

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique

جامعة 8 ماي 1945

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Science de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

**Domaine:** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière:** Sciences Biologiques

**Spécialité/Option:** Biochimie appliquée

**Département:** Biologie

### Contamination d'un bivalve marin (*Mytilus galloprovincialis*) colonisant le golfe d'Annaba: Effets sur la reproduction

**Présenté par :**

- Essalhi Saida
- Moussaoui Khadidja
- Boukredine Soror

**Devant le jury :**

- Présidente: Dr. Yakhlef M. (MCB)
- Examinatrice: Dr. Slimani A. (MAA)
- Encadreur: Dr. DRIF F. (MCA)

Université de Guelma  
Université de Guelma  
Université de Guelma

**Juin 2023**

## *Remerciements*

Une mémoire de fin d'études, c'est bien sûr un travail de longue haleine. C'est une période où on se pose beaucoup de questions et où on est souvent face à des obstacles techniques et intellectuels. Les solutions sont rarement simples et linéaires. Mais avec l'aide des personnes passionnées dans leur projet

Et leurs spécialités, on peut franchir ces barrières et faire de belles découvertes. Nous remercions tous ceux et celles qui nous ont aidés à la réalisation de cette mémoire et qui nous ont permis d'en arriver là.

Nous remercions en premier lieu notre encadreur : **Mdm Drif fahima**

On lui est très reconnaissant pour tout le temps qu'elle nous a accordé malgré ses nombreuses occupations, ses qualités pédagogiques et scientifiques, ces bons conseils, son omniprésence, sa sympathie et sa gentillesse.

Son orientation et enrichi par ses conseils. Nous la remercions pour son soutien moral et ses encouragements nous ont été d'un grand apport.

C'est un grand honneur que nous ont fait : **Mdm yakhlef et Mdm slimani**

Qui ont bien voulu juger ce travail et en présider le jury de ma mémoire.

À l'université de Guelma. Nous les remercions vivement pour ses conseils constructifs et pour les corrections minutieuses qu'il a apportées à ma mémoire pour avoir examiné ce modeste travail.

Nous sommes très reconnaissants à **madame Bahia** qui nous a accordé

Sa confiance et les moyens nécessaires pour le traitement de mes échantillons et pour leurs aides et encouragements.

Toute notre gratitude va aussi à mes camarades de la promotion

Nous tenons aussi à remercier toutes les personnes qui ont contribué aux prélèvements des moules,

Nous remercions les plus sincères s'adressent enfin à tous mes professeurs de l'université de Guelma, à tous mes collègues, à tous mes amis.

# *Dédicace*

Avant tout, je remercie notre dieu, **ALLAH**, le Miséricordieux, l'Unique,  
Le Puissant ... pour sa protection et son guide.

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :  
À celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoirs, à la source d'amour Incessible, à la mère des  
sentiments fragiles qui ma bénie par ces prières .....**ma mère**  
À mon support dans ma vie, qui m'a appris m'a supporté et ma dirigé vers la gloire.....**mon père**

À mes chères sœurs **Nerimen, Faiza  
Linda, Nada et Malek**

À mon chère fiancé **Hamza**

À toutes les personnes de **ma grande famille**

À mes chers docteurs  
**Dr Fadel, Guerouf et Djilani**

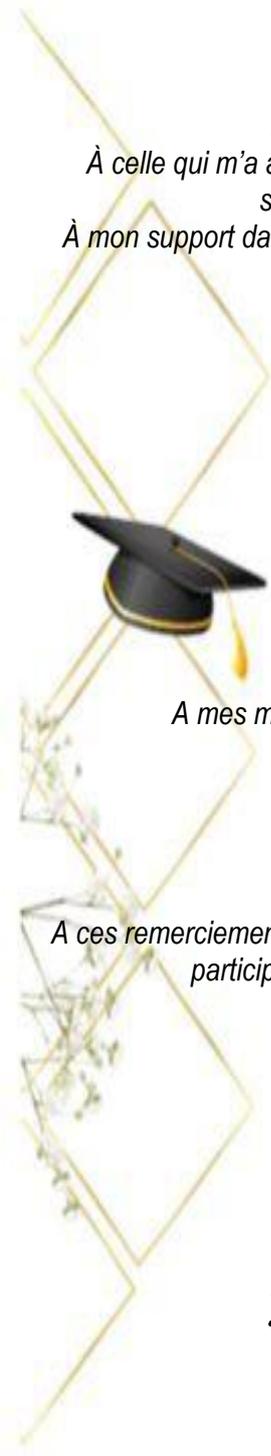
A mes meilleures amies Spécialement **Ikram, Safa, Iman, Amel, Wiam, Randa**

À mon trinôme **Khadija et Sorour**

À mes **collègues de la Santé**

A ces remerciements, j'associe l'expression de ma reconnaissance et à toutes les personnes qui ont  
participé bénévolement de près ou de loin à la réalisation de cette mémoire ;  
À tous ceux que j'aime.

***Essalhi Saida***





## *Dédicace*

Avec l'aide de **Dieu** tout puissant, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie

Au bonheur de ma vie mon cher père : **Sabiha**

A la lumière de mes yeux ma très chère mère : **Abd El Baki**

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon amour, mon respect et mon  
Appréciation pour leurs sacrifices, leur soutien, leur patience, leur tendresse et

Leurs prières tout au long de mes études.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon  
Enfance. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie

Et bonheur.

A mes chères sœurs : **Hadjer, Boutheina, selsabil, Oumaima, Selma**

A mon petit frère : **Taki**

Pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A toute **ma famille maternelle** et **paternelle**.

À mon trinôme : **Saida** et **Soror**

A mes beaux-amis sans exception Spécialement : **Abir, Wiam, Ferial, Khawla et Khalida**

Pour les bons moments passés ensemble, que dieu vous protège.

*Moussaoui Khadija*

# *Dédicace*

*C'est avec une grande joie et une certaine émotion que je rédige ces lignes de remerciements*

*Tout d'abord, je tiens à remercier **DIEU***

*De m'avoir donné la force et le courage de mener*

*à bien ce modeste travail.*

*Je voudrais tout d'abord adresser toute ma gratitude et mes profonds remerciements à la directrice de ce mémoire **Madame Drif Fahima** et je la remercie de m'avoir encadrée, orientée, conseillère et l'aide compétente qu'elle m'a apportée pour structurer et améliorer la qualité du travail, ainsi que pour sa patience et sa gentillesse à notre égard*

*A mon très chère maman **Messaouda***

*Tu as toujours été pour moi un exemple de mère respectueuse, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer la femme que tu es.*

*Grâce à toi maman j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi.*

*Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime maman et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse*

*A mon très chère père **Madjid**, mon soutien moral et ma source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde*

*A ma sœur **Imen** et mon frère **Rami** leurs pour amour, leurs confiances, leurs conseils ainsi que leur soutien inconditionnel qui m'a permis de réaliser les études pour lesquelles je me destine et par conséquent ce mémoire*

*A mes collègues et tous ceux qui m'estiment*

*A mes partenaires dans ce travail et : **khadija et Saida***

*A mes chers enseignants : **Mme Braik , Mme Ayad, Mme Merabet, Mme Hamdiken, Mme Aissani .***

*A toute personne qui m'aime*

*A toute personne qui m'a aidé d'un mot, d'une idée ou d'un encouragement*

**Sourour**

## Liste des abréviations

<b>POP</b>	Les polluants organiques persistants
<b>EDC</b>	Les produits chimiques perturbateurs endocriniens
<b>BPA</b>	Le bisphénol A
<b>PBT</b>	Polybutylène téréphtalate
<b>ERU</b>	Les eaux résiduaires urbaines
<b>BTEX</b>	Benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes
<b>HAP</b>	Les hydrocarbures aromatiques
<b>ETM</b>	Éléments traces métalliques
<b>ERO</b>	Espèces réactives oxygénées
<b>RL</b>	Radicaux libres
<b>DROs</b>	Dérivés réactifs de l'oxygène
<b>EROD</b>	Ethoxyresorufin-O-deethylase
<b>SOD</b>	Superoxyde Dismutase
<b>HAP</b>	Hydrocarbures polyaromatiques
<b>PCB</b>	biphényles polychlorés
<b>GST</b>	Glutathion-S-transférase
<b>GPxs</b>	Glutathion peroxydase
<b>GSH</b>	Glutathion
<b>ADHL</b>	Acide dihydrolipoïque réduit
<b>PDG</b>	Pyruvate déshydrogénase
<b>AChE</b>	Acétylcholinestérases
<b>LPO</b>	lipoperoxydation
<b>MDA</b>	malondialdéhyde
<b>tc</b>	Tissu conjonctif
<b>gd</b>	gonoducte
<b>ov</b>	Ovocyte
<b>og</b>	Ovogonie
<b>spz</b>	spermatozoïde
<b>spt</b>	Spermatide
<b>spg</b>	Spermatogonie

## Listes des figures

**Figure 01** : Anatomie générale d'une moule *Mytilus galloprovincialis*

**Figure 02** : Cycle de développement des gonades chez *Mytilus galloprovincialis*

**Figure 03** : Présentation des sites d'échantillonnage

**Figure 04** : Site d'El-Henaya

**Figure 05** : Site2 d'El-chatt

**Figure 06** : Site 3 de Seybouse

**Figure 07** : Coupe histologique des gonades mâles de l'espèce *M. galloprovincialis* des trois sites d'échantillonnage.

**Figure 08** : Coupe histologique des gonades femelles de l'espèce *M. galloprovincialis* des trois sites d'échantillonnage.

## Sommaire

REMERCIEMENT

DEDICACE

LISTE DES ABRIVIATIONS

LISTE DES FIGURES

RESUME

SUMMARY

المخلص

Introduction ..... 1

### PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Chapitre 01 : Généralités sur la pollution marine

I. POLLUTION MARINE .....	3
1 Les polluants du milieu marin .....	3
1.1 Les eaux usées .....	4
1.2 Eaux de ruissellement.....	4
1.3 Les hydrocarbures .....	4
1.3.1 Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) .....	5
1.3.2 Les hydrocarbures BTEX .....	5
1.4 Les pesticides .....	5
1.4.1 Les herbicides .....	6
1.4.2 Les fongicides.....	6
1.4.3 Les insecticides.....	6
1.4.4 Les biocides .....	6
1.5 Les métaux lourds .....	6
1.5.1. Les oligo-éléments.....	7
1.5.2. Les métaux lourds non essentiels .....	7
2. Les Effets des polluants sur la santé et l'environnement .....	7
2.1 Effets des pesticides .....	7
2.2 Effets des hydrocarbures .....	8
2.3 Effets des métaux lourds sur la santé et l'environnement.....	8

2.3.1 L'impact des métaux lourds sur l'environnement .....	8
2.3.2 L'impact des métaux lourds sur la santé .....	9

## **Chapitre 02 : Généralités sur le stress oxydant**

I. STRESS OXYDANT .....	12
1. Définition .....	12
2. Les Espèces réactives oxygénées (ERO), ou radicaux libres (RL) .....	12
3. Principales sources d'espèces réactives de l'oxygène.....	12
3.1 Les sources endogènes .....	12
3.1.1 (NAD(P)H oxydase .....	12
3.1.2 Xanthine oxydase .....	13
3.1.3 Enzymes de la voie de l'acide arachidonique .....	13
3.1.4 La chaîne respiratoire des mitochondries .....	13
3.1.5 Les peroxysomes .....	13
3.2 Les antioxydants non enzymatiques exogènes .....	14
4. Rôle physiologique des ERO .....	14
5. Défiance physiologique contre le stress oxydatif .....	14
5.1 Définition des biomarqueurs .....	14
5.2 Biomarqueurs de défense .....	15
5.2.1 Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) .....	15
5.2.2 Superoxyde dismutase (SOD) .....	15
5.2.3 Catalase (CAT).....	15
5.2.4 Glutathion-S-transférase (GST).....	15
5.2.5 Glutathion peroxydase (GPxs) .....	16
5.2.6 Glutathion (GSH) .....	16
5.2.7 Acide lipoïque ou Acide alpha lipoïque .....	17
5.2.8 Métallothionéine.....	17
5.3 Les biomarqueurs de dommage .....	17
5.3.1 Les acétylcholinestérases (AChE).....	17
5.3.2 Peroxydation lipidique .....	17

## Chapitre 03 : Généralités sur l'Espèce *Mytilus galloprovincialis*

I. GENERALITE SUR LES MOLLUSQUE BIVALVES .....	20
1. Identification de <i>Mytilus galloprovincialis</i> .....	20
2. Taxonomie .....	21
3. Morphologie et physiologie .....	21
3.1 Description morphologique .....	21
3.2 Physiologie .....	23
3.2.1 L'alimentation .....	23
3.2.2 Le système excréteur .....	23
3.2.3 Le système respiratoire .....	23
3.2.4 Le système circulatoire .....	23
3.2.5 Le système nerveux .....	24
3.2.6 La reproduction et sexualité .....	24
4. Ecologie .....	26
5. Bioaccumulation des polluants chez les moules .....	26
6. Facteurs influençant la bioaccumulation de contaminants dans des organismes marins	26
7. Impact des polluants chez les moules .....	27
8. Surveillance continue des effets toxiques des polluants .....	27

## PARTIE PRATIQUE

I. MATERIELS ET METHODES .....	29
1. Matériels .....	29
1.1 Lieu d'étude.....	29
1.1.1 Présentation des sites .....	29
1.2 Choix de l'espèce .....	31
1.3 Stratégie de l'échantillonnage .....	31
1.4 Prélèvement de l'organe .....	31
2. Méthodes .....	32
2.1 Technique des coupes histologiques .....	32

II. Résultats et Discussion.....	35
1. résultats .....	35
2. discussion .....	39
<b>Conclusion</b> .....	41
<b>Références bibliographiques</b> .....	43

## **RESUME :**

La plupart des côtes maritimes sont exposées aux divers types de polluants causés par des activités industrielles et anthropiques. Les conséquences de cette pollution sont multiples. Elles conduisent à des mortalités massives des espèces et des effets moins visibles qui apparaissent à long terme.

Dans le but d'évaluer l'effet de la contamination anthropique et industrielle de trois zones d'échantillonnage El-Henaya, El-chatt et de Seybouse, situés le long du golfe d'Annaba. Dont, l'espèce d'intérêt est le mollusque bivalve *M. galloprovincialis*. L'échantillonnage a été assuré durant une période étalée dès mi-mars jusqu'au début mai de l'année 2023. Des fragments des gonades des deux sexes ont été disséqués, afin de préparer des coupes histologiques au niveau de l'hôpital Iben-Zohr à Guelma.

La lecture microscopie a mis en évidence des tissus intacts pour le site témoin, Néanmoins, des structures tissulaires endommagées pour le site 2 et 3. Ces observations été marquées chez les deux sexes. De plus, les résultats constatés l'El-Henaya est considéré comme site témoin, Tandis que les deux autres sont confirmés comme des sites pollués, avec une particularité d'agressivité des polluants chimiques déversés dans la zone industrielle au près du site de Seybouse.

D'après les résultats, on déduit que ce bio-indicateur a traduit son déséquilibre physiologique (perturbation de la fonction reproductrice) par l'apparition des malformations tissulaires au niveau des gonades.

**Mots clés :** Le golfe d'annaba d'est Algerien Pollution marine, Stress oxydatif, Bivalves, *M. galloprovincialis*, Histologie, gonade.

## ملخص:

تتعرض معظم سواحل البحر لأنواع مختلفة من الملوثات التي تسببها الأنشطة الصناعية والبشرية. عواقب هذا التلوث متعددة. إنها تؤدي إلى موت هائل لأنواع وتأثيرات أقل وضوحًا تظهر على المدى الطويل.

من أجل تقييم تأثير التلوث البشري والصناعي في ثلاث مناطق لأخذ العينات، الحنايا والشط وسيبوس الواقعة على طول خليج عنابة. ومن الأنواع التي تهمها الرخويات ذات الصدفتين *M. galloprovincialis*. تم أخذ العينات على مدى فترة امتدت من منتصف شهر مارس حتى بداية شهر مايو من عام 2023. تم تشريح أجزاء من الغدد التناسلية لكلا الجنسين، من أجل تحضير أقسام نسيجية على مستوى مستشفى ابن زهر الواقع في قالمة.

كشفت القراءة المجهرية عن أنسجة سليمة لموقع الشاهد، ومع ذلك، فقد تضررت هياكل الأنسجة في الموقع 2 و3. وقد تم وضع علامة على هذه الملاحظات في كلا الجنسين. بالإضافة إلى النتائج التي لوحظت، تعتبر الحنايا موقعًا شاهدًا، في حين تم تأكيد الموقعين الآخرين على أنهما مواقع ملوثة، مع خصوصية عدوانية الملوثات الكيماوية التي تم إغراقها في المنطقة الصناعية بالقرب من موقع سيبوس.

وفقًا للنتائج، نستنتج أن هذا المؤشر الحيوي ترجم اختلال التوازن الفسيولوجي (اضطراب وظيفة الإنجاب) من خلال ظهور تشوهات الأنسجة في الغدد التناسلية.

**الكلمات المفتاحية:** التلوث البحري، الإجهاد التأكسدي، ذوات الصدفتين، *M. galloprovincialis*، علم الأنسجة، الغدة الجنسية.

## **SUMMARY:**

Most sea coasts are exposed to various types of pollutants caused by industrial and anthropogenic activities. The consequences of this pollution are manifold. They lead to mass mortalities of species and less visible effects that appear in the long term.

In order to assess the effect of anthropogenic and industrial contamination of three sampling areas El-Henaya, El-chatt and Seybouse, located along the Gulf of Annaba. The species of interest is the bivalve mollusc *M. galloprovincialis*. Sampling was carried out over a period extending from mid-March to early May 2023. Gonad fragments from both sexes were dissected and histological sections prepared at the Iben-Zohr Hospital in Guelma.

Microscopic reading revealed intact tissue in the control site, but damaged tissue structures in sites 2 and 3. These observations were marked in both sexes. El-Henaya is considered a control site, while the other two are confirmed as polluted sites, with a particular aggressiveness of the chemical pollutants discharged in the industrial zone near the Seybouse site.

From the results, we deduce that this bio-indicator has translated its physiological imbalance (disruption of reproductive function) by the appearance of tissue malformations in the gonads.

**Key words:** Marine pollution, Oxidative stress, Bivalves, *M. galloprovincialis*, Histology, Gonad.

# *Introduction*

---

## INTRODUCTION

Les multiples activités humaines occasionnent des rejets de substances polluantes vers le milieu terrestre et marin. Ces rejets recensés sont de nature et d'origines variées, les retombées atmosphériques, les émissaires des eaux usées urbaines et les effluents industriels...etc.

Le milieu marin contient de nombreux endroits pollués. Ces derniers ont été identifiés et classés géographiquement selon le type de pollution (industrielle, urbaine, agricole). Les sources d'émission de pollution identifiées sont multiples, dont on peut citer quelques une tels que : les composés organochlorés, les hydrocarbures, les métaux lourds et d'autres toxines. Spécialement, les métaux lourds sont les plus toxiques et les plus dangereux. À raison qu'ils ne sont pas biodégradables, ainsi qu'ils se propagent selon diverses voies. L'ensemble de ces apports contaminants peuvent menacer l'équilibre des écosystèmes aquatiques (**Taleb et Boutiba, 1999**) ainsi que, les espèces comestibles qui sont pêchées au niveau de ce milieu. Sans aucun doute, notre santé sera alerter aussi (**Brahim-Tazi et Boutiba, 1998**).

Des programmes de surveillance de la qualité des milieux marins ont impliqué des espèces sentinelles (des bivalves) comme bio-indicateurs de la pollution en raison de leurs caractères filtreurs, leurs sédentarités et leur pouvoir accumulateur (**Viarengo et al., 1993**). L'un de ces programmes est le «MUSSEL WATCH» qui conseille l'utilisation des moules, des huîtres et des palourdes ...etc (**Langston et Spence, 1995**).

Les huîtres, les oursins et les moules sont des indicateurs biologiques, capables de renseigner sur la quantité de substances polluantes dans l'environnement aquatique, en faisant l'objet de mesure des effets induits par ces polluants. Exceptionnellement, les moules sont largement considérées comme de bons indicateurs de la contamination du milieu marin dans lequel elles vivent, puisqu'elles possèdent la propriété d'accumuler les contaminants présents dans ce milieu jusqu'à atteindre un équilibre avec lui. Ce phénomène de bioaccumulation est à l'origine d'un facteur de concentration entre le milieu et l'organisme pouvant être très élevé.

Ces espèces filtreuses qui filtre en continuité l'eau de mer pour se nourrir et respirer, dont elles concentrent des quantités énormes de substances polluantes arrivent à nous renseigner et apprécier l'état de salubrité de leurs habitats.

L'objectif de l'étude est d'étudié la bisurveillance de la côte algérienne, principalement le golfe d'Annaba par l'utilisation d'un mollusque bivalve marin *Mytilus galloprovincialis* comme bio-indicateur de la pollution marine, en présentant une partie bibliographique et une partie résultats et discussion.

Les résultats obtenus sont des observations microscopiques photographiées des coupes histologiques préalablement réalisées au niveau de l'hôpital Iben-Zohr à Guelma.

# *Partie bibliographique*



# *Chapitre 01*

---

## *Généralités sur la pollution marine*

### I. POLLUTION MARINE

Plusieurs produits chimiques sont rejetés dans le milieu aquatique. Les courants marins les dispersent d'une part à l'autre de la planète. La pollution marine est l'une des conséquences directes de la mauvaise gestion des déchets humains et du rejet excessif de produits toxiques par les industries, Engrais, pesticides, sacs plastiques, objets divers, métaux lourds, abandonnés sur la terre ferme trouveront tôt ou tard leur chemin jusqu'aux océans via les cours d'eau, le ruissellement de surface, les pluies ou les vents, constituent la plus grande menace pour la survie des organismes marins et la protection de l'environnement. Ces contaminants y demeurent pendant des années et s'accumulent dans le corps des espèces marines et des êtres humains. Ils peuvent causer le cancer, des dommages au foie, des problèmes de reproduction et des déformations congénitales ainsi que d'autres fléaux dangereux. [1].

#### 1. Les polluants du milieu marin :

L'environnement marin est exposé aux impacts combinés d'un cocktail de produits chimiques toxiques et de déchets entrant dans nos cours d'eau et nos océans tous les jours. Bien que des évaluations environnementales soient souvent effectuées sur des polluants individuels, en réalité la vie marine est exposée à de multiples produits chimiques et autres facteurs de perturbation, comme la hausse des températures de la mer, l'acidité de la mer et la désoxygénation, tout à la fois. Les polluants océaniques comprennent les polluants organiques persistants (POP), les produits chimiques perturbateurs endocriniens (EDC), le mercure et les composés de métaux lourds, les pesticides, les produits pharmaceutiques, le pétrole, les déchets plastiques et leurs produits chimiques connexes (p. ex. le BPA, les phtalates), les produits de soins personnels et autres émissions industrielles et agricoles [2].

Les polluants marins ont un impact sur la santé de nos océans, de leurs habitants et de ceux qui dépendent des ressources qu'ils fournissent pour leur alimentation, leur culture et leur survie même. Chaque jour, un cocktail sans cesse croissant de rejets de produits chimiques intentionnels et non intentionnels, ainsi qu'un raz-de-marée incessant de déchets, en particulier les déchets plastiques, pénètrent dans nos cours d'eau et l'environnement marin.

Les organismes marins exposés aux polluants chimiques sont affectés de multiples façons, y compris au niveau cellulaire, organisme, population et communauté. L'homme est affecté par l'exposition aux fruits de mer contaminés par des produits chimiques tels que les POP et les PBT ainsi que par le mercure et les microplastiques [3].

### 1.1 Les eaux usées :

Sont le résultat de l'utilisation humaine qu'elle soit domestique ou industrielle. Egalement pour les eaux usées d'origine domestique comprennent, les eaux ménagères (eaux de cuisines, lessives, toilettes ...etc.), les eaux vannes (en provenance de WC, matières fécales, urines). Elles constituent un effluent pollué et nuisible. Concernant les eaux usées industrielles sont variés selon le genre d'industrie dont elles proviennent, elles contiennent les substances les plus diverses pouvant être acides, alcalines, corrosives ou entartant à température élevée, souvent odorantes et colorées, ce qui rend plus difficile leur traitement dans la station d'épuration. Elles se caractérisent souvent par la présence de matières organiques non biodégradables [4].

### 1.2 Eaux de ruissellement :

Comprennent les eaux de pluie, de lavage et de drainage. La pollution des eaux de pluie est variable dans le temps, plus forte au début d'une précipitation qu'à la fin. Les eaux de lavage sont polluées par les matières en provenance de trottoirs et chaussées (mazout, bitume). Elles contiennent également du zinc, plomb et cuivre (**Gurée et Gomella, 1982**).

### 1.3 Les hydrocarbures :

Les hydrocarbures sont un groupe diversifié de composés organiques constitués d'atomes d'hydrogène et de carbone. Les hydrocarbures sont formés à partir de très vieilles algues dégradées, de plantes et d'autres matières biologiques. Les hydrocarbures peuvent être des gaz, des liquides et des solides, et sont généralement utilisés comme source de combustible.

Le pétrole brut est un mélange complexe d'hydrocarbures et d'autres constituants (comme les métaux) qui peuvent être traités pour produire divers carburants, solvants et polymères (ou plastiques), entre autres produits.

Les hydrocarbures se comportent différemment dans l'environnement en fonction de leur structure.

Les hydrocarbures BTEX se dissolvent facilement dans l'eau. Cependant, ils ne sont pas très persistants au fil du temps, en partie parce qu'ils s'évaporent si facilement. Malgré cela, les substances BTEX peuvent persister dans les écosystèmes aquatiques pendant des jours ou des semaines, et peuvent avoir des effets négatifs sur les organismes qui vivent dans l'eau. Concernant les HAP sont plus persistants dans les écosystèmes aquatiques et s'accumulent dans les sédiments et dans certains organismes. Ils peuvent facilement s'attacher aux particules dans l'air, de sorte qu'ils peuvent être transportés dans l'air et déposés dans des endroits éloignés de leur source [5].

### 1.3.1. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) :

Proviennent généralement de la combustion d'éléments tels que l'essence et le diesel dans les moteurs, le pétrole, le charbon, le bois et le tabac. Ils peuvent également être libérés dans l'environnement par les effluents, les déversements de pétrole et les fuites à partir des sites d'enfouissement.

### 1.3.2. Les hydrocarbures BTEX :

Sont des constituants de l'essence et du pétrole brut, et sont utilisés comme solvants et pour fabriquer de nombreux produits différents (par exemple, le plastique, les pesticides et les produits pharmaceutiques). Les BTEX sont libérés dans l'air par la combustion de carburants à base de pétrole, en particulier dans les gaz d'échappement des véhicules, et par l'évaporation des solvants. Ils sont libérés dans l'eau et le sol par les fuites des réservoirs souterrains de stockage de carburant, les déversements et l'application de pesticides. Il existe également des sources naturelles de BTEX (par exemple, les volcans, les feux de forêt).

## 1.4 Les pesticides :

Le mot « pesticide » est un terme général utilisé pour décrire une substance (ou mélange) qui détruit un organisme nuisible ou prévient ou réduit les dommages qu'un organisme nuisible peut causer. Les organismes nuisibles peuvent être des insectes, des souris ou d'autres animaux, des plantes indésirables (mauvaises herbes), des champignons, des bactéries ou des virus.

Les pesticides peuvent également inclure toute substance utilisée pour modifier la croissance d'une plante (contrôleur), provoquer la chute prématurée des feuilles d'un végétal (défoliant) ou agir comme desséchant (déshydratant). Les pesticides sont habituellement des produits chimiques, mais ils peuvent également être fabriqués à partir de matières naturelles telles que des animaux, des plantes ou des bactéries.

Les pesticides sont formulés (préparés) sous forme liquide, solide ou gazeuse. Les formulations liquides incluent les suspensions (suspensions concentrées), les solutions, les concentrés émulsifiables, les suspensions en micro-capsules et les aérosols [6].

Les préparations solides comprennent les poussières, les particules, les granulés, les pastilles, les granules solubles, les poudres solubles, les appâts, les tablettes, les comprimés, les pâtes granulées et les poudres mouillables.

Les pesticides gazeux sont généralement des fumigants (ils peuvent être vendus sous forme de liquide ou de gaz) [7].

Les pesticides regroupent plusieurs sous-catégories de produits, utilisés pour différents usages [8].

On trouve ainsi notamment :

### **1.4.1. Les herbicides :**

Est un type de pesticide utilisé pour tuer ou limiter la croissance des mauvaises herbes qui poussent dans les cultures agricoles, les espaces verts, les jardins et les pelouses. Les herbicides agissent en perturbant le métabolisme des plantes en interférant avec leur croissance ou leur développement. Ils peuvent être appliqués sur les feuilles des plantes ou sur le sol autour des racines.

### **1.4.2. Les fongicides :**

Est un type de pesticide utilisé pour prévenir ou traiter les infections fongiques des plantes. Les infections fongiques peuvent causer des maladies telles que la pourriture des racines, la moisissure et la rouille. Les fongicides peuvent être appliqués sur les feuilles, les tiges ou les racines des plantes pour prévenir ou traiter les infections. Les insecticides : un insecticide est un type de pesticide utilisé pour tuer ou repousser les insectes considérés comme nuisibles pour les plantes, les animaux et les humains.

### **1.4.3. Les insecticides :**

Peuvent être appliqués sur les feuilles, les tiges, les fruits ou les racines des plantes ou sur les animaux domestiques et les humains pour les protéger contre les insectes. Les insecticides peuvent être classés en fonction de leur mode d'action, tels que les insecticides de contact, qui tuent les insectes au contact, et les insecticides systémiques, qui sont absorbés par la plante et tuent les insectes qui se nourrissent de la plante.

### **1.4.4. Les biocides :**

Sont divers : par exemple, les souricides, les raticides, les anti-parasitaires, destinés à lutter contre des espèces animales considérées comme nuisibles.

### **1.5. Les métaux lourds :**

Un métal est une matière, issue le plus souvent d'un minerai ou d'un autre métal, dotée d'un éclat particulier, bon conducteur de chaleur et d'électricité, ayant des caractéristiques de dureté et de malléabilité, se combinant ainsi aisément avec d'autres éléments pour former des alliages utilisables dans l'industrie. On appelle en général métaux lourds les éléments

métalliques naturels, métaux ou dans certains cas métalloïdes, caractérisés par une masse volumique élevée, supérieure à 5 g/cm<sup>3</sup>. La plupart des scientifiques préfèrent à l'appellation métaux lourds, l'appellation « éléments en traces métalliques » -ETM- ou par extension « éléments traces ». Ces éléments présentent un vrai problème pour notre environnement. Ils sont bio persistants, perturbent les écosystèmes, détériorent les sols, les eaux de surface, les forêts et les cultures et s'accumulent dans la chaîne alimentaire. Certains sont cancérigènes pour l'homme.

Une classification présente l'inconvénient majeur de regrouper ces éléments en deux catégories. Les métaux non essentiels à l'organisme et toxiques à faibles doses, des éléments essentiels indispensables au bon fonctionnement du corps humain, appelés "oligo-éléments".

### 1.5.1 Les Oligo-éléments :

Sont pas toxiques, ou moins dangereux à basse concentration (zinc, cuivre, fer et cobalt notamment). Ils assurent des fonctions physiologiques dans l'organisme. Le zinc par exemple est un cofacteur important pour de nombreuses réactions enzymatiques, la vitamine B12 présente un noyau de cobalt, et l'hémoglobine contient du fer.

### 1.5.2 Les métaux lourds non essentiels :

Sont hautement toxiques même à basse concentration (tels que le cadmium, le mercure, l'arsenic et l'aluminium). Ils sont considérés les plus polluants de forts risques. Ainsi, ils ne présentent aucun intérêt pour la physiologie tel que le plomb (Pb), le mercure (Hg), l'arsenic (As) et le cadmium (Cd).

## 2. Les effets des polluants sur la santé et l'environnement :

### 2.1. Effets des pesticides:

Les effets des pesticides sur la santé humaine peuvent inclure des irritations cutanées, des problèmes respiratoires, des troubles neurologiques, des cancers et des anomalies congénitales. Les personnes les plus à risque sont les travailleurs agricoles, les personnes vivant à proximité des zones agricoles et les femmes enceintes.

Les effets des pesticides sur l'environnement peuvent inclure la contamination des sols, des eaux souterraines et des cours d'eau, la réduction de la biodiversité, la mort des pollinisateurs tels que les abeilles et les papillons, et la contamination des aliments.

Les pesticides peuvent également causer des problèmes de résistance chez les organismes nuisibles, ce qui signifie que les pesticides perdent leur efficacité à mesure que les organismes nuisibles développent une résistance aux produits chimiques.

En outre, l'utilisation de pesticides peut avoir des effets indirects sur l'environnement, tels que la destruction des habitats naturels, l'altération des chaînes alimentaires et la perturbation des écosystèmes.

Finalement, l'utilisation de pesticides peut avoir des effets néfastes sur la santé humaine et l'environnement, il est donc important de prendre des mesures pour minimiser leur utilisation et leur impact sur l'environnement et la santé humaine [9].

### **2.2. Effets des hydrocarbures:**

Lors d'une pollution due aux hydrocarbures en milieu marin, les conséquences sur la faune et la flore sont à la fois physiques (engluement, étouffement des habitats) et toxiques (contamination des organismes par processus chimiques). La gravité de la pollution dépend des conditions environnementales et météorologiques, de la sensibilité du lieu, de la quantité et du type d'hydrocarbures déversés. Ces critères impliquent une vitesse de dégradation naturelle plus ou moins longue et un temps d'exposition des organismes en conséquence.

Pour un hydrocarbure lourd, on craint davantage les conséquences physiques. En se déposant sur les côtes, rochers et habitats, il les prive d'oxygène et peut étouffer les organismes. Il se dissipe lentement. En revanche, puisqu'il est moins soluble, il présente moins de risques toxiques.

Un hydrocarbure léger se dissipe plus rapidement. S'il ne présente pas de risque physique direct, il faut par contre prendre en compte les effets toxiques sur les organismes, notamment ceux vivant à la surface de l'eau et aux alentours qui y seront exposés (les effets étudiés comprennent infertilité, dégradation du système immunitaire [10]).

### **2.3. Effets des métaux lourds sur la santé et l'environnement :**

#### **2.3.1. L'impact des métaux lourds sur l'environnement :**

Quelques métaux lourds, comme Zn, Cu, Mn et Fe, sont indispensables à la croissance et au bien-être des organismes vivants, y compris de l'homme. On peut néanmoins s'attendre à ce qu'ils aient des effets toxiques quand les organismes sont exposés à des niveaux de concentration supérieurs à ceux qu'ils requièrent normalement. D'autres éléments, comme Pb, Hg et Cd, ne sont pas indispensables aux activités métaboliques et manifestent des propriétés toxiques.

La contamination de l'environnement aquatique par des métaux de provenance localisée, peut avoir des effets délétères, c'est-à-dire des effets toxiques aigus ou chroniques, sur la vie aquatique à l'intérieur de la zone concernée. La plupart des données publiées jusqu'ici concernant les effets des métaux sur les organismes aquatiques indiquent cependant que ces effets nocifs se produisent à des concentrations supérieures à celles que l'on trouve généralement dans l'environnement (**Gesamp, 1985 ; Gesamp, 1988**).

Les métaux peuvent être absorbés sous la forme inorganique ou sous la forme organique. Pour certains éléments, comme l'arsenic et le cuivre, la forme inorganique est la plus toxique. Pour d'autres, comme Hg, Sn et Pb, les formes organiques sont les plus toxiques. A de faibles concentrations, beaucoup de métaux lourds, dont Hg, Cd, Pb, As et Cu inhibent la photosynthèse et la croissance du phytoplancton. Les effets observés à des niveaux trophiques supérieurs se manifestent notamment par un retard du développement des embryons, des malformations et une moins bonne croissance des adultes chez les poissons, les mollusques et les crustacés.

Ces vingt dernières années, de nombreuses études ont été consacrées à la toxicité des métaux; sur la base de ces résultats, plusieurs organisations internationales et nationales ont élaboré des critères de qualité des eaux pour la vie aquatique.

Les métaux lourds sont d'importants contaminants des écosystèmes et des chaînes alimentaires. Ils ne sont pas biodégradables et se retrouvent en grande quantité dans l'organisme des animaux au sommet de la chaîne alimentaire comme les cétacés, les humains et les prédateurs divers. C'est l'effet de la bioaccumulation, soit l'absorption et la concentration de certaines substances chimiques, présentes dans un environnement, par un organisme [11].

### **2.3.2. L'impact des métaux lourds sur la santé :**

L'impact sur la santé dépend de leur espèce chimique, de leur concentration, de leur biodisponibilité et de leur passage dans les chaînes alimentaires. Certains éléments n'ont aucun rôle dans le maintien de l'homéostasie de l'organisme et sont directement toxiques, comme le mercure, le plomb ou le cadmium, d'autres sont indispensables (appelés oligo-éléments) comme le sélénium ou le fer. Enfin, certains sont neutres et considérés comme biocompatibles avec l'organisme, et sont ainsi utilisés en médecine, comme le titane et l'or par exemple [12].

Les métaux lourds sont de véritables poisons qui, à moyen ou long terme, peuvent avoir des conséquences néfastes sur l'organisme. Ce sont des substances toxiques, dangereuses pour la santé, car ils sont non dégradables, persistants et s'accumulent dans l'organisme.

Les métaux lourds peuvent affecter le système nerveux, les fonctions rénales, hépatiques et respiratoires. Une exposition à forte dose de ces substances nuisibles peut même être impliquée dans des pathologies sévères telles que la sclérose en plaque, les maladies neurodégénératives, l'insuffisance rénale, le diabète, les troubles psychologiques et neurologiques ou encore les cancers.

Certains métaux lourds comme l'aluminium, ingérés en trop grande quantité, stimulent la réponse immunitaire de la muqueuse intestinale, avec pour conséquences une inflammation et une hyperperméabilité locales (syndrome de l'intestin poreux), une modification de la flore intestinale, le passage de certaines bactéries dans le sang puis leur diffusion dans l'organisme. Avec, à terme, la genèse possible d'une maladie inflammatoire chronique des intestins (maladie de Crohn, rectocolite hémorragique) ou auto-immune.

De nombreux métaux sont considérés comme cancérogènes pour l'homme et les animaux ou les deux. Le chrome, le platine et les dérivés inorganiques du mercure sont responsable aussi de dommage, principalement au niveau des tubules proximaux des reins (**Lu, 1991**).

Les métaux lourds provoquent des dommages neurocomportementaux irréversibles se développant chez beaucoup de mammifères, mais les mécanismes de ces dommages sont inconnus (**Akins, 1992**).

## *Chapitre 02*

---

### *Généralités sur le stress oxydant*

### I. LE STRES OXYDANT

#### 1. Définition :

En 1956, le stress oxydatif a été mentionné pour la première fois lorsque le chercheur américain Denham Harman a émis l'hypothèse que le vieillissement pourrait être accéléré par l'accumulation de dommages cellulaires et moléculaires par les espèces réactives de l'oxygène (ROS). (**Harman, 1956**).

Depuis, la notion de stress oxydatif s'est mondialisée et peut désormais être définie comme un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et la capacité antioxydant de l'organisme. (**Favier, 2003**).

#### 2. Les espèces réactives oxygénées (ERO), ou radicaux libres (RL) :

La chaîne respiratoire mitochondriale, dans laquelle les êtres aérobies puisent leur énergie, joue un rôle capital dans la cellule en couplant l'oxydation de coenzymes transporteurs d'hydrogène ou d'électrons avec la phosphorylation de l'ADP (Adenosine DiPhosphate) en ATP (Adenosine TriPhosphate). Les conséquences de cette activité mitochondriale sont doubles et paradoxales. D'une part, la mitochondrie fournit à la cellule une source d'énergie importante puisque 36 molécules d'ATP à haut potentiel énergétique sont générées lors de la réduction de l'oxygène. Par contre, dans les conditions physiologiques, environ 0,4 à 4 % d'électrons s'échappent, réagissent directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme et donnent naissance à des EOA. Celles-ci sont soit des radicaux libres comme l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), ou le radical hydroxyle  $OH^{\bullet}$ , soit des molécules comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ou l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ). Dans cette chimie particulière, les métaux de transition, comme le  $Fe^{2+}$  et le  $Cu^{2+}$ , agissent comme catalyseurs dans la formation du radical hydroxyle [13].

#### 3. Principales sources d'espèces réactives de l'oxygène :

##### 3.1. Sources endogènes :

##### 3.1.1 NAD(P) H oxydase (NOX) :

La NAD(P) H oxydase est une enzyme membranaire (cellules phagocytaires, cellules endothéliales, cellules musculaires lisses...) catalysant la réduction mono-électronique de l'oxygène en anion superoxyde. Les NOX interviennent dans la régulation de nombreux processus physiologiques fondamentaux (la croissance cellulaire, la différenciation, l'apoptose et le remodelage du cytosquelette) et spécifiques (la phagocytose, contrôle du tonus vasculaire...) (**Hamma, 2020**).

### 3.1.2 Xanthine oxydase :

La xanthine oxydase est une enzyme ubiquitaire catalysant l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine au cours du métabolisme des purines. Elle est activée dans les syndromes d'ischémie-reperfusion (**Hamma, 2020**).

### 3.1.3 Enzymes de la voie de l'acide arachidonique :

L'action de la phospholipase A2 sur les phospholipides membranaires libère l'acide arachidonique dont la destinée est la synthèse des leucotriènes (action des lipoxygénases) d'une part, des prostaglandines et thromboxanes (action des cylo-oxygénases) d'autre part. Ces voies de synthèse s'accompagnent de production d'ERO (**Hamma, 2020**).

### 3.1.4 La chaîne respiratoire des mitochondries :

Les dérivés réactifs de l'oxygène (DROs), sont notamment issus des réactions d'oxydo-réductions enzymatiques le long de la chaîne de transfert des électrons, au sein des mitochondries. Celles-ci sont responsables de la production de l'énergie indispensable au travail cellulaire et sont donc considérées comme les « centrales énergétiques » de la cellule. En effet, notre organisme utilise l'oxygène pour transformer l'énergie qui provient de l'alimentation en une forme utilisable pour nos cellules, l'ATP et c'est au niveau de la chaîne respiratoire des mitochondries que s'effectue la réduction de l'oxygène en eau, avec la formation de 6 molécules d'adénosine triphosphate (ATP), molécules à haut potentiel énergétique, pour une molécule de dioxygène réduite. Les DROs résultent d'une réduction incomplète du dioxygène en  $O_2^{\bullet-}$  au niveau du cytochrome b et de la NADH déshydrogénase où 2 à 5 % de l'oxygène consommé sont ainsi converti en DROs. Cette production de DROs par les mitochondries est un processus continu et physiologique, qui compte tenu de l'activité intense et constante des mitochondries, représente la source majeure de DROs au sein des organismes vivants (**Démarche, 2012**).

### 3.1.5 Les peroxysomes :

Les peroxysomes sont des organites cellulaires délimités par une seule membrane, présents dans toutes les cellules et sont les seuls organites cellulaires avec les mitochondries et les réticulums endoplasmiques à consommer de l'oxygène lors du métabolisme. Dans les conditions physiologiques, les peroxysomes sont connus par le fait qu'en présence d'une large variété d'enzymes peroxysomales regroupées sous le nom d'oxydases, ils synthétisent  $H_2O_2$ , lors de la réduction de l'oxygène moléculaire en eau et ne produisent pas de  $O_2^{\bullet-}$ . La respiration peroxysomale n'étant pas couplée à la phosphorylation oxydative, elle ne permet pas la production de l'ATP et l'énergie libre résultant des réactions d'oxydoréduction est libérée sous forme de chaleur. La  $\beta$ -oxydation des acides gras et les réactions enzymatiques des oxydases comptent parmi les principaux processus métaboliques impliqués dans la génération de  $H_2O_2$

dans les peroxysomes. Les peroxysomes génèrent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> principalement par la  $\beta$ -oxydation des acides gras et l'activité enzymatique des oxydases (**Démarche, 2012**).

### 3.2 Les antioxydants non enzymatiques exogènes :

La principale source d'approvisionnement de l'organisme en antioxydants exogènes sont les aliments soit d'origine animale, soit d'origine végétale. Les plus connus sont la vitamine E, la vitamine C et les polyphénols (**Démarche, 2012**).

## 4. Rôle physiologique des ERO :

Lorsque les ROS sont présents dans la cellule en petites quantités, ils réagissent positivement, fournissant différents mécanismes biologiques.

Dans le système de défense antimicrobien, les phagocytes, les neutrophiles et les monocytes augmentent leur consommation d'O<sub>2</sub> peu après la phagocytose de l'agent pathogène et passent d'un état quiescent à un état actif (**Migdal et Serres, 2011**) et libère des ROS qui aident à neutraliser les bactéries. Ce mécanisme conduit à une explosion oxydative (**Forman et al., 2004**) De plus, la libération rapide de ROS est associée à l'induction de lésions tissulaires dans certaines maladies inflammatoires (**Gougerot-Pocidallo et al., 2002**).

Les ROS sont impliquées dans les mécanismes de signalisation redox et de transmission cellulaire. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est le seul RL qui a la spécificité d'interagir avec les effecteurs dans les voies de signalisation. Cette spécificité lui confère différents rôles de second messenger : (**Forman et al., 2004 ; Sies, 2014**).

- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est décrit comme un mimétique de l'insuline et est impliqué dans plusieurs cascades de signalisation induites par le facteur de croissance.
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est également impliqué dans les processus de prolifération, de différenciation, de réparation tissulaire et d'inflammation.

Les ROS peuvent également intervenir dans le système de transmission en activant ou en inhibant des récepteurs ou des enzymes (**Migdal et Serres, 2011**). De plus, plusieurs facteurs de transcription impliqués dans les processus biologiques tels que NF- $\kappa$ B, AP-1, AP-2, MTF, HSF, Sp-1 et NFI sont régulés par les ROS. (**Guiraud, 2006**).

## 5. Défiance physiologique contre le stress oxydatif :

### 5.1 Définition des biomarqueurs :

Les biomarqueurs peuvent être définis comme « des changements structurels ou fonctionnels observables et mesurables se produisant à différents niveaux de l'organisation biologique, de la molécule à l'organisme dans son ensemble, qui reflètent individuellement une exposition prolongée ou passée à un ou plusieurs polluants ». (**Lagadic et al., 1997**).

## 5.2 Biomarqueurs de défense :

### 5.2.1 Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) :

Est une mono oxygénase du cytochrome P-450. Il permet de détecter les réponses biologiques à l'accumulation de xénobiotiques organiques tels que les hydrocarbures polyaromatiques (HAP) et les biphényles polychlorés (PCB). Cette enzyme est très souvent utilisée comme biomarqueur d'exposition. Cependant, lorsqu'une personne est exposée à un niveau de stress très élevé, l'activité du cytochrome P 450 peut chuter de façon spectaculaire. L'EDPB, comme tous les biomarqueurs d'exposition, doit être utilisé conjointement avec les biomarqueurs de stress pour déterminer l'état de santé général d'un individu. (Cajaraville et al., 2000).

### 5.2.2 Superoxyde Dismutase (SOD) :

La superoxyde dismutase (SOD) est une métalloenzyme et la première ligne du système de défense contre les ROS. Catalyse la dismutation de  $O_2^{\bullet-}$  en  $H_2O_2$  et  $O_2$ . Il existe trois isoformes du : la SOD cuivre/zinc, la SOD manganèse et la SOD extracellulaire. (Ighodaro et Akinloye, 2018)

### 5.2.3 Catalase (CAT) :

La catalase est une hémoprotéine tétramérique qui a une masse d'environ 240 K. Da avec un atome de fer par sous-unité. Ils catalysent la réduction du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau et en oxygène moléculaire. Les catalases sont des enzymes peroxysomales dont la tâche est d'empêcher la peroxydation induite par le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) des molécules biologiques. (Aarab, 2004)

#### L'activité catalase :

Les catalases sont des enzymes chimiques présentes dans les peroxysomes de nombreux tissus, en particulier le foie et les globules rouges, où elles catalysent la décomposition du  $H_2O_2$  en eau et en oxygène, selon la réaction. (Barillet, 2007).



### 5.2.4 Glutathion-S-transférase (GST) :

Les glutathion-S-transférases (GST) sont des enzymes métabolisantes dont la fonction est de lier la molécule de glutathion (ayant un groupe nucléophile - SH) à une variété de substrats (ayant des groupes électrophiles) pour permettre leur élimination. Ce sont donc des enzymes du métabolisme de phase II des xénobiotiques. Au cours de cette phase II ou phase de

conjugaison, les métabolites xénobiotiques, déjà devenus moins hydrophobes par les réactions d'oxydation ou d'hydroxylation de la phase I, sont transformés en substances encore plus hydrosolubles. Par conséquent, ils sont plus facilement expulsés. L'étape de conjugaison s'applique aussi bien aux molécules endogènes qu'aux xénobiotiques tels que les métaux lourds, les PCB, les HAP et les pesticides.

L'efficacité de la GST repose sur le fait qu'un grand nombre de composés exogènes et endogènes possèdent les propriétés nécessaires pour créer un substrat adapté.

Ces enzymes sont généralement solubles (cytosoliques) et existent sous de multiples isoformes, dont certaines sont induites par des polluants, ce qui les rend moins toxiques. En fait, cette singularité a une activité intéressante en tant que marqueur biochimique. La GST a été détectée dans la plupart des êtres vivants tels que les levures, les mollusques, les vers de terre, les insectes, les poissons, les mammifères et les plantes (**Aarab, 2004**).

### 5.2.5 Glutathion peroxydase (GPxs) :

La glutathion peroxydase (GPx), également appelée sélénocystéine peroxydase car son activité dépend du cofacteur sélénium, est une enzyme intracellulaire qui réduit le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et les peroxydes lipidiques dans les mitochondries et parfois dans le cytosol en H<sub>2</sub>O et en alcools, respectivement. Cette enzyme joue un rôle très important dans l'inhibition du processus LIPOX, protégeant ainsi les cellules du stress oxydatif. (**Ighodaro et Akinloye, 2018**)

### 5.2.6 Glutathion (GSH) :

Le glutathion est un tripeptide (L-r-glutamyl-L-cystéinyglycine) qui fait partie des antioxydants majeurs des vertébrés parmi les facteurs non enzymatiques du système antioxydant cellulaire. Le glutathion est le composé réducteur de soufre le plus abondant dans le compartiment intracellulaire (**Barillet, 2007**).

Le glutathion est considéré comme la première "ligne de défense" contre-attaque de radicaux libres. Il réagit avec l'oxygène singulet, les anions superoxydes et les radicaux hydroxyles et peut également agir en bloquant les chaînes de réaction impliquant des radicaux libres. Le glutathion est également un substrat essentiel du glutathion. L'enzyme antioxydant glutathion peroxydase. Par conséquent, lors de l'oxydation, le glutathion réduit (GSH) forme un radical éthyle, qui réagit avec une seconde molécule pour former une liaison disulfure (GSSG). Le rapport GSSG/GSH (ou GSH/GSSG) est souvent utilisé comme indicateur du niveau de stress oxydatif (**Castex, 2009**).

### 5.2.7 Acide lipoïque ou Acide alpha lipoïque :

L'acide alpha-lipoïque (ALA) est un composé antioxydant naturel présent dans toutes les cellules du corps et constitue une puissante défense contre le stress oxydatif sous deux formes, l'acide dihydrolipoïque réduit (ADHL) et l'oxyde d'acide alpha-lipoïque. Ces formes ont la capacité de chélater les métaux, de bloquer les ROS dans le cytosol ou les domaines hydrophobes et de permettre la régénération d'autres antioxydants. L'ALA est largement utilisé pour traiter les maladies associées au stress oxydatif, telles que le diabète et l'athérosclérose (Ying et al., 2010 ; Rochette et al., 2015).

Dans le corps humain, l'ALA fonctionne comme un cofacteur essentiel pour plusieurs complexes multi-enzymes mitochondriaux impliqués dans le métabolisme énergétique, tels que le complexe pyruvate déshydrogénase (PDG) et  $\alpha$ -cétoglutarate déshydrogénase (KGDG). (Packer et al., 1997 ; Navari-Izzo et al., 2002 ; Farhat et Lincet, 2020)

### 5.2.8 Métallothionéine :

C'est une protéine abondante dans le tissu parenchymateux de plantes, animaux et micro-organismes. De nombreuses études ont montré que la MT joue un rôle dans la régulation du métabolisme du cuivre et du zinc (Sevérine et al., 2000) complètement exempt d'acides aminés aromatiques et d'histidine (Cosson, 1992). La présence de ces métaux traces dans l'environnement des poissons affecte la synthèse des protéines (Jebali et al., 2009).

## 5.3 Biomarqueurs de dommage :

### 5.3.1 L'acétylcholinestérase :

Les acétylcholinestérases (AChE) sont des enzymes essentielles du système nerveux des vertébrés et des invertébrés, où elles sont responsables de la dégradation du neurotransmetteur acétylcholine. Dans la fente synaptique, ils catalysent l'hydrolyse de la 039-acétylcholine en choline et en acide acétique. Aux jonctions neuromusculaire et intraneurale, la terminaison nerveuse libère le messager chimique acétylcholine, qui permet la transmission de l'influx nerveux (Belabed, 2013).

### 5.3.2 Peroxydation lipidique :

La peroxydation lipidique ou lipoperoxydation (LPO) est une réaction radicalaire en chaîne qui peut provoquer des modifications structurelles et fonctionnelles des membranes (Garcin, 1998 ; Martinez et Livingstone, 1995) Elle est constituée de trois réactions radicalaires (Kappus, 1991)

Réaction d'initiation : Elle consiste en l'élimination de l'atome d'hydrogène au niveau du groupement allyle CH<sub>2</sub> d'un acide gras polyinsaturé par une substance très réactive en présence d'un groupement hydroxyle (. OH), alcoxy (RO.) ou peroxyde (ROO.) pour former un radical alkyle (R.). Un réarrangement moléculaire a lieu, permettant la production d'un diène conjugué. Ce dernier réagit alors avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxyde hautement réactif (ROO).

Réaction de propagation : Le radical peroxyde peut à son tour attaquer une nouvelle chaîne d'acides gras polyinsaturés, générant un nouveau radical alkyle et un hydroperoxyde lipidique (ROOH).

Réaction de terminaison : Le processus de peroxydation dure jusqu'en, où deux radicaux réagissent entre eux ou la molécule antioxydante intervient (exemple : vitamine E).

Le processus de décomposition complexe des hydroperoxydes lipidiques conduit d'une part à la formation de radicaux alcoxy et peroxydes capables d'initier de nouvelles chaînes de lipoperoxydation, et d'autre part à plusieurs produits de dégradation : alcools, cétones, aldéhydes, éthers, acides et alcanes. Parmi les aldéhydes formés, le malondialdéhyde (MDA) est souvent considéré pour évaluer le degré de peroxydation des lipides. Il est constitué d'acides gras polyinsaturés avec au moins trois doubles liaisons consécutives.

Le MDA est un puissant agent alkylant capable de réagir avec les macromolécules biologiques. Le dosage de ce composé présente donc un intérêt particulier comme biomarqueur du stress oxydatif chez les organismes exposés à des contaminations répétées. (**Narbonne et al., 1991**).

## *Chapitre 03*

---

*Généralités sur l'espèce*

**Mytilus galloprovincialis**

## I. GENERALITES SUE LES MOLLUSQUES BIVALVES

Les mollusques représentent un vaste embranchement du règne animal, qui comprend toutes les espèces à corps mou protégé par un squelette externe. Ils habitent les mers et les océans, mais il existe aussi des espèces d'eau douce, dont certaines vivent sur terre. Leur nombre total se situe entre 100 000 et 200 000 espèces, mais environ 70 000 espèces sont connues. (Quero et Vayne, 1998).

Les moules sont des mollusques dont le corps est renfermé dans une coquille calcifiée composée de deux parties distinctes et reliées plus ou moins symétriquement (Spadem et Adagp, 1972). Ces espèces sont des filtreurs et environ deux d'entre elles sont des campagnols (Donacidae). Ils n'ont pas de pièces buccales pour croquer ou mordre (radula, bec de perroquet). Egalement, ce sont des microphages ou des planctonophages, d'après Fischer (1887), les principales fonctions (nutrition, respiration et excrétion) dépendent de l'importance de ce courant qui traverse l'organisme.

Certain d'eux vivent libre (les Donacidées la palourde et la coquille Saint-Jacques), d'autres peuvent s'attacher au substrat par le byssus (la moules) ou en cimentant une de leurs valves (huîtres).

Les bivalves sont parmi les organismes les plus appropriés pour la biosurveillance du milieu marin (Casas et Bacher 2006 ; Sasikumar et al., 2006 ; Pan et Wang, 2012). Ils présentent une forte capacité de bioaccumulation des différents contaminants chimiques, les polychlorobiphényles (PCB), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et les éléments traces métalliques (Sasikumar et al., 2006 ; Pan et Wang, 2012).

### 1. Identification de *Mytilus galloprovincialis* :

L'espèce *M. galloprovincialis* a été identifiée par Lamarck en 1819, nommé aussi moule méditerranéenne (Lubet, 1959). La forme de la coquille est approximativement triangulaire allongée, avec un bec formant le sommet. Le bord antérieur est droit, tandis que le bord postérieur est largement arrondi. La surface externe de la valve est marquée par des lignes de croissance concentriques, et couleur extérieure est noire brunâtre. Outre l'intérieur de cette dernière est blanc avec une marge violette et une cicatrice musculaire distincte. L'espèce peut atteindre une longueur de 80 mm (Bayne, 1976 ; Lubet et Aloui, 1987).

## 2. Taxonomie :

La classification de la moule s'établit comme suit selon :

- **Règne** : Animalia
- **Sous-règne** : Eumetazoa
- **Phylum** : Mollusca
- **Classe** : Bivalvia
- **Sous-classe** : Pteriomorpha
- **Ordre** : Mytilida
- **Super-famille** : Mytiloidea
- **Famille** : Mytilidae
- **Genre** : *Mytilus*
- **Espèce** : *Mytilus galloprovincialis*

## 3. Morphologie et physiologie :

### 3.1 Description morphologique :

L'espèce à une symétrie bilatérale matérialisée par le plan de séparation des deux valves (droite et gauche) de la coquille est dite équivalve (**Linnaeus, 1758**), elles sont contractées l'une à l'autre par des muscles adducteurs (le muscle adducteur antérieur et muscle adducteur postérieur) (**Jurd, 2000**).

Le manteau enveloppe tous les organes auxquels il est rattaché au niveau du muscle adducteur, de la masse viscérale et des branchies. Il est composé de deux lobes palléaux, il a plusieurs fonctions (**Gagnaire, 2005**).

La bouche est une fente transversale. Elle est dépourvue de radula et s'ouvre directement dans l'œsophage. Elle est entourée de deux paires de palpes labiaux, qui sont des dépendances de ses lèvres et dont les deux faces internes portent des ondulations plus ou moins parallèles aux filaments branchiaux. Les palpes, grâce aux cils des plis de leur face interne, servent à trier les éléments acheminés vers eux par les branchies.

La gonade est constituée d'un ensemble de follicules au sein desquels vont évoluer les cellules germinales lors de la spermiogénèse ou de l'ovogénèse. Les sexes sont généralement séparés mais les Bivalve présentent, dans la majorité des cas, un hermaphrodisme fonctionnel (Cas des coquilles Saint-Jacques, *Pecten maximum*) ou bien un hermaphrodisme successif comme chez les crépidules ou les huîtres (**Yonge, 1960 ; Martiel, 1976**).

Les branchies sont une caractéristique majeure des lamellibranches. Elles consistent en de grands organes en feuillet opérant deux séries de phénomènes, la respiration et la filtration

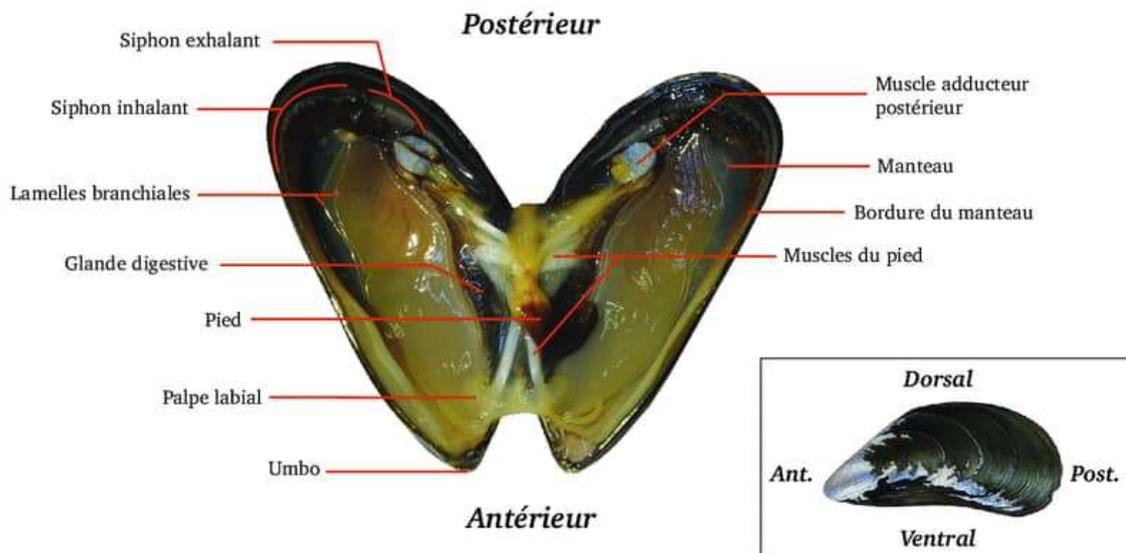
de la nourriture à partir de l'eau. Deux paires de branchies sont localisées sur chaque côté du Corps.

La glande digestive (ou hépatopancréas) elle assure la digestion et l'absorption des aliments captés par les branchies. Cet organe est encore appelé hépatopancréas car il joue un rôle analogue au foie des vertébrés (**Pagliassoti et al., 1994**).

La fermeture générale des valves est assurée par deux muscles adducteurs (antérieur et postérieur). Ces muscles sont antagonistes du ligament, qui grâce à son élasticité assure l'ouverture de la coquille.

L'hémolymphe est l'équivalent du plasma des vertébrés. Chez la moule, ce compartiment correspond essentiellement du point de vue de sa composition saline à l'eau de mer environnante (Lubet, 1963). Il contient aussi quelques protéines et des lipides, circulant sous forme de globules ou de vésicules (**Martin et al., 1970**).

Les hémocytes sont les cellules circulant dans l'hémolymphe et présentant des caractéristiques de certains leucocytes des vertébrés. Ce sont des cellules totipotentes, elles interviennent dans les processus de régénération de la coquille et des tissus en cas de blessure et joue un rôle important dans le système immunitaire (immunité non spécifique) en phagocytant de petites particules et des microorganismes (**Fisher, 1988**) [15].



**Figure 01:** Anatomie générale d'une moule *Mytilus galloprovincialis* [15].

### 3.2 Physiologie :

#### 3.2.1 Alimentation :

La moule est un consommateur microphage omnivore. Elle filtre jusqu' à 100 litres d'eau par jour, ainsi capable d'opérer un tri concernant la nature et la taille des particules qui pénètrent dans la cavité palléale dont le diamètre est compris entre 3 et 13 $\mu$ m. Elle se nourrit de phytobenthos (diatomées) de phytoplancton et de débris organiques (**Utting et Millican, 1997**). Comme pour tous les animaux, l'alimentation des bivalves doit fournir l'ensemble des éléments nutritifs (glucides, lipides, protéines, vitamines et minéraux) nécessaires aux fonctions vitales de l'organisme et au développement (**Utting et Millican, 1997**). Les particules alimentaires sont acheminées vers la bouche (**Desgouilles et Caty, 1969 ; Jensen et Sakhsang, 1970**).

#### 3.2.2 Le système excréteur :

Le système excréteur comprend deux reins qui communiquent à la fois avec la cavité péricardique et la cavité palléale. Une partie des déchets vient directement du sang par passage de la paroi du cœur, elle tombe dans la cavité péricardique avec les produits d'excrétion des glandes péricardiques. Le liquide de cette cavité passe ensuite dans les reins qui ajoutent leur propre sécrétion, puis le rejettent dans la cavité palléale (**Bachelot, 2010**). Finalement, les éléments indésirables sont rejetés sur les bords du manteau pour être expulsés.

#### 3.2.3 Le système respiratoire :

Les échanges d'oxygène se font par l'intermédiaire des branchies. L'eau chargée en oxygène dissous pénètre dans la cavité palléale via le siphon inhalant. Elle est filtrée par les filaments des deux paires de branchies lamelleuses avant d'être évacuée par le courant exhalant. L'oxygène ainsi capté pénètre dans l'hémolymphe pour être distribué dans tout l'organisme. Lorsque la moule se retrouve à l'air libre, elle ferme sa coquille et passe à une respiration anaérobie (**Cahen, 2006**).

#### 3.2.4 Le système circulatoire :

L'appareil circulatoire est relativement simple. On y trouve un cœur dorsal (enveloppé par le péricarde) qui comprend deux oreillettes latérales et un ventricule. L'hémolymphe, chassée dans deux aortes, est distribuée aux différentes parties du corps par un réseau de vaisseaux sanguins. L'hémolymphe n'est plus, à ce moment, canalisée en un système de vaisseaux individualisés. Elle gagne ensuite les reins, où elle est purifiée, avant de pénétrer dans les branchies. Dans ces organes, elle s'enrichit alors en oxygène (O<sub>2</sub>) et se décharge en gaz carbonique (CO<sub>2</sub>). Une fois oxygénée, l'hémolymphe rejoint les oreillettes du cœur. A ce

circuit principal se superpose un circuit accessoire. En effet l'hémolymphe qui circule dans le manteau a la possibilité de suivre une voie de retour directe au cœur sans passer par les reins ni les branchies. Lors du passage dans le manteau, un échange d'oxygène et de gaz carbonique a lieu (**Gosling, 1992**).

### 3.2.5 Le système nerveux :

Le système nerveux de l'espèce est simple, il possède trois paires de ganglions (**Villeneuve et Desire, 1965**). Une paire de ganglions cérébroïdes au voisinage de la bouche. Une paire de ganglions pédieux se trouve auprès de la partie antérieure basale du pied. Une autre paire de ganglions viscéraux s'observe dans la partie postérieure du corps. Ces ganglions sont réunis par des filets nerveux ou connectifs et innervent les différentes parties du corps (**Villeneuve et Desire, 1965**).

### 3.2.6 Reproduction et sexualité :

La moule *M. galloprovincialis* est une espèce gonochorique (à sexe séparé) sans dimorphisme sexuel. De très rares cas d'hermaphrodisme simultané ont été signalés (**Coe, 1943; Lubet, 1959**). L'ovogenèse et la spermatogénèse se déroulent dans des follicules et les tubules gonadiques distincts dont l'importance et la situation varient suivant les animaux (**Lubet, 1973; His et Cantin, 1995**). Le cycle de reproduction peut varier de manière importante selon les individus, le lieu, l'année (**Morchid, 1987**) et certains facteurs : La température et la nourriture (quantité et qualité) apparaissent comme déterminant dans la maturité des gonades (**Dardignac, 1995**).

### Cycle sexuel des gonades :

L'échelle de (**Chiperfield, 1951**) comprend quatre stades:

#### ➤ **Stade 1 (indifférencié):**

C'est une période de repos sexuel, dans laquelle il n'y a pas de produits sexuels. La gonade femelle est de couleur orange tandis que la gonade mâle est blanchâtre. Dans ces organes, l'individu accumule des réserves lipidiques et glucidiques, constituées d'une série d'amas réduits à des îlots de chaise inactifs. A ce stade, les cellules reproductrices sont indifférenciées.

#### ➤ **Stade 2 (début de développement):**

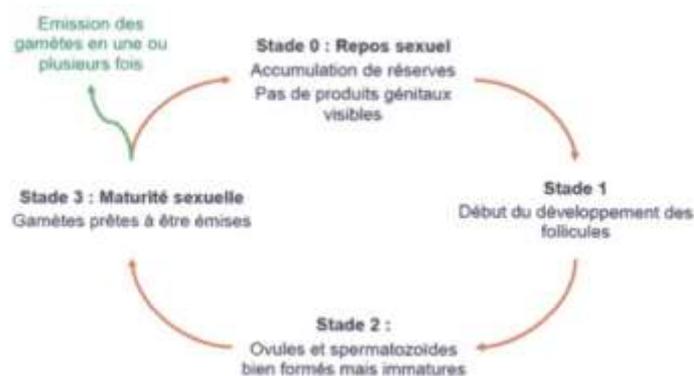
À ce niveau, les vésicules et les tubules contiennent des cellules aux premiers stades du développement mitotique. Les femelles développent une ovogonie qui colle à la paroi du follicule pileux. Alors que les spermatogonies et même une certaine différenciation des spermatozytes sont visibles chez les mâles, l'enveloppe entourant la gonade est moins homogène.

➤ **Stade 3 (Développement):**

Œuf et sperme encore immatures. L'oogenèse ou la spermatogenèse se produit de manière centripète, c'est-à-dire. H il est activé de la périphérie vers la lumière des follicules pileux et des tubules. Les ovules sont généralement pédiculés, i. H ils adhèrent à la paroi du follicule, mais commencent à se développer avec un noyau indistinct, c'est la phase de la vitellogenèse. Les spermatozoïdes, qui sont regroupés en forme de rosette dans la lumière des tubules, sont pour la plupart mobiles.

➤ **Stade 4 (Maturité) :**

La maturité sexuelle est atteinte et les gamètes sont prêts à être libérés. Le manteau devient transparent et les glandes génitales peuvent se vider une ou plusieurs fois. De plus, chez les femelles, la plupart des ovocytes ne sont pas suivis et infiltrent la lumière folliculaire, à partir de laquelle les follicules sont remplis d'ovocytes matures (de taille relativement uniforme) avec un noyau distinct et parfois un nucléole visible. Chez les mâles, les spermatozoïdes sont très nombreux et s'accablent dans la lumière tubulaire et l'espace intertubulaire, et leurs flagelles (éosinophiles) sont dirigés vers la lumière tubulaire (**Banni et al, 2011 ; Gosling, 1992**) [16]



**Figure 02 :** Cycle de développement des gonades chez *mytilus galloprovincialis* [16].

**4. Ecologie :**

Des espèces installées par les byssus sur des fonds marins très différents des plaines médiolittorales et infralittorales, à la fois dures (rocheuses, caillouteuses) et molles (sableuses, vaseuses), envahissent les eaux majoritairement saumâtres des lagunes côtières (**Fischer et al., 1987**). Dans les zones de marée, les moules recouvrent les rochers frappés par les vagues ; Cependant, il peut se multiplier dans les estuaires où l'eau est moins salée, moins claire et moins agitée (**Songey et Avezard, 1963**).

### **5. Bioaccumulation des polluants chez les moules :**

La bioaccumulation est la capacité des organismes à absorber et à concentrer les polluants dans tout ou partie du corps. Les matières non biodégradables seront concentrées le long des différents maillons de la chaîne alimentaire (Casas, 2005 ; Bodin, 2005).

Les mollusques accumulent principalement dans organes privilégiés : les reins, les branchies, le manteau et l'hépatopancréas. Ces derniers sont des sites de stockage pour les phosphates et de protéines de Ca, Sr et Mg, dont les métallothionéines, pour lesquels les éléments des groupes IB et IIB ont une forte affinité (Casas, 2005).

### **6. Facteurs influençant la bioaccumulation de contaminants dans des organismes marins :**

Divers facteurs peuvent contribuer à la bioaccumulation de contaminants dans les organismes marins.

La température de l'eau ambiante exerce une influence sur le métabolisme des organismes vivants et, par conséquent, sur l'absorption et l'élimination des contaminants. Certaines différences entre les concentrations de contaminants trouvées dans des sujets de la même espèce à différentes saisons peuvent être attribuées aux différences de température qui affectent le métabolisme des graisses. Si les teneurs en oxygène dissout sont suffisamment faibles pour affecter les processus respiratoires, la bioaccumulation des contaminants peut en être influencée. Quoique le pH de l'eau de mer soit en général très constant, il peut y avoir des variations locales dans des zones particulières. Celles-ci peuvent influencer indirectement la bioaccumulation, puisque le pH est l'un des principaux facteurs qui déterminent le degré auquel certains polluants, en particulier les métaux, forment des complexes inorganiques ou organométalliques, influençant ainsi l'assimilabilité biologique du contaminant. Les variations de la salinité, là où se produisent, peuvent également avoir une influence indirecte sur la bioaccumulation, étant donné que l'adaptation à une salinité anormale peut nécessiter un considérable ajustement du métabolisme. Outre les facteurs abiotiques précités, la bioaccumulation peut être conditionnée par l'état biologique de l'organisme considéré.

### 7. Impact des polluants chez les moules :

Les bivalves sont des bio-indicateurs qui absorbent les polluants versés dans le milieu marin puis les accumulent dans leurs tissus (**Stewart, 1999**). Lorsque ces organismes sont incapables d'éliminer les substances toxiques de leur corps, les toxines pénètrent dans la chaîne alimentaire par bioamplification. Ces effets nocifs affectent les humains tout au long de la chaîne alimentaire, mais affectent également les moules elles-mêmes, endommageant les gonades, les organes reproducteurs et les branchies, en particulier là où l'oxygène est absorbé (**Pinto et al., 2019**).

### 8. Surveillance continue des effets toxiques des polluants :

L'étude de la bioaccumulation des polluants dans les organismes aquatiques est un aspect important des recherches toxicologiques puisque les polluants sont évidemment dépourvus d'effets s'ils ne pénètrent pas dans les tissus vivants. En conséquence, on s'est beaucoup attaché à surveiller les concentrations de polluants présentes dans les tissus d'organismes vivants provenant de populations naturelles, en partie dans le but de contrôler et surveiller la pollution et en partie pour se rendre compte des conséquences possibles pour la santé publique.

Des études de longue durée sur la dynamique des populations d'espaces vivant dans des zones polluées et non polluées de la méditerranée sont nécessaires pour déterminer si les populations vivant dans les premières sont écologiquement affectées par le degré existant de pollution. Par exemple, des études sur la densité des populations, la composition par âge, le taux de croissance et le succès de la reproduction de certaines espèces conjointement à des études suivies sur la bioaccumulation.

Plusieurs techniques ont été récemment mises au point à cet effet. Citons par exemple la mesure de la teneur en métallothionine des tissus, qui donne une indication du degré d'exposition des organismes à la pollution par des métaux lourds (**voir par exemple Howard et Nickless, 1975 ; Olafson et al., 1979 ; Rriesijadi, 1980 ; Roch et al., 1982 ; Roch et McCarter, 1984**) ; l'utilisation de techniques génotoxicologiques (**Rohn et al., 1976 ; Zahn et al., 1981, 1982, 1983 ; Hoehn-Bentz et al., 1983 ; Kurelec et al., 1983**).

# *Partie pratique*

# *Matériels et méthodes*

---

## I. MATERIEL ET METHODES

### 1. MATERIEL :

#### 1.1 Lieu d'étude

Le golfe d'Annaba se situe à l'extrême Est de l'Algérie entre deux caps ; Cap de Garde à l'Ouest ( $7^{\circ}16'E - 36^{\circ}68'N$ ) et Cap Rosa à l'Est ( $8^{\circ}15'E - 36^{\circ}38'N$ ), distants d'environ 40 km l'un de l'autre. Il reçoit des apports par le biais de divers Oueds. Parmi les plus importants, Oued Mafragh, qui draine des éléments très riches en composés agricoles, et les Oueds Seybouse et Boudjemaa véhiculent des substances minérales et organiques de différentes origines : terrigène, agricole, domestique et industrielle. La direction du vent est généralement Est-Sud-Est. Trois sites ont été sélectionnés dans ce secteur et qui ont servi à la réalisation de cette étude (**Fig.03**).



**Figure 03 : Présentation des sites d'échantillonnage**

#### 1.1.1 Présentation des sites :

- **Site 1 «El-Henaya»:** Le premier site de prélèvement a pour coordonnées ( $8^{\circ} 07' 17 22 "E$  et  $36^{\circ} 54'26 76 " N$ ). Ce site a été retenu pour sa particularité à savoir son éloignement des zones industrielles et/ou urbanisées. En effet, il est situé à l'est de l'oued Mafragh et de Cap Rosa. El-Henaya n'étant pas qu'une appellation mais c'est aussi un attribut puisque elle veut dire pente abrupte. C'est pourquoi la plage a été épargnée de la pollution et de son emplacement éloigné des routes et des décharges sauvages lui permis de jouer surtout d'un quasi normalité (**Fig.04**).



**Figure 04 : Site d'El-Henaya (Issalhi et all;2023)**

- **Site2 « El-chatt »** : Ce deuxième site de prélèvement a pour coordonnées ( $36^{\circ}50'40\text{N}$  et  $7^{\circ}50'12\text{E}$ ), il se trouve à proximité des agglomérations peuplées proche des routes et des décharges domestiques. Son lieu médiatise la zone entre oued Boukhmira et l'entrée de la ville d'El-Chatt, qui est à 2 km. Cette dernière est située à 12 km au nord-est d'Annaba et loin de 3 km de l'aéroport Rabah Bitat de Annaba. Elle est connue par un Climat méditerranéen avec été chaud (**Fig.05**).



**Figure 05: Site2 d'El-chatt (Moussaoui et all;2023)**

- **Site 3 «Seybouse»**: Les coordonnées de dernier sont ( $36^{\circ} 52' 06 44'' \text{ E}$  et  $7^{\circ} 46' 25 27'' \text{ N}$ ). Il se trouve non loin de l'oued du même nom qui charrie des déchets urbains. L'oued regorge de rejets de la zone industrielle et agricole tous proche ce qui amplifié les méfaits de la pollution (**Fig.06**).



**Figure 06 : Site 3 de Seybouse(Boukredine et all;2023)**

### **1.2 Choix de l'espèce :**

La moule méditerranéenne *Mytilus galloprovincialis* est un mollusque bivalve, dont sa sélection est basée sur le fait qu'il est abondant sur la côte algérienne et que cet organisme marin concentre les contaminants, en particulier les métaux divalents, en relation avec les concentrations présentes dans le milieu (les sédiments). Outre l'utilisation de ce bioindicateur a été proposée par excellence à l'échelle mondiale.

### **1.3 Stratégie de l'échantillonnage :**

Le prélèvement de l'échantillonnage est réalisé à main avec un couteau à 6h matin au niveau des trois sites choisis le mi-mars, début avril et début mai de l'année 2023 pour les sites Sybous, El-Henaya et El-chatt respectivement. Les mesures mentionnées sont : les profondeurs atintes sont de l'ordre de 1.5 m, 1.90 m et 1.30m avec une température moyenne de 20 °C -22.4 °C, une salinité 31-34.9 psu, un pH de 7. 60-7.72, 52.2 mS/cm et un taux d'oxygène dissous 23.5 % en utilisant un multi-paramètre. Concernant la taille des individus elle est comprise entre 7-8cm, un échantillonnage aléatoire d'une dizaine d'effectif de chaque site a été transporté dans des receptions propres plains d'eau de mer au laboratoire de l'université de Guelma.

### **1.4 Prélèvement de l'organe :**

Le choix des deux individus mâle et femelle de chaque site a été basé sur tri par sexe et taille après un nettoyage externe de la coquille. La mesure des longueurs de la coquille est réalisée à l'aide d'un pied à coulisse. Une dissection des organes a été effectuée avec une lame Bistouri stérile. Le tissu frais de la gonade (mâle et femelle) est disséqué et imprégner dans des crachoirs stériles, contenant une solution aqueuse de formol pour la conservation du tissu.

## **2. METHODES :**

## 2.1 Technique des coupes histologiques :

### ▪ Principe :

Le test histologique des gonades mâles et femelles de *M. galloprovincialis* a été effectué au niveau du laboratoire de cytologie pathologique de l'hôpital d'Iben-Zouhr à Guelma. Afin, de d'obtenir des indications sur l'état sanitaire du tissu gonadique des individus choisis, ont utilisant la microscopie photonique en tant que technique de lecture. Egalement l'histologie se repose sur une succession d'étapes.

### ▪ Fixation :

La fixation permet la conservation des structures et le durcissement des pièces, par immersion de l'échantillon dans un grand volume de liquide fixateur les échantillons séjournent un jour dans un appareillage (automate). Dans un premier temps, une déshydratation par immersion successives dans des bains d'alcool à degré croissant (30 minutes dans un bain d'alcool à 70°, deux bains successifs de 15 minutes dans de l'alcool à 95° puis trois bains de 30 minutes dans de l'alcool à 100°).

Ensuite, l'alcool est remplacé par du toluène (trois bains de 15 minutes chacun).

### ▪ Inclusion (Enrobage) :

Pour cette étape, les échantillons sont placés dans une l'étuve portés dans un moulage de paraffine liquide. Après refroidissement, des blocs de paraffine durs ont été obtenus, à l'intérieur desquels se trouvent les échantillons inclus et orientés selon un plan de coupe choisi

### ▪ Coupe :

Les coupes des blocs de paraffine, ont été réalisées à l'aide d'un microtome de type Leitz, avec une épaisseur de 6µm. En suite, ils sont collés sur des lames de verre grâce à de l'eau albumineuse.

### ▪ Coloration:

Les lames doivent être déparaffiner avant de pouvoir être réhydratées (coloration à l'hématoxyline-éosine). Le déparaffinage consiste à chauffer les lames, jusqu'à fusion de la paraffine, avant de les immerger dans trois bains successifs de toluène en suite les colorées Selon les étapes suivant:

- Xylène..... ;...10 Mn
- Alcool.....15M
- Eau Couran.....5Mn
- Hemalun.....10Mn
- H2O(Robinet) .. Passage
- Eosin.....15Mn
- H2O(Robinet) .....Passage
- Alcool.....30 second
- Alcool.....30 second
- Xylène+Acétone.....Passage

### ▪ Montage :

Après avoir subi une nouvelle déshydratation (deux bains d'alcool à 95° et 100°, trois bains de toluène), les lames colorées sont montées entre lames et lamelles avec un érésine synthétique (EUKITT). Les lames sont alors prêtes pour être observées au microscope.

### ▪ Observation :

La lecture des coupes a été réalisée avec un microscope optique, avec deux grossissements désignés ( $\times 100$  ;  $\times 400$ ). La prise de l'image au niveau du champ microscopique a été assurée à l'aide de l'appareil photo du portable.

# *Résultats et Discussion*

---

## II. RESULTATS ET DISCUSSION :

### 1. Résultats :

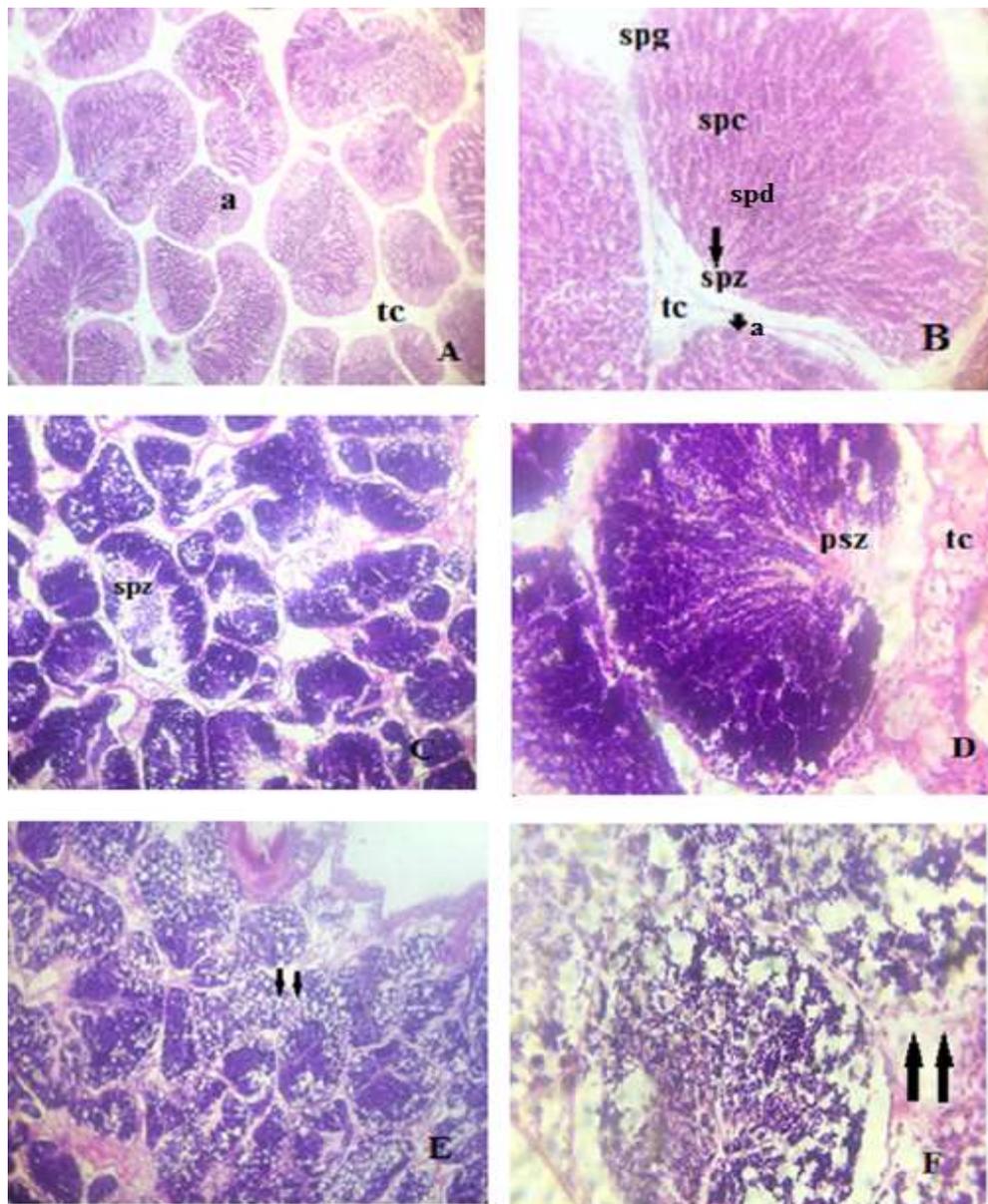
La microscopie photonique aux grossissements (x100 et x 400) a permis d'observer l'aspect tissulaire de la gonade mâle des trois sites, ainsi, les dommages marqués.

L'analyse histologique des coupes des trois sites de prélèvement a révélé que la gonade mâle de *M. galloprovincialis* est formée de nombreuses unités structurales appelées acini (acinus) ou follicules positionnés juxtaposément, de différentes formes et tailles avec un tissu conjonctif intercalé entre eux (conjonctif interstitiel). Ces derniers sont garnis de cellules germinales à divers stades de développement gonadique résultant du processus de la gamétogenèse sont trouvés, spermatogonie, spermatocyte ; spermatide et spermatozoïde (**Fig.07A,B**).

Des spermatogonies, cellules non différenciées sont situées à la périphérie des acini. Outre, des spermatocytes et des spermatides développés au cours de la spermatogenèse occupant la totalité des acini. Notant aussi, la présence des spermatozoïdes assemblés en groupes proches de la lumière des acini. Les flagelles de ces cellules différenciés au cours de la spermiogénèse sont très fins et diriger vers la lumière de des acini.

L'examen microscopique des coupes du site 2 et 3 a révélé l'existence de malformations tissulaires par rapport au site 1 (site témoin) (**Fig.07C, D, E, F**). Il a été constaté aussi, que le tissu gonadique mâle du site 3 (Seybouse) présente des altérations plus graves (**Fig.07 E, F**).

Les dommages révélés lors de l'observation sont : un rétrécissement des acini et une dégénérescence très avancée des cellules germinales, accompagné par un élargissement de la lumière acineuse. Ainsi, un tissu interstitiel plus important et plus élargit est figuré (**Fig.07 C, D, E, F**).



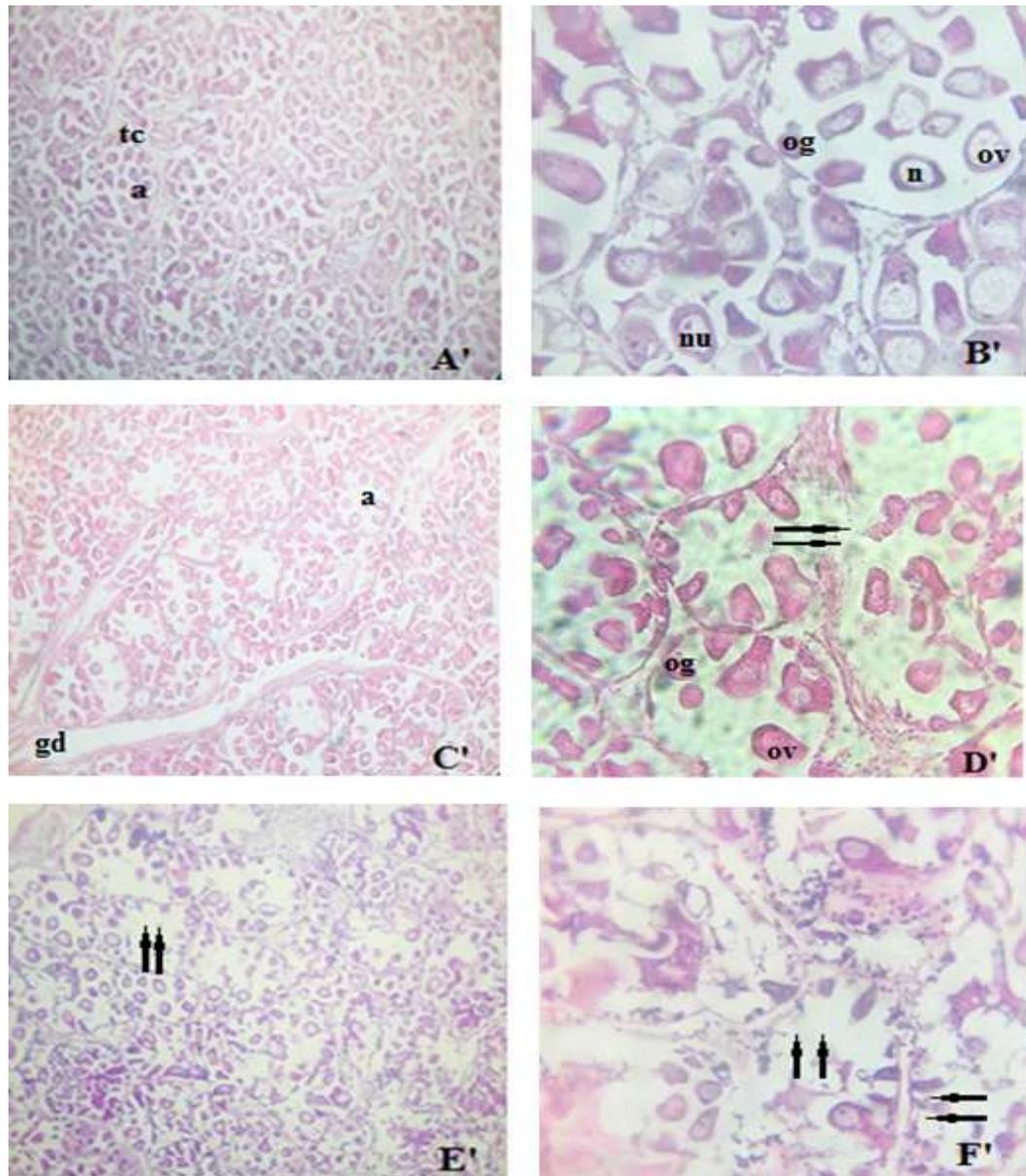
**Figure 07 :** Coupe histologique des gonades mâles de l'espèce *M. golloprovincialis* des trois sites d'échantillonnage. **A :** gonade mâle d' **El-Henaya** ((x100) ; a : acini ; tc : tissu conjonctif) **B :** gonade mâle **El-Henaya** ((x400) a : acini ; spg : spermatogonie ; spc : serratocyte ; spd ; spermatide ; spz ; spermatozoïde ; tc : tissu conjonctif). **C :** gonade mâle d'**El-Chatt** ((x100) ; tc : tissu conjonctif) **D :** gonade mâle d'**El-Chatt** ((x400) spz ; spermatozoïde ; tc : tissu conjonctif). **E et F :** gonade mâle de **Seybouse** ((x100 et x400) ;  $\Rightarrow$  endroit d'altération).

D'après l'observation microscopique avec les grossissements précédemment cités, les coupes présentant le site 1 décrivent la lecture suivante :

Les sections histologiques des gonades femelles des trois sites montrées un ensemble de follicules ovariens à aspect différent. D'où chacune en renferme un nombre de cellules germinales. Egalement, un achèvement de l'ovogenèse est constaté d'après une prolifération cellulaire qui marque la présence de quelques cellules souches (ovogonies) tapissant la paroi folliculaire. Outre, une abondance des ovocytes à différents stades de développement, ayant une forme de poire et des tailles variées. Quelques-unes sont fixées à l'épithélium de la glande par leur pôle le plus étroit. Cependant, d'autres sont libres au sein des follicules. La plupart des ovocytes observés sont au début stade 3, elles sont légèrement grosses, les noyaux sont colorés en rose pâle avec l'apparition d'un petit nucléole dense et un cytoplasme coloré en violé dans certains ovocytes. Une présence de noyau volumineux à coloration rose pâle et de forme ovoïde, possédant ou pas de nucléole. Dont, les ovocytes et les ovotides sont assez éloignés les uns des autres (**Fig.08 A', B'**).

Concernant, les observations enregistrées des coupes du site 2 et 3 des femelles ont signalées des détériorations sévères du tissu gonadique de l'individu du site 3 par rapport au site 2 et site 1 qui présente une structure tissulaire intacte (**Fig.08 E', F'**). Ces dommages sont exprimés par une destruction de l'épithélium ovarien, un éclatement des follicules ovariens et une perte sévère des cellules. Ainsi qu'un rétrécissement des follicules a été marqué au niveau des coupes (**Fig.08 C', D', E', F'**).

En complément de ces observations, l'évolution des stades du cycle gonadique est synchronisée chez les femelles qui presque atteignent la maturation indiquée fin stade 2 et début stade 3 par changement minime au niveau des coupes.



**Figure 08** : Coupe histologique des gonades femelles de l'espèce *M. golloprovincialis* des trois sites d'échantillonnage. **A'** : gonade femelle d'**El-Henaya** ((x100) ; a : acini ; tc : tissu conjonctif) **B'** : gonade femelle **El-Henaya** ((x400) a : acini ; og : ovogonie ; ov : ovocyte ; n : noyau ; nu : nucléole). **C'** : gonade femelle d'**El-Chatt** ((x100) ; gd : gonoducte ; a : acini) ; **D'** : gonade femelle d'**El-Chatt** ((x400) og : ovogonie ; ov : ovocyte ; → endroit d'altération). **E'** et **F'** : gonade femelle de **Seybouse** ((x100 et x400) ; → endroit d'altération).

## 2. Discussion :

Les observations microscopiques révèlent une structure tissulaire intacte pour le site témoin. La coupe histologique est caractérisée par un accroissement normal des ovocytes qui provoquent un tassement des follicules qui deviennent alors très aplatis. Tandis que, pour la gonade mâle la coupe a montré des aspects variables et des tubules sains ou des acini complets pleins de cellules germinales a différents stades de développement. Bien qu'il semblé que le développement et au cours du début stade 3. Selon Ces résultats on peut considérer ce site témoin et moins pollué car ont constaté le bon déroulement du cycle gonadique d'après le bon état du tissu.

Outre, l'influence des contaminants sur les tissus de ces organes. D'abord pour le premier site, il est loin du centre-ville, donc, il évite le drainage des contaminations et les décharges domestiques dus aux activités humaines. Par contre les coupes des sites 2 et 3 situés à proximité du centre-ville sont altérées, a raison qu'elles sont contaminées par des rejets domestiques, agricoles et industriels. Il faut rappeler que la rivière Seybouse reçoit tous les contaminants provenant des activités agricoles des régions voisines. Bien que, les malformations qui sont notées, le rétrécissement des acini et la dégénérescence des cellules germinales, l'élargissement de la lumière acineuse et la perte potentielle de la composition cellulaire du a l'éclatement des tubules.

Une description morphologie au microscope photonique a été décrite dans nos résultats. Ces derniers montrent des follicules qui apparaissent sur une coupe presque pleine, l'exception de rares gamètes résiduels. Mais, sur les parois folliculaires, subsistent des cellules germinales (ovocytes et ootides), souvent dispersées et plus nombreuses dans les régions distales des acini gonadiques. A partir de ces éléments sexuels, on assiste alors à des phénomènes de multiplication qui ont une morphologie décrite dans les résultats.

Également, des détériorations sévères du tissu gonadique femelle du site 2 et surtout 3, sont exprimées par un éclatement des follicules ovariens un rétrécissement et une dégénérescence des acini, résultant des lésions tissulaire au niveau de l'épithélium bordant les acini. Ainsi une perte sévère des cellules germinales, par formation des corps cellulaire nécrotiques. Les mêmes constatations ont été enregistrées dans l'étude de **Coimbra et Carraca (1990)**. D'où ils ont signalé que le cycle gonadique est affecté par l'accumulation des polluants, tels que les métaux lourds.

Il est connu que, l'espèce est un individu gonochorique (les sexes sont séparés). Les gonades sont dispersées dans le conjonctif du manteau. Ils libèrent leur sperme et leurs œufs dans la colonne d'eau. La ponte peut être synchronisée pendant deux périodes en fin d'automne et au printemps. Bien que, être déclenché par des facteurs environnementaux tels que la longueur de la journée, la température de l'eau ou la présence de sperme dans l'eau. Outre, ce bivalve entre dans une phase de repos sexuel s'étalant d'août à novembre. La microscopie photonique, par le travail de **(Lubey, 1959)** montre que l'état rare d'hermaphrodisme chez l'espèce *M. galloprovincialis* ne rencontre jamais simultanément, dans le même follicule ou acinus, des gamètes des deux sexes. La spermatogenèse ou oogenèse se déroulent dans des follicules distincts, répartis en « zones » mâles ou femelles.

Les pontes ou éjaculations sont arrêtées lorsque la température des eaux diminue brusquement. Mais lorsque l'hiver est doux des pontes ont été observées en février. Les émissions reprennent en mars, elles s'arrêtent à la fin du mois de mai. Ces résultats concordent avec ceux de **(McElwain et Bullard, 2014)** sur des espèces bivalves, d'où l'étude s'intéressée au cycle sexuel. Beaucoup de travaux ont étudiés la reproduction chez *M. galloprovincialis* et de *D. trunculus* qui ont montré au moins deux périodes importantes d'émission de gamètes, l'une située au début du printemps et l'autre située en fin d'automne **(Renzi, 1963 ; Boucart et Lubet, 1965 ; Bayed, 1990)**.

L'organisme possède des potentiels mécanismes de défense cellulaire non enzymatique contre ce stress oxydatif, parmi eux le glutathion réduit (GSH). Ce tripeptide (L - $\gamma$ -glutamyl-L-Cysteinyl glycine) joue un rôle crucial dans les processus de défense antioxydant **(Arrigo., 1999)**, c'est le composé thiol intracellulaire majeur. Il assure la protection des structures cellulaires et tissulaires **(Yo et al., 1993 ; Michelet et al., 1995)**.

# *Conclusion*

---

## CONCLUSION

L'étude que nous avons réalisé sur la bio-surveillance biologique est une investigation de la qualité de milieu marin par une espèce bio-indicatrice «la moule *M. galloprovincialis* par l'empreinte histologique (histologie du tissu gonadique) chez les deux sexes, afin d'évaluer le degré de contamination au niveau de trois biotopes El-Henaya, El-chatt et Seybouse situés sur le golfe d'Annaba.

Les observations histologiques ont révélé des altérations au niveau des coupes préparées des tissus gonadiques mâle et femelle d'El-chatt et de Seybouse.

Egalement, ces résultats peuvent être renforcé avec d'autres tests tels que le dosage des métaux lourds et des tests des anti-oxydants.

L'étude bibliographique nous a permis de :

- ✓ Assembler des connaissances sur la biologie et la physiologie de l'espèce *M. galloprovincialis* en tant que excellent bio-indicateur pour contrôler la pollution des zones côtiers.
- ✓ Envisager les risques de la contamination marine et sensibiliser les gens pour tester l'échantillonnage avant de le consommé.

S'intéressez plus tard à:

- ✓ Effectuer des tests (bio-marqueurs ) pour se renseigner sur l'état de santé de l'animal.
- ✓ Faire des analyses physico-chimiques de l'eau de mer et des sédiments pour les sites de l'échantillonnage.

# *Références Bibliographiques*

---

## REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE :

1. **Aarab N. (2004).** Les Biomarqueurs chez les poissons et les bivalves : de l'exposition à effet et de laboratoire au terrain. Option : Ecotoxicologie des milieux aquatiques, Thèse Doctorat, Université Bordeaux, 11(31) : 37-39p.
2. **Avignon A., Hokayem M., Bisbal C. and Lambert K. (2012).** Dietary antioxidants. Do they have a role to play in the ongoing fight against abnormal glucose metabolism, Nutrition.
3. **Bachelot M. (2010).** Contamination de moules (*Mytilus sp.*) en milieu marin par des substances pharmaceutiques et produits de soin. Thèse d'Université Montpellier 1. France, 234p.
4. **Barillet S. (2007).** Toxicocinétique, toxicité chimique et biologique de l'uranium chez le poisson Zèbre (*Danio rerio*). Thèse de doctorat. Université Paul Verlaine de Metz Laboratoire de Radioécologie, 39 ; Eco toxicologie, ISRN IRSN, : 478p.
5. **Belabed S. (2013).** Toxicité aigüe du cadmium à l'égard de *Donax trunculus* en condition de laboratoire : paramètres de létalité, pharmacocinétique et mesure de biomarqueurs durant exposition et la restauration, Thèse de Doctorat, en Biologie animale environnementale, [en ligne], Université Badji Mokhtar, Annaba, 100p.
6. **Cahen D. (2006).** Dossier didactique, moule nature, Muséum des Sciences naturelles.
7. **Cajaraville M., Bebianno P.M. J., Blasco M.J., Porte J., Sarasquete C., and Viarengo C.A. (2000).** The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula : a practical approach. *The Science of Total Environment*, 247: 295-311p.
8. **Castex M. (2009).** Evaluation du probiotique bactérien *Lactobacillus acidophilus* MA18/5M chez la crevette péneide *Litopenaeus stylirostris* en Nouvelle-Calédonie. Thèse de doctorat, L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Paris, France, 382p.
9. **Co W. R. (1943).** Sexual differentiation in mollusks. I. Pelecypods. *The Quarterly Review of Biology*, 18 : 154-164p.
10. **Cosson. R. (1992).** Les métallothionéines. *Anal. Mag.*, 20 :50-53 p.
11. **Dardignac M. (1995).** Cycles de reproduction naturelle des moules : GdT sur la reproduction des mollusques bivalves d'aquaculture marine (Nantes). In, GdT sur la

reproduction naturelle et contrôlée des bivalves cultivés en France. Rapport Ifremer, Nantes, France, 183p.

12. **Desgouille A. and Caty X. (1969).** Les moules du Lazaret (Rade de Toulon), l'Variations de croissance en différents points des parcs, Sci. Pche. Bull. Inst. Sci, Tech. Pches. Narit., 184 : 7 p.
13. **Farhat D., and Lincet H. (2020).** « Lipoic Acid a Multi-Level Molecular Inhibitor of Tumorigenesis ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1873 (1): 188-317p.
14. **Favier A. (2003).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*.11(12):108-115 p.
15. **Forman H. J., Fukuto J. M, and Torres M. (2004).** « Redox Signaling: Thiol Chemistry Defines Which Reactive Oxygen and Nitrogen Species Can Act as Second Messengers ». *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 287: C246 -C56p.
16. **Gagniaire B. (2005).** Étude des effets de polluants sur les paramètres hématologiques de l'huître creuse, *Crassostrea gigas* interaction entre environnement, mécanismes de défense et maladies infectieuses. Thèse de doctorat, option : Océanologie, Biologie et Environnement Marin, 377 p.
17. **Garcin J.C. (1998).** Mesure de lésions oxydatives de l'ADN dans les tissus et les fluides biologiques comme biomarqueurs de stress oxydatif : applications in vivo chez le rat et chez l'homme. Thèse de Doctorat en sciences des aliments, Université de Bordeaux 1, France, 236p.
18. **Gosling E. (1992).** Systematics and geographic distribution of *Mytilus*. In: *The mussel Mytilus: ecology, physiology, genetics and culture*. Developments in Aquaculture and Fisheries Science Ed. Amsterdam, Elsevier, Amsterdam, (25): 1-20p.
19. **Gougerot-Pocidallo M. A.S., Benna J., Elbim C., Chollet-Martin S. and Dang M.C. (2002).** « Régulation de l'explosion oxydative des polynucléaires neutrophiles humains par les cytokines pro- et anti-inflammatoires ». *Journal de la Société de Biologie*, 196 (1): 37-46p.
20. **Guiraud A. (2006).** « Etude des effets et des mécanismes cardioprotecteurs de l'éthanol chez le rat ». Phdthesis, Université Joseph-Fourier - Grenoble I.
21. **HAMMA S.A. (2020).** Explorations biochimiques du stress oxydatif. Cours destiné aux étudiants de 3ème année médecine, 4-3p.

- 22. Harman D. (1956).** Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. Journal of Gerontology, 11 : 298 p.
- 23. His. E. and Cantin C. (1995).** Biologie et physiologie des coquillages. Rappoert Ifremer-R. INT. DEU. 956. France. 118p.
- 24. Jebali. J, Ghedira. J, Bouraoui Z, Ameer.S , Gurbej H., et Boussetta.H. (2009).** Étude quantitative et qualitative des métallothionéines chez la daurade *Sparus aurata* exposée aux métaux lourds p-194.
- 25. Jensen A. and Sakshaug E. (1970).** Producer-consumer relations in the sea. 2, Correlation between *Mutilus* pigmentation and the density and composition of phytoplanktonic populations in inshore waters, J. Exp.,Mar..Biol..Ecol., 5(3) : 246-53p.
- 26. Jurd R.D. (2000).** Instant notes in animal biology. Scientific, Publishers., Department of biochemistry and molecular biology, university of Leeds, Leeds U.K. 308p.
- 27. Kappus H. (1991).** Lipid Peroxidation: mechanism and biological relevance. In : Aruoma O.I., Halliwell B., (Eds.), Free Radicals and Food Additives. Taylor and Francis, London, 59-75p.
- 28. Lagadic L., Caquet. T. and Amiard J.C. (1997).** Biomarqueurs en écotoxicologie : principes et définitions. In Lagadic L, Caquet T, Amiard J.C, Ramade F. Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux, Masson, Paris, 1-9p.
- 29. Lamarck L. (1819).** Synop. F.A.O. Pêche 88p.
- 30. Lubet P. (1959).** Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les Mytilidés et les Pectinidés (Moll. Bival). Rev.Trav. Inst. Pêche Marit. 23(4) : 389-548p.
- 31. Lubet P. (1959).** Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les Mytilidés et les Pectinidés (mollusques bivalves). Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes 23 : 387-548p.
- 32. Lubet P. (1973).** Exposé synoptique des données biologiques sur la moule, *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck 1819) (Atlantique et Méditerranée). Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture.
- 33. Lubet P. (1973).** Exposé Synoptique Des Données Biologiques Sur la Moule : *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck 1819) (Atlantique et Méditerranée). Organisation des Nations Unies Pour L'Alimentation et L'Agriculture, N° 88. Rome, 49p.

- 34. Lubet P. and Aloui N. (1987).** Limites létales thermiques et action de la température sur la gamétogenèse et l'activité neurosécrétoire chez la moule (*M. edulis et M. galloprovincialis*), mollusque bivalve, Haliotis, 16 : 309-316p.
- 35. Martinez P.G. and Livingstone D.R. (1995).** Benzo(a)pyrene dione stimulated oxyradical production by microsomes of the digestive gland of the common mussel, *Mytilus edulis* L. Marine Environment Research 39: 185-189p.
- 36. Michel D. (2012).** Le stress oxydatif cutané; sp.
- 37. Camille M. and Mireille S. (2011).** « Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant ». Médecine/sciences, 27 (4) : 405-12p.
- 38. Morchid A. (1987).** La reproduction des moules *Mytilus galloprovincialis* Lmk. En élevage dans le Golfe de Fos : aspects biologiques, biochimiques et bioénergétiques, Thèse doctorat. Université Aix-Marseille 2, France, 116p.
- 39. Narbonne J.F. (1991).** Mécanismes de biotransformation des polluants organiques chez les animaux marins. Océanis, 17 : 449-458p.
- 40. Navari-Izzo F., Mike F.Q. and Cristina S. (2002).** « Lipoic Acid : A Unique Antioxidant in the Detoxification of Activated Oxygen Species ». Plant Physiology and Biochemistry, 40 (6-8) : 463-70p.
- 41. Packer L., Hans J., Tritschler and Klaus W. (1997).** « Neuroprotection by the Metabolic Antioxidant Alpha Lipoic Acid ». Free Radical Biology & Medicine 22 (1-2): 359-378p.
- 42. Rochette L., Ghibu S., Muresan A. and Catherine V. (2015).** « Alpha-Lipoic Acid : Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential in Diabetes ». Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 93 (12) : 1021-27p.
- 43. Severine P., Sylvie Biagianti-Risbourg A.B., Aurelie F.B. and Guy V. (2000).** Metallothioneins in liver of *Rutilus rutilus* exposed to Cu<sup>2+</sup>. Analysis by metal summation, SH determination and spectrofluorimetry, 114p.
- 44. Sies H. (2014).** « Role of Metabolic H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Generation - Redox signaling and oxidative stress\* ». Journal of Biological Chemistry, 289 (13) : 8735-41p.
- 45. Utting S.D. and Millican P.F. (1997).** Techniques for the hatchery conditioning of bivalve brood stocks and the subsequent effect on egg quality and larval viability. Aquaculture, 155(1-4) : 45-54p.
- 46. Villeneuve F. and Desire C. (1965).** Zoologie. classe de 1re M'.

47. Ying Z., he kang, Nisharahmed K., Britten F., Thomas K., Yiuchao C., Orlando S. and Jeffrey D. (2010). « Lipoic Acid Effects on Established Atherosclerosis ». Life Sciences 86 (3-4) : 95-102p.
48. (Issalhi S; Moussaoui Kh.et Boukredine S. ) Contamination d'un bivalve marin *Mytilus galloprovincialis* colonisant le golfe de annaba. Mémoire de master en biochimie Guelma ;65

#### SITES WEB

- (1) <https://www.conservation-nature.fr/ecologie/la-pollution-des-oceans/>
- (2) [https://ipen.org/sites/default/files/documents/ipen-ocean-pollutants-v2\\_2ac-fr.pdf](https://ipen.org/sites/default/files/documents/ipen-ocean-pollutants-v2_2ac-fr.pdf)
- (3) [https://ipen.org/sites/default/files/documents/ipen-ocean-pollutants-v2\\_2ac-fr.pdf](https://ipen.org/sites/default/files/documents/ipen-ocean-pollutants-v2_2ac-fr.pdf)
- (4) [http://thesis.univ-biskra.dz/891/3/Chap%201\\_LES%20EAUX%20USEES\\_.pdf](http://thesis.univ-biskra.dz/891/3/Chap%201_LES%20EAUX%20USEES_.pdf)
- (5) <https://www.futura-sciences.com/sciences/definitions/chimie-hydrocarbure-13053/>
- (6) <https://www.cchst.ca/oshanswers/chemicals/pesticides/general.html>
- (7) <https://www.universalis.fr/encyclopedie/pesticides/3-les-differentes-familles-de-pesticides/>
- (8) <https://youmatter.world/fr/definition/pesticides-definition-liste-dangers-interdiction/>
- (9) <https://youmatter.world/fr/definition/pesticides-definition-liste-dangers-interdiction/>
- (10) <https://eurosorb.fr/les-effets-des-pollutions-aux-hydrocarbures-sur-lenvironnement-marin>
- (11) <https://www.dispositif-reponses.org/la-pollution-de-lair-la-sante-et-lenvironnement/les-metaux-lourds--quel-impact-sur-lenvironnement->
- (12) <https://www.asef-asso.fr/production/les-metaux-lourds-la-synthese-de-lasef/>
- (13) <https://www.copmed.fr/fr/content/70-metaux-lourds-comment-sen-debarrasser-naturellement->
- (14) <https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/biblio/mmf/2014/75-2014.pdf>
- (15) <https://www.researchgate.net/profile/Romain-Peden/publication/312375787/figure/fig6/AS:669509144809481@1536634827731/Anatomie-generale-dune-moule-du-genre-Mytilus-Illustration-personnelle.png> (15).
- (16) <https://www.fao.org/3/y5720f/y5720f06.htm> (16).