

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية والشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de JIJEL

Faculté des Sciences Exactes et des  
Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Animale et  
Végétale

M/T. ENV. 14/12

جامعة جيجل

كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا الحيوانية والنباتية

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de master

Option : Toxicologie de l'environnement

Thème:

**Contribution a l'étude de la qualité des eaux du barrage Beni Haroun par utilisation des biomarqueurs de stress chez deux espèces de poissons (Cyprinus carpio et Barbus barbus).**

Membres de jury :

- Président : OUNES. I
- Examinatrice : GHORAB. I
- Encadreur : HABILA. S

N° d'ordre :

Réalisé par :

- MEFTAH Hafssa
- MOUSSA Fadila

Session : Juillet 2012

Année universitaire : 2011-2012

# Remerciements

🌀 Je tiens à la fin de ce travail à remercier **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné la foi et de nous avoir permis d'en arriver là.

🌀 Notre grande gratitude sera portée en premier lieu à nos parents, de leur amour, de leur appui et de tous les sacrifices qu'ils ont faits de sorte que nous puissions continuer nos études. Nous ne pourrions jamais remettre leurs efforts, ni redonner leur tendresse.

🌀

🌀 Nous exprimons toutes nos reconnaissances à notre encadreur *M<sup>lle</sup> Habila* pour nous avoir guidé, ainsi que, pour ses conseils, ses encouragements et ses suggestions tout au long de la réalisation du présent travail.

🌀

🌀 Nos intenses gratitudes envers *M<sup>lle</sup> Ghorab* et *M<sup>me</sup> Ounes* qui ont bien voulu accepter de juger notre travail.

🌀

🌀 Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude au professeur *Laghouchi* doyen de faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et la vie et au professeur *Khelili* responsable du laboratoire de recherche de phytochimie et de pharmacologie, pour leurs aide et leurs conseils.

🌀

🌀 Nous adressons nos sincères remerciements à tous les enseignants qui nous aident à accomplir ce travail.

🌀 Sans oublier de remercier tous les étudiants de la promotion 2012 d'Ecotoxicologie tou(te)s nos ami(e)s et tous les gens qui ont participé de proche ou de loin à la réalisation de ce travail.

🌀

🌀

## *Sommaire*

### **Introduction**

<b>Chapitre I : Synthèse bibliographiques.....</b>	<b>1</b>
I.1. Généralités : .....	1
I.1.1. Définition des pollutions : .....	1
I.1.2. Pollution des eaux : .....	1
I.1.3. Classification des pollutions : .....	1
I.2. La biosurveillance : .....	4
I.2.1. La surveillance de la qualité de l'environnement : .....	4
I.2.2. Les principes de biosurveillance : .....	5
I.2.3. La stratégie de la bio-surveillance : .....	5
I.2.4. Monitoring des polluants dans les écosystèmes : .....	6
I.2.4.1. Les activités de monitoring biologique .....	7
I.2.4.2. Les règles de monitoring biologiques.....	7
I.2.5. Utilisation des bioindicateurs pour évaluer la santé de l'environnement .....	8
I.2.5.1. Les espèces bioaccumulatrices .....	8
I.2.5.2. Les espèces sentinelles .....	8
I.2.6. Utilisation des espèces bio accumulatrices dans les biotopes aquatiques .....	8
I.2.6.1. Les macrophytes aquatiques.....	9
I.2.6.2. Les mollusques lamellibranches.....	9
I.2.6.3. Autres invertébrés aquatiques.....	9
I.2.6.4. Les poissons.....	9
I.2.7. Les bio-marqueurs : .....	9
I.2.7.1. Les biomarqueurs des outils pour évaluer l'état de santé des individus.....	10
I.2.7.2. Classification des biomarqueurs.....	10
I.3. Le stress oxydant : .....	11
I.3.1. Définition : .....	11
I.3.2. Le stress oxydant et la pollution : .....	12
I.3.2.1. Systèmes antioxydants enzymatiques : .....	13
I.3.2.1.1. Super oxyde dismutases.....	13
I.3.2.1.2. Glutathion peroxydase.....	14
I.3.2.1.3. L'activité catalase.....	14
I.3.2.2. Systèmes antioxydants non-enzymatiques .....	15
I.3.2.2.1. Les oligoéléments .....	15
I.3.2.2.2. Glutathion : .....	15
I.3.2.2.3. Ubiquinone et cytochrome C.....	15
I.3.2.2.4. Vitamines E et vitamine C.....	16
I.3.3. Autres types de biomarqueurs .....	16
I.3.3.1. Acide malonedialdéhyde .....	16
I.3.3.2. La metallothioneine .....	16
I.3.3.3. Activité glutathion S-Transférase : .....	16
I.3.3.4. L'acétylcholinestérase (AChE) : .....	17
<b>Chapitre II : Matériel et méthodes .....</b>	<b>18</b>
II. Présentation de la zone d'étude: .....	18

II.1. délimitation du barrage : .....	18
II.2. L'hydrographie de la région d'étude : .....	18
II.3. Contexte géologique : .....	19
II.4. Climatologie de la zone d'étude : .....	19
II.4.1. Les précipitations : .....	19
II.4.2. Température : .....	19
II.4.3. Le diagramme ombro-thermique : .....	20
II.5. choix des espèces étudiés : .....	20
II.6. La taxonomie des espèces : .....	21
II.6.1. <i>Barbus barbus</i> : .....	21
II.6.1.1. Caractères généraux .....	21
II.6.1.2. La croissance .....	21
II.6.1.3. La nourriture .....	22
II.6.1.4. Coloration .....	22
II.6.2. <i>Cyprinus carpio</i> : .....	22
II.6.2.2. Les caractères .....	22
II.6.2.3. La nourriture .....	23
II.6.2.4. La croissance .....	23
II.6.2.5. La reproduction .....	23
II.7. Prélèvement des poissons : .....	23
II.8. Détermination des paramètres biométriques et sacrifice des poissons : .....	23
II.9. Préparation de la fraction cytosolique : .....	25
II.10. Dosage des biomarqueurs : .....	25
<del>II.10.1.</del> Dosage de l'activité catalase (CAT) dans le foie branchie intestin : .....	25
II.10.2. Dosage du malondialdéhyde MDA : .....	25
<del>II.10.3.</del> Dosage du glutathion (GSH) : .....	26
<del>II.10.4.</del> Mesure l'activité de la glutathion-S transférase (GST) cytosolique : .....	26
<del>II.10.5.</del> Dosage des protéines .....	27
II.10.6. Analyses statistiques .....	28
<b>Chapitre III : Résultats et interprétations</b> .....	29
III.1. Etude biométrique chez <i>Cyprinus carpio</i> et <i>Barbus barbus</i> : .....	29
III.2. Les bio marqueurs : .....	30
III.2.1. Le taux de MDA chez <i>Cyprinus carpio</i> et <i>Barbus barbus</i> : .....	30
<del>III.2.2.</del> L'activité Catalase chez <i>Cyprinus carpio</i> et <i>Barbus barbus</i> : .....	31
<del>III.2.3.</del> L'activité de Glutathion-S-Transférase chez <i>Cyprinus carpio</i> et <i>Barbus barbus</i> : .....	32
<del>III.2.4.</del> L'activité de Glutathion (GSH) : .....	33
<del>III.3.</del> Dosage des Protéines .....	34
III.1. Les concentrations des protéines dans <i>Cyprinus carpio</i> et <i>Barbus barbus</i> : .....	34
<b>Chapitre IV : Discussion</b> .....	36
<b>Conclusion</b> .....	40
<b>Les références bibliographiques</b>	

## Liste de tableaux

<b>Tableau 1</b> : Principaux types de pollutions des eaux, leur nature et leur cause.....	3
<b>Tableau 2</b> : les stratégies de la biosurveillance .....	6
<b>Tableau 3</b> : Exemple de classification des biomarqueurs .....	11
<b>Tableau 4</b> : les températures et les précipitations moyennes mensuelles (septembre 2003- janvier 2011) .....	20
<b>Tableau 5</b> : La taxonomie du <i>Barbus barbuis</i> .....	21
<b>Tableau 6</b> : La taxonomie du <i>Cyprinus carpio</i> .....	22
<b>Tableau 7</b> : Dosage de la catalase. ....	25
<b>Tableau 8</b> Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.....	27
<b>Tableau 9</b> : Paramètres biométriques mesurés chez les males et les femelles de <i>Cyprinus carpio</i> et <i>Barbus barbuis</i> .....	29
<b>Tableau 10</b> : l'activité des MDA( $\mu\text{m}/\text{mg}$ de protéines) mesurés dans les males et les femelles de <i>Barbus barbuis</i> et <i>Cyprinus carpio</i> .....	31
<b>Tableau 11</b> :L'activité de la Catalase ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) dans les males et les femelles de <i>Barbus barbuis</i> et <i>Cyprinus carpio</i> : .....	32
<b>Tableau 12</b> : Valeurs moyennes de l'activité GST chez les males et les femelles de <i>Barbus barbuis</i> et <i>cyprinus carpio</i> : .....	33
<b>Tableau 13</b> : concentrations moyennes des protéines (mg/100g de tissus) chez les males et les femelles de <i>Barbus barbuis</i> et <i>Cyprinus carpio</i> .....	34
<b>Tableau 14</b> : concentration des GSH( $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéines ) dans les males et les femelles de <i>Barbus barbuis</i> et <i>Cyprinus carpio</i> :.....	35

## Liste de figures

Figure 1 : Représentation schématique des différents types de paramètres mesurables dans le milieu physique et à différents niveaux d'organisation biologique pour évaluer l'état de l'environnement (Amiard, 1994).....	5
Figure 2: Schéma des différentes formes de ROS.....	12
Figure 3: Dismutation de l'anion superoxyde par les SOD.....	14
Figure 4: Eliminaion du H2O2 par les réactions enzymatiques combinées de la GPx et de la GR.....	14
Figure 5: Découpage du bassin versant de Kébir Rhumel .....	18
Figure 6: diagramme ombro-thermique du Gaussen. P : précipitations mensuelles. T : températures mensuelles.....	20
Figure 7 : Diagramme expliquant les différentes analyses effectuées sur les deux especes <i>Cyprinus carpio</i> et <i>Barbus barbuis</i> .....	24
Figure 0 :Schéma représentatif de seuil de signification.....	28
Figure 08 : Paramètres biométriques chez les males et les femelles de <i>Cyprinus carpio</i> et <i>Barbus barbuis</i> .Poids et longueur. ....	30
Figure09 : le taux des MDA( $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéines) mesurés dans les males et les femelles de <i>Barbus barbuis</i> et <i>Cyprinus carpio</i> : .....	31
Figure 10 : L'activité de la Catalase ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) des organes males et femelles de <i>Barbus barbuis</i> et <i>Cyprinus carpio</i> :.....	32
Figure11 : l'activité de GST (nm/Mn/mg de protéines) des organes males et femelles des <i>Cyprinus carpio</i> et <i>Barbus barbuis</i> . ....	33
Figure12: la teneur en GSH( $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéines ) des organes des males et des femelles de <i>Barbus barbuis</i> et <i>Cyprinus carpio</i> : .....	34
Figure13 : les concentrations des protéines (mg/100 de tissus )des organes males et femelles des <i>Cyprinus carpio</i> et <i>Barbus barbuis</i> . ....	35

## *Liste des abréviations*

$H_2O$  : molécule d'eau  
 $H_2O_2$  : peroxyde d'hydrogène  
 $ONOO^-$  :peroxynitrite  
 $OH^\circ$  :radical libre  
OGM :organisme génétiquement modifier  
HAP :hydrocarbure aromatique polycyclique  
PCB : les polychlorobiphényles  
TCDD :la 2,3,7,8,-tétrachlorodibenzo-p-dioxine .  
PBB :les diphényles polybromés.  
ppm : partie par million.

SAA : Spectrophotométrie d'absorption atomique.

BM : : biomarqueur

SOD :superoxydes-dismutases  
GST : glutathion S-transférases  
GSH : : glutathion  
MT : : métallothionéine  
CAT :catalase  
MDA : L acide Malone dialdéhyde  
AchE : : acétylcholinestérases  
GRD : la glutathion réductase  
GPX : glutathion peroxydases  
ROS : Reactive Oxygen Species

EOR : espèces oxygénées réactives  
TBA : acide thiobarbiturique .

TNB : thionitrobenzoïque

TCA : d'acide trichloracétique

DTNB : acide 5, 5'-Dithiobis-2-nitrobenzoïque  
CDNB : le 1-chloro- 2,4-dinitrobenzène .  
BBC : bleu brillant de Coomassie  
BSA : l'albumine de sérum de bœuf  
Kcl : Chlorur de potassium.  
ANOVA : : l'analyse de la variance.  
PM :probabilité male.  
PF :probabilité femelle.  
Cu : Le cuivre  
Zn : le zinc  
Mn : le manganèse  
Se : le sélénium  
Fe : le fer  
TCP :Trichlorophénol  
DCP :Dichlorophénol

# Introduction



## Introduction

L'importance de l'eau dans l'économie humaine ne cesse de croître et l'approvisionnement devient ainsi de plus en plus difficile, tant en raison de l'accroissement de la population et de son niveau de vie que du développement accéléré des techniques industrielles modernes. Sous la pression des besoins considérables de la civilisation moderne on est passé de l'emploi des eaux de sources et des nappes à une utilisation de plus en plus poussée des eaux de surface ( **Rodier, 2009** )

L'eau douce est de l'eau ne contenant pratiquement pas de sel. On peut la trouver dans les rivières, les fleuves, les lacs, les glaciers et les barrages mais aussi dans l'air et dans le sol (nappes souterraines). Les industries sont aussi en cause dans la pollution des eaux douces. En effet, les industries rejettent beaucoup de déchets chimiques dans les eaux. L'agriculture participe aussi à la pollution des eaux douces. Les agriculteurs utilisent très souvent des produits chimiques pour aider leurs cultures à pousser

L'eau représente un vecteur important entre l'environnement et l'homme. Elle constitue le principal véhicule des effluents d'origines divers (fertilisants, métaux lourds, pesticides), des microorganismes et des molécules biologiquement actives ( **Emoto, 2002** ).

Aujourd'hui, la qualité de l'eau est au cœur de l'actualité sociale et médiatique et les risques véhiculés par l'eau représentent une préoccupation planétaire qu'il s'agisse de risques aigus ou de risques chroniques avec la problématique difficile des conséquences pour la santé humaine des faibles doses répétées de toxiques cumulatifs ou additifs. La situation actuelle est déjà inquiétante, dans le monde, il y'a environ 2,3 millions d'habitants atteints de maladies liées à l'eau ( **WHO, 1992** ). Les maladies hydriques également appelées maladies «de l'eau sale» sont le résultat de la contamination de l'eau par des déchets humains, animaux et chimiques. Ces maladies causent, estime-t-on, 12 millions de morts par an, la plupart des victimes sont des enfants vivants dans des pays en développement ( **UNESCO, 2003** ) telle situation fait apparaître la nécessité de surveiller l'environnement aquatique.

- Les analyses physicochimiques des eaux et des sédiments d'un milieu aquatique donnent des informations précieuses sur les niveaux de polluants chimiques ( **Bozcaarmutlu al , 2009** ). Mais ces analyses restent insuffisantes, car elles ne prennent généralement pas en compte les notions de mélanges, des interactions possibles, de spéciation ou de biodisponibilité des polluants et les effets sur les organismes vivants dans un milieu complexe comme l'eau ( **Ozmen et al, 2006** ).
- L'utilisation potentielle des organismes vivants y compris les poissons pour surveiller la qualité de l'environnement aquatique et évaluer son état sanitaire est une approche importante qui a attiré une attention particulière au cours de ces dernières années ( **Minier et al, 2006** ).

- La bioaccumulation des substances toxiques dans les poissons peut déclencher des réactions d'oxydo-réduction générateurs des espèces réactives de l'oxygène

(ROS) qui induit des modifications morphologiques et physiologiques dans les différents tissus (**Lopez-Torres et al, 1993**). Ces modifications peuvent avoir des conséquences dramatiques sur ces derniers. Pour se protéger aux agressions des radicaux libres oxygénés, les poissons développent des systèmes de défense enzymatiques et non enzymatiques et en particulier celles impliquées dans les systèmes de biotransformation des xénobiotiques(**Dautremepuits et al, 2009**).

En conséquence la santé des organismes aquatique est liée à leurs aptitude à gérer les conséquences du stress oxydatif , cette aptitude dépend de leur capacité à mobiliser ses systèmes de défenses antioxydantes.Certaines de ces systèmes de défense enzymatiques( la catalase et la glutathion-S-transférase ) et non enzymatiques (le glutathion) peuvent constituer des bons bio-indicateurs moléculaires de la réponse des populations à une exposition chroniques aux différents polluants(**Ozmen et al, 2008**).

L'objectif principale de notre travail vise à une biosurveillance de la qualité des eaux du barrage Beni Haroun, pour réaliser cette étude, nous avons procédé à un suivi de la réponse biochimique à la pollution en utilisant des bio marqueurs enzymatiques (la catalase, la glutathion –S-transférase) et non enzymatiques (la peroxydation lipidique, le glutathion) du stress oxydant cytosolique dans les différents tissus ( foie ,branchies, et intestins) des deux espèces de poissons *cyprinus carpio* et *Barbus barbus* considérées comme abondants dans ce milieu.

Notre étude s'articule sur quatre chapitres principaux :

- Le premier chapitre s'attachera à l'étude bibliographique de la pollution des eaux, biomarqueurs, et stress oxydant.
- Le deuxième chapitre sera rapporté à une étude expérimentale et les techniques d'analyse.
- Le troisième chapitre sera consacré aux résultats et leur interprétation.
- Le quatrième chapitre sera réservé à la discussion des résultats obtenus.
- En fin, le travail sera clôturé par une conclusion générale.

# Synthèse bibliographique

## **I.1. Généralités :**

Depuis la plus haute antiquité, l'eau, élément indispensable à toute vie sur notre planète a du être maîtrisée par les hommes pour satisfaire aux différents usages qu'il en a fait au cours des temps (Gérard ,1999). L'eau est une ressource très répartie dans l'espace et le temps. En effet, plus de 97% de l'eau de la planète est constituée d'eau salée (océans et mer ) pour moins de 3% d'eau douce. Cette eau douce est elle-même répartie à 78% sous forme de glace (calottes polaires et glaciers ) et seulement 22% à l'état liquide. Le cycle de l'eau fonctionne selon le principe de la distillation : évaporation, transfert de la vapeur d'eau, condensation et précipitation. Il joue deux grands rôles : d'une part, il permet à l'eau d'être une ressource renouvelable et d'autre part, il contribue à la régularisation des climats par des transferts d'énergie (Alain et Alain, 2005).

### **I.1.1.Définition des pollutions :**

La définition de la pollution la plus précise est celle publiée dans un rapport rédigé au tout début de la prise en considération par les pouvoirs publics des pays développés de l'importance capitale que revêtait la protection de l'environnement pour assurer le bien-être des population actuelles et plus encore des générations futures(Ramad, 2003 ;Ramad, 2002).

« La pollution, dit ce rapport, est une modification défavorable du milieu naturel qui apparait en totalité ou en partie comme un sous-produit de l'action humaine, au travers d'effets directs ou indirect altérant les critères de répartition des flux de l'énergie, des niveaux de radiation, de la constitution physico-chimique du milieu naturel et de l'abondance des espèces vivantes. Ces modifications peuvent affecter l'homme directement ou au travers des ressources agricoles, en eau et autres produits biologiques. Elles peuvent aussi l'affecter en altérant les objets physiques qu'il possède, les possibilités récréatives du milieu ou encore en enlaidissant la nature »(Ramad, 2003).

### **I.1.2 .Pollution des eaux :**

Le problème de la pollution des eaux représente sans aucun doute un des aspects les plus inquiétants de la crise globale de l'environnement. En effet, à la différence de divers phénomènes de pollution qui ne constituent qu'une menace potentielle susceptible d'affecter à l'avenir les activités humaines, la crise de l'eau sévit déjà depuis longtemps et avec une gravité sans cesse accrue, (Ramad, 2002).

### **I.1.3.Classification des pollutions :**

La classification des pollutions n'est pas une entreprise aisée car on peut la réaliser à partir de nombreux critères, mais aucun n'est entièrement satisfaisant. On peut tout d'abord grouper les agents polluants selon leur nature. On distinguera donc des agents physiques (rayonnements ionisants, réchauffement artificiel du milieu ambiant dû à une source de chaleur technologique), chimiques (substances minérales, organiques abiotiques ou encore de nature biochimique), enfin biologiques

(microorganismes pathogènes, population d'espèces exotiques invasives introduites artificiellement par l'homme et en date récente l'apparition de nouveaux problèmes liés à la pollution de l'espace rural par les OGM, etc.) (**Alainet Alain, 2005; Debieche, 2002**). On peut aussi se placer d'un point de vue toxicologique et considérer le milieu ou la manière par laquelle ils contaminent les organismes. On distinguera ainsi selon la voie de contamination des polluants par inhalation (voir respiratoire), par contact (voie transtégumentaire) ou encore par ingestion (voie trophique). Chez les végétaux, cela correspond à l'absorption stomatale, transfoliaire et transradiculaire. Chez les animaux on peut distinguer une contamination pulmonaire (chez les espèces terrestres), par absorption transbranchiale (chez les espèces aquatiques), transcutanée à la suite du contact de la peau ou du tégument avec les polluants, enfin par ingestion (**Ramad,2003**). ( tableau 01 ).

**TABLEAU 01 : Principaux types de pollutions des eaux, leur nature et leur cause : (Lu ,1992 ; Ramad, 2002 ; Gérard, 1999 ; Alain et Alain, 2005).**

Type de pollution	Nature physicochimique	Source ou agent causal
1. Physique ; Pollution thermique ; pollution radioactive ; Pollution nucléaire.	Rejet d'eaux chaudes ; Radio-isotope ; Turbidité de l'eau.	Centrales électriques ; Installation nucléaires ; Cimenteries.
2. Chimique ; Pollution par les fertilisants (engrais) ;  Pollution par des éléments toxiques (métaux et métalloïdes) ; Pollution par les pesticides  Pollution par les détergents ;  Pollution par les hydrocarbures ;  Pollution par les composés Organochlorés ;  Pollution par les divers autres ; Composés organiques de synthèse.	Nitrates, Phosphates, sels ammoniacaux ;  Cadmium, mercure, plomb, aluminium, Arsenic, etc ;  insecticides, herbicides, fongicides, etc.  Agents tensioactifs ;  Pétrole brut et ses dérivés (carburants et Autres produits raffinés), benzène, HAP, hydrocarbures hétérocycliques naphénique ;  PCB, insecticides, Solvants chlorés, PBB, TCDD, chlorophénols ;  Très nombreuses molécules > 12 000.	Agriculture, Lessives ;  Industrie, agriculture ; combustion (pluies acides) ;  Agriculture (industries, transports) ; Traitement des talles d'infrastructures ;  Effluents domestique ; (industriels)  Industrie pétrolière, transports ; Chaufferies industrielles ; Combustion incomplète ;  Industrie, agriculture ;  Industrie, usager dispersifs en particulier domestique pour certains.
3. Matière organique Fermentescibles.	Glucides, lipides, protides, acides nucléiques, ester phtaliques.	Effluents domestique, agricoles, industries agroalimentaires, industries du bois (papeteries.)
4. Pollution microbiologique.	Bactéries, virus entérique, champignons.	Effluents urbains, élevage, abattoir, secteur agroalimentaire ; En général, laitent conservées.

## I.2. La biosurveillance :

Le concept de biosurveillance (ou bio monitoring, selon le terme anglo-saxon consacré), qui repose sur l'étude de la réponse biologique des organismes aux polluants, est aujourd'hui en plein essor. Les effets biologiques des polluants peuvent en effet être assimilés à des biomarqueurs de pollution dans le règne animal et végétal. La caractérisation de ces marqueurs peut permettre la mise en évidence précoce de pollution avant l'altération de la structure des organismes, et surtout avant que toute la population ou l'écosystème soit perturbé. On utilise donc la grande sensibilité des méthodes de biosurveillance pour évaluer la dégradation de certains milieux, mais surtout pour contrôler la santé de milieux de bonne qualité afin d'intervenir rapidement dès l'apparition d'altérations mineures (Le Bras gabriel, 2007; Namour, 1992). La biosurveillance, présente l'avantage de rendre compte de la biodisponibilité des polluants *in situ* (Forbes & Forbes, 1997 ; Benard, 2004).

### I.2.1. La surveillance de la qualité de l'environnement :

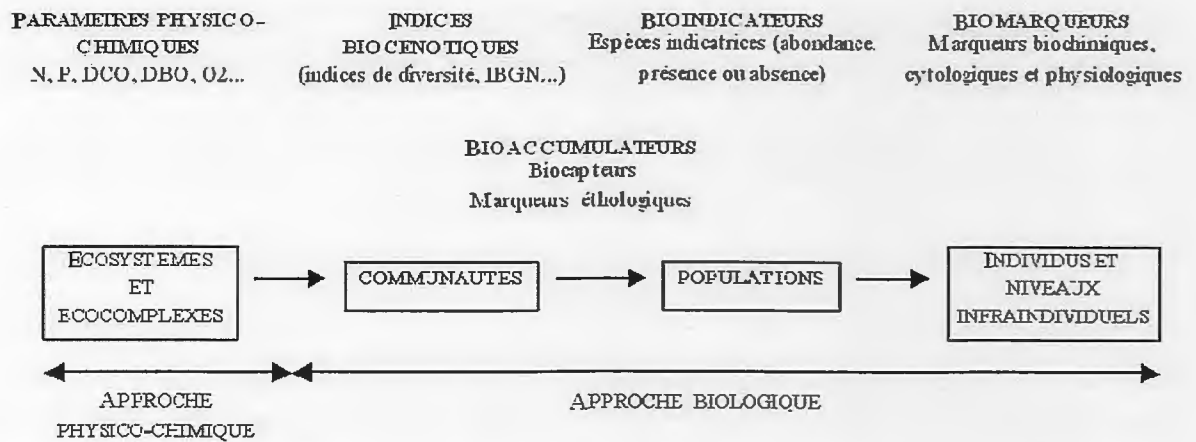
Il est parfois d'usage de faire une distinction d'une part entre le *monitoring* chimique dont l'objet est de déterminer le niveau de contamination de tel ou tel polluant des biotopes et des biomasses et de l'autre *monitoring* biologique dont l'objet est d'évaluer l'impact à un instant donné ou en fonction du temps de la pollution de l'environnement sur les populations, les communautés voire les biocénoses exposées (Ramad, 2007 ; Lagadic et Caquet, 1996) (Figure 01).

Holdgate (1979) avait déjà précisé les divers types d'information que l'on peut obtenir à partir d'un monitoring bien conçu et bien réalisé. Parmi un grand nombre d'applications possibles, trois catégories de données sont généralement recherchées.

- Taux de libération des polluants dans les milieux récepteurs et/ou présumés contaminés ;
- Degré de variation de la contamination environnementale ;
- Effets bioécologiques.

Le *monitoring* concerne donc en définitif deux types de démarches différentes :

- La détermination de la mesure des niveaux de contamination des biotopes ainsi que les populations végétales et/ou animales exposées ;
- L'évaluation des effets écotoxicologiques résultant *in situ* de pollution ainsi détectée sur les peuplements voire les biocénoses tout entières qui y sont exposées (Ramad, 2007).



**Figure 1** : Représentation schématique des différents types de paramètres mesurables dans le milieu physique et à différents niveaux d'organisation biologique pour évaluer l'état de l'environnement (Amiard, 1994).

### I.2.2. Les principes de biosurveillance :

On distingue deux principes de biosurveillance:

1- La bio-surveillance dite sensible, qui utilise des organismes qui répondent au stress causé par la pollution. La mesure de celle-ci définit trois concepts :

Le bio-marqueur qui se situe au niveau infra-individuel, le bio-indicateur qui se situe au niveau individuel et le bio-intégrateur qui se situe au niveau de la population et/ou de la communauté (Gonzalez et Pignata, 1997 ; Saitanis et Karandinos, 2001 ; Pierrittori et Maffei, 2001).

2- La bio-surveillance par accumulation, qui utilise des organismes qui ont la capacité de stocker les polluants dans leurs tissus (bio-accumulateurs) suite à des mécanismes de fixation et de transfert. Le bio-accumulateur sert ici de matrice de dosage des différents polluants. Il doit répondre aux spécifications suivantes :

Accumuler les polluants et ce, sans disparaître ;

Fournir suffisamment de tissus pour l'analyse ;

Avoir un facteur concentration suffisant pour pouvoir être analysé directement sans pré-concentration ;

Présenter une concentration du polluant représentative du niveau de contamination de l'environnement. (Conti et Cecchetti, 2001).

### I.2.3. La stratégie de la bio-surveillance :

On distingue principalement deux stratégies de mise en œuvre de la bio-surveillance, (tableau 02) (Gailei et Lloyd, 2000).



**Tableau 02:**les stratégies de la biosurveillance :

<i>In situ</i>	Transplants
Les résultats peuvent être obtenus en quelques jours.	Les temps d'exposition des transplants sont plus longs.
Les résultats démontrent la pollution des années précédentes.	Les résultats illustrent la pollution pendant la période d'exposition.
Les niveaux accumulés sont habituellement au-dessus des limites de détection (taux d'exposition plus long).	Les concentrations accumulées peuvent être indétectables sur une période d'exposition trop courte.
Faible surveillance, peu de risques de vandalisme.	Risque potentiel de vandalisme.
Coûts liés aux transports vers les sites de prélèvement et aux analyses chimiques.	Coûts supplémentaires relatifs aux matériaux et au temps de préparation des transplants avant exposition.
Manque potentiel d'échantillons indigènes pour obtenir une couverture géographique suffisante.	La densité des points de prélèvement le nombre de transplants et les conditions d'étude sont contrôlées.
Taux de dépôt de pollution difficiles à estimer.	Les taux de dépôt sont calculés à partir du temps d'exposition qui est contrôlé.
Les concentrations reflètent les influences d'autres facteurs tels que l'âge de l'individu, la teneur en métal du substrat et la contamination locale.	Les concentrations des polluants dans les transplants peuvent être plus directement liées à la pollution atmosphérique.
Les plantes peuvent être soumises à un stress ou subir des changements de morphologie/physiologie qui affectent l'absorption (exposition à certains polluant sur le long terme).	Les transplants sont originaires d'environnements propres.

#### **I.2.4. Monitoring des polluants dans les écosystèmes :**

Historiquement, le premier type de mesure ayant donné lieu à un monitoring des polluants a eu pour objet de leurs concentrations dans les biotopes en particulier dans l'air, les eaux et les sols, c'est-à-dire dans la composante abiotique des écosystèmes. Se limiter à la connaissance des concentrations des polluants dans un biotope donné ou\ et des populations d'espèces critiques sans évaluer leurs effets écologiques conduit à ignorer bien des problèmes majeurs sous-jacents. En effet, connaître la concentration d'un polluant dans un biotope donné ou dans un tel ou tel organisme échantillonné n'apporte aucune information sur l'impact biologique réel de ce

dernier, une même concentration d'un polluant dans l'eau, dans les sols, ou encore dans la biomasse peut avoir des conséquences très différentes selon la valeur moyenne des facteurs écologiques dans l'écosystème considéré (Aarab, 2004).

De façon plus générale, la mesure périodique à intervalles réguliers mais espacés dans le temps peut ignorer une concentration significative d'un contaminant ayant atteint occasionnellement une forte valeur (Bozcaarmutlu, et al, 2009). On constate que dans la majorité des cas, le monitoring s'est consacré jusqu'à une date récente à la détection des polluants dans l'environnement, en particulier des concentrations présentes dans les biotopes / air, sol, eau et sédiments, ainsi que la répartition spatiotemporelle.

Le *monitoring* biologique est destiné à évaluer la nature et l'importance des effets écotoxicologiques des polluants dans l'environnement constitue l'autre facette incontournable de la surveillance permanente de la pollution environnementale, tout aussi essentielle que le *monitoring* chimique (Amiard et al., 1998 ; Ramad, 2007).

#### **I.2.4.1. Les activités de monitoring biologique :**

Le monitoring biologique peut être subdivisé en trois groupes d'activité :

- Détecter les effets des polluants sur des espèces bios indicatrices aux travers des critères d'abondance relative et/ ou de présence – absence, ainsi que les changements dans la structure des peuplements critiques ou des communautés ;
- Evaluer les effets des polluants sur les organismes et, mettre en relation avec les concentrations observées dans ces derniers et d'autres indicateurs abiotiques et biotiques ;
- Détecter l'éventuelle existence de souches naturelles résistantes parmi les espèces pollutolérantes qui peuvent avoir développé une résistance aux polluants. (Ramad, 2007).

#### **I.2.4.2. Les règles de monitoring biologiques :**

Les règles de *monitoring* biologiques Sont fondées la référence à divers critères de base. Ainsi (Ramad, 2007) a défini cinq règles du *biomonitoring* :

**1. Pertinence** du programme de *monitoring* relativement à l'environnement concerné par exemple les espèces de référence doivent être prises parmi celles qui présentent une importance écologique dans l'écosystème concerné.

**2. Significativité** : pour que le monitoring conduise à des résultats significatifs, l'espèce choisie doit être sédentaire et représentative de la zone où a lieu le prélèvement. Il est opportun néanmoins qu'elle ait une aire de répartition géographique large. (Buttler et al., 1971).

**3. Robustesse** : les espèces de référence choisies pour le *biomonitoring* doivent être des bio-indicateurs positifs de pollution afin de pouvoir supporter une exposition aux contaminants faisant l'objet d'un suivi sans pour autant présenter une létalité aux concentrations ambiantes (Ramad, 2007 ; Perez et al, 2000).

**4. Réponse :** la corrélation entre l'exposition et la réponse des organismes servant de références pour le *monitoring* doit être mesurable et proportionnelle à l'intensité de la contamination du biotope par le polluant considéré.

**5. reproductibilité :** les organismes de références devraient produire la même réponse partout où ils sont utilisés avec pertinence. La réponse devrait être proportionnée avec le niveau de contamination (**Ramad, 2007**).

### **I.2.5. Utilisation des bioindicateurs pour évaluer la santé de l'environnement**

Selon **Guelorget et Perthuisot(1984)** les bio indicateurs sont considérés comme des espèces ou groupes d'espèces qui, par leurs présence et/ou leurs abondance, sont significatifs d'une ou de plusieurs propriétés de l'écosystème dont ils font partie.

Pour évaluer la qualité de l'environnement, une attention particulière doit être accordée à deux types d'espèces, Les espèces bio-accumulatrices et les espèces sentinelles, notamment parce qu'elles permettent de faire le lien entre bio-indicateurs et bio-marqueurs. (**Lagadic et al, 1998 ; Ramad, 2000**).

#### **I.2.5.1. Les espèces bioaccumulatrices :**

Elles présentent, par leurs mode de vie et/ou leurs caractéristiques physiologiques et métaboliques, la capacité de bio accumuler certains contaminants directement à partir du milieu ambiant ou par d'autre voies (nourriture par exemple) jusqu'à des niveaux nettement supérieurs au niveau de contamination du milieu physique (eau, sédiments, et atmosphère).(**Lagadic et al,1998 ;Ramad,2000 ; Amiard et al., 1998**).

Deux processus sont responsables de la bioaccumulation des xénobiotiques dans les organismes ; d'une part la bioconcentration qui est un transfert direct à partir du milieu environnant (eau, sédiments, particules en suspension, etc.) et d'autre part ; la bioamplification qui résulte du transfert de molécule chimiques par voie trophique (**Ramad, 1979 ; Amiard et Amiard ,1980**).

#### **I.2.5.2. Les espèces sentinelles :**

Il s'agit de toute espèce vivante susceptible d'être utilisée en tant qu'indicateur de la présence et de la toxicité d'au moins un contaminant, et qui permet d'évaluer les effets potentiels de ce contaminant sur la santé humaine et/ou celle de l'environnement (**Lower et Kendall, 1990 ; Shoffield et Kendell, 1997**).

### **I.2.6. Utilisation des espèces bio accumulatrice dans les biotopes aquatiques :**

Dans les écosystèmes limniques (eaux douces continentales) et marin, diverses espèces végétales ou animales constitue d'excellents indicateurs de pollution utilisable pour le monitoring par leur fort potentiel de bioaccumulation(**Lagadic et al, 1997a**).

### **I.2.6.1. Les macrophytes aquatiques :**

Les algues les Bryophytes, les phanérogames amphibies ou hydrophytiques dans certains cas, présentent une forte aptitude à concentrer dans leurs tissus aussi bien des éléments minéraux que des composés organiques. Par exemple, la capacité métabolique des macrophytes exposés aux risque de pollution affaiblir les effets des polluants métalliques (Qunfang et al,2008).

### **I.2.6.2. Mollusques Lamellibranches :**

Ils constituent d'excellents indicateurs de contamination des eaux tant continentales que marines du fait de leur remarquable aptitude à la bioaccumulation. En plus leur caractère sédentaire, dû à leur particularité biologique d'organisme sessile est fort utile pour détecter la localisation précise de source de pollution (Ramad, 2007, Perez et al, 2000) .

### **I.2.6.3. Autres invertébrés aquatiques :**

Les annélides Hirudinés ont également été envisagés comme bio-indicateurs dans les écosystèmes limniques. Il a été en particulier observé que *Dina dubia* était capable d'accumuler des chlorophénols issus des effluents des usines à des concentrations comprises entre 5,35 ppm pour le 2,6 DCP et 13,6ppm pour le TCP.(Ramad ,2003).

### **I.2.6.4. Les poissons :**

En raison de leurs caractères biologiques spéciaux tels que la grande taille , la forte longévité, la facilité d'élevage ; leurs positions dans la chaine alimentaire ; et leurs relation directe avec la santé humaine, les poissons ont attirés beaucoup d'attentions dans la biosurveillance de la qualité des milieux aquatiques(Barillet ,2007). Le taux de létalité aiguë, la croissance, la reproduction, le métabolisme et la fécondité des poissons sont souvent utilisés pour la biomonitoring des milieux aquatiques (Barillet,2007).

Divers espèces des poissons tels que le poisson-zèbre, le médaka, les cyprins chinois rares, les Cyprinidés, les téléostéens des eaux douces ont été largement utilisées pour surveiller la qualité des milieux aquatiques , (Qunfang et al,2008 ; Labrot, 1996 ; van der Oost et al.,2003). C'est pourquoi un fort intérêt a été porté aux poissons dans le cadre d'études visant à estimer les réponses biologiques et biochimiques à des contaminations environnementales aquatiques (Powers, 1989).

### **I.2.7. Les bio-marqueurs :**

Un biomrqueur est un changement biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental qui peut être mesuré dans des tissus ou des fluides corporels ou au niveau de l'organisme entier qui met en évidence l'exposition à/ou les effets d'un ou

plusieurs polluants chimiques. (Depledge,1993 ; Lagadic et al, 1997a ;Ramad,1998 ; Amiard et Amiard-Triquet,2008).

#### **I.2.7.1.Les bio-marqueurs, des outils pour évaluer l'état de santé des individus :**

Les expérimentations en condition contrôlées ont largement démontré que les bio-marqueurs peuvent être utilisés pour évaluer l'exposition des individus à des xénobiotiques et, dans certain cas, les effets de ceux -ci sur les structures et les fonctions vitales de l'organisme ( Lagadic et al, 1997b).Ces bases expérimentales ont permis d'envisager l'utilisation des bio-marqueurs dans le milieu naturel, notamment dans le cadre des programmes de surveillance de la qualité de l'environnement. Les bio-marqueurs sont en effet des éléments de l'évaluation biologique dans la mesure où ils peuvent fournir des informations sur l'état de santé des individus. (Depledge, 1994). Certains bio-marqueurs peuvent indiquer des lésions ou des dysfonctionnements physiologiques chez les espèces bio-indicatrices, aussi bien d'ailleurs que chez ceux d'espèces qui ne sont pas habituellement utilisées comme bio-indicateurs.(Lagadic et al, 1998).

#### **I.2.7.2.Classification des bio-marqueurs :**

On peut distinguer trois types de bio- marqueurs : les bio marqueurs d'exposition à un xénobiotique les bio-marqueurs d'effets et les bio- marqueurs de sensibilité aux effets (Tableau 03) (Timbrell *et al.*, 1994 ; Lagadic et al., 1997 ; van der Oost et al., 2003).

**Tableau 03 :** Exemple de classification des biomarqueurs. ( *Cajaraville et al., 2000; Lagadic et al., 1997; NAS/NRC, 1989* ).

Catégorie	Description	Exemples
BM d'exposition à un xénobiotique	Témoin de la pénétration du polluant dans l'organisme, souvent le résultat d'une interaction polluant / molécules biologiques dans les tissus ou fluides corporels	Conjugaison au GSH, formation d'adduits à l'ADN, induction des MT
BM d'effet	Témoin de l'amplitude d'un effet, toxique ou non, sur une cible critique, après entrée et distribution du xénobiotique dans l'organisme (= BM de stress général + BM spécifiques d'une classe de xénobiotiques)	Cassures à l'ADN, enzymes du stress oxydant, réponses lysosomales
BM de sensibilité	Témoin de variations génétiques de la réponse à la contamination par les polluants. Lorsque cette sensibilité est faible, après sélection par des molécules toxiques : BM de résistance	Augmentation de la quantité de GST, baisse de sensibilité des AChE (résistance aux insecticides)

Abréviations : AChE : acétylcholinestérases ; BM : biomarqueur ; GSH : glutathion ; GST : glutathion S-transférases ; MT : métallothionéine.

### I.3. Le stress oxydant :

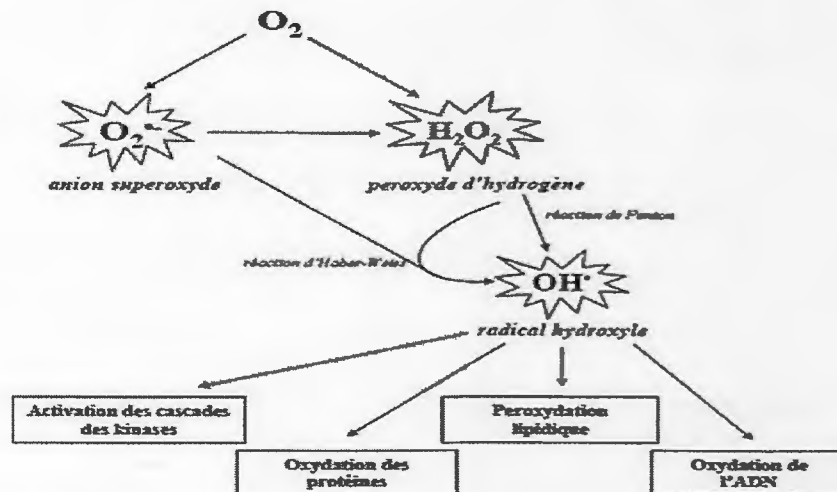
#### I.3.1. Définition :

Pour définir le stress oxydant il faut avant tout définir ce que sont les 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* ). (Figure 02).

L'O<sub>2</sub> est une molécule biradicalaire formée de deux atomes présentant sur leur orbitale externe deux électrons non appariés. Il est donc susceptible de capter facilement 1 puis 2 électrons pour être partiellement réduit en O<sub>2</sub><sup>-</sup> puis en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Il est

ainsi à l'origine de la formation d'espèces réactives oxygénées (Reactive Oxygen Species : ROS)

L'appellation ROS inclut les radicaux libres de l'oxygène : anion superoxyde Radical hydroxyle ( $\text{OH}^\bullet$ ) mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (Garait, 2006).



**Figure 2** : Schéma des différentes formes de ROS (Garait, 2006).

Donc, Le stress oxydant représente l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées réactives(EOR), en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants (Koechlin-Ramonatxo,2006), de la désorganisation des membranes, par peroxydation des lipides, à l'oxydation des protéines et de l'ADN (mutations), l'atteinte moléculaire lors d'un stress oxydant aboutit à une altération de la signalisation cellulaire, favorisant des processus de catabolisme et de mort cellulaire (atrophie, cachexie) à l'origine d'une altération même de la fonction d'un organe. (Lu, 1992; Amiard et Amiard, 2008). Les modifications génomiques, métaboliques et fonctionnelles induites par un stress oxydant ont été impliquées dans le développement de différentes pathologies(Amiard et Amiard, 2008).

### I.3.2. Le stress oxydant et la pollution :

L'étude des effets biologiques des polluants sur les organismes est une approche fondamentale nécessaire pour évaluer les effets des perturbations d'origines anthropiques. De nombreux xénobiotiques tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les polychlorobiphényles (PCB), les métaux ou encore certains pesticides sont connus pour exercer leurs effets délétères par le biais de la formation d'espèces réactives de l'oxygène(ROS) (Di Giulio et al, 1989; Livingstone, 2001).

La présence des ROS peut engendrer un stress oxydant qui peut conduire à des effets cellulaires transitoires ou permanents au niveau des protéines, des lipides ou encore de l'ADN (Di Giulio et al, 1989). L'augmentation ou la réduction des taux

de ROS induites par les polluants dépend de la balance entre les systèmes pro-oxydants et les systèmes antioxydants. En effet, les organismes aérobies ont développé des systèmes antioxydants qui leur permettent de faire face à la production de ROS tant endogène qu'exogène. Les systèmes antioxydants sont donc des systèmes de défenses antitoxiques. En milieu aquatique, de nombreuses études ont montré que les systèmes de défenses antioxydantes sont des biomarqueurs capables de révéler précocement les effets des xénobiotiques exerçant leur toxicité via un stress oxydant (**Van der Oost et al. ; 2003**). Selon la durée et l'intensité de la charge toxique pro-oxydante, les systèmes de défense antioxydants peuvent n'être induits que lors de la première phase de la réponse des organismes aux xénobiotiques, et il n'est pas rare de n'observer aucune variation, voire des réponses transitoires avant l'apparition de mécanismes adaptatifs (**Amiard J et Amiard C, 2008 ; Halliwell , 1994 ; Bélanger , 2007 ; Badeau , 2006**).

Parmi les défenses antioxydantes les plus étudiées on retrouve d'une part des activités enzymatiques telles que les superoxydes dismutases (SOD), La catalase (CAT), les glutathion peroxydases (GPx) ou la glutathion réductase (GRD) et d'autre part des antioxydants de faible poids moléculaire tels que le glutathion réduit (GSH) et les vitamines E ( $\alpha$ -tocophérol), B ( $\beta$ -carotène) ou C (ascorbate) (**Stegeman et al. ; 1992 ; López-Torres et al. , 1993 ; ( Amiard J et Amiard C, 2008)**).

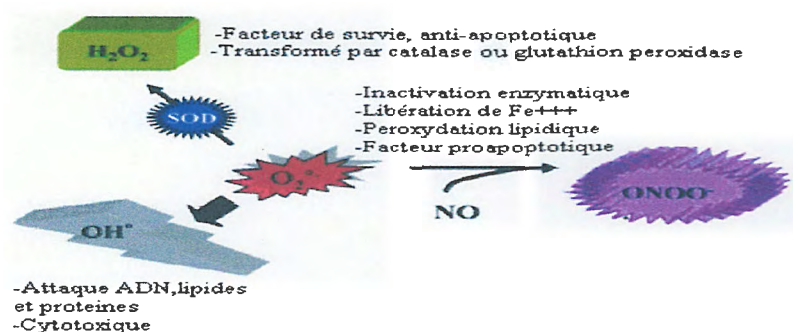
#### **I.3.2.1. Systèmes antioxydants enzymatiques :**

Plusieurs enzymes sont impliquées dans la défense antioxydante. Les trois enzymes antioxydantes majeures sont la superoxyde dismutasé (SOD), la catalase (CAT), et la glutathion peroxydase (GPx). Aussi bien l'activité que l'expression des gènes codants pour ces enzymes peuvent être augmentées lors d'un stress oxydant (**Moffart et al, 2005**).

##### **I.3.2.1.1. Superoxyde dismutases (SOD) :**

Les superoxydes dismutases (SOD) constituent un des systèmes majeurs de défense cellulaire combattant les effets toxiques de l'oxygène. Ces enzymes sont capables d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation. Leur rôle est de transformer dans les mitochondries les radicaux superoxydes en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) évitant ainsi la formation de dérivés plus toxiques comme la peroxynitrite ( $ONOO^-$ ) ou le radical hydroxyle ( $HO^\cdot$ ) (**Soares , 2005 ; Gueye , 2007 ; Hadi , 2004**). (Figure 03).

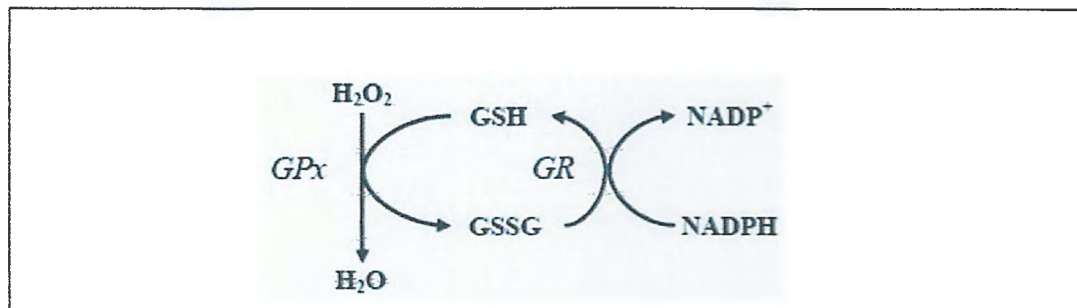




**Figure3** : Dismutation de l'anion superoxyde par les SOD ( Hancock et al 2001).

### I.3.2.1.2. Glutathion peroxydase (GPx) :

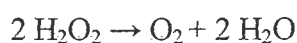
Les glutathion peroxydases (GPx) agissent en synergie avec les SOD puisqu'elles prennent en charge le  $H_2O_2$  produit à leur niveau en réduisant ce dernier en  $H_2O$ . Elle font partie d'un système complet qui joue un rôle central, non seulement dans le mécanisme d'élimination de  $H_2O_2$  mais également dans la prise en charge des lipides peroxydés( Daum-Badouard, 2006)(Figure 04).



**Figure 04**: Elimination du  $H_2O_2$  par les réactions enzymatiques combinées de la GPx et de la GR.

### I.3.2.1.3L'activité catalase :

Les catalases catalysent la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire.(Morel et Barouki , 1998 ;Chabaud , 2007 ;Coulon , 2004). selon la réaction



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 et Favier , 1997).

Toutefois, ces enzymes semblent jouer un rôle important en présence d'une forte concentration de  $H_2O_2$  à la différence des GPx qui l'éliminent même en faible quantité (Daum-Badouard ,2006).

Ce sont des enzymes paroxysmales dont le rôle est de prévenir les peroxydations des molécules biologiques induites par l'eau oxygénée. Ces enzymes sont sensibles à certains contaminants inducteurs de stress oxydatif au niveau des membranes

cellulaires, comme les HAP, PCB, certains pesticides (**Livingstone et al., 1993**) et les métaux (**Labrot et al., 1996**).

### **I.3.2.2. Systèmes antioxydants non-enzymatiques :**

En plus des systèmes enzymatiques, la cellule peut disposer de l'appui de molécules anti-oxydantes capables de capter et détruire les molécules toxiques. Parmi celles-ci, certaines sont synthétisées par nos cellules, mais la plus part de ces composés sont des vitamines qui doivent nécessairement être apportées par l'alimentation (**Castronovo , 2003**).

Dans cette catégorie d'antioxydants nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), l'ubiquinone, le cytochrome C et les vitamines E et C. (**Garait , 2006**).

#### **I.3.2.2.1. Les oligoéléments :**

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique du cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium. Cependant, certains oligoéléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite, peuvent avoir une action prooxydante (**Garait , 2006**).

#### **I.3.2.2.2. Glutathion (GSH):**

Le glutathion est un tripeptide dont la concentration intracellulaire est importante de l'ordre de  $10^{-4}$  à  $10^{-3}$  mol/l (**Gardès-Albert et al, 2000**) . Il est riche en soufre ce qui lui confère son rôle de piègeur de radicaux libres jouant ainsi un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de coenzyme des GSHPX (**Garait, 2006 ; Haton, 2005 ; Goudable et Favier, 1997**). Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C, baissant ainsi les niveaux de peroxydation lipidique (**Fahn et Cohen , 1992**).

#### **I.3.2.2.3. Ubiquinone et cytochrome C :**

L'ubiquinone ou coenzyme Q<sub>10</sub> est une molécules dotée des propriétés antioxydantes particulièrement complexes (**Pincemail et Defraigne , 2003**).

En effet, sous sa forme réduite appelée « ubiquinol », le Q<sub>10</sub> protège les membranes de la peroxydation lipidique par une diminution de la formation et de la propagation de radicaux peroxydes. Le cytochrome C présent dans l'espace intermembranaire a un rôle de détoxification en captant l'électron libre O<sub>2</sub><sup>-</sup> produit au niveau de la chaîne respiratoire. Ainsi réduit, il cède cet électron au complexe III formant du cytochrome C oxydé et de H<sub>2</sub>O ( **Garait , 2006**).

#### **I.3.2.2.4. Vitamines E et vitamine C :**

La vitamine E (-tocophérol) et C (acide ascorbique) semblent être des plus importants dans la lutte contre le stress oxydant ( **Garait , 2006** ). La vitamine E étant liposoluble, elle est reconnue comme antioxydant grâce à sa capacité à inhiber les peroxydations lipidiques assurant ainsi la protection de la surface des lipoprotéines et des membranes cellulaires ( **Cuvelier et al, 2003 ; Curtay et Robin, 2000 ; Pincemail et al, 2002**).

La vitamine C – En plus de sa capacité à régénérer la vitamine E – est très efficace contre les radicaux peroxydes, hydroxydes et superoxydes ainsi que contre les peroxynitrites. Elle représente de ce fait, l'antioxydant hydrosoluble majeur ( **Curtay et Robin , 2000 ; Ré D B et al ,2005**).

#### **I.3.3. Autre types de biomarqueurs :**

##### **I.3.3.1 Acide Malonedialdéhyde MDA :**

Le taux de MDA (acide malonedialdéhyde) est un produit des réactions de préoxydation lipidique qui se forme lors de l'attaque des lipides polyinsaturés (de la famille n-6) par des espèces réactives de l'oxygène générées par certains contaminants (HAP, PCB, pesticides, métaux). Les hydro peroxydes ainsi formés se décomposent en intermédiaires radicalaires et en aldéhydes dont un des représentants les plus réactifs est le malonedialdéhyde (MDA). Le MDA est un agent alkylant puissant capable de réagir avec les macromolécules biologiques. Le dosage de ce composé présente donc un intérêt certain chez les animaux soumis à des contaminations multiples ( **Narbonne et al., 1991, Pellerin-Massicote, 1994**).

##### **I.3.3.2. La metallothioneine :**

Est une protéine présente en abondance dans les tissus parenchymateux des plantes et des animaux mais aussi des microorganismes. Beaucoup d'études ont montré que la MT joue un rôle dans le métabolisme de régulation du Cuivre et du Zinc ( **Sevérine et al,2000** ) totalement dépourvues d'acides aminés aromatiques et d'histidine ( **Cosson, 1992** ). La présence de ces métaux trace dans le milieu de vie des poissons a une incidence sur la synthèse de la protéine ( **Jebali et al , 2009** ).

##### **I.3.3.3. Activité glutathion S-Transférase :**

Les glutathion S-transférases représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles essentiellement cytotologiques, impliquées dans des opérations diverses de transports et de

biosynthèses intracellulaires ( **George et Buchanan, 1990**). Mais la fonction des GST la plus étudiée en ce qui concerne la prévention de la pollution dans l'environnement demeure leur activité de catalyser des réactions de conjugaison entre un peptide, le glutathion, et des

molécules réactives comportant des sites électrophiles, capables de réagir dangereusement avec des macromolécules comme les acides nucléiques (ARN, ADN). (**Mary-Laury ,2001**). La catalyse de cette conjugaison du glutathion avec certains substrats représente une étape dans la formation des composés qui seront moins toxiques et plus hydrosolubles que les molécules de départ (**Chatterjee et Bhattacharya, 1984**).

#### **I.3.3.4. L'acétylcholinestérase (AChE) :**

L'acétylcholinestérase ne joue aucun rôle dans la détoxification chez les êtres vivants. Cette enzyme est, pour sa part, impliquée dans les mécanismes de transmission de l'influx nerveux à travers l'organisme : dans les jonctions inter neuronales et neuromusculaires, la terminaison nerveuse libère un médiateur chimique, l'acétylcholine (ACh), qui permet la transmission du message nerveux d'une cellule à l'autre. Une fois l'information est transmise, l'acétylcholine est rapidement inactive par l'AChE, ce qui permet au système de revenir à son état de repos. L'inhibition de l'enzyme par de nombreux neurotoxiques entraîne une accumulation du médiateur chimique dans l'espace synaptique, qui maintient de ce fait une transmission permanente de l'influx nerveux, laquelle conduit généralement à la tétanie musculaire et à la mort ( **Bocquene,1996**).

# Matériel et méthodes

## II. Présentation de la zone d'étude:

### II.1. délimitation du barrage :

Le barrage de Beni Haroun est situé à l'aval de la confluence de Oued Rhumel et Oued Endja (nord ouest de la région de Elgrarem wilaya de Mila) à une quarantaine de kilomètres au nord de Constantine et une distance équivalente par rapport à l'embouchure de Oued Kebir. (Mer Méditerranée) .Sa mise en eau a commencé en out 2003 et se poursuit lentement par étape jusqu' à ce jour (Figure : 05)



Figure05 :Situation géographique du barrage de Beni Haroun (Agence nationale des barrages, 2007).

### II.2. L'hydrographie de la région d'étude :

La région de Beni Haroun se trouve au sein du bassin versant Rhumel-Kébir pour cela, nous avons jugé utile de procéder d'abord à l'étude hydrologique de ce bassin. Cette étude est faite par Mebarki 1982 , nous a servi de document principal pour la description de l'hydrologie du milieu. Le bassin versant Kébir-Rhumel se caractérise par un réseau hydrographique assez dense formé essentiellement de deux grandes sous bassins (Figure 05).

Le sous bassin de Rhumel (170 km), drainant une superficie de 5315 Km<sup>2</sup>, prend sa source vers 1160 m dans les marges méridionales du tell, au nord ouest de Blaa, il traverse les

hautes plaines constantinoises, avec une orientation sud ouest, nord est jusqu'à Constantine. Là il change brusquement de direction et tourne presque à angle droit pour couler en oblique vers le nord -ouest et confluer avec l'Oued Endja aux environs de Sidi-Marouane. Le long de son chemin, Oued Rhumel collecte quelques affluents entres autres : Oued Derki, Oued Athménia, Oued Seguin, Oued Bou-Merzoug, Oued Smendou et Oued El-Ktone. Le sous bassin de Oued Endja (140 Km) drainant une superficie de 2160 Km<sup>2</sup> a sa source près de Douar Tassadane situé au nord-ouest de Ferdjioua. Il suit une direction sud ouest à travers les reliefs montagneux du Tell, parallèlement à la chaîne numidique qui le borde au nord. Cet Oued voit grossir son débit régulièrement par l'intermédiaire des affluents de Oued Bouslah, Oued Rama, Oueds (Redjas, Melah et Kébir).

### **II.3. Contexte géologique :**

Un cours d'eau, siège de transport d'éléments de diverses natures verra ses paramètres physicochimiques fortement influencés par la nature géologique des terrains drainés.

Le bassin versant Kebir-Rhumel est composé de domaines géologiques très différents : le domaine des plaines plio-quadernaires et des horsts calcaires (Hautes Plaines), le bassin néogène à dominance argileuse de Constantine-Mila, le domaine des nappes« Tectoniques » de Djemila (marnes et calcaires-marneux), la dorsale kabyle (calcaires Jurassiques) et les massifs gréseux numidiens et enfin le domaine du socle granitique et Cristalloyhylien de la petite Kabylie d'El Milia( **Mebarki 1982** ).

### **II.4. Climatologie de la zone d'étude :**

Notre zone d'étude est caractérisée par un climat de type méditerranéen, son régime climatique dépend de deux paramètres principaux : la précipitation météorologiques et la température.

#### **II.4.1. Les précipitations :**

La pluie est un facteur climatique très important qui conditionne l'écoulement saisonnier et influence directement le régime des cours d'eau ainsi que celui des nappes aquifères. La région d'étude est considérée parmi les régions arrosées avec une moyenne de l'ordre de 641.5 mm/an. Les précipitations sont également variables et irrégulières d'une année à l'autre.

#### **II.4.2. Température :**

Les données utilisées sont apportées de la station météorologique du barrage, les valeurs moyennes sont représentées dans le tableau 04 ( **Station météorologique du barrage de Beni Haroun, 2011**).

**Tableau 04 :** les températures et les précipitations moyennes mensuelles (septembre 2003-janvier 2011)( **Station météorologique du barrage de Beni Haroun, 2011**).

Mois	Jan	fév	mar	Avr	May	Jui	Jui	Aou	sep	oct	Nov	Dec
P(mm)	80,6	77,7	82,5	62,3	42,1	12,7	1,4	2,8	45,2	45,1	81,3	122,4
T	11,07	11,6	13,7	16,98	21,15	24,83	28,92	29,18	22,2	23,92	19,64	14,38

#### II.4.3. Le diagramme ombro-thermique :

L'analyse de deux paramètres climatiques (précipitations et température) permet de tracer la courbe ombro-thermique de Gaussen qui met en évidence deux périodes :

-L'une de sécheresse : s'étale du mois du mai au mois de septembre.

-Et l'autre humide : s'étale du mois d'octobre au mois de mai.



**Figure 06:** diagramme ombro-thermique du Gaussen. P : précipitations mensuelles. T : températures mensuelles.

#### II .5. choix des espèces étudiées :

Les deux familles qui dominent dans les eaux douces sont : les *salmonidés* et les *cyprinidés*. A notre étude on s'intéresse de la famille des *cyprinidés* ; parmi ses espèces : *Cyprinus carpio* et *Barbus barbus*.

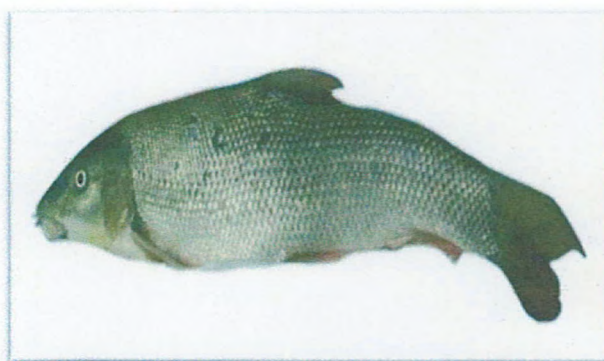


## II.6. La taxonomie des espèces :

### II.6.1. *Barbus barbatus* :

**Tableau 05** : La taxonomie *Barbus barbatus*.

<u>Règne</u>	<u><i>Animalia</i></u>
<u>Embranchement</u>	<u><i>Chordata</i></u>
<u>Sous-embr.</u>	<u><i>Vertebrata</i></u>
<u>Super-classe</u>	<u><i>Osteichthyes</i></u>
<u>Classe</u>	<u><i>Actinopterygii</i></u>
<u>Sous-classe</u>	<u><i>Neopterygii</i></u>
<u>Infra-classe</u>	<u><i>Teleostei</i></u>
<u>Super-ordre</u>	<u><i>Ostariophysii</i></u>
<u>Ordre</u>	<u><i>Cypriniformes</i></u>
<u>Super-famille</u>	<u><i>Cyprinoidea</i></u>
<u>Famille</u>	<u><i>Cyprinidae</i></u>
<u>Genre</u>	<u><i>Barbus</i></u>
<u>Espece</u> :	<u><i>Barbus barbatus</i></u>



#### II.6.1.1. Caractères généraux :

*Barbus barbatus* est l'un des poissons courants dans nos rivières. Il a un corps élancé et musclé. Son dos est arrondi et sa partie ventrale plate, adaptée à se poser sur le fond. Sa tête trapue se termine par un museau proéminent sous lequel s'ouvre la bouche. Caractéristique de tous poissons fouisseurs, son corps est recouvert d'un mucus abondant, soyeux au contact.

Caractères : 4 barbillons à la lèvre supérieure. Le plus long de la dorsale est ossifié, avec bord postérieur dentelé. Dorsale et anale courtes. 55-65 écailles le long de la ligne latérale. Couleur variable (Muus et Dahstrom, 2003).

Taille : La longueur moyenne est de 30 à 50 cm (Muus et Dahstrom, 2003), les plus gros peuvent atteindre plus de 1 m pour 12 kg environ (Breton et al, 2002).

#### II.6.1.2. La croissance :

La femelle pond de 30000 à 60000 œufs par jours, adhésifs, de 1,5 mm de diamètre. Ces œufs sont toxiques. La ponte a lieu de mi-mai à mi-juillet sur les graviers ou les galets. L'incubation dure une ou deux semaines. La maturité sexuelle est atteinte en 3 ou 4 ans. La durée de vie du *Barbus barbatus* est évaluée à une vingtaine d'années (Breton et al, 2002).

### II.6.1.3. La nourriture :

Grace à ces barbillons, *Barbus barbus* détecte sa nourriture sur le fond, dans la végétation aquatique ou sous les graviers et les galets, qu'il retourne avec son puissant museau. Il mange surtout des vers, des larves, des mollusques et des crustacés d'eau douce sa préférence va aux insectes aquatiques, à tous les stades de leurs évolution. Ils se content par fois de restes d'animaux, de mousses et d'algues. Il s'attaque aux œufs et aux alevins des Salmonidés (Breton et al, 2002).

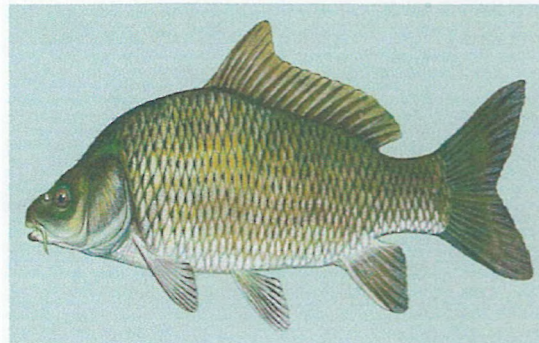
### II.6.1.4. Coloration :

Le dos est gris-vert clair ou brunâtre. Les flancs sont ocrés, le ventre blanchâtre ou gris bleuté. La nageoire caudale est échancrée ; les autres nageoires sont grises ou orangées, sauf en période fraiche, ou elles deviennent rouge. Des excroissances perlées appelées bouton de noces apparaissent alors sur la tête et le dos des mâles. Les yeux petits sont axés vers le bas. La ligne latérale, orange sensorielle du poisson, est composée de 55 à 65 écailles (Muus et Dahstrom, 2003).

### II.6.2.2. *Cyprinus carpio* :

**Tableau 06** : La taxonomie du *Cyprinus carpio*.

<u>Règne</u>	<i>Animalia</i>
<u>Embranchement</u>	<i>Chordata</i>
<u>Classe</u>	<i>Actinopterygii</i>
<u>Ordre</u>	<i>Cypriniformes</i>
<u>Superfamille</u>	<i>Cyprinoidea</i>
<u>Famille</u>	<i>Cyprinidae</i>
<u>Genre</u>	<i>Cyprinus</i>
<u>Espece</u>	<i>Cyprinus carpio</i>



### II.6.2.2. Les Caractères :

lèvres supérieures avec 2 longs et 2 courts barbillons. 33-40 écailles le long de la ligne latérale. Les formes sauvages sont plus élancées que les formes domestiques, lesquelles ont souvent un corps élevé. Sur la base de facteurs héréditaires la couverture écailleuse de la carpe varie selon les 4 principaux types suivants :

- a- Carpes écailleuse, couvertures de petites écailles semblables.
- b- Carpes miroir, avec de grandes écailles miroitantes.
- c- Carpes à rangs, avec une série de petites écailles le long du dos.
- d- Carpes cuir, qui sont presque dépourvues d'écailles (Muuset Dahstrom, 2003).

Taille : Les carpes sauvages de 3 à 4 ans mesurent de 20 à 40 cm et pèsent de 300 à 1000g. le maximum dépasse rarement le mètre, le poids est de 25 à 30kg pour un âge de 40 ans . (Muus et Dahstrom, 2003 ).

#### **II.6.2.3.La nourriture :**

Poissons omnivore, la carpe se nourrit de tout : larves de diptères et autres insectes aquatiques, et de divers petits mollusques, escargots.(Amonyme, 2002; Muuset Dahstrom,2003 ).

#### **II.6.2.4.La croissance :**

Est variable et dépend avant tout de la quantité de nourriture. Dans les étangs à carpes avec nourriture naturelle et artificielle le poids de 1kg est atteint au bout de 2 à 3 ans. Les carpes sauvages peuvent avoir la même rapidité de croissance, mais normalement la croissance est plus lente. La température joue un rôle en ce qui concerne l'appétit de la carpe au-dessous de 8°C. elle ne mange pas ou à peine. Pour la nourriture la température optimum est 20°C. La carpe hiverne en bancs sur le fond, en des endroits profonds, libre de glace, et perd durant l'hiver de 5 à 15% de son poids. Elle est très résistante et tolère comme le Carassin, une eau pauvre en oxygène (0,5mg/L). La carpe mûrit à 3-4 ans, les mâles plus tôt que les femelles.

#### **II.6.2.5.La reproduction :**

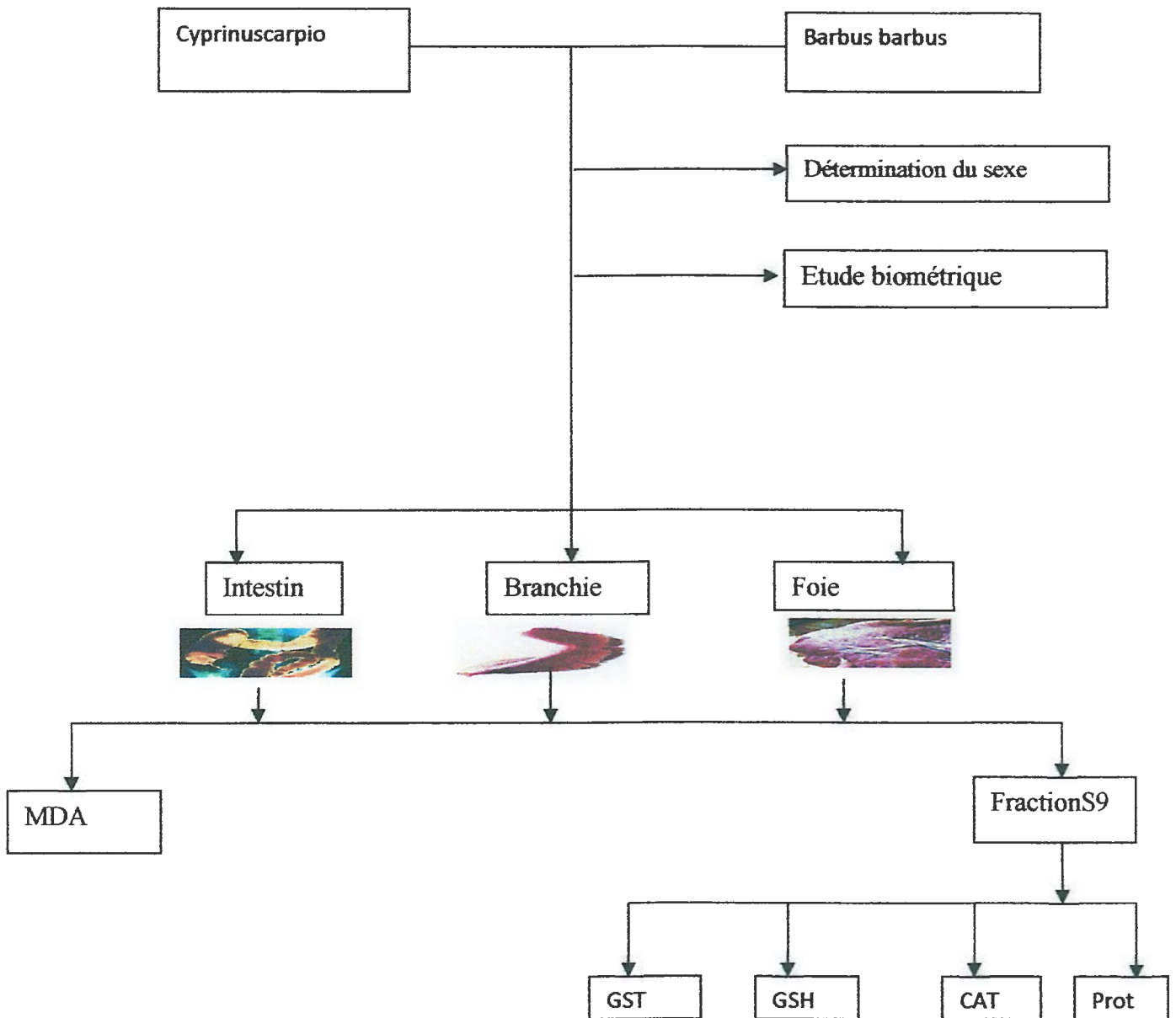
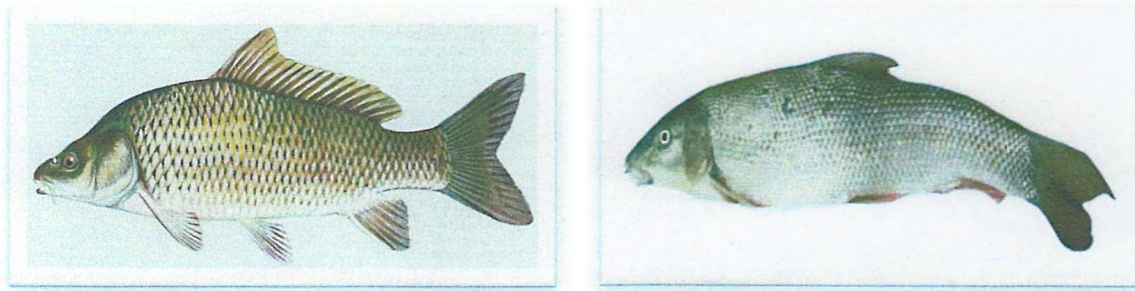
La période de reproduction de la carpe va de mai à juin, lorsque les eaux ont atteint une température d'au moins 15 °C. Les mâles deviennent plus agités et, comme tous les cyprinidés, ils se couvrent de boutons blanchâtres. Suivis des mâles, les femelles se rendent dans des eaux plus basses où la végétation est particulièrement dense ou aux abords des roseaux. Là, elles déposent de 50000 à 1500000 œufs de petit diamètre(Breton et al, 2002; Muuset et Dahstrom , 2003 ; Chiaria, 2010).

#### **II.7. Prélèvement des poissons :**

En totale 30 individus des deux espèces (*Cyprinus carpio* et *Barbus barbus*) des poissons à raison de 15 individus par espèce ont été capturés en utilisant un filet, ils sont transportés au laboratoire dans des boîtes en polyéthylène d'une façon à laisser les poissons vivants.

#### **II.8.Détermination des paramètres biométriques et sacrifice des poissons :**

Dès le retour au laboratoire les poissons ont été pesés, leur longueur totale à été mesurée et leur sexe à été déterminé, ils sont ensuite disséqués afin de prélever les organes étudiés ( foie , branchies et intestins) en fin les organes ont été congelés à une température de -25 °C.



**Figure 07 :** Diagramme expliquant les différentes analyses effectuées sur les deux espèces *Cyprinus carpio* et *Barbus barbus*.

## II.9. Préparation de la fraction cytosolique : (Dautremepuis et al, 2009).

Après décongélation, les tissus (0.2g du foie, branchies, et intestins), maintenus à 4°C pendant toute la durée de dosage. Sont broyés à l'ultraturax dans 3 ml du tampon phosphate (0,1 M, pH 7,5) contenant 1.17% du KCl ; l'homogénat obtenu est centrifugé à 3500 × g pendant 30 min. Le surnageant appelé la fraction S9 est utilisé pour les différentes analyses ( activité de la catalase, GST, GSH ,et les protéines).

## II.10. Dosage des biomarqueurs :

### II.10.1. Dosage de l'activité catalase (CAT) dans le foie, les branchie et l'intestin :

L'activité de la catalase est déterminée par la méthode de (Claibome, 1985). Dont la catalase présente un maximum d'absorbance à 240 nm.

La mesure a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation de peroxyde d'hydrogène en faisant réagir dans 1 ml du tampon phosphate (0.1M à pH 7.4) , 0.950 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> avec 0.025 ml de la source enzymatique. les résultats sont exprimés en μmole d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par minute par mg de protéines (tableau 07).

**Tableau 07** : Dosage de la catalase..

Tubes	Essai (μl)	Blanc (μl)
Solution		
Tampon phosphate (0.1M ; pH7.4)	1000	1025
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (105mM)	950	950
Homogénat	25	0

L'activité de catalase décroît rapidement, il est important de mettre toujours le même temps entre le pipetage et le moment de la lecture qui se fait après 15 secondes de délai durant 1 minutes de mesure. L'activité CAT est calculée par la formule suivante :

$$\text{Activité CAT } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg de prot} = \frac{\Delta \text{DO} \cdot 10}{E \cdot L \cdot X \cdot 0.05}$$

DO : densité optique

L : longueur de la cuve utilisée

X : lecture des protéines

E : coefficient d'extinction 0.004 mmol/mn/cm

### II.10.2. Dosage du malondialdéhyde MDA :

La mesure de la peroxydation lipidique au niveau cytosolique a été réalisée selon la méthode d'Okhawa et al (1979) dont le principe est basé sur la réaction qui s'établit, en milieu acide (pH de 2 à 3) et à chaud (à 100 C°), entre une molécule du MDA et deux molécules du TBA qui donne un pigment coloré en rose extractible par le n- butanol et mesuré à 530 nm.

Pour ce dosage, 0,5 ml de l'homogénat préparé à partir 1g de tissus (foie, branchie, intestin) avec 3 ml de KCl (1,15 %) et broyer par un homogénéiseur de DOUNCE est

additionné à 0,25ml de l'extrait enzymatique avec 0,25 ml d'acide trichloracétique à 20 % et 0.5 ml d'acide thiobarbiturique à 0,67 %.

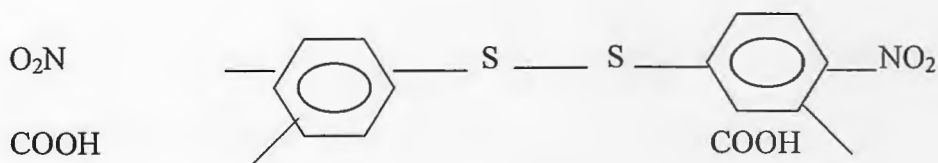
Le mélange est chauffé à 100 C° pendant 15 min, puis additionné, après refroidissement, de 2 ml de n- butanol. Ce mélange soumis ensuite une centrifugation de 15 min à 3000 rpm, et la densité optique est mesurée sur le surnageant à 530nm.

Le taux du MDA est déduit à partir d'une gamme étalon préparée dans les mêmes conditions et les résultats sont exprimés en nmol / mg de protéines( la courbe annex2).

### II.10.3. Dosage du glutathion (GSH) :

Le glutathion ou  $\gamma$ -L-glutamyl-L-cystéinglycine est un tripeptide dont la concentration cellulaire peut atteindre dans certaines cellules animales 5 Mm. Grâce à son groupement SH libre, le glutathion constitue le principal antioxydant propre à la cellule.

Pour le dosage du glutathion (GSH), nous avons utilisé la méthode colorimétrique d'Ellman (1959) Par le réactif acide 5, 5'-Dithiobis(2-nitrobenzoïque) (DTNB). Le principe de la réaction consiste à l'oxydation du GSH par le DTNB, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) lequel à pH alcaline présente une absorbance à 412 nm selon la réaction suivante (la courbe Annex1) :



Acide 5, 5'-Dithiobis(2-nitrobenzoïque) (DTNB)

Pour cela 20 $\mu$ l de l'extrait enzymatique est ajouté à 230  $\mu$ l de DTNB et 250 $\mu$ l de tampon phosphate. Après 15 min d'incubation, la lecture de la densité optique est effectuée à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le tampon phosphate.

Le taux du GSH est déduit à partir d'une gamme étalon de glutathion préparée dans les mêmes conditions que le dosage et les concentrations sont exprimés en millimoles de glutathion par milligramme de protéines.

### II.10.4. Mesure l'activité de la glutathion-S transférase (GST) cytosolique :

L'activité de la GST a été déterminée spectrophotométriquement selon la méthode décrite par (Habig et al, 1974).

Le mélange réactionnel contient 1700  $\mu$ l du tampon phosphate (0,1 M ; pH 6,5) et 100  $\mu$ l du CDNB (20 mM).

Après incubation du mélange réactionnel à 37 °C pendant 10 min, la réaction est démarrée par l'addition de 100  $\mu$ l de l'extrait enzymatique et de 10 $\mu$ l du glutathion. La variation de la densité optique est lue chaque minute pendant 5 min à 340 nm.

Le calcul de l'activité de la GST se fait selon la relation suivante :

$$\text{Enzyme (UI/ml)} = \frac{(\Delta A_{340}/\text{min Test} - \Delta A_{340}/\text{min Blanc}) / (Vt) (Fd)}{(9,6) (Ve)}$$

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

Fd : facteur de dilution ;

9,6 : coefficient d'extinction millimolaire du glutathion-1-chloro-2,4-dinitrobenzène conjugué à 340 nm ;

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

### II.10.5. Dosage des protéines :

La quantité de protéines présentes dans la fraction S9 des différents tissus (foie, branchies, intestins) est déterminée selon la méthode de (**Bradford, 1976**), en utilisant le bleu de Coomassie comme réactif. C'est un dosage colorimétrique, basé sur le changement d'absorbance la mesure à 595 nm, se manifeste par le changement de la couleur de bleu brillant de Coomassie (BBC :G250 ) après liaison (complexations) avec les acides aminés aromatiques (tryptophanes, tyrosine et phénylalanine )et les résidus hydrophobes , des acides aminés présents dans les protéines .

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 20mg/1ml ) produit de référence servant à la standardisation (**Dauvillier, 1998**). la courbe d'étalonnage est réalisée à partir du tableau 08.

**Tableau 08** :Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines(annexe 03) .

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 échantillon(foie ,branchie ,intestin ) ont été dosées en faisant réagir avec 2ml de BBC avec 100µl de fraction S9. Après l'agitation ,la lecture des absorbances a été effectuée dans un spectrophotomètre à 595nm contre un blanc préparé dans les mêmes condition.

**II.10.6. Analyses statistiques :**➤ **t de student :**

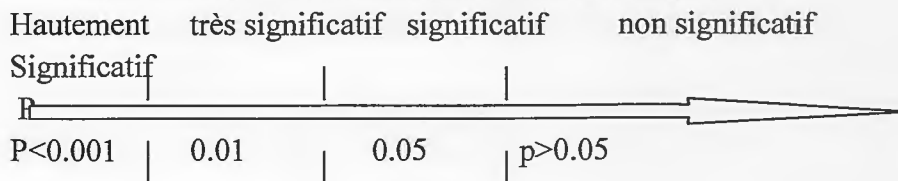
la comparaison des valeurs enregistrées entre les males et les femelles de chaque espèce et entre les espèces des différents paramètres étudiés : paramètres biométriques, teneurs en protéines et taux des enzymes dosées a été réalisée par le test t de student.

➤ **l'analyse de la variance :**

l'analyse de la variance à deux critères de classification a été utilisée pour étudier la différence entre les organes.

➤ **le seuil de signification :**

le seuil de signification est représenté dans la figure.



**Figure 0:** schéma représentatif du seuil de signification.

➤ **Signes représentent les seuils de signification de test t de student et l'analyse de la variance :**

\* : test t de student est significative entre les espèces.

\*\* : test t de student est très significative entre les espèces.

\*\*\* : test t de student est hautement significative entre les espèces.

a : test t de student est significative entre les sexes.

aa : : test t de student est très significative entre les sexes.

aaa : : test t de student est hautement significative entre les sexes.

b : l'analyse de la variance est significative entre les organes.

bb : l'analyse de la variance est très significative entre les organes.

bbb : l'analyse de la variance est hautement significative entre les organes.



# Résultats et interprétation



**III.1. Etude biométrique chez *Cyprinus carpio* et *Barbus barbuis* :**

La comparaison des valeurs moyennes des différents paramètres biométriques mesurés entre males / femelles de *Cyprinus carpio* et male/femelle de *Barbus barbuis* par t student révèle qu'il ya une différence hautement significative ( $p < 0.001$ ) pour poids et longueur des deux espèces. (tableau 09 , figure 08) Le test de student ne révèle aucune différence significative ( $P > 0.05$ ) entre les males et femelles des deux espèces. (Annexe 09)

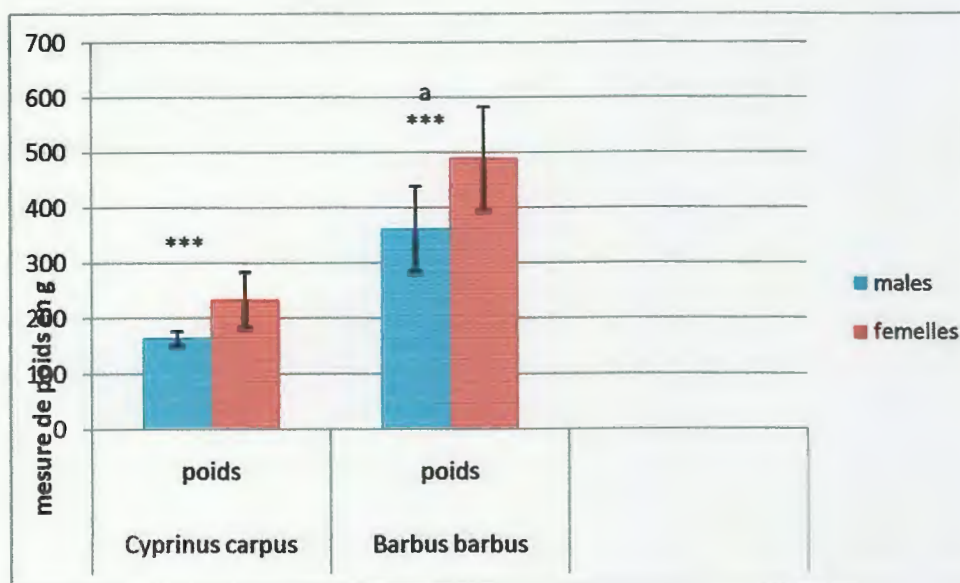
**Tableau 09 :** Paramètres biométriques (poids et longueur )mesurés chez les males et les femelles de *Barbus barbuis* ( $m \pm s ; n=15$ ) et *cyprinus carpio* ( $m \pm s ; n=15$ ).

✓ mesure du poids :

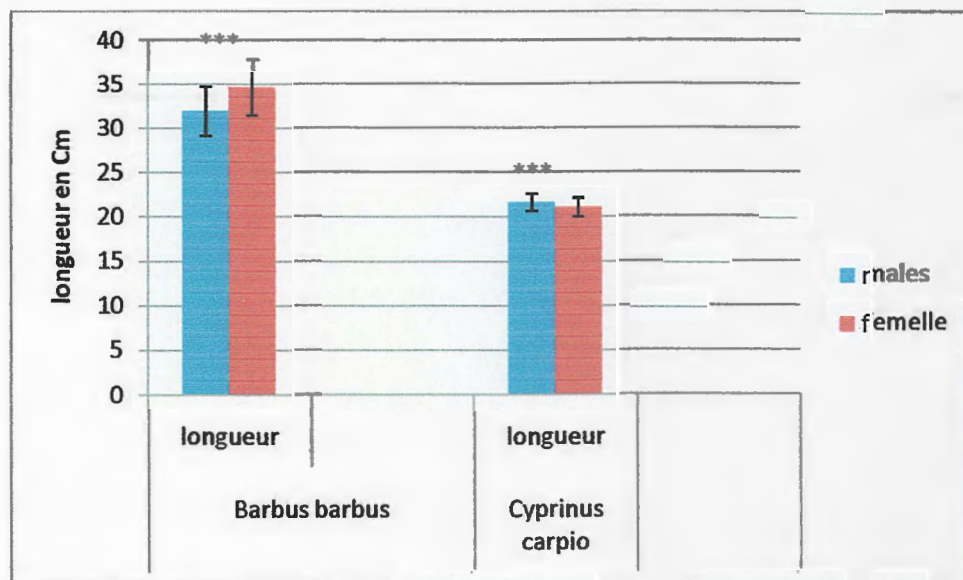
espèces	Cyprinus carpio	Espèces	Barbus barbuis
Sexes	poids	sexes	Poids
Males(n=11)	164.37±13.12	Males(n=10)	361.42±78
Femelles(n=4)	243.16±50.4	Femelles(n=5)	489±95

✓ mesure de la longueur :

espèces	Cyprinus carpio	Espèces	Barbus barbuis
Sexes	longueur	sexes	Longueur
Males(n=11)	21.72±0.99	Males(n=10)	31.97±2.79
Femelles(n=4)	21.15±1.07	Femelles(n=5)	34.66±3.17



(A)



(B)

**Figure 08 (A et B) :** Paramètres biométriques chez les males et les femelles de *Cyprinus carpio* et *Barbus barbuis* (Poids et longueur).

### III.2. Les bio marqueurs :

#### III.2.1. Le taux de MDA chez *Cyprinus carpio* et *Barbus barbuis* :

Les valeurs de MDA sont comprises entre  $(2.81 \pm 0.68) \mu\text{mol/mg}$  de prot et  $(128.17 \pm 2.5) \mu\text{mol/mg}$  de prot, la valeur maximale a été observée dans les branchies des males de *Cyprinus carpio* tandis que la valeur minimale a été observée au niveau du foie des femelles de la même espèce (tableau 10). Les valeurs de MDA les plus élevées sont observées au niveau des branchies des deux sexes de la carpe et au niveau des intestins des deux sexes pour *Barbus barbuis* (figure 09).

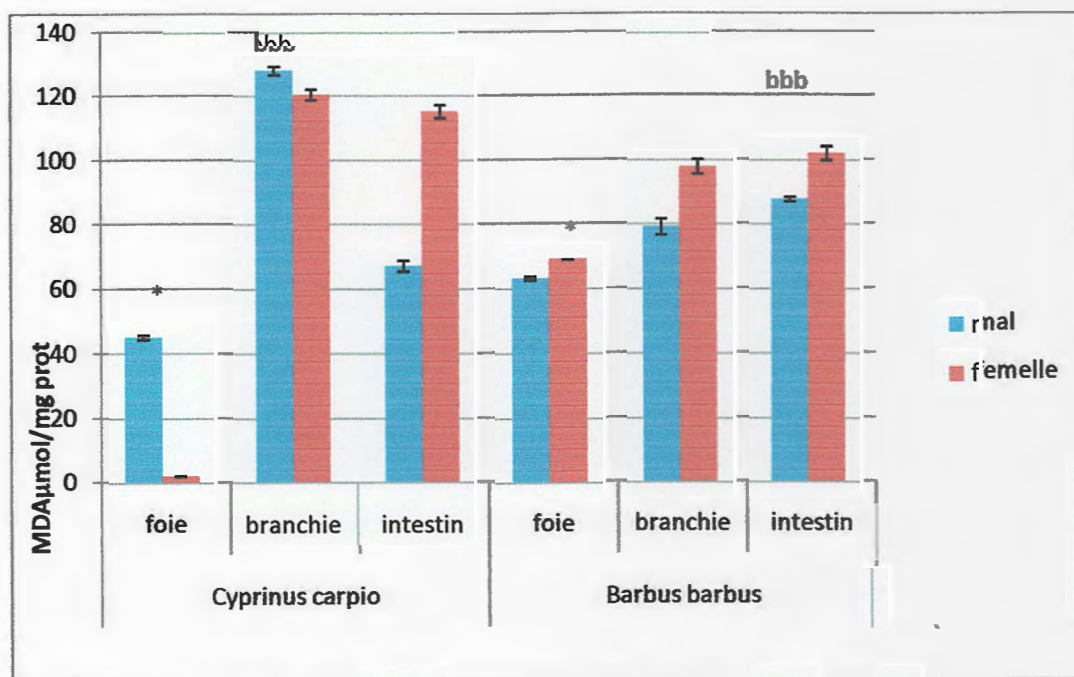
L'étude de variation par l'ANOVA au niveau des organes (foie, branchies et intestin) nous a permis de constater que les valeurs de MDA varient significativement d'un organe à l'autre chez les deux sexes de *Cyprinus carpio* ( $P_F = 0.02 < 0.05$ ,  $P_M = 0.006 < 0.05$ ) (Annexe 07).

Le test t de student a révélé l'absence d'effet sexe pour les différents organes chez les deux espèces *Cyprinus carpio* et *Barbus barbuis*.

L'étude statistique par t student nous a permis de constater que les valeurs de MDA présentent des fortes variations d'une espèce à l'autre pour le foie ( $p = 0.01 < 0.05$ ) et des faibles variations pour les branchies ( $P = 0.78 > 0.05$ ) et intestins ( $P = 0.15 > 0.05$ ) (Annexe 07).

**Tableau 10** : le taux de MDA( $\mu\text{mol}/\text{mg}$  de protéines) mesurée dans les males et les femelles de *Barbus barbus* ( $m \pm s$  ;  $n=15$ ) et *cyprinus carpio* ( $m \pm s$  ;  $n=15$ ).

organe	<i>Barbus barbus</i>			<i>Cyprinus carpio</i> :		
	Foie	Branchie	Intestin	Foie	Branchie	Intestins
Male	63.30 $\pm$ 0.68	79.28 $\pm$ 1.23	87.89 $\pm$ 1.65	45.14 $\pm$ 0.5	128.17 $\pm$ 2.5	67.23 $\pm$ 0.67
femelle	69.12 $\pm$ 0.17	98.14 $\pm$ 1.70	102.24 $\pm$ 2.03	2.19 $\pm$ 0.02	120.64 $\pm$ 2.3	115.26 $\pm$ 2.2



**Figure09** : le taux de MDA ( $\mu\text{mol}/\text{mg}$  de protéines) mesurée dans les males et les femelles de *Barbus barbus* et *Cyprinus carpio* :

### III.2.2.L'activité Catalase chez *Cyprinus carpio* et *Barbus barbus* :

Les valeurs de catalase s'échelonnent entre ( $18.83 \pm 0.2$ )  $\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg}$  de protet ( $183.89 \pm 2.8$ )  $\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{m}$  de prot; la valeur maximale a été observée dans le foie des males du *Barbus barbus*, et la valeur minimale a été observée dans les intestins des femelles du *Cyprinus carpio* (tableau 11). Les valeurs les plus élevées sont observées au niveau du foie de deux espèces (figure 10).

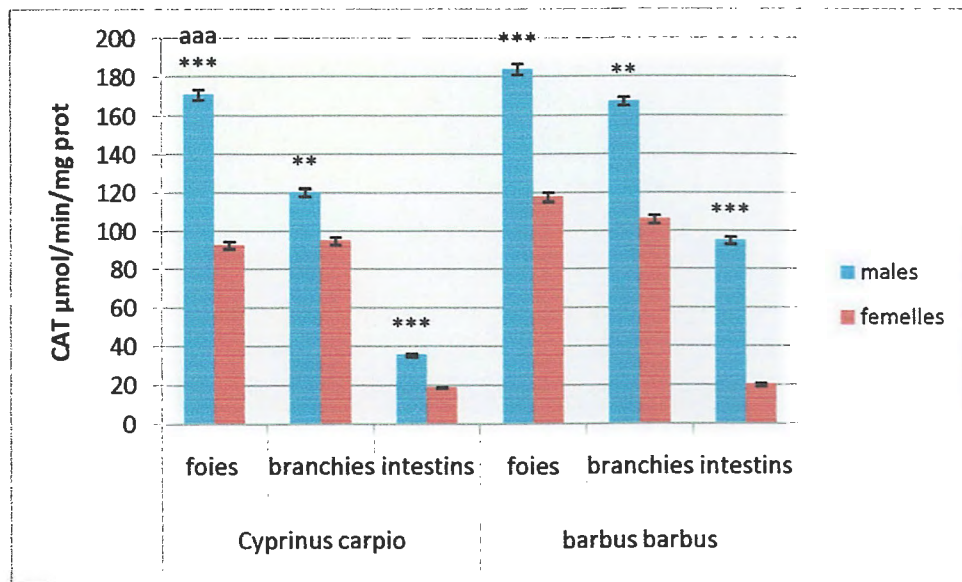
L'analyse de la variance a révélée de faibles variations de l'activité de la catalase pour les différents organes chez les deux sexes des deux espèces. ( $F=0.27$  et  $P=0.076$ )

Le teste t de student fait apparaitre des faibles variations entre les deux sexes pour les différents organes à l'exception du foie de *cyprinus carpio* dont les valeurs de la catalase présentent des variations hautement significatives.

Le teste t student et la figure (10) ont montré une forte diminution de l'activité de la catalase chez *Cyprinus carpio* par rapport à celle du *Barbus barbuis* ( $P < 0,05$ ) (Annexe 04).

**Tableau 11** : L'activité de la Catalase ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéine) dans les males et les femelles de *Barbus barbuis* ( $m \pm s ; n=15$ ) et *cyprinus carpio* ( $m \pm s ; n=15$ ).

Orgae	<i>Barbus barbuis</i>			<i>Cyprinus carpio</i>		
	Foie	branchie	Intestin	Foie	Branchie	Intestin
Male	183.89 $\pm$ 2.8	167.31 $\pm$ 2.2	95.15 $\pm$ 1.97	170.84 $\pm$ 2.7	120.13 $\pm$ 2.03	35.61 $\pm$ 0.7
Femelle	117.76 $\pm$ 2.4	106.15 $\pm$ 2.1	20.06 $\pm$ 0.80	92.83 $\pm$ 1.95	95.12 $\pm$ 1.97	18.83 $\pm$ 0.2



**Figure10** : L'activité de la Catalase ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  de protéine) dans les organes des males et des femelles de *Barbus barbuis* et *cyprinus carpio* :

### III.2.3.L'activité de Glutathion-S-Transférase chez *Cyprinus carpio* et *Barbus barbuis* :

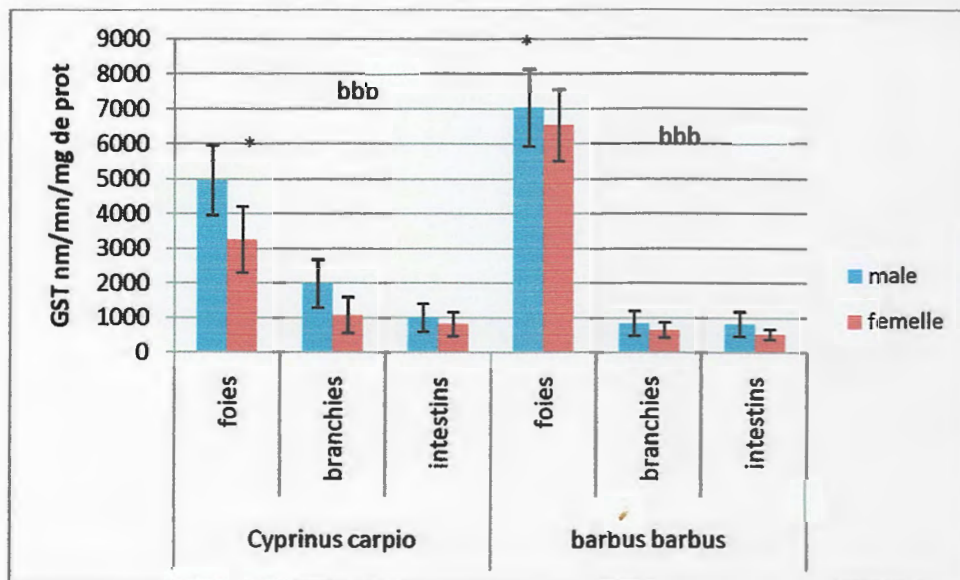
Les valeurs de GST sont comprises entre ( $531,4 \pm 150,8$ ) nmol/mn/mg de protet ( $7035,6 \pm 1100$ ) nmol/mn/mg de prot , la valeur maximale a été observée dans les foies de *Barbus barbuis* alors que la valeur minimale est celle observée au niveau des intestins de la même espèce (tableau 12, figure 11). Le test de ANOVA montre qu'il ya une différence hautement significative d'un organe à l'autre chez les deux sexes des deux espèces ( $P = 2,50085 \cdot 10^{-5}$ ,  $F = 15,40083$ ) (Annexe 06). Le foie présentent les valeurs les plus elevées de l'activité de GST.

Le test de student a révélé une variation non significative de GST entre les deux sexes de *Barbus barbuis* et *Cyprinus carpio* donc il ya une absence d'effet sexe (Annexe 06).

L'étude de la figure(11) montre que le teste de student font apparaitre de fortes variations de l'activité de GST entre les deux espèces au niveau du foie ( $P=0,03 < 0,05$ ), l'espece *Barbus barbuis* présente une forte activité de GST par rapport à l'espece *Cyprinus carpio*.

**Tableau 12 :** Valeurs moyennes de l'activité GST chez les males et les femelles de *Barbus barbuis* ( $m \pm s ; n=15$ ) et *cyprinus carpio* ( $m \pm s ; n=15$ ).

Organe	<i>Barbus barbuis</i>			<i>Cyprinus carpio</i>		
	Foie	Branchie	intestin	Foie	Branchie	intestin
Male	7035.6±1100	845.2±360	823.1±355.3	4968.45±1000	1995.54±690	1006.27±400.98
Femelle	6537.4±1020	662.8±220	531.4±150.8	3260.5±950	1083.25±520	822±350.2



**Figure11 :** l'activité de GST (nm/Mn/mg de protéines) des organes males et femelles des *Cyprinus carpio* et *Barbus barbuis*.

### III.2.4. Le taux du Glutathion (GSH) :

Les teneurs en GSH varient entre une valeur minimale de l'ordre de ( $0,03 \pm 0,003 \mu\text{mol/mg prot}$ ) observée dans les branchies de *Cyprinus Carpio* et une valeur maximale de l'ordre de ( $0,21 \pm 0,04 \mu\text{mol/mg prot}$ ) observée dans les foies de *Barbus Barbuis* (tableau13, Figure12).

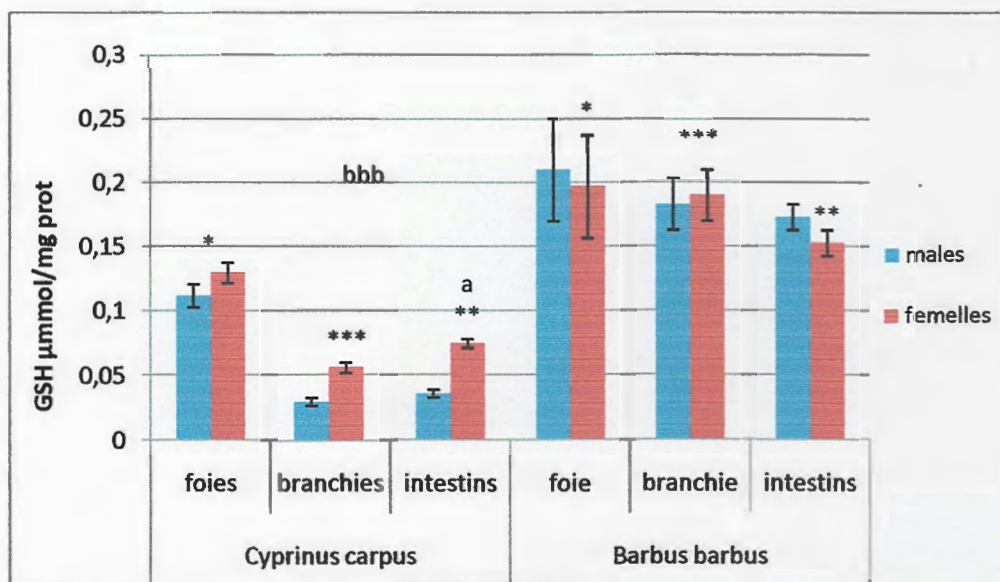
L'analyse de la variance a révelée de faible variation de GSH pour les différents organes chez les deux sexes des deux espèces sauf les males de *Cyprinus Carpio* qui présentent une variation hautement significative ( $p=4,75.10^{-7} < 0,05$ ). (Annexe05). les plus grandes concentrations sont enregistrés au niveau du foie.

Le test de student fait apparaitre des faibles variations entre les deux sexes pour les différents organes à l'exception des intestins de *Cyprinus Carpio* qui montrent une différence significative ( $p < 0.05$ ). (Annexe 05).

Le test de student montre une forte variation des concentrations de GSH d'une espèce à l'autre. L'espèce *Barbus barbuis* présente les concentrations de GSH les plus élevées.

**Tableau 13 :** concentration des GSH ( $\mu\text{mol}/\text{mg}$  de protéines) dans les males et les femelles de *Barbus barbuis* ( $m \pm s ; n=15$ ) et *cyprinus carpio* ( $m \pm s ; n=15$ ).

Organe	<i>Barbus barbuis</i>			<i>Cyprinus carpio</i>		
	Foie	branchie	Intestin	Foie	Branchie	Intestin
Male	0.21 $\pm$ 0.04	0.18 $\pm$ 0.02	0.17 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.008	0.03 $\pm$ 0.003	0.036 $\pm$ 0.003
Femelle	0.20 $\pm$ 0.04	0.18 $\pm$ 0.02	0.15 $\pm$ 0.01	0.13 $\pm$ 0.009	0.056 $\pm$ 0.004	0.075 $\pm$ 0.005



**Figure 12:** la teneur en GSH ( $\mu\text{mol}/\text{mg}$  de protéines) des organes des males et des femelles de *Barbus barbuis* et *cyprinus carpio* :

### III. 3. Dosage des protéines :

#### III.1. Les concentrations des protéines dans *Cyprinus carpio* et *Barbus barbuis* :

les concentrations des protéines varient entre une valeur minimale de l'ordre de ( $5.35 \pm 0.2 \text{ mg de prot/g de tissu}$ ) observé dans les intestins des femelles de *Barbus barbuis* et une valeur maximale de l'ordre de ( $19.94 \pm 0.69 \text{ mg de prot /g de tissu}$ ) enregistrée dans le foie de femelles de la même espèce (tableau 13).

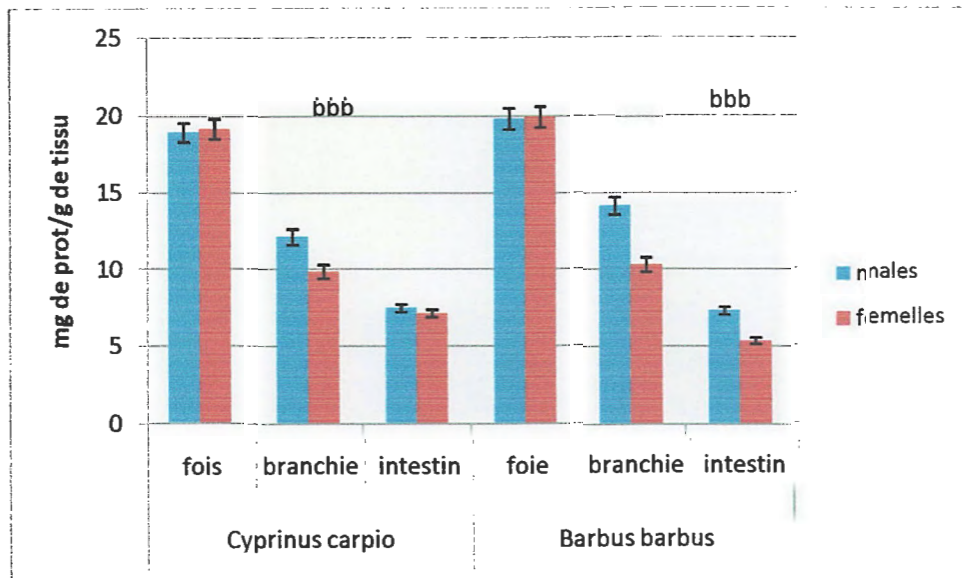
L'étude de la variance par ANOVA nous a permis de constater que les valeurs de protéines présentent des variations hautement significatives entre les différents organes chez les males et les femelles de deux espèces *Cyprinus carpio* ( $p_M = 0.001 < 0.05, p_F = 8.16 \cdot 10^{-9} < 0.05$ ) et *Barbus barbuis*

( $p_M=3.087.10^{-4}<0.05$  ,  $p_F=3.67.10^{-6}<0.05$ ).les plus fortes concentrations sont observées au niveau du foie Annexe (08 ).

Le test t de student a révélé l'absence des effets sexe et espèces (P=0,8889 ;F=0.0202 ).

**Tableau14 :** concentrations moyennes des protéines (mg/100g de tissus)chez les males et les femelles de *Barbus barbuis* (m±s ;n=15)et *cyprinus carpio* (m±s ;n=15).

	<i>Barbus barbuis</i>			<i>cyprinus carpio</i>		
organe	Foie	Branchie	Intestin	Foie	Branchie	Intestin
Male	19.82±0.67	14.14±0.57	7.31±0.25	18.94±0.61	12.10±0.51	7.48±0.25
femelle	19.94±0.69	10.3±0.46	5.35±0.2	19.16±0.65	9.84±0.45	7.12±0.24



**Figure13 :** les concentrations des protéines (mg/g de tissus) des organes males et femelles des *Cyprinus carpio* et *Barbus barbuis* .



# Discussion

#### IV. Discussion

La contamination des écosystèmes aquatiques est une préoccupation environnementale majeure qui suscite un grand intérêt au cours des ces dernières années et préoccupe toutes les régions soucieuses de maintenir leur patrimoine hydrique à un haut degré de qualité (Cuita, 2003).

Les contaminants, associés aux rejets divers, représentent les polluants les plus redoutés pour ces milieux en raison de leur concentration par certains organismes vivants (Sobhi,1997). et leur implication dans les phénomènes de bioaccumulation et de bioamplification dans les chaînes alimentaires. Ils soulignent un des aspects les plus inquiétants pour la santé environnementale (Abou-Arab, 2001). Cette situation a conduit les gouvernements à réglementer les émissions et en fixant des teneurs limites (Joris, 2005).

Cependant, les sources de pollution sont d'origine anthropique mais aussi d'origine naturelle et donc pas toujours contrôlables (Cuita, 2003). Le barrage Beni Haroun , est économiquement important par sa capacité de stockage d'une grande quantité de l'eau , il contribue à l'alimentation d'une grande proportion de la population de six wilaya de l'Est algérien par l'eau potable. Les apports de sédiments en font un milieu instable et particulièrement sensible. Cette fragilité est aggravée par la présence de contaminants provenant des activités humaines. Ainsi ce plan d'eau sert d'exutoire à plusieurs rejets urbains et industriels, sans compter les pesticides et les engrais qui y sont amenés lors du lessivage des terrains agricoles. Une étude antérieure a montré que la qualité des eaux et des sédiments de ce Barrage est assez dégradé , les teneurs de différents polluants organiques et inorganiques dépassent largement les valeurs guides(Habila, 2008) (Tableau 10,11), Afin de suivre la qualité des eaux de ce barrage , nous avons procédé à un suivi de la réponse biochimique par l'utilisation des biomarqueurs de stress chez deux espèces de poissons assez abondantes dans ce milieu : la carpe (*Cyprinus Carpio* ) et le barbeau (*Barbus barbuis*).Les biomarqueurs sont définis comme des indicateurs de changements moléculaires, biochimiques et cellulaires provoqués par les polluants chimiques et qui sont mesurables dans des tissus biologiques. Ces changements constituent un système d'alarme précoce de la santé de populations naturelles sous forme d'un signal intégré du stress chimique (McCarthy et Shugart, 1990).

De nombreuse activités enzymatiques sont considérées comme des biomarqueurs d'exposition, en milieu aquatique, chez les poissons et les mollusques, notamment celles des enzyme de la phase I, dépendantes du cytochrome P450 et des enzymes de la phase II. Des activités enzymatiques moins spécifiques que les précédentes permettent d'établir que les organismes ont été soumis à un stress oxydant dû à la génération d'espèces réactives de l'oxygène. Chez les poissons et les mollusques exposés à des xénobiotiques organiques mais aussi à des métaux lourds, la pollution chimique augmente fortement les activités enzymatiques antioxydantes (Livingstone et al., 1990).

Le métabolisme cellulaire est altéré, soit par liaison de ces radicaux aux biomolécules solubles ou membranaires soit par réaction de ces biomolécules avec

les groupements thiols (SH) (Christie et Costa, 1984 ; Kägi et Hapke, 1984 ; Viarengo et al., 1990).

La peroxydation des lipides est un phénomène provoqué par des formes d'oxygène relativement réactives, telle que le peroxyde d'hydrogène et les radicaux OH<sup>o</sup>, engendrés par le stress dû à l'oxydation. Le statut de ces indices biochimiques du dommage dû à l'oxydation a été étudié récemment (Stegeman et al, 1992).

C'est dans cette optique que nous nous sommes intéressés, à biosurveiller la qualité des eaux du barrage Beni Haroun par la mesure des différents marqueurs du stress oxydant, en choisissant comme model biologique les cytosols hépatiques , branchiales, et intestinales , des poissons échantillonner à partir du barrage Beni Haroun.

Les résultats de cette étude suggèrent que les différents polluants affectent les enzymes et les substrats impliqués dans le contrôle du stress oxydatif. La réponse enzymatique vis-à-vis le stress oxydatif varie en fonction, de la concentration et de la nature du polluant, en fonction du tissus, de l'espèce de poissons, de la saison, de l'âge, de la taille et de la durée de l'exposition qui est considérée comme la durée de vie des poissons, (Dumont, 1996).

#### **La catalase :**

l'activité catalase est connue par sa fonction d'élimination du peroxyde d'hydrogène durant le métabolisme chez les organismes aérobies, (Regoli et al., 2002). Cette activité nous renseigne sur le degré d'altération de la cellule (Di Giulio et al., 1993). Ainsi l'activité de la catalase augmente chez les poissons, qui sont exposés à des polluants organiques (Rodriguez-Ariza et al., 1993 ; Torreilles et al., 1996). Par ailleurs, les travaux effectués sur les biomarqueurs de stress oxydant au laboratoire et surtout *in situ* montrent que le caractère aspécifique de leurs réponse constitue un avantage comme un indicateur de pollution mixte (Cossu et al., 1997). Ainsi, notre étude a montré une variation hautement significative de l'activité de la catalase entre les espèces de poissons *Barbus barbuis* et *Cyprinus carpio*. Cette réponse dépend des différents facteurs liées à l'espèce même comme la taille (longueur, poids).

En comparant nos résultats avec ceux obtenus par (Dautremepuits, et al, 2009) dans une étude faite sur l'espèce (*Perca flavescens*) de la rivière ST Lawrence au Canada. Notre étude a révélé une forte activité de la catalase chez les deux espèces. Ceci est due à la présence de différents polluants minéraux et organiques dans le barrage, ainsi qu'une forte activité de la catalase a été signalée dans plusieurs travaux qui ont été effectués aux terrains ou aux laboratoires sur plusieurs espèces de poissons exposés aux différents polluants (Otto et de la Lune, 1995; Ferreira et al., 2005)

Plusieurs recherches ont montré une augmentation de l'activité de la catalase dans le foie du poisson chat et d'autres espèces exposés à des sédiments contaminés par les hydrocarbures. ((Di Giulio et al., 1993). C'est ce qui a été observé au cours de notre étude

Pour les deux espèces.

#### **Le Glutathion GSH :**

Le glutathion réduit est considéré comme l'un des plus importants agents anti oxydants impliqués dans la protection de la membrane cellulaire en agissant comme un piègeur des radicaux libres oxygénés. (Juliana et al, 2005 ; Pandy et al, 2003). En outre, le glutathion est un cofacteur de nombreuses enzymes catalysant la détoxification et l'excrétion d'un grand nombre des composés toxiques (Paula, 2004). Les Variations dans le niveau de glutathion cellulaire sont considérées comme un indicateur du degré et de la durée d'exposition des poissons aux polluants oxydants présents dans les milieux aquatiques (Dautremepuits, et al, 2009).

La présente étude fait apparaître de faibles teneurs en glutathion dans tous les tissus des deux espèces par rapport aux concentrations trouvées par Dautremepuits. et al, (2009) dans une étude réalisée sur l'espèce *Perca flavescens* exposée aux divers polluants de la rivière St-Lawrence au Canada. D'une manière générale, les résultats obtenus au cours de cette étude sont comparables à plusieurs études et recherches effectuées sur des poissons exposés aux métaux lourds (Barrilet, et al, 2006). Le glutathion (GSH) a également été réduit dans le foie de la perche (*Perca fluviatilis*) exposés aux métaux lourds (Giguère et al., 2005). De même une diminution du taux de glutathion a été signalé dans le tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*) exposé à des effluents domestiques et industriels de la région de São Paulometropolitan (Bainy et al., 1996). La diminution de la concentration du glutathion peut s'expliquer par le fait que les organes étudiés ne parviennent pas à éliminer une concentration aussi accrue de métabolites toxiques ( Kojima et al , 2000).

#### **Glutathion- S-transférase :**

Les glutathion *S-transférases* (GST) représentent une famille supergène des enzymes de phase II qui offrent une protection cellulaire contre les effets toxiques d'une variété de produits chimiques de l'environnement (conseil et al, 1997). les Mécanismes de détoxification impliquent la conjugaison substrat catalytique et la réduction de l'oxydant avec le glutathion réduit (GSH) (Mannerevik et Daneilson , 1988 ; juliana et al , 2005)

La présente étude fait ressortir une forte activité de glutathion-S-transférase chez les deux espèces et dans les différents tissus avec un pic au niveau du foie. Cette forte activité correspond à l'augmentation des processus de détoxification pour palier l'invasion de l'organisme par les différents polluants via la conjugaison du groupements thiols du

glutathion réduit aux protéines par la GST (Richard et al, 2000). D'une façon générale nos résultats sont semblables à plusieurs études menées aux terrains ou aux laboratoires qui ont démontré une augmentation de l'activité de glutathion-S-transférase chez les différentes espèces de poissons exposés au différents polluants PC, des HAP, OCP, les métaux et les pesticides (Lopes et al, 2001; Lu et al, 2010; Napierska et al, 2009; Lenartova et al., 1997).

De même une augmentation de l'activité de la GST à été signalée dans une étude qui a été faite par (Bozcaarmutlu. A et al, 2009) sur l'évaluation de la pollution de la mer noire en Turquie par utilisation de la réponse biochimique dans les poissons. Les mêmes résultats ont été également démontrés au terrain dans une étude

réalisée par (Bozcaarmutl et al, 2009 sur l'espèce *cyprinus carpio* exposée au différents polluants du Delta Muri, et dans une autre étude effectuée par ( Ozmen et al, 2008) sur la même espèce dans le barrage Sariyar en Turquie.

#### MDA :

Il est admis aujourd'hui que l'ampleur de l'augmentation de stress oxydant est attestée par l'augmentation de malondialdéhyde (MDA) dans les membranes . En effet, il apparaît clairement que l'oxydation des lipides joue un rôle majeur dans la propagation du stress oxydant. La peroxydation lipidique constitue en effet une phase importante dans la seconde vague de stress produite par les ROS (Haton, 2005). 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 de transition). Ce produit peut affecter la fluidité des membranes et l'intégrité des autres biomolécules associées (Almroth et al., 2005). Plusieurs études ont mis en évidence une augmentation de la peroxydation lipidique chez les organismes aquatiques exposés aux différents polluants C'est le cas de notre étude. De ce fait de fortes teneurs en MDA ont été observées dans les différents tissus avec un maximum au niveau des intestins et des branchies. Ceci est attribué à la Peroxydation lipidique intense chez les différents organes des deux espèces qui sont exposés aux différents polluants du Barrage. Des résultats similaires ont été observés chez les moules exposés aux métaux lourds (box et al, 2007), chez *cyprinus carpio* exposée au cuivre, et chez l'espèce *Barbus barbus* exposée aux polluants organiques. (Dautremepuits et al 2002; Arrab, 2004).

# Conclusion et perspectives

**Conclusion :**

Le barrage de Beni Haroun est l'un des plus grands projets réalisés en Algérie, il alimente une grande proportion de la population de six wilayas de l'Est du pays. Ce barrage mobilise les eaux d'Oued Rhumel et Oued Endja qui servent d'exutoire à un grand nombre des rejets domestiques et industriels. Dans le but d'évaluer l'état sanitaire des eaux du barrage de Beni Haroun par l'utilisation des biomarqueurs du stress oxydatif dans le foie, les branchies et les intestins des deux espèces de poissons abondants dans le barrage : *Barbus barbatus* et *Cyprinus carpio*. Une méthodologie allant de la collecte des échantillons en passant par une étude biométrique, une dissection, une identification du sexe, une préparation des extraits jusqu'au dosage des paramètres de stress oxydatif a été appliquée.

Les résultats de cette étude suggèrent que les deux espèces de poissons sont soumises à un stress oxydatif. Les différents polluants du barrage affectent les enzymes et les substrats impliqués dans le contrôle du stress oxydatifs. La réponse biochimique dans les différents organes des deux espèces étudiées, à la contamination est caractérisée par :

- ✚ Une augmentation de l'activité de la catalase et de l'activité glutathion -S-transférase ;
- ✚ Une diminution du taux du glutathion ;
- ✚ Une surproduction importante du MDA.

Cette réponse varie en fonction, de la nature du polluant, en fonction du tissu, de l'espèce de poisson, de l'âge, de la taille, et de la durée de l'exposition qui est considérée comme la durée de vie du poisson.

D'une manière générale, les résultats de la présente étude ont mis en évidence la gravité des effets néfastes des polluants du barrage sur les organismes aquatiques qui y peuplent. Ceci nous a conduits à poser une importante question ?

Quelles seront les effets des polluants sur la population humaine consommatrice des eaux et des poissons du barrage ?.

Pour répondre à cette question, plusieurs perspectives sont envisageables :

- ✚ Elargir notre étude sur d'autres espèces surtout celle qui sont exploitées dans l'industrie alimentaire ;
- ✚ L'utilisation des autres biomarqueurs comme métallothionine, la super oxyde dismutase SOD, l'acétylcholinestérase, et les EROD ;
- ✚ Faire une étude identique sur la population humaine consommatrice des eaux et des poissons des barrages.

# **Les références bibliographiques**



Les références bibliographiques :

A

**Abou-Arab A. (2001).** Heavy metal contents in egyptian meat and the role of detergent washing on thier levels. *Food Chem Toxicol.* **39**,p :593-9.

**Agence nationale des barrages (Beni Haroun). ( 2007).**

**Alain V.et B. Alain (2005).** toxicologie ,2<sup>eme</sup> édition, Lavoisier, ISBN : 2-7430-0678-1 .p :301-305.

**Almroth BC., J. Sturve., A. Berglund et L. Forlin (2005).** Oxidative damage in eelpout (*Zoarces viviparus*), measured as protein carbonyls and TBARS, as biomarkers. *Aquat Toxicol*,**73**, p :171–80.

**Amiard J.C.,T.Caquet, et L. Lagadic (1998).** Les biomarqueurs parmi les méthodes d'évaluation de la qualité de l'environnement. In *Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement*, edited by par L. Lagadic, T. Caquet, J.C.Amiard and F. Ramade, Paris: Lavoisier, Technique et Documentation, p : XXI-XXXI.

**Amiard J.C.( 1994).** Surveillance de la qualité des milieux aquatiques par les biomarqueurs. *IREPOLIA, La Chronique*, P : 9-2.

**Amiard J.C et T.C Amiard(2008).** Les bio-marqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques, Lavoisier, p :18-19.

**Amiard j.c et C. Amiard-Triquet (1980).** Le transfert des polluants radioactifs dans les chaines alimentaires aquatiques année biol,19, p :117-146.

**Arrab N. (2004).**Les biomarqueurs chez les poissons et les bivalves : de l'exposition a l'effet et du laboratoire au terrain , these de doctorat, Université de Bordeaux.

B

**Badeau M. (2006).** effets d'un antioxydant, le Tempol, sur les actions métaboliques et vasculaires de l'insuline chez le rat insulino-résistant avec un surplus de poids. Thèse de doctorat, Université Laval, Québec, Canada, p : 48.

**Bainy A.C.D., E. Saito., P.S.M. Carvalho et V.B.C. Junqueira(1996).**Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site. *Aquat.Toxicol.* **34**,P : 151–162

**Barillet S., A. Buet., C. Adem., et A. Devaux (2006).** Bioaccumulation, oxydative stress, and neurotoxicity in danio rerio exposed to different isotopic compositions of uranium. *Environnement toxicology and chimistry*, 26, No. 3, p :459.

**Barillet S. (2007).** Toxicocenetique, toxicité chimique et biologique de l'uranium chez le poisson Zèbre (*Danio rerio*). Thèse de doctorat . Université Paul Verlaine de Metz Laboratoire de Radioécologie et d'Ecotoxicologie, ISRN IRSN, p :478.

**Benard A., M.Durif et L.Vandamme (2004).** l'utilisation d'un technique de biosurveillance pour évaluer les retombées des métaux lourds cas d'un site de second fusion du plomb, AIRE, P : 66.

**Bélangier M.C. (2007).** Statut redox, inflammatoire et métabolique chez une population inuit: effets d'une alimentation traditionnelle riche en acides gras omega-3 et en sélénium, mais contaminée par du mercure et des biphényles polychlorés. Thèse de doctorat, Université Laval, Québec, Canada, p-49.

**Boquene G. (1996).** L'acétylcholinestérase, marqueur de neurotoxicose. Application à la surveillance des effets biologiques des polluants chez les organismes marins. Thèse de Doctorat, Ecole Pratique des Hautes Etudes, P : 250.

**Box A., A.Sureda., F.Galgani., A.Pons et S.Deudero(2007).** Assessment of environmental pollutionat BalearicIs lands applying oxidative stress biomarkers in themussel *Mytilus gallo provincialis*. *Comp.Biochem.Physiol.C146*, p :531–539.

**Bozcaarmutlu A et E.Arinc(2004).** Inhibitory effects of divalent metal ions on liver microsomal 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) activity of leaping mullet. *Mar. Environ. Res.* **58**, P : 521–524.

✓ **Bozcaarmutl A., C. Sapmaz,, Z. Aygun et E. Arinc (2009).** Assessment of pollution in the West Black Sea Coast of Turkey using biomarker responses in fish. *Marine Environmental Research.* **67**, p :167–176.

**Bradford M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein- dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, P : 248–254.

**Breton B., D.Babo et J.Pagé.(2002).** Atlas pratique des poissons et méthode de pêche, Atlas, p : 238.

**Buttler et al (1971). In Ramad F(2007).** ). Introduction à l'écotoxicologie fondement et application, Lavoisier, Paris, p :410-470.

**Buryslowskyj M., A.C.Garrood., J.T.Parson et H.Woodhead(1988).** Elevation of glutathione S-transferase activity as a stress response to organochlorine compounds in the fresh water mussel *Sphaerium corneum*. *Mar Env. Res.*, 24, p :101-104.

## C

**Cajaraville M.P., M.J.Bebianno., J.Blasco .,C. Porte., C.Sarasquete etA.Viarengo (2000).** The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *Science of the Total Environment*,247,P : 295-311.

**Castronovo V.(2003).** Alimentation et cancer. *Rev Med Liege*, 58(4), p :231-239.

**Chabaud M.( 2007).** Utilisation des antioxydants en hépatologie chez les carnivores domestiques. Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire de Lyon, France, p : 31.

**Chatterjee S et S. Bhattacharya (1984).** Detoxication of industrial pollutants by the glutathione –S- transferase system in the liver of *Anabas testudineus* (bloch).

**Chiarra J.(2010).**([www.karpeace.com/medias/](http://www.karpeace.com/medias/) ).

**Christie N et M. Costa(1984).**In vitro assessment of the toxicity of metals compounds. IV Disposition of metals in cells : interaction with membranes, glutathione. metallothionein and DNA. *Biol.Trace Elem. Res.* 6, P : 139–158

**Conseil P.G., R.T. Baker., G. Chelvonayagam et L.S.Jermier (1997).** Une nouvelle classe de Glutathion-S-Transferase dans une gamme d'espèces de plantes à l'homme, *Biochem*,328,pp929-935.

**Conti M.E et G. Cecchetti (2001)** biological monitoring : lichens as bioindicators of air pollution assessment ,a review ,*Envirenmmnttal pollution*.114(3), p :471-492.

**Cosson R.(1992).** Les métallothionéines. *Anal. Mag.* 20, p :50-53.

**Cossu C., A. Doyotte., M.C.Jacquin et P. Vasseur (1997).** Biomarqueurs du stress oxydant chez les animaux aquatiques. In : Lagadic, L., Caquet, T.,Amiard, J.C., Ramade, F. (Eds.), *Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects fondamentaux*. Masson, Paris, Milan, Barcelone, pp. 149–163.

**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*, Institut national des sciences appliquées de Lyon, France, p : 22.

Research and application in the assessment of environmental health: NATO Advanced Science Institutes Series, v. Berlin, Springer Verlag. H 68, p : 15-29.

**Depledge M.H. (1994).** The rational basis for the use of biomarkers as ecotoxicological tools, *in* M. C. Fossi, and C. Leonzio, eds., *Nondestructive biomarkers in vertebrates*: Boca Raton, FL, USA, Lewis Publishers, p : 261-285

**Dj Giulio Giulio R.T., C. Habig et E.P. Gallagher (1989) in Lagadic L., T.Caquet et J.C.Amiard(1997).** Biomarqueurs en écotoxicologie : principes et définitions. In *Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux* (eds L. Lagadic, T. Caquet, J.C. Amiard & F. Ramade), Masson, Paris.

**Dj Giulio R.T., C. Habig et E.P. Gallagher(1993).** Effects of Black Rock harbor sediments on indice of biotransformation, oxidative stress, and DNA integrity in channel catfish. *Aquat. Toxicol*, **26**, p :1-22.

**Dumont P. (1996).** Comparaison de la dynamique des populations des perchaudes (*Perca flavescens*) soumises à niveaux différents de stress anthropiques, Ministère de l' Environnement et de la Faune, Service de l'aménagement et de l'exploitation de la faune, Montréal, Rapp. Tech. 06, p :046,

#### E

**Ellman G. ( 1959).** Plasma anti oxydants. *Arch Biochem Biphys*, **82**, P :7.

✓ **Emoto M. (2002).** L'eau et le devenir de la terre. Edes TREDANIEL.

#### F

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

**Ferreira M.,P. Moradas-Ferreira et M.A. Reis-Henriques (2005)..**Oxidative stress biomarkers in two resident species, mullet (*Mugil cephalus*) and flounder (*Platichthys flesus*), from a polluted site in River Douro Estuary, Portugal. *Aquatic Toxicology*, P : 39-48.

**Forbes V.E. et T.L. Forbes(1997).** Ecotoxicologie, théorie et applications. INRA Editions, Versailles, P : 256.

#### G.

**Gailei F.A.Y. et O.L. Lloyd(2000).** spatial and temporal potteerns of airborne metal pollution : the value of low technology sampling to an envirenmmntal epidemiology

study. In : Mulgrew A. and Williams P., 1993. Biomonitoring Air quality using plants, Air hygiene Report N° 10(WHOCC), Berlin.

**Garait B. (2006).** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (*hyperoxie*) et effet de la Gli SOD in. *Thèse de doctorat. Université Joseph Fourier, France, p :159.*

**Gardès-Albert M., D. Bonnefont-Rousselot., Z. Abedinzadeh., D. Jore ( 2000).** Espèces réactives de l'oxygène : comment l'oxygène peut-il devenir toxique. *Mécanismes biochimiques.*

**George G.S et G. Buchanan (1990).** Isolation, properties and induction of plaice liver cytosolic glutathione S-transferases. *Fish Physiol. & Biochem.*, v. 8, n° 6, P : 437-449.

**Gérard G. (1999)** :l'eau tome II usages et polluants, INRA Paris, ISSN : 1250-5218-ISBN : 2-7380-0854-2 .p :31-149.

**Giguère A., P.G.Campbell., L. Hare et C.Cossu-Leguille (2005)** Metal Bioaccumulation and oxidative stress in yellow perch (*Perca flavescens*) collected from eight lakes along a metal contamination gradient (Cd, Cu, Zn, Ni). *Can J Fish Aquat Sci*, 62, P:563–77.

**Goudable J et A. Favier ( 1997).** Radicaux libres .oxygénés et antioxydants. *Nutr clin Métabol.* 11 P:115-120.

**Gueye P M. (2007).** Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge. *Thèse de doctorat,*

**Guelorget O et J.P. Perthuisot (1984).** Indicateurs biologique et diagnose écologique dans le domaine paralique, *Bull écol.* 15, p :67-76.

**Gonzalez C.M et M.L.Pignata (1997).** chemical response of the lichen *Punctelia subrudecta* (Nyl.) Krog transplanted close to a power station in an urban-industrial environment. *Environment pollution.* 97(3). p :195-203.

## H

**Habig W. H., J.M. Pabst et W.B. Jakoby (1974).** Glutathione S-transferases. The first step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 249, P : 7120-7130.

**Habila S. (2008).** Etude de l'impact du barrage beni Haroon sur l'environnement : Effets écotoxicologiques, Université de Jijel, P :141.

**Hadi M. (2004).** La quercétine et ses dérivés : molécule à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; étude et applications thérapeutiques. *Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur Strasbourg I, France, p :19.*

**Halliwell B.(1994).** Free radicals, antioxidants, and human disease : curiosity, cause, or consequence. *Lancet*, 344,p:721-724.

**Hancock J.T.,R. Desikan et S.J. Neill ( 2001).** role of reactive oxygen species in cell signalling pathways. *Biochemical society transactions*, 29, p :345-350.

**Haton C. ( 2005).** Effets des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction de la cellule épithéliale intestinale. *Thèse de doctorat, Université Paris VI, Pierre et Marie Curie, France, p :147*

**Holdgate. (1979).In Ramad.2007.** Introduction à l'écotoxicologie fondement et application, Lavoisier, Paris, p :410-470.

**Hopking. (1993).In Ramad. 2007.** Introduction à l'écotoxicologie fondement et application, Lavoisier, Paris, p :410-470

## J

**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.*

**Jebali J., J. Ghedira., Z. Bouraoui., S. Ameer., H. Gurbej et H. Boussetta ( 2009).** Etude quantitative et qualitative des métallothionines chez la daurade *Sparus aurata* exposée aux métaux lourds p-194.

**Juliana S.P., Almeida,, C. aulo., Meletti,, B.R. Cla'udia et Martinez (2005).** Acute effects of sediments taken from an urban stream on physiological and biochemical parameters of the neotropical fish *Prochilodus lineatus*, *Comparative Biochemistry and Physiology*, Universidade Estadual de Londrina ,Elsevier.140 , p : 356 – 363.

**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 : 265.

**Juliana S., Almeida., C. Paulo., Meletti., B.R.Cla'udia et T. Martinez (2005).** Acute effects of sediments taken from an urban stream on physiological and

biochemical parameters of the neotropical fish *Prochilodus lineatus* Comparative Biochemistry and Physiology, Part. C140, p:356 – 363.

**K**

**Kägi J.R et H.J. Hapke (1984).** Biochemical interactions of mercury, cadmium, and lead. In : Nriagu, J.O. (Ed.), Changing metals cycles and human health, Dahlem Konferenzen. Springer-Verlag, Berlin, p: 237–250.

**Koechlin-Ramonatxo C. (2006).** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires, Nutrition clinique et métabolisme, Science direct Université de Montpellier France, p :165-177.

**Kojima S., H. Shimomura, S. Matsumoi (2000).** Effect of irradiation with low dose gamma-rays on chemically induced hepatotoxicity and glutathione depletion. Anticancer Res, 20(3A), P :15-83.

**L**

**Labrot F., D. Ribera., M. Saint-denis et J.F. Narbonne (1996)** In vitro and in vivo studies of potential biomarkers of lead and uranium contamination: lipid peroxidation, acetyl colin esterase, catalase and glutathione peroxidase activities in three non-mammalian species. *Biomarkers*, 1, p :21-28.

**Lagadic L., T. Caquet., J.C. Amiard et F. Ramad (1998).** Utilisation des biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement, Lavoisier, Paris, pp. XXIII-XXXI.

**Lagadic, L., T. Caquet et J.C. Amiard (1997).** Biomarqueurs en écotoxicologie : principes et définitions. In Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux (eds L. Lagadic, T. Caquet, J.C. Amiard & F. Ramade), Masson, Paris, p : 1-9.

**Lagadic L., T. Caquet., J.C. Amiard et F. Ramad (1997b).** Biomarqueurs en écotoxicologie : Aspects fondamentaux, Masson, Paris.

**Lagadic L et T. Caquet (1996).** Marqueurs biologiques de pollution: des outils au service de l'écotoxicologie. *Phytoma - La Défense des Végétaux*. 480, p :10-13.

**Le Bras G.J. (2007).** Ecotoxicologie et méthode d'investigation, Les bioindicateurs : Rapport. ISA & Université catholique de Lille, version2, P :91.

**Lenartova V., K. Holovska., J. Pedrajas., E. Martinez-Lara., J. Peinado., J. Lopez-Barea., I. Rosival et P. Košuth (1997).** Antioxidant and detoxifying fish enzymes as biomarkers of river pollution. *Biomarkers*, 2, P : 247–252.

**Livingstone D.R. (1993)** : Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarkers in the aquatic environment. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 57, p. 195-211.

**Livingstone D.R., P. Lemaire., A. Mathews., L. Peters., D. Bucke et R.J. Law(1993)**. Pro-oxidant, antioxidant and 7-ethoxyresorufinO-deethylase (EROD) activity responses in liver of dab (*Limandalimanda* ) exposed to sediment contaminated with hydrocarbonsand other chemicals. *Marine Pollution Bull.* 26, p : 602-606

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

**Livingstone D.R., P. Garcia-Martinez., X. Michel., J.F. Narbonne., S. O'Hara., D. Ribera et W. Winston (1990)**. Oxyradical production as a pollution-mediated mechanism of toxicity in the common mussel, *Mytilus edulis* L., and other molluscs. *Ecology*. 4, P :415-424.

**Lopes P.A., T. Pinheiro., M.C.Santos., M. Da- Luz- Mathias., M.J. Collares-Pereira et A.M.Viegas-Crespo(2001)**. Reponse of antioxidant enzymes in fresh water fish populations (*Leuciscusalburnoides* complex) to inorganic pollutants exposure. *Sci.Total Environ.* 280, P :153-163.

**Lopez-Torres M., R. Perez-Campo ., S. Cadenas., C. Rojas et G.A. Barja(1993)**.Comparative study of free radicals in vertebrates. Non-enzymatic antioxidants and oxidative stress. *Comp Biochem Physiol.* 105B, P:757-63.

**Lu F.C.(1992)**. toxicologie : données générales procédures d'évaluation organes cibles évaluation du risque Masson, paris Milan Bonn. p : 324-326.

**Lu G.H., Y. Ji., H.Z. Zhang., H.Wu., J. Qin et C.Wang (2010)**. Active biomonitoring of complex pollution in Taihu Lake with *Carassius auratus*. *Chemosphere.* 79: 588-594.

**Lower W.R et R.J. Kendall (1990)**. Sentinel species and sentinel bioassay. In McCharthy J.F et L.R.Shugart(eds),biomarkers of eviremmmental contamination, Lewis publishers, Boca Raton, p : 309-331.

#### M

**Mannervix A.E., J.J.Noir et B.P. Dunn (1990)**. Post labeling direction des adduits à l'ADN dans les poissons des cours d'eaux chimiquement contaminées, *Sci, Totalenv*,94. p : 89-104.



**Mary-Laury V. ( 2001).** Etude de marqueurs biochimiques de pollution chez le mollusque bivalve d'eau douce *Corbicula Fluminea* (M-LLER)- purification et caractérisation des glutathion-S6transférases, Ecotoxicologie, thèse de doctorat, Université de Bordeaux, 2315, p :285.

**McCarthy J.F et L.R. Shugart(1990).** Biomarkers of environmental contamination. Lewis Publishers, Inc., Boca Raton, FL.

**Mebarki A. (1982).** Le bassin du Kébir- Rhumel(Algérie). Hydrologie de surface et aménagement des ressources en eau ; thèse doctorat de 3<sup>ème</sup> cycle. Université de Nancy II , édition MEBARKI A.. 1984. Ressources en eau et aménagement en Algérie. Le bassin du Kébir- Rhumel. Office des Publications Universitaires.

**Minier C., A. Abarnou., A. Jaouen-Madoulet et A.M Le Guellec (2006).** A pollution-monitoring pilot study involving contaminant and biomarker measurements in the Seine Estuary, France, using zebra mussels (*Dreissena polymorpha*). Environ. Toxicol. Chem. 25,P : 112–119.

**Moffarts B., N. Kirschvink., J.Pincemail., et P.Lekeux (2005).** Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Ann. Méd. Vét*, 149, p :1-9.

**Morel Y et R. Barouki (1998).** Influence du stress oxydant sur la régulation des gènes. *Médecine/science*, 14, P :713-721.

**Muus B et P.Dahlstrom (2003).** Guide des poissons d'eau douce et de pêche, Delachaux et Niestlé, Paris, p :114-138.

## N

**Namour P. (1992).** Les mono-oxygénases de poissons, un outil pour la caractérisation des pollutions chroniques. Etudes du CEMAGREF, serie Ressources en Eau, n° 6, P :232.

**Napierska D., J. Bar'sien'., E. Mulkiwicz., M. Podolska et A.Rybakovas( 2009).** Biomarker responses in flounder *Platichthys flesus* from the Polish coastal area of the Baltic Sea and applications in biomonitoring. *Ecotoxicology*. 18 , P :846–859.

**Narbonne J.F., P. Garrigues., D. Ribera., C. Raounx., A. Matieu., P. Lematre., J.P. Salaùn et M. Lafaurie (1991).** Mixed function oxygenase enzymes as tools for pollution monitoring : field studies on the french coast of the mediterranean sea. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 100, p :37-42.

**NAS/NRC.(1989).** Biologic Markers in Reproductive Toxicology. National Academy Press., Washington, DC. **Nasci, C., DaRos, L., Campesan, G., VanVleet, E.S., Salizzato, M., Sporni, L. & Pavoni, B. (1999)** Clam transplantation and stress-related biomarkers as useful tools for assessing water quality in coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*, 39, P :255-260.

O

**Otto D.M.E et T.W. Moon(1995).**3,30,4,40-tetrachlorobiphenyl effects on antioxidant enzymes and glutathione status in different tissues of rainbow trout. *Pharmacology and Toxicology*. 77, 281–287.

**Ohkawa H., N. Ohishi et K.Yagi ( 1979).** Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric reaction. *Analytical biochem.* 95, P: 351-358.

**Ozmen M., A. Gu" ngo" rdu"., F.Z. Kucukbay et E.R. Guler (2006).** Monitoring the effects of water pollution on *Cyprinus carpio* in Karakaya Dam Lake, Turkey. *Ecotoxicol.* 15, p :157 169.

**Ozmen M., Z. Ayas., Z. AGu" ngo" rdu"., G.F. Ekmekci et S.Yerli (2008),** Ecotoxicological assessment of water pollution in Sariyar Dam Lake, Turkey:*Ecotoxicology and Environmental Safety* 70 (2008) 163–173.

P

**Paula D.B., Adamisa., S. D'ebora., Gomesa,, C.C. Maria Lucia., Pintob., D.Anita., Paneka., C.A. Elis et Eleutherioa (2004).**The role of glutathione transferases in cadmium stress/*Toxicology Letters*. 154, P: 81–88.

**Pellerrin-Massicote J. (1994).** Oxidative processes as indicators of chemical stress in marine bivalves. *J. Aquat. Ecosyst. Health*, 3, p. 101-111.

**Perez T., S. Sartoretto., D. Soltan., S. Capo., M. Fourt., E. Duttrieux., J. Vacelet., J.G. Harmelin et P. Rebouillon (2000).**Etude bibliographique sur les bioindicateurs de l'état du milieu marin. *Système d'évaluation de la Qualité des Milieulittoraux – Volet biologique*. Rapport Agences de l'Eau, 4 fascicules, P : 642.

**Pincemail J et J. Defraigne (2003).** Le coenzyme Q<sub>10</sub> ou ubiquinone : un antioxydant particulier. *Cardio*. 2, P :55-60.

**Pincemail J., K. Bonjean., K. Cayeux et Defraigne ( 2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16. P: 233-239.

**Piervittori R et S. Maffei (2001).** *the importance of indicator species in the biomonitoring of atmospheric pollution. A case study in the city of Aosta, NW Italy.* Cryptogamie mycologie. **22(4)**, p : 297-310.

**Pandey S., S. Parvez ., I. Sayeed., R. Haque ., B. Bin-Hafeez et S. Raisuddin (2003)** Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish Wallgo attu (Bl. & Schn.). *Sci Total Environ* , 309, P:105–15.

**Powers D.A. (1989).** Fish as model systems, *Science*, **246**: 352-358.

## Q

**Qunfang Z., Z. Jianbin., F. Jianjie., S.Jianbo et J. Guibin (2008).** Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. Rapport. Elsevier, P :148.

## R

**Ramad F. (1979).** *Ecotoxicologie, 2<sup>e</sup>*, Masson, Paris.

**Ramad F. (1998).** Dictionnaire encyclopédique des science de l'eau, Ediscience, Paris, p : 63-64.

**Ramad F. (2000).** Dictionnaire encyclopédique des polluants, Edi science international, Paris, P :786.

**Ramad F. ( 2002).** Dictionnaire encyclopédique de l'écologie et de science de l'environnement ,2<sup>eme</sup> édition, Dunod, paris ISBN : 210 00 66 706 .p :243-245.

**Ramad F.(2003).** Introduction à l'éco toxicologie fondement et application, lavoisier, paris, p : 411-475.

**Ramad F. (2007).** Introduction à l'écotoxicologie fondement et application, Lavoisier, Paris, p :410-470.

**Regoli F., S. Gorbi., G. Frenzilli., M. Nigro., L. Corsi., S. Focardi et G.W. Winston(2002).** Oxidative stress in ecotoxicology: from the analysis of individual antioxidants to a more integrated approach. *Mar. Environ. Res.* 54, p : 419–423.

**Ré D B., L. Nafia., A. Nieoullon., L. Kerkerian et L. Had-Aissouni (2005).** Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implication sur la survie neuronale. *Annale française d'anesthésie et de réanimation*, 24, P : 502-509.

**Richard C., Strange., W.J.Peter et A.F.Anthony (2000).** Glutathione S-transferase: genetics and role in toxicology: *Toxicology Letters*, p: ( 112–113; 357–363).

**Rodier J., C. Bazin., J.P. Boutin., P. Chanbon et L. Rodi (1996).** L'analyse de l'eau. 8ième édition.

✓ **Rodier J.(2009).**L'analyse de l'eau, eau naturel, eau résiduaires, eau de mer, 9°edition,Dumod, Paris, P :1383.

## S

**Saitanis C.j. et M.G. Karandinos (2001).** Instrumental recording and biomonitoring of ambient ozone in the Greek countryside. *Chemosphere*. **44**.,p : 813-821

**Severine P., A. Sylvie Biagianti-Risbourg., B. Aure'lie Fouley et V. Guy (2000).** Metallothioneins in liver of *Rutilus rutilus* exposed to Cu<sub>2</sub>\_.Analysis by metal summation, SH determination and spectrofluorimetry, p :114.

**Shoffild S.R et R.J. Kendall (1997).** Wildlife species as setinels of environmental health hazards, *Environ Health, Persp*,(sou presse).

**Soares A.F. (2005).** Effets du stress oxydant sur le fonctionnement des adipocytes : adipocytes et prostaglandines. *Thèse de doctorat, Institut national des sciences appliquées de Lyon, France, p :200.*

**Sobhi Y. (1997).** Toxicologie des métaux lourds chez les organismes aquatiques; aspects environnementaux et expérimentaux.Thèse de doctorat, univervté de Fès, Maroc. P : 300

**Station météorologique du barrage de Beni Haroun.**

**Stegeman J.J., M. Brouwer., R.T. Digiulio., L. Forlin., B.H.Fowler., B.B. Sanders et P.A. Vanheld (1992).** Molecular and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. Editors : Michigan, USA; Louis Publishers.

## T

**Timbrell J.A., R. Draper et C.J. Waterfield(1994).** Biomarkers in toxicology: new uses for some old molecules? *Toxicology and Ecotoxicology News*, **1(1)**, P :4-14.

**Torreilles J., M.C. Guérin et P.Roch(1996).**Espèces oxygénéesréactives et systèmes de défense des bivalves marins. *C. R. Acad.Sci. III* 319, P : 209–218.

## U

- ✓ **UNESCO. (2003).** L'eau pour les hommes, l'eau pour la vie. Rapport mondial sur la mise en valeur des ressources en eau. P : 36

**V**

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

**Viarengo A. (2000).** The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *Science of the Total Environment*, **247**, P :295-311.

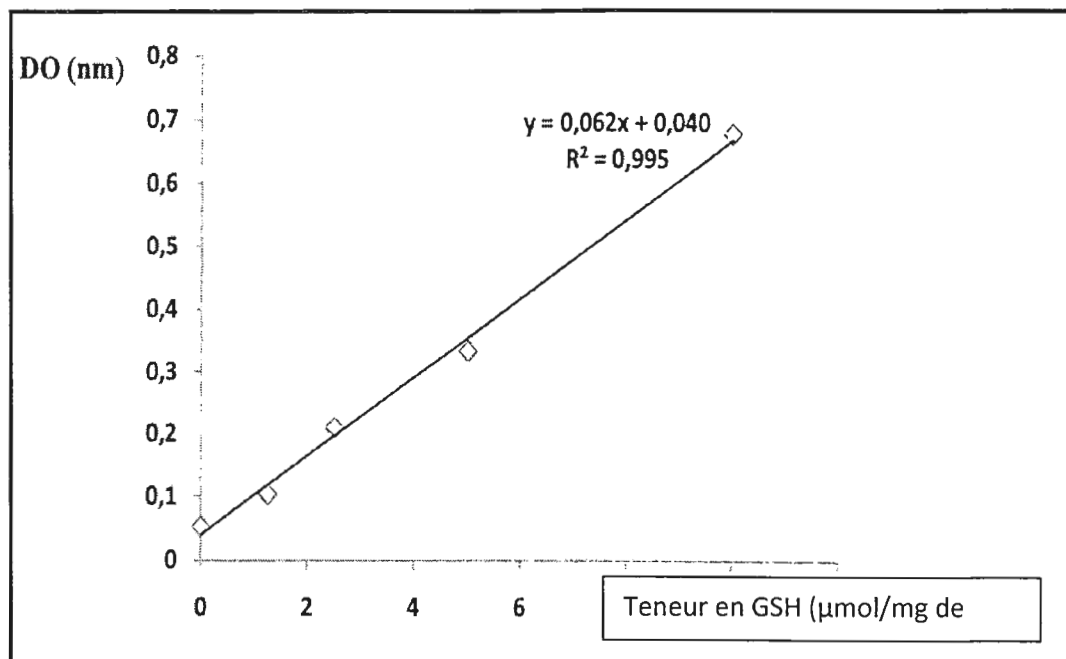
**W**

**WHO. UNEP. (1989).** Public Health Impact of Pesticides used in Agriculture. *OMS et PNUE, Genève, Suisse.*

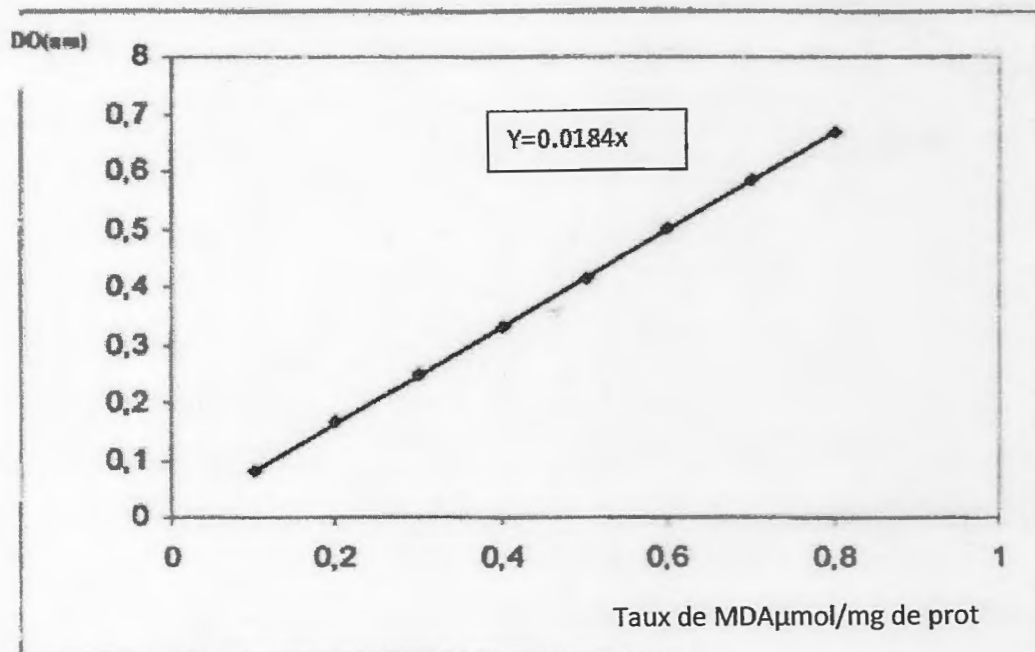
- ✓ **WHO. (1992).** World Health Organization: our planet, our health, Genva. P : 282.

# Annexes

**Annexe 01 : Courbe d'étalonnage du GSH avec le réactif DTNB**

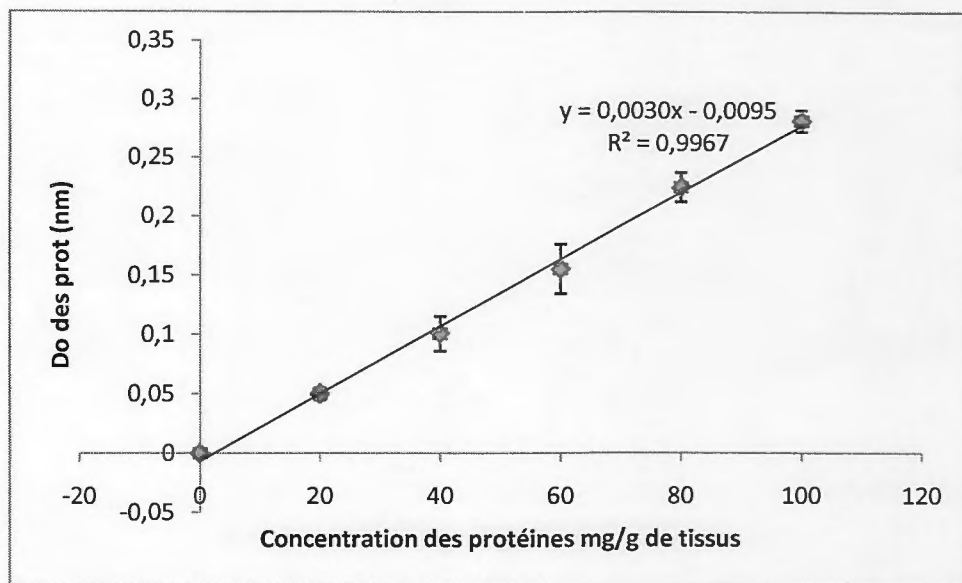


Annexe 02 : Courbe d'étalonnage du MDA avec 1, 1, 3,3tetraetoxypropane





**Annexe 03 : Courbe d'étalonnage des protéines totales .**



**Annexe04 : L'activité de catalase(CAT) :**

**A. Test de Student (sexe, espèce) :**

Test de Student entre les sexes	F	P
Foie carpe(male/femelle)	51,7449	7,01555E-6 <sup>***</sup>
Branchies carpe(male/femelle)	0,13647	0,71776
Intestins carpe(male/femelle)	2,7486	0,12126
Foies barbeau(male/femelle)	1,75277	0,20834
Branchies barbeau(male/femelle)	0,00107	0,97439
Intestins barbeau(male/femelle)	0,10045	0,75633

Test de Student entre les espèces	F	P
Foies carpe/barbeau	40,81151	6,47782E-7 <sup>***</sup>
Branchies carpe/barbeau	8,74692	0,00624 <sup>**</sup>
Intestins carpe/barbeau	17,15794	2,86661E-4 <sup>***</sup>

**B. Test de l'Anova entre les organes**

Anova Espèces	F	P
CyprinusCarpio (foie, branchie, intestin) male	0,27658	0,76029
CyprinusCarpio (foie, branchie, intestin) femelle	35,82046	0,24711
Barbus barbus (foie, branchie, intestin) male	1,47286	0,24711
Barbus barbus (foie, branchie, intestin) femelle	0,55123	0,59016

**Annexe05 :L'activité de Glutathion GSH :**

**A. Test de Student (sexe, espèce)**

Test de Student entre les sexes	F	P
Foie carpe(male/femelle)	0,22502	0,64311
Branchies carpe(male/femelle)	3,1178	0,1009
Intestins carpe(male/femelle)	5,18123	0,0404*
Foies barbeau(male/femelle)	0,02687	0,87231
Branchies barbeau(male/femelle)	2,91446E-4	0,98664
Intestins barbeau(male/femelle)	0,05215	0,82291
Test de Student entre les espèces	F	P
Foies carpe/barbeau	4,60206	0,04075*
Branchies carpe/barbeau	20,08895	1,14092E-4***
Intestins carpe/barbeau	8,84035	= 0,006**

**B. Test de l'Anova entre les organes**

Anova Espèce	F	P
CyprinusCarpio (foie, branchie, intestin) male	24,59453	4,75161E-7
CyprinusCarpio (foie, branchie, intestin) femelle	1,1254	0,36624
Barbus barbus (foie, branchie, intestin) male	0,16394	0,84963
Barbus barbus (foie, branchie, intestin) femelle	0,12643	0,8824

**Annexes06 :L'activité de Glutathion-S-Transferase GST :**

**A. Test de Student (sexe, espèce) :**

<b>Test de Student entre les sexes</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Foie carpe(male/femelle)</b>	<b>1,57638</b>	<b>0,23138</b>
<b>Branchies carpe(male/femelle)</b>	<b>2,26354</b>	<b>0,15635</b>
<b>Intestins carpe(male/femelle)</b>	<b>0,12906</b>	<b>0,72517</b>
<b>Foies barbeau(male/femelle)</b>	<b>0,07108</b>	<b>0,79395</b>
<b>Branchies barbeau(male/femelle)</b>	<b>0,47123</b>	<b>0,50448</b>
<b>Intestins barbeau(male/femelle)</b>	<b>0,02818</b>	<b>0,86927</b>
<b>Test de Student entre les espèces</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Foies carpe/barbeau</b>	<b>5,04255</b>	<b>0,03281</b>
<b>Branchies carpe/barbeau</b>	<b>0,05526</b>	<b>0,81586</b>
<b>Intestins carpe/barbeau</b>	<b>0,13624</b>	<b>0,71483</b>

**B. Test de l'Anova entre les organes**

<b>Anova Espèces</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>CyprinusCarpio (foie, branchie, intestin) male</b>	<b>15,40083</b>	<b>2,50085E-5</b>
<b>CyprinusCarpio (foie, branchie, intestin) femelle</b>	<b>18,44936</b>	<b>6,54619E-4</b>
<b>Barbus barbus (foie, branchie, intestin) male</b>	<b>25,46487</b>	<b>6,10122E-7</b>
<b>Barbus barbus (foie, branchie, intestin) femelle</b>	<b>6,46442</b>	<b>0,01244</b>

**Annexe07 :Le taux de MDA :**

**A.Test de Student (sexe, espèce) :**

<b>Test de Student entre les sexes</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Foie carpe(male/femelle)</b>	4,04606	0,06548
<b>Branchies carpe(male/femelle)</b>	1,77363	0,20581
<b>Intestins carpe(male/femelle)</b>	0,02327	0,88109
<b>Foies barbeau(male/femelle)</b>	0,18492	0,67422
<b>Branchies barbeau(male/femelle)</b>	0,56676	0,46496
<b>Intestins barbeau(male/femelle)</b>	0,53581	0,47717
<b>Test de Student entre les espèces</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Foies carpe/barbeau</b>	<b>6,77777</b>	<b>0,0146</b>
<b>Branchies carpe/barbeau</b>	0,07588	0,78498
<b>Intestins carpe/barbeau</b>	2,13317	0,15527

**B.Test de l'Anova entre les organes**

<b>Anova Espèces</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>CyprinusCarpio (foie, branchie, intestin) male</b>	<b>4,29059</b>	<b>0,02297</b>
<b>CyprinusCarpio (foie, branchie, intestin) femelle</b>	<b>9,13639</b>	<b>0,00681</b>
<b>Barbus barbuis (foie, branchie, intestin) male</b>	<b>1,43925</b>	<b>0,25472</b>
<b>Barbus barbuis (foie, branchie, intestin) femelle</b>	<b>0,86637</b>	<b>0,44519</b>

**Annexe08 :L'activité des protéines :**

**A.Test de Student (sexe, espèce) :**

<b>Test de Student entre les sexes</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Foie carpe(male/femelle)</b>	<b>0,02029</b>	<b>0,8889</b>
<b>Branchies carpe(male/femelle)</b>	<b>2,51146</b>	<b>0,13704</b>
<b>Intestins carpe(male/femelle)</b>	<b>0,02292</b>	<b>0,88199</b>
<b>Foies barbeau(male/femelle)</b>	<b>0,00514</b>	<b>0,94392</b>
<b>Branchies barbeau(male/femelle)</b>	<b>1,96218</b>	<b>0,1847</b>
<b>Intestins barbeau(male/femelle)</b>	<b>0,67219</b>	<b>0,42707</b>
<b>Test de Student entre les espèces</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Foies carpe/barbeau</b>	0,67991	0,41659
<b>Branchies carpe/barbeau</b>	0,82781	0,37067
<b>Intestins carpe/barbeau</b>	0,23299	0,63307

**B.Test de l'Anova entre les organes**

<b>Anova Espèces</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>CyprinusCarpio (foie, branchie, intestin) male</b>	36,91605	8,16289*10 <sup>-9</sup>
<b>CyprinusCarpio (foie, branchie, intestin) femelle</b>	16,10505	0,00106
<b>Barbus barbus (foie, branchie, intestin) male</b>	20,61496	3,67071*10 <sup>-6</sup>
<b>Barbus barbus (foie, branchie, intestin) femelle</b>	17,07946	3,08712*10 <sup>-4</sup>

**Annexe 09 :L'étude biométrique :**

<b>Test de student poids/longueur sexe</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Carpe male/femelle poids</b>	<b>3,07174</b>	<b>0,1032</b>
<b>Carpe male/femelle longueur</b>	<b>0,95033</b>	<b>0,34743</b>
<b>Barbus barbus male/femelle poids</b>	<b>6,71176</b>	<b>0,0224</b>
<b>Barbus barbus male/femelle longueur</b>	<b>2,82763</b>	<b>0,116551</b>
<b>Test de Student des deux espèces</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Poids des deux espèces</b>	<b>43,797</b>	<b>3,5294*10<sup>-7</sup></b>
<b>Longueur des deux espèces</b>	<b>179,31703</b>	<b>1,0747*10<sup>-13</sup></b>

**Annexe 10 : concentration des métaux lourds ( $\mu\text{g/g}$ ) dans les eaux du Barrage Beni Haroun.**

Prm \ ST	Oued Rhumel	Sidi Marwane	Mila	La digne
Température	20.9 <sup>1</sup> 23.26 <sup>2</sup> 19.90 <sup>3</sup>	22.06 <sup>1</sup> 19.25 <sup>2</sup> 23.4 <sup>3</sup>	25.56 <sup>1</sup> 22.2 <sup>2</sup>	20.5 <sup>1</sup> 18.8 <sup>2</sup> 23.46 <sup>3</sup>
Conductivité	1433.38 <sup>1</sup> 579.66 <sup>2</sup> 1420 <sup>3</sup>	1533.3 <sup>1</sup> 1456.25 <sup>2</sup> 115.33 <sup>3</sup>	8.82 <sup>1</sup> 8.30 <sup>2</sup>	1363.3 <sup>1</sup> 1488.75 <sup>2</sup> 11.6.66 <sup>3</sup>
PH	8.45 <sup>1</sup> 8.58 <sup>2</sup> 7.66 <sup>3</sup>	8.39 <sup>1</sup> 7.67 <sup>2</sup> 8.59 <sup>3</sup>	8.82 <sup>1</sup> 8.30 <sup>2</sup>	8.45 <sup>1</sup> 7.87 <sup>2</sup> 8.55 <sup>3</sup>
Oxygène dissous	5.5 <sup>1</sup> 4.85 <sup>2</sup>	4.91 <sup>1</sup> 5.38 <sup>2</sup>	4.3 <sup>1</sup>	7.1 <sup>1</sup> 5.60 <sup>2</sup>
NitrateNO3	2.09 <sup>3</sup>	1.75		2.13 <sup>1</sup>
NitriteNO2	0.1 <sup>3</sup>	0.121		0.205 <sup>1</sup>
PO3	2.52 <sup>3</sup>	2.03 <sup>3</sup>		2.86 <sup>1</sup>
Plomb	60.7 <sup>1</sup> 337 <sup>2</sup> 0.247 <sup>3</sup>	21.89 <sup>1</sup> 0.363 388 <sup>3</sup>	439.1 <sup>1</sup> 13.39 <sup>2</sup>	66.67 <sup>1</sup> 0.291 <sup>2</sup> 134.9 <sup>3</sup>
Cadmium	5.09 <sup>1</sup> 139 <sup>2</sup> 0.026 <sup>3</sup>	4.94 <sup>1</sup> 0.023 <sup>2</sup> 3 <sup>3</sup>	7 <sup>1</sup> 2.39 <sup>2</sup>	4.19 <sup>1</sup> 0.041 <sup>2</sup> 10.9 <sup>3</sup>
Cuivre	0.076 <sup>3</sup>	0.052		0.122 <sup>1</sup>
zinc	1.244 <sup>3</sup>	0.886		0.826 <sup>1</sup>
manganèse	0.117 <sup>3</sup>	0.099		0.131 <sup>1</sup>

1 : Année2007 , 2 : Année2011 , 3 :Année2012.

ST :site ,Prm :paramètre.



**Annexe 11 : : la concentration des métaux lourds ( $\mu\text{g/g}$ ) dans les sédiments du Barrage Beni Haroun.**

Site \ Elt	Pb	Cd	Cr	Cu	Zn	P	Mn
<b>Oued Rhimel</b>	25,883 <sup>3</sup>	1,705					
	60,7 <sup>1</sup>	5,09	30,737	16,142	304,60	178,52	302,941
	32,67 <sup>2</sup>	0,1					
<b>Sidi Moroune</b>	36,956 <sup>1</sup>	3,259					
	21,89 <sup>2</sup>	4,94	24,368	24,532	204,73	149,7	301,783
	51,05 <sup>3</sup>	0,15					
<b>Mila</b>	13,39 <sup>1</sup>	2,29					
	44,42 <sup>2</sup>	9,29					
<b>La digue</b>	40,848 <sup>1</sup>	3,028					
	66,67 <sup>2</sup>	4,19	28,202	29,207	274,08	232,59	325,353
	119,98 <sup>3</sup>	1,14					

**Elt : élément**

**1 : année 2007**

**2 : année 2011**

**3 :année 2012**

<b>NOM</b> MOUSSA Meftah	<b>PRENOM</b> Fadila Hafssa	<b>Date de soutenance</b> Juillet 2012
--------------------------------	-----------------------------------	-------------------------------------------

**Contribution à l'étude de la qualité des eaux du barrage Beni Haroun par utilisation de biomarqueurs de stress chez deux espèces de poissons (Cyprinus carpio et Barbus barbuis).**

#### RESUME

Le but de cette étude est de suivre l'état sanitaire et la qualité des eaux du barrage de Beni Haroun, pour cela nous avons procédé à un suivi de la réponse biochimique à la pollution en utilisant des bio marqueurs enzymatiques (la catalase, la glutathion -S-transférase) et non enzymatiques (la peroxydation lipidique, le glutathion) du stress oxydant cytosolique dans les différents tissus ( foie ,branchies, et intestins) des deux espèces de poissons *Barbus barbuis* et *Cyprinus carpio* , choisies comme des bio-indicateurs en raison de leurs aptitude de la bioaccumulation et la bioconcentration des polluant au niveau de leurs tissus. Les résultats obtenus dans la présente étude ont montré que les poissons du barrage sont soumis à un stress oxydant, la réponse biochimique des poissons se traduit par une augmentation de l'activité enzymatique de la catalase, et de l'activité de la glutathion-s-transférase , une diminution du taux du GSH et enfin une surproduction du MDA.

#### Mots-clefs :

Biosurveillance , Eau, CAT, GST, MDA, GSH.

#### Abstract

The purpose of this study is to monitor the health the quality of the water from Beni Haroun's dam, for this we have been monitoring the biochemical response to pollution using biomarkers enzyme (catalase, glutathione S-transferase) and non-enzymatic (lipid peroxidation, glutathione) of the oxidizing cytosolic stress in different tissues (liver, gills and intestines) from two fish species *Barbus barbuis* and *Cyprinus carpio*, chosen as bioindicators because of their ability of bioaccumulating-and bioconcentrating pollutants in their tissues. The results obtained in this study showed that fish from the dam are subjected to oxidative stress, the biochemical response of fish results in an increase in enzyme activity of catalase, and glutathione-s transferase, decreased levels of GSH and finally an overproduction of MDA.

#### Key words:

Biomonitoring, Water, CAT, GST,MDA, GSH.

#### ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو متابعة الحالة الصحية و نوعية مياه سد بني هارون لذلك اقترحنا اتباع الاستجابة البيوكيميائية ضد التلوث. استعملنا المؤشرات البيوكيميائية الانزيمية(الغلوتاتيون الأنزيمي والكاتالاز) واللاانزيمية (المالونيل الدهيد والغلوتاتيون) الاكسدة الخلوية على الانسجة المختلفة (الكبد، الخياشيم، والامعاء) وذلك باستعمال نوعين من الأسماك (الشبوط والملتحي) نظرا لتواجدهم بكثرة في هذا الوسط وتميزهم بخصائص التجميع والتركيز الحيويين. قمنا بإجراء دراسة مخبرية للملوثات على مستوى الانسجة النتائج المحصل عليها في دراستنا اثبتت أسماك السد تخضع إلى أكسدة خلوية، الإستجابة البيوكيميائية للأسماك تترجم بارتفاع تركيز الكاتالاز والغلوتاتيون الأنزيمي و إنخفاض في نسبة الغلوتاتيون والإنتاج المفرط المالونيل الدهيد .

#### الكلمات المفتاحية:

المراقبة البيولوجية المياه، الكاتالاز، الغلوتاتيون الأنزيمي، المالونيل الدهيد، الغلوتاتيون