^{-1}$.

I.5.3. Dosage de glutathion (GSH)

Le glutathion ou γ -L-cystéinglycine est un tri-peptide. Grace à son groupement SH libre, le glutathion constitue le principal antioxydant propre à la cellule.

Pour le dosage du glutathion (GSH) sanguin, nous avons utilisé la méthode colorimétrique **d'Ellman (1959)** modifiée, par le réactif acide 5, 5'-Dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB), Le principe de la réaction consiste à l'oxydation du GST par le DTNB, ce qui libère l'TNB).

La concentration du glutathion sanguine est mesurée selon les étapes suivantes :

- ✓ **230 μl de DTNB (10mM).**
- ✓ **250 μl de tampon phosphaté (0.1M, pH=8).**
- ✓ **Ajoutée 20 μl de la source enzymatique.**
- ✓ **Laisser le mélange pendant 15 min d'incubation.**
- ✓ **La lecture de la densité optique est effectuée.**

Le taux du GSH est déduit à partir d'une gamme étalon de glutathion (100mM), 50mM, 25mM, 12.5mM) (**Tableau 8**) (**Annexes C- 4**).

Tableau 8 : Réalisation de la gamme étalon de GSH.

Tubes	Blanc (0 Mm)	2 (1.25 mM)	3 (2.5 mM)	4 (5 mM)	5 (10mM)
Solution mère (GSH) (µl)	0	12.5	25	50	100
L'eau distillée (µl)	50	25	25	25	0
Tampon phosphate (µl)	250	250	250	250	250
DTNB (µl)	230	230	230	230	230

Préparation dans les mêmes conditions que le dosage et les concentrations sont exprimés en millimole de glutathion par gramme du sang (**Ellman, 1959**).

I.5.4. Dosage de l'activité de la glutathion-S-transférase (GST)

Les glutathion S-transférase (**GST**) sont des enzymes de métabolisation, dont la fraction est de conjuguer à une molécule de glutathion (qui possède un groupement nucléophile –SH) une grande variété de substrats (porteurs de groupements électrophiles) pour permettre leur élimination (**Habig et al., 1974**).

L'activité de la GST est déterminée comme suit :

- ✓ **850 µl de tampon phosphate (0.1M ; pH 6.5).**
- ✓ **50 µl du CDNB (20mM).**
- ✓ **Incubation du mélange réactionnel à 37°C pendant 10 min.**
- ✓ **50 µl du glutathion.**

L'activité de la densité optique est lue chaque minute pendant 5 min à 340 nm. On fait les calculs de l'activité GST selon la relation suivante :

$$\text{Taux de GST (U/ml)} = \frac{\Delta D \times V_t}{9.6 \times V_s \times \text{Prot}}$$

Où :

Prot : protéine.

Vt : volume total (en millilitres) de l'essai.

9.6 : coefficient milli-molaire du glutathion-1-chloro-2,4-dinitrobenzène conjugué à 340 nm.

Vs : volume (en millilitre) de l'enzyme utilisée.

N.B : Le mode de préparation de chaque solution et tampon est noté dans l'annexe selon la chronologie des dosages.

I.5.5. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

Le dosage du malondialdéhyde (MDA) a été réalisé selon la méthode de **Draper et Hadley (1990)**. Elle est basée sur la mesure colorimétrique de la réaction entre l'acide thiobarbiturique (TBA° avec la malondialdéhyde, composé issu de la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires donnant un complexe rose mesuré à une longueur de 532 nm.

Les tissus sont homogénéisés dans 1 ml de tampon Tris/Hel (50 mM : PH 7.5) [Tris 50 mM (1.5137 mg), acide tétracétique (EDTA) 1 mM (0.00730g), saccharose 0.5 M (42.78g) dans 250 ml d'eau distillée]. Après homogénéisation, une centrifugation de l'homogénat est effectuée le dosage est réalisé selon les étapes suivantes :

- ✓ **200 µl de surnageant additionner à 1 ml de TCA (100g/l).**
- ✓ **Chauffer au bain marie à 100°C pendant 15 min.**
- ✓ **Refroidissement dans un bain de glace.**
- ✓ **Centrifugation (10000trs/min ; 10min).**
- ✓ **0.8 ml (800µl) de surnageant sont additionnée à 0.4 ml (400µl) TBA (0.67g dans 98 ml eau distillée + 2ml NaOH (2N).**
- ✓ **Chauffer au bain de glace.**
- ✓ **Ajouté 0.6 ml (0.6µl) de butanol.**
- ✓ **Après avoir agité au vortex le mélange, une dernière centrifugation (10000trs/min ; 10 min) est effectuée.**
- ✓ **Récupérer le surnageant constitué de butanol renfermant les complexes TBA-MDA.**
- ✓ **Faire la lecture des absorbances à une longueur d'onde de 532 nm.**

Le taux du malonedialdehyde est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Taux du MDA} = \frac{(\text{DO} * \text{volume total de la cuve} * 10^3) / (156 * \text{volume de la prise d'essai})}{\text{mg de protéines}}$$

N.B : Le mode de préparation de chaque solution et tampon est noté dans **(l'annexe c-1)** selon chronologie des dosages.

I.6. Analyses statistiques

Tous les tests statistiques ont été réalisés par Excel 2016

I.6.1. Régression linéaire

La quantité des différents métabolites (glucides, lipides et protéines) dans les échantillons biologiques a été déterminée à partir d'une courbe de référence dont l'équation est de type :

$$Y = aX + b$$

Y : absorbance.

X : quantité du métabolite.

b : coefficient.

I.6.2. Test t de student

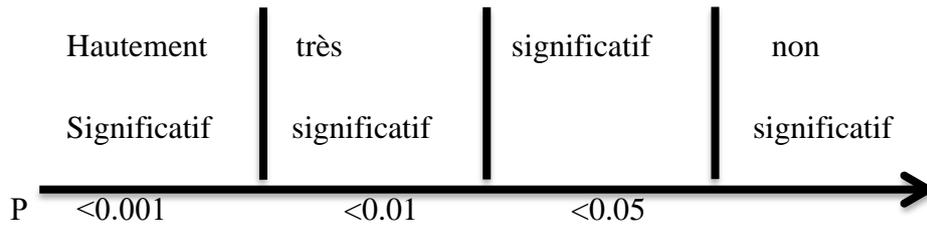
Le test t de student a été utilisé pour la comparaison des moyennes deux à deux entre les carpes témoins et traitées à différentes doses. Ce test a été réalisé pour comparer les valeurs des teneurs en métabolites, des concentrations du plomb et des biomarqueurs dosés.

I.6.3. L'analyse de variance à un seul critère

L'analyse de la variance à un seul critère de classification a été utilisée pour étudier la différence entre les valeurs enregistrées dans les organes des carpes traités par différentes doses du plomb.

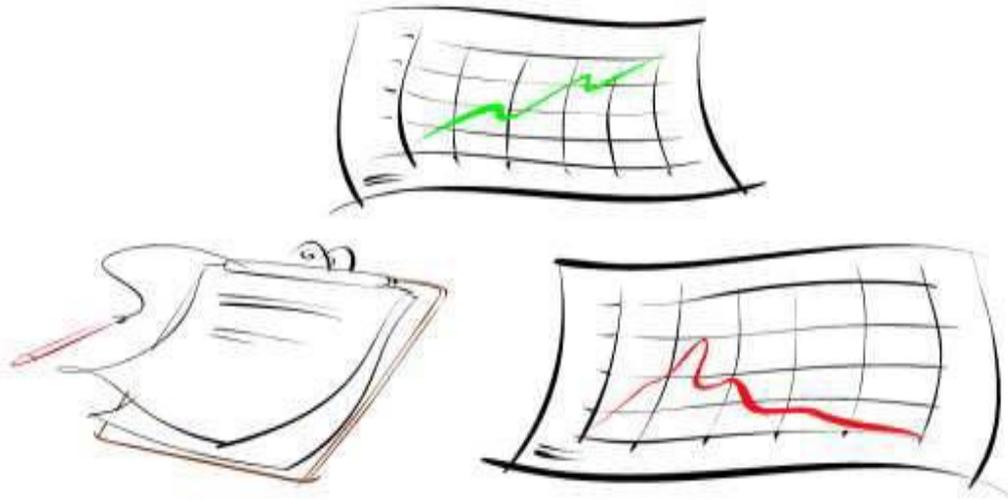
I.6.4. Le seuil de signification

Le seuil de signification est représenté comme suit



Chapitre II

Résultats et interprétation



Les résultats obtenus des analyses effectués sur les carpes sont présentés dans des tableaux et des histogrammes réalisés par Excel, les résultats de l'analyse statistique par le test t de student sont mentionnés dans les annexes (**annexe I**).

I.1. Dosage des métabolites

II.1.1. Les protéines

II.1.1.1. Réalisation de la courbe d'étalonnage

Avant de déterminer la teneur en protéines dans les échantillons nous avons réalisé une courbe d'étalonnage (**annexe D**)

II.1.1.2. Teneur des échantillons en protéines

Le tableau 09 et figure 13 montre la variation de la teneur en protéines totales au niveau des organes de la carpe commune, Les teneurs des protéines oscillent entre 23,49 à 97,94mg/100mg de tissu.

La comparaison des teneurs en protéines chez les carpes témoins et traitées par le test t de student a révélé des augmentations significatives des protéines dans le foie et les branchies alors que dans le muscle nous n'avons pas noté une différence significative entre les témoins et les carpes traitées à la DL 10

La comparaison des teneurs en protéines entre les carpes traitées par le même test a montré des différences significatives dans le foie et les branchies tandis qu'il n'existe pas de différence significative entre les carpes traitées à la DL 10 et DL 50

L'analyse de la variance par ANOVA à un seul critère de classification a révélé une différence hautement significative ($p < 0.001$) entre les carpes dans les différents organes.

Tableau 09 : La teneur en protéines (mg/mg de tissu) dans le foie, les branchies et les muscles de la carpe (*Cyprinus carpio*), ($m \pm s$, $n=3-5$)

Doses Organes	Témoin	DL10	DL50	DL90	ANOVA
Foie	43,851 \pm 0,523	50,58 \pm 1,117	97,945 \pm 2,467	58,672 \pm 1,297	3,683.10 ⁻⁵
Branchie	23,49 \pm 1,186	29,614 \pm 2,75	39,608 \pm 2,531	31,312 \pm 1,144	2,81.10 ⁻³
Muscle	31,733 \pm 1,743	37,986 \pm 1,67	47,371 \pm 2,965	35,303 \pm 6,855	1,166.10 ⁻⁵

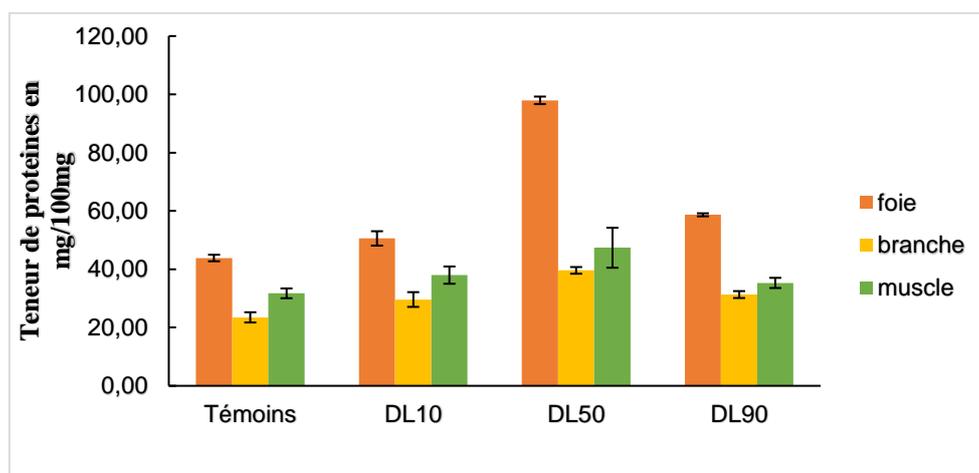


Figure 13 : La teneur en protéines dans les différents organes de la carpe (*Cyprinus carpio*) témoins et traités (mg/100mg de tissu)

I.1.1. Les glucides

I.1.1.1. Réalisation de la courbe d'étalonnage

Avant de déterminer la teneur en glucide dans les échantillons nous avons réalisé une courbe d'étalonnage (**annexe E**)

I.1.1.2. Teneur des échantillons en glucides

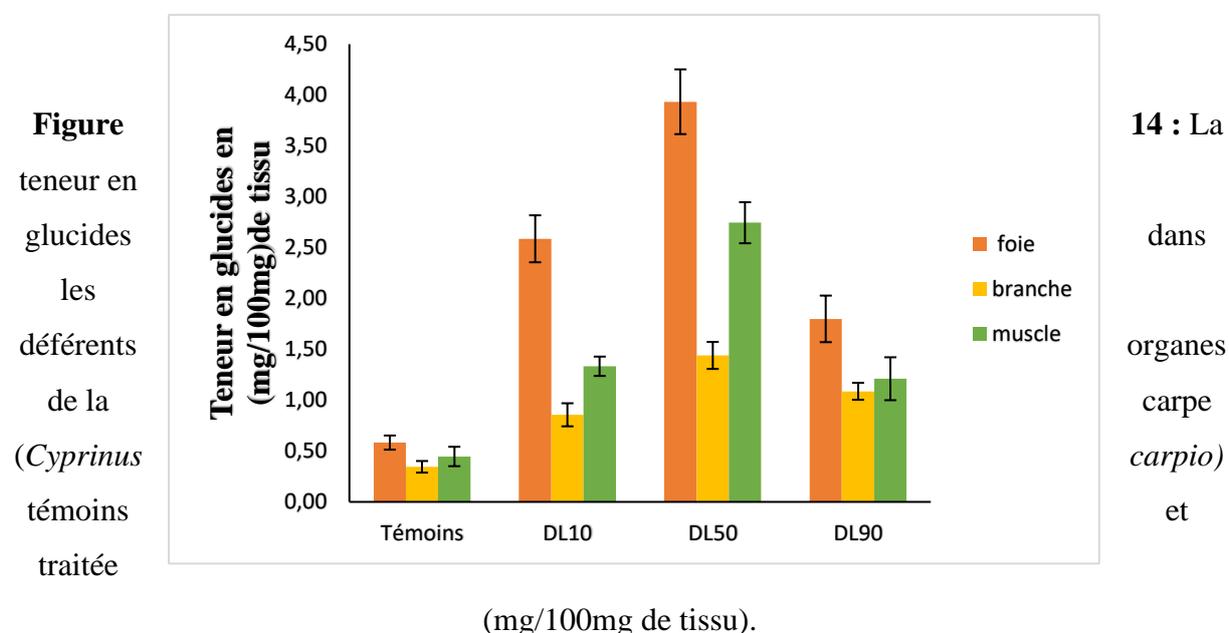
Le **tableau 10** et la **figure 14** montrent la variation de la teneur en glucide totaux au niveau des organes de la carpe, Les teneurs de glucide oscillent entre 0.345 à 3.934 mg/100mg de tissu.

L'analyse statistique par le test t de student a signalé que les teneurs en glucide sont très significatives ($p < 0.001$) dans les organes (foie, branchie, muscle) des carpes traitées par rapport des témoins, la comparaison des moyennes deux à deux des carpes traitées a démontré une différence significative entre les différentes doses

L'ANOVA a révélé qu'il existe une différence hautement significative ($p < 0.001$) dans les teneurs de glucides dans les organes de la carpe.

Tableau 10 : Les teneurs en glucides (mg/100 mg de tissu) dans le foie, les branchies et les muscles de la carpe (*Cyprinus carpio*) ($m \pm s$, $n = 3-5$)

<i>Doses</i> <i>Organe</i>	Témoin	DL10	DL50	DL90	ANOVA
Foie	0,549 ± 0,116	2,587 ± 0,231	3,934 ± 0,649	1,779 ± 0,909	0.00016
Branchies	0,345 ± 0,031	0,857 ± 0,113	1,440 ± 0,133	1,087 ± 0,083	0.00201
Muscle	0,447 ± 0,096	1,333 ± 0,095	2,745 ± 0,202	1,239 ± 0,211	3,01281.10 ⁻⁹



II.1.2. Les lipides

II.1.2.1. Réalisation de la courbe d'étalonnage

Avant de déterminer la teneur en lipide dans les échantillons nous avons réalisé une courbe d'étalonnage (**annexe F**)

II.1.2.2. Teneur des échantillons en lipides

Le **tableau 11** et **figure 15** montrent la variation de la teneur en lipides totaux au niveau des organes de la carpe, Les valeurs de lipides varient entre 0.228 à 1.389 mg/100mg de tissu.

La comparaison statistique par le test t de student a signalé que les teneurs en lipides sont hautement significatives ($p < 0.001$) dans les organes (foie, branchie, muscle) des carpes traitées par rapport des témoins, le même test a révélé une différence significative entre les carpes traitées à différentes doses.

L'ANOVA a révélé qu'il existe une différence hautement significative ($p < 0.001$) des teneurs en lipides dans les organes de la carpe.

Tableau 11 : La teneur en lipides (mg/mg de tissu) dans le foie, les branchies et les muscles de la carpe (*Cyprinus carpio*), ($m \pm s$, $n=3-5$)

Doses Organe	Témoins	DL10	DL50	DL90	ANOVA
Foie	0,506 \pm 0,0352	0,783 \pm 0,0498	1,044 \pm 0,031	0,642 \pm 0,0528	0,0019
Branchie	0,228 \pm 0,0351	0,516 \pm 0,0614	0,655 \pm 0,0184	0,274 \pm 0,0297	0,00014
Muscle	0,546 \pm 0,02	0,861 \pm 0,038	1,389 \pm 0,026	0,769 \pm 0,04	2,6344.10 ⁻⁵

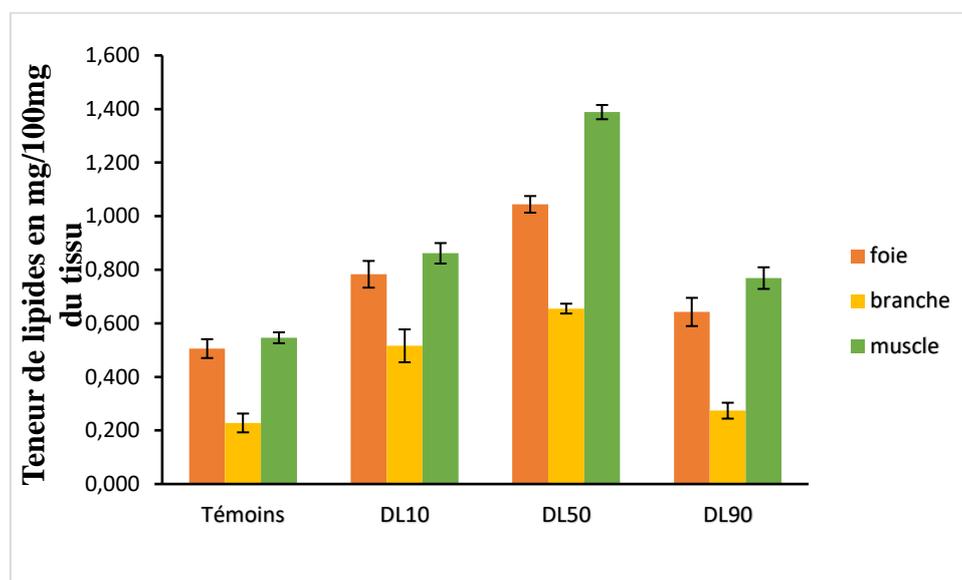


Figure 15 : La teneur en lipides dans les différents organes de la carpe (*Cyprinus carpio*) témoins et traitées (mg/100mg de tissu)

II.2. Dosage des métaux lourds

II.2.1. Concentration du plomb

La concentration du plomb enregistrée varie entre 0.128 et 5.334 ($\mu\text{g/g}$) dans les différents organes de la carpe étudiée.

L'analyse statistique des concentrations du plomb dans les différents organes a montré que le plomb augmente d'une façon significative chez les carpes traitées par rapport aux témoins, à noter que les branchies et les muscles des carpes traitées renferment les concentrations les plus élevées. La comparaison entre les carpes traitées par le même test a révélé des différences significatives entre les doses avec une diminution des concentrations du plomb chez les carpes traitées à la DL90. L'ANOVA a révélé aussi qu'il existe une différence hautement significative ($p < 0.001$) des concentrations du plomb dans les organes de la carpe. Ces résultats sont mentionnés dans le **tableau 12** et représentés graphiquement dans la **figure 16**.

Tableau 12 : Les concentrations moyennes du plomb dans les organes de la carpe (*Cyprinus carpio*) traitée à différentes doses. ($m \pm s$, $n=3-5$)

Doses Organes	Témoin	DL10	DL50	DL90	ANOVA
Foie	0,174 ± 0.030	0,838 ± 0.063	1,955 ± 0.302	1,530 ± 0.058	0,00515
Branche	0,331 ± 0.085	1,100 ± 0.089	5,334 ± 0.163	2,683 ± 0.154	5,7545.10 ⁻⁷
Muscle	0,128 ± 0,026	0,507 ± 0.072	1,163 ± 0.114	1,125 ± 0.140	0,000552

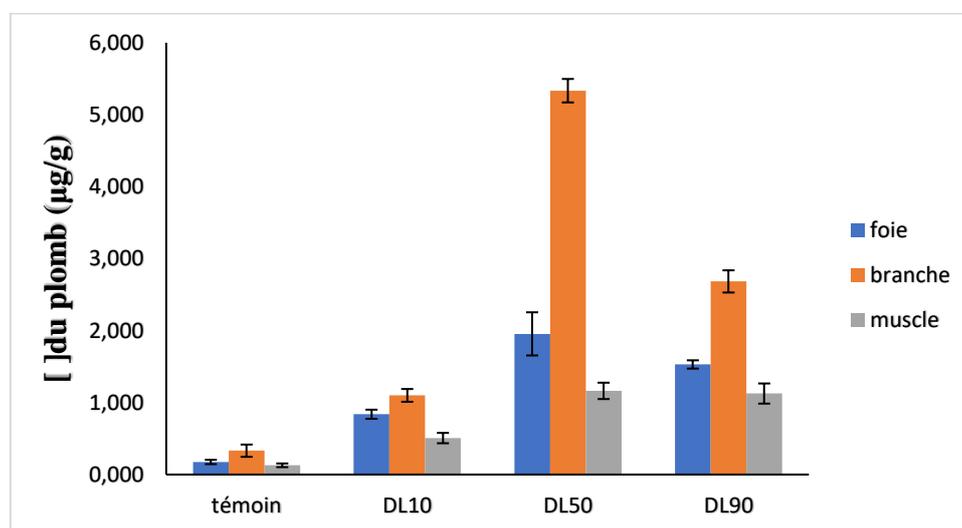


Figure 16 : La concentration en plomb ($\mu\text{g/g}$) dans les organes des carpes étudiées.

II.3. Dosage des biomarqueurs

II.3.1. Activité catalase (CAT)

Le test t de student réalisé entre les carpes témoins et traitées a révélé une augmentation hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité catalase dans les branchies sauf pour la DL90, et une augmentation hautement significative ($p < 0,001$) dans le foie et les muscles.

Le même test a montré une différence significative entre les carpes traitées à différentes doses

L'ANOVA a révélé une augmentation hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité de la catalase dans les branchies et les muscle des carpes et une différence significative ($p < 0,05$) dans le foie. (Tableau 13 ; figure 17)

Tableau 13 : L'activité de la catalase ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) dans les organes (foie, branchie, muscle) de la carpe (*Cyprinus carpio*) ($m \pm s$, $n=3-5$)

<i>Doses</i> <i>Organes</i>	Témoin	DL10	DL50	DL90	ANOVA
Foie	0,015 \pm 0,002	0,018 \pm 0,004	0,034 \pm 0,003	0,019 \pm 0,003	0,0228
Branchie	0,029 \pm 0,003	0,034 \pm 0,003	0,060 \pm 0,002	0,030 \pm 0,003	0,00067
Muscle	0,023 \pm 0,002	0,026 \pm 0,002	0,048 \pm 0,002	0,027 \pm 0,002	1,2136.10 ⁻¹⁰

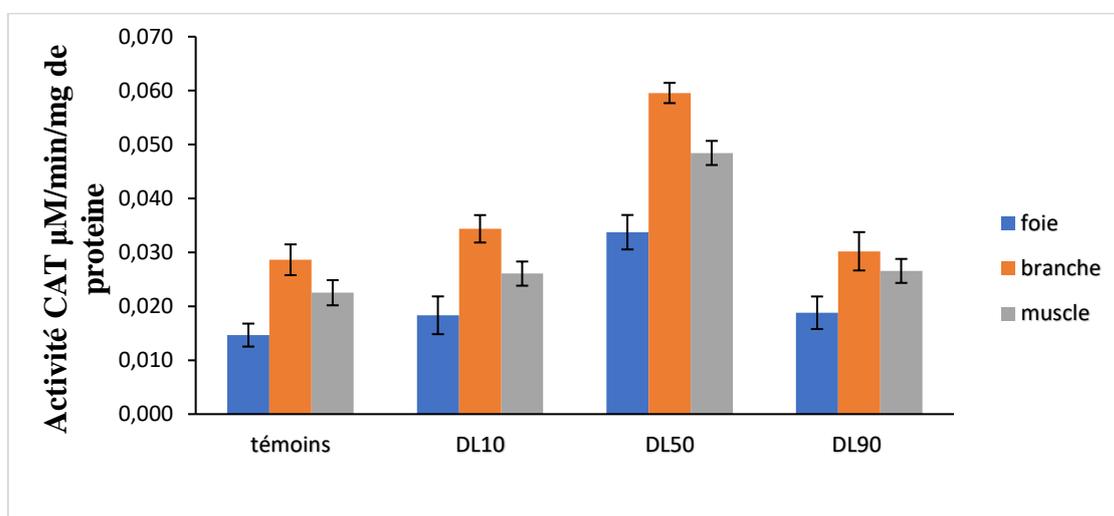


Figure 17 : L'activité de la Catalase ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) dans les trois organes (foie, branchies et muscle) des carpes étudiées.

II.3.2. Activité GSH

Avant de déterminer l'activité en GSH dans les échantillons nous avons réalisé une courbe d'étalonnage (annexe G)

L'analyse statistique par le test t de student a montré que le taux de GSH diminue de façon très significative ($p < 0.01$) dans les organes étudiés des carpes traitées par rapport des témoins, le même test a démontré des différences significatives entre les carpes traitées à différentes doses

L'ANOVA a révélé qu'il existe une différence hautement significative ($p < 0.001$) du taux de GSH dans les organes de la carpe. L'ensemble de ces résultats est mentionné dans le **tableau 14** et représenté graphiquement dans la **figure 18**.

Tableau 14 : Taux du glutathion ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) dans les organes (foie, branchies, muscle) de la carpe (*Cyprinus carpio*) ($m \pm s$, $n=3-5$).

<i>Doses</i> <i>Organes</i>	Témoins	DL10	DL50	DL90	ANOVA
Foie	0,370 \pm 0.027	0,178 \pm 0.021	0,128 \pm 0.027	0,199 \pm 0.016	0,00025
Branchie	0,216 \pm 0.024	0,129 \pm 0.016	0,078 \pm 0.024	0,099 \pm 0.011	0,0029
Muscle	0,275 \pm 0.037	0,166 \pm 0.013	0,052 \pm 0.015	0,054 \pm 0.016	7,835.10 ⁻⁸

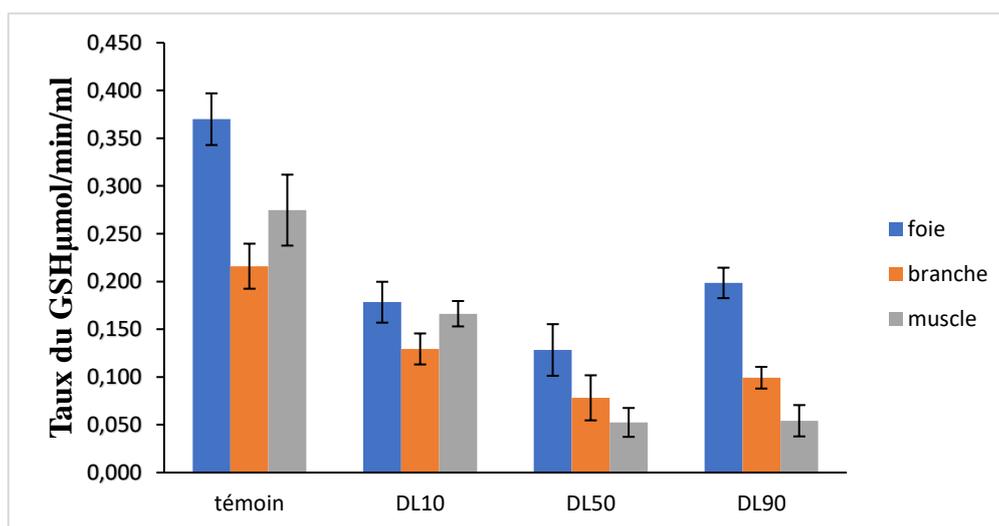


Figure 18 : Taux du glutathion ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) dans les organes (foie, branchies, muscle) des carpes étudiées

II.3.3. Activité de la glutathion -s- transférase (GST)

La comparaison des valeurs enregistrées de la GST par test t de Student a montré qu'il existe une augmentation significative dans le foie et les branchies chez les carpes traitées à la DL10 et DL50 par contre le test n'a révélé aucune différence significative dans le muscle

La comparaison entre les carpes traitées à différentes doses a montré une diminution de l'activité GST dans les branchies et les muscles chez les carpes traités à la DL90.

L'ANOVA montre une différence significative du taux de GST dans les organes des carpes. Ces résultats sont mentionnés dans le **tableau 15** et représentés graphiquement dans la **figure 19**.

Tableau 15 : Activité de glutathion S-transférase ($\mu\text{M}/\text{ml}$) dans les trois organes (foie, branchie, muscle) de la carpe (*Cyprinus carpio*) ($m \pm s$, $n=3-5$).

Doses Organes	Témoins	DL10	DL50	DL90	ANOVA
Foie	0,074 \pm 0.018	0,243 \pm 0.051	0,288 \pm 0.046	0,096 \pm 0.031	0,0056
Branchie	0,397 \pm 0.020	0,468 \pm 0.021	0,576 \pm 0.018	0,249 \pm 0.029	0,00084
Muscle	0,295 \pm 0.033	0,337 \pm 0.017	0,386 \pm 0.024	0,186 \pm 0.037	0,0046

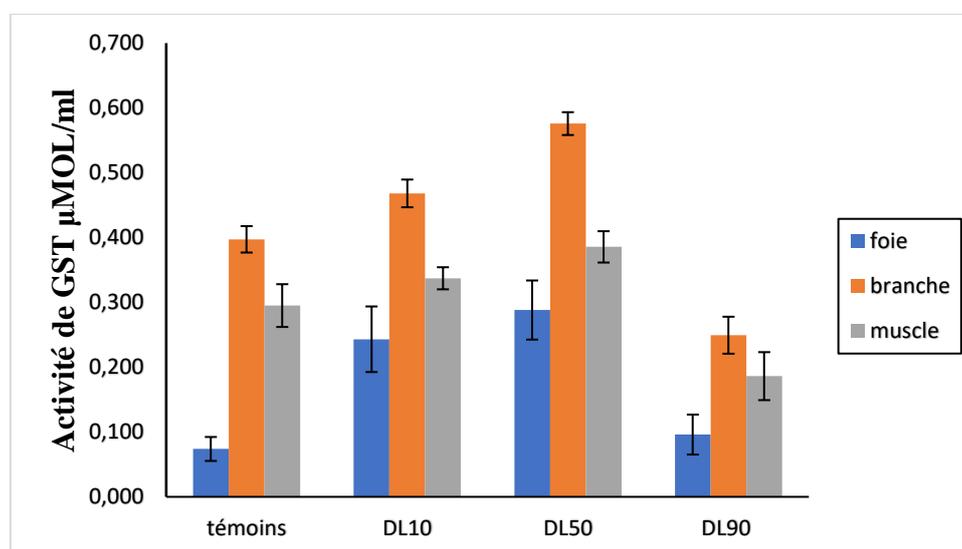


Figure 19 : Activité de glutathion S-transférase ($\mu\text{M}/\text{ml}$) dans les trois organes (foie, branchie, muscle) des carpes étudiées

II.3.4. Taux de MDA

La comparaison statistique par le test t de student entre les carpes témoins et traitées a révélé une augmentation très significative ($p < 0,01$) du taux de MDA dans les organes des carpes sauf dans le foie où nous n'avons enregistré aucune différence significative chez les carpes traitées à la DL90

La comparaison des valeurs du taux de MDA entre les carpes traitées a démontré une augmentation significative qu'à la DL50 (**Tableau 16, Figure 20**).

L'ANOVA a révélé une augmentation hautement significative ($p < 0,001$) du taux de l'MDA dans le foie et les muscles des carpes une augmentation significative ($p < 0,05$) dans les branchies.

Tableau 16 : Taux de maloniedialdehyde ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) dans les organes (foie, branchies et muscles) de la carpe (*Cyprinus carpio*) ($m \pm s$, $n=3-5$)

<i>Doses</i> <i>Organes</i>	Témoins	DL10	DL50	DL90	ANOVA
Foie	0,018 \pm 0,008	0,023 \pm 0,004	0,049 \pm 0,004	0,036 \pm 0,002	$1,016 \cdot 10^{-4}$
Branchie	0,027 \pm 0,002	0,055 \pm 0,002	0,100 \pm 0,005	0,079 \pm 0,008	0,01
Muscle	0,040 \pm 0,003	0,048 \pm 0,002	0,062 \pm 0,008	0,055 \pm 0,006	$4,88 \cdot 10^{-8}$

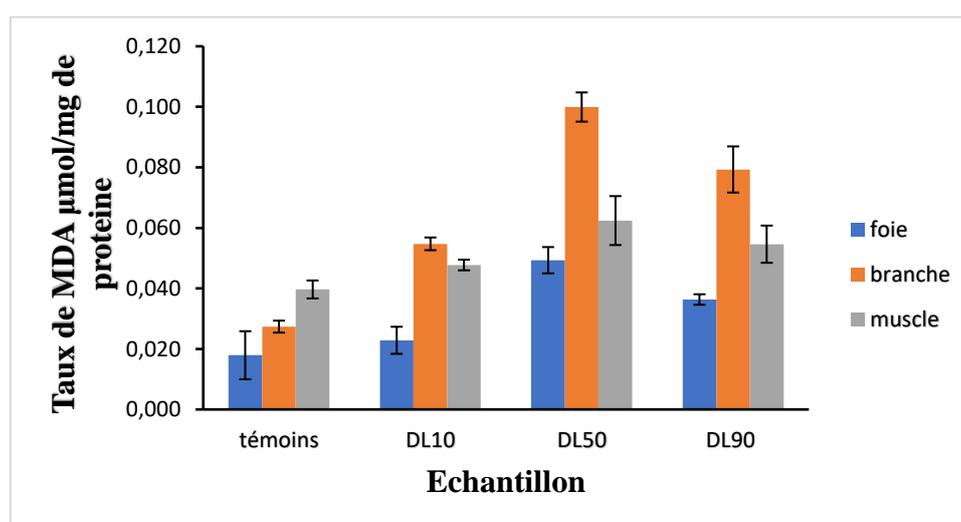
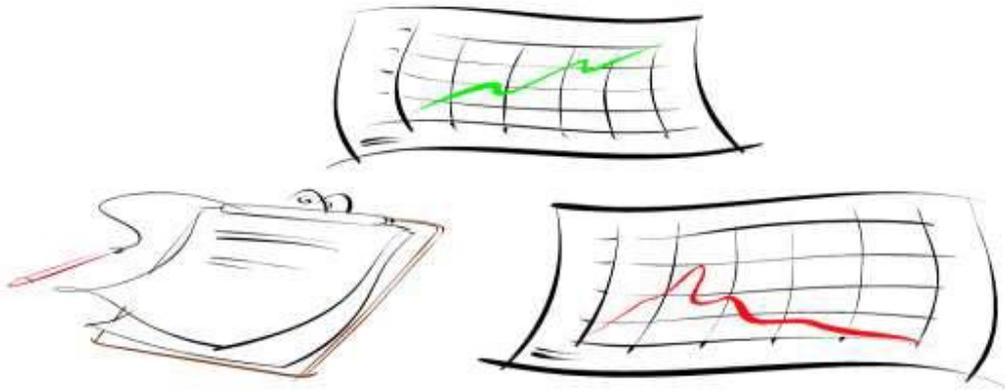


Figure 20 : Taux de maloniedialdehyde ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) dans les trois organes (foie, branchies et muscle) des carpes étudiées.

Chapitre III

Discussion



L'étude du métabolisme intermédiaire chez *Cyprinus carpio* indique une différence remarquable entre les carpes traitées pour chaque organe, cette variabilité peut se produire en raison des facteurs multiples, tels que la maturité sexuelle, l'état de l'alimentation et le caractère saisonnier **(Buckup et al., 2004)**.

Une protéine est une macromolécule constituée plusieurs chaîne d'acides aminés il a joué multiples rôles essentiels dans l'organisme vivant. Elles jouent un rôle structural essentiel puisqu'elles entrent dans la composition de tous les tissus de l'organisme et qu'elles servent de bases à la fabrication des enzymes, des hormones, des neurotransmetteurs et des anticorps., **(Bro et Ponce-Boutin, 2004)**.

L'évaluation de principaux paramètres biochimiques dans les organes des carpes témoins et traitées a révélé des teneurs élevées en protéines (élément majeur) par rapport aux lipides et glucides. Les protéines sont rapidement et efficacement métabolisées afin de fournir l'énergie nécessaire à la couverture des besoins de l'organisme **(Ghazali et al., 2010)**, elles assurent également la catalyse biochimique et s'intègrent en tant qu'éléments structuraux en même temps que les glucides et les lipides **(Frenot et Vierling, 2002)**.

Les résultats des teneurs en protéines ont montré une augmentation significative de celles-ci dans les organes des carpes exposées aux trois concentrations de dioxyde de plomb par rapport les témoins. Ceci peut être expliqué par la présence des protéines spécialisées dans la chélation des métaux, qui jouent un rôle dans l'homéostasie des ions métalliques divalents **(Ennouri et al., 2008)**.

Des résultats similaires ont été enregistrés par **(Panserat et Kaushik ,2002)** qui étudie l'évaluation de la contamination chimique par les métaux traces (Cd, Pb, Hg et Zn) du zooplancton et de la sardinelle< *Sardinella aurita*> dans le golfe de tunis.

Un glucide est une molécule organique nous permettent de stocker de l'énergie. Une partie du glucose présent dans le sang est effectivement entreposé dans le foie (sous forme de glycogène) et constitue un « réservoir » d'énergie facilement disponible pour notre organisme **(Remesy et al 1986)**.

Concernant les résultats des glucides, nous avons noté une différence significative dans la quantité des glucides mg/100 mg entre les carpes traitées par rapport aux témoins.

Les teneurs en glucides qui ont été enregistrées dans le foie sont les plus élevées par rapport aux branchies et muscles

Selon **Panserat et Kaushik** l'alimentation des poissons, le potentiel d'utilisation des glucides comme source d'énergie digestible est quelque peu controversé. Par exemple, la truite arc, est considérée mauvaise utilisatrice des glucides, avec une hyperglycémie postprandiale prolongée et une baisse de croissance suite à un apport élevé en glucides (supérieur à 25-30 %). Afin d'améliorer l'utilisation des glucides alimentaires, une meilleure compréhension des mécanismes de contrôle nutritionnel du métabolisme du glucose s'est donc avérée nécessaire. Ainsi, en présence de glucides alimentaires, des études ont montré que la truite arc-en-ciel semble avoir des difficultés pour diminuer sa production endogène de glucose dans le foie et pour utiliser le glucose comme source énergétique au niveau musculaire (**Panserat et Kaushik, 2002**).

Les lipides font partie intégrante des tissus, ainsi on trouve les lipides de réserve formés de triacylglycérol et accumulés dans les tissus adipeux constituent un stockage énergétique, on trouve aussi les lipides structuraux qui s'intègrent aux membranes cellulaires, et des lipides fonctionnels comme les hormones lipophiles (**Frenot et Vierling, 2002**).

D'après les résultats obtenus par le présent travail, nous avons enregistré une quantité de graisse considérable dans les muscles. Tandis que les deux autres organes (foie et branchie) possèdent des faibles teneurs en lipides.

L'étude statistique a montré une augmentation significative en teneurs de lipides dans tous les organes chez les carpes traitées. Il est à noter aussi que la valeur maximale (1,38 mg/100mg) a été signalée chez la carpe traité à (10mg de pb O₂) DL50.

Les métaux lourds sont dangereux pour les espèces aquatiques à cause de leur persistance dans l'environnement, leur tendance à la bioaccumulation et surtout leur toxicité. Leur cible dans ces espèces est principalement le rein, le foie, les gonades, le muscle, les branchies et le cerveau. Par conséquent, les métaux lourds peuvent affecter non seulement la productivité et les capacités de reproduction mais aussi peuvent causer la mortalité des espèces. Le niveau de bioaccumulation est élevé chez les espèces de poisson carnivores (**Kouamenan et al., 2020**).

L'analyse de nos échantillons par SAA à révéler des concentrations en Pb variant entre 0.128 et 5.334 (µg/g) dans les différents organes de la carpe étudiée.

Les concentrations du plomb dans les organes de la carpe se présentent par l'ordre suivant branchies > foie > muscle. Sachant que les concentrations du plomb dans le même organe, subissant différentes doses de dioxyde du plomb, sont de l'ordre suivant : DL50>DL90>DL10> témoins

La concentration élevée du plomb dans les branchies peut être expliquée par le fait que les branchies servent d'organes respiratoires chez les poissons, organes à travers lesquels les ions métalliques sont absorbés. Les branchies étant donc en contact direct avec l'eau et ayant un épithélium fin ; ainsi les métaux peuvent facilement pénétrer à travers les cellules de ces dernières (**Mélila et al., 2012**).

La concentration élevée du plomb dans le foie serait due à une bioaccumulation car le foie est le centre de métabolisme et donc peut concentrer les métaux lourds.

Cette augmentation peut être attribuée à l'accumulation du Pb dans les organes tels que l'indiquent nos résultats. En effet, l'accumulation de ce métal catalyse les ROS capables d'endommager les biomolécules comme l'ADN, les protéines et les lipides (**Mélila et al., 2012**).

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ont été produites en raison du stress oxydatif causé par des substances toxiques qui stimulent les organismes aquatiques lorsqu'ils sont exposés au plomb. En réponse au stress oxydatif causé par les métaux lourds, la biomasse doit assurer un système antioxydant bien ajusté pour protéger les composants cellulaires sensibles. (**Dai et al., 2018**).

L'analyse des résultats a montré une augmentation hautement significative de l'activité de la catalase chez les carpes traitées et les organes explorés par rapport aux témoins. Cette augmentation de l'activité de la catalase est souvent observée en présence des polluants (pb), (**Sellami et al., 2012**). ont enregistré une augmentation de l'activité CAT suite à l'exposition des carpes au plomb. Ces résultats ont montré que ce produit génère un stress oxydant qui modifie la balance oxydo-réductrice chez les animaux traités en faveur de la production des ROS. Car le système superoxyde dismutase-catalase (SOD-CAT) représente la première ligne de défense contre le stress oxydatif qui peut éliminer le H₂O₂ et O₂ produit avec les radicaux libres réactifs à l'oxygène catalysés par les SOD et atténuer les dommages causés aux organismes (**Dimitrova et al., 1994**).

La réponse biochimique en termes de CAT chez le *cyprinus carpio*, suite à une contamination par la PbO_2 , varie en fonction du temps et de la dose de ce polluant avec un maximum enregistré avec la plus forte dose testée (Sellami et al., 2012).

Les résultats du taux de glutathion mesuré dans les organes ont révélé une diminution significative chez les carpes traitées par rapport les témoins.

L'épuisement des tissus en GSH est l'un des principaux facteurs qui permettent la peroxydation lipidique. Cette enzyme possède des groupes acides carboxylique, un groupe amino, un groupe sulfhydryle, et deux liaisons peptidiques comme sites pour réactions des métaux. Pb^{+2} se lie exclusivement au sulfhydryle groupe, ce qui diminue les niveaux de GSH et peut interférer avec l'activité antioxydante du GSH (Shahsavani et al., 2012).

La GST a été signalée comme un bioindicateur pour évaluer l'impact environnemental d'une grande variété de pollutions, organiques ou inorganiques, cette enzyme est impliquée dans la détoxification des xénobiotiques et l'excrétion de leurs métabolites (Özcan Oruç et Üner, 2002).

L'évaluation de l'activité de GST dans les organes des carpes a montré une augmentation de la GST chez tous les traitées en signalant que les valeurs importantes sont enregistrées chez la carpe traitée à la DL50. Il a été rapporté que la GST augmentait pendant 96 h (4jours) lors d'un traitement aigu selon (Özcan Oruç et Üner, 2002), Nos résultats ont révélé aussi que l'activité GST est très importante dans les branchies par rapport au foie et muscle. Ceci peut être expliqué par le fait que les branchies renferment les concentrations les plus élevées du plomb d'après les résultats qu'on a obtenu

Le MDA est l'un des indicateurs les plus fréquemment utilisés de la peroxydation lipidique (Özcan Oruç et Üner, 2002).

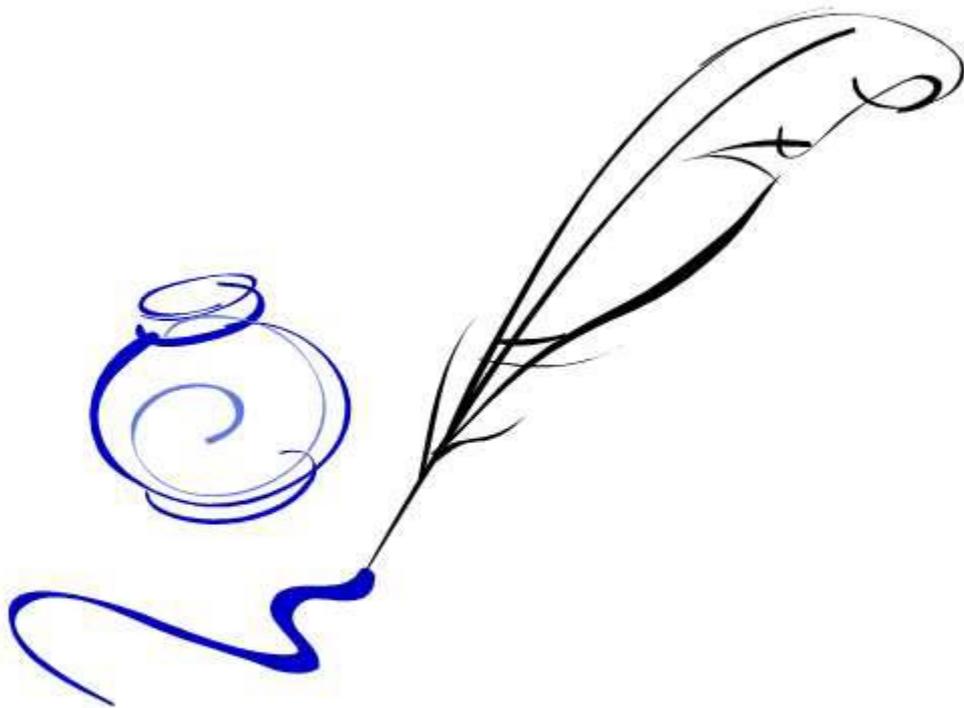
L'analyse statistique du taux de MDA dans les organes des carpes traitées par le PbO_2 , a montré une hausse du taux chez toutes les carpes traitées par rapport aux témoins avec une prédominance du taux de MDA chez les carpes traitées à la DL50. Cette augmentation est probablement due à la peroxydation lipidique engendrée par la présence du plomb. Quant aux organes, ce sont les branchies qui renferment les taux les plus élevée de MDA.

Le MDA a été largement appliqué comme le plus commun biomarqueur pour l'évaluation de la lipo-peroxydation chez les sciences biologiques et médicales ont démontré une nette amélioration des concentrations de MDA après incubation de certains acides gras

insaturés avec du plomb. Des valeurs élevées de substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) à la suite d'une intoxication au plomb dans certains tissus ont été rapportées chez des mammifères qui peuvent être dues à la génération de ROS sans augmentations proportionnelles du niveau des défenses antioxydantes. Peroxydation lipidique induite par les polluants a également été observée chez plusieurs espèces de poissons (**Shahsavani et al., 2012**).

Les tissus des poissons sont caractérisés par des concentrations élevées de lipides polyinsaturés et acides gras et peut donc être particulièrement sensible aux peroxydations lipidiques renforcée par les métaux lourds. Sur la base des résultats actuels, une importante augmentation de la concentration de MDA a été trouvée dans le foie, les muscles et les branchies de la carpe commune intoxiquée par le plomb (**Shahsavani et al., 2012**).

Conclusion



Afin d'évaluer la bioaccumulation du plomb dans trois organes chez quatre groupes de carpes communes (*Cyprinus carpio*) traités à différentes doses de dioxyde de plomb, nous avons réalisé ce travail qui nous a permis de connaître la réponse biologique de cet espèce.

L'analyse biochimique des organes (foie, branchie et muscle) a montré des teneurs en glucides et en lipides plus élevées dans le foie des carpes traitées par le dioxyde de plomb à 10 mg (DL50). Les teneurs en protéines sont plus importantes par rapport aux glucides et aux lipides dans tous les organes de la carpe.

L'analyse chimique du tissu animal par la SAA a permis la mise en évidence d'une accumulation considérable du plomb dans les branchies, le foie et le muscle chez les carpes traitées à DL10, DL50, DL90. Cette expérience nous a montré que les poissons peuvent accumuler le plomb au niveau des organes quand ils sont exposés à de fortes doses que ce soit dans les organes en contact de l'eau ou non.

La quantification du Pb dans les organes de *cyprinus carpio* a montré que les concentrations les plus importantes sont enregistrées dans les branchies. Les carpes traitées à la DL50 renferment les concentrations les plus élevées.

Les résultats des dosages de biomarqueurs biochimiques suggèrent que l'animal d'eau douce est soumis à un stress oxydatif du au polluant du milieu affectant les enzymes et les substrats impliqués dans le contrôle de ces derniers. La réponse biochimique dans les différents organes des carpes témoins et traitées se traduit par :

- Une augmentation de l'activité CAT et la GST dans les branchies, le foie et les muscles et une augmentation de ces dernières chez les carpes traitées par le dioxyde de plomb suivant cet ordre : DL50>DL10>DL90.
- Une diminution du taux de glutathion GSH dans les organes chez les carpes traitées.
- Une augmentation du taux de MDA dans les organes (foie, branchie, et muscle) chez les carpes traitées à différentes doses par rapport les témoins.

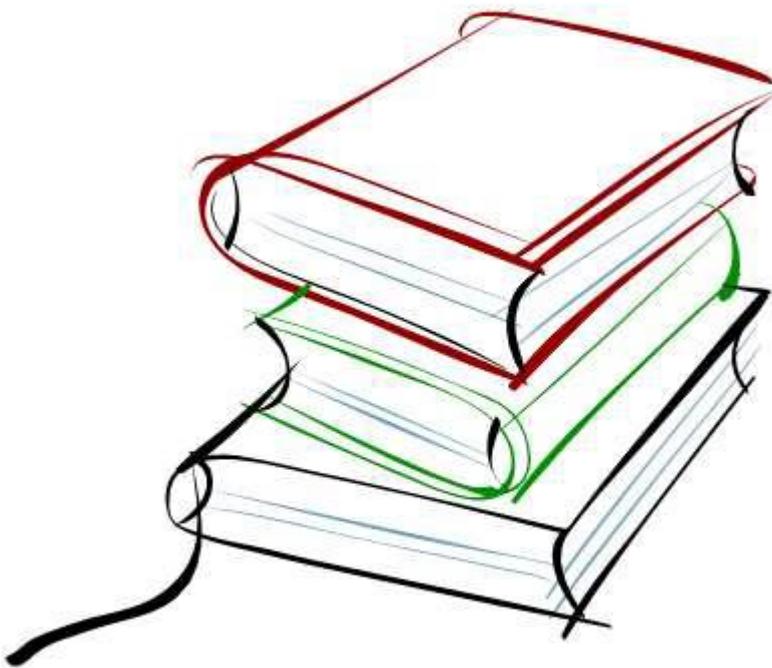
Cette réponse varie en fonction, de la concentration de polluant étudié et en fonction de l'organe. Ces perturbations enregistrées dans les biomarqueurs évaluant le stress oxydant soit par augmentation ou par diminution indiquent qu'il existe une défense de l'organisme contre un agent polluant.

Il est clair que les résultats montrent que le produit chimique a induit un stress oxydant chez les organismes étudiés.

En perspectives, de nouvelles approches pourraient enrichir cette étude :

- ❖ Faire une étude sur la population humaine consommatrice de ces carpes.
- ❖ Utilisation d'autres biomarqueurs tels que l'Acétylcholinestérase, métallothionéines et le superoxyde de dismutase (SOD) pourrait compléter ces travaux.
- ❖ Etudier la bioaccumulation des métaux lourds dans les autres organes : rein, cœur, et le cerveau chez les carpes.
- ❖ Réaliser une étude histologique dans les organes cibles, notamment le foie et les reins

Les références bibliographiques



A

Adesiyan I. M., Bisi J. M., Aladesanmi O. T., Okoh A. I., et Ogunfowokan A. O., 2018. Concentrations and human health risk of heavy metals in rivers in southwest Nigeria, *Journal of Health and Pollution*, 8(19). PP: 01-14.

Adrian D. C., 2001. Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risks of metals. 2nd edition, Springer, New York. P: 867.

Amira W., Leghouchi E., 2017. Assessment of heavy metal pollution in sediments and their bioaccumulation in *Phragmites australis* from Anil River (Jijel-Algeria), *Global Nest Journal*, 10(10). PP : 10-20.

Armstrong D., et Stratton R. D., 2016. Stress oxydatif et protection antioxydante : la science de la biologie et de la maladie des radicaux libres, P : 258.

Asati A., Pichhode M., et Nikhil K., 2016. Effect of heavy metals on plants: an overview. *International Journal of Application or Innovation in Engineering & Management*, 5(3). PP: 56-66.

B

Baby J., Raj J. S., Biby E. T., Sankarganesh P., Jeevitha M. V., Ajisha S. U., et Rajan S. S., 2010. Toxic effect of heavy metals on aquatic environment. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 4(4). PP : 939-952.

Barillet S., 2007. Toxicocinétique, toxicité chimique et radiologique de l'uranium chez le poisson zèbre (*Danio rerio*). Thèse de doctorat, Option : Toxicologie environnementale.

Beliefert C., et Perraud R., 2009. Chimie de l'environnement : air, eau, sols, déchets 2^{ème} édition, Paris. PP : 373-374.

Bendjoudi D., Zouaou F., Errahmani M. B., Bendjeddou K., et Chekir N., 2013. Mesure de deux biomarqueurs catalase et malondialdéhyde chez *Perna perna* et *Mytilus galloprovincialis* (Mollusca, Bivalvia) suite à une contamination aigüe par *Staphylococcus aureus*. *Travaux de l'Institut Scientifique, Rabat, Série Zoologie*, 49. PP : 19-27.

Bensakhria A., 2018. Le stress oxydatif. Toxicologie générale, PP : 70-86.

Billard R., 1995. Les carpes biologie et élevage. Institut National de La recherche Agronomique. INRA. Paris. P: 376.

Birben E., Sahiner U. M., Sackesen C., Erzurum S., et Kalayci O., 2012. Oxidative stress and antioxidant defense. World Allergy Organization Journal, 5(1). PP : 09-19.

Bouchouata O., Ouadarri H., El Abidi A., El Morhit M., et Attarassi B., 2012. Bioaccumulation des métaux lourds par les cultures maraîchères au niveau du Bassin de Sebou (Maroc). Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie, 34(2). PP : 189-203.

Boudoukha A., Athamna A., et Benaabidat L., 2015. Etude du potentiel hydrothermal de Hammam Soukhona. Est algérien. LARHYSS Journal P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782, (24), 161-174. Université de Paul Verlaine de Metz, P : 124-129, 133, 326.

Bradford M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protien utilizig the principle of protein dye binding. Analytical Biochemistry, 72 (1-2), P : 248-254.

Bro E., et Ponce-Boutin F., 2004. Régime alimentaire des Phasianidés en plaine de grandes cultures. Faune sauvage, 263. PP : 05-13.

Bruslé J., et Quignard J. P., 2013. *Biologie des poissons d'eau douce européens*. Lavoisier, PP : 175-176.

Buckup L., Dutra B. K., Ribarcki F. P., Fernandes F. A., Noro C. K., Oliviera G. T., et Vinarge A. S., 2004. Seasonal variations in the biochemical composition of the crayfish *Parastacus defossus* (crustacean, decapoda) in its natural environment. Departamento de zoologia. Programa de pos- graduação em biologia Animal. Instituto de biociencias- universidade federal do Rio Grande do sui, Brasil, 149(1). PP : 59-67.

C

Cajaraville M. P., Bebianno M. J., Blasco J., Porte C., Sarasquete C., et Viarengo A., 2000. L'utilisation de biomarqueurs pour évaluer l'impact de la pollution dans les milieux côtiers de

la péninsule ibérique : une approche pratique. *Science de l'environnement total*, 247 (2-3). PP : 310-311.

Cariou M. E., Pequín P., Goullé J. P., Cesbron A., et Schmitt F., 2013. Intoxication au plomb par ingestion d'un remède ayurvédique d'origine vietnamienne. In *Annales de toxicologie analytique*, 25(3). PP : 125-127.

Chaouali N., Nouioui A., Aouard M., Smaoui O., Amira D., et Hedhili A., 2018. Mise au point et validation d'une méthode de dosage du plomb dans les matrices végétales par spectrométrie d'absorption atomique. *Toxicologie Analytique et Clinique*, 30(1). PP : 35-42.

Chikhi S. M. R., 2018. Le secteur de la pêche maritime en Algérie : enjeux et réalités.

Corolla J. P., Dacheux J. L., Kupfer M., in DORIS : 21/02/2019 : *Cyprinus carpio* Linnaeus,1758.

Cossa D., Elbaz-Poulichet F., Gnassia-Barelli M., et Romeo M., 1993. Le plomb en milieu marin. *Biogéochimie et écotoxicologie*, P :11.

D

Dai J., Zhang L., Du X., Zhang P., Li W., Guo X., et Li, Y., 2018. Effect of lead on antioxidant ability and immune responses of crucian carp. *Biological trace element research*, 186(2). PP: 546-553.

Dalzochio T., Rodrigues G. Z. P., Petry I. E., Gehlen G., et da Silva L. B., 2016. The use of biomarkers to assess the health of aquatic ecosystems in Brazil: a review. *International Aquatic Research*, 8(4). PP : 283-298.

Dauguet S., Denaix L., Nguyen C., Royer E., Levasseur P., Potin-Gautier M., et Pouech P. 2011. Mesure des flux d'éléments traces (Pb, Cd, As, Cu, Zn) dans les sols, végétaux, porcs et lisiers des exploitations porcines du Sud-Ouest. *Innovations agronomiques*, (17). PP : 175-190.

Dauvillier., 1998. Introduction à l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaires. ©Lavoisier. P: 91.

David M. P., Tamsin A. M., 2003. The importance of volcanic emissions for the global atmospheric mercury cycle, Elsevier: Science Direct, 7(36). PP: 5115-5124.

Davis J. M., et Svendsgaard D. J. 1987. Lead and child development. *Nature*, 329(6137). PP : 297–300.

Derradj F., Benmeziane F., Bznaabidate L., Maoui A., Bousnoubra H., et Kherici N., 2015. Heavy metals analysis in the water of Mellah, oubeira and Tonga Laes of El kala wetland complex, North east Algeria. *Int. J. Innov. Sco. Res*, 13. PP : 107-113.

Dione C. T., Diagne I., Ndiaye M., Diebakate C., Ndiaye B., et Diop A., 2018. Contamination Métallique D'une Espèce De Poisson (Brama Brama) De La Côte Dakaroise, (14). P: 12.

Dimitrova M. S., Tishinova V., et Velcheva V., 1994., Combined effect of zinc and lead on the hepatic superoxide dismutase-catalase system in carp (*Cyprinus carpio*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 108(1). PP : 43-46.

Dimon F., Dovonou F., Adjahossou N., Chouti W., Mama D., Alassane A., et Boukari M., 2014. Caractérisation physico-chimique du lac Ahémé (Sud Bénin) et mise en relief de la pollution des sédiments par le plomb, le zinc et l'arsenic. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*, 37. PP : 36-42.

Djabourabi A., Sehili N., Boussadia M., Samar F., et Bensouilah M., 2014. Flutuations des Paramètres Physico Chimique et des Communautés Phytoplanctoniques dans le lac Oubeira (Nord-Est Algérien). *European Journal of Scientific Research*, 118(2). PP: 183-196.

Doukkali M. R., et Kamili A., 2018. Système Marocain de Production Halieutique et sa dépendance du Reste du Monde/Moroccan Fishing Production System and its dependence on the rest of the World, P: 11.

Draper H. H., et Hadley M. (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. *Methods in enzymology*, 186. PP : 421-43.

Duchateau et Florkins., 1959. Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification Insecte. *Physiolo. Biochem*, P : 306-314.

E

El Fadeli S., Bouhouch R., Chaik M., Aboussad A., Chabaa L., Lekouch N., Hurrell R.F., Zimmermann M.B., et Sedki A., 2014. Health risk assessment of lead contamination in soil, drinking water and plants from Marrakech urban area, Morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5. PP: 225-230.

El Hari A., Lekouch N., Chaik M., El Fadeli S., et Sedki A., 2012. Heavy metal pollution of soil and new approach to its remediation: Research experiences in arid region in Morocco. P: 121.

Ellman G L., 1959. Plasma antioxydant. *Arch Biochem BipHys*, PP: 70-77.

Ennouri R., Chouba L., et Kraeim M. M., 2008. Evaluation de la contamination chimique par les métaux traces (Cd, Pb, Hg et Zn) du zooplancton et de la sardinelle< *Sardinella aurita*> dans le golfe de tunis, (35). P :90.

F

FAO., 2009. *Cyprinus carpio*. In Cultured aquatic species fact sheets. Text by Peteri, A.

Edited and compiled by Valerio Crespi and Michael New.

FAO., 2020. La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture, la durabilité en action, PP : 02-04.

Feunteun E., Persat H., Allardi J., Keith Ph., 2011. Les Poissons d'eau douce de France. Collection Inventaires et Biodiversité, publication scientifique du Muséum Biotope Edition.

Frenot M., et Vierling E., 2002. Biochimie des aliments. Diététique du sujet bien portant, biosciences et techniques. Éd. Dion, P :297.

G

Garrel C., et Bigard X., 2017. Stress oxydatif et micronutriments antioxydants. Nutrition du sportif, P : 151.

Garric J., Morin S., et Vincent-Hubert F., 2010. Les biomarqueurs en écotoxicologie : définition, intérêt, limite, usage. Sciences Eaux Territoires, (1). PP : 12-17.

Ghazali N., Boussoufa D., Rabeh I., Telahigue K., Chetoui I., Navarro J. C., et El Cafsi M., 2010. Etude de la composition biochimique des organes osmoregulateurs de l'anguille européenne *anguilla anguilla* acclimatée en eau douce et en eau de mer, P : 245.

Giera M., Lingeman H., et Niessen W. M., 2012. Recent advancements in the LC-and GC-based analysis of malondialdehyde (MDA): a brief overview. Chromatographia, 75(9-10). PP : 438-440.

Girard P., 1998. Le poisson sentinelle des milieux aquatiques : pertinence et optimisation des indicateurs sanitaires. Bulletin français de la pêche et de la pisciculture, PP : 350-443.

Goldsworthy G. J., Mordue W., et Guthkelch J., 1972. Studies on insect adipokinetic hormones. Gen. Comp. Endocrinol, 18(3). P : 545.

Google Maps, 2021.

Gouin C. A., Aka N., Adiaffi B., Bamba B. S., et Soro N., 2016. Pollution saisonnière des sédiments de lagune par des métaux lourds (Cu, Pb et Zn) en zone tropicale humide : cas de la lagune Mondoukou (Sud-Est de la Côte d'Ivoire), International Journal of Biological and Chemical Sciences, 10(2). PP : 835-845.

Gutiérrez-Salinas J., Mondragón-Terán P., García-Ortíz L., Hernández-Rodríguez S., Ramírez-García S., et Núñez-Ramos N. R., 2014. Breve descripción de los mecanismos moleculares de daño celular provocado por los radicales libres derivados de oxígeno y nitrógeno. Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas, 19(4). PP : 446-454.

H

Ha H. L., Shin H. J., Feitelson M. A., et Yu D. Y., 2010. Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis. World journal of gastroenterology: WJG, 16(48). P : 6035.

Habig W. H., Pabst M. J., et Jakoby W. B., 1974. Glutathion S-Transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation, the journal of biological chemistry, USA, P: 7132.

Hajlaoui W., Mili S., Troudi D., et Missaoui H., 2016. Etude de la biologie de reproduction chez la carpe commune *Cyprinus carpio communis* pêchée dans la retenue du barrage de Sidi Saad (centre de la tunisie). Bulletin Société Zoologique de France, 141(1). PP :25-39.

Hazrat A., Khan E., et Ilahi I., 2019. Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: Environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation, Hindawi Journal of Chemistry. PP: 01-14.

Hopkin S. P., 1989. « Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates ». Elsevier, Applied science, NY, USA. P: 366.

Hook S. E., Gallagher E. P., et Batley G. E., 2014. The role of biomarkers in the assessment of aquatic ecosystem health. Integrated environmental assessment and management, 10(3). PP: 327-341.

Hybertson B. M., Gao B., Bose S. K., et McCord J. M., 2011. Oxidative stress in health and disease: the therapeutic potential of Nrf2 activation. Molecular aspects of medicine, 32(4-6), 234-246.

Huët M. A. L., et Puchooa D., 2017. Bioremediation of heavy metals from aquatic environment through microbial processes: A potential role for probiotics? Journal of Applied Biology & Biotechnology, 5(6). PP: 14-23.

I

Izah S. C., Inyang I. R., Angaye T. C. N., et Okowa I. P., 2017. A review of heavy metal concentration and potential health implications of beverages consumed in Nigeria, toxics Review, 5. PP: 01 -15.

J

Jean-Claude Amiard et Claude Amiard-Triquet. (2008). Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques. P :18.

Jean-Louis M., 2014. Les biomarqueurs moléculaires en oncologie. PP : 20-21.

K

Kalinina E. V., Chernov N. N., et Novichkova M. D., 2014. Role of glutathione, glutathione transferase, and glutaredoxin in regulation of redox-dependent processes. *Biochemistry (Moscow)*, 79(13). PP : 1562-1583.

Karray S., 2015. Etude écotoxicologique et phylogéographique de la coque *Cerastoderma glaucum* issue du golfe de Gabès : Réponse adaptative (in situ et in vivo) au stress métallique et structure génétique. Sciences biologiques. Thèse de doctorat, Université de Sfax, Tunisie. P : 15.

Kolek L., Szczygiel J., Napora R. Ł., et Irnazarow I., 2021. Effect of *Trypanoplasma borreli* infection on sperm quality and reproductive success of common carp (*Cyprinus carpio L.*) males. *Aquaculture*, (539). P: 736623.

Kumaresan R., Vinitha K., et Kannan K., 2018. Mapping of *Cyprinus carpio* research: a global Perspectives. *Library Philosophy et Practice*.

Kunwar A., et Priyadarsini K. I., 2011. Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *Journal of Medical & Allied Sciences*, 1(2). P : 53.

L

Leverve X., 2009. Stress oxydant et antioxydants ? *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 44 (5). PP : 223-224.

Lghabi, M., Allouche, W., Ichane, A., Benali, B., & El Kholti, A. (2018). Intoxication aiguë au plomb—À propos d'un cas. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*, 79(3). PP : 419.

Luoma S.N. et Rainbow P. S., 2008. Metal contamination in aquatic environments: science and lateral management. *Cambridge University Press, Cambridge*,5(3). PP: 492.

M

Maouel D., Maynou F., et Bedrani S., 2014. Bioeconomic analysis of small pelagic fishery in Central Algeria. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 14(4). PP: 897-904.

Mckenzie A. B., 1997. Isotope evidence of the relative retention and mobility of lead, and radiocesium in swtishombrophicpeats, The science of the total environment, 203(2). PP : 115-127.

Mélila M., Poutouli W., Amouzou K. S., Gado T., Tchao M., et Doh A., 2012. Évaluation de l'impact du rejet des déchets phosphates dans la mer sur la biodiversité marine dans trois localités côtières au Togo à partir des biomarqueurs du stress oxydatif chez *Sphyraena barracuda* (HECKEL, 1843). International Journal of Biological and Chemical Sciences, 6(2). PP: 820-831.

Miquel G., 2001. Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport Office Parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. Rapport Sénat n°261. PP : 360.

MPRH., 2014 : Secteur de la pêche et de l'aquaculture – Bilan (2012-2014) Prospective 2030 et Projet « PLAN AQUAPECHE 2020) ; avril 2014-Alger.

Mondiale de la Santé. O., 2019. Semaine internationale pour la prévention de l'intoxication au plomb : kit de ressources pour la campagne.

Kouamenan N. M., Coulibaly S., Celestin A. B., et Goure B. G., 2020. Bioaccumulation des métaux lourds dans les tissus de deux espèces de Cichlide (*Hemichromis fasciatus* et *Tilapia zillii* × *Tilapia guineensis*) pêchés dans la partie ouest de la lagune Ebrié, Côte d'Ivoire. Journal of Applied Biosciences, 148. PP: 15218- 15229.

N

Naranjo V. I., Hendricks M., et Jones K. S., 2020. Lead toxicity in children: An unremitting public health problem. Pediatric Neurology, 113. PP : 51-55.

Noël-Anselme M N., Arnold T M., et Gaétan K B., 2017. Etude de la Bioaccumulation des Métaux Lourds (Cadmium et plomb) dans le clarias gariepinus Bruchell dans les conditions Ecologiques de Kinshasa, RD Congo. PP : 117-119

O

OIML., 1991. Organisation internationale de métrologie légale R 100, édition 1991 (f). Spectrophotomètre d'absorption atomique pour la mesure des polluants dans l'eau.

Onakpa M. M., Njan A. A., et Kalu O. C. A., 2018. Review of heavy metal contamination of food Crops in Nigeria, Annals of Global Health, 84 (3). PP : 488-494.

ONS., 2014 : Indice des prix à la consommation mois de mai 2014 la ville d'Alger ; juin 2014-Alger, N°222.

Ouro-Sama K., Solitoke H., Gnandi K., Afiademanyo K., et Bowessidjaou E., 2014. Évaluation et risques sanitaires de la bioaccumulation de métaux lourds chez des espèces halieutiques du système lagunaire togolais. Vertigo : la revue électronique en sciences de l'environnement,14(2). PP :121-135.

Özcan-Oruç E., et Üner N., 2002. Marker enzyme assesment in the liver of (*cyprinus carpio L.*) exposed to 2, 4-D and azinphosmethyl. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 16(4). PP: 182-188.

P

Panserat S., et Kaushik S., 2002. Régulation nutritionnelle du métabolisme glucidique chez les poissons : exemple de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), faible utilisatrice des glucides alimentaires. Productions animales, 15(2). PP : 109-117.

Pillou J. F., 2014. « Radicaux libres – Définition », Journal des Femmes.

R

Rahal A., Kumar A., Singh V., Yadav B., Tiwari R., Chakraborty S., et Dhama K., 2014. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. BioMed research international, 2014.

Rahman M., 2015. Role of common carp (*Cyprinus carpio*) in aquaculture production systems. *Frontiers in Life Science*, 8(4). PP: 399-410.

Rajeshkumar S., et Li X., 2018. Bioaccumulation of heavy metals in fish species from the Meiliang Bay, Taihu Lake, China. *Toxicology reports*, (5). PP : 288-295.

Regoli F., 1998. Dictionnaire encyclopédique des polluants, Edi science international, Paris. p: 411-475.

Rehman K., Fatima F., Waheed I., et Akash M. S. H., 2018. Prevalence of exposure of heavy metals and their impact on health consequences. *Journal of cellular biochemistry*, 119(1). PP : 157-184.

Remesy C., Chilliard Y., Rayssiguier Y., Mazur A., et Demigné C., 1986. Le métabolisme hépatique des glucides et des lipides chez les ruminants : principales interactions durant la gestation et la lactation. *Reproduction Nutrition Développement*, 26(1B). PP : 205-226.

Rufli H., et Springer T A., 2011. Can we reduce the number of fish in the OECD acute toxicity test? *Environmental toxicology and chemistry*, 30(4). PP: 1006-1011.

S

Said M., 2016. Comportements et rôles des métaux lourds au cours de la pyro-gazéification de la biomasse : études expérimentales et thermodynamiques (Doctoral dissertation, Ecole nationale des Mines d'Albi-Carmaux). PP: 42-45.

Schultz K., 2010. Ken Schultz's field guide to freshwater fish. John Wiley et Son.

Schwedt., 1993. Atlas de poche des méthodes d'analyse médecine-sciences Flammarion, Paris. P: 82.

Sebban H., Barkouch Y., Benmazhar H., Lekouch N., et Sedki A., 2016. Trace elements (Zn, Cu, Cd) in sheep living in sewage farms of Marrakesh City, 17. PP: 32-35.

Sedki A., 2018. Saturnisme : intoxication au Plomb. *SMETox Journal*, 1(1). PP : 06-09.

Sehili N., Arif S., Touati H., et Bensouilah M. (2020). The influence of environmental factors on the seasonal dynamics of Cladoceran community in the Oubeira Lake (Algeria). *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 24(3). PP: 193-212.

Sellami B., Dellali M., Beyrem H., Khazri A., Aïssa P., et Mahmoudi E., 2012. Variation temporelle de l'activité catalase chez la palourde *Ruditapes decussatus* Linnaeus, 1758 contaminée par la perméthrine (étude en mésocosme). *Bull Inst Sci*, 34. PP: 137-144.

Shahsavani, D., Baghshani, H., Aslani, M. R., & Fatemi, F. S. (2012). The impact of allicin on lead-induced oxidative damage in selected organs of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Comparative Clinical Pathology*, 21(5), 769-775.

Shen F., Mao L., Sun R., Du J., Tan Z., et Ding M., 2019. Contamination Evaluation and Source Identification of Heavy Metals in the Sediments from the Lishui River Watershed, Southern China, *International Journal Environmental Research Public Health*, 16(3). P: 336.

Shibko S., Koivistoinem P., Tratyneek C., New Hall A., et Freindman L., 1966. A method for sequential quantitative separation and glycogen from signal rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *C Aalyt, Biochem*, (19). PP : 415-428.

Skoog D. A., West D. M., et Holler., 1997. Chimie analytique. Département de Book université, Bruxelles. PP: 611-621.

Stuart I. G., Fanson B. G., Lyon J. P., Stocks J., Brooks S., Norris,A., et Bennett A. F., 2021. Continental threat: How many common carp (*Cyprinus carpio*) are there in Australia? *Biological Conservation*, (254). P : 108942.

T/U/V

Taylor A. M., et Maher W. A., 2010. Establishing metal exposure–dose–response relationships in marine organisms: illustrated with a case study of cadmium toxicity in *Tellina deltoidalis*. *New oceanography research developments: marine chemistry, ocean floor analyses and marine phytoplankton*. PP : 01-57.

Tchounwou P. B. G., Yedjou C. G., Patlolla A. K., et Sutton D. J., 2012. Heavy metals toxicity and the environment, *NIH Public Access*, 101. PP: 133-164.

Tessema A., Getahun A., Mengistou S., Fetahi T., et Dejen E., 2020. Reproductive biology of common carp (*Cyprinus carpio Linnaeus, 1758*) in Lake Hayq, Ethiopia. Fisheries and Aquatic Sciences, 23(1). PP: 01-10.

Tsikis D., 2017. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. Analytical biochemistry, 524. PP: 13-30.

US. EPA., 2000. Air Quality Criteria for Lead (2006) Final Report. Final Report ed. Washington, DC2006.

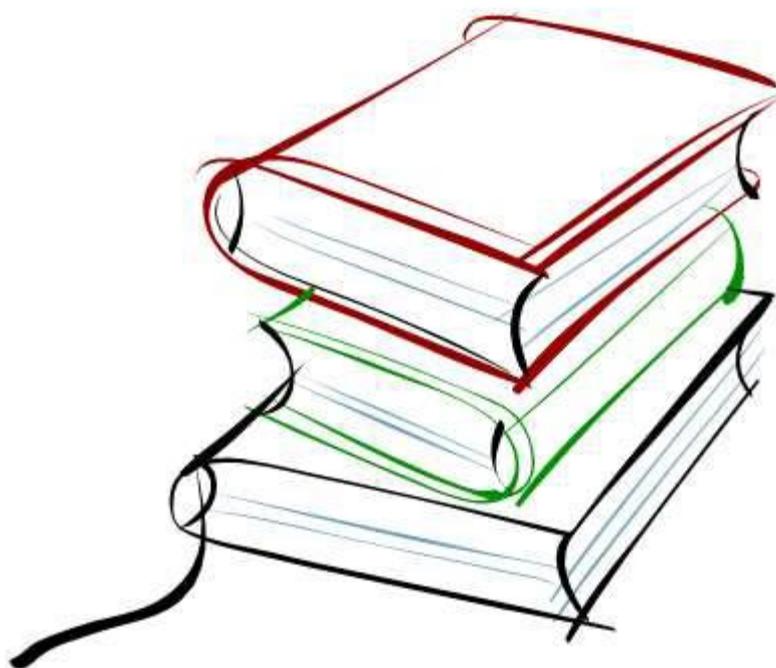
Van der Oost R., Beyer J., et Vermeulen N. P., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. Environmental toxicology and pharmacology. 13(2). PP : 57-149.

Vivien R., Lafont M., et Perfetta J., 2011. Proposition d'un seuil de toxicité des métaux lourds des sédiments mis en évidence par les vers oligochètes dans quelques cours d'eau, Bulletin de la Société vaudoise des sciences naturelles, 92. PP : 153-164.

Y

Yahya A. I. N., Mohamed S. K., et Mohamed A. G., 2018. Environmental pollution by heavy metals in the aquatic ecosystems of Egypt, Journal. of Toxicology, 3(1). PP : 1-8.

Les annexes



Annexes A

1	Préparation de l'anthrone
	<ul style="list-style-type: none">✓ 450 mg d'anthrone.✓ Ajouter 225 ml d'acide sulfurique.✓ Ajouter 75 ml d'eau distillée. <p>Mettre la solution préparée dans une bouteille ambrée à une température ambiante.</p>
2	Préparation de vanilline
	<ul style="list-style-type: none">✓ Peser 380 mg de vanilline.✓ Ajouter 55 ml d'eau distillée.✓ Ajouter 195 ml d'acide orthophosphorique. <p>Mettre la solution préparée dans une bouteille ambrée à une température ambiante.</p>
3	Préparation de la solution Bradford (BBC)
	<ul style="list-style-type: none">✓ Peser 100 mg du BBC(G250).✓ Ajouter 50 ml d'éthanol (95%) + 100 ml d'acide orthophosphorique (85%).✓ Mélanger par agitation sous la haute jusqu'à dissolution totale pendant quatre heures.✓ Compléter à un litre par l'eau distillée. <p>Mettre la solution préparée dans une bouteille ambrée à une température ambiante.</p>

Annexe B

1	Préparation de l'eau régale
<ul style="list-style-type: none"> ✓ 1 volume de HCL. ✓ Ajouter 3 volumes de HNO₃. 	

Annexe C

1	CAT
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Tampon phosphate (0.1M, pH : 7,5) <p>K₂HPO₄ (100 mM) : 1.74g/100ml et KH₂PO₄ (100 Mm) : 1.36 g/100 ml,</p> <p>Placer le K₂HPO₄ dans un bécher, rajouter le KH₂PO₄ jusqu'au pH 7.5.</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Eau oxygénée (500 mM) : 2.55 ml eau oxygénée à 30 volumes dans 50 ml d'eau distillée. 	
2	GSH
<ul style="list-style-type: none"> ✓ GSH (20 mM): 61.466 mg GSH dans 10 ml eau distillée. ✓ Tampon phosphate (0.1 M, pH : 8) <p>K₂HPO₄ (100 mM) : 1.74 g/100ml et KH₂PO₄ (100 mM) : 1.36 g/100 ml,</p> <p>Placer le K₂HPO₄ dans un bécher, rajouter le KH₂PO₄ jusqu'au pH 8.</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ DTNB (10 mM) : 99 mg de DTNB dans 25 ml d'éthanol. 	

3	GST
<p>✓ Tampon phosphate (0.1 M, pH : 6.5)</p> <p>K₂HPO₄ (100 mM) : 1.74 g/100ml et KH₂PO₄ (100 mM) : 1.36 g/100 ml,</p> <p>Placer le K₂HPO₄ dans un bécher, rajouter le KH₂PO₄ jusqu'au pH 6.5.</p> <p>✓ CDNB (20 mM) : 40.52 mg CDNB dans 10 ml éthanol.</p> <p>✓ GSH (20 mM) : 61.466 mg GSH dans 10 ml eau distillée.</p>	
4	MDA
<p>✓ TBA : 0.13 g A. Thiobarbiturique + 39.2 ml eau distillée + 0.8 ml NAOH (2N).</p> <p>✓ NAOH (2N) : 0.8 g NAOH +10 ml d'eau distillée.</p> <p>✓ TCA 100 g/l : 10 g TCA dans 100 ml d'eau distillée.</p>	

Annexe D

Tableau : réalisation de la courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines

BSA	Absorbance
0	0
20	0,407±0.06
40	0,657±0.04
60	1,0195 ± 0.04
80	1,376 ± 0.06
100	1,626 ± 0.05

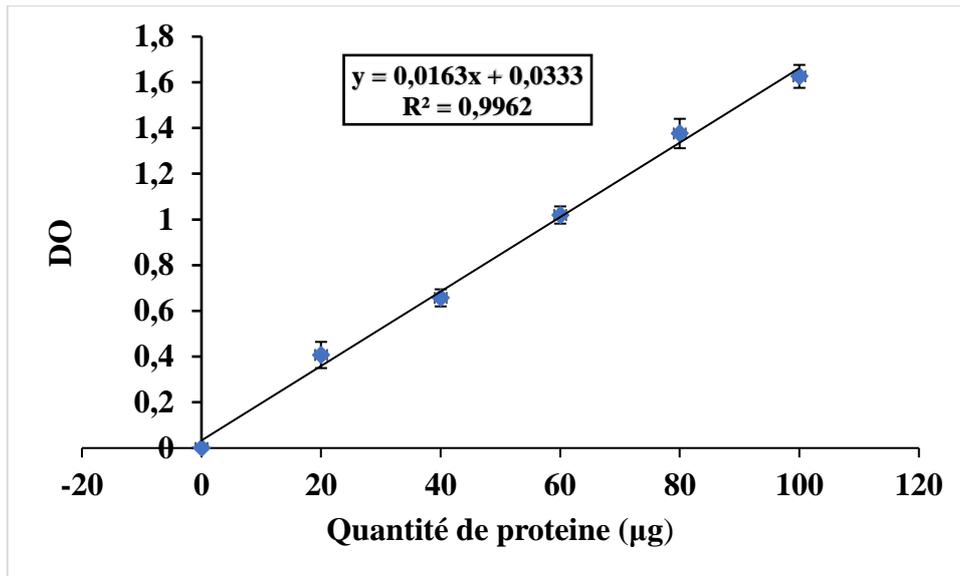


Figure : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité (µg) des protéines, (R^2 : coefficient de détermination).

Annexe E

Tableau : réalisation de la courbe d'étalonnage pour le dosage des glucides

Glucides en µg	Absorbances
0	0
100	0.236 ± 0.029
200	0.436 ± 0.001
300	0.652 ± 0.001
400	0.823 ± 0.003
500	1.05 ± 0.014

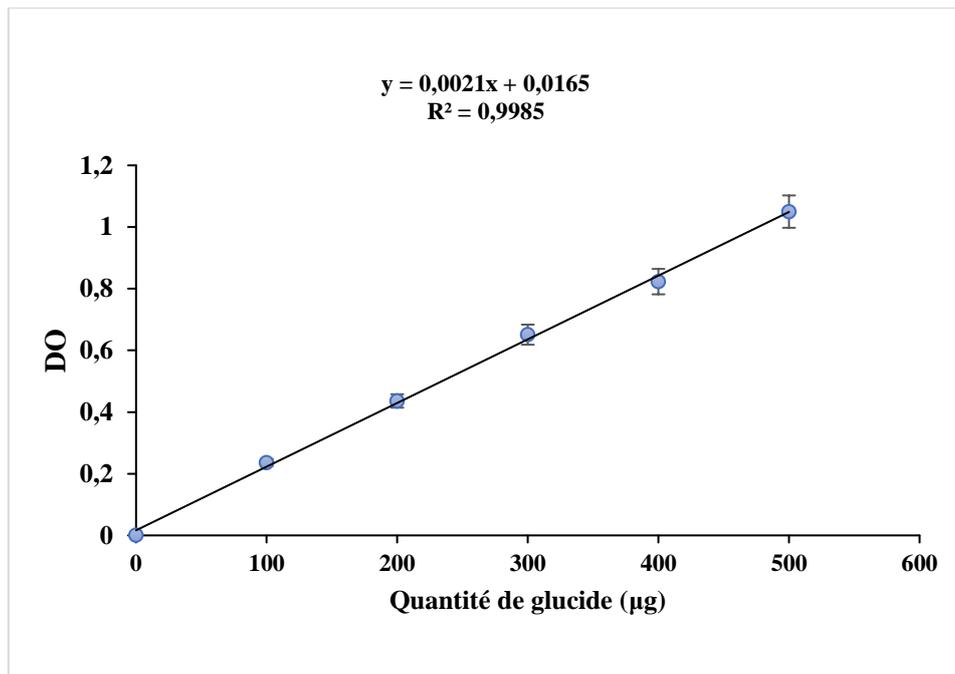
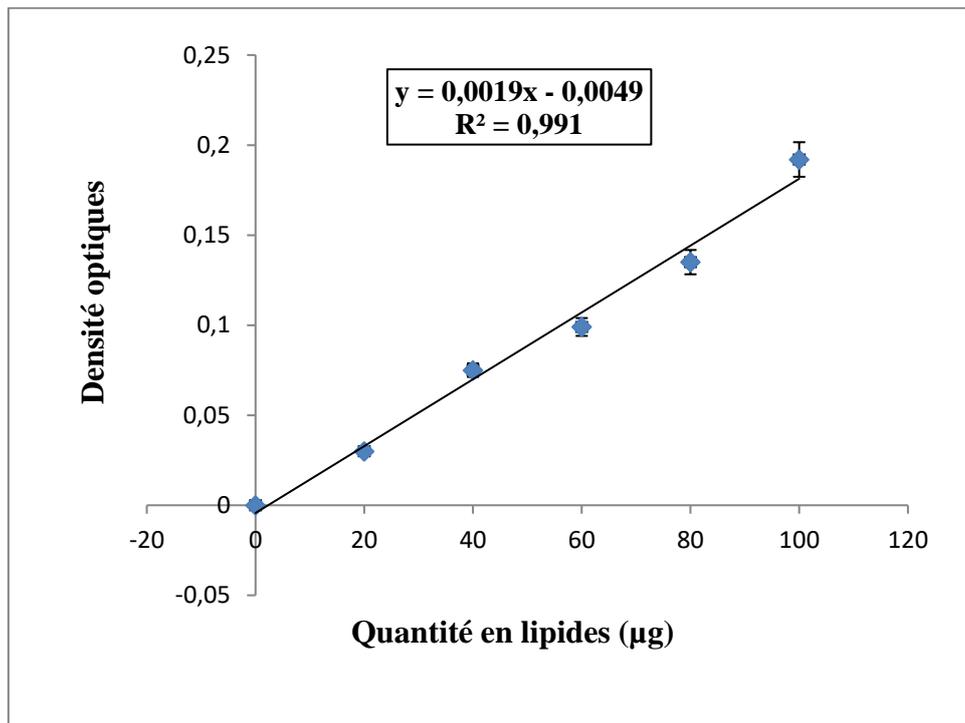


Figure : Courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité(µg) de glucose, (R^2 : coefficient de détermination).

Annexe F

Tableau : réalisation de la courbe d'étalonnage pour le dosage des lipides

Solution mère	Absorbance
0	0
20	0.38
40	0.85
60	1.02
80	0.126
100	0.194

**Figure :** Courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité(µg) en lipide, (R^2 : coefficient de détermination).

Annex G

Tableau : réalisation de la courbe d'étalonnage pour le dosage de GSH

DTNB (μg)	Absorbance
0	0
12.5	0.026 ± 0.158
25	0.121 ± 0.213
50	0.224 ± 0.356

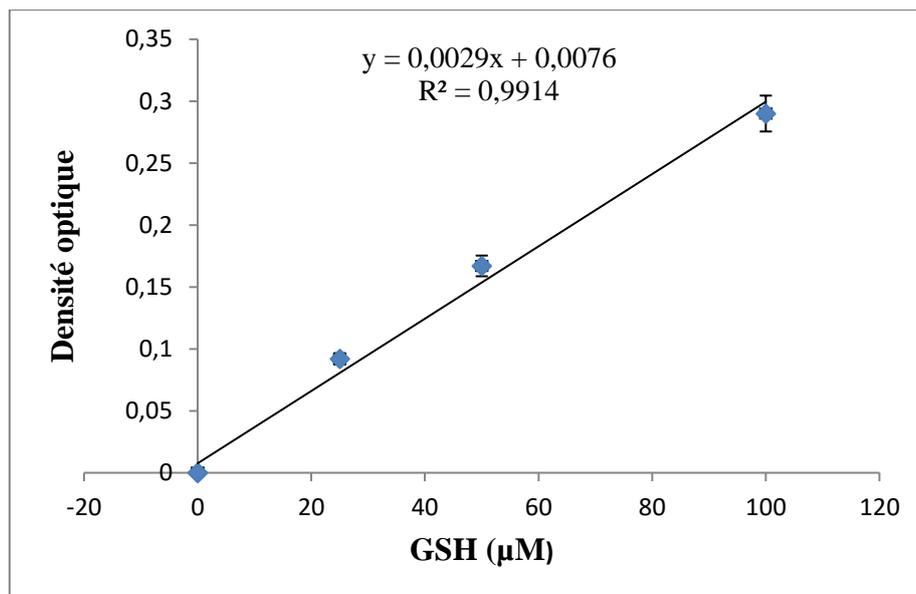


Figure : courbe d'étalonnage du GSH avec le réactif DTNB (R^2 : coefficient de détermination).

Annex H

Tableau : teneur en protéines (mg/100mg de tissus) dans le foie ; branchies et les muscles des carpes.

Doses Organe	DL10	DL50	DL90	Témoins
Foie	51,7492	98,5966	58,9877	43,5220
	50,4520	100,0213	57,2460	43,5770
	49,5254	95,2170	59,7822	44,4552
Moyenne	50,5756	97,9450	58,6720	43,8514
Ecart type	1,1170	2,4676	1,2973	0,5236
Branchie	27,7515	37,6902	32,3560	23,6033
	31,2490	42,4774	30,0888	24,6104
	29,8416	38,6570	31,4939	22,2460
Moyenne	29,6140	39,6082	31,3129	23,4866
Ecart type	1,7598	2,5314	1,1444	1,1865
Muscle	35,9946	49,0460	24,0798	34,1402
	36,6976	48,2986	33,3436	30,7408
	39,2754	50,2945	40,0716	29,5680
	39,9763	42,6619	39,5262	31,6550
	37,9860	46,5552	39,4969	32,5617
Moyenne	37,9860	47,3712	35,3036	31,7332
Ecart type	1,6770	2,9603	6,8550	1,7435

Annex I

Tableau 01 : test t de student

Test d'égalité des espérances : deux observations de variances différentes		
	0,40595238	1,38
Moyenne	0,45673766	1,16859413
Variance	0,01148438	0,04744488
Observations	4	4
Différence hypothétique des moyennes	0	
Degré de liberté	4	
Statistique t	- 5,86485046	
P(T<=t) unilatéral	0,00210999	
Valeur critique de t (unilatéral)	2,13184679	
P(T<=t) bilatéral	0,00421999	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,77644511	

Tableau 02 : comparaison les teneurs de protéine par test t de student

	Témoins- DL10	Témoins- DL50	Témoins- DL90	DL10- DL50	DL10- DL90	DL50- DL90
Foie	0.006	0.02	0.05	0.03	0.08	0.005
Branchie	0.02	0.01	0.02	0.1	0.15	0.16
Muscle	0.9	0.0005	0.006	0.004	0.405	0.023

Tableau 03 : comparaison les teneurs de glucide par test t de student

	Témoins- DL10	Témoins- DL50	Témoins- DL90	DL10- DL50	DL10- DL90	DL50- DL90
Foie	0.02	0.02	0.09	0.05	0.18	0.01
Branchie	0.012	0.014	0.021	0.014	0.021	0.009
Muscle	0.00013	0.00056	0.0042	0.00036	0.0031	0.008

Tableau 04 : comparaison les teneurs de lipide par test t de student

	Témoins- DL10	Témoins- DL50	Témoins- DL90	DL10- DL50	DL10- DL90	DL50- DL90
Foie	0.016	0.0006	0.017	0.00039	0.0034	0.00064
Branchie	0.007	0.00016	0.021	0.0047	0.006	0.00021
Muscle	0.003	0.0007	0.02	0.0005	0.0021	0.0004

Tableau 05 : comparaison les concentrations de plomb par test t de student

	Témoins- DL10	Témoins- DL50	Témoins- DL90	DL10- DL50	DL10- DL90	DL50- DL90
Foie	0.092	0.0018	0.00046	0.00647	0.073	0.0047
Branchie	0.00024	0.00085	0.00014	0.00011	0.00029	0.0182
Muscle	0.019	0.00185	0.0054	0.0012	0.021	0.038

Tableau 06 : comparaison l'activité de catalase par test t de student

	Témoins- DL10	Témoins- DL50	Témoins- DL90	DL10- DL50	DL10- DL90	DL50- DL90
Foie	0.0046	0.0028	0.0037	0.00047	0.0064	0.00037
Branchie	0.0024	0.00027	0.521	0.00078	0.046	0.0012
Muscle	0.038	0.00025	0.0042	0.00028	0.0321	0.00038

Tableau 07 : comparaison Le taux de GSH par test t de student

	Témoins- DL10	Témoins- DL50	Témoins- DL90	DL10- DL50	DL10- DL90	DL50- DL90
Foie	0.0146	0.00016	0.00087	0.0137	0.021	0.00024
Branchie	0.004	0.001	0.0035	0.009	0.046	0.012
Muscle	0.002	0.0012	0.041	0.028	0.033	0.018

Tableau 08 : comparaison Le taux de MDA par test t de student

	Témoins- DL10	Témoins- DL50	Témoins- DL90	DL10- DL50	DL10- DL90	DL50- DL90
Foie	0.081	0.0032	0.0045	0.0039	0.0041	0.28
Branchie	0.0021	0.0093	0.012	0.019	0.036	0.0152
Muscle	0.0064	0.0072	0.0241	0.0428	0.0343	0.016

Tableau 09 : comparaison Le taux de GST par test t de student

<i>Doses</i> <i>Organes</i>	Témoins- DL10	Témoins- DL50	Témoins- DL90	DL10- DL50	DL10- DL90	DL50- DL90
Foie	0.084	0.012	0.025	0.05	0.0092	0.012
Branchie	0.0061	0.0014	0.029	0.0085	0.0183	0.0045
Muscle	0.18	0.011	0.086	0.016	0.035	0.05

Tableau 10 : test de variance a un facteur (les teneurs des protéines dans le foie)

Rapport détaillé				
Groupes	Nombre d'échantillons	Somme	Moyenne	Variance
51,7492331	2	99,9774421	49,988721	0,42925479
98,5966258	2	195,2383	97,61915	11,5406492
58,9877301	2	117,028209	58,5141043	3,216177
43,5220301	2	88,0321102	44,0160551	0,38561976

Analyse de variance						
Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	3494,85124	3	1164,95041	299,248085	3,6839.10 ⁻⁵	6,59138212
A l'intérieur des groupes	15,5717008	4	3,8929252			
Total	3510,42294	7				

Résumé

Le présent travail vise à évaluer la bioaccumulation du plomb et les biomarqueurs du stress oxydant dans les organes (foie, branchie, muscle) de *cyprinus carpio* exposées au dioxyde du plomb à différentes doses : (DL10, DL50 et DL90 d'au sein du laboratoire de l'université (SNV-université août 1955-skikda). Le dosage des métabolites a montré une prédominance des protéines face à des quantités moindres de glucides et de lipides. Le dosage des métaux lourds (Pb) par la SAA dans les organes a prouvé l'existence de fortes concentrations de Pb dans les branchies par rapport aux foie et muscles. L'étude des biomarqueurs du stress oxydant (CAT, GSH, GST, MDA) a révélé une augmentation de l'activité CAT, de GST et du taux de MDA chez les carpes traitées à différentes doses par rapport aux témoins et une diminution du taux de GSH.

Mots clés : *cyprinus carpio*, foie, branchie, muscle, plomb, biomarqueurs, stress oxydant

Abstract

The purpose of this work is to assess lead bioaccumulation and biomarkers of oxidative stress in the organs (liver, gill, muscle) of *cyprinus carpio* exposed to lead dioxide at different doses: (DL10, DL50 and DL90 from within the university laboratory (SNV-university August 1955-skikda). The determination of metabolites showed a predominance of proteins in comparison with lower amounts of carbohydrates and lipids. The determination of heavy metals (Pb) by SAA in organs has shown the existence of high concentrations of Pb in the gills relative to liver and muscle. The study of oxidative stress biomarkers (CAT, GSH, GST, MDA) showed an increase in CAT activity, GST and MDA levels in carps treated at different doses compared to controls and a decrease in GSH levels.

Keywords: *cyprinus carpio*, liver, gill, muscle, lead, biomarkers, oxidative stress

المخلص

هذا العمل هو تقييم التراكم الحيوي للرصاص والكميات الحيوية من الإجهاد التأكسدي في أعضاء (الكبد، الخيشوم، والعضلات) من السيبرينوس كاربيو المعرضة لثاني أكسيد الرصاص بجرعات مختلفة: (DL10,DL50,DL90) في مختبر جامعة (SNV-université août-1995-SKiKda), أظهر تركيز الايضات هيمنة البروتينات مقارنة بكميات اقل من الكربوهيدرات والدهون. وقد أظهرت تركيز المعادن الثقيلة من قبل SAA في الأعضاء وجود تركيزات عالية من الرصاص في الخياشيم بالنسبة الى الكبد والعضلات. أظهرت دراسة الاجهاد الحيوي التأكسدي (CAT,GSH,GST,MDA) في الشرائح المعالجة بجرعات مختلفة مقارنة بالشواهد زيادة في نشاط CAT,GST و MDA, و انخفاض في مستويات GSH.

الكلمات المفتاحية: سيبرينوس كاربيو، الكبد، الخياشيم، العضلة، الرصاص، المؤشرات الحيوية، الاجهاد التأكسدي