RÉPUBLIQUE ALGÉRIÈNNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ DE JIJEL
Faculté des Sciences Exactes et
Sciences de la Nature et de La vie
Département de Biologie Animale
et Végétale

جامعة جيجل
كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الحيوانية و النباتية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : Master 2

Option : Toxicologie de l'environnement

Thème

Recherche de certains métaux lourds et biomarqueurs de pollution dans la chair de crevettes pêchées dans deux régions : Jijel et Béjaia

Jury :

présenté par :

Bouchekhlel Abdelouaheb

السلام عليكم ورحمة الله وبركاته

Remerciements

Avant de présenter ce modeste travail, nous disons « louange à Allah l'éternel » qui nous a guidé toujours vers le chemin droit durant notre vie surtout dans nos années de formation universitaire.

Nous remercions toutes les personnes qui ont contribuées à différents degrés à la réalisation de ce travail, particulièrement :

Nos remerciements les plus sincères à ***Mlle Ghorab Ismahene*** *notre encadreur, pour sa bienveillance, ces précieux conseils et ces encouragements incessants durant notre travail, nous disons à elle merci beaucoup pour votre aide.*

Les membres de jury d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mme Ounes.I *et* ***M. Youbi. M***

Nous exprimons notre profonde gratitude à nos enseignants,

Sans oublier de remercier toute l'équipe de laboratoire pour leurs aides surtout ***Majda****, merci beaucoup pour votre aide surtout morale.*

Un spécial remerciement aussi à ***Mr Ziade*** *aussi pour son aide.*

Nous adressons nos respectueux remerciements à ***Mr Boujadri*** *notre chef de département.*

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont participé de près et de loin à la réalisation de ce humble mémoire de fin d'études.

Sommaire..... i

Liste des abréviations..... v

Liste des tableaux.....viii

Liste des figures.....x

Liste des photos.....xii

Introduction générales.....1

Partie I: synthèse bibliographique

Chapitre I : les crevettes

I.1. Généralité..... 3

I.2. Cycle biologique..... 4

I.3. Les espèces étudiées..... 6

I.3.1. *Penaeus kerathurus*..... 6

I.3.2. *Aristeus antennatus*..... 7

I.3.3. *Parapenaeus longirostris*..... 9

I.3.4. *Palaemon serratus*..... 10

Chapitre II : les métaux lourds

II.1. Généralité..... 12

II.2. Rôle biologique..... 13

II.3. Sources d'émission des métaux lourds..... 13

II.4. Principales propriétés physico-chimique des métaux lourds..... 14

II.4.1. La solubilité..... 14

II.4.2. La stabilité..... 14

II. 4.3 La volatilisation..... 15

II.5. Formes chimiques des métaux dans l'environnement aquatique..... 15

II.6. Les métaux lourds étudiés..... 16

II.6.1. Plomb..... 16

II.6.2. Cadmium..... 18

Chapitre III : Les biomarqueurs

III.1. Notions et concepts..... 22
III.2. Intérêts des biomarqueurs.....22
III.3. Les différents types de biomarqueurs..... 22
III.4. Les biomarqueurs chez les crevettes..... 24
III.4.1. Etude du stress oxydant..... 24
III.4.1.1. Définition des radicaux libre..... 24
III.4.1.2. Source de ROS dans l'eau de mer.....25
III.4.1.3. Définition du stress oxydant..... 25
III.4.1.4. Le stress oxydant chez les organismes marins..... 26
III.4.1.5. Le système anti-oxydant cellulaire..... 26
III.4.1.6. Intérêt du stress oxydant..... 27
III.4.2. Biomarqueurs de stress oxydant retenus pour notre étude..... 27
III.4.2.1. La catalase (CAT)..... 27
III.4.2.2. Le glutathion(GSH)..... 28
III.4.2.3. Le malondialdehyde (MDA).....28
III.4.2.4. L'acétylcholinestérase (AChE)..... 29

Partie II : partie expérimentale

Chapitre I : matériels et méthodes

I.1. Présentation de la zone d'étude.....31
I.1.1. Présentation de la zone d'étude de Jijel.....31
I.1.2. Présentation de la zone de Bejaïa.....32
I.2. La collection des échantillons.....32
I.2.1. L'eau de mer.....32
I.2.2. Les crevettes.....33
I.3. Identification des espèces et séparation des sexes.....34
I.4. Analyses effectuées.....35
I.4.1. L'étude biométrique.....35
I.4.2. Dosage des métabolites..... 35
I.4.2.1. Préparation des échantillons.....35

I.4.2.2. Extraction des métabolites.....35
I.4.3. Analyse des métaux traces par spectrométrie d'absorption atomique (SAA).....38
I.4.4. Les biomarqueurs du stress oxydant.....41
I.4.4.1. Extraction de la fraction «S9».....41
I.4.4.2. Dosage de l'activité catalase (CAT) dans la chair et le céphalothorax.....42
I.4.4.3. Dosage du malondialdehyde (MDA) dans la chair.....43
I.4.4.4. Dosage du glutathion (GSH) dans la chair.....44
I.4.4.5. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) dans la chair et le céphalothorax.....44
I.5. Analyse statistique.....45
I.5.1.Régression linéaire.....45
I.5.2. 't' de student.....46
I.5.4. Le seuil de signification.....46
I.5.3. l'analyse de la variance à deux critères de classification.....46

Chapitre II : résultats et interprétations

II.1. Etude biométrique.....47
II.1.1. La région de Jijel.....47
II.1.1.1. Chez *Penaeus kerathurus*.....47
II.1.1.2. Chez *Aristeus antennatus*.....48
II.1.1.3. Chez *Parapenaeus longirostris*.....49
II.1.1.4. Chez *Palaemon serratus*.....50
II.1.2. La région de Bejaia.....51
II.1.2.1. Chez *Aristeus antennatus*.....51
II.1.2.2. Chez *Parapenaeus longirostris*.....52
II.1.2.3. Chez *Palaemon serratus*.....52
II.2. Dosage des métabolites.....53
II.2.1. Les glucides.....53
II.2.1.1. Réalisation de la courbe d'étalonnage.....53
II.2.1.2. Teneur des échantillons en glucide.....53
II.2.2. Les lipides.....54
II.2.2.1. Réalisation de la courbe d'étalonnage.....54
II.2.2.2. Teneur des échantillons en lipide.....54
II.2.3. les protéines.....55
II.2.3.1. Réalisation de la courbe d'étalonnage.....55

II.2.3.2. Teneur des échantillons en protéine.....56
II.3. Taux de métaux lourds.....58
II.3.1. Dans l'eau de mer.....58
II.3.2. Dans la chair des crevettes.....59
II.3.2.1. Teneur en Plomb.....59
II.3.2.2. Teneur en Cadmium.....59
II.4. Les biomarqueurs.....60
II.4.1 Dans la chair des crevettes.....60
II.4.1.1. l'activité catalase (CAT).....60
II.4.1.2. l'activité de la malondialdéhyde (MDA).....62
II.4.1.3. l'activité de la glutathion (GSH).....63
II.4.1.4. l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE).....64
II.4.2. Dans le céphalothorax..... 65
II.4.2.1. l'activité catalase (CAT).....65
II.4.2.2. l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE).....66
Chapitre III : Discussion
Discussion.....68
Conclusion.....73
Références bibliographiques
Annexes

Liste des abréviations

AChE: acétylcholinestérase

BSA: bovine serum albumin (albumine sérique de bovin)

CAT: catalase

DO: densité optique

DTNB: dithiobisnitrobenzoate

EROD : éthoxyrésorufine-O-dééthylase

GPx: glutathion peroxydase

GR: glutathion réductase

GSH : glutathion (forme réduite)

GSSG : glutathion (forme oxydée)

NADH : nicotinamide adénine dinucléotide

NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

pH : potentiel hydrogène

PMSF : phényl méthyl sulfonyl fluoride

SOD : superoxyde dismutase

TCA : trichloracétate

TNB : thionitrobenzoate

SAA : spectrométrie d'absorption atomique

Pb : plomb

Cd : cadmium

Hg : mercure

As : arsenic

Ti, Zr, W, Ca

Ppm : partie par million

Ppb : partie par billion

LCC : lampe à cathode creuse

BBC : bleu brillant de coomassie

MDA : malondialdehyde

TBA : acide thiobarbiturique

-SH : groupements thiol

SSA : acide sulfosalicylique

EDTA : acide éthylène diamine tétracétique

ASCh : acétylthiocholine

SCh : thiocholine

PT : poids total

LT : longueur total

LC : longueur céphalothoracique

LR : longueur du rostre

LA : longueur abdominale

LU : longueur de l'uropode

Ltel : longueur du telson

LDS : longueur du dernier segment

HC : hauteur du corps

HPS : hauteur du premier segment

Pk : *Penaeus kerathurus*

Aa : *Aristeus antennatus*

Pl : *Parapenaeus longirostris*

Ps : *Palaemon serratus.*

PL : post-larve

Liste des tableaux

Tableau 1: Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides.....37

Tableau 2 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.....37

Tableau 03 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.....38

Tableau 4 : Le protocole utilisé pour le dosage de l'activité catalase.....42

Tableau 5 : Paramètres biométriques mesurés chez les mâles et les femelles de *P. kerathurus* (m± s, n= 12-14, P: seuil de signification).....47

Tableau 6 : Paramètres biométriques mesurés chez les mâles et les femelles de *A. antennatus* (m±s, n= 10-16, P: seuil de signification).....48

Tableau 7 : Paramètres biométriques mesurés chez les mâles et les femelles de *P. longirostris* (m±s, n= 10-12, P: degré de signification).....49

Tableau 8 : Paramètres biométriques mesurés chez les mâles et les femelles de *P. serratus* (m±s, n= 14-12, P: degré de signification).....50

Tableau 9 : Paramètres biométriques mesurés chez les mâles et les femelles de *A. antennatus* (m±s, n= 7-9, P: seuil de signification).....51

Tableau 10 : Paramètres biométriques mesurés chez les mâles et les femelles de *P. longirostris* (m±s, n= 11-10, P: degré de signification).....52

Tableau 11 : Paramètres biométriques mesurés chez les mâles et les femelles de *P. serratus* (m±S, n= 10-12, P: degré de signification).....53

Tableau 12: les concentrations des glucides (mg /100 mg de tissu) dans la chair des espèces de crevettes dans les deux régions Jijel et Bejaia.....54

Tableau 13: les concentrations des lipides (mg /100 mg de tissu) dans la chair des espèces de crevettes dans les deux régions Jijel et Bejaia.....55

Tableau 14: les concentrations des protéines (mg /100 mg de tissu) dans la chair des espèces de crevettes dans les deux régions Jijel et Bejaia.....56

Tableau 15: les concentrations des protéines dans le céphalothorax (mg /100 mg de tissu) des espèces de crevettes dans les deux régions Jijel et Bejaia.....57

Tableau 16: les concentrations de la Plomb et de Cadmium dans l'eau de mer des deux régions (Jijel et Bejaia) (ppm).....58

Tableau 17 : Valeurs moyennes de la teneur en Pb (µg/g) des individus mâles et femelles des espèces dans les deux régions Jijel et Bejaia.....59

Tableau 18 : Valeurs moyennes de la teneur en Cd des individus mâles et femelles des espèces dans les deux régions Jijel et Bejaia exprimées en (µg/g).....60

Tableau 19: l'activité de la catalase (µM/ min/ mg de protéine) dans la chair des espèces de crevettes des deux régions.....61

Tableau 20: l'activité de la malondialdéhyde (MDA) (µM/ mg de protéine) dans la chair des espèces de crevette les deux régions.....62

Tableau 21: l'activité de la glutathion réduit (GSH) (µM/ mg de protéine) dans la chair des espèces de crevette des deux régions.....63

Tableau 22: l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/ min/ mg de protéine) dans la chair des espèces de crevettes des deux régions.....64

Tableau 23: l'activité de la catalase (µM/ min/ mg de protéine) dans le céphalothorax des espèces de crevette des deux régions.....65

Tableau 24: l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/ min/ mg de protéine) dans le céphalothorax des espèces de crevette des deux régions.....66

Liste des figures

Figure 01 : Morphologie externe d'une crevette.....4

Figure 02 : Cycle de développement d'une Crevette.....6

Figure3 : Schéma des différentes formes de ROS.....25

Figure4 : Systèmes enzymatiques impliqués dans la défense antioxydante cellulaire.....27

Figure 5 : Situation géographique de la zone d'échantillonnage de Jijel.....31

Figure 6 : Situation géographique de la zone d'échantillonnage de Bejaïa.....32

Figure 7 : Diagramme simplifié des étapes suivi dans notre étude.....34

Figure 8 : Extraction des glucides, lipides et protéines.....36

Figure 9 : Schéma représentatif du seuil de signification.....46

Figure 10 : Paramètres biométriques chez les mâles et les femelles de *P. kerathurus*.....47

Figure 11: Paramètres biométriques chez les mâles et les femelles de *A. antennatus*.....48

Figure 12: Paramètres biométriques chez les mâles et les femelles de *P. longirostris*..... 49

Figure 13: Paramètres biométriques chez les mâles et les femelles de *P. serratus*.....50

Figure 14: Paramètres biométriques chez les mâles et les femelles de *A. antennatus*.....51

Figure 15: Paramètres biométriques chez les mâles et les femelles de *P. longirostris*.....52

Figure 16: Paramètres biométriques chez les mâles et les femelles de *P. serratus*.....53

Figure 17 : la teneur en glucides chez les espèces des deux régions.....54

Figure 18 : la teneur en lipides chez les espèces des deux régions.....54

Figure 19 : la teneur en protéines dans la chair des espèces des deux régions.....56

Figure 20: la teneur en protéines dans le céphalothorax des espèces des deux régions.....57

Figure 21 : les concentrations du Plomb et de Cadmium (ppm) dans l'eau de mer des deux régions Jijel et Bejaia.....58

Figure 22 : La teneur en Pb (µg/g) des individus mâles et femelles des espèces étudiées dans les deux régions.....59

Figure 23: La teneur en Cd (µg/g) des individus mâles et femelles des espèces étudiées dans les deux régions.....60

Figure 24: l'activité de la catalase (µM/ min/ mg de protéine) dans la chair des espèces de crevettes des deux régions.....61

Figure 25: l'activité de la malondialdéhyde (MDA) (µM/ mg de protéine) dans la chair des espèces de crevette les deux régions.....63

Figure 26: l'activité de la glutathion réduit (GSH) (µM/ mg de protéine) dans la chair des espèces de crevette des deux régions.....64

Figure 27: l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/ min/ mg de protéine) dans la chair des espèces de crevettes des deux régions.....65

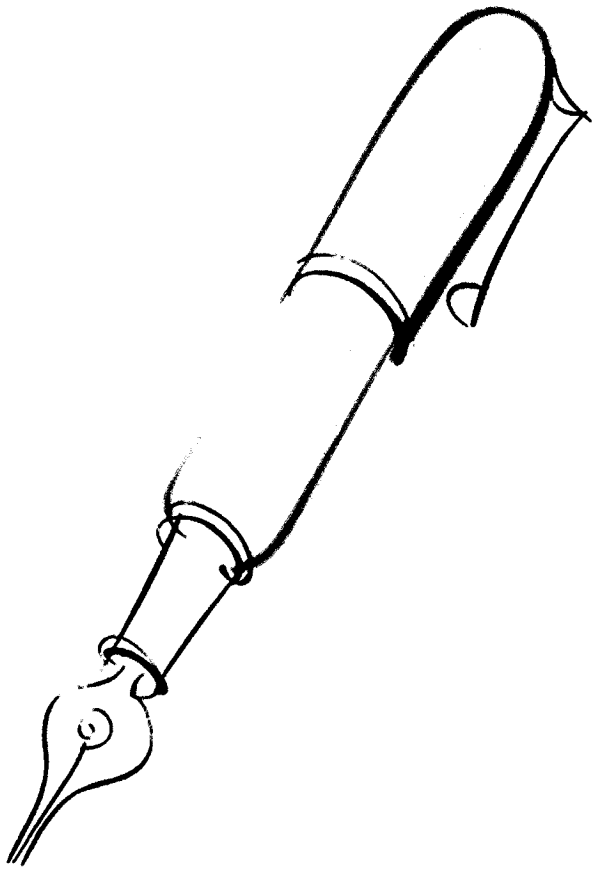
Figure 28: l'activité de la catalase (µM/ min/ mg de protéine) dans le céphalothorax des espèces de crevette des deux régions.....66

Figure 29: l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/ min/ mg de protéine) dans le céphalothorax des espèces de crevette des deux régions.....67

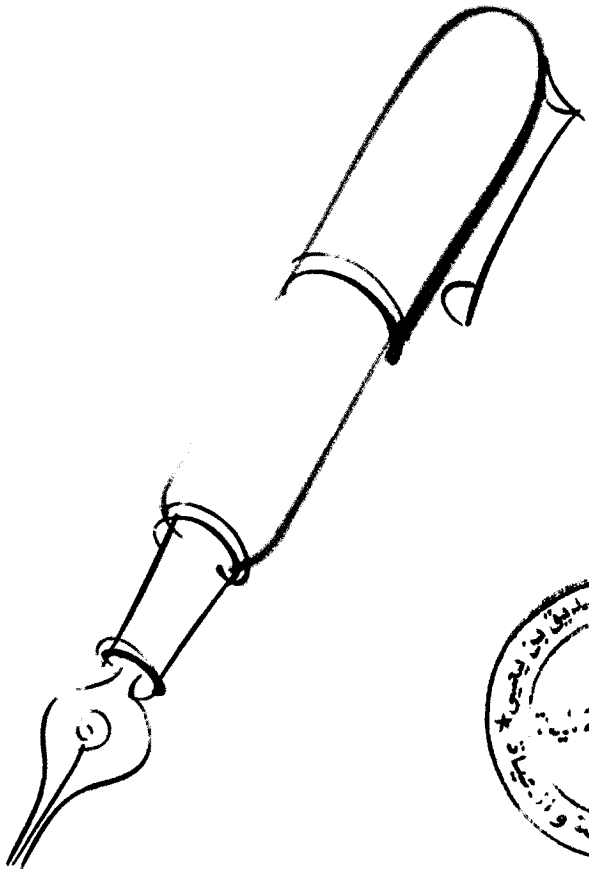
Liste des photos

Photo 1: *Penaeus kerathurus*.....7
Photo 2: *Aristeus antennatus*.....8
Photo 3 : *Parapenaeus longirostris*.....10
Photo 4 : *Palaemon serratus*.....11
Photo 5 : spectrophotomètre d'absorption atomique.....40

Introduction



Introduction



La pollution est un problème d'actualité; elle affecte pratiquement tous les écosystèmes y compris l'environnement aquatique. Elle présente un risque pour la santé humaine et est celle des écosystèmes notamment marins. Parmi les éléments polluants qui peuvent arriver dans le milieu marin, il y a les éléments métalliques qui se trouvent généralement à de faibles concentrations, de l'ordre de la ppm **(Benamar, 2006).**

Les activités humaines sont à l'origine d'une dégradation de l'environnement, en grande partie par la dispersion croissante de substances ou d'éléments synthétiques et naturels. **(Guerlet, 2007).** La contamination des milieux aquatiques devient donc un problème fondamental car elle peut constituer un risque pour la biocénose et la préservation des ressources **(Fournier, 2005).**

L'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques met en lumière des biomarqueurs à vocation écologique permettant des changements d'échelle, donc la prévision d'effets populationnels: perturbations du métabolisme énergétique ou du comportement, atteintes du génome ou de la reproduction **(Amiard & Amiard-Triquet, 2008).**

La surveillance de la qualité des écosystèmes marins repose en grande partie sur l'évaluation de l'impact écotoxicologique des polluants grâce à des méthodes simples et fiables, spécifiquement adaptées à l'étude des effets des xénobiotiques sur les organismes vivants. Dans ce contexte, les marqueurs biologiques apparaissent comme des outils modernes d'évaluer les effets d'exposition chroniques ou ponctuelles à un (ou des) xénobiotique (s) sur les populations dans leurs habitats. **(Lagadic** et al., **1997).**

Les crevettes sont largement considérées comme de bons indicateurs de la contamination du milieu marin dans lequel elles vivent, puisqu'elles possèdent la propriété d'accumuler les contaminants présents dans ce milieu jusqu'à atteindre un équilibre avec lui. **(RNO, 1995).**

La mesure de biomarqueurs comme activité de biotransformation chez la crevette, est susceptible de fournir des informations sur les niveaux d'exposition, sur la biodisponibilité et sur les effets biologiques précoces de substances présentes dans les écosystèmes aquatiques **(Van der Oost** et al, **2003).**

Divers biomarqueurs biochimiques et cellulaires ont été étudiés dans les organismes aquatiques, et en particulier dans les poissons et des mollusques bivalves. Ces biomarqueurs comprennent ceux qui sont spécifiques à un stress oxydatif, recommandé pour la biosurveillance de la qualité de l'environnement aquatique,

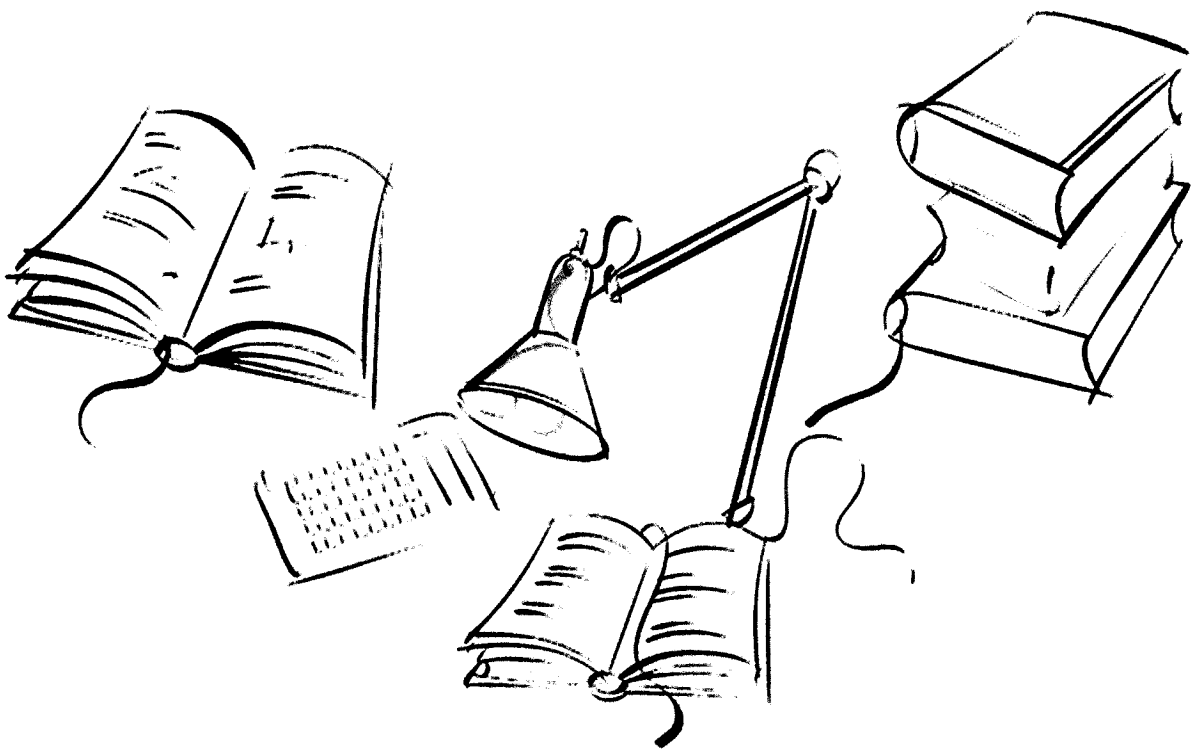
La littérature fournit peu de données sur les études réalisées sur les biomarqueurs de stress oxydant ayant pour objet la surveillance des écosystèmes marins chez les crustacés: **Mertixell** et al., **2009,** sur les biomarqueurs de stress oxydant chez *A. antennatus* et **Dorts** et al., **2009,** chez la crevette tigrée *P. monodon.*

Ce travail a été réalisé dans l'optique de mettre en évidence l'état écosystémique marin et le degré de contamination par les métaux lourds (Pb et Cd) des deux régions Jijel et Bejaia à partir de l'état physiologique et biologique de quatre espèces de crevettes (*P. kerathurus ; A. antennatus ; P. longirostris et P. serratus*), en s'appuyant surtout sur les biomarqueurs de stress oxydant (CAT ; GSH ; MDA), de neurotoxicité (AChE) ainsi que les taux des métabolites (glucides ; lipides ; protéines).

Ce travail s'articule sur deux grandes parties :

- ✓ Une partie synthèse bibliographique comportant trois chapitres ; le premier chapitre consacré aux crevettes (morphologie, biotope, cycle de vie et systématique), Le 2ème chapitre traite les métaux lourds (sources, propriétés physico-chimique et formes chimiques dans l'environnement aquatique). Le 3ème chapitre met en relief les biomarqueurs de stress oxydant et de neurotoxicité
- ✓ Partie expérimentale mis en œuvre le matériel et méthodes utilisés, les résultats obtenus et leur discussion.

Synthèse bibliographique



Chapitre I:

Les crevettes

I.1. Généralités

Les crustacés sont des invertébrés, arthropodes généralement aquatiques, ils représentent un ordre diversifié qui colonisent les milieux aquatiques marins ou lacustres **(Beaumont & Cassier, 1998).**

Les Décapodes constituent l'ordre le plus important des malacostracés par le nombre des espèces et des formes. Ils contiennent toutes les espèces comestibles et malgré la diversité des représentants (Crevette, Homard, Crabe, Bernard l'Hermite) constituent un ensemble homogène **(Beaumont & Cassier, 1996).**

Les pénaeidés représentent un groupe de crustacés principalement marins, avec un degré élevé de diversité de la forme du corps et de l'habitat **(Grassé, 1996).**

Les crustacés se distinguent des autres classes par la présence de deux paires d'antennes, par la possession de nombreux autres appendices et, chez ses représentants aquatiques, par des dispositifs comme les branchies pour extraire l'oxygène de l'eau. Ils sont souvent caractérisés par leur corps composés de deux parties qui sont le céphalothorax et l'abdomen **(Arzel** et al., **1992).**

La tête constituée de six métamères ; elle porte : une paire des yeux, une paire d'antennes, une paire d'antennules, avec une paire des mandibules préorales.

Le thorax constitué de huit métamères; il porte lui-même : huit paires de pattes dites «périopodes» dont cinq pattes ambulatoires qui servent à marcher et à attraper les proies, alors que les trois paires de pattes restantes forment les maxillipèdes.

L'abdomen de sa part est constitué de six métamères portant cinq paires de pattes dites «pléopodes», dont la première paires de patte est impliquée dans le phénomène de reproduction, alors que les quatre paires restantes sont adaptées à la nage **(Grassé, 1996). (Figure1).**

Ces crustacés incubent ses œufs accrochés aux appendices abdominaux. C'est dans cette situation que se déroule l'embryogenèse et parfois l'ensemble du développement. L'éclosion se fait sous forme de larve zoé ou à un stade plus avancé **(Cécile, 2010).**

Ils ont un développement post-embryonnaire discontinu, du fait de la présence d'une carapace rejetée périodiquement au cours des mues successives accompagnées de fluctuation tissulaires et comportementales, la mue et la reproduction sont deux phénomènes étroitement intriqués. Ils sont les plus abondants dans la nuit en raison de leur activité nocturne, à des profondeurs de 0 à 20 m au moins **(Ghorab, 2002).**

Synthèse bibliographique

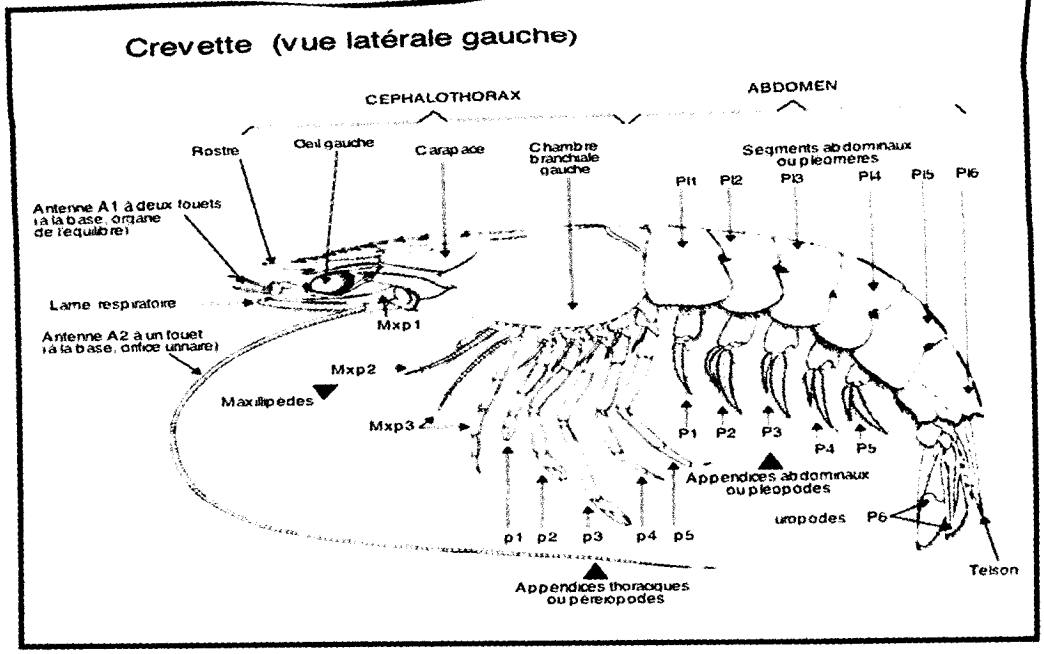


Figure 01 : Morphologie externe d'une crevette **(Lioris & Rucabado, 1998).**

Les crevettes sont largement distribuées ; on les rencontre aussi bien dans les eaux marines que saumâtres ou douces, et ceci de l'équateur aux régions polaires. Bien que la majorité des espèces marines se tiennent dans les eaux peu profondes ou de profondeur modérée, certaines ont été récoltées à des profondeurs voisines de 5700 m ; cependant la plupart des crevettes commerciales sont capturées sur le plateau continental à des profondeurs inférieures à 100 m. Beaucoup de crevettes sont pélagiques mais en grande majorité elles sont benthiques, vivant sur des fonds très divers tels que les roches, vases, débris, coquilliers ou mélanges de ces matériaux. De plus, certaines espèces fréquentent les récifs coralliens et quelques unes sont commensales d'éponges et autre invertébrés **(Lioris & Rucabado, 1998).**

Les crevettes ont un régime alimentaire de type détritivore, ou carnivore , ou omnivore. Elles ne présentent pas de difficulté particulière à se nourrir et accepteront facilement la nourriture usuelle distribuée aux poissons. **(Arzel et al., 1992).**

Les organes stibo-récepteurs sont des poils ou des soies sensorielles distribués sur le corps et surtout sur les appendices, dont certains apprécient la résistance de l'eau aux mouvements. D'autres sont chémorécepteurs (analyse des caractéristiques chimiques) ; ils jouent un rôle important dans la localisation à distance des proies ou des congénères (la localisation de la nourriture repose beaucoup plus sur la détection chimique que visuelle) **(Arzel et al., 1992).**

- La phase méroplanctonique et planctonique qui a lieu en zone océanique et côtière (stades larvaires Nauplius, Zoé et Mysis).
- La phase benthique, au niveau des estuaires, pour les post-larves et les Juvéniles.
- La phase de migration sexuelle durant laquelle les animaux migrent vers le large pour se reproduire.

L'accouplement ainsi que la ponte ont donc lieu en mer à quelques dizaines de mètres de profondeur. La fécondation est externe, les ovules étant fécondés au moment de leur expulsion. Les œufs sont d'abord pélagiques puis benthiques. Après 10 à 12 h de développement embryonnaire, l'éclosion se produit et les nauplii sont libérés. Ce premier stade de développement est vitellotrophe, est suivi de six stades nauplius successifs.

Le dernier stade Nauplius donne alors naissance à la larve Zoé (3 stades) se nourrissant exclusivement d'algues phytoplanctoniques. La dernière forme Zoé (Zoé) se métamorphose ensuite en larve Mysis (3 stades) qui est strictement carnivore.

La dernière métamorphose aboutit au stade post-larve (PL). L'animal présente alors la plupart des caractéristiques morphologiques de l'adulte. Les PLs passent en quelques jours (10 à 20) d'une vie pélagique à une vie benthique. Elles se concentrent généralement près des côtes, dans les estuaires ou les lagunes.

Finalement, un mois et demi à deux mois sont nécessaires après l'éclosion pour que les animaux acquièrent l'ensemble des caractéristiques morphologiques de l'animal adulte. Après une période de croissance rapide de quelques semaines en lagune, où la production biologique est élevée et la nourriture abondante, les crevettes, mesurant alors 8 à 12 cm de longueur, quittent les lagunes pour retrouver la bande côtière. Une fois en mer, les crevettes vont poursuivre leur croissance pendant 8 à 12 cm de longueur, quittent les lagunes pour retrouver la bande côtière. Une fois bande côtière. Une fois en mer, les crevettes vont poursuivre leur croissance pendant 8 à 12 mois avant de se reproduire **(Castex, 2009). (Figure 02).**

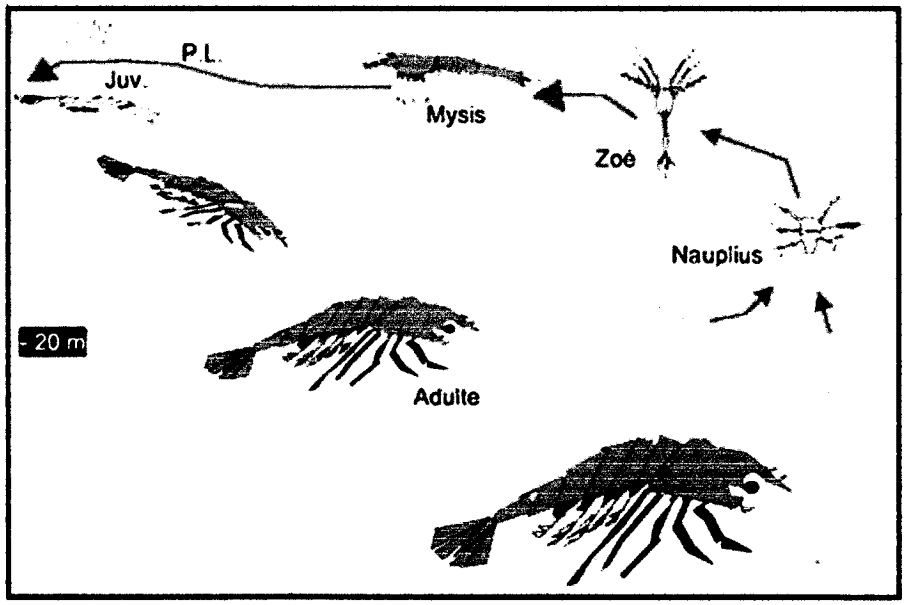


Figure 02 : Cycle de développement d'une Crevette **(Castex, 2009).**

I.3. Les espèces étudiées

I.3.1. *Penaeus kerathurus* (Forsskal, 1775)

Penaeus kerathurus est la principale espèce de crustacé, elle présente dans l'Atlantique-est, de l'Angola aux îles britanniques, ainsi que dans l'ensemble du bassin méditerranéen. Elle se tient entre les fonds de 5 m et de 80 m maximum, sa répartition préférentielle se situant entre 10 et 40 m surtout, au voisinage des embouchures de fleuves, rivières ou lagunes, sur des fonds sableux, sablo-vaseux, ainsi que sur des herbiers **(Arzel** et al., **1992).**

Les mâles sont clairs avec des barres transversales roses sur l'abdomen; les femelles sont jaune verdâtres ou jaune grisâtre avec des barres vert cuivre ou mauve brunâtre; l'éventail caudal est souvent bleu vers l'extrémité et bordé de rouge. Le rostre comportant 8 à 13 dents sur le bord dorsal, une seule sur le bord ventral **(Arzel** et al., **1992) (Photo 1).**

La longueur totale moyenne des captures est comprise entre 120 et 160 mm pour les femelles et 80-140 mm chez les mâles. Les plus grandes tailles observées sont de 230 mm (femelles) et 180 mm (mâles). Sa croissance est rapide avec une longévité d'environ de 3 ans. Cette espèce est enfouie dans le sédiment; sa phase d'activité est essentiellement nocturne.

Elle se nourrit essentiellement les mollusques, les polychètes, les crustacés, poissons et fragments de plantes supérieures **(Arzel** et al., **1992).**

- **Sa position systématique**

Règne	Animal
Sous règne	Eu métazoaire
Embranchement	*Arthropoda*
Sous embranchement	*Mondibulata*
Classe	*Crustacéa*
Sous classe	*Malacostracéa*
Ordre	*Decapoda*
Sous ordre	*Natantia*
Super famille	*Penaeida*
Famille	*Penaedae*
Genre	*Penaeus*
Espèce	*Penaeus kerathurus* **(Forsskal, 1775)**

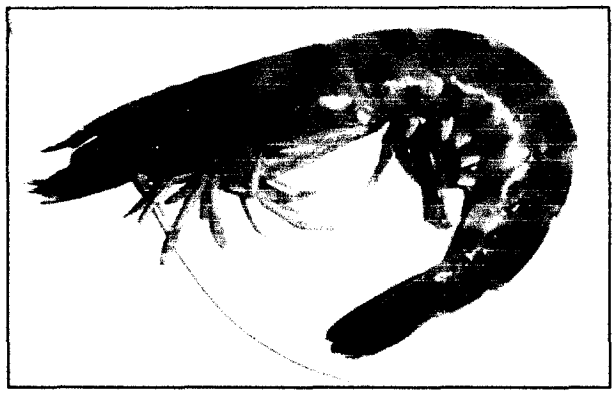


Photo 1: *Penaeus kerathurus*.

I.3.2. *Aristeus antennatus* (Risso, 1816)

Aristeus antennatus est une crevette de grande taille présente au-dessus des fonds vaseux, des iles du «cap-verre» au Portugal, ainsi qu'en méditerranée **(Arzel** et al., **1992).**

Elle est également abondante dans la région de Jijel et appelée communément « Crevette rouge» en Algérie.

A. antennatus ayant une longévité de trois à quatre ans au maximum. Pour les femelles, la longueur céphalothoracique avoisine 30 mm à un an, 40 mm à deux ans, 53 mm à trois ans; chez les mâles, la longueur céphalothoracique est de 23 mm à un an, 28 mm à deux

ans, et 32 mm à trois ans, les males sont nettement les plus petits que les femelles (**Arzel** et al., **1992**).

La carapace est très lisse et porte latéralement une paire de dents (**Grassé & Doumene, 1998**).

La coloration est rouge pale ou vif, avec des bandes blanchâtres ou violacées sur la carapace (**Photo 2**). Cette crevette se nourrit essentiellement de bivalves, de macroures (*Calocaris macandrea*), d'amphipodes, polychètes, ophiurides. La composition des proies varie avec l'âge de la crevette. Sa période d'alimentation est essentiellement nocturne. Les femelles sont matures de mai à mi-octobre, avec un maximum en juillet-août. Durant cette période, 100 % d'entre elles portent des spermatophores. Le nombre de pontes annuelles augmente avec l'âge, pouvant atteindre trois chez les femelles les plus âgées (**Arzel** et al., **1992**).

- **Sa position systématique**

Règne	Animal
Sous règne	Eu métazoaire
Embranchement	*Arthropoda*
Sous embranchement	*Mondibulata*
Classe	*Crustacéa*
Sous classe	*Malacostracéa*
Ordre	*Decapoda*
Sous ordre	*Natantia*
Famille	*Aristeidae*
Genre	*Aristeus*
Espèce	*Aristeus antennatus* (**Risso, 1816**)

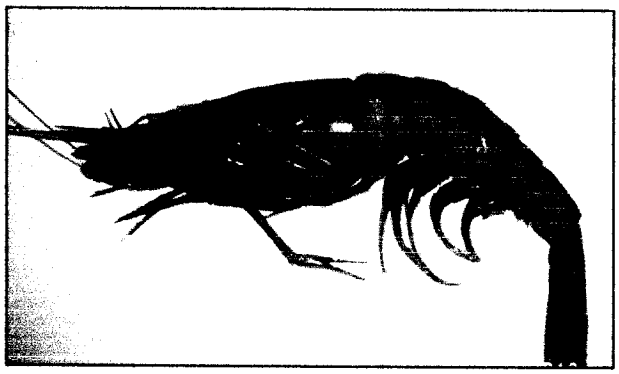


Photo 2: ***Aristeus antennatus.***

I.3.3. *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846)

Parapenaeus longirostris est une crevette nocturne présente sur les fonds sablo-vaseux ou vaseux en atlantique, depuis l'Angola jusqu'au nord du Portugal ainsi que dans toute la méditerranée **(Arzel** et al., **1992).**

Elle est capturée entre 70 et 400 mètres de profondeur, avec une abondance maximale entre 100 et 300 m. Elle est connue en Algérie sous le nom de « crevette blanche » et en France « crevette rose ».

La carapace est dorsalement carénée. La coloration est beige plus au moins nacrée, ou rose orangée ; le rostre est rouge ainsi que les articulations des appendices et le telson **(Photo3).**

La longévité maximale de cette espèce est comprise entre 24 et 42 mois suivant les auteurs. La croissance des femelles est supérieure à celle des mâles. Pour les femelles, la longueur céphalothoracique avoisine 18 mm à un an, 29 mm à deux ans, 36 mm à trois ans peut atteindre 38 mm; chez les mâles, la longueur céphalothoracique est de 16 mm à un an, 25 mm à deux ans et 29 mm à trois ans et peut atteindre 31 mm **(Arzel** et al., **1992).**

Elle se trouve principalement sur les fonds et tolère des variations de température de 12,8 à 17,2 °C en Méditerranée. Cette crevette se nourrit essentiellement de petits bivalves, de petits crustacés (crangonides en particulier) ainsi que de cadavres de poisson **(Arzel** et al., **1992).**

- **Sa position systématique**

Règne	Animal
Sous règne	Eu métazoaire
Embranchement	*Arthropoda*
Sous embranchement	*Mondibulata*
Classe	*Crustacéa*
Sous classe	*Malacostracéa*
Ordre	*Decapoda*
Sous ordre	*Natantia*
Super famille	*Penaeida*
Famille	*Penaedae*
Genre	*Parapenaeus*
Espèce	*Parapenaeus longirostris* **(Lucas, 1846)**

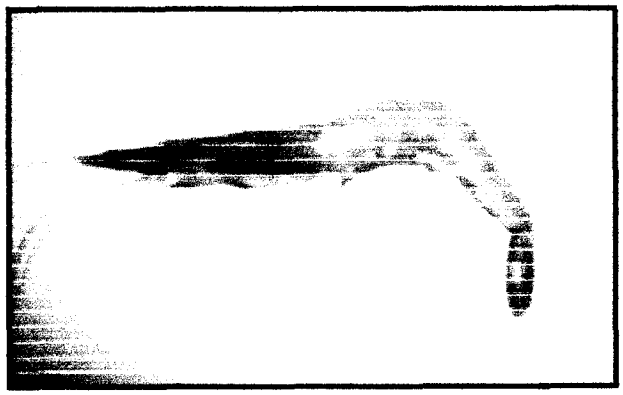


Photo 3 : *Parapenaeus longirostris*.

I.3.4. *Palaemon serratus* (Pennant, 1777)

Palaemon serratus est une espèce des eaux méditerranéennes et de l'Atlantique nord tempéré. Elle se rencontre de la Grèce jusqu'au détroit de Gibraltar et du Maroc à l'Irlande et aux Pays-Bas **(Arzzel** et al., **1992).**

Les crevettes appartenant à cette espèce vivent dans le sable, sur les roches et dans les herbiers. Elles sont suspensivores mais mangent également des polychètes et broutent les particules sur les algues **(Magali, 2007).**

Ce sont des espèces très vives, elles sautent partout quand on les touches grâce à un fort coup de leur éventail caudal. Aussi elles marchent sur le fond grâce aux péréiopodes tandis qu'elles nagent avec ses pléopodes, elles s'éloignent pour manger malgré ce comportement, elles vivent en communauté même dans un endroit confiné **(Magali, 2007).**

La taille de *Palaemon serratus varie* de 5 à 10 cm. Le corps est allongé et comprimé latéralement, la tête et le thorax sont recouverts d'une carapace **(Magali, 2007).**

Le corps est transparent avec bandes transversales et des lignes sombres sur les segments abdominaux et des stries longitudinales et obliques sur la carapace. Des taches rouges apparaissent sur les péréiopodes **(Arzel** et al., **1992) (Photo 4).**

Sa tête porte un long rostre recourbé vers le haut, plus long chez le mal que chez la femelle, il contient six dents dorsales, cinq dents ventrales et deux paires d'antennules et d'antennes très développées. Ayant deux yeux pédonculés. Le telson est de forme triangulaire avec deux paires des pinces dorsales et une pointe aigue **(Magali, 2007).**

La pêche de cette espèce en Algérie se fait à des profondeurs de 50 à 100 m pendant la nuit, durant toute l'année sauf la période du premier mai jusqu'au 31 aout.

⊥ Sa position systématique

Règne	Animal
Sous règne	Eu métazoaire
Embranchement	*Arthropoda*
Sous embranchement	*Mondibulata*
Classe	*Crustacéa*
Sous classe	*Malacostracéa*
Ordre	*Decapoda*
Super famille	*Caridés*
Famille	*Palaemonidae*
Genre	*Palaemon*
Espèce	*Palaemon serratus* **(Pennant, 1777)**

Photo 4 : *Palaemon serratus.*

Chapitre II: Les métaux lourds

II.1. Généralités

Les métaux lourds sont des corps simples, solides à température ambiante (hormis le mercure), doués d'un éclat particulier (éclat métallique) bons conducteurs de la chaleur et de l'électricité, ayant des caractéristiques de dureté et de malléabilité, se combinant aisément avec d'autres éléments pour former des alliages. Ils sont abondamment utilisés par l'homme depuis l'antiquité d'abord pour sa vie, puis son confort et ses loisirs **(Casas, 2005).**

Ils peuvent se trouver dans l'air, dans l'eau et dans le sol. Comme le pétrole, le charbon et le bois contiennent presque tous les éléments chimiques et, parmi eux, aussi les métaux lourds, en quantités différentes, il s'en suit lors des procédés de combustion, ces métaux lourds et/ou leurs composés parviennent dans l'air et peuvent atteindre le sol directement, souvent ou absorbés sur des aérosols ou absorbés dans les eaux des précipitations. **(Bliefert & Perraud, 2009).**

Depuis des siècles, les teneurs en métaux dans le milieu naturel ont peu varié, mais avec l'avènement de l'ère industrielle, les activités humaines sont devenues une nouvelle source d'émission des métaux lourds les concentrant dans l'air, l'eau et les sols et représentent des risques de contamination de la faune et la flore **(Pagotto, 1999).**

À la différence de la grande majorité des polluants organiques, les métaux lourds ne sont pas synthétisés par l'homme **(Coquery** et al., **2004).** Il les a extraits, raffinés, enrichis et convertis en formes chimiques qui peuvent souvent se montrer plus solubles que les formes naturelles. Par l'intermédiaire de l'air, des déchets ménagères et industriels, des déjections animales et des engrais, notre environnement s'est enrichi d'une série de métaux lourds qui ne possède plus leur stabilité originelle **(Verloo, 2003).** La surexploitation des métaux a augmenté exagérément leur dissémination et leur distribution dans les écosystèmes qui n'y sont pas exposés naturellement. Les espèces qui ne sont pas adaptées de vivre en présence de concentrations élevées en métaux peuvent ainsi être mises en danger **(Coquery** et al., **2004).**

La toxicité des métaux lourds dépend de leurs teneurs dans le milieu, mais aussi de leurs formes chimiques (spéciation), qui sont elles-mêmes conditionnées par les caractéristiques physico-chimiques et minéralogiques du milieu. En effet c'est la spéciation qui gouverne la mobilité et la biodisponibilité d'un élément **(Le goff, 2004).**

En plus de leur grande toxicité, les métaux sont susceptibles d'entrainer des nuisances même s'ils sont rejetés en quantités très faibles à cause de l'existence de phénomène de bioaccumulation. La bioaccumulation est le processus d'assimilation et de concentration des métaux dans les organismes. Celui-ci se déroule en trois temps **(Nicolau, 2005)** :

- Assimilation,
- La bioaccumulation par individu,
- La bioaccumulation entre individus (chaine trophique).

D'un point de vue purement scientifique et technique, les métaux lourds peuvent être également définis comme **(Benedetto, 1997)**:

- tout métal ayant une densité supérieure à 5 mg/mm^3,
- tout métal ayant un numéro atomique élevé, en général supérieur à celui du Sodium (Z=11),
- tout métal pouvant être toxique pour les systèmes biologiques.

II.2. Rôle biologique

Au niveau biologique, les métaux lourds peuvent être repartis selon deux grandes catégories. La première réunit tous les éléments présents à l'état de traces mais indispensables à la vie des organismes vivants (microorganismes, plantes, animaux et humains) **(Pagotto, 1999)**. La deuxième catégorie regroupe, tous les éléments inutiles à la vie des organismes vivants **(Nicolau, 2005)** et qui n'ont aucun rôle biologique actuellement connu **(Olivier, 2001)**, à l'exception de l'exemple d'une anhydrase carbonique à cadmium récemment caractérisée chez une diatomée marine **(Joris, 2005)**. Ils sont considérés comme toxique dés qu'ils sont dans le milieu et entrainent des effets biologiques délétères à très faibles concentrations. C'est le cas d'Hg, Ag, Cd et Pb. Les êtres vivants doivent donc mettre en œuvre des processus qui permettent de limiter l'accumulation des ces métaux ou les stocker sous forme non toxique **(Pagotto, 1999).**

II.3. Sources d'émission des métaux lourds

Poser la question des conséquences des métaux lourds sur l'environnement peut paraître à certains égards incongrus dans la mesure où les métaux lourds sont des éléments naturels, présents dans tous les compartiments de notre environnement, l'air, l'eau, les sols **(Miquel, 2001)**.

- **Les sources d'origine naturelle**

Des apports par la voie atmosphérique existent également : volcanisme, érosion et transport éoliens de poussières, transport d'aérosols d'origine océanique, feux de forêts, etc.

Certaines eaux souterraines, en particulier dans les régions volcaniques ou les nappes profondes, sont très riches en métaux. Pour le cas particulier des eaux marines, l'activité tectonique et le volcanisme sous-marins sont également à l'origine d'un apport en éléments métalliques **(Le goff, 2004).**

➢ **Les sources anthropiques**

L'activité humaine n'a apporté aucun changement dans les volumes de métaux lourds. Il n'y a ni création, ni suppression. Elle a surtout changé la répartition des métaux, les formes chimiques (ou spéciations) et les concentrations par l'introduction de nouveaux modes de dispersion (fumées, égouts, voitures...). Si une partie des métaux lourds part directement dans le sol et les eaux, l'essentiel est d'abord émis dans l'atmosphère avant de rejoindre les deux autres éléments **(Miquel, 2001).**

II.4. Principales propriétés physico-chimique des métaux lourds

II.4.1. La solubilité

La solubilité est la quantité maximale dissoute d'un composé dans un litre de solution à une température donné. Elle est influencée outre la température, principalement par le pH, mais aussi par la pression, la fonction molaire de chaque composé dans le mélange de polluants et la teneur en matière organique **(Ballirini** et al., **1998).** La solubilité d'un métal indique sa tendance à la mobilisation par lessivage ou par ruissellement. Les métaux solubles sont facilement transportables par l'eau ; car ils suivent son écoulement et sont souvent peu adsorbés sur les sols **(Hébrard** et al., **2004).** Ils sont assimilés par les organismes vivants **(Jumarie** et al., **2001).**

Les métaux vont être plus ou moins mobiles,plus ou moins solubles. Dans l'eau, les métaux sont présents sous forme d'oxydes ou de sels, selon les métaux d'origine. Le plomb, par exemple, est un métal dont les composés inorganiques sont très peu hydrosolubles et de faible mobilité géochimique (c'est le cas par exemple de PbS, $PbCO_3$, $PbSO_4$), les composés halogènes du plomb (chlorure, bromure) ou les acétates de plomb étant plus solubles **(Pichard, 2003).** Les teneurs de plomb dans les eaux naturelles sont en conséquence très basse en dehors des zones minières où le pH de l'eau peut être très acide **(Laperche** et al., **2004).**

Le cadmium à l'état métallique est insoluble, ses sels le sont plus ou moins (La solubilité dépendant du contre ions et du pH). En milieu aquatique, le cadmium est relativement mobile et peut être transporté sous forme de cations hydratés ou de complexes inorganiques **(Pichard, 2005).** D'une manière générale, la plupart des sels sont solubles, et c'est sous cette forme que les métaux lourds contaminent l'environnement et en particulier l'alimentation **(Miquel, 2001).**

II.4. 2. La stabilité

Contrairement aux contaminants organiques, les métaux lourds sont indéfiniment stables en tant que tels et ne peuvent être dégradés biologiquement ou chimiquement dans l'environnement. Dans le meilleur des cas, leur toxicité peut être suite à leur forte adsorption sur les minéraux des sols, leur précipitation ou leur transformation en des formes chimiques moins solubles **(Desboeuf, 2004)**. Le cadmium par exemple, ne se dégrade pas dans l'environnement, mais des processus physiques ou chimiques peuvent modifier sa mobilité, sa biodisponibilité et son temps de séjour dans différents milieux. Mais, et dans certains cas, ce ne sont que de telles réactions de transformation qui conduisent à des composés toxiques (par exemple la méthylation du mercure).

Une des conséquences les plus sérieuses de la persistance des métaux est leur accumulation dans les chaines alimentaires. Au boute ces chaines, les métaux peuvent atteindre des concentrations qui sont supérieures de plusieurs puissances de dizaines à celles trouvées dans l'eau ou dans l'air **(Bliefert & Perraud, 2001).**

II.4.3. La volatilisation

D'une façon générale, les métaux lourds sont à considérer peu ou pas volatiles à l'exception du mercure. Les composés volatiles du mercure s'échappent facilement vers l'atmosphère (par dégazage de l'écorce terrestre, les activités volcaniques et les rejets anthropiques) et constituent une source importante de contamination de l'atmosphère **(Ballirini** et al., **1998).** Il est également rapporté que les composés organiques de l'arsenic sont facilement volatiles. Cette propriété est souvent utilisée pour détoxification de certains organismes **(Le noble, 2003).**

II.5. Formes chimiques des métaux dans l'environnement aquatique

Les métaux lourds sont présents dans l'ensemble des milieux aquatiques sous formes chimiques. Ils se trouvent dans la phase dissoute et dans la phase particulaire **(CIESM, 2002).** La phase dissoute comprend des métaux sous formes d'ions libres hydratés, de complexes dissous labiles organiques ou inorganiques, de complexes dissous non labiles organiques ou inorganique, d'organométalliques **(Tessier** et al.,**1995).** Dans la phase particulaire, les métaux sont liés aux particules depuis l'absorption faible jusqu'à la liaison au sein même de la matrice minérale **(Blanquet** et al., **2004).**

Le fractionnement par taille peut apporter des renseignements intéressants, la fraction biodisponible des métaux étant généralement associée aux particules les plus fines **(Muller, 2004)**, et est variable, selon le type d'organisme biologique ainsi que le niveau de

contamination. La quantification en métal total donne donc une information importante sur sa dangerosité vis-à-vis du milieu, mais cette mesure ne suffit pas pour évaluer l'impact du métal sur l'environnement **(Alonso** et al., **2004)**. L'indice de pollution d'un système, ne peut être donné que par une quantification des différentes espèces et formes chimiques du polluant recherché **(Thévenot** et al., **2007).**

II.6. Les métaux lourds étudiés

II.6.1. Plomb

- **Définition et propriétés chimique**

Le plomb Pb est un métal mou, bleuâtre à gris-argent. Il fond à 327 °C, il possède une forte densité et une ductilité élevée, est un métal de numéro atomique 82. Il se présente principalement comme un mélange de trois isotopes Pb_{206}, Pb_{207} et Pb_{208} **(Cossa** et al., **1992).** Il n'est pratiquement pas attaqué par les acides chlorhydrique et sulfurique dilués.

L'acide sulfurique concentré et chaud donne du sulfate de plomb avec dégagement d'anhydride sulfureux. Le plomb se dissout dans l'acide nitrique, même à froid, en fournissant du nitrate de plomb et des vapeurs nitreuses. Par ailleurs, la solubilité du plomb dans l'eau n'est négligeable et peut être à l'origine de la toxicité de certaines eaux de boisson **(Viala, 2005).**

Le plomb est un élément très réactif dans l'environnement. L'atmosphère est son principal vecteur vers les océans. La production mondiale de plomb s'est accrue considérablement depuis 1945 pour se stabiliser à environ $3,4 \times 10^9$ kg/an depuis une vingtaine d'années **(Cossa** et al., **1992).** Il n'y en a que 0.0018% dans la croûte terrestre ; il est donc plus rare que par exemple le lithium, le nickel, le rubidium, le strontium, le cérium ou le tungstène. Il possède une densité élevée (11,34 g/cm^3) et un point de fusion bas **(Bliefert & Perraud, 2009).** Ainsi est un élément naturellement présent dans les eaux douces naturelles, superficielles et souterraines à l'état de traces, mais ce n'est pas un oligoélément à effet bénéfique. Il doit toujours être considéré comme un élément toxique **(Isnard, 1994).**

Cependant le plomb est universellement connu et a beaucoup d'application. Il possède une couche protectrice d'oxyde de plomb qui le protège contre la corrosion. Il peut facilement être extrait de ses minerais **(Bliefert & Perraud, 2001).**

- **Utilisation**

La principale application industrielle du plomb est la fabrication de batteries d'accumulateurs. À cause de ses propriétés mécaniques, le plomb a été ou est actuellement utilisé pour la fabrication de tuyaux d'évacuation (et autrefois, d'adduction) d'eau, celle

d'éléments de couverture de toits, de terrasses, de balcons, pour l'isolation contre le bruit et les vibrations, la protection de câbles, de fils d'acier ou de lignes téléphoniques. En alliage avec d'autres métaux, il permet de produire des fils et des bâtons de soudure, des caractères d'imprimerie, des bronzes à ciseler, des projectiles de munitions (le trinitrorésorcinate de plomb est également utilisé comme amorce de munition). La capacité qu'a le plomb d'absorber les rayonnements X et gamma trouve une application dans la production de matériels de radioprotection. Divers oxydes et sels de plomb sont (ou ont été) employés pour la production de peintures, d'encres, d'émaux, de matières plastiques, de colorants capillaires. Le plomb est également utilisé en verrerie, notamment pour la production de cristal. Certains sels organiques de plomb entrent dans la composition de lubrifiants **(Garnier, 2005),** tandis qu'il est utilisé comme antidétonant dans les moteurs à essence **(Reichl, 2004).**

➢ **Le plomb dans les milieux aquatiques**

Dans les écosystèmes aquatiques marins, le plomb d'origine est introduit par érosion alors que celui provenant des pollutions y est amené par ruissèlement à la surface de zones contaminées et surtout par dépôt de particules atmosphériques. Le plomb y est largement associé aux matières organiques de la fraction particulière. Il passe ensuite dans les réseaux trophiques, les microorganismes et les plantes ayant tendance à accumuler le plomb. C'est également le cas des organismes benthiques.

En milieu marin, la plus grande part du plomb est apportée par dépôt d'aérosols atmosphériques à l'exception des zones littorales, en particulier estuariennes, où l'apport d'eaux continentales polluées peut être important **(Ramade, 2000).**

Bien qu'en milieu océanique, la majorité du plomb soit sous forme dissoute, la fixation de ce métal sur les particules organiques suivie de leur absorption dans les sédiments, ainsi que leur incorporation à la biomasse qui se sédimente également quand les organismes meurent, fait que l'océan constitue un puits pour le plomb qu'il soit d'origine naturelles ou anthropogène **(Ramade, 1998).**

➢ **Cycle et sources naturelles et anthropiques**

Les émissions de plomb dans les milieux aquatiques peuvent être d'origine naturelle, soit d'origine anthropique **(Demayo** et al., **1982).**

❖ **Origine naturelle**

Le plomb se trouve à l'état naturel comme constituant de l'écorce terrestre à raison d'environ 13 à 16 mg/Kg. Il est très rare à l'état de métal pur natif, mais il est très répandu à l'état de sels de plomb. Les principaux sels de plomb existant à l'état naturel sont des sulfures,

des arséniosulfures et des antomoniosulfures, des halogénures, des oxyhalogénures, des oxydes, des carbonates, des silicates.

Au voisinage des gisements de minerais plombières les teneurs en plomb de l'écorces terrestre peuvent être beaucoup plus élevées. Les principaux minerais de plomb dont les gisements sont exploités sont la galène (sulfures de plomb PbS) et deux de ses produits d'altération, la cérusite (carbonate de plomb $pbCO_3$) et l'anglésite (sulfate de plomb $PbSO_4$). **(Morlot, 1996)**

❖ **Origine anthropique**

Les fonderies de minerais de plomb posent de sérieux problèmes de pollution locale sur les eaux. La zone d'influence d'une pollution par une fonderie de minerai de plomb s'étend **(Demayo** et al., **1982).**

➢ **Propriétés biologiques et toxicité**

Les doses létales du plomb, sous la forme de sel minéral, sont souvent supérieures à sa limite de solubilité dans l'eau de mer, c'est à dire 4 mg/l. Le plomb inorganique peut donc être considéré comme toxique (concentration létale de 1 à 10 mg/l) ou modérément toxique (concentration létale de 10 à 100 mg/l).

Les teneurs létales en plomb tétralkylé sont en revanche beaucoup plus faibles: les CL_{50} 96 heures sont en effet généralement inférieures à 1 mg/l, c'est à dire que cette forme va de très toxique à extrêmement toxique. Des effets sur la croissance de certaines espèces phytoplanctoniques ont été enregistrés à partir de 0,5 µg/l. Les invertébrés marins aux stades embryonnaires sont plus sensibles que les adultes **(Marchand & Kantin, 1997).**

II.6.2. Cadmium

➢ **Définition et propriétés chimique**

Le cadmium Cd appartient à la colonne 12 de la classification périodique comme le zinc et mercure, ce qui leur confère un certain nombre de propriétés communes. Comme ceux du zinc, ses composés stables sont divalents. Il forme des complexes stables avec certains composés organique (cyanures, amines,...). Cependant, contrairement au mercure, il ne forme pas de liaison stable avec le carbone. Il n'existe pas de minéral pur de cadmium à l'état naturel. On le trouve toujours associé aux minerais de zinc et de plomb **(Dange, 2002).** Le cadmium stable est présent à l'état naturel dans l'écorce terrestre aux concentrations moyennes comprises entre 0.1 et 1 mg /kg **(Das** et al., **1997).** Les teneurs naturelles de cet élément varient peu dans la plupart des roches : de 0.05 à 0.3 mg/kg **(Bourrelier & Berthelin, 1998).** Le Cd n'est pas essentiel au développement des organismes animaux ou végétaux et

ne participe pas au métabolisme cellulaire. En revanche ses propriétés physique et chimique proche de celles du calcium, lui permettent de traverser les barrières biologiques et de s'accumuler dans les tissus **(Das** et al., **1997).**

➢ **Utilisation**

Le Cd est utilisé en métallurgie comme matériau et recouvrement protecteur, il est également employé dans les pigments, les batteries alcalines, les détecteurs photographiques, les stabilisateurs pour plastique; c'est un sous produit de l'industrie du zinc **(Léonard, 1990).**

Aujourd'hui environ 60% de la production de cadmium sont utilisés dans les alliages comme anticorrosifs **(Reichl, 2004).**

Ses principaux composés minéraux sont l'oxyde, le chlorure, le bromure, le nitrate, le cyanure, le sulfure, le séléniure, etc. Ce sont des stabilisants de matières plastiques, des pigments (pour peintures, encres, verres, émaux). Ils servent à la fabrication de bâtons de soudure, de fusible, de cellules photoélectriques, de semi-conducteurs, de substances luminescentes comme la télévision **(Viala, 2005).**

➢ **Le cadmium dans les milieux aquatiques**

Le Cd est un élément rencontré dans les milieux aquatique sous diverses formes physiques (dissoutes, colloïdes, particulaires) et chimique (minérale ou organique). En solution ils se trouvent principalement sous la forme de cations, à l'état d'oxydation +2. **(Casas, 2005).**

Un ensemble de variables physicochimiques du milieu (salinité, pH, potentiel redox, caractéristiques sédiment logiques, nature géochimique des particules, concentration en chlorures) gouvernent les transformations du cadmium dans l'environnement **(Chiffoleau,2001).** La distinction entre les trois formes dissoutes, colloïdales et particulaires se fait par filtration et ultrafiltration, dont les seuils sont fixés arbitrairement en fonction de leur taille:

- **Les formes dissoutes** (< 1 nm) de cet élément en milieu aquatique sont des espèces libres (Cd^{2+}) et formées par des associations (complexion) de cadmium avec des composés (ligands ou complexant) minéraux ou organiques. L'ion libre du cadmium se trouve majoritairement dans le milieu. Ainsi, à pH=8, la quasi-totalité du cadmium est présent sous forme Cd^{2+}. Plus la salinité augmente, plus la concentration en Cd^{2+} diminue. Pour des pH supérieurs à 8, le cadmium précipite avec les carbonates. En zone côtière, lors du mélange des eaux douces avec l'eau de mer, le cadmium forme des complexes très stables avec les chlorures: les chloro-complexes ($CdCl_2$, $CdCl^+$, $CdCl^{3-}$ et $CdCl_4^{2-}$) Pour des salinités faibles, c'est l'espèce

$CdCl^+$ qui domine, alors qu'en milieu marin, c'est $CdCl_2$ qui est majoritaire **(Cossa et al., 1992).**

- **Les formes colloïdales** (de 450 à 1 nm) lorsqu'il se fixe à des oxydes de fer, de manganèse, des hydroxydes, des carbonates, des argiles ou de la matière organique colloïdale.

- **Les formes particulaires** (> 0,45 µm) se font par intégration du cadmium dans la structure cristalline de minéraux détritiques (bruit de fond géochimique), par liaison à une fraction d'origine organique (carbonates, restes d'organismes, pelotes fécales), par précipitation avec différents fractions minérales (carbonates, phosphates, oxydes et hydroxydes de fer ou de manganèse, sulfures) et par adsorption sur des phases de différentes natures (argiles, matière organique, oxydes et hydroxydes de fer et de manganèse). **(Gonzalez et al., 1999).**

➢ **Cycle et sources naturelles et anthropiques**

Le cadmium rejeté dans l'atmosphère provient de sources naturelles et anthropiques. Le cadmium présent dans la croûte terrestre peut être dispersé dans l'air par entraînement de particules provenant du sol et par les éruptions volcaniques. Cependant, les activités industrielles telles que le raffinage des métaux non ferreux, la combustion du charbon et des produits pétroliers, les incinérateurs d'ordures ménagères et la métallurgie de l'acier constituent les principales sources de rejet atmosphérique. Dans l'eau, le cadmium provient de l'érosion naturelle, du lessivage des sols (engrais phosphatés) ainsi que des décharges industrielles et du traitement des effluents industriels et des mines **(Casas, 2005).**

➢ **Propriétés biologiques et toxicité**

Selon nos connaissances actuelles, le cadmium n'est pas un élément essentiel. À travers la chaîne alimentaire, il s'accumule dans les plantes et les animaux ainsi que dans le corps humain, dont il ne peut être que partiellement désorbé **(Bliefert & Perraud, 2009).**

Le cadmium présente des risques chez le consommateur. Même à de faibles concentrations, il tend s'accumuler dans le cortex rénal sur de très longues périodes (50 ans) où il entraîne une perte anormale de protéines par les urines (protéinurie) et provoque des dysfonctionnements urinaires chez les personnes âgées. Chez l'homme, le phénomène de toxicité aiguë est connu depuis 1950 sous le nom de syndrome d'Itai-Itai défini par l'association d'une insuffisance rénale avec ostéoporose (déminéralisation et fragilisation des os) et ostéomalacie (déminéralisation et déformation des os). Son nom provient des cris poussés par les malades, riziculteurs âgés de 40 à 60 ans, du bassin de la rivière Jintsu au Japon, intoxiqués par l'eau de boisson et la consommation de riz contaminés par les rejets d'une usine de métaux non ferreux.

Le JECFA (Joint Expert Comite for Food Additives) comité mixte FAO/OMS, a recommandé chez l'homme une dose hebdomadaire tolérable (DHT) de 7 µg de cadmium par kilogramme de poids corporel et par semaine. Il faut noter que, outre la boisson et la nourriture, le tabagisme est une source importante de cadmium notée dans toutes les études épidémiologiques. Cependant, il ne présente pas de toxicité aiguë pour les organismes marins à des concentrations susceptibles d'être rencontrées dans le milieu. Au niveau sublétal1, des concentrations de 0,05 à 1,2 µg/l peuvent provoquer des effets physiologiques (anomalies dans le développement embryonnaire et larvaire chez mollusques bivalves) et des inhibitions de croissance **(Chiffoleau, 2001).**

Chapitre III:

Les biomarqueurs

III.1. Notions et concepts

Les biomarqueurs définis comme des changements observables et/ou mesurables au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, révélant l'exposition présent ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant, sont réputés comme des indicateurs précoces et sensibles de la dégradation de la santé des organismes **(Lagadic** et al., **1997).**

Ils sont définis selon **(Amiard & Amiard-Triquet, 2008),** comme toute réponse biologique à un contaminant chimique environnemental à un niveau infra-individuel, mesuré dans un organisme ou dans ses produits (urine, fèces, poils, plumes...), indiquant un changement par rapport à l'état normal qui ne peut être détecté chez l'organisme sain.

III.2. Intérêts des biomarqueurs

L'approche « biomarqueur » peut être illustrée par une relation entre l'état de santé d'un organisme et sa réponse à des concentrations croissantes de contaminants dans son environnement **(Olivier, 2005).**

Différents biomarqueurs peuvent être utilisés tout au long de ce continuum pour évaluer l'état de santé des organismes. Le développement de leur utilisation comme outil de surveillance et d'évaluation de l'environnement est étroitement lié à la connaissance des mécanismes moléculaires des processus toxiques chez différentes espèces, animales ou végétales, appartenant aux différents écosystèmes **(Olivier, 2005).**

Un des avantages de l'approche biologique est sa capacité de prévention : l'étude de marqueurs biologiques de pollution permet de détecter de manière précoce, au niveau cellulaire, l'impact des polluants sur les organismes, afin de prévenir une éventuelle détérioration des écosystèmes. Cependant, c'est un outil qui doit être manipulé avec précaution car il nécessite une parfaite connaissance des facteurs biotiques et abiotiques du milieu ainsi que les fluctuations naturelles du biomarqueur lui-même. Ces connaissances permettent de se préserver d'une confusion possible entre les variations naturelles et les perturbations causées par les xénobiotiques **(Olivier, 2005).**

III.3. Les différents types de biomarqueurs

Il est classique, en écotoxicologie de distinguer trois types de biomarqueurs : les biomarqueurs d'exposition à un xénobiotique, les biomarqueurs d'effet d'exposition et les biomarqueurs de sensibilité aux effets **(Lagadic** et al., **1997).**

a. Les biomarqueurs d'exposition

Ces biomarqueurs indiquent que le polluant présent dans le milieu a pénétré dans l'organisme. Généralement, les biomarqueurs d'exposition sont le résultat de l'interaction du polluant avec des molécules biologiques dans des tissus et/ou dans des liquides corporels. Ainsi, par exemple, la mesure de la quantité de métabolites spécifiques de la conjugaison au glutathion a déjà été utilisée comme biomarqueurs d'exposition aux polluants lors d'études chez l'homme **(Lagadic** et al., **1997).**

De la même manière, la formation d'adduits à l'ADN est couramment utilisée chez l'homme ou chez l'animal **(Van der Oost** et al., **2003)** comme biomarqueur d'exposition à des molécules cancérigènes ou génotoxiques, et il a été suggéré qu'elle pourrait jouer un rôle similaire chez les invertébrés aquatiques exposés aux polluant organiques **(Livingstone, 1993).**

Dans ce cas leur suivi consiste en la détection au sein d'un individu de métabolites issues de son interaction avec certaines biomolécules ou cellules cibles. Les biomarqueurs d'exposition peuvent également prendre la forme d'activité ou de quantités anormales d'enzymes telles que celles impliquées dans les activités de biotransformation. En effet, certaines enzymes sont capables d'être induites ou activées par les polluants, cette induction pouvant revêtir un caractère plus ou moins spécifique d'un type de polluant donné **(Livingstone, 2001).**

b. Les biomarqueurs d'effet

Ils permettent de montrer que le xénobiotique est entré dans l'organisme et qu'après avoir été distribué entre les différents tissus, il a exercé un effet, toxique ou non, sur une cible critique. Certains biomarqueurs peuvent être spécifiques d'un groupe taxonomique particulier ; d'autres peuvent être appliqués à tous les organismes (protéines de stress).

La spécificité des biomarqueurs dépend aussi de leur distribution tissulaire dans l'organisme et de la nature et des propriétés des composés toxiques en question **(Lagadic** et al., **1997).**

Les indices généraux de stress, dits «non-spécifiques» (changement de poids de l'organisme) décrivent les effets provoqués par un grand nombre de facteurs de stress aussi bien des polluants que des facteurs physico-chimiques et biologiques naturels. Ils apportent donc des informations sur l'impact global de changements environnementaux **(Lagadic** et al., **1997).**

c. Les biomarqueurs de sensibilité aux effets

Indiquent quant à eux la capacité inhérente ou acquise d'un organisme à répondre au stress induit par l'exposition à un xénobiotique, cette catégorie de biomarqueurs peut donc notamment inclure des facteurs génétiques **(Lagadic** et al., **1994).**

Néanmoins, malgré l'intérêt croissant suscité par le phénomène de variation d'origine génétique de la réponse à la contamination par les polluants, les études incluant le suivi de ce type de biomarqueurs sont rares. Les facteurs impliqués sont en effet très complexes tant au niveau de la multiplicité des nuisances rencontrées en milieu environnemental que de la multiplicité des voies métaboliques et des mécanismes de réponse. Par contre, leur intérêt principal pourra résider dans leur capacité à fournir un éclairage nouveau sur l'interprétation collectif des biomarqueurs d'exposition et d'effet, ce qui encourage leur développement **(Lagadic** et al., **1994).**

III.4. Les biomarqueurs chez les crevettes

Différents paramètres biochimiques ont été testés chez les crevettes pour leur sensibilité vis-à-vis de différentes catégories de stresseurs environnementaux ainsi que pour l'adéquation de leurs caractéristiques avec celles demandées aux outils d'évaluation, qu'il s'agisse de biomarqueurs d'exposition ou d'effet **(Van der Oost** et al., **2003).**

Il est donc possible d'analyser l'impact d'agents toxiques chez les crevettes par le biais de différents biomarqueurs d'exposition et d'effet. Parmi ceux-ci peuvent notamment être cités les protéines de stress, les métallothionéines et les marqueurs de stress oxydant, de neurotoxicité et les modifications de paramètres physiologiques et anatomo-morphologiques **(Van der Oost** et al., **2003).**

III.4.1. Etude du stress oxydant

Pour définir le stress oxydant il faut avant tout définir ce que sont les radicaux libres **(Januel, 2003).**

III.4.1.1. Définition des radicaux libres

Un radical libre se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécules possédant un électron non apparié (célibataire) sur l'orbitale externe. Cette caractéristique lui confère une réactivité importante : les radicaux libres réagissent avec des molécules plus stables pour capter ou céder leurs électrons, créant ainsi de nouveaux radicaux en initiant des réactions en cascade **(Januel, 2003).**

L'appellation ROS inclut les radicaux libres de l'oxygène : anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), radical hydroxyle ($^{\cdot}OH$) mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) **(Garait, 2006) (Figure 3).**

Les radicaux libres ayant une durée de vie très limitée, de l'ordre de microseconde ; ils se forment de façon irréversible en parallèle au métabolisme énergétique et par une multitude de voies. La production excessive de ces radicaux libres aboutit à ce qu'on appelle stress oxydant **(Aurousseau, 2002).**

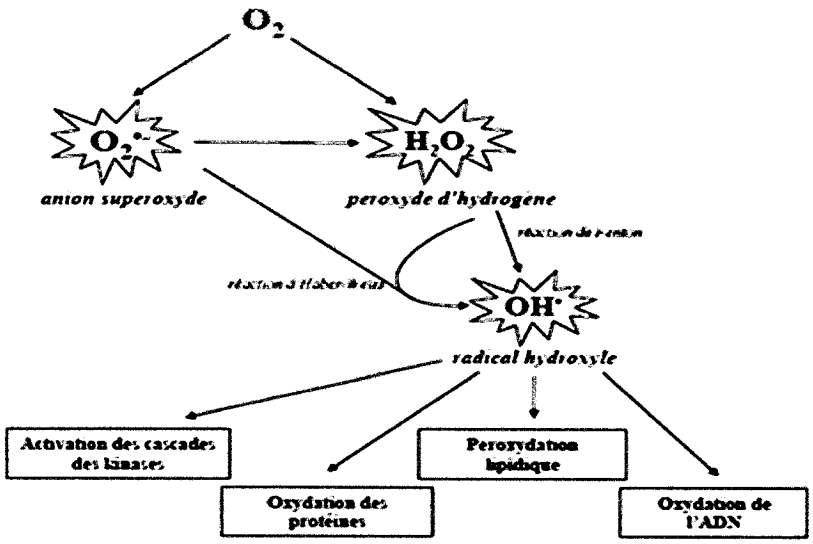


Figure 3 : Schéma des différentes formes de ROS **(Garait, 2006).**

III.4.1.2. Source de ROS dans l'eau de mer

Dans les systèmes marins, l'absorption des radiations solaires, et spécialement des UV, par la matière organique dissoute dans l'eau, entraîne la production de divers composés réactifs tels que les ROS. Parmi ces ROS, dans l'eau de mer, le peroxyde d'hydrogène a la durée de vie la plus longue et montre les concentrations les plus élevées. Ce dernier a de plus la capacité de diffuser au travers des membranes cellulaires **(Castex, 2009).**

III.4.1.3. Définition du stress oxydant

Dans des conditions normales il existe un équilibre entre la production des radicaux libres et les défenses anti-oxydantes. Lorsque un déséquilibre survient, soit une production des radicaux libres augmentée par apport aux capacités anti-oxydantes intactes, soit un état déficient de ces derniers, soit ces deux situations cumulées, alors les radicaux libres vont immédiatement réagir et altérer les molécules de la cellule avec des conséquences qui peuvent être dramatiques ; cette situation définit «le stress oxydant» **(Aurousseau, 2002).**

III.4.1.4. Le stress oxydant chez les organismes marins

Les organismes marins sont exposés à une large gamme de facteurs environnementaux variant spatialement et temporellement. La plupart des organismes ont développé une certaine capacité à s'adapter à ces fluctuations. Ainsi les défenses antioxydantes des animaux peuvent s'adapter aux niveaux de production de ROS induits par ces fluctuations environnementales. Il n'est alors pas surprenant d'observer des variations saisonnières des activités antioxydantes chez nombre d'animaux marins **(Castex, 2009).**

La rupture de l'équilibre entre pro- et antioxydants chez un organisme peut avoir de multiples origines. Le stress oxydant est en effet une composante importante de la réponse des organismes marins aux changements, parfois brusques, des conditions de leur environnement (température, salinité, pH, composition minérale, pollution, radiations UV) ou aux infections par des pathogènes (micro-organismes, parasites, virus...) **(Castex, 2009).**

III.4.1.5. Le système anti-oxydant cellulaire

Les principaux systèmes de défense antioxydante ont été mis en évidence chez les invertébrés aquatiques **(Winston & Di Giulio, 1991).**

À fin d'éliminer les espèces radicalaires et de limiter les dommages provoqués par le stress oxydant, les cellules disposent de trois mécanismes de défense antioxydante:

- ❖ L'élimination des espèces réactives et des catalyseurs de leur formation
- ❖ L'induction de synthèse d'antioxydants.
- ❖ L'augmentation de l'activité des systèmes de réparation et d'élimination des molécules endommagées **(Barillet, 2007).**

Une vue d'ensemble des mécanismes enzymatiques de défense qui contribuent à la détoxication des espèces réactives est proposée dans la figure. Ce schéma illustre la complexité des réactions qui coexistent au sein de la cellule lors d'un stress oxydant **(figure 4)**.

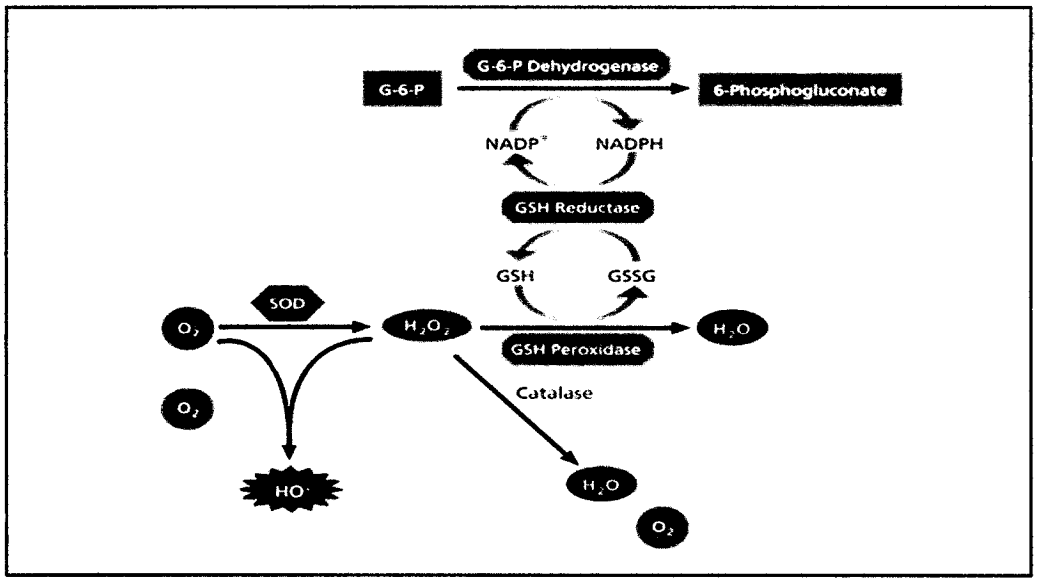


Figure 4 : Systèmes enzymatiques impliqués dans la défense antioxydante cellulaire **(Barillet, 2007).**

III.4.1.6. Intérêt du stress oxydant

L'intérêt major des paramètres antioxydants en tant que biomarqueurs réside dans le caractère aspécifique de leur réponse qui se traduit, en général dans une première phase par une augmentation de l'activité des enzymes impliquées. L'induction d'activité est en générale transitoire, relativement modérée et aspécifique. Ce phénomène traduit l'adaptation des organismes à un nouvel environnement **(Barillet, 2007).**

La validation de biomarqueurs de stress oxydant nécessite donc, pour un organisme et un type de polluant donné, d'identifier les organes cibles potentiels des toxiques et de caractériser la cinétique des réponses des paramètres biochimiques étudiées. De même, du fait de la complexité de système antioxydant et de leurs nombreuses interactions au sein du métabolisme cellulaire, il est généralement nécessaire de mesurer plusieurs paramètres de la défense antioxydant pour pouvoir interpréter l'effet des polluants sur cette dernière **(Barillet, 2007).**

III.4.2. Biomarqueurs de stress oxydant retenus pour notre étude

III.4.2.1. La catalase (CAT)

La catalase est un hémoprotéine tétramérique qui, avec un atome de fer par sous-unité, a une masse d'environ 240 KDa. C'est une enzyme à hème qui agit en synergie avec le superoxyde dismutase (SOD) puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire.

En effet le résultat de la dismutation de l'anion superoxyde, le H_2O_2 est convertit en H_2O et O_2 à l'aide de la catalase. Essentiellement localisée dans le foie et les globules rouges. Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène ; mais leur rôle reste très important surtout en présence d'ions ferreux en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier **(Goudable & Favier, 1997).**

Les catalases sont présentes dans tout le règne animal. Elles sont sensibles à certains contaminants inducteurs de stress oxydatif au niveau des membranes cellulaires, tel que les métaux lourds **(Labrot** et al., **1996).**

III.4.2.2. Le glutathion(GSH)

Le glutathion (L-gamma-glutammyl-L-cystènylglycine) est un tripiptide qui joue un rôle à divers niveaux dans la lutte contre le stress oxydant dont 90% existe sous la forme réduite GSH. Il est riche en souffre ce qui lui confère son rôle de piégeur de radicaux libres **(Gardès, 2000).**

Il existe des enzymes responsables de la synthèse, de la dégradation ou de recyclage du glutathion. Certaines de ces enzymes ont un rôle crucial pour la stabilisation de ce composé et le maintien de l'équilibre redox **(andreyev** et al., **2005).**

Le glutathion est le composé réducteur soufré le plus abondant dans le compartiment intracellulaire. En interceptant un radical hydroxyle, le glutathion génère un radical superoxyde qui est doit être pris en charge par une SOD, ce qui témoigne, là, encore, de l'importance de la coopération entre les différents systèmes de défense antiradicalaire **(Barillet, 2007).**

Outre son rôle essentiel d'agent réducteur, le glutathion intervient également à un second niveau dans la défense antiradicalaire par son implication dans les réactions de détoxication catalysées par la glutathion-S-transférase **(Barillet, 2007).** Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C, baissant ainsi les niveaux de peroxydation lipidique **(Fahn & Cohen, 1992).**

III.4.2.3. Le malondialdehyde (MDA)

Le malondialdehyde est un composé organique très réactif qui n'est généralement pas observé dans sa forme pure. Il existe principalement dans la forme Enol :

$$CH_2(CHO)_2 \longrightarrow HOCH{=}CH\text{-}CHO$$

Le MDA est une expression de la lipoperoxydation **(Pompella** et al., **1987).** L'utilisation de ce composé comme biomarqueur de stress oxydatif en général, et en peroxydation lipidique en particulier, est largement répondu. Le MDA est un produit des réactions de

peroxydation lipidique qui se forme lors de l'attaque des lipides polyinsaturés (de la famille n-6) par des espèces réactives de l'oxygène générées dans certaines conditions de stress, en particulier avec des contaminants organiques (HAP, PCB, pesticides) et inorganiques (métaux lourds). Les hydroperoxydes ainsi formés se décomposent en intermédiaires radicalaires et en aldéhydes dont un des représentants les plus réactifs est le malonedialdéhyde (MDA). Il est un agent alkylant puissant capable de réagir avec les macromolécules biologiques **(Aarab, 2004).**

Dans le foie, le (MDA) peut être transformé en CO_2 et H_2O par des métabolisations successives. Le (MDA) est convertit en acide malonique semi-aldéhyde par l'aldéhyde déshydrogénase mitochondriale. Le semi-aldéhyde malonique se décarboxyle spontanément en acétaldéhyde qui est oxydé par l'acétaldéhyde déshydrogénase en acétate qui est métabolisé. Une partie du (MDA) peut être convertie en malonate qui est convertie en malonyle COA et décarboxyle en acétyl COA **(Isabelle, 2005).**

III.4.2.4. L'acétylcholinestérase (AChE)

Il n'existe que peu de marqueurs de neurotoxicité, le marqueur le plus fréquemment utilisé dans ce cas est le suivi de l'activité de L'acétylcholinestérase, une enzyme clé du système nerveux **(Barillet, 2007).**

Concernant la structure de L'acétylcholinestérase chez les invertébrés, seules ont été identifiées les formes globulaires, sous forme de monomère, dimère et tétramère de l'unité catalytique. Ces différentes formes, selon leur localisation dans l''organismees, ont des comportements hydrophiles ou amphiphile. L'isoforme la plus commune chez la majorité des espèces est le dimère amphiphile lié par un ancrage glycophospholipidique à l'extérieur de la membrane cellulaire **(Lagadic** et al., **1997).**

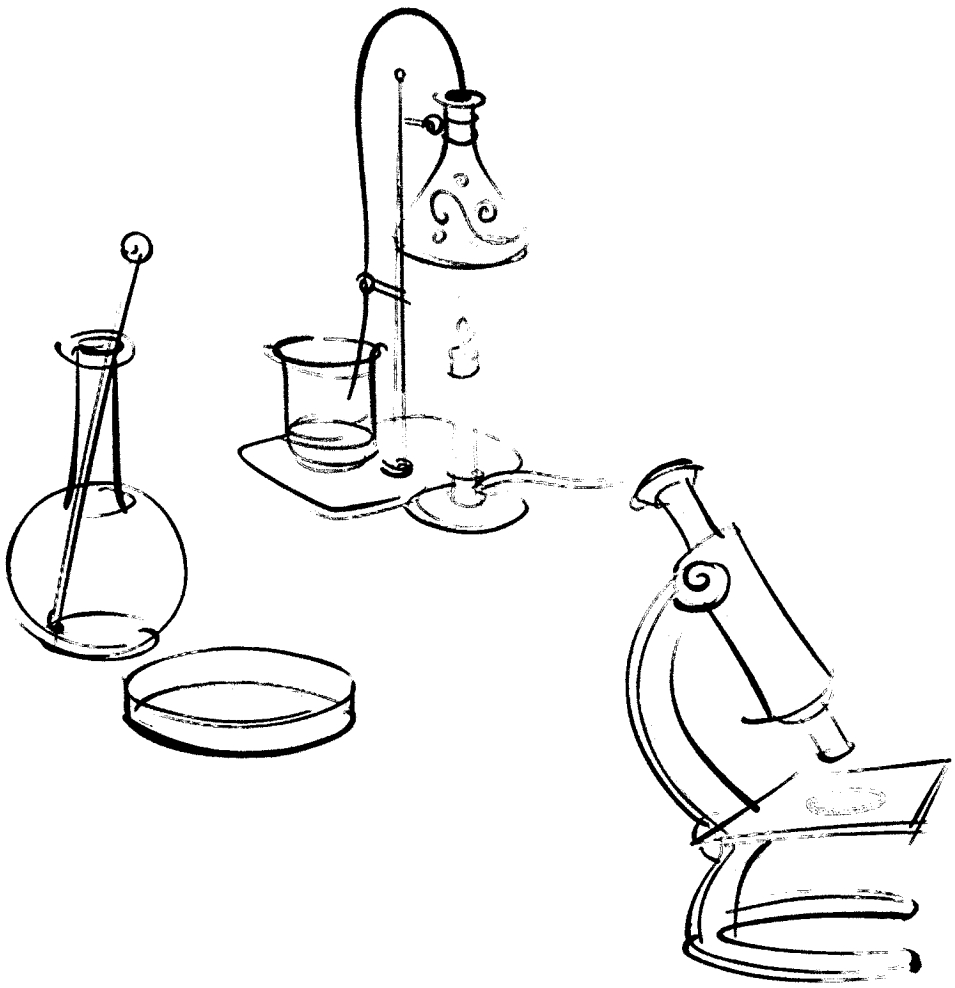
Dans les jonctions neuromusculaires et interneuronales, la terminaison nerveuse libère un médiateur chimique, l'acétylcholine, qui va permettre la transmission de l'influx nerveux. Lorsque l'acétylcholine est libérée des terminaisons nerveuses dans l'espèce synaptique, elle se fixe sur l'un des récepteur cholinergiques (nictonique ou muscarinique) qui se traduit sur la membrane post-synaptique (nerfs, muscles lisses ou glandes). L''interaction de l'acétylcholine avec le récepteur provoque une dépolarisation de la membrane post-synaptique, générant ainsi un potentiel d'action qui assure la transmission du signal nerveux.

L'acétylcholinestérase, en inactivant rapidement l'acétylcholine, permet au système de revenir immédiatement à son état de repos. Le rôle de L'acétylcholinestérase est d'hydrolyser rapidement l'acétylcholine à fin de stopper la stimulation du récepteur et, par conséquent, le transfert du signal par repolarisation de la membrane. L'acétylcholinestérase posséderait d'autres fonction non cholinergiques, encore mal connues **(Barillet, 2007).**

L'inhibition de l'AChE du cerveau constitue un marqueur fiable de toxicité chez les crevettes quand ce dernier est amené à être en contact avec des substances neurotoxiques.

Des études in vitro et in vivo menées sur des mammifères, des poissons ou des invertébrés ont relevé une inhibition de l'AChE par des métaux, parmi lesquels le cadmium **(Schmidt & Ibrahim, 1994).**

Partie expérimentale



Chapitre I: Matériel et méthodes

Ce travail a été mené sur des crevettes pêchées de deux régions différentes Jijel et Bejaïa afin de déterminer les concentrations du Plomb et du Cadmium dans la chair de ces crustacés et le stress oxydant induit par ces métaux lourds.

I.1. Présentation des régions

I.1.1. Présentation de la région de Jijel

La wilaya de Jijel située sur la côte Nord- Est de l'Algérie, elle est connue pour être une wilaya à vocation de pêche vu sa façade maritime qui s'étend sur un front de 120 km ainsi que ses caractéristiques naturelles et sa situation géographique, et par son climat méditerranéen caractérisé par l'alternance d'une saison sèche et d'une saison humide, avec un hiver doux et des précipitations annuelles en moyenne de 1200 mm/an qui en font l'une des régions les mieux arrosées du pays.

La baie de Jijel est en majeur partie formée de plage s'étendant sur une quarantaine de kilomètres à l'Est de Jijel et de falaise vers l'Ouest. En arrière, sont situées des marais d'eau saumâtre reliées à la mer directement ou indirectement par des rivières descendantes des montagnes **(Hemissi, 2008)**.

Les crevettes ont été recueillies dans deux positions (37° 0'37.42"N, 6° 0'23.97"E) et (37° 1'21.39"N, 6° 8'4.46"E), elles sont situées à la région d'Oued Zhour le long du golfe de Jijel. Elles sont situées à 50 km Est de la ville de Jijel **(Figure 5).**

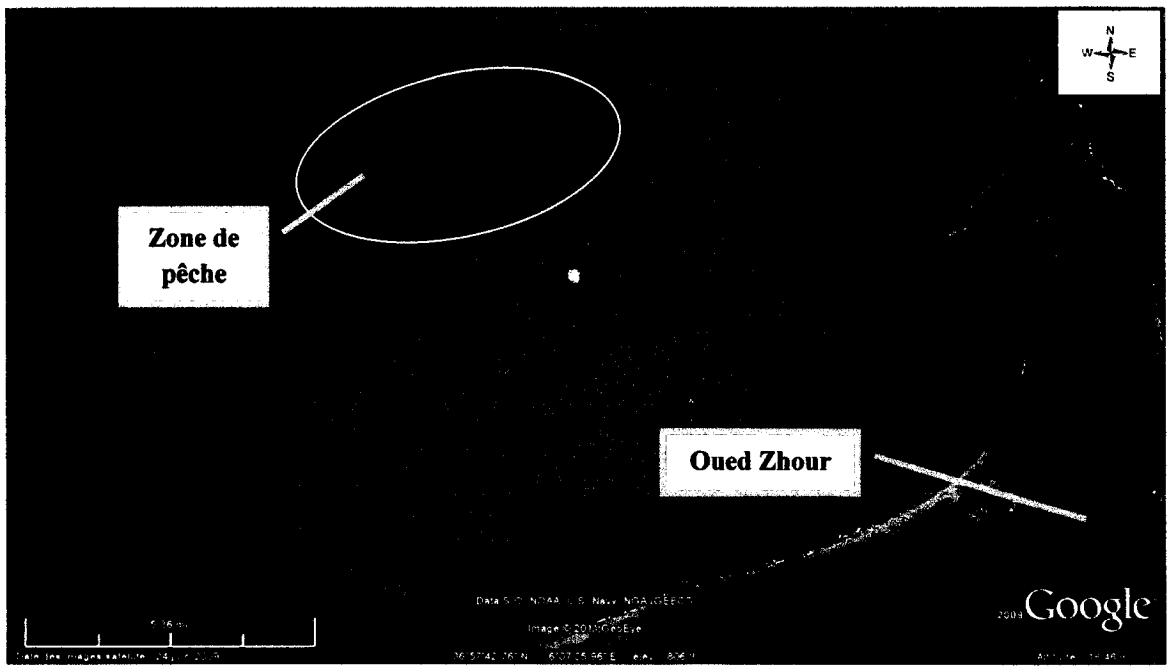


Figure 5 : Situation géographique de la zone d'échantillonnage de Jijel. **(Google earth)**

Ce travail a été mené sur des crevettes pêchées de deux régions différentes Jijel et Bejaïa afin de déterminer les concentrations du Plomb et du Cadmium dans la chair de ces crustacés et le stress oxydant induit par ces métaux lourds.

I.1. Présentation des régions

I.1.1. Présentation de la région de Jijel

La wilaya de Jijel située sur la côte Nord- Est de l'Algérie, elle est connue pour être une wilaya à vocation de pêche vu sa façade maritime qui s'étend sur un front de 120 km ainsi que ses caractéristiques naturelles et sa situation géographique, et par son climat méditerranéen caractérisé par l'alternance d'une saison sèche et d'une saison humide, avec un hiver doux et des précipitations annuelles en moyenne de 1200 mm/an qui en font l'une des régions les mieux arrosées du pays.

La baie de Jijel est en majeur partie formée de plage s'étendant sur une quarantaine de kilomètres à l'Est de Jijel et de falaise vers l'Ouest. En arrière, sont situées des marais d'eau saumâtre reliées à la mer directement ou indirectement par des rivières descendantes des montagnes **(Hemissi, 2008)**.

Les crevettes ont été recueillies dans deux positions (37° 0'37.42"N, 6° 0'23.97"E) et (37° 1'21.39"N, 6° 8'4.46"E), elles sont situées à la région d'Oued Zhour le long du golfe de Jijel. Elles sont situées à 50 km Est de la ville de Jijel **(Figure 5).**

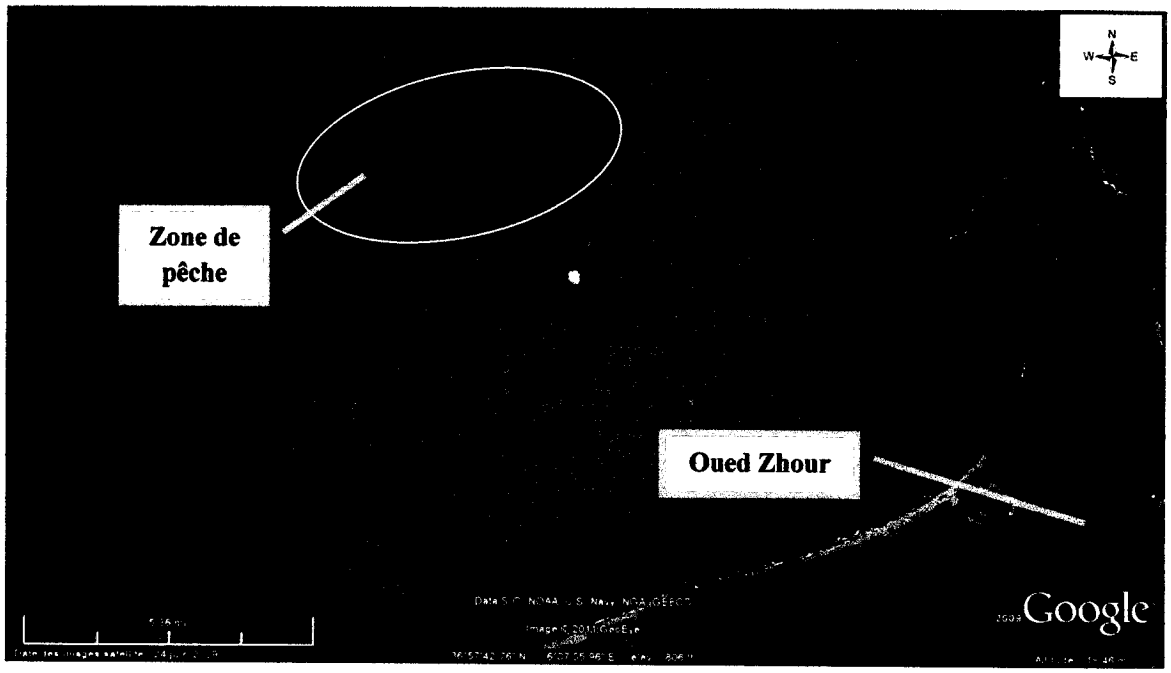


Figure 5 : Situation géographique de la zone d'échantillonnage de Jijel. **(Google earth)**

I.1.2. Présentation de la région de Bejaïa

La wilaya de Bejaïa s'étendant sur une superficie de 3.261,26 km², elle est limitée par la wilaya de Jijel à l'Est, La wilaya de Bouira et de Tizi-Ouzou à l'Ouest, la wilaya de Sétif et de Bordj Bou Arreridj au Sud. Bejaïa est caractérisée par la prédominance de Zones montagneuses. Elle se présente comme une masse montagneuse compacte et bosselée, traversée par le couloir formé de la vallée de la Soummam. Elle se caractérise par une façade maritime qui s'étend sur un front de 100 km.

Elle reçoit en moyenne 670 à 1000 mm de pluies par an. Les températures sont adoucies sur le littoral (Hiver doux, été chaud) un peu moins dans la vallée de la Soummam. La zone de montagne voit au contraire des gelées fréquentes **(Hemissi, 2008)**.

Les crevettes ont été recueillies dans deux positions (36°45'9.74"N, 5°13'30.87"E) et (36°45'28.47"N, 5°15'51.88"E), elles sont situées entre les axes des deux oueds : Oued Djamaa et Oued Zitouni à l'Est de la wilaya de Bejaïa **(Figure 6).**

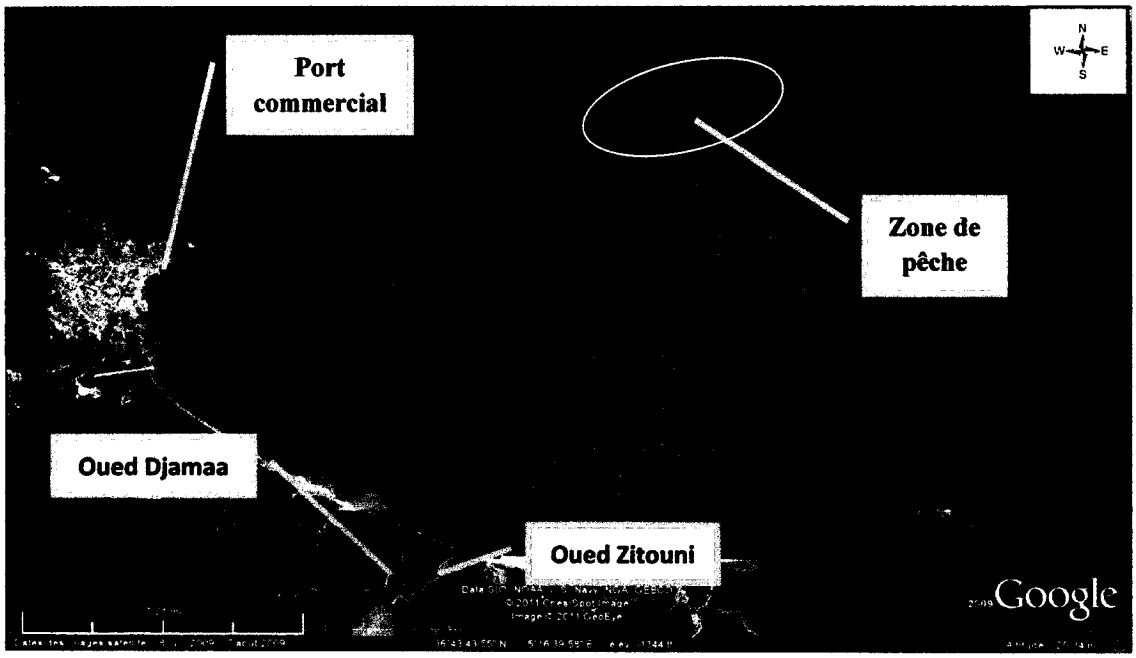


Figure 6 : Situation géographique de la zone d'échantillonnage de Bejaïa **(Google earth)**.

I.2. La collection des échantillons

I.2.1. L'eau de mer

Le prélèvement de l'eau a été effectué dans la zone de pêche des crevettes que ce soit à Jijel ou à Bejaïa à l'aide d'un flacon en plastique mené d'une corde de 30 m et d'un poids (ce montage a été fait au laboratoire pour remplacer le dispositif de prélèvement d'eau permettant d'ouvrir les flacons à un niveau déterminé et un point donné, malheureusement ce dispositif n'existe pas au niveau de notre laboratoire).

I.2.2. Les crevettes

Les crevettes ont été pêchées pendant la nuit à des profondeurs comprises entre 80 m et 120 m pour la zone de Jijel et entre 40 m et 85 m pour la zone de Bejaia pendant le mois d'avril et le début du mois de mai 2011. Quatre espèces de crevettes ont été pêchées à Jijel à savoir : *P. kerathurus*, *A. antennatus*, *P. longirostris* et *P. serratus*, et trois espèces ont été recueillies de Béjaia à savoir : *A. antennatus*, *P. longirostris* et *P. serratus*. Pour *P. kerathurusns*, cette espèce n'a pas été détectée avec les autres crevettes à Bejaïa. Selon le témoignage des pêcheurs et aussi selon les données de la direction de la pêche de Bejaïa. Les crevettes fraichement pêchées sont immédiatement transférées dans des glacières au laboratoire de notre département où différentes analyses sont effectuées selon le diagramme suivant :

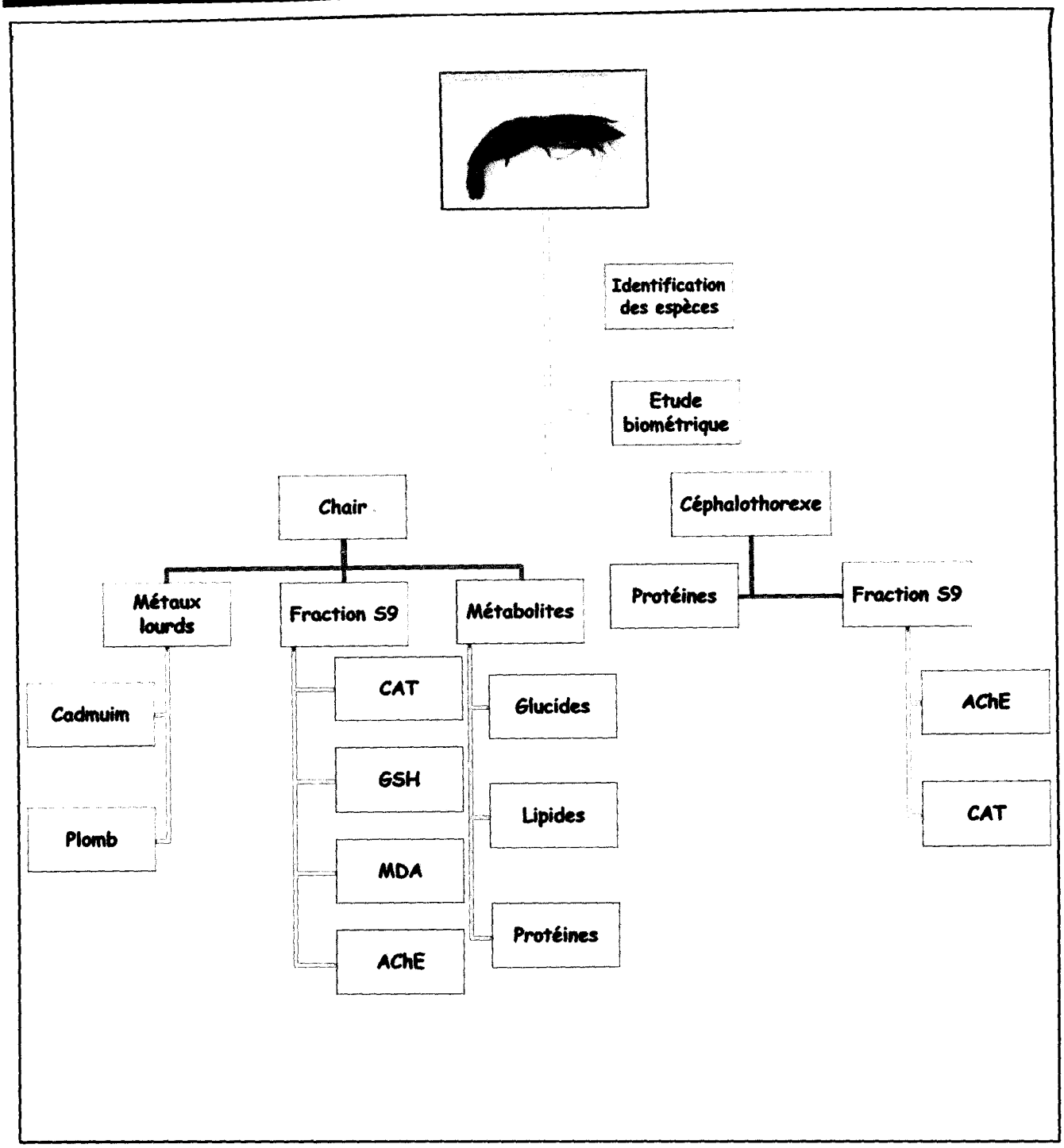


Figure 7 : Diagramme expliquant les différentes analyses effectuées sur les crevettes.

NB : La comparaison entre les crevettes des deux régions va se limiter aux trois espèces rencontrées dans les deux régions : *A. antennatus*, *P. longirostris* et *P. serratus* puisque *P. kerathurus* n'a pas été détectée à Bejaïa.

I.3. Identification des espèces et séparation des sexes

Les crevettes péchées sont examinées et identifiées selon des critères bien déterminés :

- La forme, la taille et la couleur du corps (présence de taches et leur couleur).
- Le développement de l'abdomen et son emplacement par rapport au céphalothorax.
- La couleur, la longueur, formes et nombre de dents de rostre.
- Présence ou non sur les segments abdominaux d'une carène et d'une dent.
- La forme et la longueur des antennes et des antennules.

La distinction des sexes repose surtout sur la taille, la couleur et l'observation de la partie ventrale de l'animal : chez les mâles au niveau de la première paire des pléopodes, les deux articules fusionnent pour former l'organe copulateur (le pétasma) alors que chez les femelles, ces deux articules sont séparées, et la zone entre la quatrième et la cinquième paire de périopodes est fermée constituant une petite poche appelée : poche thélycale ou thélycum qui reçoit les gamètes mâles.

I.4.Analyses effectuées

I.4.1. L'étude biométrique

Après l'identification des espèces et la séparation des sexes, l'étude biométrique a été réalisée sur des mâles et des femelles de *Penaeus kerathurus, Aristeus antennatus, Parapenaeus longirostris* et *Palaemon serratus.*

À l'aide d'une balance, chaque individu est pesé pour déterminer son poids total (PT). Nous avons utilisé un Ichtyomètre pour les mesures suivantes: la longueur totale (LT), la longueur céphalothoracique (LC), la longueur du rostre (LR), la longueur abdominale (LA), la longueur de l'uropode (LU), la longueur du telson (Ltel), la longueur du dernier segment (LDS) et un pied à coulisse pour mesurer la hauteur du corps (H) et la hauteur du premier segment (HPS).

I.4.2. Dosage des métabolites

I.4.2.1. Préparation des échantillons

Un fragment de la chair (0.1 à 0.5 g) est prélevé dans la partie abdominale de chaque individu mâle et femelle, après pesée, met dans des tubes eppendorfs additionné de 1ml de TCA (20%) puis étiquetés et conservés au congélateur en attendant les dosages.

I.4.2.2. 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 TCA (20%) sont broyés manuellement à l'aide d'un mortier. Le broyat est centrifugé à 5000 tours/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 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 de protéines totales **(Figure 8).**

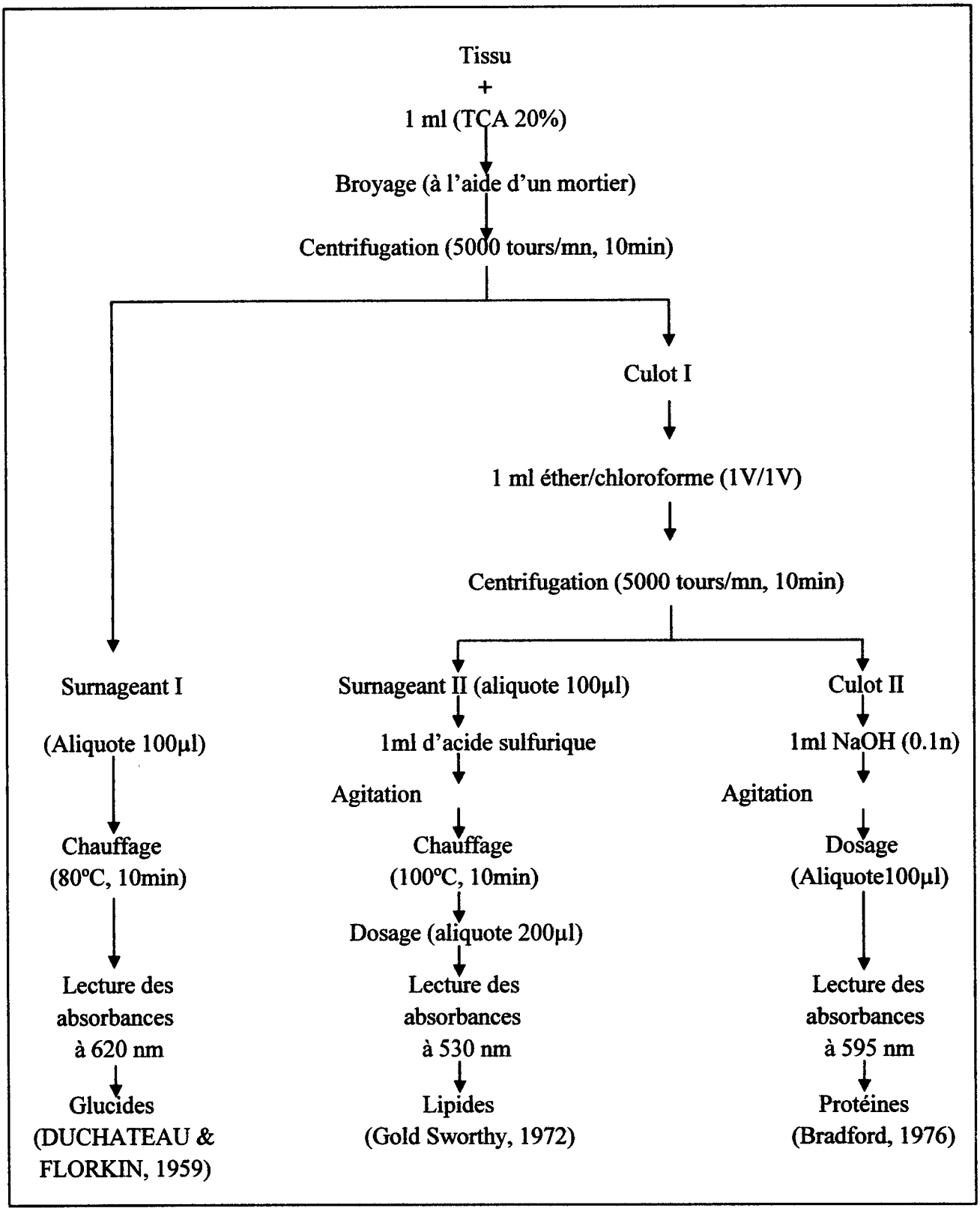


Figure 8 : Extraction des glucides, lipides et protéines (**Shibko** et al, **1966**).

Dosage des glucides

Le dosage des glucides a été réalisé selon la méthode de **(Duchateau & 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 utilise l'anthrone comme réactif **(annexe1-A),** les dérivés furfuraliques condensés à l'anthrone donnent des composés bleu-vert dont l'absorbance est mesurée à 620 nm **(Dauvillier, 1998),** en utilisant comme standard le glucose (2g/l) **(Tableau 1).** La courbe d'étalonnage a été réalisée à partir du tableau 1.

Tableau 1: 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 un aliquote de 100 µl d'extrait glucidique (surnageant I), additionné de 4 ml d'anthrone, chauffé au bain-marie à 80 °C pendant 10 minutes.

Dosage des lipides

La quantification des lipides a été faite selon la méthode de **(Galsworthy** et al., **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 lipides est préparée en utilisant de l'huile de tournesol qui contient plus de 99% de triglycériques ; 25 mg d'huile sont pesés dans un tube eppendorf, et repris dans 10 ml d'un mélange éther/chloroforme (1/1, V/V) **(Tableau 2).** La courbe d'étalonnage est réalisée à partir de ce tableau.

Tableau 2 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides

Tubes	blanc	2	3	4	5	6
Solution mère de lipide (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
Quantité des lipides (µg)	0	50	150	200	250	300

Un aliquote de 100 µl de l'extrait lipidique (surnageant II) a été additionné de 1 ml d'acide sulfurique concentré (98%). Après agitation, les tubes sont chauffés à 100 °C pendant 10 min, refroidis et 200 µl de chaque tube sont additionnées de 2,5 ml de vanilline **(annexe1-B)**. Après 30 min à l'obscurité, les densités optiques sont mesurées à l'aide du spectrophotomètre.

- **Dosage des protéines dans la chair**

La technique utilisée dans ce travail est celle décrite par **(Bradford, 1976),** c'est un dosage colorimétrique, basé sur le changement d'absorbance ; la mesure à 595 nm ; se manifestant par le changement de la couleur de bleu brillant de coomassie (BBC : G250) après liaison (complexassions) avec les acides aminés aromatiques (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 de protéines standards. Les résultats sont exprimés en équivalent-albumine (l'albumine de sérum de bœuf BSA 20 mg/1 ml) produit de référence servant à la standardisation **(tableau 03) (Dauvillier, 1998).** La courbe d'étalonnage est réalisée à partir de ce tableau.

Tableau 03 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.

Tubes	**1**	**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	500	1000	1500	2000	2500

Les protéines des échantillons ont été dosées dans un aliquote de 100 µl additionné de 4 ml de BBC **(annexe1-C)**. Après l'agitation, la lecture des absorbances a été effectuée à 595 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Les protéines ont été dosées dans le céphalothorax selon le même procédé afin de calculer les taux de la catalase et de l'acétylcholinestérase.

I.4.3. Analyse des métaux traces par spectrométrie d'absorption atomique (SAA)

La spectroscopie atomique s'applique à l'analyse quantitative et qualitative d'environ 70 éléments. Sa solubilité couvert un domaine qui s'étend de 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 spectroscopie d'absorption atomique 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 partie du rayonnement correspondant à des longueurs d'ondes bien définies sera absorbée. 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 rayonnement se situe 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 nécessaire pour faire passer l'échantillon à 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 convertit l'échantillon en un aérosol, qui est alimenté dans le brûleur. L'atomisation se produit dans la flamme qui est habituellement alimentée par de l'acétylène et du protoxyde d'azote (N_2O-C_2H_2) 3100 k, ou de l'air comprimé (air-C_2H_2) 2500 k **(OIML, 1991).**

Les solutions de référence (ou standard) sont préparées à l'aide de solutions pures achetées pour l'absorption atomique. 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 brûleur **(Schwedt, 1993).**

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

$$\mathbf{Abs = k\ L\ N_0}$$

Dont :

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

L : longueur du chemin optique dans l'atomiseur ;

N_0 : nombre d'atomes à l'état fondamental par unité de volume dans l'atomiseur.

L'appareil utilisé dans notre travail est du modèle AA-6200 (SHIMADZU CORPORATION) caractérisé par une limite de détection (concentration d'un élément qui donne un signal égal à trois fois 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 5).**

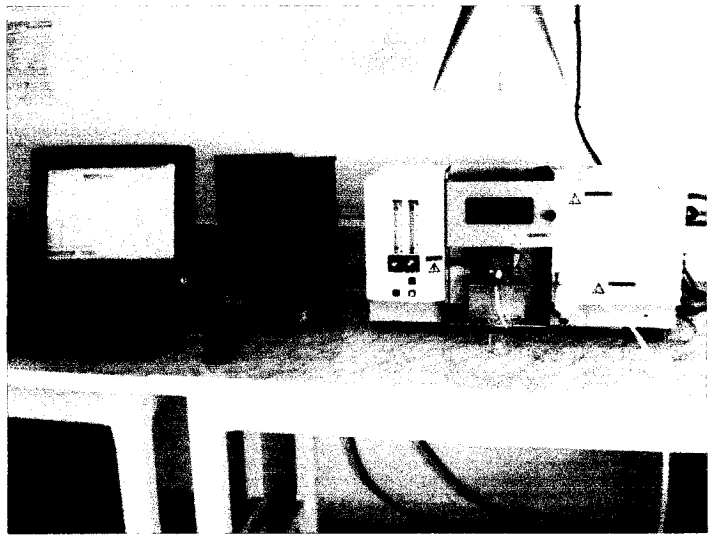


Photo 5 : spectrophotomètre d'absorption atomique

A. Dans l'eau de mer

Le stockage des échantillons sera possible après filtration sur membrane (0.45 µm) pour éviter la fixation des éléments à l'état de traces sur les particules solides ou la mise en solution d'éléments fixes sur ces particules. La conservation de l'échantillon est assurée par acidification à un pH=2 environ dans des flacons en verre ou en polyéthylène, Une température de 4 °C convient pour le stockage de courte durée (quelques heures à quelques jours) ; au-delà il est préférable d'avoir recours à la congélation **(Rodier, 2005).**

B. Dans la chair des crevettes

Les fragments de la chair prélevés et congelés auparavant sont décongelés puis portés à l'étuve à 105 °C pendant 48 heures pour les faire séchés totalement, la matière sèche 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/HNO_3, 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 gamme de l'extrait sec en poudre est additionné de 16 ml de l'eau régale puis porté à l'ébullition. 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 l'eau régale (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 achevée. 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 déminéralisée. Une deuxième filtration s'effectue sur membrane (pore de 4 à 5 µm), le filtrat final est conservé à froid (4 à 8 °C pendant 30 jours) 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 haute.

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).

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

Où :

1g : la masse de la prise d'essai

Vt_{ech} **:** volume total de l'échantillon = 25 ml

$Vt_{echacid}$ **:** volume total de l'échantillon après la digestion = 3 à 4 ml

I.4.4. Les biomarqueurs du stress oxydant

I.4.4.1. Extraction de la fraction «S9»

Les dosages enzymatiques (relatifs aux suivis de biomarqueurs du stress oxydant et de neurotoxicité) nécessitent que les tissus biologiques (chair et céphalothorax) 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 ml) et phénylméthanesulfonylfluoride (PMSF) 0,2 mM (2 µl).

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

Le broyage des tissus doit être réalisé directement dans un tube où il se trouve, 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 (15 min; 10000 trs/min; 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 analyse **(Barillet, 2007).**

I.4.4.2. Dosage de l'activité catalase (CAT) dans la chair et le céphalothorax

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus. Ce sont des enzymes tétramétrique à groupement hème. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en catalysant la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) toxique en eau et en oxygène **(Regoli & Principato, 1995).**

L'activité catalase (CAT) est mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre 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) pendant 1 minute, 200 µl de H_2O_2 (500 mM) sur 20 µl d'homogénat, à une température d'incubation de 25 °C. Les résultats sont exprimés en µmole d'H_2O_2 par minute dans un mg de protéines **(Tableau 4).**

Tableau 4 : Le protocole utilisé pour le dosage de l'activité catalase.

Solution \ **Tubes**	**Essai (µl)**	**Blanc (µl)**
Tampon phosphate (100 mM ; pH 7.5)	780	800
H_2O_2 (500 mM)	200	200
Homogénat	20	0

L'activité de la catalase décroit 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 délai durant 60 secondes de mesure. Le coefficient d'extinction est de 0.0040 $mM^{-1}.cm^{-1}$ et l'activité CAT est calculée par la formule suivante :

$$\textbf{Activité CAT (µmol/ min/ mg de prot)} = \frac{\Delta DO * 10}{(\varepsilon * L * X * 0.05)}$$

DO : densité optique.

L : longueur de la cuve utilisée.

X : la lecture des protéines.

ε : coefficient d'extinction = 0.0040 $mM^{-1}.cm^{-1}$.

I.4.4.3. Dosage du malondialdehyde (MDA) dans la chair

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

Le dosage est réalisé selon les étapes suivantes :

- ✓ 500 µl de surnageant sont additionnés à 2.5 ml de TCA (100 g/l).
- ✓ Chauffer au bain marie à 100 °C pendant 15 min.
- ✓ Refroidissement dans la glace.
- ✓ Centrifugation (10000 trs/min pendant 10 min).
- ✓ 2 ml de surnagent sont additionnés à 1 ml TBA (0.67 g/100 ml d'eau distillée ; ajouter 2 ml de NaOH (2N) à 98 ml de cette solution).
- ✓ Chauffer au bain marie à 100 °C pendant 15 min.
- ✓ Refroidissement dans la glace.
- ✓ Ajouter 1.5 ml de butanol.
- ✓ Après avoir agité au vortex le mélange, une dernière centrifugation (10000 trs/min pendant 10 min) est effectuée.
- ✓ Récupérer le surnageant constitué de butanol renfermant les complexes TBA-MDA (complexe rose).
- ✓ Faire la lecture des absorbances à une longueur d'onde de 532 nm.

Le taux du malondialdehyde est déterminé selon la formule suivante :

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

DO : la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat à 532 nm.

156 $mM^{-1}.cm^{-1}$: coefficient d'extinction molaire du TBA.

Volume total de la cuve : 1ml.

Volume de la prise d'essai (volume de l'homogénat) : 0.5 ml.

10^3 : unité de conversion en µM.

mg de protéines : taux de protéines en mg.

I.4.4.4. Dosage du glutathion (GSH) dans la chair

Le glutathion est dosé selon la méthode de **Weckberker & Cory (1988)** qui repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro 5-mercapturique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2 nitrobenzoique (réactif d'Ellman) par les groupements thiol (-SH) du glutathion.

Afin de protéger les groupements thiol du glutathion, l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (SSA) 0.25% (0.25 g de la SSA dans 100 ml d'eau distillée) ; 0.8 ml de l'homogénat sont additionnées à 0.2 ml d'acide sulfosalicylique.

Le mélange est agité et laissé pendant 15 min dans un bain de glace, puis centrifugé (1000 trs/min pendant 5 min). Le surnageant est utilisé pour la mesure de la concentration du glutathion selon les étapes suivantes :

- ✓ Prélever 0.5 ml du surnageant.
- ✓ Ajouter 1 ml du tampon Tris-EDTA (0.02M ; pH 9.6).
- ✓ Ajouter 0.025 ml de DTNB (0.01M).
- ✓ Laisser le mélange pendant 5 minutes à température ambiante.
- ✓ Mesurer la densité optique au spectrophotomètre à 412 nm.

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

$$\textbf{Taux du GSH (µM/mg de protéines)} = \frac{\textbf{DO} * 1 * 1.525}{13100 * 0.8 * 0.5 * \textbf{X mg de protéines}}$$

DO : densité optique.

1 : le volume total des solutions utilisée dans la déprotéinisation (0.2 ml ASS + 0.8 ml homogénat).

1.525 : le volume total des solutions utilisées dans la GSH (0.025 ml DTNB + 0.5 ml surnageant + 1 ml Tris-EDTA).

13100 : coefficient d'absorbance (concernant le groupement –SH à 412 nm).

0.8 : le volume de l'homogénat utilisé en ml.

0.5 : le volume de surnageant utilisé en ml.

X: taux de protéine en mg.

I.4.4.5. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) dans la chair et le céphalothorax

La méthode de dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) la plus courante Consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ASCh), dont l'hydrolyse catalysée libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. La quantité de thiocholine obtenue est proportionnelle à l'activité

enzymatique **(Ellmen et al, 1961)**, on la révèle à une méthode colorimétrique faisant intervenir un ion (le dithionbisnitrobenzoate du DTNB) qui se lie avec la thiocholine pour former un complexe de couleur jaune que l'on dose à 412 nm.

L'activité enzymatique de l'AChE est déterminée comme suit : 100 µl du surnageant sont additionnés à 100 µl de DTNB (0.1 M ; pH 7) et 1 ml du tampon Tris (0.1 M ; pH 7). Après 3 à 5 minutes de repos nécessaire pour épuiser la réaction spontanée, 100 µl du substrat acétylthiocholineiodide (sigma R) (118 mg ASCh dans 5 ml d'eau distillée sont ajoutés).

La lecture des densités optiques s'effectue à 412 nm toutes les 4 minutes pendant 20 minutes contre un blanc ou le surnageant a été remplacé par un volume équivalent du tampon phosphate (50 µl). L'activité spécifique de l'AChE est déterminée par la formule suivante :

$$\mathbf{X\ (U/mg\ de\ protéines)} = \frac{\mathbf{\Delta\ DO\ *\ Vt}}{\mathbf{1.36\ *\ Vs\ *\ prot}}$$

X : l'activité spécifique de l'AChE en µM/min/mg de protéines.

Δ DO: densité optique.

Vt: volume total des solutions (0.1ml du surnageant + 0.1 ml du DTNB + 1 ml de tris + 0.1 ml de substrat ASCh).

Vs : volume du surnageant (0.1 ml).

1.36 : coefficient d'extinction (concernant le DTNB à 412 nm).

NB : toutes les densités optiques ont été mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre du modèle V 630 JASCO caractérisé par :

- ✓ Un double faisceau.
- ✓ Détecteurs dephotodiodede silicium.
- ✓ Gamme de 190 à 1100 nm.
- ✓ Passe-bandefixede1,5 nm.
- ✓ Haute vitesse de numérisation allant jusqu'à 8000 nm/min.
- ✓ Livré avec SpectraManager Software.

I.5. Analyse statistique

I.5.1. Régression linéaire

La quantité des différents métabolites (protéine, lipides et glucides) dans les échantillons biologiques a été déterminée à partir d'une courbe de référence dont l'équation est de type : **y=ax+b.** Où : y : absorbance

x : quantité de protéines, lipides ou glucides.

b : coefficient.

I.5.2. 't' de student

La comparaison des valeurs enregistrées entre mâle et femelle de chaque espèce des différents paramètres étudiés : paramètres biométriques, teneurs en métabolites, métaux lourds et taux des enzymes dosées a été réalisée par le test t de student.

I.5.3. l'analyse de la variance à deux critères de classification

L'analyse de la variance à deux critères de classification a été utilisée pour étudier la différence entre les espèces et les deux régions.

I.5.4. Le seuil de signification

Le seuil de signification est représenté dans la figure 9.

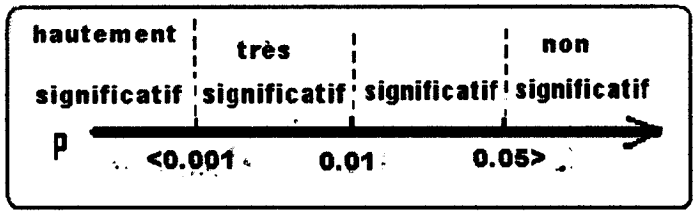


Figure 9 : Schéma représentatif du seuil de signification.

***** : comparaison entre les mâles et les femelles

a : comparaison entre les espèces

b : comparaison entre les deux régions

***,a,b** : différence significative.

****,aa,bb** : différence très significative.

*****,aaa,bbb :** différence hautement significative.

Chapitre II: Résultats et interprétations

II.1. Etude biométrique

II.1.1. La région de Jijel

II.1.1.1. Chez *Penaeus kerathurus*

La comparaison des valeurs moyennes des différents paramètres biométriques mesurés entre les mâles et les femelles par le test t de student révèle qu'il y a une différence significative ($P<0,05$) pour le poids total, la longueur de l'abdomen (LA), la longueur du dernier segment (LDS) et la Hauteur du corps (H), ainsi qu'une différence hautement significative ($p<0,001$) pour la longueur de céphalothorax (LC). **(Tableau 5, Figure 10).**

Tableau 5 : Paramètres biométriques mesurés chez les mâles et les femelles de *P. kerathurus* (m± s, n= 12-14, P: seuil de signification).

Paramètres	mâles (n=14)	Femelles (n=12)	p
Poids total (g)	31.97±6.587	45,55±5,99	0,015*
Longueur totale (cm)	17,9±1,328	19,8±2,165	0,131
Longueur du céphalothorax (cm)	6,62±0,772	6,866±1,026	0,007**
Longueur du rostre (cm)	3,68±0,576	3,8±0,754	0,413
Longueur de l'abdomen (cm)	11,1±0,681	13,033±1,285	0,047*
Longueur de l'uropode (cm)	3,06±0,207	3,533±0,404	0,077
Longueur du telson (cm)	2,42±0,192	2,6±0,458	0,291
Longueur du dernier segment (cm)	1,92±0,148	2,266±0,208	0,042*
Hauteur du corps (cm)	2,12±0,277	2,633±0,321	0,041*
Hauteur du deuxième segment (cm)	1,98±0,192	2,233±0,251	0,115

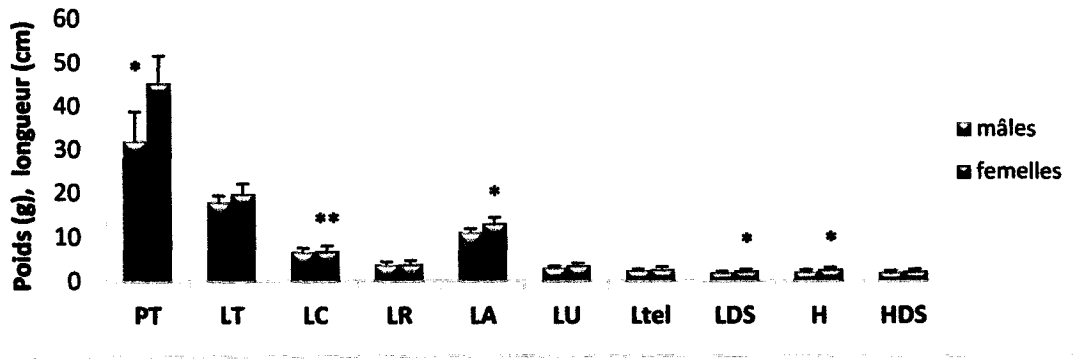


Figure 10 : Paramètres biométriques chez les mâles et les femelles de *P. kerathurus.* Poids total (PT) ; la longueur total (LT) ; la longueur céphalothoracique (LC) ; la longueur du rostre (LR) ; la longueur abdominale (LA) ; la longueur de l'uropode (LU) ; la longueur du telson (Ltel) ; la longueur du dernier segment (LDS) ; la hauteur du corps (H) et la hauteur du premier segment (HDS).

II.1.1.2. Chez *Aristeus antennatus*

La comparaison des valeurs moyennes des paramètres biométriques chez *A. antennatus* entre les mâles et les femelles révèle une différence hautement significative ($p<0,001$) au niveau de la plupart des paramètres mesurés, une différence très significative ($p<0,01$) au niveau de la longueur de l'uropode (LU), Longueur du dernier segment (LDS) et Hauteur du corps (H), ce qui prouve qu'il existe un dimorphisme sexuel net entre les deux sexes de *A. antennatus* **(Tableau 6, Figure 11).**

Tableau 6 : Paramètres biométriques mesurés chez les mâles et les femelles de *A. antennatus* (m ± s, n= 10-16, P: seuil de signification).

Paramètres	**mâles (n=10)**	**femelles (n=16)**	**p**
Poids total (g)	5,8275±0,497	16,544±4,296	0,0003***
Longueur totale (cm)	9,475±0,499	15,242±0,838	$8,53.10^{-8}$***
Longueur du céphalothorax (cm)	3,175±0,095	6,971±0,386	$2,25.10^{-8}$***
Longueur du rostre (cm)	1,125±0,095	3,671±0,095	$5,65.10^{-9}$***
Longueur de l'abdomen (cm)	6,625±0,095	8,314±0,384	$5,57.10^{-6}$***
Longueur de l'uropode (cm)	2,175±0,189	2,6±0,276	0,0083**
Longueur du telson (cm)	1,225±0,05	1,728±0,075	$1,63.10^{-7}$***
Longueur du dernier segment (cm)	1,225±0,095	1,457±0,078	0,0045**
Hauteur du corps (cm)	1,3±0,081	1,7±0,238	0,0018**
Hauteur du deuxième segment (cm)	0,85±0,057	1,314±0,186	0,0001***

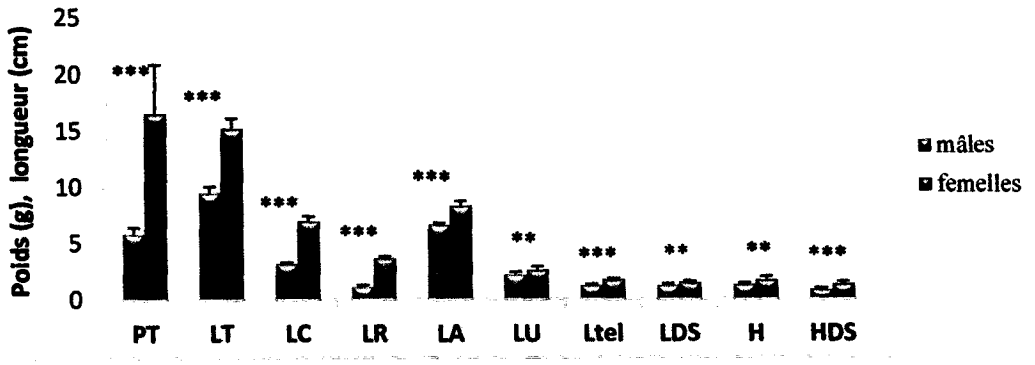


Figure 11: Paramètres biométriques chez les mâles et les femelles de *A. antennatus.* Poids total (PT) ; la longueur total (LT) ; la longueur céphalothoracique (LC) ; la longueur du rostre (LR) ; la longueur abdominale (LA) ; la longueur de l'uropode (LU) ; la longueur du telson (Ltel) ; la longueur du dernier segment (LDS) ; la hauteur du corps (H) et la hauteur du premier segment (HDS).

II.1.1.3. Chez *Parapenaeus longirostris*

Les résultats obtenus de la comparaison des valeurs moyennes des paramètres biométriques chez *P. longirostris* montrent qu'il y a des différences très et hautement significatives ($p<0,01$; $p<0,001$) dans tous les paramètres, excepté la longueur du telson (LTel), le dimorphisme sexuel est net aussi chez *P. longirostris* **(Tableau 7, Figure 12).**

Tableau 7 : Paramètres biométriques mesurés chez les mâles et les femelles de *P. longirostris* (m±s, n= 10-12, P: degré de signification).

Paramètres	mâles (n=10)	Femelles (n=12)	p
Poids total (g)	5,795±0,862	8,848±0,867	$1,261.10^{-5}$***
Longueur totale (cm)	10,928±0,711	13,125±0,547	$2,278.10^{-5}$***
Longueur du céphalothorax (cm)	3,742±0,237	4,7±0,45	0,0003***
Longueur du rostre (cm)	2,285±0,134	2,871±0,179	$1,298.10^{-5}$***
Longueur de l'abdomen (cm)	7,2±0,351	8,057±0,269	0,0001***
Longueur de l'uropode (cm)	2,114±0,146	2,371±0,111	0,0017**
Longueur du telson (cm)	1,514±0,069	1,6±0,182	0,1393
Longueur du dernier segment (cm)	1,428±0,048	$1,6±2,39.10^{-16}$	$4,386.10^{-5}$***
Hauteur du corps (cm)	1,142±0,139	1,557±0,139	$6,319.10^{-5}$***
Hauteur du deuxième segment (cm)	0,857±0,113	0,134±1,114	0,0011**

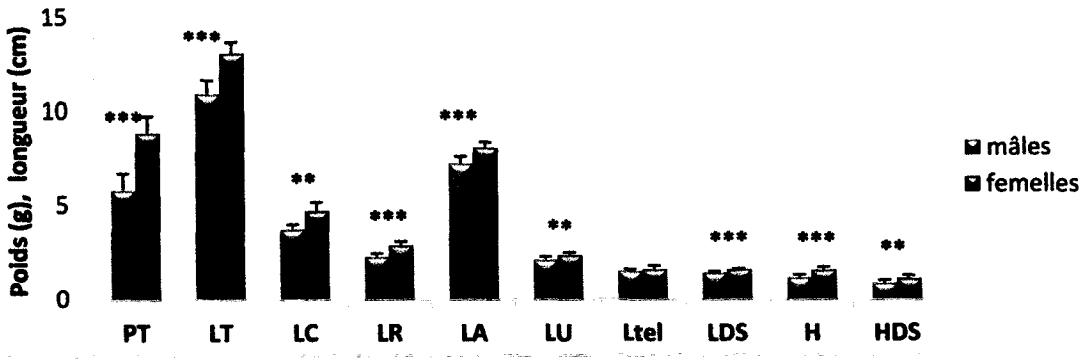


Figure 12: Paramètres biométriques chez les mâles et les femelles de *P. longirostris.* Poids total (PT) ; la longueur total (LT) ; la longueur céphalothoracique (LC) ; la longueur du rostre (LR) ; la longueur abdominale (LA) ; la longueur de l'uropode (LU) ; la longueur du telson (Ltel) ; la longueur du dernier segment (LDS) ; la hauteur du corps (H) et la hauteur du premier segment (HDS).

II.1.1.4. Chez *Palaemon serratus*

La comparaison des valeurs moyennes des paramètres biométriques chez *P. serratus* entre les mâles et les femelles révèle un dimorphisme sexuel net entre les deux sexes et ce pour tous les paramètres mesurés sauf la longueur du dernier segment (LDS) qui n'est pas significativement différente entre les deux sexes **(Tableau 8, Figure13).**

Tableau 8 : Paramètres biométriques mesurés chez les mâles et les femelles de *P. serratus* (m ± s, n= 14-12, P: degré de signification).

Paramètres	mâles (n=14)	femelles (n=12)	p
Poids total (g)	6,475±1,592	14,557±6,284	0,042*
Longueur totale (cm)	11,3±1,163	14,775±2,069	0,018*
Longueur du céphalothorax (cm)	3,8±0,89	6,775±1,225	0,004**
Longueur du rostre (cm)	1,15±0,129	3,8±0,697	0,002**
Longueur de l'abdomen (cm)	6,8±0,668	8,05±0,772	0,021*
Longueur de l'uropode (cm)	2,075±0,262	2,575±0,377	0,033*
Longueur du telson (cm)	1,075±0,095	1,575±0,262	0,017*
Longueur du dernier segment (cm)	1,125±0,15	1,35±0,191	0,05
Hauteur du corps (cm)	1,2±0,282	1,65±0,351	0,04*
Hauteur du deuxième segment (cm)	0,85±0,057	1,275±0,095	0,0006***

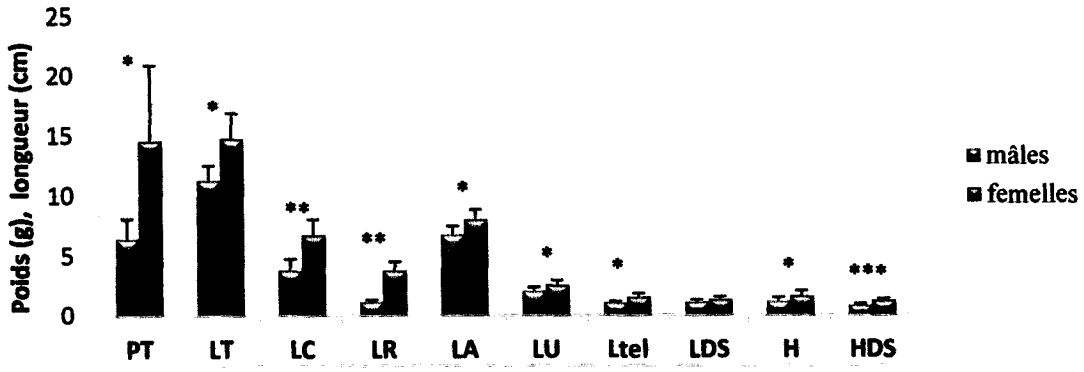


Figure 13: Paramètres biométriques chez les mâles et les femelles de *P. serratus.* Poids total (PT) ; la longueur total (LT) ; la longueur céphalothoracique (LC) ; la longueur du rostre (LR) ; la longueur abdominale (LA) ; la longueur de l'uropode (LU) ; la longueur du telson (Ltel) ; la longueur du dernier segment (LDS) ; la hauteur du corps (H) et la hauteur du premier segment (HDS).

II.1.2. La région de Bejaia

II.1.2.1. Chez *Aristeus antennatus*

L'analyse statistique des paramètres biométriques chez les mâles et les femelles de *A. antennatus* montre des différences significatives ($p<0,05$) très et hautement significative ($p<0,01$; $p<0,001$) pour tous les paramètres, le dimorphisme sexuel est remarquable entre les deux sexes de cette espèce **(Tableau 9, Figure 14).**

Tableau 9 : Paramètres biométriques mesurés chez les mâles et les femelles de *A. antennatus* (m ± s, n= 7-9, P: seuil de signification).

Paramètres	mâles (n=7)	femelles (n=9)	p
Poids total (g)	5,853±0,938	13,515±0,611	0,0005***
Longueur totale (cm)	10,233±1,006	14,475±0,275	0,0096**
Longueur du céphalothorax (cm)	3,366±0,305	6,5±0,258	$6,88.10^{-5}$***
Longueur du rostre (cm)	1,333±0,23	3,425±0,368	0,0001***
Longueur de l'abdomen (cm)	6,866±0,45	8,1±0,244	0,0116*
Longueur de l'uropode (cm)	2,166±0,152	2,625±0,206	0,0098**
Longueur du telson (cm)	1,266±0,057	1,65±0,129	0,003**
Longueur du dernier segment (cm)	1,1±0,1	1,3±0.001	0,037*
Hauteur du corps (cm)	1,266±0,057	1,5±0,163	0,0286*
Hauteur du deuxième segment (cm)	1±0.1	1,35±0,1	0,005**

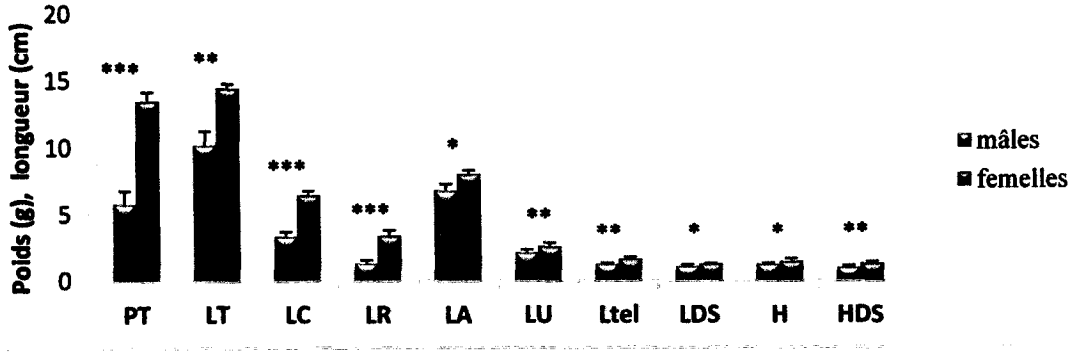


Figure 14: Paramètres biométriques chez les mâles et les femelles de *A. antennatus.* Poids total (PT) ; la longueur total (LT) ; la longueur céphalothoracique (LC) ; la longueur du rostre (LR) ; la longueur abdominale (LA) ; la longueur de l'uropode (LU) ; la longueur du telson (Ltel) ; la longueur du dernier segment (LDS) ; la hauteur du corps (H) et la hauteur du premier segment (HDS).

II.1.2.2. Chez *Parapenaeus longirostris*

Les résultats obtenus révèlent des différences significatives ($p<0,05$), très et hautement significatives ($p<0,01$ et $p<0,001$) au niveau de tous les paramètres. Sauf pour la longueur de l'abdomen (LA), l'uropode (LU) et le telson (LTel) **(Tableau 10, Figure 15).**

Tableau 10 : Paramètres biométriques mesurés chez les mâles et les femelles de *P. longirostris* (m ± s, n= 11-10, P: degré de signification).

Paramètres	mâles (n=11)	femelles (n=10)	p
Poids total (g)	7,5125±0,586	10,51±1,883	0,01*
Longueur totale (cm)	12,15±0,759	13,56±0,931	0,0204*
Longueur du céphalothorax (cm)	4,125±0,221	5,02±0,593	0,0132*
Longueur du rostre (cm)	2,6±0,163	3,24±0,328	0,0044**
Longueur de l'abdomen (cm)	7,975±0,287	8,52±0,549	0,052
Longueur de l'uropode (cm)	2,325±0,125	2,46±0,25	0,1672
Longueur du telson (cm)	1,525±0,05	1,72±0,216	0,0545
Longueur du dernier segment (cm)	1,55±0,057	1,78±0,083	0,0009***
Hauteur du corps (cm)	1,175±0,05	1,44±0,134	0,0047**
Hauteur du deuxième segment (cm)	0,9±0.001	1,04±0,114	0,0258*

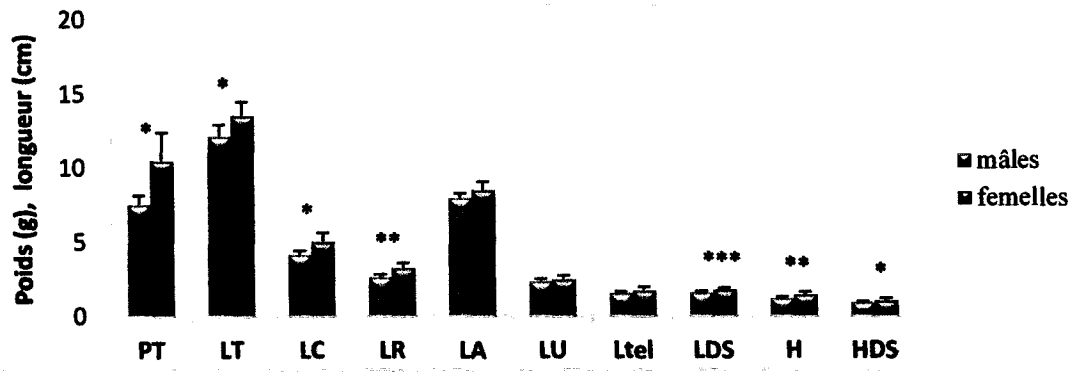


Figure 15: Paramètres biométriques chez les mâles et les femelles de *P. longirostris.* Poids total (PT) ; la longueur total (LT) ; la longueur céphalothoracique (LC) ; la longueur du rostre (LR) ; la longueur abdominale (LA) ; la longueur de l'uropode (LU) ; la longueur du telson (Ltel) ; la longueur du dernier segment (LDS) ; la hauteur du corps (H) et la hauteur du premier segment (HDS).

II.1.2.3. Chez *Palaemon serratus*

L'étude biométrique menée sur des mâles et des femelles de *P. serratus* a révélé un dimorphisme sexuel net au niveau de neuf paramètres mesurés. **(Tableau 11, Figure 16).**

Tableau 11 : Paramètres biométriques mesurés chez les mâles et les femelles de *P. serratus* (m ± S, n= 10-12, P: degré de signification).

Paramètres	mâles (n=10)	femelles (n=12)	p
Poids total (g)	4,017±0,598	8,39±2,16	0,014*
Longueur totale (cm)	9,775±0,427	12,212±0,947	0,004**
Longueur du céphalothorax (cm)	3,35±0,31	4,4±0,583	0,014*
Longueur du rostre (cm)	1,9±0,282	2,425±0,634	0,096
Longueur de l'abdomen (cm)	6,525±0,403	7,95±0,525	0,002**
Longueur de l'uropode (cm)	1,975±0,17	2,3±0,216	0,025*
Longueur du telson (cm)	1,3±0,081	1,75±0,191	0,005**
Longueur du dernier segment (cm)	1,3±0,081	1,4±0	0,017*
Hauteur du corps (cm)	0,85±0,057	1,3±0,346	0,041*
Hauteur du deuxième segment (cm)	0,75±0,057	1,2±0,346	0,041*

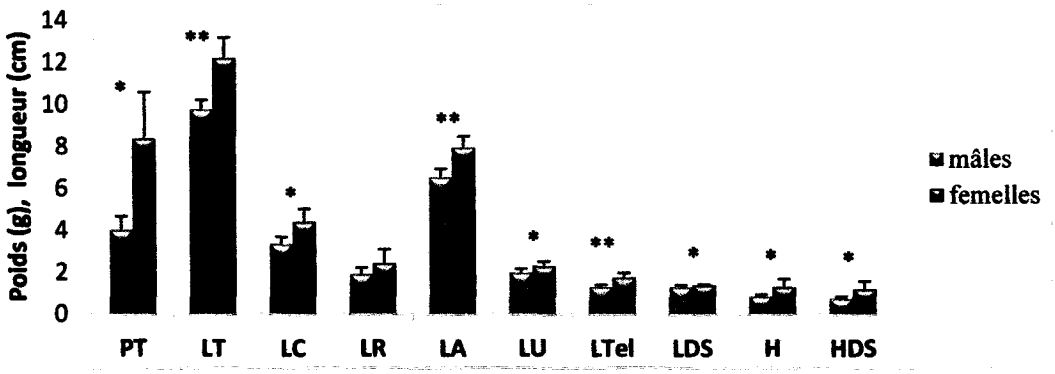


Figure 16: Paramètres biométriques chez les mâles et les femelles de *P. serratus.* Poids total (PT) ; la longueur total (LT) ; la longueur céphalothoracique (LC) ; la longueur du rostre (LR) ; la longueur abdominale (LA) ; la longueur de l'uropode (LU) ; la longueur du telson (Ltel) ; la longueur du dernier segment (LDS) ; la hauteur du corps (H) et la hauteur du premier segment (HDS).

II.2. Dosage des métabolites

II.2.1. Les glucides

II.2.1.1. Réalisation de la courbe d'étalonnage

Avant de déterminer la teneur en glucides dans les échantillons nous avons réalisé une courbe d'étalonnage **(Annexe 2)**.

II.2.1.2. Teneur des échantillons en glucides

Les résultats obtenus montrent que le taux des glucides est très bas variant de 0,036 à 0,044 mg/100 mg de tissu chez toutes les espèces étudiées pour les deux régions.

Le test t de student signale qu'il n'y a pas une différence significative entre les deux sexes des crevettes étudiées dans les deux régions, ainsi que l'ANOVA ne révèle aucune différence significative entre les espèces des deux régions **(Tableau 12, Figure 17).**

Tableau 12: les concentrations des glucides (mg /100 mg de tissu) dans la chair des espèces de crevettes dans les deux régions Jijel et Bejaia (m ± s, n = 4).

Espèce / Région	Sexe	*P. kerathurus*	*A.antennatus*	*P.longirostris*	*P. serratus*	ANOVA
Jijel	mâles	0,039±0,001	0,04±0,003	0,041±0,006	0,042±0,005	0,262
	femelles	0,037±0.001	0,041±0,007	0,042±0,001	0,038±0,001	
	t student	0,2422	0,467	0,401	0,18	
Bejaïa	mâles	/	0,041±0,0005	0,044±0,001	0,038±0,001	
	femelles	/	0,039±0,001	0,043±0,005	0,036±0,001	
	t student	/	0,087	0,469	0,09	
ANOVA		0,7793				

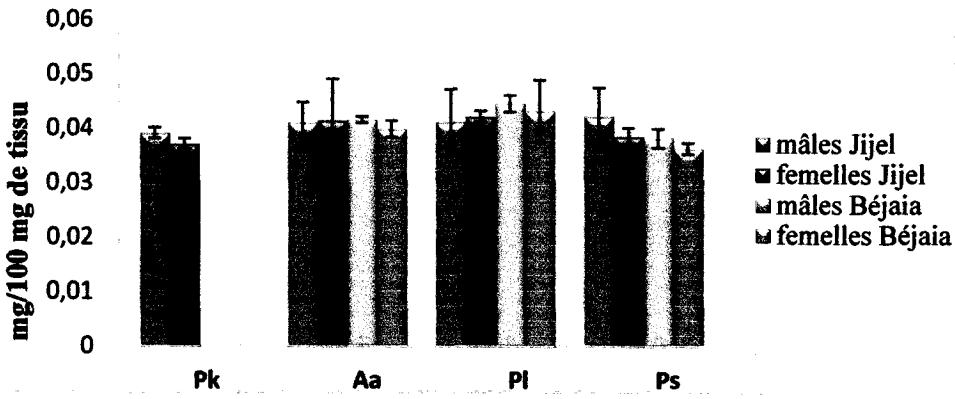


Figure 17 : la teneur en glucides (mg/100 mg) des individus mâles et femelles des espèces : *P. kerathurus, A. antennatus, P. longirostris,* et *P. serratus* dans les deux régions Jijel et Bejaia.

II.2.2 Les lipides

II.2.2.1. Réalisation de la courbe d'étalonnage

La détermination de la teneur en lipides dans les échantillons nécessite une réalisation d'une courbe d'étalonnage **(Annexe3).**

II.2.2.2. Teneur des échantillons en lipides

Les résultats obtenus montrent que la teneur en lipides dans la chair des femelles est plus élevée par rapport à celle des mâles pour les espèces des deux régions (chez les femelles variant de 0,668 à 1,873 mg /100 mg de tissu, chez les mâles variant de 0,608 à 1,313 mg /100 mg de tissu).

Malgré cette différence le test t de student ne révèle aucune différence significative entre les deux sexes sauf chez le mâle et la femelle de *A. antennatus* à Bejaïa, l'ANOVA à deux facteurs ne montre pas de différence entre les espèces et entre les deux régions **(Tableau 13, Figure 18)**.

Tableau 13: les concentrations des lipides (mg /100 mg de tissu) dans la chair des espèces de crevettes dans les deux régions Jijel et Bejaia (m ± s, n = 4).

Espèce / Région	Sexe	*P. kerathurus*	*A. antennatus*	*P. longirostris*	*P. serratus*	ANOVA
Jijel	mâles	0,608±0.042	1,303±0.131	1,144±0.205	1,263±0.314	0,221
	femelles	0,668±0.006	1,385±0.270	1,260±0.119	1,592±0.152	
	t student	0,0684	0,3438	0,2296	0,0618	
Bejaïa	mâles	/	1,128±0.284	1,189±0.110	1,313±0.005	
	femelles	/	1,873±0.165	1,275±0.143	1,426±0.229	
	t student	/	0,0038**	0,1493	0,1976	
ANOVA		0,086				

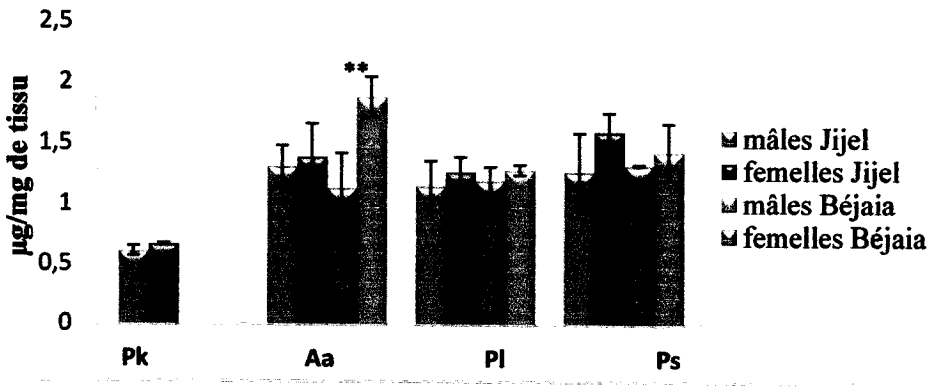


Figure 18 : la teneur en lipides (mg/100 mg) des individus mâles et femelles des espèces : *P. kerathurus, A. antennatus, P. longirostris,* et *P. serratus* dans les deux régions Jijel et Bejaia.

II.2.3 les protéines

II.2.3.1. Réalisation de la courbe d'étalonnage

La détermination de la teneur en protéines dans les échantillons nécessite une réalisation d'une courbe d'étalonnage **(Annexe 4)**.

II.2.3.2. Teneur des échantillons en protéines

a. Dans la chair des crevettes

Les résultats obtenus révèlent que la teneur en protéines est plus élevée chez toutes les espèces par rapport à celle des glucides et lipides (variant de 11,598 à 18,267 mg /100 mg de tissus).

Le test t de student montre une différence significative chez les mâles et les femelles de *P. kerathurus* (P=0,0422<0,05) et *P. longirostris* (P=0,0153<0,05) de Jijel, ainsi que l'ANOVA à deux facteurs révèle une différence hautement significative dans la teneur en protéines entre les crevettes des deux régions (P=8,015.10^{-5} <0,001) **(Tableau 14, Figure 19).**

Tableau 14: les concentrations des protéines (mg /100 mg de tissu) dans la chair des espèces de crevettes dans les deux régions Jijel et Bejaia (m ± s, n = 4).

Espèce / Région	Sexe	*P. kerathurus*	*A.antennatus*	*P.longirostris*	*P. serratus*	ANOVA
Jijel	mâles	14,69±1.927	18,267±1.801	13,37±1.417	15,184±1.964	8,015.10^{-5} bbb
	femelles	12,767±0.485	15,453±4.282	17,194±2.130	15,195±.969	
	t student	0,0422*	0,1461	0,0153*	0,4961	
Bejaïa	mâles	/	12,847±1.452	11,678±0.944	12,206±0.839	
	femelles	/	13,603±1.806	11,767±0.402	11,598±0.831	
	t student	/	0,2651	0,4355	0,1715	
ANOVA		0,7501				

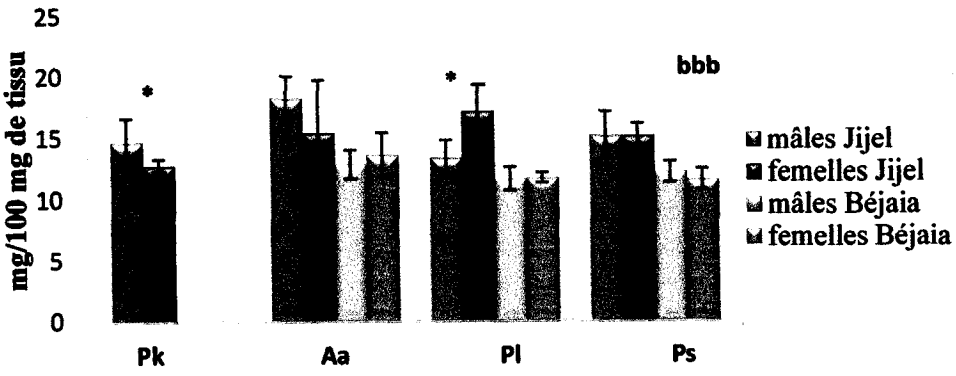


Figure 19 : la teneur en protéines dans la chair (mg/100 mg) des individus mâles et femelles des espèces : *P. kerathurus, A. antennatus, P. longirostris,* et *P. serratus* dans les deux régions Jijel et Bejaia.

b. Dans le céphalothorax

Le test t de student ne montre une différence significative entre les deux sexes des différentes espèces que chez *A. antennatus* (P=0,009<0.01) et chez *P. serratus* (P=9,141.10^{-5} <0.001) dans la région de Bejaia.

L'ANOVA révèle qu'il existe une différence hautement significative entre les deux régions (P=5,402.10^{-7} <0,001), et une différence très significative entre les espèces (P=0,0078) **(Tableau 15, Figure 20).**

Tableau 15: les concentrations des protéines dans le céphalothorax (mg /100 mg de tissu) des espèces de crevettes dans les deux régions Jijel et Bejaia (m ± s, n = 4).

Espèce / Région	Sexe	*p. kerathurus*	*A.antennatus*	*P.longirostris*	*P.serratus*	ANOVA
Jijel	**mâles**	9,978±0.505	6,53±0.222	7,2±0.399	6,775±0.713	5,402.10^{-7} **bbb**
	femelles	9,847±0.476	6,68±0.529	8,263±0.816	7,42±0.304	
	t student	0,375	0,314	0,152	0,085	
Bejaïa	**mâles**	/	7,443±0.080	8,25±0.081	7,235±0.266	
	femelles	/	8,427±0.420	8,405±0.580	8,807±0.175	
	t student	/	0,009 **	0,317	9,141.10^{-5} ***	
ANOVA		0,0078 **aa**				

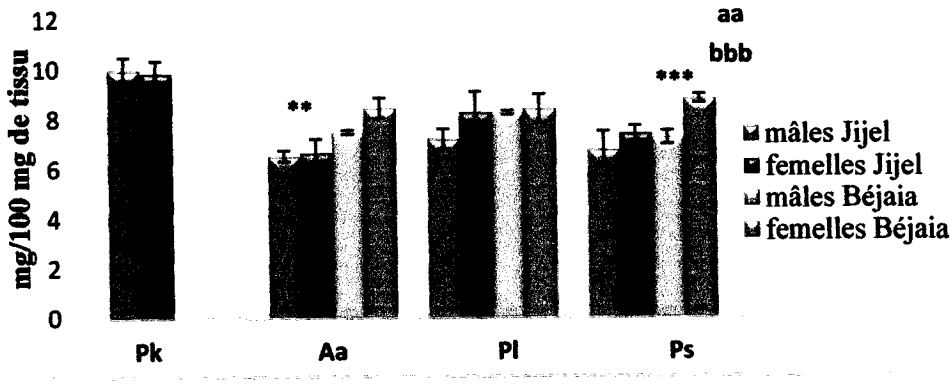


Figure 20: la teneur en protèines dans le céphalothorax (mg/100 mg) des individus mâles et femelles des espèces : *P. kerathurus, A. antennatus,* P. *longirostris,* et *P. serratus* dans les deux régions Jijel et Bejaia.

II.3 Taux de métaux lourds

II.3.1. Dans l'eau de mer

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une concentration considérable du plomb dans l'eau de mer de Bejaia par rapport à celle de Jijel.

L'ANOVA à un seul facteur révèle qu'il y a une différence hautement significative ($P= 4,89692.10^{-5} <0.001$) entre les deux régions **(Tableau 16, Figure 21)**.

Les concentrations du Cadmium enregistrées dans l'eau de mer montrent que l'eau de mer de Béjaia renferme les concentrations les plus élevées.

L'ANOVA à un seul facteur révèlent qu'il y a une différence hautement significative ($p= 1,822.10^{-7} <0.001$) entre les deux régions **(Tableau 16, Figure 21)**.

Les résultats enregistrés signalent une prédominance remarquable du Plomb par rapport au Cadmium et ce dans l'eau de mer de Jijel ou de Béjaia.

Tableau 16: les concentrations du Plomb et du Cadmium (ppm) dans l'eau de mer des deux régions Jijel et Bejaia (m ± s, n=3).

Métaux lourds	Région	Concentration en ppm	t student	ANOVA
Plomb	**Jijel**	0,633± 0,03	0,00045	$4,89692.10^{-5}$ **bbb**
	Bejaia	0,916± 0,018		
Cadmium	**Jijel**	0,037± 0,006	$1,83806.10^{-7}$	$1,822.10^{-7}$ **bbb**
	Bejaia	0,063± 0,007		

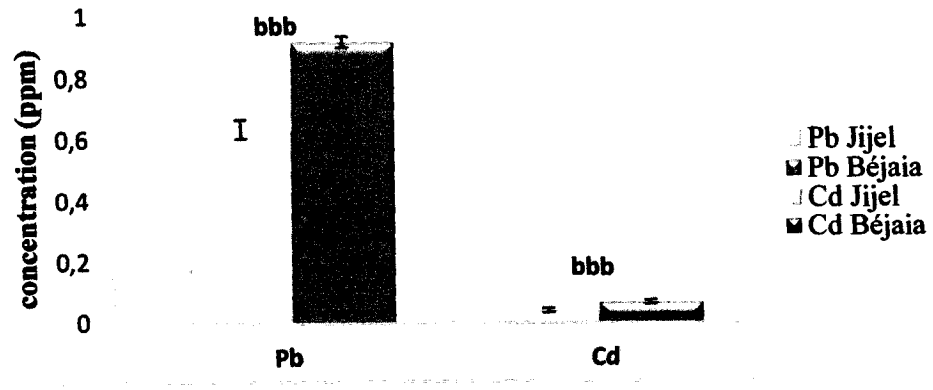


Figure 21 : les concentrations du Plomb et de Cadmium (ppm) dans l'eau de mer des deux régions Jijel et Bejaia.

II.3.2. Dans la chair des crevettes

II.3.2.1. Teneur en Plomb

Les concentrations du plomb enregistrées varient chez les mâles entre 0,021 et 0,037 µg/g et chez les femelles entre 0,017 et 0,031 µg/g pour les espèces des deux régions.

Le test t de student ne montre aucune différence significative entre les deux sexes, cependant, l'ANOVA révèle qu'il existe une différence hautement significative (P=0,0002<0,001) entre les deux régions **(Tableau 17, Figure 22)**.

Tableau 17 : Valeurs moyennes de la teneur en Pb (µg/g) des individus mâles et femelles des espèces dans les deux régions Jijel et Bejaia exprimées en (m ± s, n=3).

Espèce / Région	Sexe	*P.kerathurus*	*A.antennatus*	*P. longirostris*	*P. serratus*	ANOVA
Jijel	**mâles**	0,029±0.008	0,021±0.007	0,022±0.0008	0,028±0.0004	0,0002 **bbb**
	femelles	0,024±0.001	0,017±0.010	0,021±0.001	0,027±0.0005	
	t student	0,28	0,32	0,245	0,050	
Bejaïa	**mâles**	/	0,036±0.005	0,028±0.004	0,037±0.006	
	femelles	/	0,026±0.003	0,026±0.0005	0,031±0.007	
	t student	/	0,141	0,312	0,196	
ANOVA		0,128				

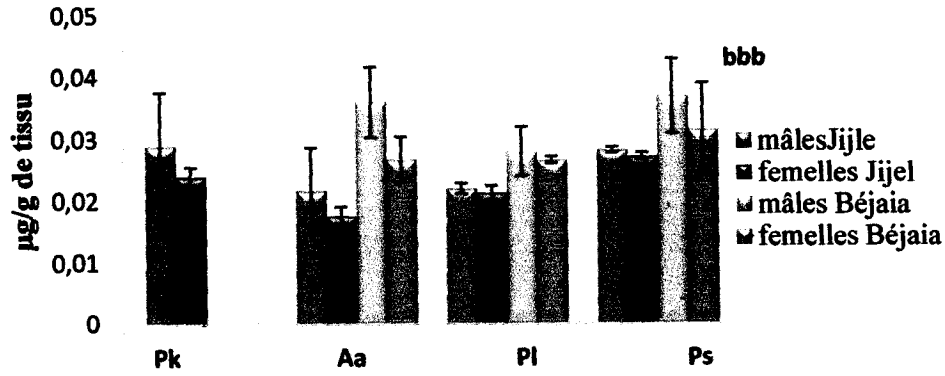


Figure 22 : La teneur en Pb (µg/g) des individus mâles et femelles des espèces étudiées dans les deux régions.

II.3.2.2. Teneur en Cadmium

La concentration du Cd est élevée chez les mâles (variant de 0,0007 à 0,0017) que chez les femelles (variant de 0,0005 à 0,0012) pour toutes les espèces.

Le test t de student révèle une différence significative chez les deux sexes de *P. longirostris* (P= 0,029<0,05) de la région de Jijel et chez les *P. serratus* (P= 0,042<0,05) de la région de Bejaia, et très significative (P=0.0098<0.01) chez *A. antennatus* ainsi qu'une différence hautement significative (P= 0,0004<0,001) entre les deux sexes de *A. antennatus* de la région de Jijel.

L'ANOVA révèle qu'il y a une différence très significative entre les deux régions (P=0,002<0,01) **(Tableau 18, Figure 23).**

Tableau 18 : Valeurs moyennes de la teneur en Cd des individus mâles et femelles des espèces dans les deux régions Jijel et Bejaia exprimées en (m ± s ; n=3) (µg/g).

Espèce / Région	Sexe	*P. kerathurus*	*A. antennatus*	*P. longirostris*	*P. serratus*	ANOVA
Jijel	**mâles**	$0,0006\pm8.5.10^{-5}$	0,0019±0.00004	$0,0008\pm5.033.10^{-5}$	0,0008±0.0001	0,002 **bb**
	femelles	$0,0005\pm3.21.10^{-5}$	$0,0007\pm3.05.10^{-5}$	$0,0007.5.56.10^{-5}$	0,0007±0.0001	
	t student	0,087	0,0004***	0,029*	0,242	
Bejaïa	**mâles**	/	$0,0018\pm2.08.10^{-5}$	0,0009±0.0001	$0,001\pm3.45.10^{-5}$	
	femelles	/	0,0008±0.0005	0,0008±0.0001	0,0012±0.0001	
	t student	/	0.0098**	0,299	0,042*	
ANOVA		0,075				

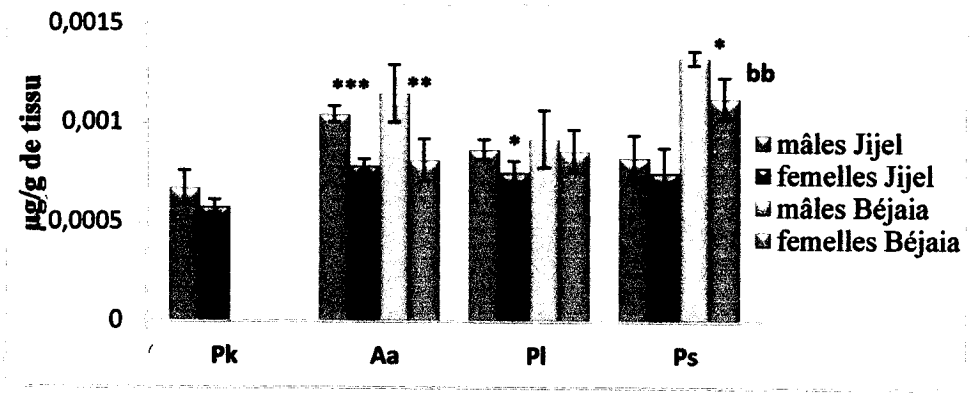


Figure 23: La teneur en Cd (µg/g) des individus mâles et femelles des espèces étudiées dans les deux régions.

II.4. Les biomarqueurs

II.4.1. Dans la chair des crevettes

II.4.1.1. l'activité catalase

Le test t de student montre une augmentation hautement significative chez les mâles que chez les femelles de *P. kerathurus* (P=0,0001<0,001) et de *P. serratus* ($P=7,403.10^{-5}$<0,001) de la

région de Jijel et de *P. longirostris* (P=0,0001<0,001) de la région de Bejaïa. Une augmentation très significative chez les mâles de *A. antennatus* (P=0,0052<0,01) et de *P. longirostris* (P=0,0038<0,01) de la région de Jijel ainsi que chez *A. antennatus* (P=0,0018<0,01) de la région de Bejaïa.

L'analyse des résultats par l'ANOVA montre que l'activité catalase est hautement élevée chez les espèces de la région de Jijel ($P=1,423.10^{-11}<0,001$) par rapport à celles de la région de Bejaïa, notant aussi une différence hautement significative ($P= 1,87.10^{-10}$) entre les espèces des deux régions **(Tableau 19, Figure 24)**.

Tableau 19: l'activité de la catalase (µM/ min/ mg de protéine) dans la chair des espèces de crevettes des deux régions. (m ± s, n = 4).

Espèce / Région	Sexe	*P. kerathurus*	*A.antennatus*	*P.longirostris*	*P. serratus*	ANOVA
Jijel	mâles	4,898±0.143	2,481±0.196	3,146±0.147	3,742±0.121	$1,4.10^{-11}$ bbb
	femelles	3,321±0.189	1,781±0.078	2,167±0.019	1,882±0.049	
	t student	0,0001***	0,0052**	0,0038**	$7,4.10^{-5}$ ***	
Bejaïa	mâles	/	1,967±0.1	1,882±0.072	1,815±0.090	
	femelles	/	0,988±0.018	1,048±0.089	0,803±0.009	
	t student	/	0,0018**	0,0001***	0,0013**	
ANOVA		$1,87.10^{-10}$ aaa				

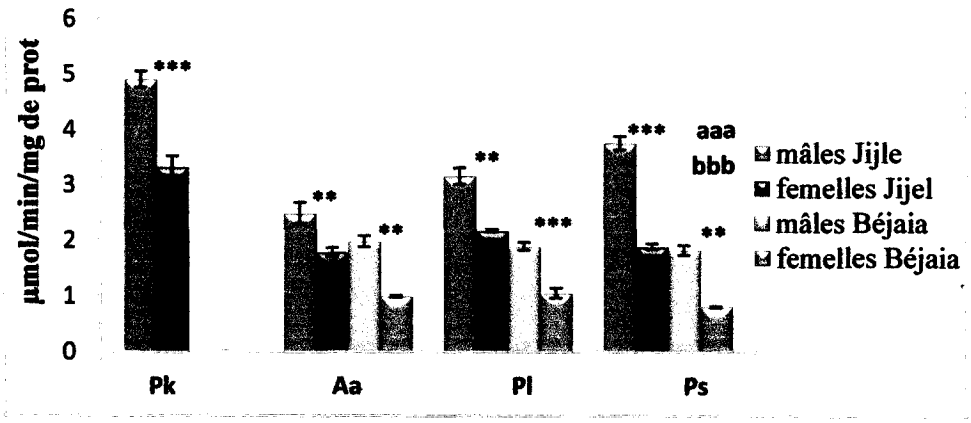


Figure 24: l'activité de la catalase (µM/ min/ mg de protéine) dans la chair des espèces de crevettes des deux régions.

II.4.1.2. l'activité du malondialdéhyde (MDA)

L'analyse statistique des résultats de l'activité de MDA par le test t de student montre des différences significatives entre les deux sexes de *P. kerathurus* (P=0,032<0,05) et de *P. serratus* (P=0,048<0,05) de la région de Jijel, aussi que chez les deux sexes de *P. longirostris* (P=0,034<0,05) et de *P. serratus* (P=0,019<0,05) de la région de Bejaïa.

L'ANOVA révèle une différence hautement significative entre les deux régions (P= $3,458.10^{-6}$<0,0001), cependant il n'y a une différence significative entre les espèces de chaque régions **(Tableau 20, Figure 25)**.

Notant que l'activité de MDA variant de 21,98 à 34,65 µM/min/mg de protéine dans la chair des crevettes de Jijel et de 33,38 à 44,28 µM/min/mg de protéine dans la chair des crevettes de Bejaïa.

Tableau 20: l'activité de la malondialdéhyde (MDA) (µM/mg de protéine) dans la chair des espèces de crevette les deux régions. (m ± s, n = 4).

Espèce / Région	Sexe	*P. kerathurus*	*A.antennatus*	*P.longirostris*	*P. serratus*	ANOVA
Jijel	**mâles**	34,659±0.818	28,856±0.964	32,033±3.607	26,38±3.699	$3,45.10^{-6}$ **bbb**
	femelles	32,448±1.629	28,114±0.388	27,499±4.870	21,98±1.751	
	t student	0,032*	0,113	0,092	0,048*	
Bejaïa	**mâles**	/	33,385±0.913	44,285±2.793	34,119±3.826	
	femelles	/	36,281±7.614	39,606±3.197	40,374±2.363	
	t student	/	0,252	0,034*	0,019*	
ANOVA		0,222				

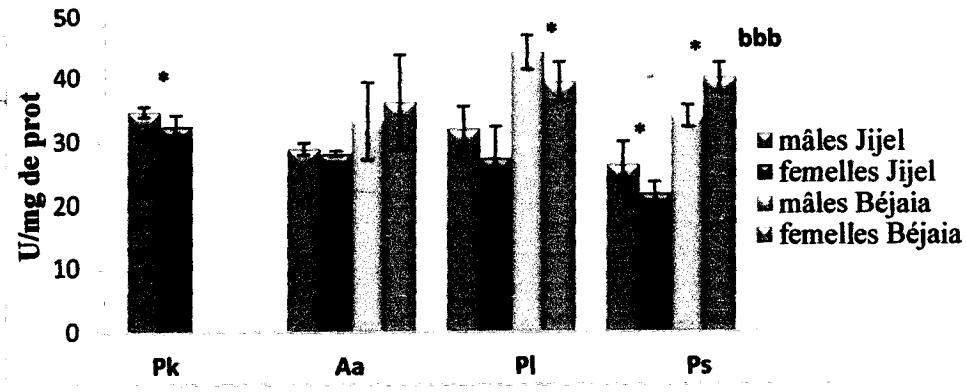


Figure 25: l'activité de la malondialdéhyde (MDA) (µM/ mg de protéine) dans la chair des espèces de crevette les deux régions.

II.4.1.3. l'activité du glutathion (GSH)

L'analyse statistique des résultats obtenus par le test t de student montre qu'il y a une différence significative entre les deux sexes de *P. kerathurus* (P=0,023<0,05) de la région de Jijel et de *A. antennatus* (P=0,035<0,05) de la région de Bejaïa, ainsi qu'une différence très significative entre les deux sexes de *P. longirostris* (P=0,006<0,01) de la région de Jijel, une différence hautement significative a été signalée entre les deux sexes de *P. longirostris* (P=0,0006<0,001) et de *P. serratus* (P=8,616.10^{-6}<0,001) de la région de Bejaïa.

Une augmentation hautement significative du taux du GSH a été enregistrée dans la chair des crevettes pêchées dans la région de Bejaïa (P= 9,33526.10^{-9}<0,001), alors qu'aucune différence significative n'a été notée entre les espèces de chaque région **(Tableau 21, Figure 26)**.

Tableau 21: l'activité de la glutathion réduit (GSH) (µM/ mg de protéines) dans la chair des espèces de crevette des deux régions. (m ± s, n = 4).

Espèce / Région	Sexe	*P. kerathurus*	*A.antennatus*	*P.longirostris*	*P. serratus*	ANOVA
Jijel	mâles	0,222±0.007	0,119±0.010	0,133±0.006	0,110±0.001	9,33.10^{-9} bbb
	femelles	0,271±0.029	0,120±0.022	0,119±0.005	0,115±0.008	
	t student	0,023*	0,469	0,006**	0,176	
Bejaïa	mâles	/	0,145±0.006	0,137±0.003	0,138±0.002	
	femelles	/	0,159±0.001	0,17±0.007	0,166±0.001	
	t student	/	0,035*	0,0006***	8,6.10^{-6}***	
ANOVA		0,163				

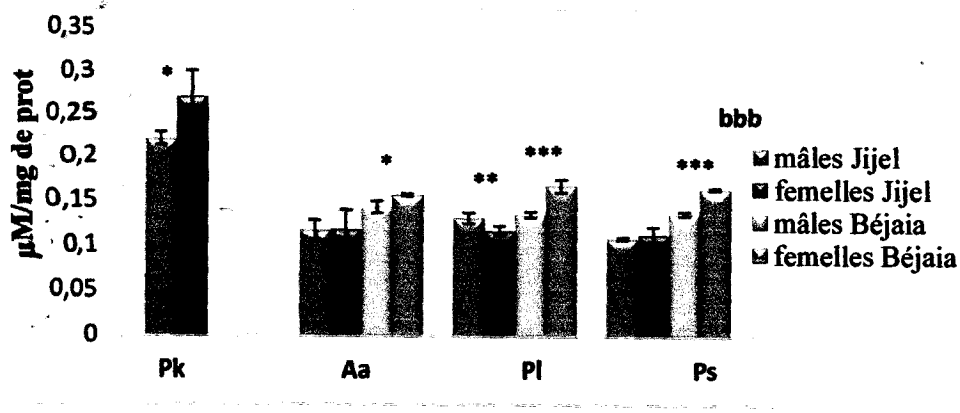


Figure 26: l'activité de la glutathion réduit (GSH) (µM/ mg de protéines) dans la chair des espèces de crevette des deux régions.

II.4.1.4. l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE)

Le test t de student révèle qu'il y a une différence très significative entre les deux sexes de *P. kerathurus* (P=0,009<0,01), *P. serratus* (P= 0,003<0,01) de la région de Jijel et *A. antennatus* (P=0,00014<0,01) de la région de Bejaïa, une différence hautement significative (P= 0,0007<0,001 ; P=1,9.10^{-6}<0,001 ; P=3,925.10^{-5} <0,001) a été enregistrée respectivement entre les deux sexes de *A. antennatus* de la région de Jijel, *P. longirostris* , *P. serratus* de la région de Bejaïa.

L'ANOVA révèle qu'il y a une diminution hautement significative de l'activité de l'acétylcholinestérase chez les crevettes de la région de Béjaia (P= 1,31145.10^{-7}<0,001) et une différence hautement significative entre les espèces (P=3,856.10^{-12}<0,001) **(Tableau 22, Figure 27).**

Tableau 22: l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/ min/ mg de protéine) dans la chair des espèces de crevettes des deux régions. (m ± s, n = 4).

Espèce / Région	Sexe	*P. kerathurus*	*A.antennatus*	*P.longirostris*	*P. serratus*	ANOVA
Jijel	mâles	0,951±0.092	0,735±0.072	0,701±0.062	0,788±0.062	1,311.10^{-7} bbb
	femelles	0,663±0.062	0,312±0.069	0,237±0.010	0,361±0.011	
	t student	0,009**	0,0007***	0,0003***	0.003**	
Bejaïa	mâles	/	0,476±0.076	0,393±0.007	0,493±0.017	
	femelles	/	0,215±0.02	0,171±0.008	0,161±0.006	
	t student	/	0,00014***	1,91.10^{-6}***	3.9.10^{-5}***	
ANOVA		3,856.10^{-12} aaa				

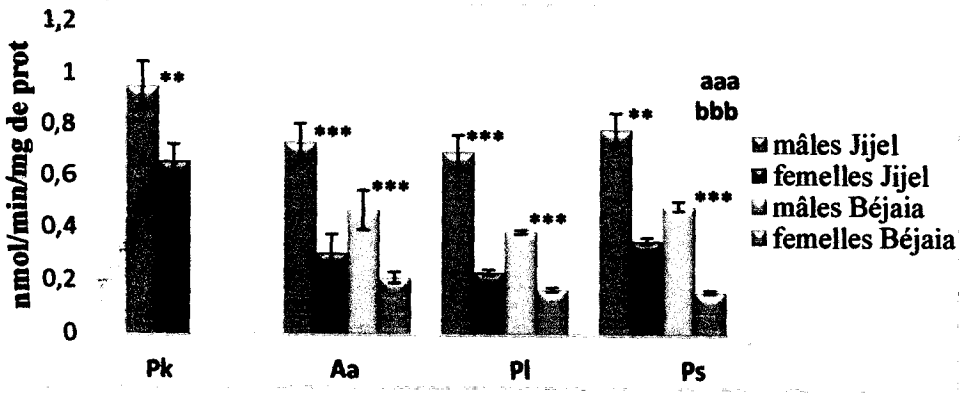


Figure 27: l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/ min/ mg de protéine) dans la chair des espèces de crevettes des deux régions.

II.4.2 Dans le céphalothorax

II.4.2.1. l'activité catalase (CAT)

Le test t de student montre qu'il y a une différence très significative entre les deux sexes de *P. longirostris* des deux régions de Jijel et Bejaïa respectivement (P=0,003<0,01 ; P=0,009<0,01), et aussi une différence hautement significative entre les deux sexes de *P. serratus* ($P=1,01.10^{-5}<0,001$) de la région de Jijel.

L'ANOVA révèle qu'il y a une chute hautement significative de l'activité catalase dans le céphalothorax des crevettes pêchées à Béjaia ($P= 3,51.10^{-14}<0,001$) et entre les espèces (P=0,0003<0,001) **(Tableau 23, Figure 28)**.

Tableau 23: l'activité de la catalase (µM/ min/ mg de protéine) dans le céphalothorax des espèces de crevette des deux régions. (m ± s, n = 4).

Espèce / Région	Sexe	*P. kerathurus*	*A.antennatus*	*P.longirostris*	*P. serratus*	ANOVA
Jijel	**mâles**	0,687±0.123	0,693±0.016	0,681±0.016	0,561±0.015	$3,51.10^{-14}$ **bbb**
	femelles	0,629±0.093	0,670±0.039	0,533±0.055	0,420±0.009	
	t student	0,275	0,178	0,003**	$1,015.10^{-5}$***	
Bejaïa	**mâles**	/	0,454±0.093	0,491±0.069	0,359±0.05	
	femelles	/	0,424±0.023	0,351±0.053	0,330±0.022	
	t student	/	0,289	0,009**	0,176	
ANOVA		0,0003 **aaa**				

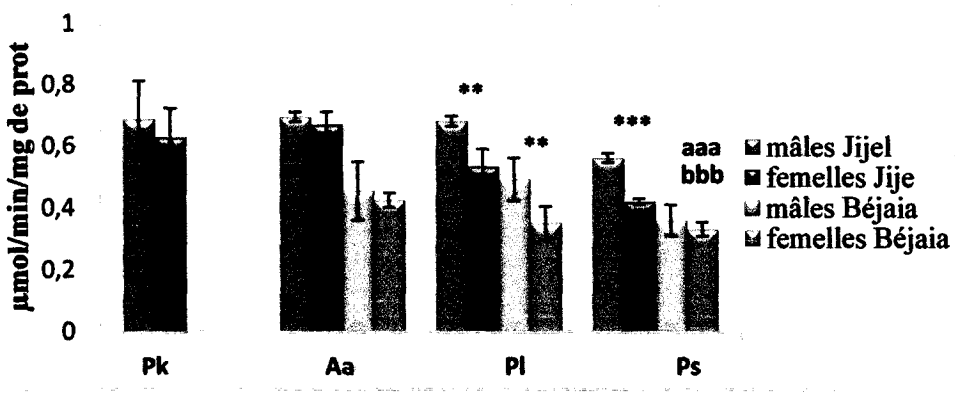


Figure 28: l'activité de la catalase (µM/ min/ mg de protéines) dans le céphalothorax des espèces de crevette des deux régions.

II.4.2.2. l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE)

Le test t de student montre que l'activité de l'acétylcholinestérase est plus élevée chez les mâles que chez les femelles, ces taux sont significativement différents entre les deux et ce pour les crevettes des deux régions.

L'ANOVA révèle qu'il y a une déplétion hautement significative de l'activité de l'acétylcholinestérase dans le céphalothorax des crevettes pêchées à Béjaia ($P=6,386.10^{-11}$ <0,001) et une différence hautement significative entre les espèces de chaque région ($P=1,796.10^{-8}$ <0,001) **(Tableau 24, Figure 29)**.

Tableau 24: l'activité de l'acétylcholinestérase (nM/ min/ mg de protéines) dans le céphalothorax des espèces de crevette des deux régions. (m ± s, n = 4).

Espèce / Région	Sexe	*P. kerathurus*	*A.antennatus*	*P. longirostris*	*P. serratus*	ANOVA
Jijel	**mâles**	4,597±0.107	3,655±0.517	2,574±0.044	3,613±0.358	$6,386.10^{-11}$ **bbb**
	femelles	2,895±0.413	1,452±0.056	1,062±0.057	3,181±0.084	
	t student	0,0006***	0,009**	$1,034.10^{-7}$***	0,042*	
Bejaïa	**mâles**	/	3,005±0.142	1,752±0.083	1,636±0.126	
	femelles	/	1,126±0.097	0,939±0.079	1,038±0.018	
	t student	/	0,0001***	$3,986.10^{-6}$***	0,001**	
ANOVA		$1,796.10^{-8}$ **aaa**				

Chapitre III: Discussions

La différence significative remarquée dans la plupart des paramètres mesurées montre qu'il y a un dimorphisme sexuel remarquable et net au sein de chaque espèce de chaque région.

La revue de réglementation relative à la pêche maritime et aux aires protégées dans les pays participants au projet Copemed, parmi eux l'Algérie **(FAO, 2002)**, fixe la taille minimale de capture à 12 cm pour *A. antennatus*, 11 cm pour *P. kerathurus* et de 9 cm pour *P. longirostris, et* selon **(Coppin, 1984)** la taille marchande pour *P. serratus* est de 8,33 cm. Nos résultats concernant la taille des crevettes pêchées au niveau de la baie de Jijel ou de celle de Bejaia respectent ces normes.

Les crustacés sont exposés à un grand nombre de changements environnementaux qui suivent l'annuaire et le cycle quotidien selon la région géographique qui affectent leur comportement alimentaire et métabolique, l'étude du métabolisme intermédiaire dans les crustacés a indiqué l'existence de large variabilité inter- et intra spécifique qui rend le profil métabolique standard difficile à déterminer, 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 *&* *al.*, 2007).**

La chair des poissons est plus pauvre en glucides que celle des viandes. De plus, lors de la capture très stressante, une grande quantité de glucides est épuisée **(Frédot, 2006).** Les teneurs en glucides enregistrées lors de notre étude prouvent que les quantités des glucides sont très faibles chez toutes les espèces des deux régions variant ainsi de 0,036 à 0,044 mg /100 mg, ses valeurs sont inférieures par rapport à celles trouvées chez les crevettes nordiques 0,26 mg/100mg et les crevettes d'élevage asiatique (tigrée et à patte blanches) 0,53 mg/100 mg **(Dittami** et al., **2010).**

Favier et al., **(1993)** ont estimé la teneur en lipides d'un crustacé de 0.5 à 7.5%, **Collomb & Mayor (2007),** l'ont estimé à 1,8 g/100 g. Le dosage des lipides dans nos échantillons par la méthode de **Goldswoorthy** a montré que la teneur en lipides oscille entre 0.608 et 1.873 mg/100 mg, ces valeurs cadrent avec celles des auteurs précédemment cités. De plus nous avons noté que la teneur en lipides est plus élevée chez les femelles malgré que la différence n'est significative que chez *A. antennatus*, cela peut être dû à l'état physiologique des crevettes adulte (particulièrement les femelles) qui se préparent à la période de reproduction.

Des résultats sur les variations saisonnières de la composition biochimique des crustacés suggèrent que les lipides totaux soient une réserve importante d'énergie utilisée pendant la reproduction pour les mâles et les femelles, pendant l'hiver le taux des lipides diminue dans l'hémolymphe plus intensément dans les femelles proposant que ces réservations mobilisées pour la vitellogenése **(Buckup** et al., **2004).** Il est à noter que *P. kerathurus* renferme les teneurs les plus faibles en lipides par rapport aux autres espèces, ceci peut être expliqué par la maturation sexuelle

précoce chez cette espèce, Dans les crustacés, les lipides sont les réserves principales de l'hépatopancréas et cet organe peut agir en tant que source de la mobilisation nutritive, et également pendant la maturation des gonades **(Buckup et al., 2004).** Par ailleurs, au cours des périodes de la demande de haute énergie telles que : la mue et la gamétogenèse, il y a une dégradation de lipides, particulièrement ceux stockés dans l'hépatopancréas qui contribuent particulièrement à la formation du vitellus **(Galois, 2003).**

La crevette est une excellente source de protéines. On qualifie les protéines des poissons comme étant de haute valeur biologique puisqu'elles contiennent tous les acides aminées essentiels (ceux que le corps ne peut fabriquer et qui doivent provenir de l'alimentation, dans des proportions optimales pour pouvoir être absorbées et utilisées par l'organisme **(Dittami et al., 2010).** La quantification des protéines dans les crevettes étudiées par la méthode de **Bradford** a révélé que les valeurs varient entre 11,598 et 18,267 mg /100 mg de tissus dans les deux régions, beaucoup d'études ont estimé la quantité des protéines dans la chair des crevettes par des méthodes différentes ; **Rimouski (2008)** estime ces teneurs entre 9.33 et 17.46 g/100 g, le tableau proposé par **(Favier et al., 1995)** estiment ces valeurs entre 10 et 26 g/100 g. Les résultats obtenus concordent avec ces valeurs.

Par ailleurs, nous avons noté une différence hautement significative dans la quantité des protéines entre les crevettes de Jijel et celles de Bejaïa, cette différence observée peut être liée aux facteurs environnementaux (nourriture, présence de contaminants...) et l'état physiologique de la crevette **(Dittami et al., 2010).**

Les métaux lourds sont des contaminants majeurs du milieu marin. Certains, dits oligo-éléments (Fe, Cu, Zn, Mn, Mo, Co), sont indispensables au fonctionnement des métallo-enzymes, mais ils peuvent devenir toxiques à des concentrations trop élevées. D'autres, comme le Cd et le Pb, sont connus seulement pour leurs effets toxiques **(Viarengo, 1985).** Les métaux lourds peuvent altérer la physiologie des organismes de plusieurs manières, soit par liaison aux biomolécules solubles (enzymes, ADN) ou membranaires (phospholipides) ou en réagissant avec les groupements thiols (SH) des biomolécules **(Moukrim, 2002).**

L'eau de mer contient en moyenne 0,03 µg de plomb par litre mais, dans les zones côtières, les eaux superficielles peuvent en renfermer 10 fois plus **(Rodier et al., 2009).** L'action toxique est variable selon les espèces et le degré de minéralisation de l'eau.

Les concentrations du Plomb enregistrées dans l'eau de mer de Jijel sont de 0,633 µg/l et de 0,916 µg/l à Bejaia. Les valeurs enregistrées à Béjaia surpassent celles trouvées par **Alliot & Frenet-Piron, 1990** à La trinité-sur-mer de la côte sud de la Britanie (0.4 à 0.6 µg/l).

Les concentrations du Cadmium enregistrées dans l'eau de mer de Jijel sont de 0,037 µg/l, celles enregistrées à Bejaia font presque le double : 0,063 µg/l, **Alliot & Frenet-Piron, 1990** ont trouvé que le taux de Cd dans l'eau de mer varie de 0.3 à 0.5 µg/l. Cependant **(Jung & Zauke, 2008)** ont enregistré des concentrations comprises entre 0.009 et 0.013 µg/l.

Le rapport [Pb] / [Cd] montre que la concentration du Pb enregistrées dans l'eau de mer de la région de Jijel est 17 fois plus élevée que celle du Cd et 14 fois plus élevée dans l'eau de mer de la région de Bejaïa. Ceci pourrait être expliqué par l'hypothèse suivante :

À cause de son affinité au Zn, le Cd a tendance à former des complexes avec le Zn, ce qui l'empêche de trouver à l'état libre, donc son concentration sera faible.

Le Règlement **(CE) N 466/2001** de la communauté européennes fixe la teneur maximale en plomb 0,5 µg /g et en cadmium à 0,6 µg /g de poids à l'état frais des crustacés à l'exception de la chair brune de crabe, cependant l'analyse de nos échantillons par SAA a donné des concentrations en Pb chez les mâles (variant de 0,021 à 0,037 µg/g) et chez les femelles (variant 0,017 à 0,031 µg/g) pour les espèces des deux régions et pour le Cd chez les mâles (variant de 0,0007 à 0,0017 µg/g) et chez les femelles (variant de 0,0005 à 0,0012 µg/g) donc les teneurs en métaux lourds dans la chair de crevette de la baie de Jijel et Bejaia ne dépassent pas les teneurs maximales.

Nos résultats montrent que les concentrations des métaux dosés sont élevées dans la région de Bejaia aussi bien dans les crevettes pêchées ou dans l'eau de mer par rapport à celles de la région de Jijel, ceci revient à la présence de plusieurs sources de pollution dans la région de Bejaia tel que Le gisement de polymétaux (Zn, Pb, et Ag) dans le massif vulcano-sédimentaire d'Amizour ; le port commercial et pétrolier ; la zone industrielle avec ces rejets et l'élimination des déchets urbains dans les estuaires et les régions côtières ainsi que, les affluents des oueds Soummam ; Djamaa et Zitouni qui sont dus au gisement revenant du bassin versant de ces oueds. Quant aux concentrations des métaux enregistrées dans la région de Jijel, celles-ci peuvent être dues aux affluents d'oued El kébir et d'oued Zhour ; Le gisement de Zn et de Fe, sans oublier le rôle des courants d'eau de mer dans la répartition des différents métaux **(Hemissi, 2008).**

Les résultats obtenus montrent que P. serratus est l'espèce qui renferme les concentrations les plus élevées de métaux lourds. Selon **Arzel** et al., **(1992),** en fonction de la saison et de l'âge, *P. serratus* se tient sur des fonds rocheux, sablo-vaseux ou à herbiers, dépassant rarement la profondeur de 50-60 m (espèce des zones côtières), cela explique peut-être les taux élevés des métaux lourds dans la chair de cette espèce.

Les résultats ont montré une diminution hautement significative de l'activité de la catalase dans la chair des échantillons de crevettes de la baie de Bejaia par rapport à celle de Jijel. Selon **(Ercal** et al, **2001)**, l'activité de la catalase diminue parce que les métaux lourds peuvent se

combiner avec certains cofacteurs enzymatiques tels que le fer (présent au sein du domaine hématique de la catalase), la formation de tels complexes conduirait alors à une inhibition de l'activité des enzymes concernées (CAT).

Nos résultats ont montrés une augmentation hautement significative de l'activité du glutathion dans la chair des crevettes de la région à Bejaia comparée à celle de Jijel, l'augmentation du glutathion semble être contradictoire avec d'autres recherches menées sur des poissons exposés aux métaux **(Barillet** et al., **2006)** et sur des mollusques exposés au Cadmium **(Khebbeb** et al., **2010)**. De plus **(Lagadic** et al, **1997)** ont montré que le glutathion en tant qu'un antioxydant vient de renforcer l'activité catalase en agissant comme réducteurs ou capteurs des radicaux libres grâce à sa fonction thiol (-SH).

Cependant, Les poissons téléostéens, tout comme les mammifères, possèdent des concentrations importantes de GSH dans leurs tissus. L'exposition à des métaux a été démontrée comme étant à l'origine d'une altération du statut en GSH. En effet, de nombreux métaux (tels que le cadmium, le chrome et, à moindre échelle, le nickel) sont caractérisés par une forte affinité vis-à-vis des groupements thiols et forment des complexes avec ces entités chimiques **(Barillet, 2007)**.

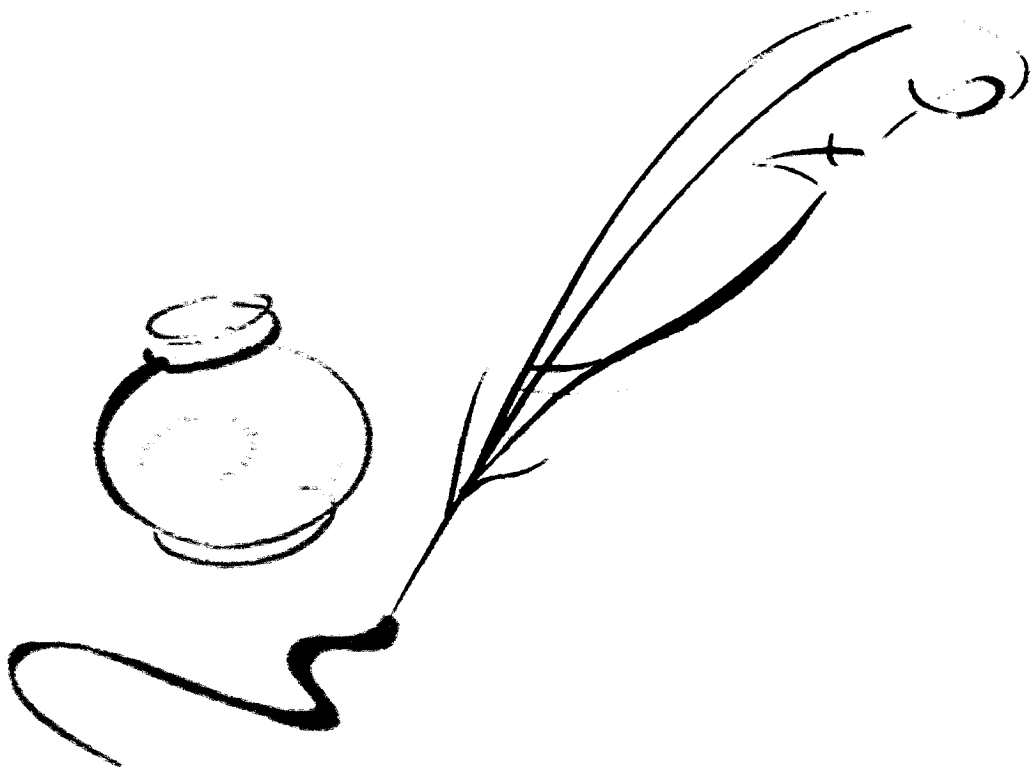
En revanche, les métaux ne sont pas égaux devant leur capacité à interagir avec le glutathion et, plus généralement, avec les groupements thiols. En effet, une caractéristique chimique des métaux va influer sur l'affinité de ces derniers envers les groupements –SH **(Barillet, 2007)**.

Il s'agit du caractère 'dur" ou "mou" au sens de **Pearson, (1963)** des espèces chimiques considérées. Ainsi, Pearson propose de classer les ions métalliques en deux classes : les "métaux durs" tel que le plomb et des métaux "mous" comme le cadmium. En effet, seuls les métaux mous sont caractérisés par une forte affinité envers ces groupements fonctionnels. Selon les résultats retenus dans notre étude, nous avons constaté que les concentrations en Plomb (un métal dur) sont 17 fois plus élevées dans la chair des crevettes par rapport au Cadmium, ceci peut expliquer l'augmentation du GSH observée.

L'évolution comparative de la teneur en MDA chez les crevettes des deux régions montre des valeurs significativement importantes dans la chair des crevettes de Bejaia par rapport à celles de Jijel, ceci est dû à une peroxydation lipidique intense chez les crevettes de la baie de Bejaia. Des résultats similaires ont été observés chez la moule *Mytilus galloprovincialis* exposée aux métaux lourds **(Chahidi, 1997),** chez des moules exposées aux pesticides **(Nadji** et al., **2010)** et aussi chez la crevette *Aristeus antennatus* exposée aux pesticides **(Hernandez-Moreno** et al., **2010)** .

Comme indiqué ci-dessus, la présence de métaux lourds en particulier le plomb et le cadmium dans la baie de Bejaia avec des concentrations relativement importantes par rapport à celles de Jijel. On pourrait attribuer aux métaux l'augmentation du taux de MDA chez les crevettes

Conclusion et perspectives



de cette région. **Narbonne** et al., **(1991)** rapportent que les métaux ont un pouvoir initiateur de la lipoperoxydation. **Halliwell & Gutteridge (1990)** ont montré que les métaux de transition participent à la génération de formes actives de l'oxygène pour produire d'autres radicaux fortement réactifs.

L'AChE a été considérée par plusieurs auteurs comme étant un indicateur spécifique de l'exposition aux pesticides organophosphorés et carbamates (**Hill & Fleming, 1982; Day & Scott, 1990**). Cependant, d'autres travaux ont décrit une perturbation de l'activité AChE en présence de certains métaux traces (**Thaker & Haritos 1989, Devi & Fingerman, 1995, Labrot** et al., **1996).**

Peu d'études se sont intéressées à l'effet in vitro des métaux lourds. **Olson & Christensen (1980),** ont déterminé l'ordre d'effet de plusieurs métaux lourds sur l'activité AChE de poissons étant démontré que le cadmium a un fort pouvoir inhibiteur sur cet enzyme.

L'inhibition de l'activité acétylcholinestérase mesurée chez les crevettes de la région de Bejaia pourrait être due à la présence dans le milieu de composés ayant un pouvoir inhibiteur vis-à-vis des cholinestérases. Des résultats similaires ont montré que le traitement par deux pesticides: carbofuron (carbamate) et le chlorpyrifos (organophosphoré) pendant 24 heures d'exposition, inhibent l'activité AChE chez *Gambusia Yucatan* (**Wendi** et al., **2003).**

Comme pour la majorité des enzymes, à certaines concentrations, les métaux sont capables d'inhiber l'activité AChE aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*. Ainsi, il est raisonnable d'affirmer que ces métaux sont à l'origine de l'inhibition de l'activité AChE au niveau des crevettes de la région de Bejaia.

Selon l'étude de (**Lionetto** et al., **2002)** faite sur les biomarqueurs de stress oxydant chez les moules, une forte inhibition de l'AChE et de la catalase a été enregistrée. Les résultats obtenus sur le céphalothorax des crevettes des deux régions prouvent l'effet de neurotoxicité provoquée par l'accumulation des métaux lourds.

Ce travail a été réalisé dans l'optique de mettre en évidence l'état écosystémique marin et le degré de contamination par les métaux lourds (Pb ; Cd) des deux régions Jijel et Bejaia à partir de l'état physiologique et biologique des quatre espèces de la crevette l'une des espèces bioindicatrices sentinelles, en s'appuyant surtout sur les biomarqueurs de stress oxydatif (CAT ; GSH ; MDA), de neurotoxicité (AChE) ainsi que les taux des métabolites (glucides ; lipides ; protéines).

L'étude biométrique a révélé un dimorphisme sexuel net au sein de chaque espèce et ce pour la majorité des paramètres mesurés où les femelles représentent toujours une taille et un poids supérieurs à ceux des mâles.

L'analyse biochimique de la chair des crevettes a montré des teneurs en glucides très faibles chez toutes les espèces des régions. Elle a révélé aussi que la teneur en lipides est plus élevée chez les femelles. Cependant la teneur en protéines est considérable par rapport aux glucides et lipides avec une prédominance chez les crevettes de Jijel que celles de Bejaïa.

L'analyse chimique de l'eau de mer par La spectroscopie d'absorption atomique a révèle des concentrations trop élevées du Plomb par rapport à celles du Cadmium dans les deux régions. Ainsi que la quantification de ces métaux dans la chair de crevettes étudiées a montré que les concentrations les plus élevées sont rencontrées chez les espèces pêchées dans la région de Bejaïa.

L'évaluation des biomarqueurs du stress oxydatif et de neurotoxicité a montré une déplétion de l'activité CAT et de l'AChE dans la chair et dans le céphalothorax des crevettes de Bejaia. Cependant, l'estimation du taux de MDA et celui du GSH chez les crevettes des deux régions a montré des augmentations importantes dans la chair des crevettes de Bejaia.

On peut conclure à partir des paramètres étudiés que la pollution à Béjaia a induits un stress oxydant chez les organismes étudiés.

En perspective : parmi les nouvelles approches sur lesquelles pourrait déboucher notre étude, le dosage des métaux traces (Zn, Cr, As) et des pesticides dans l'eau de mer et les sédiments ainsi que le sélénium dans la chair de la crevette car celui-ci (sélénium) est reconnu pour ces propriétés antioxydantes. L'utilisation d'autres biomarqueurs tels que le glutathion s-transférase (GST) ; superoxyde dismutase (SOD) est souhaitable.

Références Bibliographique

A

Aarab N., 2004. Les biomarqueurs chez les poissons et les bivalves : de l'exposition à l'effet et du laboratoire au terrain. Thèse de doctorat, l'universite bordeaux 1.P :276.

Alliot A. & Frenet-Piron M., 1990. Relationship between metals in sea-water and metal accumulation in shrimps. Marine pollution Bulletin, 21(1).P :30-33.

Alonso E., Sanros A., Callejon M.& Jimeny J.C., 2004. Speciation as a screening tool for the determination of heavy metal surface water pollution in the Guadiamar river basin, Chapman et Halle. London. P : 561-570.

Amiard J.C. & Amiard-Triquet C., 2008. Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques. Lavoisier, France. P : 372.

Andreyev A. Kushnareva, & Starkov A.A., 2005. Mitochondrial Metabolism of Reactive Oxygen Species.Biochemistry (Moscow), 70, No. 2. P : 200-214.

Arzel P., Baud J.P., Berthou P., Boletzky S.v., Campillo A., Clavier J., Dao J.C., Dardignac M.J., Decamps P., Duclerc J., Flassch J.P., Fleury P.G., Fontaine B., Harmelin J.G., Héral M., Hussenot J., Latrouite D., Laubier A., Le Calvez J.C., Le Foil D., Lemoine M., Marin J., Monniot C., Monniot F., Perez R., Quéro J.C., Raimbault R., Richard O., Talidec C., Têtard A., Vacelet J., Vadon C.& Véron G., 1992. Les algues et invertébrés marins des pêches françaises algues, eponges, corail rouge, escargots de mer, bivalves, poulpes, seiches, encornets, crustacés, oursins et violets. IFREMER, Station de La Rochelle/L'Houmeau, B. p7 :17137,

Aurousseau B., 2002. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRA Prod. Anim, 15 P : 67-82.

B

Ballerini D., Gatelier C., Vogel T., 1998. Techniques et traitement par voies biologiques des sols pollués. ADEME.P :246.

Barillet S., 2007. toxicocinetique, toxicite chimique et radiologique de l'uranium chez le poisson zèbre (daniorerio). Thèse de doctorat en toxicologie environnementale. Université de Metz, France. P : 326.

Références Bibliographique

A

Aarab N., 2004. Les biomarqueurs chez les poissons et les bivalves : de l'exposition à l'effet et du laboratoire au terrain. Thèse de doctorat, l'universite bordeaux 1.P :276.

Alliot A. & Frenet-Piron M., 1990. Relationship between metals in sea-water and metal accumulation in shrimps. Marine pollution Bulletin, 21(1).P :30-33.

Alonso E., Sanros A., Callejon M.& Jimeny J.C., 2004. Speciation as a screening tool for the determination of heavy metal surface water pollution in the Guadiamar river basin, Chapman et Halle. London. P : 561-570.

Amiard J.C. & Amiard-Triquet C., 2008. Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques. Lavoisier, France. P : 372.

Andreyev A. Kushnareva, & Starkov A.A., 2005. Mitochondrial Metabolism of Reactive Oxygen Species.Biochemistry (Moscow), 70, No. 2. P : 200-214.

Arzel P., Baud J.P., Berthou P., Boletzky S.v., Campillo A., Clavier J., Dao J.C., Dardignac M.J., Decamps P., Duclerc J., Flassch J.P., Fleury P.G., Fontaine B., Harmelin J.G., Héral M., Hussenot J., Latrouite D., Laubier A., Le Calvez J.C., Le Foil D., Lemoine M., Marin J., Monniot C., Monniot F., Perez R., Quéro J.C., Raimbault R., Richard O., Talidec C., Têtard A., Vacelet J., Vadon C.& Véron G., 1992. Les algues et invertébrés marins des pêches françaises algues, eponges, corail rouge, escargots de mer, bivalves, poulpes, seiches, encornets, crustacés, oursins et violets. IFREMER, Station de La Rochelle/L'Houmeau, B. p7 :17137,

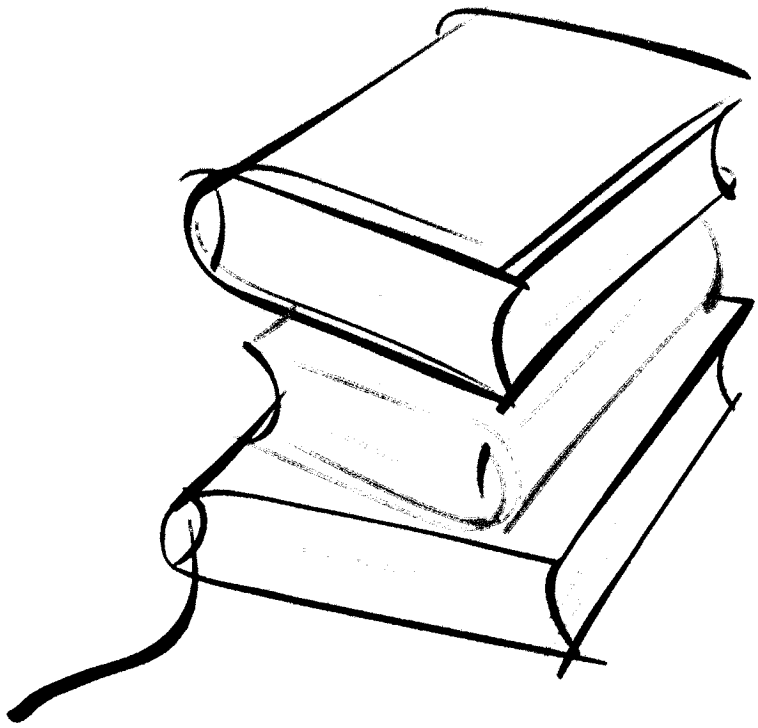
Aurousseau B., 2002. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRA Prod. Anim, 15 P : 67-82.

B

Ballerini D., Gatelier C., Vogel T., 1998. Techniques et traitement par voies biologiques des sols pollués. ADEME.P :246.

Barillet S., 2007. toxicocinetique, toxicite chimique et radiologique de l'uranium chez le poisson zèbre (daniorerio). Thèse de doctorat en toxicologie environnementale. Université de Metz, France. P : 326.

Références bibliographiques



Barillet S., Buet A., Adam C. & Devaux A., 2006. Bioaccumulation, oxidative stress, and neurotoxicity in *danio rerio* exposed to different isotopic compositions of uranium. Environmental Toxicology and Chemistry, 26, No. 3. P: 497–505.

Beaumont A. & Cassier P., 1998. Biologie animale: des protozoaires aux métazoaires épithélioneuriens, tome 2, Dunod Université, Bordas, Paris. P : 459.

Beaumont A. &Cassier P., 1996. Biologie animale: des protozoaires aux métazoaires épithélioneuriens.Tome 1, Dunod Université, Bordas, Paris. P :459.

Benamar N., 2006. Evaluation de la pollution marine par trois éléments en trace métalliques (plomb, cadmium et zinc) sur un poisson pélagique: l'allache Sardinella aurita (Valencienne, 1847) pêchée dans la baie d'Oran. Mémoire de Magister, Université d'Oran.P :97.

Benedetto M., 1997. Méthodes spectrométriques d'analyse et de caractérisation.dossier des métaux lourds, Axe " Génie des Procédés", centre SPIN, Ecole des Mines de Saint-Etienne. P : 49.

Blanquet J.P., Bonnomet V., Coquery A., Gaudillot A., Gondelle F., Houeix N.&Le goff F., 2004. Devenir et comportement des métaux dans l'eau : biodisponibilité et modèles BLM. Rapport de synthèse de Ministère de l'écologie et du développement durable. Direction de l'eau. Avenue de Ségur. Paris.P:87.

Bliefert & Perraud, 2009. Chimie de l'environnement air, eau, sols, déchets, Groupe De Boeck, 2^{e} édition, Paris. P : 369-387.

Bliefert & Perraud, 2001. Chimie de l'environnement air, eau, sols, déchets, Groupe De Boeck, 1^{e} édition, Paris. P : 369-387.

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

Buckup L., Dutra BK., Ribarcki FP., Fernandes FA., Noro CK., Oliveira GT. &Vinagre AS., 2004. Seasonal variations in the biochemical composition of the crayfish Parastacus defossus (Crustacea, Decapoda) in its natural environment. Departamento de Zoologia-Programa de Pós-graduação em Biologia Animal-Instituto de Biociências-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil, 149(1).P :59-67.

C

C.I.E.S.M., 2002. Metal and radionuclides bioaccumulation in marine organisms. C.I.E.S.M workshop mnographs n° 19.P: 125.

Casas S., 2005. Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule, *MytilusGalloprovincialis* en milieu méditerranéen. P : 363.

Castex M., 2009. Evaluation du probiotique bactérien Pediococcusacidilactici MA18/5M chez la crevette pénéideLitopenaeusstylirostris en Nouvelle-Calédonie. Thèse de doctorat, école doctorale ABIES.P : 450.

Cécile B., 2010. Crevettes d'eau douce en aquariophilie: exemple de maintenance de la *neocaridina heteropoda* pour les débutants. Thèse de doctorat en vétérinaire. Université de Toulouse, France. P : 92.

Chahidi B., 1997. Etude de l'activité Catalase et de la teneur en malondialdehyde chez *Mytilus galloprovincialis* et *Perna perna*, comme bio-indicateur de pollution. Mémoire de CEA. Faculte des Sciences d'Agadir. P : 57.

Chifoleau J.F., 2001. La contamination métallique .P :40.

Coquery M., Magaud H., Bonnomet V., Le Goff F. & Monet P., 2004. Analyse critique des méthodologies pour la détermination et l'application de normes de qualité environnementale pour les métaux .Rapport de synthèse de Ministère de l'écologie et du développement durable .Direction l'eau .INERIS.P :28.

Cossa D., 1993. Le plomb dans le milieu marin. Biogéochimie et écotoxicologique de la mer. P77 : 47- 57.

Cossa D., Auger D., Averty B., Lucon M., Masselin P. & Noel J. 1992. Flounder *(Plalichthys flesus)* Muscle as an Indicator of Metals and Organochlorine Contamination of French Atlantic Coastal Waters. *Ambio,* 2.P: 176-182.

Coulon L., 2004. Effet d'un hydroperoxyde lipidique et des LDL oxydées sur les enzymes impliquées dans la libération de l'acide arachidonique des phospholipides plaquettaires, thèse de doctorat, Univ. Lyon.P :194.

Collomb V. & Mayor M., 2007. Crustacés, caractéristiques nutritionnelles, Diététique.P :74.

Coppin, 1984. La crevette *Palaemon serratus*, pennant Biologie et pêche. Ifremer, scientifiques on techniques, dans la base Archine.P :45.

D

Dange C., 2002. Etude du comportement des Elément trace en milieu estuarien : approche expérimentale et modélisation. Thèse de doctorat, université de Reims champagne Ardenne. P : 45-57.

Das P., Berthelin J., 1998. Contamination des sols par les éléments en traces ; les risques et leurs gestion. Académie des sciences rapport N 42, édition TEC et DDL.P : 83-155.

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

Day K. E., Sccot I. M., 1990. Use of acetylcholinesterase activity to detect sublethal toxicity in stream invertebrates exposed to low concentrations of organophosphate insecticides. *Aquat. Toxicol*, 18 .P:101-114.

Delattre J., Beaudeux JL. & Bonnefont-Rousselot D., 2005. Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Éditions Médicales internationales.

Demayo A., Taylor M.C., Taylor K.W. & Hodson P.V., 1982. Toxic effects of lead and lead compounds on human health, aquatic life, wildlife, plants and livestock. CRC CriticalReview in envirionmental Control, (12), n° 4.P :257-309.

Desboeuf k., 2004. Processus de dissolutions des aérosols atmosphériques au sein de gouttelettes nuageuses .Thèse de doctorat, univ de paris. P : 232.

Devi M., and Fingerman M., 1995. Inhibition of Acetylcholinesterase Activity in the Central Nervous System of the red Swamp Crayfish, *Procambarus clarkii*, by Mercury, Cadmium, and Lead. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, 55.P: 746-750.

Dittami M., Gravot A.,Renault D., Goulitquer S., Eggert A., Bouchereau A., Boyen C.Tonon T., 2010. Integrative analysis of metabolite and transcript abundance during the short-term response to biotic stress in the brown alga Ectocarpus siliculosus. Plant, Cell & Environment ,34.P :629-642.

Dorts J., Silvestre F., Huynh T. & Tyberghein A., 2009. Oxidative stress, protein carbonylation and heat shock proteins in the black tiger shrimp, Penaeus monodon, following exposure to endosulfan and deltamethrin. Environmental Toxicology and Pharmacology, 28.P :302-310.

Duchateau & Florkins, 1959. Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification Insecte. Pysiol. Biochem, 67.P: 306-314.

Draper &Hadley, 1990 (in Barillet S., 2007). toxicocinetique, toxicite chimique et radiologique de l'uranium chez le poisson zèbre (daniorerio). Thèse de doctorat en toxicologie environnementale. Université de Metz, France. P : 326.

E/F

Ercal N., Gurer-Orhan H. & Aykin-Burns N., 2001. Toxic metal and oxidative stress part I : mechanisms involved metal-induced oxidative domage. Curent-Topics in Medicinal chemistry, 1(6). P: 529.

Ellman G.L., Courtney K., Andres V.J.R. et *al.*, **1961.**A new and rapid colorimetric determination of AChE activity, Biochemical Pharmacology, (7).P: 88-95.

Fahn S., Cohen G., 1992. The oxidant stress hypothesis in Parkinson's disease: evidence supporting it. Ann Neurol, (32).P: 804-812.

FAO, 2002. Revue de la réglementation relative à la pêche maritime et aux aires protégées dans les pays participants au projet copemed. P : 19-25.

Favier A., Brunel V., Jehl N., Drouet L. & Portheau M-C., 1993. Données récentes sur la biochimie de certains oligo-éléments. In : Problèmes actuels de biochimie appliquée. 11e série, *édité par masson,* Paris. P 1-74.

Favier A., Brunel V., Jehl N., Drouet L. & Portheau M-C., 1995. Viande de volailles ,Sa valeur nutritionnelle présente bien des atouts. Viandes Prod. Carnés, 25 (1).P :1-5.

Fournier E., 2005. Bioaccumulation du sélénium et effets biologiques induits chez le bivalve filtreur *Corbicula fluminea.* Thèse de doctorat, université de Bordeaux1.P :276.

Frédot E., 2006. Connaissance des aliments, bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique .1ère édition, © *Lavoisier* .P 397 :116-117.

G

Galois G., 2003. Variations de la composition lipidique tissulaire au cours de la vitellogènese chez la crevette *Penaeus indicus* Milne Edwards. Laboratoire de Biochimie et Ecologie des Invertébrés marins, URA CNRS 41, Station marine d'Endoume, 13007 Marseille, France. P : 155-166.

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

Garait B., 2006. Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®. Thèse de doctorat. Université Joseph Fourier, France .P :159.

Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z. & Jore D., 2000. Espèces réactives de l'oxygène : comment l'oxygène peut-il devenir toxique? Mécanismes biochimiques. P : 6.

Ghorab, 2002. Etude comparative de trois espèces penaeidés : aspect biométrique et biochimique. Thèse de magister en physiologie animale, option : écotoxicologie. Université d'Annaba, Algérie. P:96.

Gomes A., Fernandes E. & Lima JLFC., 2005. Fluorescence probes used for detection of reactive oxygen species. J. Biochem. Biophys. Methods.P65:45–80.

Gonzalez J.L, Chiffoleau J.F, Mirmand P., Thouvenin B. & Guyol T., 1999. Le cadmium : comportement d'un contaminant métallique en estuaire, Programme Scientifique Seine-Aval, 1, Edition Ifremer, Plouzané.P :58.

Goudable J. & Favier A., 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrclin Métabol, (11).P: 115-120.

Grassé P-P & Doumenc D., 1998. Zoologie des invertébrés. 6ème édition de l'abrégé zoologie invertébrés. Masson, Paris. P : 296.

Grassé P-P., 1996. Traité de zoologie : anatomie, systémique et biologie. Masson. P: 432.

Guerlet E., 2007. Utilisation de biomarqueurs cellulaires chez plusieurs espèces d'invertébrés pour l'évaluation de la contamination des milieux dulçaquicoles. Thèse de doctorat, en écotoxicologie et biodiversité, université du Havre.P317 :23-24.

H

Halliwell, 1987. Oxidants and human disease: some new concepts.Department of Biochemistry, University of London King's College, UK, 1(5).P:358-64.

Halliwell B.& Gutteridge J.M.C., 1990. Free radicals in biology and medicine, Oxford, Clarendon Press, P : 331.

Hancock J T., Desikan R. & Neill S J., 2001. Role of reactive oxygen species in cell signalling pathways. *Biochemical society transactions*, 29.P : 345-350.

Hébrard L. & Meffray L., 2004. Comparaison de méthodes d'analyse des éléments traces métalliques (ETM) et des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sur les sols et les végétaux. P : 121.

Hernandez-Moreno D., Soler F.,Mguez M. & Perez-Lopez M., 2010. Brain Acetycholinesterase, malondialdehyde and reduced glutathione as biomarkers of continuous exposure of tench, Tinca tinca, to carbofuran or deltamethrin, Scinece of the Total environnement, 408 : 4976-4983.

Hill E.F., and Fleming W.J., 1982. Anticholinesterase poisoning of birds: field monitoring and diagnosis of acute poisoning. Environ. Toxicol,V(1).P:27-38.

Hemissi, 2008. Présentation de la wilaya de Jijel et Bejaïa. Andi. P : 1-5.

I

Isabelle R., 2005. Effet d'un traitement combiné du périndopril, inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, et d'un agent diurétique, l'indapamide, sur la progression de l'insuffisance rénale chez le rat zucker obèse. Thèse de doctorat. univ paris 6 – pierre et marie curie et univ de sherbrooke (cotutelle). P : 69.

Isnard H., 1994. Toxicité du plomb et saturnisme infantile. T.S.M.P: 2-70-72.

J/K

Jadot G., 1994. Antioxydants et vieillissement, Éditions John Libbey Eurotext.

Januel C., 2003. Stress oxydant au niveau des plaquettes sanguines humaines dans le contexte du diabète : étude du glutathion et de la glutathion peroxydase 4. Thèse de doctorat, Université Lyon I / INSA-Lyon, France. P: 200.

Joris M.A., 2005.Etudes biochimiques et génétiques de la réponse adaptative de mollusques face aux contaminations métalliques et au stress oxydant. Thèse de doctorat, univ de Bordeaux I.P : 226.

Jumarie C., Fortin C., Houde M., Campbell P. & Denizeau, F., 2001. Cadmium uptake by caco-2- cells : effects of complexation by chloride, glutathione, and phytochelation. Toxicol. Appl.Pharmacol, 170(1).P:29-38.

Jung K., & Zauke G.P., 2008. Bioaccumulation of trace metals in the brown shrimp Crangon crangon (Linnaeus, 1758) from the German Wadden sea, Aquatic toxicology, 88. P :243-249.

Khebbeb E-M., Naji S. & Amrani A., 2010. The effect of Cadmium on malondialdehyde and reduced glutathione concentration in several tissues of bivalve mollusc (*Ruditapes decussatus*) fished from Mellah lagoon (North East of Algeria),Scholars Research Library, Annals of Biological Research, 1(2).P : 166-173.

L

Labrot F.R., Saint-Denis M. & Narbonne JF., 1996. In vitro and in vivo studies of potential biomarkers of lead and uranium contamination: lipid peroxidation, acetylcholinesterase, catalase and glutathione peroxidase activities in three non-mammalian species. Biomarkers, 1.P:21-28.

Lagadic L., Caquet T. & Amiard J.C., 1997. Biomarqueurs en écotoxicologie : principes et définitions, in Masson, ed.,Biomarqueurs en écotoxicologie - Aspects fondamenaux: Paris .P : 1-10.

Lagadic L., Caquet T. & Ramade F., 1994. The role of biomarkers in environmental assessment. (5) Invertebrate populations and communities, Ecotoxicology, 3 (3).P: 193-208.

Laperche V., Dictor M.C.,Clozel B. & Baranger P., 2004. Guide méthodologique du plomb appliqué à la gestion des sites et des sols pollués : Rapport final. BRGM/RP. P : 138.

Le goff F. & Bonnomet V., 2004. Devenir et comportement des métaux dans l'eau : biodisponibilité et modèles BLM. Rapport de synthèse de Ministère de l'écologie et du développement durable. Direction de l'eau. Avenue de Ségur. Paris.P:87.

Le noble V., 2003. Elimination de l'arsenic pour la production d'eau potable : oxydation chimique et adsorption sur des substrats solides innovants .thèse de doctorat, univ de Limoges .P :165.

Leonard A., 1990. Les mutagènes de l'environnement .Masson, Paris, P : 35-39.

Lioris D.& Rucabado J., 1998. Guide d'identification des Ressources Marines vivantes du Maroc. Institut de sciences de mer. (CSIC).Passeig Joan de Bordé S/m 08039 Barcelona (Espagne). M-43 ISBN 92-5-204 162.

Lionetto M.G, Caricato R., Giordano M.E., PascarielloM.F., Marinosci L. & Schettino T., 2002. Integrated use of biomarkers (acetylcholinesterase and antioxidant enzymes acivities) in *Mytilus galloprovincialis* and *Mullus barbatus* in an Italien coastal marine area. Marine Pollution Bulletin, 46.P : 324-330.

Livingstone D.R., 1993. Biotechnology and pollution monitoring: Use of molecular biomarkers in the aquatic environment, Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 57 (3).P: 195-211.

Livingstone D.R., 2001. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms, Marine Pollution Bulletin, 42 (8).P: 656-666.

M

Magali W., 2007. Zoologie et écologie marine. Edition Monsttainaut, 3.

Marchand M. & Kantin R., 1997. Les métaux traces en milieu aquatique. Océanis, 23(4) .P: 595-629.

McCord J.M & Fridovich I., 1969. Superoxyde dismutase, In Effet d'un hydroperoxyde lipidique et des LDL oxydées sur les enzymes impliquées dans la libération de l'acide arachidonique des phospholipides plaquettaires,Coulon L., thèse de doctorat, Univ. Lyon. P : 194.

Mertixell A., Arnau S., Buti E., Cotijo V, Gutièrrez E. & Solé M. Characterisation of integrated stress biomarkers in two deep- sea crustaceans, *Aristeus antennatus* and Nephrops norvegicus, from the Nw fishing grounds of the Mediterranean sea. Ecotoxicology and Environmental Safety, 72.P :1455-1462.

Miquel G., 2001. Rapport sur : « Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé ». Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et techniques. P: 365.

Morlot M., 1996.aspects analalytiques du plomb dans l'environnement, Technique et Documentation, Lavoisier, Paris. P : 5-56.

Moukrim A., 2002. Réponse de certains paramètres biochimiques chez la moule méditerranéenne *Mytilusgalloprovincialis* à la pollution métallique, **In** Metal and radionuclides bioaccumulation in marine organisms laboratoire de recherche eau et environnement, département de biologie, faculté des sciences, Université Ibn Zohr, Agadir, Maroc.P :45-52.

Muller D., 2004. Analyse génétique et moléculaire du stress arsenic des souches bactériennes isolées d'environnements contaminés par l'arsenic. Thèse de doctorat, univ de Strasbourg I.P : 164.

N/O

Naji S., Amrani A.,Mebarki R.& Khebbeb E-M., 2010. Acetycholinesterase and Catalase activities in several tissues of a bivalve molusc (*Ruditapes decussatus*) fished from Mellah lagoon (North East of Algeria),Scholars Research Library, Annals of Biological Research, 1(4).P : 138-144.

Narbonne J.F., Ribera D., Michel X., Raoux C., Garrigues P., Monod J.L., Lamaire P., Galgani F., Romeo M., Salaun J.P.&Lafaurie M., 1991. Indicateurs biochimiques de contamination de l'environnement marin : etude comparative en mer Mediterranee. *Océanis*, 17, 3.P: 257-275.

Nicolau R., 2005. Caractérisation et quantification des transferts dus aux petites rivières côtières méditerranéennes. Thèse de doctorat, univ de Toulouse. P : 198.

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

Olivier C., 2005. Biomarqueurs d'effets chez C. Fluminea : du développement en laboratoire a l'application en mesocosme, thèse de doctorat, Univ Bordeaux. P :281.

Olivier G., 2001. Toxicité potentielle des sédiments marins et estuariens contaminés : évaluation chimique et biologique, biodisponibilité des contaminants sédimentaires. Thèse de doctorat, univ de Bordeaux I. P: 376.

Olson D.L., & Christensen G.M., 1980. Effects of water pollutants and other chemicals on Nervous System of the red Swamp Crayfish, Procambarusclarkii , by Mercury, Cadmium, stream invertebrates exposed to low concentrations of organophosphate insecticides. Aquat. Toxicol .18.P: 101-114.

P

Pagotto G., 1999. Etude sur l'émission et le transfert dans les eaux et les roches des éléments traces métalliques et des hydrocarbures en domaine routier. Thèse de doctorat, univ de Poitiers. Nantes. P : 316.

Paoletti F., Aldinucci D., Mocali A. et *al.*, **1986.** A sensitive spectrophotometric method for the determination of superoxide dismutase activity in tissue extracts, Analytical Biochemistry, 154 (2).P: 536-541.

Pearson, 1963 .A preliminay analysis of habitat orientation in microtus and peromyscus. Rtquer,the state university, New Brunswich, new lersev.P :12.

Pichard A., 2003. Plomb et ses dérivés. Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques .ERIS-DRC.P :90.

Pichard A., 2005. Cadmium et ses dérivés .Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques .ERIS-DRC.P :102.

Pompella A., Maelloaro E., Casini A.A., Farrali M. & Ciccoli J.M., 1987. Measurement of lipid peroxydation in vivo: a comparaison of different procedures. Lipids,V(22).P: 206-211.

R

Ramade F., 1998. Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau, Paris, P : 786.

Ramade F., 2000. Dictionnaire encyclopédique des polluants, Edi science international, Paris. P : 690.

Reichl F., 2004. Guide pratique de toxicologie, 2e édition, de Boeck, P : 348

Rimouski, 2008. Centre de recherche sur les biotechnologies marines, Québec canada.

Rodier J., (2009), L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer, 9e édition, Dunod, Paris. P : 1383.

RNO, 1995. Surveillance du milieu marin. Travaux du Réseau National d'Observation. Edition 1995. Ifremer et Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement., IFREMER (France).

S

Schmidt G.H., & Ibrahim N. M. M., 1994. Heavy metals content (Hg2+, Cd2+, Pb2+) invarious body parts: impact on cholinesterase activity and binding gycoproteins in thegras shopper Aiolopusthalassinusadultes. Ecotoxicology and Environmental Safety, (29).P:149-164.

Schwedt, 1993. Atlas de poche des méthodes d'analyse Medecine-xciences Flammarion, paris.P :82.

Shibko S., Koivistoinem P., Tratyneck C., New hall A. & Freindman L., 1966. A method for sequential quantitative separation and glycogen from signal rat liver homogenate or from a subcellular fraction. C Analyt. Biochem,(19).P :415-428.

Skoog D.A., West D.M. & Holler., 1997. Chimie analytique. Département de Boeck université, Bruxelles.P :611-621.

Suter G.W., 1993. Ecological risk assessment: Boca Raton, FL, USA, Lewis Publishers.P:538.

T

Tessier A., Turner D.R., 1995. Metal speciation and bioavaibility in aquatic systms. New York: John Wiley and Son eds. P: 679.

Thaker A.A. & Haritos A.A., 1989. Cadmium bioaccumulation and effects on soluble peptides, proteins and enzymes in the hepatopancreas of the shrimp Callianassathyrrhena.Comp. Biochem. Physiol, (94).P: 63-70.

Thèvenot D.R., Lestel l. ,Tusseau M.H. ,Genzalez V.J.L. & Mybech M., 2007. Les métaux dans le bassin de la seine :un exemple de circulation dans l'anthopocene.PIRN-plaquette. P : 64.

V

Van der Oost R., Beyer J., &Vermeulen N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review, Environmental Toxicology and Pharmacology, 13 (2).P: 57-149.

Verloo M., 2003. Les métaux lourds dans les denrées alimentaires : origines et évolution des teneurs .Faculté des sciences agronomiques et biologiques .Université GENT.

Viala A. & Bota A., 2005. toxicologie, 2e édition, © Lavoisier. P : 1094.

Viarengo A., 1985. Biochemical effects of trace metals. Mar. Pollut. Bull., 16: 153-158.

W

Wendi J., Dorran W., Gregory C., Ronald G., Rada M. & Sandheirich B., 2003.
Ecotoxicology and Environmental Safety, 49.P: 91-98.

Weckberker & Cory, 1988 (In Barillet S., 2007) . toxicocinetique, toxicite chimique et radiologique de l'uranium chez le poisson zèbre (daniorerio). Thèse de doctorat en toxicologie environnementale. Université de Metz, France. P: 326.

Winston G.W. & Di Giulio R.T., 1991. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. AquaticToxicology, (19).P : 137-161.

Annexes

Annexe 1

A-Préparation de l'anthrone :

Peser 150 mg d'anthrone

↓

Ajouter 75 ml d'acide sulfurique

↓

Ajouter 25 ml d'eau distillée

↓

Mettre la solution préparée dans une bouteille ambrée à une température ambiante

B-Préparation de la vanilline :

Peser 380 mg de la vanilline

↓

Ajouter 55 ml d'eau distillée

↓

Ajouter 195 ml d'acide orthophosphorique

↓

Mettre la solution préparée dans une bouteille ambrée à une température ambiante

C-Préparation du bleu brillant de Coomassie (BBC)

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

↓

Mettre la solution préparée dans une bouteille ambrée à une température ambiante

Annexe 2

Tableau : Réalisation de la courbe d'étalonnage des glucides (m ± s, n=3).

Glucide en (µg)	Absorbance
0	0
10	0,259±0,021
20	0,485±0,018
30	0,709±0,041
40	0,913±0,093
50	1,155±0,113

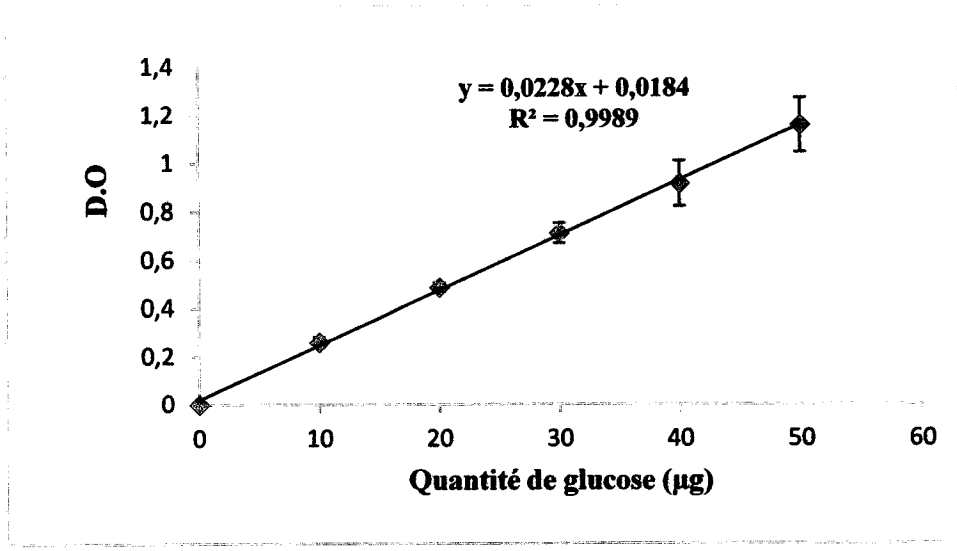


Figure : Courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité (µg) de glucose (glucide standard), (R^2 : coefficient de détermination).

Annexe 4

Tableau : Réalisation de la courbe d'étalonnage des protéines (m ± s, n=3).

BSA (µg)	Absorbance
0	0
400	0,355±0,173
800	0,683±0,074
1200	1,132±0,098
1600	1,468±0,211
200	1,847±0,031

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

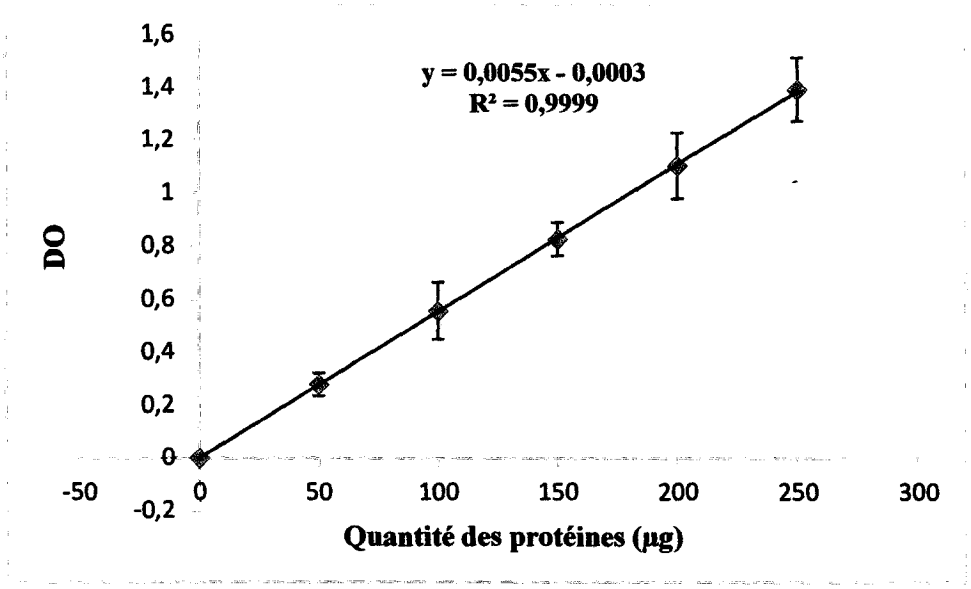


Figure : Courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité (µg) de la protéine standard; l'albumine, (R^2 : coefficient de détermination).

Annexe 5

Tableau : Réalisation de la courbe d'étalonnage du Plomb (m ± s, n=3).

[Pb] en ppm	Absorbance
0	0
0.5	0.0027
1	0.0066
2	0.0165
5	0.0484
10	0.1042
20	0.2002

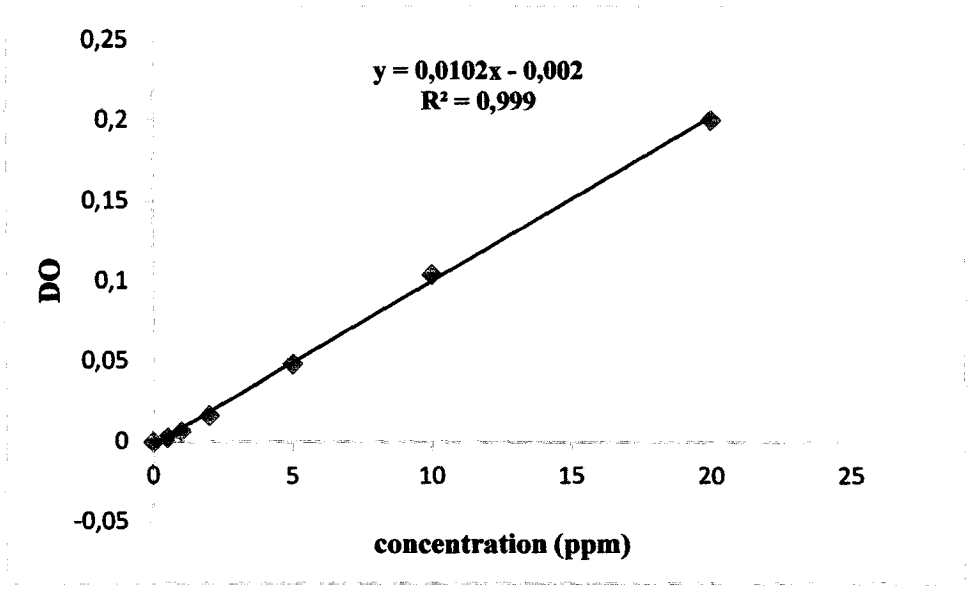


Figure : Courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité (ppm) du Plomb, (R^2 : coefficient de détermination).

Annexe 6

Tableau : Réalisation de la courbe d'étalonnage du Cadmium (m ± s, n=3).

[Cd] en ppm	Absorbance
0	0
0.1	0.0028
0.2	0.0060
0.5	0.0218
1	0.0555
2	0.1321
5	0.3385

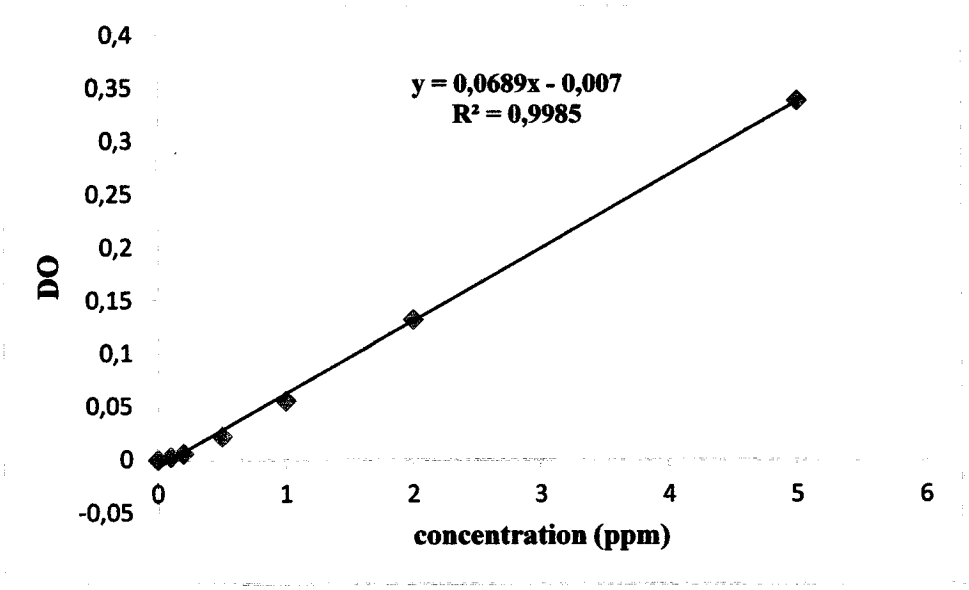


Figure : Courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité (ppm) du Cadmium, (R^2 : coefficient de détermination).

Annexe 3

Tableau : Réalisation de la courbe d'étalonnage pour le dosage des lipides (m ± s, n=3).

Solution mère (µg)	Absorbance
0	0
50	0,278±0,043
100	0,555±0,107
150	0,824±0,062
200	1,1±0,125
250	1,390±0,120

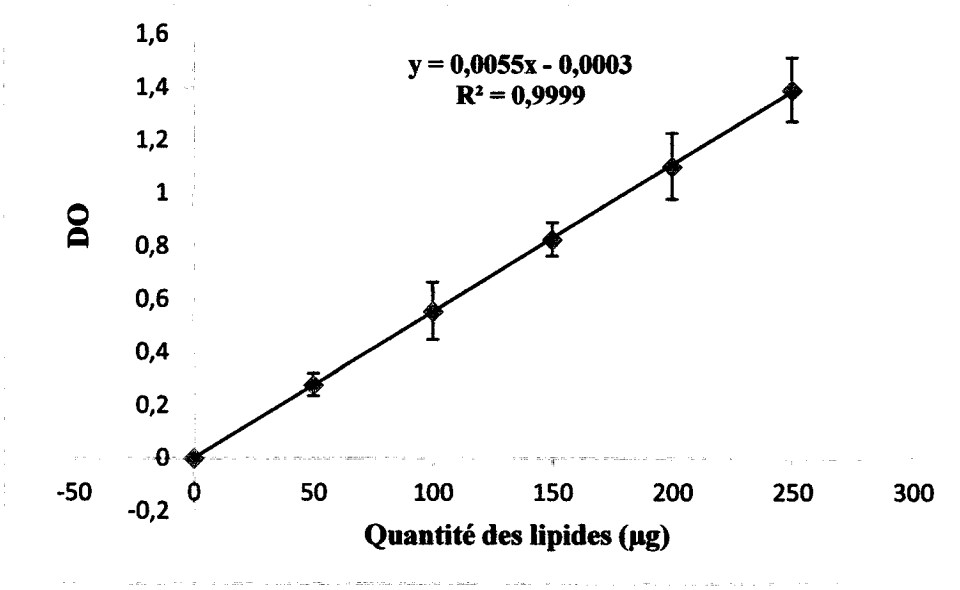


Figure : Courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité (µg) des lipides, (R^2 : coefficient de détermination).

Présenté par : Bouchekhlal Abd elouahab
Boughris Samah

Encadreur : M^elle. Ghorab Ismahene

Date de soutenance : 03/07/2010

Thème :

Recherche de certains métaux lourds et de biomarqueurs de la pollution dans la chair de la crevette

Résumé

Le présent travail vise à étudier la présence des métaux lourds et des biomarqueurs du stress oxydant et de neurotoxicité dans chair de quatre espèces de crevettes (*P. kerathurus ; A. antennatus ; P. longirostris et P. serratus)*. L'étude biométrique a révélé un dimorphisme sexuel net chez les quatre espèces. Le dosage des métabolites dans la chair a montré une richesse en protéines face à des quantités moindres de lipides et de glucides. Le dosage des métaux lourds par la SAA dans la chair et dans l'eau de mer a prouvé d'une part une prédominance du Plomb par rapport au Cadmium et d'autre part l'existence de fortes